

00577
lej.
1

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

Facultad de Química

RADIOLISIS DE ACIDO MALICO
EN SOLUCION ACUOSA

TESIS DE MAESTRIA

Que para obtener el
grado de:

MAESTRIA EN CIENCIAS NUCLEARES

(OPCION: QUIMICA NUCLEAR)

Presenta :



B. SUSANA CASTILLO ROJAS

Mexico, D. F., Febrero 1983



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

RESUMEN

Los cambios químicos inducidos por radiación ionizante que ocurren en fase acuosa son producidos por una acción secundaria de las especies radiolíticas del agua con el soluto en estudio.

El objetivo de este trabajo es determinar el grado de descomposición del ácido málico ($\text{HO}_2\text{CCH}(\text{OH})\text{CH}_2\text{CO}_2\text{H}$) debido a la acción de la radiación ionizante, identificar y cuantificar los productos principales, y con ello, tener una idea sobre un probable mecanismo de radiólisis.

Para lograr este propósito se irradiaron soluciones acuosas 0.05 M a $\text{pH}=2.4$ (pH natural del ácido) en una atmósfera libre de oxígeno, usando dos fuentes de cobalto-60 con dosis de irradiación que variaron entre 0.08-92 KGy e intensidad de dosis entre 0.73-20.4 KGy/h.

Para la determinación del ácido málico remanente fueron utilizados dos métodos: por espectrofotometría en el visible y por cromatografía de gases, los resultados obtenidos fueron concordantes en ambas técnicas, y nos muestran que el valor "G" de descomposición del ácido málico en las condiciones usadas fue de 5.3.

La identificación de los productos gaseosos usando cromatografía de gases reveló la formación de H_2 , CO_2 y CO , cuantificándose los dos primeros y estimando el valor "G"

de formación del último.

El estudio realizado para la determinación de algunos productos volátiles usando cromatografía de gases y espectrofotometría en el visible reveló la formación de formaldehído, acetaldehído y acetona en las soluciones irradiadas cuya concentración varió en función de la dosis. También se observó la formación de ácidos de cadena corta como es el ácido acético.

La identificación de los productos no volátiles se hizo por cromatografía de gases comparando los tiempos de retención con muestras conocidas, coinyección con estándares y finalmente por su patrón de fragmentación por espectrometría de masas. Entre los ácidos identificados se encuentran malónico, succínico, pimélico, acetilsuccínico, carboxisuccínico, tricarbalfílico, aconítico, cítrico, 2,3-dihidroxi-1, 2,3,4-butantetracarboxílico, 1,2,3,4-butantetracarboxílico, y 1,4-dihidroxi-1,2,3,4-butantetracarboxílico y otros compuestos sin identificar, que son probablemente ácidos tri o tetracarboxílicos.

Se puede concluir que por la irradiación gamma de soluciones acuosas de ácido málico en ambiente libre de oxígeno los radicales libres formados presentan una fuerte tendencia a dimerizarse.

CONTENIDO

I.	INTRODUCCION	1
II.	ANTECEDENTES	3
III.	EXPERIMENTACION	6
1.0	PLAN DE INVESTIGACION	6
1.1	Análisis	6
1.2	Efecto de la dosis	8
1.3	Presencia de compuestos capturadores	8
1.4	Variación de pH de la solución	8
2.0	PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL	8
2.1	Preparación del material de vidrio	9
2.2	Purificación del agua	10
2.3	Purificación de los reactivos	11
2.4	Preparación de las muestras para irradiación:	11
2.4.1	Muestras para irradiar en el Gammacell-200	11
2.4.2	Muestras para irradiar en el Gammabeam-650	13
2.5	Procedimiento para la irradiación:	13
2.5.1	Fuentes radiactivas	13
2.5.2	Dosis de irradiación	15
2.6	Técnicas experimentales:	15
2.6.1	Determinación de productos gaseosos por cromatografía de gases.	15
2.6.2	Determinación de peróxidos por espectrofotometría	23
2.6.3	Determinación de ácido málico por espectrofotometría en el visible.	28

2.6.4	Determinación de poliácidos por cromatografía de gases.	31
2.6.5	Determinación de cetonas, aldehídos y ácidos de cadena corta por cromatografía de gases y espectrofotometría en el visible.	34
2.6.6	Determinación de cetoácidos por espectrofotometría en U.V.	40
3.0	RESULTADOS EXPERIMENTALES	42
3.1	Determinación de CO, H ₂ y CO ₂ en muestras irradiadas.	42
3.2	Determinación de peróxido de hidrógeno en muestras irradiadas.	46
3.3	Determinación de ácido málico usando dos técnicas analíticas en muestras irradiadas.	48
3.4	Determinación de ácidos di, tri y tetracarboxílicos en muestras irradiadas.	49
3.5	Determinación de formaldehído, glioxal, acetona, ácido acético y acetaldehído en muestras irradiadas.	56
3.6	Determinación de ácido oxalacético y acetilsuccínico en muestras irradiadas.	59
4.0	ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS.	64
IV.	CONCLUSIONES	75
V.	BIBLIOGRAFÍA.	77

LISTA DE FIGURAS

	Página
1 Esquema de análisis para el ácido málico	7
2 Equipo para obtención de agua usada en química de radiaciones.	10
3 Equipo para degasamiento y preparación simultánea de varias muestras.	12
4 Bomba Toepler modificada	17
5 Curva de calibración para la determinación de H_2 por cromatografía de gases.	20
6 Curva de calibración para la determinación de CO_2 por cromatografía de gases	22
7 Cromatograma de una solución irradiada de ácido acético.	23
8 Curva de calibración para determinar H_2O_2 por el método del yoduro en presencia de ácido málico.	25
9 Curva de calibración para determinar H_2O_2 por el método del sulfato de titanio en presencia de ácido málico	28

10	Curva de calibración para determinar ácido málico por espectrofotometría.	30
11	Cromatograma de los ésteres metílicos de los ácidos: malónico, succínico, adípico, málico y tricarbalfílico, con la columna 10 % Reoplex 400.	33
12	Curvas de calibración para los ésteres metílicos de los ácidos succínico, málico y malónico con la columna de Reoplex 400.	34
13	Curva de calibración para determinar acetona por espectrofotometría	36
14	Curva de calibración para determinar acetaldehído por espectrofotometría	37
15	Curva de calibración para la determinación de acetaldehído por cromatografía de gases utilizando una columna de Chromosorb 102	39
16	Curva de densidad óptica para oxalacetato y oxalacetato + Al^{+3} .	41
17	Cromatograma de una solución irradiada de ácido málico contra una muestra blanco para determinar productos gaseosos.	43

18	Determinación de H_2 en soluciones irradiadas de ácido málico a dosis bajas.	44
19	Determinación de CO_2 en soluciones irradiadas de ácido málico a dosis bajas.	44
20	Determinación de CO_2 en soluciones irradiadas de ácido málico a dosis bajas y a dosis altas.	45
21	Determinación de H_2 en muestras irradiadas de ácido málico libres de O_2 en presencia de $HClO_4$ y H_2O_2 .	46
22	Determinación de H_2O_2 en soluciones irradiadas de ácido málico 0.05 M en atmósfera libre de O_2	47
23	Variación de la concentración de ácido málico en función de la dosis y determinación de la G (descomposición)	48
24	Cromatogramas de soluciones de ácido málico irradiadas a diferentes dosis.	50
25	Cromatogramas comparando el área del pico No. 8 correspondiente al éster málico del ác. cítrico por efecto de una coinyección	51

26	Variación de la concentración de ácido málico en función de la dosis por C.L.G. usando una columna de Reoplex 400.	52
27	Variación de las concentraciones de los ácidos succínico y malónico en función de la dosis por C.L.G.	52
28	Cromatograma de una muestra irradiada a 49 KGy, separada por cromatografía en capa fina y espectro de RMN para la misma muestra.	55
29	Cromatograma de una muestra irradiada de ácido málico 0.05 M sin O ₂ a pH=2.4 a 49 KGy sin estándar interno.	56
30	Cromatograma de una muestra irradiada a 7° C de ácido málico a 9.8 KGy usando una columna de Chromosorb 102	57
31	Determinación de acetaldehído en muestras irradiadas por cromatografía de gases y por espectrofotometría.	58
32	Rendimiento radioquímico de acetaldehído en función de la dosis de irradiación en muestras irradiadas de ácido málico.	59
33	Determinación de oxalacético en muestras irradiadas.	61

34 Determinación del ácido acetilsuccínico
por C.L.G.

63

4138

... del ácido acetilsuccínico ...

I

37

... del ácido acetilsuccínico ...

II

41

... del ácido acetilsuccínico ...

III

39

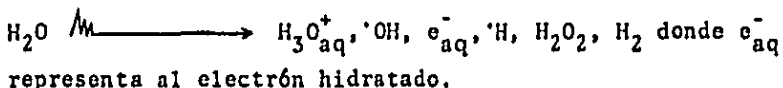
... del ácido acetilsuccínico ...

LISTA DE TABLAS

	Página
I - Sistemas usados para la determinación de la curva de calibración para H_2	19
II - Sistemas usados para la determinación de la curva de calibración para CO_2 .	21
III - Productos identificados en la radiólisis de ácido málico 0.05 M, libres de O_2 a pH=2.4	65

I. INTRODUCCION

La radiólisis del agua está en la actualidad ampliamente estudiada.⁷ La formación de los productos de radiólisis se resumen en la siguiente ecuación:



En las irradiaciones en solución acuosa son las reacciones entre éstas especies y el soluto las que producen los productos finales que observamos.

El estudio de la radiólisis de ácidos carboxílicos en solución acuosa ha estado limitada a la radiólisis de ácidos monocarboxílicos, principalmente el ácido fórmico (Hart^{16,17}; Garrison y col.¹⁰); el ácido acético (Garrison y col.¹¹; Lukác y col.²⁰; Josimović y Draganić²⁵; Negrón-Mendoza y Ponnampertuma³⁰); el ácido láctico (Johnson y col.²³) y la información referente a ácidos policarboxílicos es limitada. Por ello el estudio sistemático de la radiólisis gamma del ácido DL-málico en solución acuosa está enfocado a contribuir en la elucidación de mecanismos de descomposición de ácidos dicarboxílicos.

Por ser éste ácido un intermediario en rutas metabólicas o precursor de moléculas más complejas³¹ este estudio también es interesante dentro del contexto de evolu-

ción química. Por otra parte, el ácido málico se encuentra presente en frutas, y desde un punto de vista de conservación de alimentos el conocer su comportamiento bajo radiación ionizante resulta de gran interés.

II. ANTECEDENTES

Algunos investigadores han estudiado el efecto de la radiación ionizante en soluciones acuosas de ácidos dicarboxílicos y algunos hidroxiaácidos.³² Algunos de éstos estudios se relacionan al ácido málico, así, Putney y Pratt³⁹ publicaron que por irradiación con rayos-X de soluciones acuosas de L-malato saturadas con oxígeno a pH=7.3 se obtuvieron dos productos primarios: oxalacetato y α -hidroxi- β -cetosuccinato. Encontraron también ácido pirúvico resultante de la descarboxilación espontánea del oxalacetato y otros productos como CO_2 , H_2 y H_2O_2 . Sin embargo la formación de los productos primarios no ocurrió cuando las irradiaciones se hicieron en soluciones libres de oxígeno.

Tanaka y Wang⁴² publicaron que por irradiación gamma de soluciones 0.005 M de ácido málico-3-C¹⁴ obtuvieron ácido oxalacético, tanto en sistemas oxigenados como libres de oxígeno difiriendo del trabajo anterior. Entre otros productos encontraron ácido malónico y pirúvico siendo mayor la proporción de éste último en sistemas libres de oxígeno.

En la irradiación gamma del ácido málico 0.1 M y libre de oxígeno, en la región de megarads, Negrón-Mendoza y col.³³ publicaron la formación de una gran variedad de ácidos policarboxílicos, de los cuales el ácido

malónico y el ácido succínico eran de gran abundancia llevándose a cabo estimaciones cuantitativas de su formación. Se observó la formación de compuestos de peso molecular elevado pero no se identificaron.

En el caso de los hidroxiaácidos, han sido objeto de estudio los ácidos láctico, glicólico y cítrico.

Así Johnson y col.²³ irradiaron soluciones acuosas de ácido láctico con rayos-X en atmósfera libre de oxígeno. En base al valor alto del rendimiento para hidrógeno (G_{H_2}) que obtienen y la presencia del dímero del ácido láctico proponen la formación del radical $\dot{C}Me(OH)CO_2H$.

Posteriormente Grant y Ward^{13,14} irradiaron soluciones acuosas de ácido glicólico con radiación gamma en sistemas libres de oxígeno encontrando también el dímero del ácido glicólico, el ácido tartárico.

Barker y col.^{3,4} publicaron que al irradiar soluciones de algunos carbohidratos, hidroxiaácidos y aminoácidos en sistemas libres de oxígeno los radicales derivados de éstos compuestos presentaban una fuerte tendencia a dimerizarse y que irradiaciones prolongadas producían materia polimérica. Posteriormente publicaron que la presencia de oxígeno inhibía la formación de polímeros y también la formación de ácido tartárico cuando se irradiaba ácido glicólico.

Negrón-Mendoza¹² publicó que al irradiar soluciones 0.001 M de ácido succínico en sistemas libres de oxígeno el producto formado en mayor proporción era precisamente el dímero del ácido succínico, el 1,2,3,4-butantetracarboxílico.

En otros grupos funcionales como en alcoholes, también se ha encontrado esta tendencia a dimerizarse bajo irradiación, así Jayson y col.²² observaron que al irradiar soluciones acuosas de etanol con rayos-X en presencia de oxígeno se formaba acetaldehído. Sin embargo, en soluciones libres de oxígeno se produjo además un dímero de etanol, el 2,3-diol butano.

En base a éstos antecedentes, al irradiar un hidroxácido como ácido málico en solución acuosa diluída en atmósfera libre de oxígeno se esperaba obtener como uno de los productos más abundantes de la radiólisis gamma un dímero de ácido málico. Asimismo era necesario determinar cuantitativamente otros productos de la radiólisis, así como la formación de compuestos de pequeños pesos moleculares tales como CO, H₂, CO₂, etc. que permiten dilucidar el mecanismo de la radiólisis.

III. EXPERIMENTACION

1.0 PLAN DE INVESTIGACION

Para desarrollar ésta investigación se propuso un esquema de trabajo en el cuál las técnicas de cromatografía en sus diferentes aspectos y cromatografía en fase vapor-espectrometría de masas se usaron ampliamente como los principales métodos para la identificación y cuantificación de los productos de la radiólisis. De esta manera se consideraron cuatro aspectos importantes: el análisis de los productos, el efecto de la dosis, presencia de capturadores y la variación de pH.

1.1 Análisis.

En base a los datos publicados en la literatura y la investigación preliminar con muestras irradiadas de ácido málico se hizo el estudio de los productos de radiólisis de acuerdo al siguiente esquema de la figura 1.

Donde el significado de:

- EV= espectrofotometría en el visible.
- EUV= espectrofotometría en el ultravioleta.
- CSG= cromatografía sólido-gas.
- CPF= cromatografía en placa fina.
- RMN= resonancia magnética nuclear.
- CLG= cromatografía líquido-gas.
- CLG-EM= cromatografía líquido-gas acoplado a espectrometría de masas.

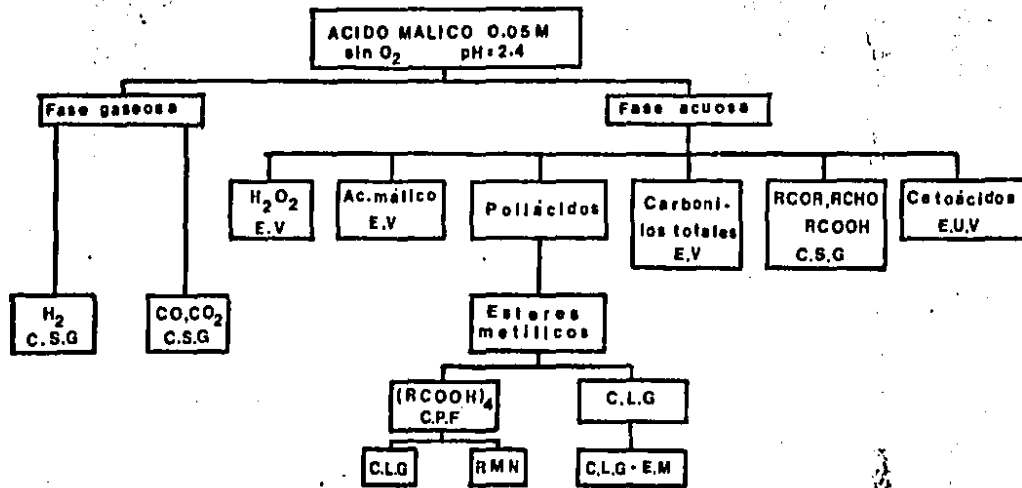


Fig. 1 Esquema de análisis para el ácido málico.

1.2 Efecto de la dosis.

Se estudió el efecto de la dosis de irradiación en la distribución de los productos de la radiólisis.

1.3 Presencia de compuestos capturadores.

Con objeto de dilucidar algunos aspectos del mecanismo de radiólisis se hicieron algunas irradiaciones en presencia de peróxido de hidrógeno, ácido perclórico y de oxígeno.

1.4 Variación del pH de la solución.

El pH de la solución se varió desde pH 1 a 9, con el objeto de estudiar los productos de la radiólisis en función de las especies formadas por la radiólisis del agua.

2.0 PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL.

Para llevar a cabo las irradiaciones de las soluciones diluídas de ácido málico fué necesario tomar en cuenta los siguientes aspectos, considerados muy importantes en química de radiaciones debido a que el material de vidrio, el agua y los reactivos utilizados deben tratarse de manera especial pues las impurezas afectan enormemente tanto al número de productos obtenidos como a la reproducibilidad de los experimentos. Por otro lado, como era de

interés estudiar el efecto de la dosis, utilizando el Gammacell-200 para dosis bajas, y el Gammabeam-650 para dosis medianas y altas, fue necesario disponer de técnicas que permitieran el uso de ampolletas y jeringas para irradiar en atmósfera libre de oxígeno, ya que, el incremento de la dosis, aumentaba considerablemente la cantidad de productos gaseosos haciendo imposible el uso de ampolletas.

Por otro lado fue necesario contar con técnicas experimentales reproducibles que permitieran tanto la identificación y cuantificación de los productos gaseosos, como no gaseosos. De tal manera, que se hicieron curvas de calibración para determinar cuantitativamente algunos productos como: H_2 , CO_2 , H_2O_2 , ácido málico, ácido malónico, ácido succínico, acetaldehído, carbonilos totales y cetoácidos.

2.1 Preparación del material de vidrio.

El material de vidrio utilizado en química de radiaciones debe estar perfectamente limpio y libre de impurezas orgánicas, para ésto, se lavó el material con mezcla sulfonítrica en caliente, se enjuagó con abundante agua de la llave, agua destilada y finalmente con agua tridestilada, colocándolo en una estufa toda la noche a $150^\circ C$ ó 4 horas en una mufla a $350^\circ C$.

2.2 Purificación del agua.

Para eliminar las impurezas orgánicas contenidas en el agua es necesario hacer una destilación triple, del agua destilada normalmente. . Primero se destila de una solución alcalina de permanganato de potasio luego de una solución ácida de dicromato de potasio y finalmente sin agregar reactivos. Para ello se utiliza un equipo de vidrio⁷ con juntas esmeriladas como se muestra en la figura 2. Sólo se utilizó agua recién destilada en todas las irradiaciones.

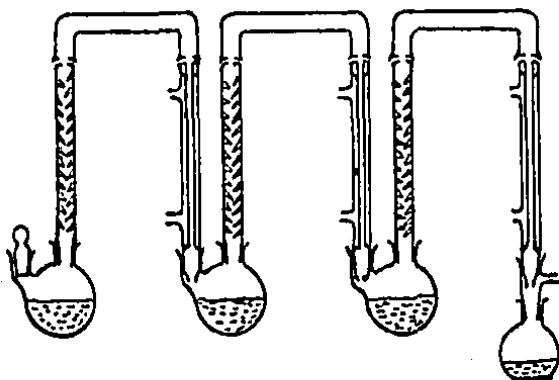


Fig. 2 Equipo para obtención de agua usada en química de radiaciones.

2.3 Purificación de los reactivos.

Los ácidos carboxílicos utilizados fueron re-cristalizados dos veces y secados en una estufa al vacío, de acuerdo con los procedimientos recomendados por Perrin.³⁶ El grado de pureza se determinó midiendo el punto de fusión en un aparato Fisher-Johns. Sin embargo, como no se encontró diferencia con los reactivos de mayor pureza que existe en el mercado (Sigma Chemical Company y E. Merck Darmstadt) se siguieron utilizando éstos últimos.

Los disolventes utilizados como metanol, benceno, acetona se purificaron de acuerdo a los procedimientos re-comendados por Perrin.³⁶

El reactivo 2,7-dihidroxi-naftaleno (para la determi-nación de ácido málico por espectrofotometría) fue purifi-cado por sublimación al vacío utilizando un dedo frío.

2.4 Preparación de las muestras para irradiación.

2.4.1 Muestras para irradiación en el Gammacell-200

Aproximadamente 150 ml de la solución de áci-do málico 0.05 M se colocaron en un matraz para degasamien-to de soluciones y preparación simultánea de varias mues-tras⁷ como se observa en la figura 3.

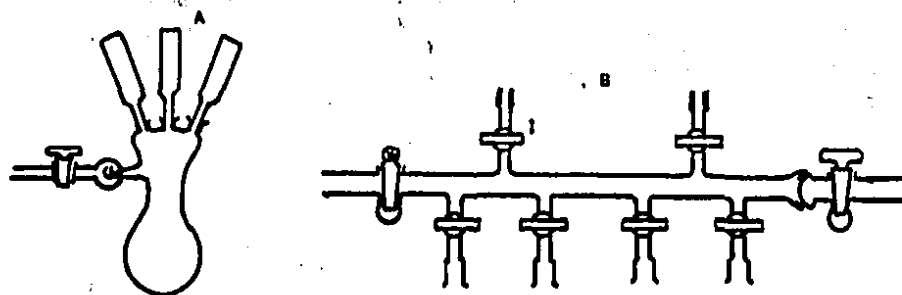


Fig. 3 A) Matraz para degasamiento y preparación simultánea de varias muestras con ampolletas y
B) Línea de vacío.

El equipo se conectó a una línea de vacío. Se cerró la llave 1, y se hizo el vacío, después de 2 ó 3 minutos se abrió lentamente la llave 1 para hacer el vacío en el matraz, con lo cual se desalojó el aire disuelto en la solución, al cabo de 2 ó 3 minutos se invirtió cuidadosamente el matraz y se agitó, repitiendo la operación de inversión varias veces durante 20 minutos, para asegurar la total expulsión del aire de la solución, se llenaron las ampolletas y se desconectó el vacío, rápidamente se taparon las ampolletas con tapón esmerilado una a una teniendo la precaución que no quedara ninguna burbuja de aire dentro de ellas.

2.4.2 Muestras para irradiación en el Gammabeam-650

Aproximadamente 30 ml de la solución de ácido málico 0.05 M se colocaron en jeringas de vidrio con tapón esmerilado con una capacidad de 50 ml, se saturaron con argón, haciendo burbujear el gas durante 30 minutos, con el objeto de expulsar todo el aire contenido en la solución y se taparon con los émbolos expulsando el argón remanente.

Estas técnicas para la preparación de las muestras son ampliamente utilizadas en química de radiaciones.^{6,7}

2.5 Procedimiento para la irradiación.

2.5.1 Fuentes radiactivas.

Se utilizaron dos fuentes de cobalto-60 el Gammacell-200 y el Gammabeam-650 del Centro de Estudios Nucleares de la UNAM, México, D. F.

Las irradiaciones con ambas fuentes se hicieron en la posición central a temperatura ambiente y en algunos casos utilizando un baño a temperatura controlada a 7°C.

El Gammacell-200²¹ es un irradiador que consta principalmente de una fuente anular fija de cobalto-60 dentro de un contenedor de plomo y una cámara.

Esta diseñado para usarse en un lugar sin blindaje.

En la cámara se colocaron las muestras, la cuál, es accionada verticalmente dentro y fuera de la fuente por medio de un sistema mecánico. Las medidas de la cámara son de 8.9 cm de diámetro por 13.9 cm. de alto.

La fuente anular consta de 24 lápices de acero inoxidable llenos de cobalto-60 en forma de cobalto metálico, colocados a la misma distancia dentro de una rueda de acero inoxidable formando un anillo cilíndrico radiactivo de 28 cm.

La actividad de la fuente en Septiembre de 1982, fue de 416 Ci (1.54×10^{13} Bq) de cobalto-60, con una intensidad de dosis de 0.073 Mrad/h (730 Gy/h).

El Gammabeam-650²⁰ es una fuente en la cual se puede irradiar panorámicamente y/o dentro de una cavidad interna con una razón de dosis variable. Se encuentra dentro de un cuarto blindado. Las fuentes están contenidas en 12 tubos verticales, los cuales están colocados en forma cilíndrica y pueden abrirse a diferentes diámetros, desde 11.4 cm a 82.5 cm. Cada tubo contiene 5 cápsulas, siendo en total 60. Cada cápsula mide una altura de 3.8 cm por 2.1 cm de diámetro conteniendo 1 mm de diámetro x 1 mm de alto de cobalto-60.

La actividad de la fuente en Septiembre de 1982, fue de 9874 Ci (3.65×10^{14} Bq) de cobalto-60, con una intensidad de dosis de 2.04 Mrad/h (20.4 KGy/h) en la posición central.

Para las irradiaciones a temperatura controlada se utilizó un baño refrigerante de cobre cuyo paso de agua es de 1 cm., con paredes aproximadamente de 1.6 mm de espesor, con capacidad para una jeringa de 50 ml. Para refrigerar se utilizó un enfriador automático y un baño circulador que contenía metanol. La intensidad de dosis determinada fue de 1.19 Mrad/h² (11.9 KGy/h) en la posición central el 19 de Marzo de 1981.

2.5.2 Dosis de irradiación.

Las dosis de irradiación para el ácido málico varió entre 5.00×10^{17} - 5.75×10^{20} eV/ml.

Para determinar la dosis recibida por las muestras se utilizó el dosímetro de Fricke.⁷ Para ello, se preparó una solución que contenía 1×10^{-3} M de FeSO_4 , 1×10^{-3} M de NaCl y 0.4 de H_2SO_4 . El rendimiento del ión férrico producido por la radiación gamma fue medido por espectrofotometría de ultravioleta a 304 nm. Para calcular la dosis se utilizaron los siguientes valores para $N=6.022 \times 10^{23}$ moléc./mol, el coeficiente de extinción molar $\xi=2197 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ a 25°C, $d=1.024 \text{ g/ml}$ para la solución de H_2SO_4 y $G_{(\text{Fe}^{+3})}=15.6$

2.6 Técnicas experimentales:

2.6.1 Determinación de productos gaseosos por cromatografía de gases.

Para la determinación de productos gaseosos en

muestras irradiadas de ácido málico se construyeron curvas de calibración para H_2 y CO_2 y se determinó el tiempo de retención para CO y CH_4 .

Para ello se utilizó un cromatógrafo de gases Varian 1400 equipado con un detector de conductividad térmica usando una columna empacada con gel de sílice (mallas 40/60) de acero inoxidable de 4 m de largo por 3.2 mm de diámetro. Como gases acarreadores se usaron helio para el análisis de CO_2 y CO y argón³³ para la determinación de H_2 .

La determinación de los gases* se realizó utilizando una bomba Toepler modificada³⁴ en la cual se lleva a cabo la extracción de los gases disueltos en la solución acuosa, éstos se transfieren al cromatógrafo de gases mediante una llave de cuatro pasos para su cuantificación. La modificación del equipo permite hacer varias extracciones para una misma muestra, logrando así calcularse estadísticamente la eficiencia en la extracción, y determinar el intervalo adecuado de concentraciones a analizar.

La figura 4, muestra la bomba Toepler modificada, acoplada a un cromatógrafo de gases, un integrador y un graficador.

*Se agradece a José Luis Torres del Laboratorio de Química de Radiaciones del C.E.N., UNAM., su ayuda en la realización de este análisis.

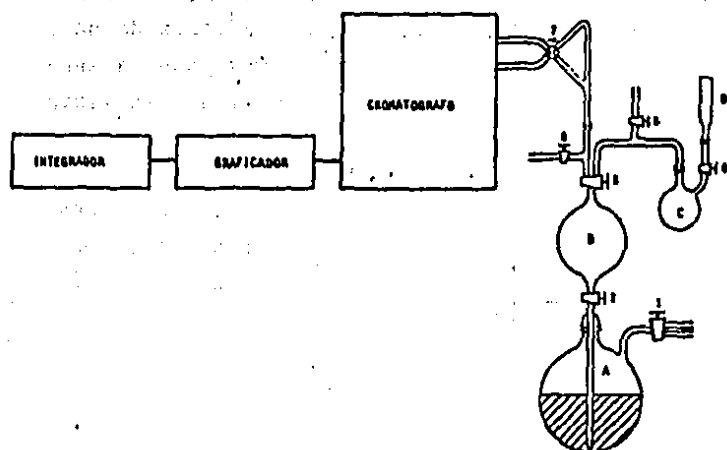


Fig. 4 Bomba Toepler modificada.

Esta consta de: un matraz A de 2 litros de capacidad lleno con aproximadamente un litro de mercurio, dos matrazes B y C de 500 ml y 50 ml de capacidad respectivamente, un tubo capilar conectado a las ramas de una llave de cuatro pasos y siete llaves de paso (4 sencillas, 1 doble y una sencilla con doble entrada). Todo el equipo que en conjunto constituye la bomba Toepler es de vidrio y está unido, a través, de juntas esmeriladas.

La técnica consiste en hacer vacío en el matraz B y C, transferir la muestra problema contenida en la jeringa

o ampollita D al matraz C, agitar y pasar el gas al matraz B mediante la llave de paso No. 3. Comprimir el gas problema subiendo el mercurio del matraz A, y transferir éste al tubo capilar, a través, de la llave de paso No. 3. Arrastrar finalmente el gas o los gases a analizar con helio o argón al cromatógrafo abriendo la llave de cuatro pasos No. 7.

Tanto el paso de los gases a través de los matraces B y C, como las evacuaciones y la agitación se hizo con tiempos controlados. Estos fueron de 5 segundos, 10 minutos y 3 min. respectivamente.

La llave de paso No. 6 Permite hacer varias extracciones de una misma muestra.

Las condiciones cromatográficas para la determinación de H_2 fueron las siguientes:

T° inyector	240°C
T° detector	200°C
Argón	30 ml/min.
T° de la columna	50°C, isoterma
corriente en el detector	75 mA
atenuación	4
velocidad de papel	1 cm/min.

Para la curva de calibración se usaron los sistemas resumidos en la tabla I. Estos sistemas fueron irradiados a diferentes dosis en un intervalo entre 4.9×10^{17} y 1.6×10^{18} eV/ml.

TABLA I

H₂

Sistema	Concentración	Atmósfera	pH	G ^o inicial
EtOH	1x10 ⁻¹ M	vacío	2	3.65
EtOH	1x10 ⁻² M	vacío	7	1.0
NaNO ₃	1x10 ⁻⁴ M	vacío	7	0.45

Una vez obtenido el cromatograma la altura del pico de H₂ se relacionó al peso de la muestra.

Cada punto de la curva se hizo por triplicado teniendo un porcentaje de error de ± 6 % con un límite de detección de concentraciones entre 1.3x10⁻⁶ a 7.4x10⁻⁵ M.

La figura 5, muestra la curva de calibración obtenida para la determinación de hidrógeno presentando una respuesta lineal hasta concentraciones de 3.3x10⁻⁵ M.

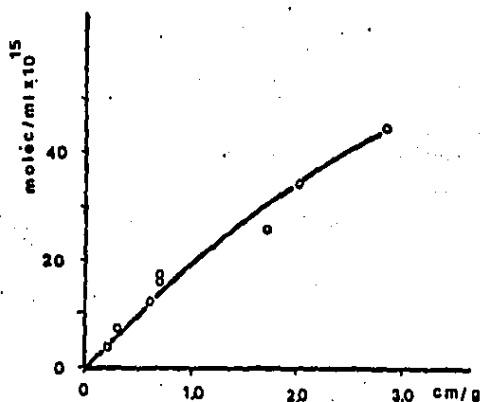


Fig. 5 Curva de calibración para la determinación de H₂.

Las condiciones cromatográficas para la determinación de CO₂ fueron las siguientes:

T° inyector	240 °C
T° detector	200 °C
Helio	30 ml/min.
T° de la columna	55 °C
corriente en el detector	200 mA
atenuación	1
velocidad de papel	0.25 cm/min.

Para construir la curva de calibración para la determinación de CO₂ se usaron diversos sistemas, los cuales por irradiación a diferentes tiempos producen cantidades

conocidas de CO_2 . Estos sistemas se irradiaron en atmósfera con oxígeno, a los cuales se les hizo pasar una corriente de O_2 durante 30 min. En la tabla II se encuentran resumidos éstos sistemas.

TABLA II

CO_2

Sistema	Concentración	Atmósfera	G inicial
HCOONa	5×10^{-4} M	O_2	2.56
HCOONa	2.5×10^{-2} M	O_2	3.22
COOH-COOH	2.5×10^{-4} M	O_2	5.8

Para desalojar el CO_2 de las soluciones acuosas fue necesario agregar 4 ml de ácido láctico concentrado al matraz C, antes de iniciar el procedimiento para su extracción.

Una vez obtenido el cromatograma el área del pico de CO_2 se relacionó al peso de la muestra.

Cada punto de la curva se hizo por triplicado, trabajando muestras blanco para corregir el área de CO_2 determinado en las muestras, teniendo un porcentaje de error de $\pm 7\%$, con un límite de detección de concentraciones entre 2.2×10^{-6} a 2.2×10^{-3} M.

La figura 6, muestra la curva de calibración obtenida para la determinación de CO_2 .

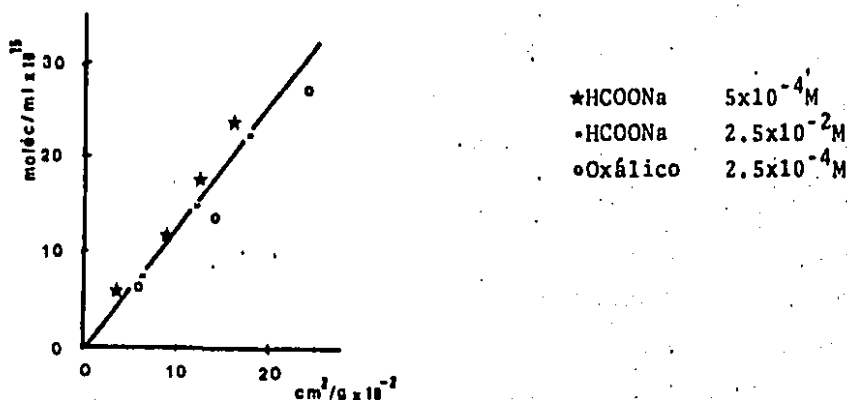


Fig. 6 Curva de calibración para la determinación de CO_2 .

El análisis cualitativo se hizo por comparación de los tiempos de retención con muestras de los gases H_2 , CO , CH_4 y CO_2 inyectados directamente por el inyector en el cromatógrafo y por comparación con una muestra irradiada de ácido acético en solución acuosa, el cual se conoce que por irradiación produce CO , CH_4 , H_2 y CO_2 . Se hizo una modificación al programa cromatográfico y esto permitió analizar con una sola muestra los gases presentes.

La figura 7, muestra un cromatograma de una solución

irradiada de ácido acético, se utilizó como gas acarreador helio, la velocidad de papel durante los primeros 7 min. fue de 1cm/min. y después se cambió a 0.25 cm/min.

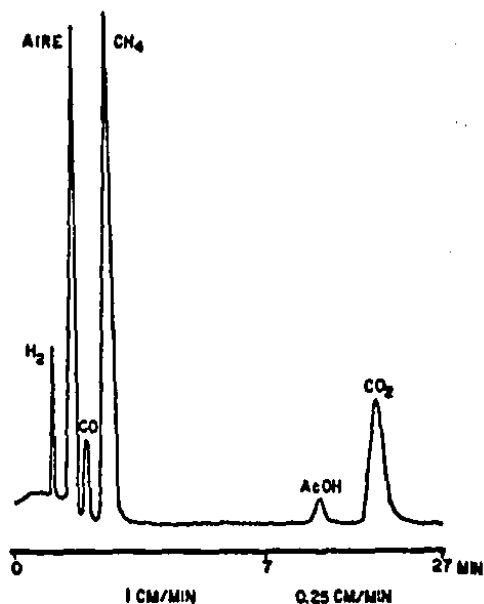


Fig. 7 Cromatograma de una solución irradiada de ácido acético.

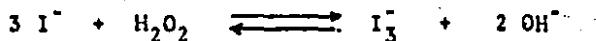
2.6.2 Determinación de peróxidos por espectrofotometría.

Para la determinación de peróxidos en muestras irradiada

das de ácido málico se construyeron curvas de calibración por dos métodos diferentes.

Método del yoduro¹ consiste en una oxidación del reactivo yoduro por el peróxido de hidrógeno en medio básico, formándose el ión triyoduro el cual se midió espectrofotométricamente, presentando una absorción máxima a 350 nm.

La siguiente ecuación química representa el cambio observado:



El reactivo se preparó mezclando volúmenes iguales de (a) una solución conteniendo 0.5 g de NaOH, 16.5 g KI, 0.05 g de $(NH_4)_6Mo_7O_{24} \cdot 4H_2O$ en 250 ml de agua destilada y (b) 5 g de ftalato ácido de potasio en 250 ml de agua destilada. La solución alcalina es estable, pero el yoduro se oxida lentamente cuando se disuelve oxígeno al pH de la mezcla de los reactivos, donde el peróxido reacciona rápidamente con yoduro en presencia de molibdato como catalizador.

La titulación del H_2O_2 usado para las curvas de calibración se llevó a cabo con permanganato de potasio en medio ácido determinándose una concentración de 10.3 M. Se hicieron dos diluciones cuyos factores fueron de 1/1000 x 1/250 para tener una concentración final de peróxido de hidrógeno entre 10^{-4} a 10^{-5} M.

Se realizaron las lecturas en un espectrofotómetro

Unicam SP 500 de soluciones que contenían diferentes volúmenes de peróxido de hidrógeno, 1 ml de solución de ácido málico 0.05 M, 5 ml de la mezcla del reactivo, y agua necesaria para completar un volumen de 10 ml.

Se utilizaron celdas cuyos pasos de luz eran de 1 cm midiendo la densidad óptica contra una muestra blanco. Cada punto se hizo por triplicado teniendo un porcentaje de error de $\pm 3\%$.

El valor del coeficiente de extinción molar determinado en presencia de ácido málico fue de $\epsilon_{350} = 24517 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$.

La figura 8 muestra la curva de calibración obtenida para la determinación de peróxido de hidrógeno en presencia de ácido málico.

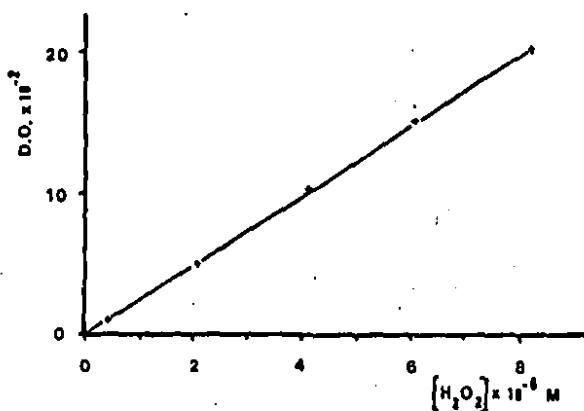
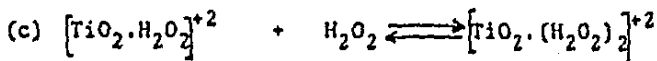
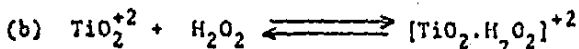
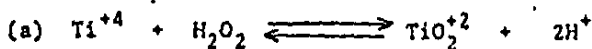


Fig. 8 Curva de calibración para determinar H₂O₂ por el método del yoduro en presencia de ácido málico.

Método del sulfato de titanio⁹ consiste en la formación de un complejo de titanio con peróxido de hidrógeno. El complejo de color amarillo se midió espectrofotométricamente a una longitud de onda entre 380 a 430 nm, intervalo donde es válida la ley de Beer. Se piensa que al reaccionar el sulfato de titanio con peróxido de hidrógeno, primero se forma el ión TiO_2^{+2} el que se acompleja con otras moléculas de H_2O_2 . Las siguientes ecuaciones químicas representan el cambio observado:



donde el valor de la constante de equilibrio para la reacción (a) es $K_c = 1 \times 10^4$ y los valores de las constantes de formación para los complejos en las reacciones (b)¹¹ y (c)¹¹ son $K_c = 7.24 \times 10^3$ y $K_c = 2.75 \times 10^2$ respectivamente.

Para la preparación del reactivo se hizo un método mucho más fácil y rápido que el informado por G. Eisenberg.⁹ La técnica consiste en disolver 1 g de TiO_2 con aproximadamente 40 ml de H_2SO_4 (1:1) en caliente. El ácido sulfúrico debe agregarse en pequeñas porciones de aproximadamente 10 ml, agitando y calentando a ebullición hasta casi se quedada cada vez. Esta operación demora entre 5 a 10 minutos. Una vez que se disolvió la mayor cantidad de sólido, se dejó de agregar ácido sulfúrico, se enfrió, se filtró con embudo Büchner y se agregó agua destilada hasta completar

un volumen de 500 ml.

Para construir la curva de calibración, fue necesario preparar una solución diluida de H_2O_2 a partir de la solución concentrada cuya molaridad era de 10.3 M. Los factores de dilución empleados fueron de $1/500 \times 5/250$ para tener una concentración final de peróxido de hidrógeno entre $(10^{-3}-10^{-4})$ M.

Se realizaron las lecturas en un espectrofotómetro Unicam SP 500 de soluciones que contenían volúmenes de H_2O_2 , 3 ml de ác. málico 0.05 M, 1 ml del reactivo $Ti(SO_4)_2$ y agua destilada necesaria para completar un volumen de 10 ml. Se utilizaron celdas cuyo paso de luz eran de 1 cm. midiendo la densidad óptica a 420 nm contra una muestra blanco. Cada punto se hizo por triplicado teniendo un porcentaje de error de $\pm 2 \%$.

La figura 9 muestra la curva de calibración obtenida para la determinación de peróxido de hidrógeno en presencia de ácido málico, obteniéndose un coeficiente de extinción molar para el complejo de $\epsilon_{420} = 684 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$.

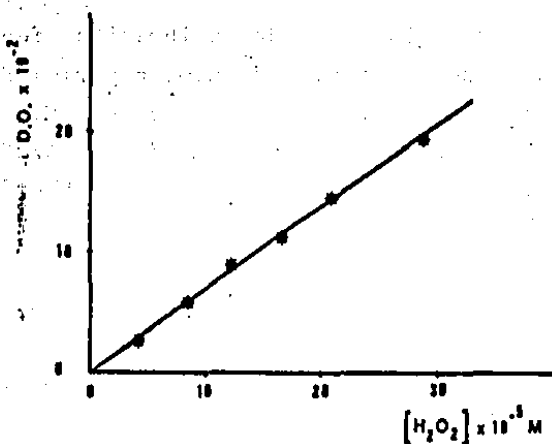


Fig. 9 Curva de calibración para determinar H_2O_2 por el método del sulfato de titanio en presencia de ácido málico.

2.6.3 Determinación de ácido málico por espectrofotometría en el visible.

Para la determinación de ácido málico en muestras irradiadas se disponía de varias técnicas, entre ellas métodos fluorométricos, enzimáticos, cromatografía de partición y espectrofotométrico. Se ensayaron dos métodos fluorométricos los cuales no fueron reproducibles.^{19, 27, 5}

Goodban y Stark¹² determinaron ácido málico haciendo reaccionar éste con 2,7-dihidroxinaftaleno (I) en medio de ácido sulfúrico concentrado. La reacción consiste en la

Cada punto se hizo por triplicado teniendo un porcentaje de error de $\pm 2\%$ y un límite de detección entre $(3.7 \times 10^{-5}$ a $6 \times 10^{-4})$ M.

El valor del coeficiente de extinción molar determinado fue de $\epsilon_{390} = 9262 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$.

Además, se hizo un estudio de interferencia con los ácidos succínico, malónico, cítrico, oxalacético y tartárico determinando que éstos no afectan la medición de la densidad óptica.

La figura 10 muestra la curva de calibración obtenida para la determinación de ácido málico.

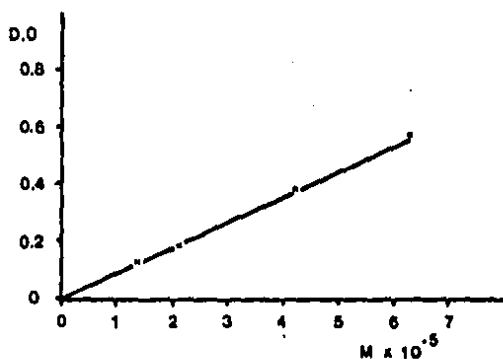
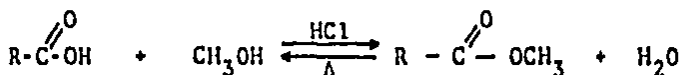


Fig. 10 Curva de calibración para determinar ácido málico por espectrofotometría.

2.6.4 Determinación de poliácidos por cromatografía de gases.

Para la determinación de los ácidos carboxílicos por cromatografía de gases fue necesario preparar los derivados metílicos correspondientes.

La siguiente ecuación química representa el cambio producido:



La esterificación se llevó a cabo con una solución de metanol/HCl, calentando durante una hora a ebullición suave. Para preparar el reactivo fue necesario generar ácido clorhídrico gaseoso, el cual se burbujeó en metanol hasta obtener una solución 3 N en HCl.

Para construir las curvas de calibración para los diferentes ácidos carboxílicos se agregó 2 ml de solución de ácido adípico en metanol 1×10^{-2} M como estándar interno antes de esterificar y las soluciones acuosas de los ácidos carboxílicos fueron evaporadas en un rotavapor a 50°C.

Los ésteres fueron extraídos dos veces con 4 ml de benceno y finalmente secados utilizando un embudito empacado con Na_2SO_4 anhidro, el solvente se evaporó con una corriente de aire seco.

Para separar y determinar microcantidades de los és-

teros metálicos se utilizó una columna de acero inoxidable con una fase líquida no volátil al 10 % Reoplex 400 sobre un soporte sólido de chromosorb W, lavada con ácido DMCS de mallas 80/100 de 2 m. de largo x 3.2 mm de diámetro in terno desarrollada por Harmon y Doelle.¹⁵ La columna se acondicionó durante 48 hs. utilizando N₂ como gas acarreador con un flujo de 30 ml/min.

Se utilizó un cromatógrafo de gases Varian 2400 equipado con un detector de ionización de flama y un integrador 3388 A Hewlett Packard.

Las condiciones cromatográficas fueron las siguientes:

T° inyector	200°C
T° detector	230°C
Nitrógeno	30 ml/min.
Hidrógeno	30 ml/min.
Aire	300 ml/min.
T° columna	programada desde 60°C a 200°C a 4°C/min.
velocidad de papel	0.5 cm/min.

Se determinó la razón entre el área del pico obtenido de cada éster y el estándar interno

$$\left(R_a \frac{\text{área del pico del éster}}{\text{área del pico del estándar interno}} \right)$$

La figura 11 nos muestra un cromatograma obtenido con

diferentes ácidos carboxílicos puros donde se observa la buena resolución de los picos.

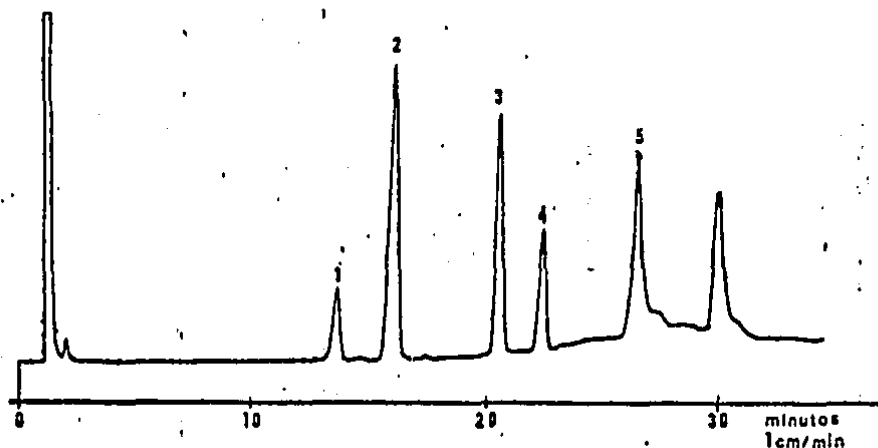


Fig. 11 Cromatograma de los ésteres metílicos de los ácidos: (1) malónico, (2) succínico, (3) adípico (4) málico y (5) tricarbálico, con la columna μ 10 $\&$ Reoplex 400.

La figura 12 nos muestra las curvas de calibración R_B vs [concentración], obtenida para los ésteres metílicos de los ácidos málico, malónico y succínico.

El método de absorción por columna de Reoplex 400 para la determinación de los ácidos succínico, málico y malónico en fase acuosa se utilizaron dos técnicas

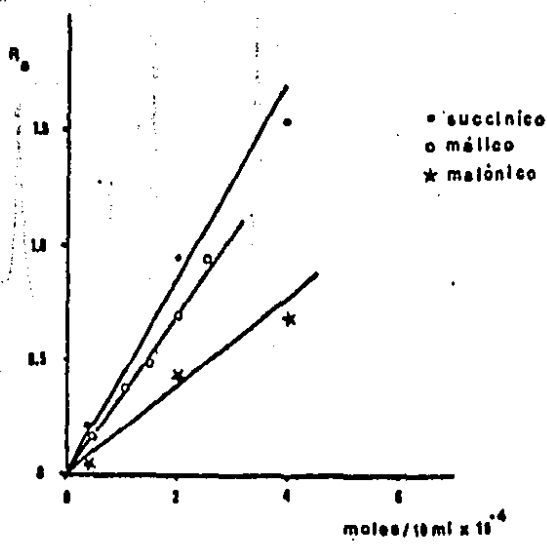


Fig. 12. Curvas de calibración para los ésteres metílicos de los ácidos succínico, málico y malónico con la columna de Reoplex 400.

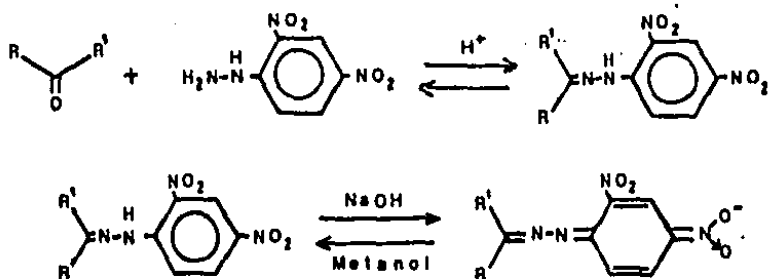
2.6.5 Determinación de cetonas, aldehídos y ácidos de cadena corta.

Para la determinación de éstos productos no ga seosos volátiles en fase acuosa se utilizaron dos técnicas

analíticas: espectrofotometría en el visible y cromatografía de gases.

Técnica espectrofotométrica: Se utilizó la desarrollada por Johnson y Scholes,²⁴ modificada por Olea.³⁵

El fundamento teórico consiste en hacer reaccionar la cetona con 2,4-dinitrofenilhidrazina para formar una hidrazona que absorbe a 432 nm. El exceso de hidrazina también absorbe, por esto, es necesario hacer las lecturas contra un blanco preparado de la misma forma. La ecuación química representa el cambio químico producido:



Para construir la curva de calibración para acetona se hizo reaccionar durante 30 min. 1 ml de solución de acetona que contenía diferentes concentraciones entre $(8.6 \times 10^{-5} - 6.0 \times 10^{-5})\text{M}$ con 1 ml del reactivo (se disolvió 0.25 g de la 2,4-dinitrofenilhidrazina en 100 ml de HClO_4 al 30 %) en un tubo para centrífuga, se agregaron 6 ml de CCl_4 y se pusieron los tubos a centrifugar durante 5 min. Luego se midieron 4 ml de solución con pipeta volumétrica

y se colocaron en un matraz de aforo de 10 ml, se añadió 1 ml de solución de NaOH 0.1 M en etanol y se completó el volumen con etanol. A éstas soluciones se les midió la densidad óptica contra una muestra blanco en el espectrofotómetro Unicam SP 500 con celdas de 1 cm de paso de luz.

Cada punto se hizo por triplicado teniendo un porcentaje de error de $\pm 0.5 \%$.

El valor del coeficiente de extinción molar determinado para acetona fue de $\epsilon_{432} = 13466 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$.

La figura 13 muestra la curva de calibración para la determinación de acetona.

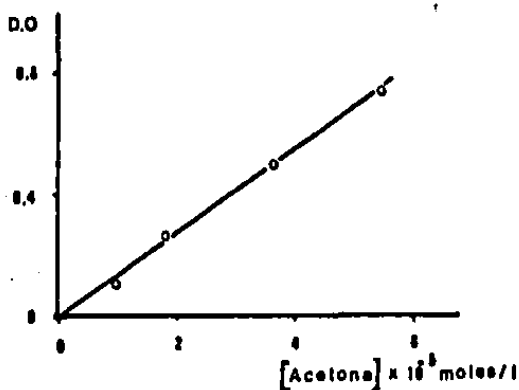


Fig. 13 Curva de calibración para determinar acetona por espectrofotometría.

Siguiendo la misma técnica se determinó el coeficiente de extinción molar para acetaldehído $\epsilon_{432} = 14667 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$.

La figura 14 muestra la curva de calibración obtenida para la determinación de CH_3CHO .

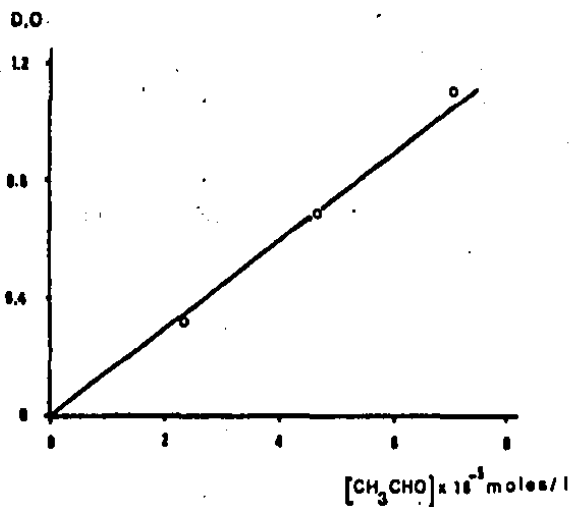


Fig. 14 Curva de calibración para determinar acetaldehído por espectrofotometría.

Técnica por cromatografía de gases: Se utilizó un cromatógrafo de gases Varian 2400 equipado con un detector de ionización de flama y un integrador 3388 A Hewlett Packard.

Se construyó una curva de calibración con solución de acetaldehído trabajando las muestras a 7°C, las muestras no tuvieron que procesarse, se hizo inyección directa en el cromatógrafo, se utilizó una columna de Chromosorb 102 de acero inoxidable de 2.05 m de largo x 3.2 mm de diámetro. Se usó nitrógeno como gas acarreador. Se inyectaron 5 µl de solución de CH₃CHO cuyas concentraciones variaron entre (7.1x10⁻²-7.1x10⁻⁶)M.

Las condiciones cromatográficas usadas fueron las siguientes:

T° inyector	200°C
T° detector	230°C
nitrógeno	30 ml/min
hidrógeno	30 ml/min
aire	300 ml/min
T° columna preparada	desde 60°C a 200°C a 4 C/min

La figura 15 muestra la curva de calibración obtenida para muestras de acetaldehído a diferentes concentraciones.

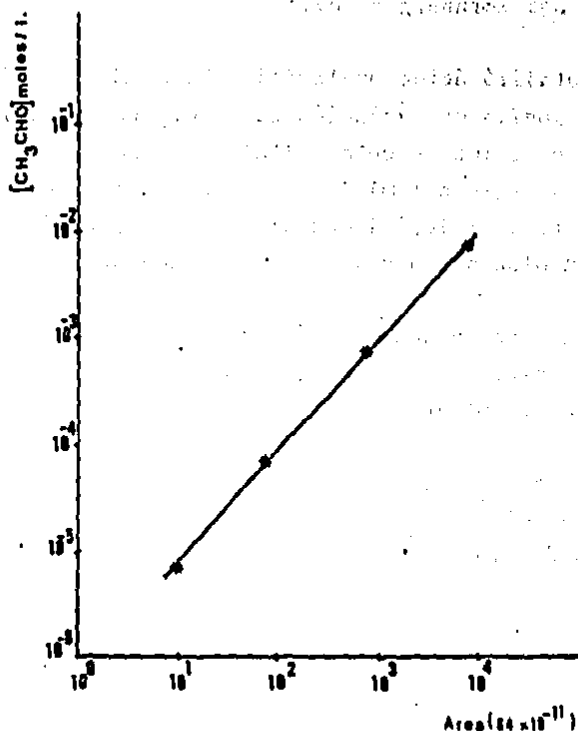


Fig. 15 Curva de calibración para la determinación de acetaldehído por cromatografía de gases utilizando una columna de Chromosorb 102.

2.6.6 Determinación de cetoácidos por espectrofotometría en el U. V.

La determinación de cetoácidos se hizo por medio del complejo inestable de aluminio de acuerdo a lo en contrado por Kornberg y col.²⁶

Se utilizó ácido oxalacético $5 \times 10^{-4} M$ llevando la solución a $pH=7.3$ con solución de NaOH. En una celda de 1 cm de paso de luz se colocó 1 ml de la solución de oxalacetato y se agregó 1 ml de solución de $Al_2(SO_4)_3$ $1.25 \times 10^{-4} M$, se agitó y se leyó inmediatamente la densidad óptica contra un blanco a una longitud de onda de 270 nm.

El máximo de densidad óptica fue obtenido a los 3 minutos de adicionar el ión Al^{+3} , seguido de un rápido decaimiento del complejo.

La figura 16 muestra el comportamiento del oxalacetato con ión Al^{+3} en el cual la concentración final del ceto ácido es de $2.5 \times 10^{-4} M$.

... y ...
... y ...
...
...
...
...

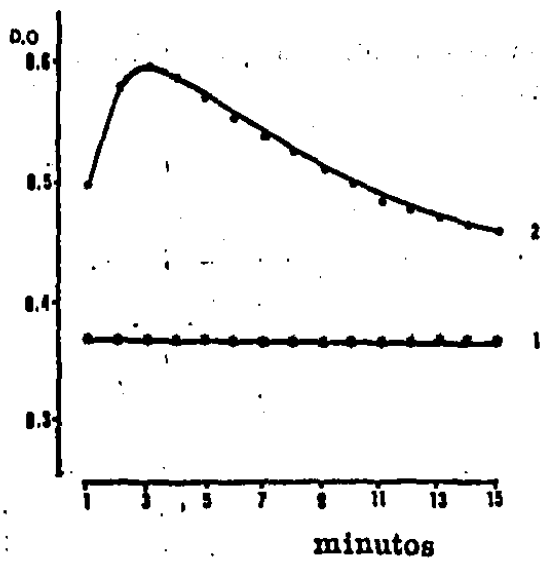


Fig. 16 Curva 1: oxalacetato;
Curva 2: oxalacetato y $1.25 \times 10^{-4} M Al_2(SO_4)_3$.

3.0 RESULTADOS EXPERIMENTALES.

Al irradiar soluciones acuosas de DL-málico 0.05 M con radiación gamma de cobalto-60 a diferentes dosis y a pH=2.4 en atmósfera libre de oxígeno, fue posible determinar cuantitativamente H_2 , CO_2 , ácido málico, ácido malb́nico, ác. succínico, acetaldehído y H_2O_2 .

También se determinó cuantitativamente como variaba el rendimiento (G_{H_2}) de hidrógeno en presencia de $HClO_4$ y H_2O_2 .

Se determinaron cualitativamente los siguientes compuestos: CO, formaldehído, acetona, glioxal, ácido acético, ácido pimélico, ác. acetilsuccínico, ác. tricarbalilico, ácido aconfítico, ácido cítrico, ác. 2,3-dihidrox*il*o, 1,2,3,4-butantetracarboxílico, ác. 1,2,3,4-butantetracarboxílico, ác. 1,4-dihidrox*il*o-1,2,3,4-butantetracarboxílico y tentativamente dos dímeros del ácido oxalacético, en algunos casos fué posible hacer una estimación de sus concentraciones.

3.1 Determinación de CO, H_2 y CO_2 en muestras irradiadas.

Se determinaron cualitativamente los siguientes productos gaseosos: H_2 , CO y CO_2 .

La figura 17 muestra un cromatograma para una muestra irradiada de ácido málico a 10 KGy contra una muestra blanco de ácido málico.

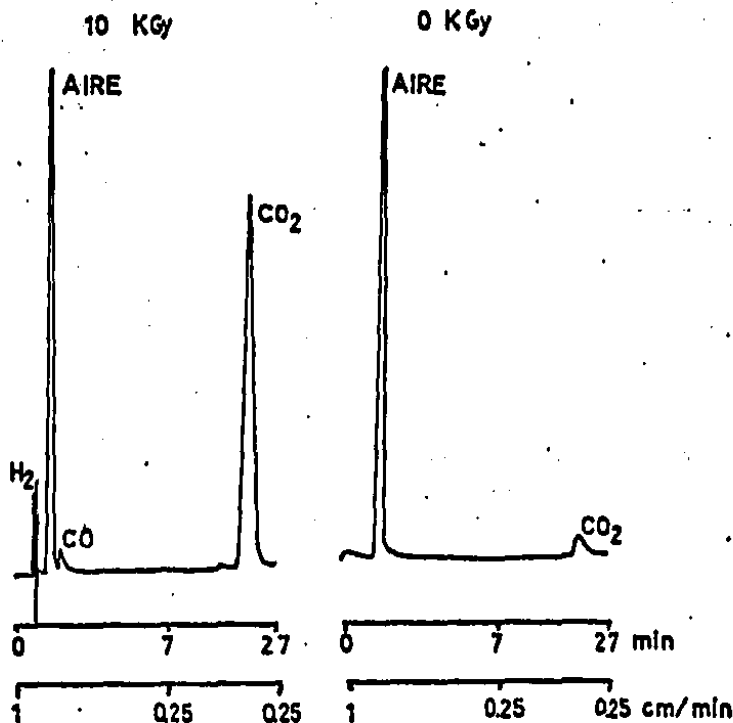


Fig. 17 Cromatograma de una solución irradiada de ácido málico contra una muestra blanco, utilizando una columna de gel de sílice, helio como gas acarreador, la velocidad de papel durante los primeros 7 min. fue de 1 cm/min. y después se cambió a 0.25 cm/min.

El rendimiento radioquímico cuantitativo obtenido experimentalmente para H₂ y CO₂ a diferentes dosis en muestras irradiadas se muestra en las figuras 18 y 19. Obteniéndose un valor de $G_{H_2} = 2.2$ y $G_{CO_2} = 0.56$

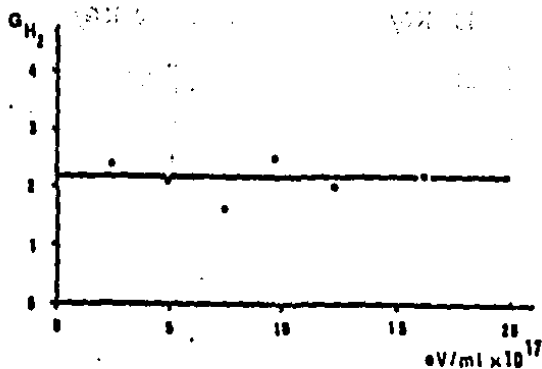


Fig. 18 Determinación de H_2 en soluciones irradiadas de ácido málico a dosis bajas.

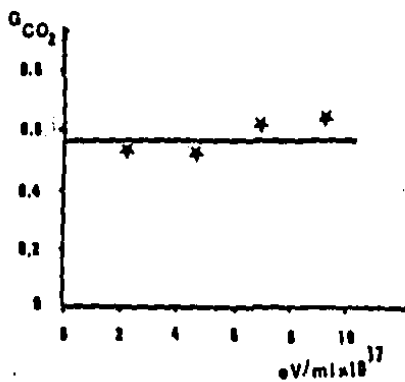


Fig. 19 Determinación de CO_2 en soluciones irradiadas de ácido málico a dosis bajas.

La figura 20 muestra la variación de la concentración de CO_2 en función de la dosis de irradiación.

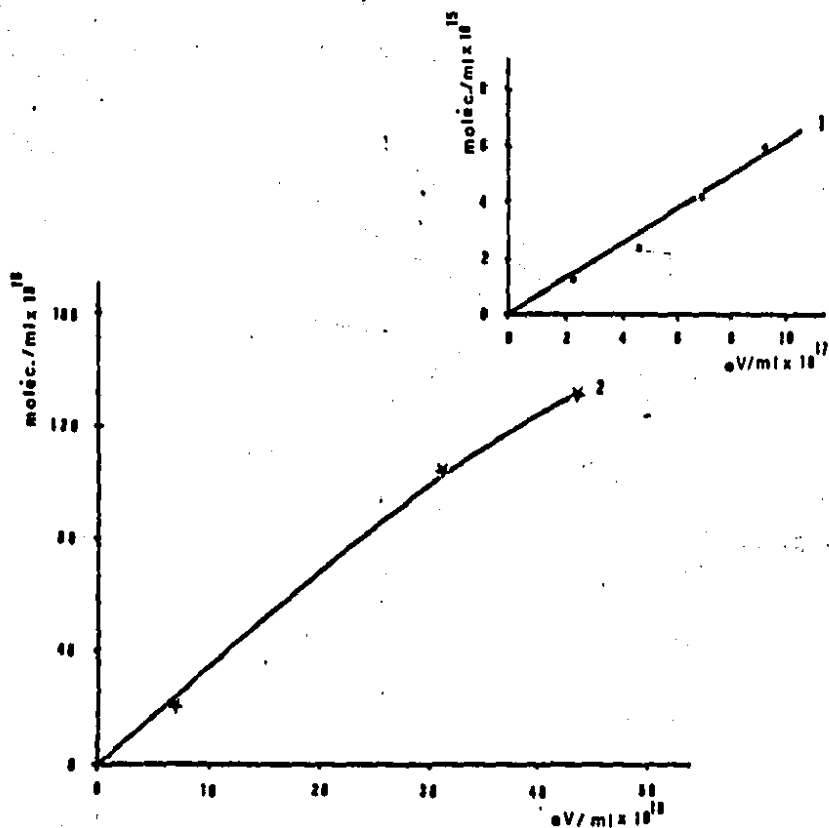


Fig. 20 Determinación de CO_2 en soluciones irradiadas de ácido málico a dosis bajas (1) y a dosis altas (2)

La figura 21 muestra como varían las concentraciones de H_2 en función de la dosis cuando se irradian soluciones de ácido málico libres de O_2 en presencia de ácido perclórico y peróxido de hidrógeno.

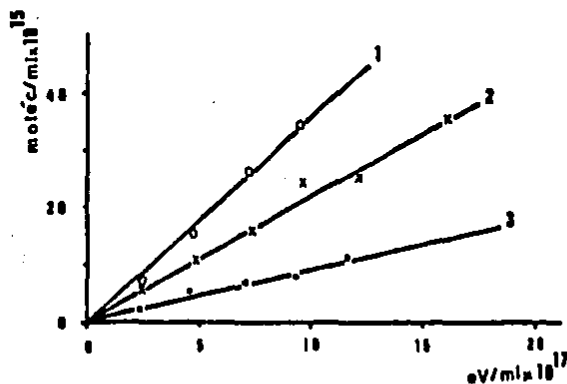


Fig. 21 Determinación de H_2 en muestras irradiadas de ácido málico libres de O_2 .

- (1) En presencia de $HClO_4$.
- (2) Sin reactivos
- (3) En presencia de H_2O_2 .

3.2 Determinación de peróxido de hidrógeno en muestras irradiadas.

Se determinó un valor $G_{H_2O_2} = 0.69$ en muestras

irradiadas. La figura 22 muestra el comportamiento radioquímico del peróxido de hidrógeno en función de la dosis de irradiación.

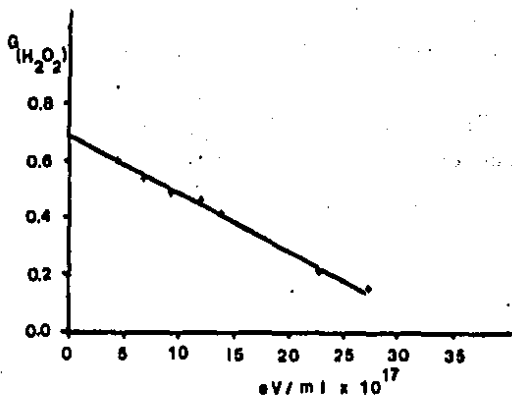


Fig. 22 Determinación de H_2O_2 en soluciones irradiadas de ácido málico 0.05 M en atmósfera libre de O_2 .

El rendimiento radioquímico decrece en función de la dosis. La curva resultante corresponde a un comportamiento normal para muestras irradiadas, ya que, el valor experimental de $G_{H_2O_2}$ inicial corresponde al valor determinado para la radiólisis del agua.

3.3 Determinación de ácido málico usando dos técnicas analíticas en muestras irradiadas.

La figura 23 muestra la variación de la concentración de ácido málico en muestras irradiadas usando los métodos espectrofotométricos y cromatografía de gases.

El valor de rendimiento de descomposición del ácido málico es $G(-\text{ác. málico}) = 5.3$

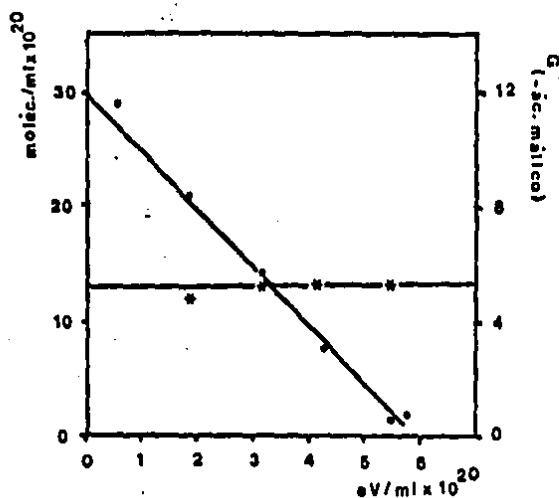


Fig. 23 Variación de la concentración de ácido málico en función de la dosis y determinación de la $G(\text{descomposición})$ de ácido málico en muestras irradiadas.

3.4 Determinación de ácidos di, tri y tetracarboxílicos en muestras irradiadas.

La identificación de éstos ácidos se hizo por cromatografía de gases comparando los tiempos de retención con muestras conocidas, coinyección con estándares y finalmente por su patrón de fragmentación por espectrometría de masas.

Para la determinación de ácidos carboxílicos, se colocaron 10 ml de las soluciones irradiadas a diferentes dosis en un matraz de bola para evaporar el agua en un rotavapor a 50°C, se disolvió el residuo en metanol y la solución resultante se transvasó con pipeta Pasteur a un tubo de cultivo efectuando la esterificación y la determinación cuantitativa en la misma forma en que se trabajaron las muestras para construir las curvas de calibración.

La figura 24 muestra los cromatogramas obtenidos de muestras irradiadas de ácido málico a diferentes dosis. En ella se observa que el área del pico No. 4 correspondiente a ácido málico decrece conforme aumenta la dosis de irradiación, y que las áreas de los picos con un tiempo de retención mayor de 35 min. aumentan considerablemente a 88 K Gy.

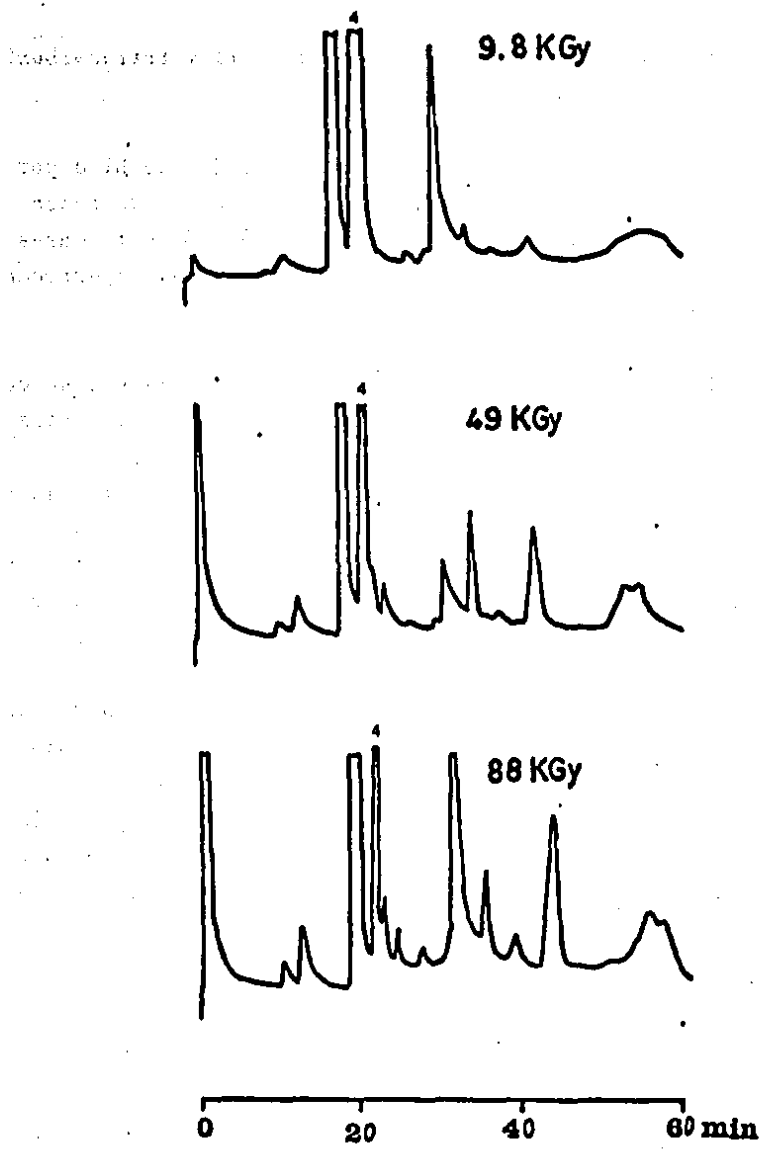


Fig. 24 Cromatogramas de soluciones de ácido málico irradiadas a diferentes dosis.

La figura 25 muestra los cromatogramas obtenidos para una muestra irradiada a 49 KGy y la coinyección con el éster metílico del ácido cítrico correspondiente al pico No. 8.

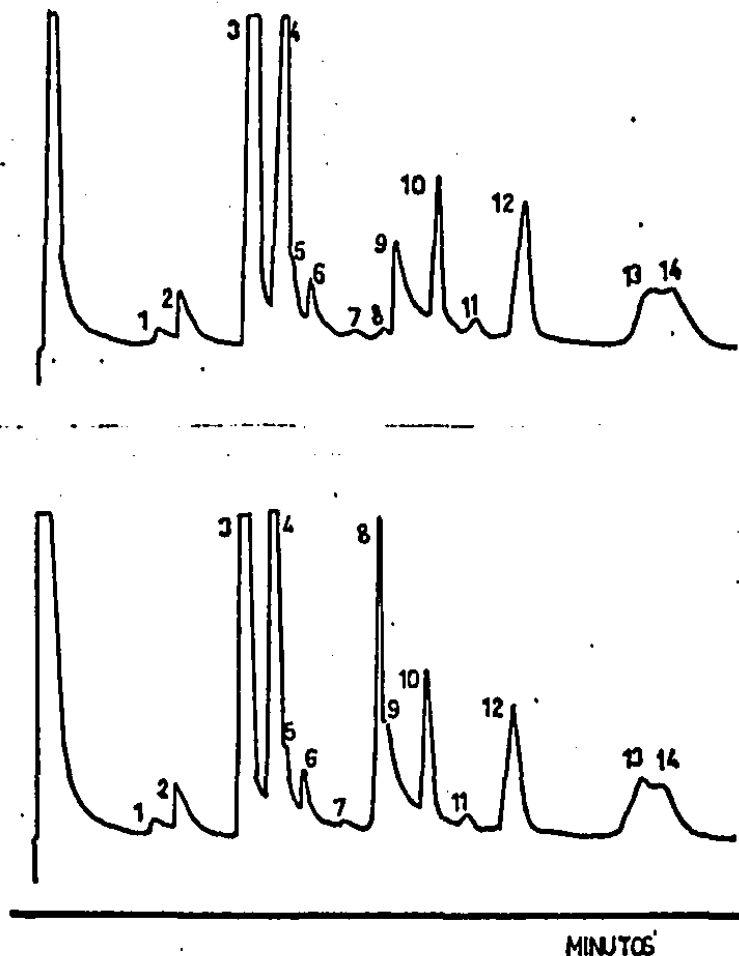


Fig. 25 Cromatogramas comparando el área del pico No. 8 correspondiente al éster metílico del ácido cítrico por efecto de una coinyección.

Quantitativamente se determinó la variación de la concentración de los ácidos málico, succínico y malónico en función de la dosis de irradiación, usando una columna de Reoplex 400, encontrándose los siguientes resultados como se muestran en las figuras 26 y 27.

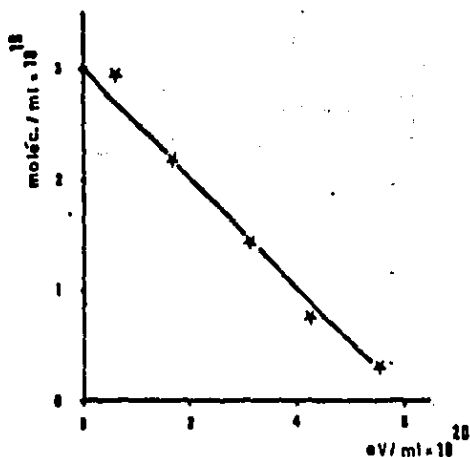


Fig. 26 Variación de la conc. de ácido málico en función de la dosis por C.L.G. usando una columna de Reoplex 400 en muestras irradiadas de ác. málico.

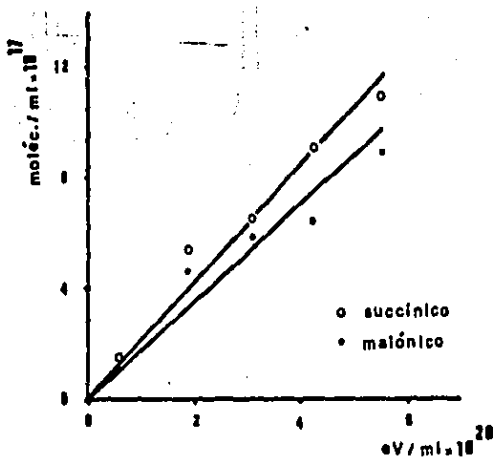


Fig. 27 Variación de las conc. de los ácidos succínico y malónico en función de la dosis por C.L.G. usando una columna de Reoplex en muestras irradiadas de ácido málico.

Las curvas resultantes muestran que a medida que de-
crece la concentración de ácido málico, va aumentando la
concentración de los ácidos succínico y malónico hasta
una dosis de 88 KGy siendo mayor la concentración del
primero.

El rendimiento radioquímico de formación para los
ácidos fueron de $G_{(\text{ác. succínico})} = 0.34$ y $G_{(\text{ác. malónico})} =$
0.21

Finalmente se hizo un estudio de los espectros de ma-
sas obtenidos por C.L.G-E.M.* usando la técnica de impacto
electrónico. En la fragmentación de los ésteres metílicos
inducido por impacto electrónico el ión molecular a menudo
estuvo ausente, sin embargo, fue posible identificar los
ácidos carboxílicos tomando en cuenta los tiempos de reten-
ción, las coinyecciones y el estudio realizado por A. Ne-
grón-Mendoza³² que usó la técnica de ionización química
que favorece un alto porcentaje del ión quasi-molecular
para éstos ácidos.

Por otra parte, para la determinación de ácidos con 4
grupos carboxílicos ($R(\text{COOH})_4$), se hizo la separación de
los productos por cromatografía en capa fina usando cromato
folios de poliamida 11 F_{254} de 0.15 mm de espesor sobre
placas de aluminio, usando como eluyente éter dietílico su

*Se agradece al Dr. C. Ponnampuruma del Laboratorio de Evo-
lución Química de la Universidad de Maryland E.U. el
haber permitido realizar el análisis por cromatografía de
gases-espectrometría de masas.

turado con agua ácido fórmico (7:1). Se revelaron las placas con una lámpara de luz ultravioleta UVL-54.

Trabajadas las muestras irradiadas de esta forma se extrajeron los ácidos con metanol, procediendo a su esterificación e inyección en el cromatógrafo de gases.

La figura 28 muestra el cromatograma obtenido, y el espectro de resonancia magnética nuclear para la misma muestra.

Por lo tanto, resumiendo toda la información obtenida podemos decir que los picos del siguiente cromatograma figura 29 corresponden a los ácidos: (1) malónico, (2) succínico, (4) málico, (5) acetilsuccínico, (6) sin identificar, (7) tricarbalfílico+aconítico, (8) cítrico, (9) 2-hidroxi-1,2,3,4-butantetracarboxílico, (10) 2,3-dihidroxi-1,2,3,4-butantetracarboxílico, (11) 1,2,3,4-butantetracarboxílico, (12) 1,4-dihidroxi-1,2,3,4-butantetracarboxílico, (13) + (14) posibles dímeros del ácido oxalacético???

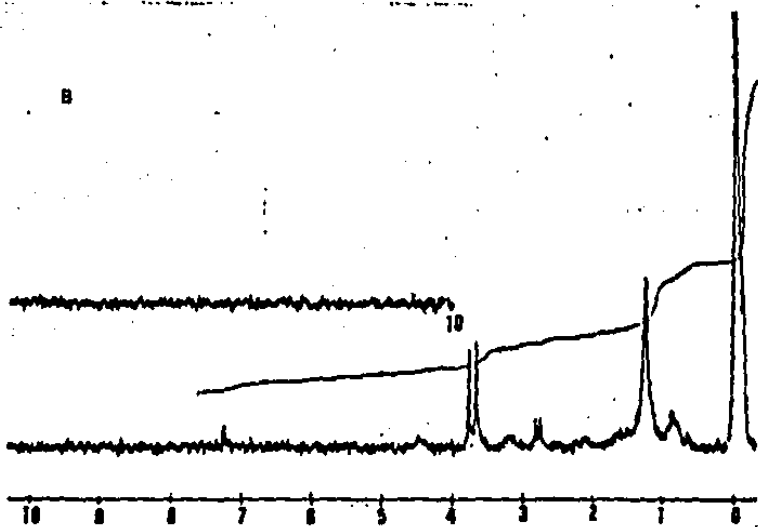
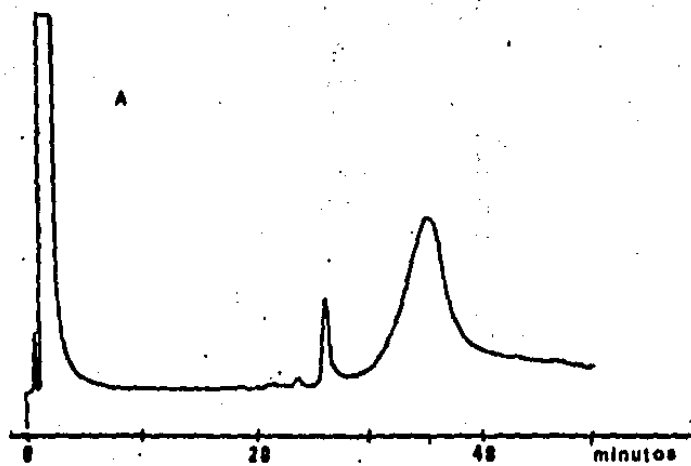


Fig. 28 (A) Cromatograma de una muestra irradiada a 49 KGy, separada por cromatografía en capa fina. (B) Espectro de RMN para la misma muestra.

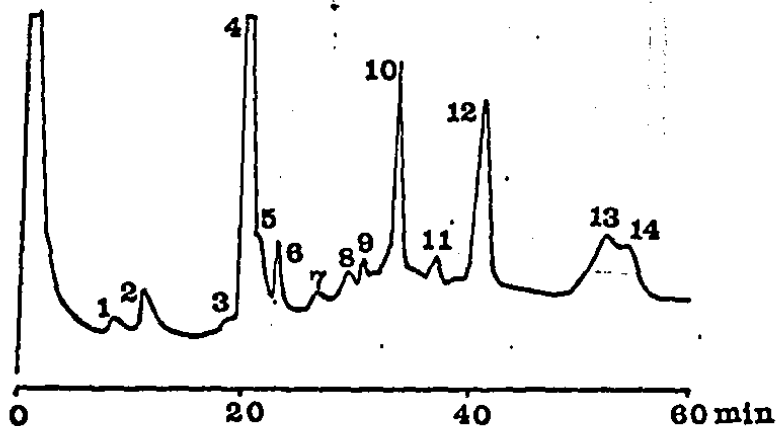


Fig. 29 Cromatograma de una muestra irradiada de ácido málico 0.05 M sin O_2 a pH=2.4 a 49 KGy sin estándar interno.

3.5 Determinación de formaldehído, glioxal, acetona, ácido acético y acetaldehído en muestras irradiadas.

Por cromatografía de gases por inyección directa usando una columna de Chromosorb 102 se identificaron algunos aldehídos, una cetona y un ácido de cadena corta como acético.

En la figura 30 se muestra un cromatograma obtenido para una muestra de ácido málico irradiada a 9.8 KGy a 7°C, donde se aprecian la separación de los compuestos, cuyos picos corresponden: (1) agua, (2) formaldehído, (3) acetaldehído, (4) glioxal, (5) acetona y (6) ác. acético.

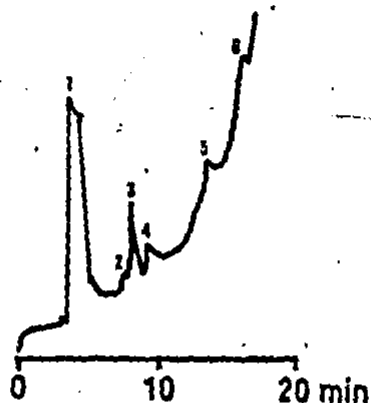


Fig. 30 Cromatograma de una muestra irradiada de ácido málico a 9.8 KGy a 7°C, usando una columna de Chromosorb 102.

Cuantitativamente se determinó la concentración de acetaldehído usando cromatografía de gases y espectrofotometría visible con 2,4-dinitrofenilhidrazina.

La figura 31 muestra los resultados obtenidos en muestras irradiadas a 7°C a diferentes dosis.

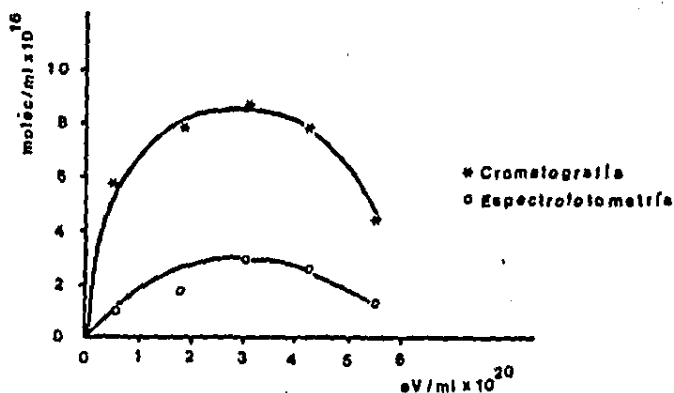


Fig. 31 Determinación de acetaldehído en muestras irradiadas por cromatografía de gases y por espectrofotometría.

Se observa el mismo comportamiento, y los valores obtenidos por cromatografía de gases fueron más altos.

El rendimiento radioquímico determinado para acetaldehído es de $G(\text{CH}_3\text{CHO})^{0.12}$

La figura 32 muestra la variación de $G_{(CH_3CHO)}$ en función de la dosis de irradiación en muestras irradiadas a $7^\circ C$ de ácido málico.

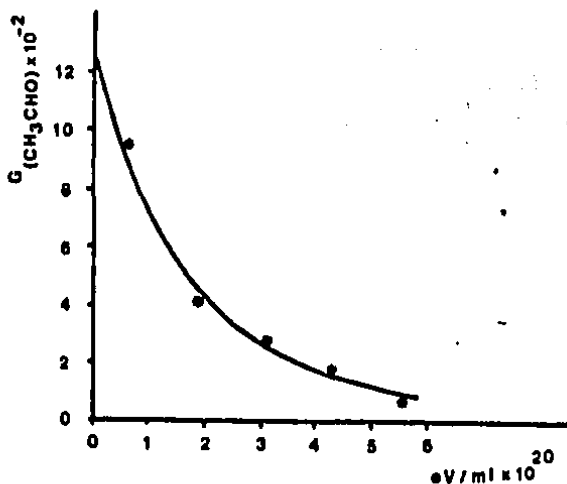


Fig. 32 Rendimiento radioquímico de acetaldehído en función de la dosis de irradiación en muestras irradiadas de ácido málico.

3.6 Determinación de ácido oxalacético y ácido acetyl succínico en muestras irradiadas.

De acuerdo a lo informado por Tanaka y Wang⁴² se buscaba determinar ácido oxalacético en muestras irradiadas

de ácido málico libres de O_2 .

Por lo tanto se utilizó el método del complejo de Al^{+3} para la determinación de ácido oxalacético obteniéndose los resultados experimentales que se muestran en la figura 33 en donde se trazó la gráfica de densidad óptica vs tiempo, las curvas corresponden a soluciones de ácido málico sin irradiar y a soluciones de ácido málico irradiadas a diferentes dosis.

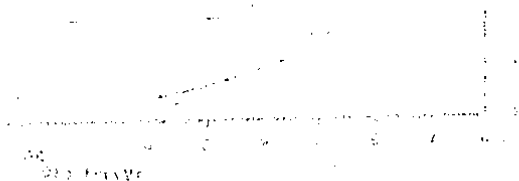


Figura 33. Gráfica de densidad óptica vs tiempo para soluciones de ácido málico sin irradiar y a diferentes dosis de irradiación.

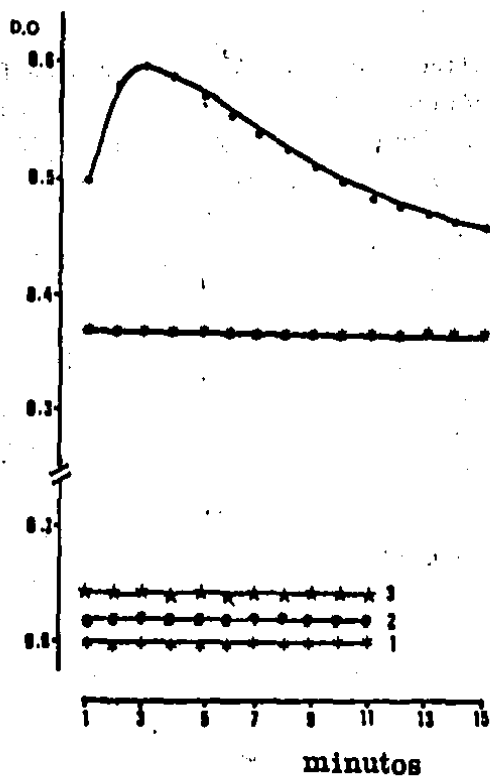


Fig. 33 Curva 1. ác. málico sin irradiar + Al^{+3}
 Curva 2. ác. málico irradiado a 0.85 KGy + Al^{+3}
 Curva 3. ác. málico irradiado a 49.2 KGy + Al^{+3}
 Curva 4. estándar de ác. oxalacético
 Curva 5. estándar de ác. oxalacético + Al^{+3}

Estos resultados nos muestran que no hubo formación de ácido oxalacético debido a que se esperaba que alrededor de los 3 min. hubiera un máximo de absorción y luego el complejo decayera rápidamente.

Sin embargo fue posible determinar un cetoácido, el acetilsuccínico $\text{HO}_2\text{CCH}_2(\text{H})(\text{COCH}_3)\text{CO}_2\text{H}$, por cromatografía de gases. De acuerdo a la información obtenida por espectrometría de masas se pensaba que podía ser este cetoácido, no obstante no se disponía en forma comercial en el mercado, por lo cual hubo necesidad de sintetizarlo preparando el derivado metílico.*

Se compararon los espectros de masas, y se hizo coinyección con una muestra irradiada a 49 KGy utilizando una columna de Reoplex obteniéndose el siguiente cromatograma figura 34 donde se observa que el pico No. 5* incrementa su área.

El tiempo de retención del estándar del éster dimetílico del ácido acetilsuccínico fue de 26.6 min., como el que presentaron las muestras de la figura 34.

*Se agradece al M. en C. E. Marambio de la D.E.P. de la Facultad de Química, UNAM. el haber sintetizado el éster dimetílico del ácido acetilsuccínico.

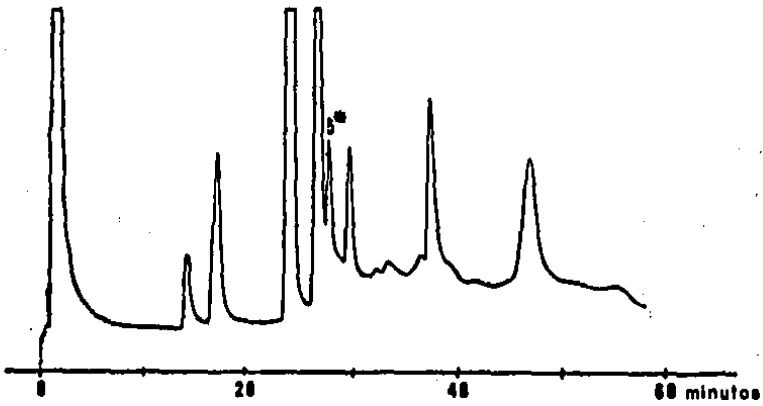
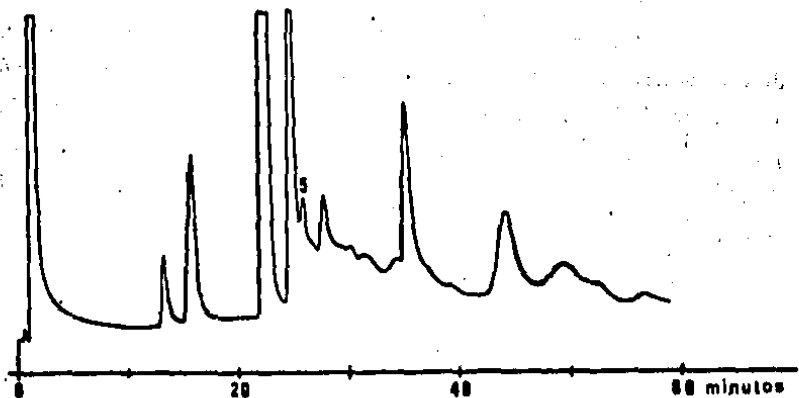


Fig. 34 El pico No. 5* corresponde una coinyección con estándar del éster dimetilico del ácido acetil-succínico con una muestra irradiada de ác. málico a 49 KGy.

TABLA III

Productos identificados en la radiólisis de ácido málico
0.05 M, libres de O₂ a pH=2.4

Productos volátiles			
en fase gaseosa	G	*G	Técnica
H ₂	2.2	2.2	*
CO ₂	0.56	0.56	*
CO	-	*9.2x10 ⁻³	*
Productos volátiles en fase acuosa			
HCHO	-	-	*
CHOCHO	-	-	*
CH ₃ COCH ₃	-	-	*
CH ₃ COOH	-	-	*
CH ₃ CHO	0.12	0.03	*☆
Productos no volátiles en fase acuosa			
ác. malónico	0.31	0.12	□○
ác. succínico	0.34	0.21	□○
ác. málico	5.3	5.3	□○☆
ác. acetilsuccínico	-	-	□○
ác. pimélico	-	-	□○
ác. carboxisuccínico	-	-	□○
ác. tricarbalfílico	-	-	□○
ác. aconítico	-	-	□○
ác. cítrico	-	-	□○
ác. 2-hidroxi-1,2,3,4-butan-tetra-carboxílico	-	0.35	○
ác. 2,3-dihidroxi-1,2,3,4-butan-tetracarboxílico	-	0.67	○
ác. 1,2,3,4-butan-tetracarboxílico	-	0.11	□○
ác. 1,4-dihidroxi-1,2,3,4-butan-tetracarboxílico	-	1.35	○
dímeros del ácido oxalacético???	-	0.19	○

G=número de moléculas formadas o destruidas/100 eV y representa valores de G inicial, obtenidas de las gráficas de G versus dosis.

*G=a la dosis de 50 KGy. Estos son valores estimados.

*a la dosis de 10.3 KGy.

*Cromatografía de gases, comparando tiempos de retención con estándares.

*Cromatografía de gases, comparando tiempos de retención con estándares y coinyecciones.

○ Cromatografía de gases-espectrometría de masas.

☆ Espectroscopía en el visible.

La determinación cuantitativa de acetaldehído a través de cromatografía de gases y espectroscopía en el visible conducen a resultados diferentes, considerándose en éste estudio, los valores obtenidos por cromatografía de gases mas confiables, dado que el análisis es por inyección directa en el cromatógrafo inmediatamente después de irradiar la muestra a 7°C. En el caso de los valores obtenidos por espectroscopía en el visible fueron mucho menores y bastante reproducibles, sin embargo, se piensa que al trabajar la muestra irradiada se pierde parte de los aldehídos y cetonas por su volatilidad a temperatura ambiente. Los otros aldehídos y cetonas identificados se forman en concentraciones menores de 10^{-6} M, por ello solo se hizo la determinación de acetaldehído a varias dosis.

El ácido pimélico aparece sobrepuesto con el pico del ácido málico usando una columna de Reoplex 400, por ello fue necesario usar una columna no polar como OV-101, en la cual se pudo observar el pico correspondiente al ácido pimélico.

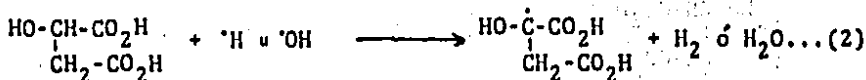
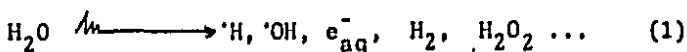
Los valores obtenidos para la G de descomposición del ácido málico por cromatografía de gases y espectroscopía en el visible fueron concordantes.

Los productos poliméricos fueron identificados solamente en base a sus espectros de fragmentación, ya que no son accesibles comercialmente y por ello sus identificaciones tentativas.

En el caso de los ácidos acetilsuccínico y carboxi-succínico fueron sintetizados en el laboratorio y su comportamiento cromatográfico en varias columnas, y al igual que sus espectros de masas, comparados con los productos de ésta radiólisis.

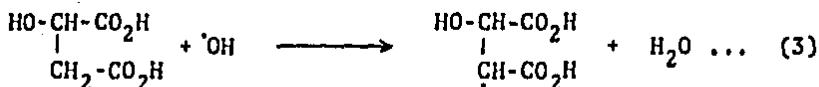
El ácido oxalacético fue investigado, de acuerdo a lo informado por Tanaka y Wang⁴² pero no fue detectado, aunque se hicieron esfuerzos en este sentido, tratándolo de determinar mediante espectroscopía de ultravioleta, cromatografía de gases y espectrometría de masas, que son técnicas más sensibles que los que ellos utilizaron. Esto puede deberse a que si es que se forma su concentración esté abajo de los límites de detección de las técnicas analíticas usadas, o bien, aunque se forme se destruye inmediatamente.

En las soluciones diluídas, el efecto de la radiación es principalmente en la molécula del disolvente y la reacción con los solutos es un ataque secundario de los productos de la descomposición del agua



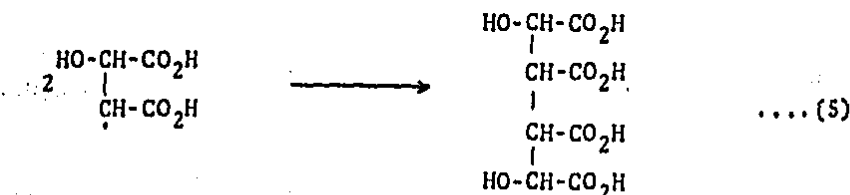
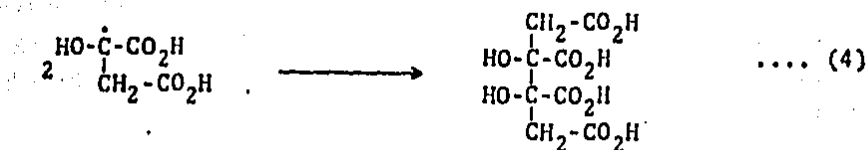
De acuerdo a lo propuesto por Zeldes y Livingston,⁴³ para la fotólisis del ácido cítrico y de Simic y col.,⁴⁰

el radical $\cdot\text{OH}$ abstrae hidrógenos metilénicos para formar el siguiente radical



Estos radicales pueden sufrir varias reacciones: desproporción, dimerización, etc. dando los productos finales observados.

Los principales productos de la radiólisis en soluciones libres de O_2 , lo constituyen los ácidos: 2,3-dihidroxi-1,2,3,4-butanetetracarboxílico y 1,4-dihidroxi-1,2,3,4-butanetetracarboxílico que se explican por las reacciones de dimerización de los radicales formados en la ecuación (2) y (3).



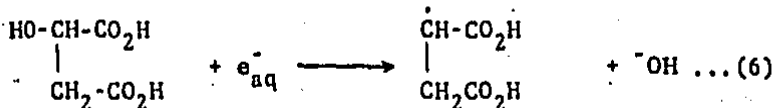
Esta tendencia a la formación de dímeros no había si

do observada en los trabajos anteriores de la irradiación del ácido málico, no obstante constituye uno de los mecanismos principales de descomposición que es como se muestra en este trabajo una característica de la radiólisis de α -hidroxiácidos ya que también fue observada en la radiólisis de ácido glicólico por Grant y Ward,¹⁴ en el cual se encontró el ácido tartárico como uno de los productos de la radiólisis.

La irradiación de soluciones diluídas de ácido málico 1×10^{-3} M, muestra la formación casi exclusiva de los dímeros de este ácido, los cuales pudieron identificarse por resonancia magnética nuclear, confirmando que la reacción predominante es la dimerización.

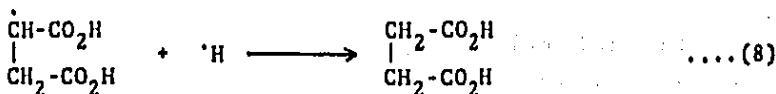
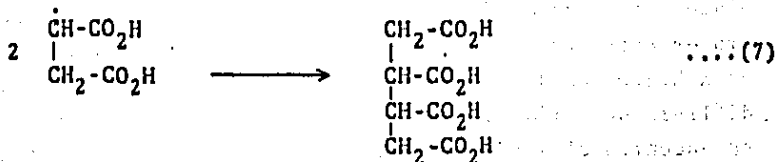
La mayoría de los ácidos policarboxílicos se forman a dosis mayores de 10 KGy. Por ello se explican como productos secundarios de la descomposición.

Así, en forma similar a la propuesta de Hayon y Weiss¹⁵ para la radiólisis del ácido glicólico, el electrón hidratado puede atacar al grupo OH en la posición α de acuerdo a la siguiente ecuación:

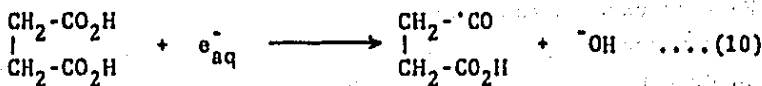
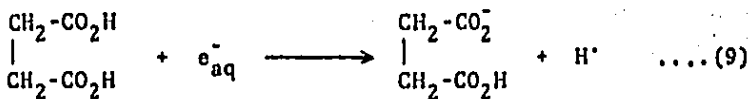


Este radical puede dimerizarse para formar el ácido 1,2,3,4-butantetracarboxílico y recombinarse con radicales

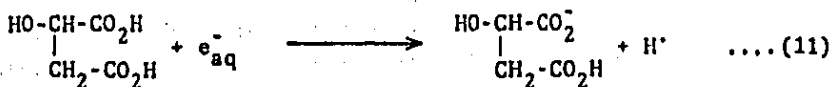
$\cdot\text{H}$ para formar ácido succínico.

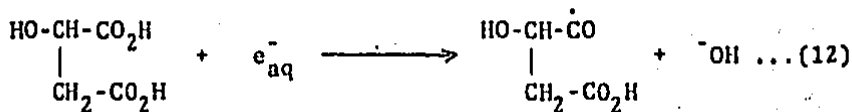


El ácido succínico puede reaccionar con el electrón hidratado por una reacción de transferencia de carga de acuerdo a lo propuesto por Micić y Marković.²⁹

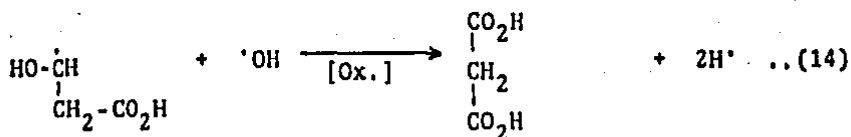
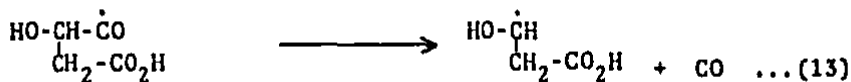


En forma similar se puede proponer para el ácido málico las reacciones (11) y (12), de acuerdo al siguiente esquema:



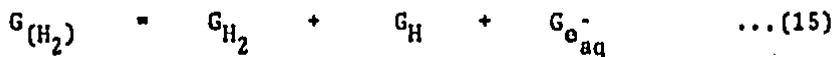


El radical formado en la reacción (12) podría fragmentarse explicando la formación de CO y el radical resultante oxidarse para producir ácido malónico, otro producto secundario importante observado.



El rendimiento de hidrógeno obtenido en la radiólisis de ácido málico sin O_2 es de $G_{\text{H}_2} = 2.2$ mucho más alto que el esperado.

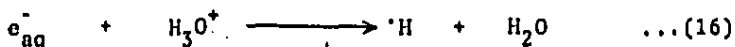
De acuerdo a lo publicado por Draganić, Z y Draganić, I^o el rendimiento total de hidrógeno en soluciones diluidas se debe a la contribución de tres especies:



el hidrógeno producido por la radiólisis del agua, el hidrógeno producido por el ataque de las especies primarias tales como H^\cdot y $\cdot OH$ sobre la molécula de ácido málico y otros radicales subsecuentes formados, y también el producido por las reacciones del electrón hidratado sobre los ácidos.

Peter y Neta³⁷ determinaron experimentalmente las constantes de velocidad para los ácidos láctico, malónico, succínico y otros encontrando que ésta es mayor cuando el pH disminuye.

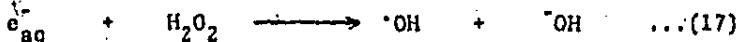
Basándose en éstos antecedentes, para comprobar que el electrón hidratado estaba contribuyendo al rendimiento total de hidrógeno en la radiólisis, se agregó ácido perclórico de acuerdo a lo informado por Draganić y Draganić⁸ para efectuar la radiólisis de ácido málico, con lo cual hay una eficiente conversión del electrón hidratado a átomo de hidrógeno representados por la siguiente ecuación:



determinando un incremento en el rendimiento radioquímico de hidrógeno, obteniéndose un valor experimental de $G(H_2) = 3.6$.

Posteriormente se realizó otra serie de experimentos en los que se agregó otro soluto como peróxido de hidrógeno de acuerdo a lo informado por Micić y Marković²⁹

el cual captura al electrón hidratado reaccionando de acuerdo a lo representado por la siguiente ecuación:



determinando un decremento en el rendimiento radioquímico de hidrógeno obteniéndose un valor experimental de $G(H_2) = 0.92$.

Esto representaría una evidencia de que el electrón hidratado probablemente contribuiría en una pequeña proporción en la radiólisis.

De ésta forma se podría explicar la presencia de los productos más abundantes como son los dímeros del ácido málico y los ácidos malónico y succínico, en éstos dos últimos, los rendimientos radioquímicos disminuyen conforme aumenta la dosis de irradiación.

Al mismo tiempo que se producen los radicales del ácido málico por interacción de las especies primarias de la radiólisis del agua, también estos radicales tienen la probabilidad de interaccionar con éstas especies para generar nuevamente el ácido málico.

En cuanto a los aldehídos y cetonas formados podríamos decir, que estos comienzan a acumularse hasta alcanzar una concentración tal a una determinada dosis, después de la cual reaccionan rápidamente, produciéndose finalmente una disminución en la concentración de formación de

estas especies. Este comportamiento se ha observado en otros sistemas y es debido a la gran reactividad que estos compuestos presentan por las especies primarias de la descomposición del agua.

IV. CONCLUSIONES

Se puede concluir en el presente estudio, que al irradiar soluciones acuosas 0.05 M de ácido málico, en atmósfera libre de O_2 a pH natural del ácido (pH=2.4), que los productos más abundantes son los dímeros del ácido málico, los ácidos 2,3-dihidroxi-1,2,3,4-butantetracarboxílico y 1,4-dihidroxi-1,2,3,4-butantetracarboxílico, formándose también abundantemente los ácidos succínico y malónico.

Aunque la identificación de estos dímeros no fue exhaustiva, debido a que ellos no se encuentran disponibles en forma comercial, es posible suponer que el mecanismo principal de radiólisis es la dimerización.

Algunos de los productos no fueron identificados por lo cual no fue posible hacer un balance de material, sin embargo la G de descomposición determinada para el ácido málico de 5.3 y los otros valores de G de formación determinados contribuyen hacia la elucidación del posible mecanismo de radiólisis.

Por otra parte, se puede afirmar que la mayoría de los ácidos policarboxílicos se forman a dosis mayores a 10 KGy, y por ello se explican como productos secundarios producidos por reacciones más complejas.

Basándose en los datos informados en la literatura,

y la experimentación efectuada pareciera que la especie primaria electrón hidratado producida por la radiólisis del agua, contribuye en una proporción pequeña al mecanismo de radiólisis.

V. BIBLIOGRAFIA

1. Allen, A.O., Hochanadel, C. J., Ghormley, J.A., y Davis, T. W., (1952) Decomposition of water and aqueous solutions under mixed fast neutron and gamma radiation. J. Phys. Chem. 56: 575-582
2. Azamar, J.A., (1982) Informe técnico Q-01-82. Departamento de Química CEN-UNAM.
3. Barker, S.A., Grant, P.M., Stacey, M., y Ward, R. B., (1959) Effects of gamma-radiation on some carbohydrates, hydroxyacids and amino-acids in aqueous solutions Nature 183: 376-377
4. Barker, S. A., Grant, P.M., Stacey, M., y Ward, R.B., (1959) Effects of γ -radiation. Part I. Polymer formation from sugars, hydroxy-acids and amino-acids J. Chem. Soc. 2648-2654.
5. Christian, G. D., y Moody, J. R., (1968). Spectrofluorimetric determination of malic acid with β -naphthol. Anal. Chim. Acta 41: 269-274.
6. Donnell, J.H.O., y Sangster, D.F., (1970) Principles of radiation chemistry (New York, American Elsevier Publishing Company, inc.)

7. Draganić, I.G., y Draganić, Z.D., (1972) The radiation chemistry of water (New York, Academic Press).
8. Draganić, Z.D., y Draganić. I. G., (1973) Studies on the formation of primary yields of hydroxyl radical and hydrated electron in the γ -radiolysis of water. J. Phys. Chem. 77 (6); 765-772.
9. Eisenberg, G.M., (1943) Colorimetric determination of hydrogen peroxide. Ind. Eng. Chem. Anal. Edn. 15: 327-328
10. Garrison, W.M., Bennett, W., y Jayko, M., (1956) Mechanism in the radiolysis of aqueous formic acid solutions. J. Chem. Phys. 24: 631-632
11. Garrison, W.M., Haymond, H.R., Bennett, W., y Cole, S., (1959) Radiation-induced oxidation of aqueous acetic acid-oxygen solution. Rad. Research 10: 273-282
12. Goodban, A.E., y Stark, J.B., (1957) Rapid method for determination of malic acid. An. Chem. 29: 283-287
13. Grant, P. M., y Ward, R.B., (1959) Effects of γ -radiation. Part II. Characterisation of the products from glycollic acid. J. Chem. Soc. 2654-2658

14. Grant, P.M., y Ward, R.B., (1959) Effects of γ -radiation. Part III. Quantitative studies of the products from glycollic acid. J. Chem. Soc. 2659-2665
15. Harmon, M.A., y Döelle, H.W., (1969) Gas chromatographic separation and determination of microquantities of the esters of the tricarboxylic acid cycle acids and related compounds. J. Chromatog. 42: 157-169
16. Hart, E.J., (1951) Mechanism of the γ -ray induced oxidation of formic acid in aqueous solution. J. Am. Chem. Soc. 73: 68-73.
17. Hart, E.J., (1954) Gamma-ray induced oxidation of aqueous formic acid-oxygen solutions. Effect of oxygen and formic acid concentrations. J. Am. Chem. Soc. 76: 4312-4315
18. Hayon, E., y Weiss, J., (1960) The chemical action of ionising radiation in solution. Part XXIV. Action of x-rays (200 kv) on aqueous solutions of acetic acid and glycollic acid. J. Chem. Soc. 5091-5097
19. Hummel, J.P., (1949) The fluorometric determination of malic acid. J. Biol. Chem. 180: 1225-1228
20. Instruction Manual. Gammabeam-650. Atomic Energy of Canada Limited (1970).

21. Instruction Manual. Gammacel-200. Atomic Energy of Canada Limited. (1966).
22. Jayson, G.G., Scholes, G., y Weiss, J., (1957) Chemical action of ionising radiation in solution. Part XX. Action of x-rays (200 Kv) on ethanol in aqueous solution. J. Chem. Soc. 1358-1368
23. Johnson, G.R.A., Scholes, G., y Weiss, J., (1953) Chemical action of ionising radiations in solution. Part XI. The action of free radicals, produced by X-rays, on lactic acid in aqueous solution with particular reference to the effect of molecular oxygen. J. Chem. Soc. 3091-3099
24. Johnson, G.A.R., y Scholes, G., (1954) Microdetermination of acetaldehyde as its 2,4-dinitrophenylhydrazone. Analyst 79: 217-219
25. Josimović, Lj., y Draganić, I., (1973) The radiolysis of acetic acid in aqueous solutions and acetic-water mixtures. Int. J. Radiat. Phys. Chem. 5: 505-512
26. Kornberg, A., Ochoa, S., y Mehler, A.H., (1948) Spectrophotometric studies on the decarboxylation of β -keto acids. J. Biol. Chem. 174: 159-172
27. Leininger, E., y Sidney, K., (1949) Fluorometric determination of malic acid and 2-naphtol. An. Chem. 21: 1375-1377

28. Lukáč, S., Teplý, J., y Vacek, K., (1972) Radiolysis of carboxylic compounds. Part 1. Comparison of potassium acetate and acetic radiolysis. J. Chem. Soc. Faraday I 68: 1377-1383
29. Micić, O.I., y Marković, V., (1975) Electron reactions in concentrated aqueous solutions of acetic acid or glycine. Int. J. Radiat. Phys. Chem. 7: 541-546
30. Negrón-Mendoza, A., y Ponnampuruma, C., (1976) Formation of biologically relevant carboxylic acids during the gamma irradiation of acetic acid. Origins of Life 7(3): 191-196
31. Negrón-Mendoza, A., y Ponnampuruma, C., (1978) Interconversión of biologically important carboxylic acids by radiation. Origin of Life 101-104.
32. Negrón-Mendoza, A., (1980) Formación de ácidos policarboxílicos de importancia biológica inducida por radiación ionizante. Tesis Doctoral. Facultad de Química, UNAM.
33. Negrón-Mendoza, A., Graff, R.L., y Ponnampuruma, C., (1980) γ -irradiation of malic acid in aqueous solutions. Origins of Life 10: 335-341.
34. Negrón-Mendoza, A., Castillo, S., y Torres J.L., (1982) Midrodeterminación de gases disueltos en soluciones acuosas por cromatografía de gases. XVII Congreso Mexicano de Química Pura y Aplicada. Noviembre, México, D. F.

35. Olea, A., (1981) Radiólisis del ácido aconítico en medio acuoso básico y su posible significado en la evolución química. Tesis. Facultad de Ciencias, UNAM.
36. Perrin, D.D., Armarego, W.L.F., y Perrin, Dawn. R., (1966) Purification of laboratory chemicals (Oxford, Pergamon Press)
37. Peter, F. A., y Neta, P., (1972) The effect of ionic dissociation of organic compounds on their rate of reaction with hydrated electrons. J. Phys. Chem. 76 (5): 630-635
38. Purcell, J.E., y Ettore, L.S., (1965) Analysis of hydrogen with thermal conductivity detectors. J. Gas. Chrom. 69-71
39. Putney, F.K., y Pratt, A.W., (1956) X-irradiation of L - malic acid in aqueous solutions. Rad. Research 5: 134-145
40. Simic, M., Neta, P., y Hayon, E., (1969) Pulse radiolysis of aliphatic acids in aqueous solutions. II. Hydroxy and polycarboxylic acids. J. Phys. Chem. 73 (12): 4214-4219
41. Smith, R.M., y Martell, A.E., (1976) Critical Stability Constants. Volume 4: Inorganic complexes (New York, Plenum Press).

42. Tanaka, F., y Wang, C.H., (1967) Radiolysis of succinic acid in aqueous solution. Int. J. Appl. Radiat. Isotopes 18 (II): 761-772

43. Zeldes, H., y Livingston, R., (1971) Paramagnetic resonance study of liquids during photolysis XI. Citric acid and sodium citrate in aqueous solution. J. Am. Chem. Soc. 93 (5): 1082-1085