

21
2j.



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO**

FACULTAD DE QUIMICA



SECRETARÍA DE EDUCACIÓN PÚBLICA
FACULTAD DE QUIMICA

**EFFECTO DE LA RADIACION GAMMA SOBRE
LA VITAMINA B₁ EN SOLUCION ACUOSA**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:
QUIMICA FARMACEUTICA BIOLOGA
P R E S E N T A :
MARIA DEL CARMEN CHJATE BAEZA



MEXICO, D. F.

1997

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**



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.

Jurado asignado según el tema

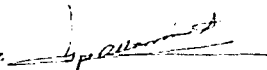
| | | |
|---------------|---------|----------------------------------|
| Presidente | Prof. | Juan Manuel Navarrete Tejero |
| Vocal | Prof. | Bernardo Lucas Florentino |
| Secretario | Profra. | María Guadalupe Albarrán Sánchez |
| 1er. suplente | Profra. | Trinidad Martínez Castillo |
| 2do. suplente | Profra. | Leticia Gil Vieyra |

Sitio donde se desarrolló el tema

Instituto de Ciencias Nucleares de la UNAM

Asesor del tema

María Guadalupe Albarrán Sánchez



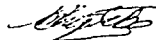
Supervisor técnico

Alicia Negrón Mendoza



Sustentante

María del Carmen Chijate Baeza



*Con todo mi amor a mis padres
Carmen Baeza y Joaquín Chijate*

*A Vero, Enrique, Alberto, Paula, Joaquín,
Pedro, Silvia, José, Tere y Manuel*

*A Juan, Beto, Lau, Carmen, Migue, Caty,
Pepe, Mony, Isma, Gigi, Gaby y Temo*

A Mario

Agradecimientos

A la Dra. Guadalupe Albarrán le agradezco profundamente por toda su paciencia y dedicación al dirigir esta tesis.

A la Dra. Alicia Negrón por todo el apoyo que me brindó tanto en el laboratorio como en la revisión del escrito.

Al Dr. Manuel Navarrete y al Dr. Bernardo Lucas por la revisión y valiosos comentarios a este trabajo.

A Epifanio Cruz.

A José Luis Reza, Carmen Peza y a la Dra. Carmen Labastida.

A Alejandra Serrato, Adriana Herrera, Andrés Guzmán y Angeles Espinosa.

A Tomás Pineda, Bertha Milla y José Juan Naro.

A Yolanda Perales, Ruth Román, Angeles Vargas, Yazmín Villaseñor y Patricia Cervantes.

A Joaquín y Paula Chijate.

A la Fundación UNAM por la beca otorgada para la realización de este trabajo.

ÍNDICE

| | |
|---|-----------|
| INTRODUCCIÓN | 1 |
| 1. GENERALIDADES | 3 |
| 1.1. Vitamina B₁ | 3 |
| 1.1.1. Descripción | 3 |
| 1.1.2. Importancia | 6 |
| 1.1.3. Abundancia en los alimentos | 8 |
| 1.1.4. Estabilidad en el procesamiento de alimentos | 8 |
| 1.2. Química de Radiaciones | 11 |
| 1.2.1. Conceptos básicos | 11 |
| 1.2.2. Radiólisis del agua | 13 |
| 1.2.3. La irradiación de alimentos | 16 |
| 1.2.4. Radiólisis de las vitaminas | 25 |
| 1.2.5. Radiólisis de la vitamina B ₁ | 25 |

| | |
|---|-----------|
| OBJETIVOS | 39 |
| 2. PARTE EXPERIMENTAL | 40 |
| 2.1. Reactivos | 40 |
| 2.2. Preparación de las muestras | 40 |
| 2.3. Irradiación | 43 |
| 2.3.1. Fuente de irradiación | 43 |
| 2.3.2. Dosimetría de la fuente de irradiación | 45 |
| 2.4. Análisis de las muestras irradiadas | 47 |
| 2.4.1. Espectrofotometría ultravioleta | 49 |
| 2.4.2. Cromatografía de líquidos de alta presión | 50 |
| 2.4.3. Cromatografía de gases/Espectrometría de masas | 52 |
| 2.4.4. Potenciometría iónica selectiva | 54 |

| | |
|--|-----------|
| 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN | 55 |
| 3.1. Efecto de la dosis de irradiación | 55 |
| 3.2. Efecto del oxígeno | 58 |
| 3.3. Efecto del pH | 58 |
| 3.4. Retención de la tiamina | 60 |
| 3.5. Efecto de la concentración de la tiamina | 63 |
| 3.6. Identificación de los productos radiolíticos de la tiamina | 65 |
| | |
| CONCLUSIONES | 75 |
| | |
| REFERENCIAS | 77 |

INTRODUCCIÓN

En los últimos años se han venido proponiendo nuevas técnicas para la conservación de los alimentos. Una de estas técnicas se refiere al empleo de radiación ionizante, la cual ofrece algunas ventajas frente a técnicas empleadas tradicionalmente. Sin embargo, es un hecho que se debe investigar la manera en que la radiación afecta a los componentes de los alimentos, ya que existe la posibilidad de que éstos se modifiquen dando como resultado la alteración del valor nutritivo de los mismos o la formación de productos tóxicos para el humano, como resultado del proceso de irradiación.

Uno de los grupos de compuestos de los alimentos que se ve afectado con facilidad durante el procesamiento de alimentos es el de las vitaminas y, debido a su papel fundamental desde el punto de vista de la nutrición, es importante determinar el grado de su pérdida por acción de la radiación, así como los parámetros que afectan dicha pérdida.

Este trabajo tiene como objetivo estudiar el efecto que provoca la radiación ionizante sobre una vitamina hidrosoluble, la vitamina B₁, en solución acuosa bajo condiciones definidas de concentración de vitamina, pH, presencia y ausencia de oxígeno y dosis de irradiación. Para este fin se calculará el grado de descomposición de tiamina a diferentes condiciones, así como el valor G de descomposición de tiamina. También se tiene por objetivo determinar algunos de los productos que se forman por la radiólisis de esta vitamina.

GENERALIDADES

En la primera parte de este capítulo se presentan algunos datos de importancia acerca de la vitamina B₁, enseguida se revisan algunos conceptos básicos en Química de Radiaciones, posteriormente se hace un resumen de las aplicaciones que tiene la radiación ionizante en el procesamiento de alimentos y finalmente se menciona brevemente las referencias que existen acerca del efecto de la radiación ionizante sobre las vitaminas, en particular de la B₁.

1.1 Vitamina B₁

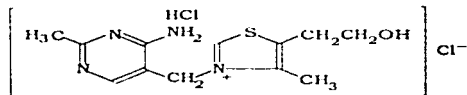
1.1.1 Descripción

Nomenclatura

Monoclorhidrato de cloruro de 3-[(4-amino-2-metil-5-pirimidinil)-metil]-5-(2-hidroxietil)-4-metil tiazolio ²⁷.

También se le conoce como tiamina, factor anti beri-beri, aneurina.

Estructura



Peso molecular 337.28 g/mol

Propiedades físicas

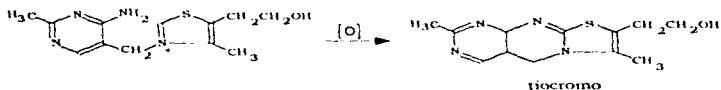
La tiamina se presenta como cristales incoloros o polvo cristalino blanco con olor característico, los cuales funden con descomposición entre 248-250°C, estos cristales son estables al oxígeno atmosférico. En cuanto a su solubilidad, en agua son muy solubles: un gramo se disuelve en aproximadamente 1 ml de agua, así como en 18 ml de glicerol, 100 ml de etanol 95%, 315 ml de etanol absoluto, mientras que son menos solubles en metanol, propilén glicol y prácticamente insolubles en éter, benceno, hexano, cloroformo. En forma anhidra la vitamina B₁ es estable y el calentamiento a 100°C por 24 horas no disminuye su actividad ²³.

El clorhidrato de tiamina en agua forma una solución ácida: una solución al 1% peso/volumen tiene un pH de 3.13. Las

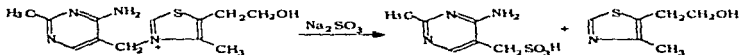
soluciones de tiamina con un pH menor a 5 son bastante estables al calor y a la oxidación. Si el pH es de 5 ó mayor, la tiamina es destruida al someterla al autoclave. A pH de 7 ó más se destruye con el calentamiento a ebullición o incluso con el solo almacenamiento a temperatura ambiente ¹⁰.

Propiedades químicas

La tiamina en solución fuertemente alcalina es oxidada por el ion ferricianuro para dar tiocromo ($C_{12}H_{14}N_4OS$).



El tratamiento de tiamina con sulfito de sodio provoca fácilmente la ruptura de la molécula en sus dos partes constituyentes: el anillo tiazólico y el pirimidínico, según la siguiente reacción ¹⁰:



1.1.2. Importancia

Funciones

Las funciones de la tiamina están fundamentalmente asociadas al metabolismo de carbohidratos. La tiamina al combinarse con el ácido pirofosfórico se convierte en pirofosfato de tiamina en células nucleadas, particularmente en pulmón, riñones y las células blancas de la sangre. El pirofosfato de tiamina también conocido como cocarboxilasa actúa como coenzima en reacciones como la descarboxilación de α -cetoácidos, particularmente de piruvato y de α -cetoglutarato. En estados de deficiencia de tiamina ocurre una acumulación de los ácidos pirúvico y láctico. El pirofosfato de tiamina también actúa como coenzima en la ruta oxidativa directa del metabolismo de la glucosa.

La deficiencia de la vitamina B₁ trae como consecuencia fatiga, anorexia, disturbios gastrointestinales, taquicardia e irritabilidad. Los signos clínicos de la deficiencia de tiamina se hacen evidentes después de 2 a 5 semanas de una ingestión inadecuada de tiamina. Los sistemas en el organismo que son afectados principalmente por la deficiencia de tiamina son el sistema nervioso periférico, el sistema cardiovascular y el tracto gastrointestinal. La administración de tiamina revierte los síntomas cardiovasculares y gastrointestinales de la deficiencia de

tiamina, sin embargo, el grado de mejoría en los síntomas neurálgicos dependen de la duración y severidad de las lesiones ¹².

Requerimientos del humano

Después de ingerirse oralmente, la tiamina es absorbida en el tracto gastrointestinal y es ampliamente distribuida a la mayoría de los tejidos del cuerpo. En el humano no se almacena en cantidades apreciables y las cantidades que exceden los requerimientos del organismo son excretados en la orina, por lo cual se pierde rápidamente de los tejidos durante periodos cortos de deficiencia. Debido a esto es necesario que la dieta contenga regularmente una cantidad adecuada de la vitamina B₁.

Los requerimientos de esta vitamina están relacionados directamente a la ingestión de carbohidratos y a la velocidad metabólica, por lo que éstos se incrementan durante periodos de crecimiento activo o de trabajo muscular intenso, durante el embarazo y la lactancia y en condiciones patológicas como fiebre, alcoholismo, hipertiroidismo y en otras que cursan con un incremento en el metabolismo o la diuresis.

Para asegurar un aporte adecuado de tiamina se recomienda una ingestión básica de 400 µg/1000 kcal en la dieta. Así, por ejemplo, para una persona cuya dieta tiene un aporte calórico diario de 3,000 kcal, la ingestión recomendada de tiamina es de 1.2 mg al día ¹².

1.1.3 Abundancia en los alimentos

La tiamina se presenta en concentraciones bajas en una gran variedad de tejidos animales y vegetales, pero existen pocos alimentos en los cuales se presente en abundancia. Las fuentes naturales más ricas de tiamina son la levadura seca (12.0 mg/100 g) y el germen de trigo (2.05 mg/100 g), pero éstos se ingieren en cantidades pequeñas. La carne de cerdo la contiene en grado notable. Los cereales y las leguminosas, los diferentes tipos de carne (incluyendo la de aves), la yema de huevo, así como el pescado, son buenas fuentes de tiamina. La leche y los productos lácteos, la fruta y los vegetales no son ricos en tiamina, pero cuando se consumen regularmente, contribuyen de manera importante a la ingestión total de ésta. En la tabla 1.1 se muestra el contenido de tiamina de algunos alimentos ^{3, 11, 16, 18, 19}.

1.1.4 Estabilidad en el procesamiento de alimentos

Las pérdidas de tiamina por el tratamiento térmico son muy variables, pues dependen del tiempo de calentamiento, del pH, de la temperatura, de la cantidad de agua del alimento.

En el asado de la carne de res y de cerdo se pierde entre un 36 a un 53% de tiamina.

TABLA 1.1 CONTENIDO DE TIAMINA DE ALGUNOS ALIMENTOS

| Alimento | mg de tiamina / 100 g |
|----------------------------|------------------------------|
| Germen de trigo | 1.98 - 2.05 |
| Soya | 0.89 - 1.10 |
| Carne de cerdo | 0.44 - 0.90 |
| Avena | 0.49 - 0.73 |
| Frijol | 0.43 - 0.73 |
| Almendra | 0.50 - 0.71 |
| Lenteja | 0.61 - 0.69 |
| Trigo entero | 0.48 - 0.59 |
| Harina de maíz | 0.22 - 0.26 |
| Carne de res | 0.07 - 0.11 |
| Huevo entero fresco | 0.08 - 0.10 |
| Papa | 0.07 - 0.11 |
| Pescado (sierra) | 0.04 - 0.06 |
| Acelga | 0.05 - 0.09 |
| Leche pasteurizada | 0.03 - 0.04 |
| Papaya | 0.02 - 0.03 |
| Fresa | 0.02 - 0.03 |

Las pérdidas durante el proceso de enlatado son considerables en la mayoría de las carnes y vegetales, pero en jugos de frutas enlatados la retención de tiamina es alta, por ejemplo, en jugo de jitomate enlatado, se retuvo el 89% de tiamina.

Las pérdidas de tiamina durante la deshidratación de frutas y vegetales no es de consideración, a menos que se emplee sulfito, en cuyo caso se llega a perder cerca del 50% de tiamina. La leche sin grasa deshidratada, particularmente cuando se prepara por procesos térmicos suaves, presenta una retención de tiamina alta.

Las pérdidas de tiamina por el congelamiento de la carne están entre el 20 y el 40% después de un almacenamiento de entre 2 y 8 meses.

El curado de carnes no involucra una pérdida grande de tiamina.

La molienda de los granos de cereales sí disminuye el contenido de tiamina.

La tiaminasa, que es una enzima que destruye a la vitamina, se encuentra en pescados de agua dulce y mariscos y destruye alrededor del 50% de tiamina.

Las pérdidas provocadas por el tratamiento con microondas son comparables a las causadas por el cocinado convencional ¹⁶.

1.2 Química de Radiaciones

1.2.1 Conceptos básicos

La *Química de Radiaciones* se encarga del estudio de los efectos químicos producidos en un sistema por la absorción de radiación ionizante ²⁰.

Radiación ionizante es la radiación que tiene la energía suficiente para ionizar o excitar a los átomos con que interacciona, en ésta se incluyen la radiación proveniente de núcleos radiactivos (rayos γ y partículas α y β), partículas de alta energía cargadas (que pueden ser -por ejemplo- electrones, protones, deuterones) y la radiación electromagnética de longitud de onda corta (rayos X cuya longitud de onda es menor a 250 Å, esto es con una energía mayor a 50 eV) ²⁰.

Radiólisis es la descomposición de una sustancia causada o inducida por radiación ionizante ⁵.

Rendimiento Radiolítico o *Valor G* es una expresión comúnmente utilizada en Química de Radiaciones para cuantificar la extensión de los cambios químicos sufridos por un compuesto debido a la radiación ionizante, y se define como el número de

especies químicas, ya sean moléculas, iones o radicales libres, que se descomponen (en cuyo caso se denota como G-) o que se forman (G) por cada 100 electronvolts de energía absorbida por el sistema⁵.

$$G = \frac{\text{número de especies químicas transformadas}}{\text{dosis absorbida}} \times 100$$

Para efectuar el cálculo del valor G, la dosis deberá expresarse en electronvolts por gramo (eV g⁻¹), o bien electronvolts por mililitro (eV.ml⁻¹).

Valor G^o o valor G inicial es el rendimiento radiolítico obtenido cuando la dosis absorbida tiende a cero. Se determina por la extrapolación de la gráfica valor G vs dosis absorbida ¹⁵.

Unidades

La *dosis de radiación absorbida* por un material que ha sido irradiado se expresa en términos de la cantidad de energía que éste absorbe por unidad de masa. La unidad de dosis absorbida es el joule por kilogramo (J kg⁻¹), la cual ha sido denominada como *Gray* (Gy), de tal manera que la dosis absorbida por un material se

expresa en *grays* ó bien, en alguno de sus múltiplos: kGy = 10^3 Gy, MGy = 10^6 Gy ¹⁷.

La unidad antigua de dosis de radiación, el *rad* fue definido como 100 erg g^{-1} ó bien $10^{-2} \text{ J kg}^{-1}$, de modo que 1 Gy es igual a 100 rad. Asimismo $1 \text{ rad} = 6.241 \times 10^{13} \text{ eV g}^{-1}$.

La dosis absorbida por unidad de tiempo se denomina *intensidad de dosis absorbida* (o también *razón de dosis absorbida*) y la unidad es el $\text{Gy}\cdot\text{s}^{-1}$, aunque también es comúnmente expresada en Gy min^{-1} .

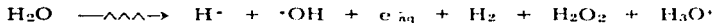
Actividad es el número de emisiones de radiación que tiene un radionúclido en un segundo. La unidad de actividad es dada en términos del inverso de un segundo (s^{-1}) y se denomina *Becquerel* (Bq). La relación de un becquerel con el *curie* (Ci), que es la unidad anteriormente utilizada para la actividad es: $1 \text{ Ci} = 3.7 \times 10^{10} \text{ Bq}$ ¹⁷.

1.2.2 Radiólisis del agua

El estudio de la radiólisis del agua es de importancia debido a que muchos de los sistemas estudiados son soluciones acuosas y a que el agua constituye el componente principal de la mayoría de los sistemas biológicos, incluyendo los alimentos.

que el agua constituye el componente principal de la mayoría de los sistemas biológicos, incluyendo los alimentos.

La acción química total de la radiación sobre el agua puede resumirse de la siguiente manera ⁵ :

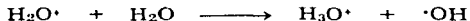


El átomo de hidrógeno (H^\bullet), el radical hidroxilo ($\bullet\text{OH}$), el ion hidronio (H_3O^+) y el electrón hidratado (e_{aq}^-) son considerados como las especies primarias de la radiólisis del agua y los principales responsables de los cambios químicos observados en soluciones acuosas irradiadas.

El evento primario es la ionización de la molécula de agua:



Los radicales hidroxilo y los iones hidronio, probablemente deriven de los iones positivos formados durante el proceso de ionización:



El electrón que se escapa, viaja a través del líquido chocando con moléculas de agua hasta que al ir perdiendo energía queda



El electrón hidratado es un poderoso agente reductor, y presenta una fuerte tendencia a unirse a átomos y moléculas, a las cuales reduce. Debido a su alta reactividad, su tiempo de vida es muy corto, del orden de microsegundos. Los e_{aq}^- también se adicionan muy rápidamente a compuestos aromáticos, ácidos carboxílicos, aldehídos, cetonas, tioles y disulfuros.

El átomo de hidrógeno es otro agente reductor que se produce por la radiólisis del agua, aunque a pH ácido es producido con un rendimiento menor que el electrón hidratado y es menos reactivo que éste.

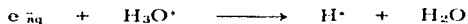
Las especies primarias de la radiólisis del agua ($H\cdot$, $\cdot OH$, H_3O^+ , e_{aq}^-) pueden reaccionar entre ellas dando lugar a un gran número de reacciones, entre las cuales está la reformación de agua:



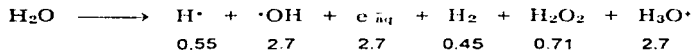
y la efectuada entre especies idénticas, mediante las cuales se produce hidrógeno molecular (H_2) y peróxido de hidrógeno (H_2O_2):



También tiene lugar una reacción muy eficiente entre el electrón hidratado y el ion hidronio, que da como resultado la formación de hidrógeno atómico:



Estas reacciones se completan en 1 nanosegundo después de que pasa la radiación ionizante. La acción química total de la radiación sobre el agua puede resumirse así:



donde los números representan el rendimiento radioquímico (valor G) para cada especie formada ⁵.

1.2.2 La irradiación de alimentos

El abastecimiento de alimentos ha sido siempre una de las principales preocupaciones del ser humano. Las técnicas de conservación de alimentos de las cuales se valió para lograr dicho abastecimiento fueron superadas por un aumento

desproporcionado de la población, por lo cual surgió la necesidad de desarrollar nuevas técnicas de conservación de alimentos que abrieran otras posibilidades.

Dentro de las técnicas más recientemente propuestas se encuentra el empleo de radiación ionizante como una alternativa para conservar la calidad de los alimentos, y prolongar así su vida de almacenamiento y disminuir la incidencia de las enfermedades causadas por alimentos.

El tratamiento de alimentos con radiación se basa en la capacidad que posee ésta para destruir células, pues se sabe que la disminución de la calidad de los alimentos durante su almacenamiento es el resultado tanto de los procesos fisiológicos, químicos y bioquímicos propios del alimento así como del deterioro causado por microorganismos, insectos y demás parásitos. La acción letal de la radiación se lleva a cabo cuando la radiación ionizante interacciona con el agua y demás constituyentes del alimento, y da como resultado la formación de especies reactivas que tienen la capacidad de reaccionar con el ácido desoxirribonucleico (DNA), alterando su estructura de tal manera que la división celular se ve inhibida ¹⁷.

A continuación se mencionan algunas de las principales aplicaciones de la irradiación de alimentos.

Desinfestación por insectos Actualmente se pierden grandes cantidades de la producción mundial de granos y productos de granos debido a la infestación por insectos. Tradicionalmente este problema se ha resuelto con el empleo de insecticidas químicos como el óxido de etileno, bromuro de metilo y el dibromuro de etileno, los cuales desgraciadamente no están libres de riesgos. El óxido de etileno ha sido ampliamente utilizado en la desinfestación de fruta, este gas sin embargo, es potencialmente carcinogénico y ha sido prohibido en muchos países. Una alternativa para la desinfestación de granos y frutas es la irradiación. Con el empleo de esta técnica se matan o esterilizan los insectos y se previene el desarrollo de sus larvas y huevecillos. Además se tiene la ventaja de que se puede aplicar a través del material de empaque de manera que la fruta puede ser pre-empacada y los granos pueden ser colocados en sacos sellados de manera que se evita la reinfestación. La dosis necesaria para controlar la infestación en frutas es de 0.1 a 0.3 kGy. En cereales como trigo y arroz los insectos se controlan con dosis de 0.2 a 0.5 kGy ²¹.

Prevención de enfermedades causadas por alimentos. La irradiación de alimentos como carnes de aves, cerdo y pescado, combinado con prácticas más higiénicas en el manejo de estos productos puede reducir significativamente la incidencia de enfermedades diarreicas cuyo vehículo de transmisión del agente

causante son los alimentos. Uno de los microorganismos que más daño causan es la bacteria *Salmonella*, que se encuentra comúnmente en carne y productos cárnicos, así como en huevo, pescados, mariscos y alimento para ganado. El tratamiento de estos productos con 3 kGy reduce las salmonelas viables por un factor de un millón por lo menos. También se pueden encontrar contaminando los alimentos, bacterias como *Shigella*, *Staphylococcus aureus*, *Clostridium perfringens*, *Campylobacter*, *Yersinia*, *Escherichia coli* enteropatógena y *Listeria*. Un tratamiento de radiación con una dosis de entre 2 y 7 kGy, dependiendo del producto puede causar una reducción sustancial en el número de microorganismos patógenos viables que ocasionalmente contaminan los alimentos ²⁶.

Extensión del período de almacenamiento La radiación puede ser empleada con el propósito de alargar el período de almacenamiento de productos frescos como frutas y hongos comestibles, ya que por una parte afecta los procesos bioquímicos que se llevan a cabo en éstos, disminuyendo así la aparición de la madurez. La radiación también destruye levaduras y otros microorganismos que comúnmente contaminan la fruta fresca y que son los que causan la podredumbre cuando la fruta se madura. Además puede evitarse la desecación que es otro factor que causa deterioro en los productos frescos, ya que a pesar de que la

radiación no previene este proceso, puede ser aplicada a un producto ya empacado de tal manera que la combinación adecuada del empacado y la radiación conduzca a una considerable extensión de la vida útil para una amplia variedad de alimentos frescos. Ejemplos de éstos son fresas, hongos comestibles, peras, carnes cocidas, tocino, ensaladas. La dosis de radiación que se requiere para este propósito se encuentra entre 0.5 y 3 kGy ²¹.

Inhibición de brotes. La inhibición de brotes (hijuelos) en vegetales de raíz frescos tales como papa, cebolla, ajo, es llevada a cabo por el tratamiento con radiación a dosis bajas, comprendidas entre 20 y 150 Gy. La radiación así empleada causa el suficiente daño al DNA de las células latentes de los brotes que son incapaces de dividirse para producir el brote. Las cebollas y papas tratadas con radiación pueden ser almacenadas a temperatura ambiente ahorrando energía al no requerir un almacenamiento bajo refrigeración ²¹.

Destrucción de parásitos. Otro propósito del empleo de radiación en alimentos, concierne al parásito triquina, el cual se encuentra en carne de cerdo y es el causante de la triquinosis, la cual constituye un problema de salud. Una dosis de radiación de 0.2 a 0.3 kGy inhibe la maduración de la triquina ²¹.

Descontaminación de especias. Las hierbas secas y especias se encuentran generalmente con niveles de contaminación elevados. El tratamiento de éstas con radiación presenta una alternativa ventajosa al empleo de óxido de etileno. Este tratamiento se lleva a cabo empleando dosis en el intervalo de 7 a 10 kGy ¹³.

Procedimiento para la irradiación de alimentos

La irradiación es un proceso físico de tratamiento de alimentos, el cual involucra la exposición del alimento, ya sea empacado o a granel, a la acción de radiación ionizante. Los tres tipos de radiación ionizante que se emplean en el procesamiento de alimentos son los rayos γ , electrones acelerados en máquinas especiales y los rayos X. Este proceso se lleva a cabo en un cuarto o cámara de irradiación de características especiales para tal efecto durante un tiempo determinado. Las fuentes de rayos γ más comúnmente utilizadas en el procesamiento de alimentos son los radionúclidos Cobalto-60 y Cesio-137.

TABLA 1.2 APLICACIONES DE LA IRRADIACIÓN DE ALIMENTOS #

| Efecto del tratamiento | Dosis (kGy) | Ejemplos de alimentos |
|---|--------------------|--|
| Dosis baja (hasta 1 kGy) | | |
| Inhibición de brotes | 0.02 – 0.15 | Papas, cebollas, ajos |
| Desinfestación por insectos | 0.1 – 1.0 | Cereales en grano, frutas |
| Eliminación de parásitos | <1.0 | Carne de cerdo |
| Retraso de la madurez | 0.5 – 1.0 | Frutas y vegetales frescos |
| Dosis Media (1 - 10 kGy) | | |
| Extensión de vida útil | 1.0 – 7.0 | Pescado, carne, frutas |
| Eliminación de patógenos | 3.0 – 7.0 | Pollo, carne, pescado |
| Descontaminación | 3.0 – 10.0 | Espicias |
| Mejorar propiedades tecnológicas de los alimentos | 2.0 – 10.0 | Producción de agar, maduración de whiskey |
| Dosis Alta (20 - 50 kGy) | | |
| Esterilización comercial | 20 – 50 | Alimentos preparados, dietas hospitalarias |

Poder de penetración de los rayos gamma

El conocimiento del poder de penetración de la radiación es de importancia tanto para propósitos de su aplicación por ejemplo en el procesamiento de alimentos, como para protección.

En un medio dado, el alcance de la radiación depende de su tipo y de su energía. Entre los tipos de radiación ionizante, los rayos gamma son los que presentan un mayor poder de penetración (Fig. 1.1). Éstos pueden atravesar grandes distancias aun en un medio denso, por ejemplo se requiere un espesor de plomo de 15 centímetros para reducir su intensidad por un factor de 5000 ⁵. El poder de penetración de los rayos gamma es de varias decenas de centímetros en alimentos.

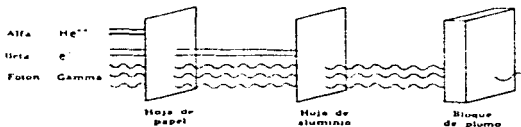


Fig. 1.1 Poder de penetración relativo de radiaciones alfa, beta y gamma

Cuando la radiación gamma pasa a través de la materia sufre absorción por interacción con los átomos del material absorbente. El resultado es un decremento en la intensidad de la radiación que está en función de la distancia recorrida a través del material absorbente y de la naturaleza del mismo. La ecuación del decremento en la energía del haz incidente de radiación es exponencial y se expresa:

$$I = I_0 e^{-\mu x}$$

$$(1)$$

$$\ln \frac{I}{I_0} = -\mu x$$

donde:

I_0 = la intensidad del haz incidente de radiación

I = la intensidad después de atravesar una distancia x
a través del material

μ = coeficiente de atenuación lineal del material

El coeficiente de atenuación lineal del material, μ es un valor que depende además de la naturaleza del material absorbente, de la energía de la radiación, sus unidades son cm^{-1} . Para una radiación de 1 MeV el valor de μ para plomo, agua y aire, expresado en cm^{-1} es de 0.797, 0.0706 y de 7.6×10^{-6} respectivamente ²⁰.

1.2.4 Radiólisis de las vitaminas

La estabilidad a la irradiación de las vitaminas presentes en los alimentos irradiados es importante desde el punto de vista de la nutrición. La radiosensibilidad de las diferentes vitaminas depende mucho de la naturaleza y la composición del sistema alimenticio. Se han llevado a cabo numerosos estudios referentes a los cambios en el contenido de las vitaminas provocados por la irradiación pero han habido relativamente pocos intentos encaminados a identificar y cuantificar los productos de degradación de las vitaminas formados en la irradiación de soluciones simples o en alimentos.

En la tabla 1.4 se muestra la estabilidad de las vitaminas frente a diferentes agentes como son el calor, la presencia de oxígeno, la luz y la radiación ionizante. Como puede observarse las vitaminas más sensibles a la radiación ionizante son la C, la B₁, la B₁₂, la E y la A ²⁵.

1.2.5 Radiólisis de la vitamina B₁

En varios estudios se ha observado que la vitamina B₁, junto con la B₁₂ son las más sensibles a la radiación, de las vitaminas del complejo B, tanto en solución acuosa ¹⁵ como en alimentos ^{13, 25}. En general, las pérdidas de tiamina son mayores al irradiar soluciones

TABLA 1.3 ESTABILIDAD DE LAS VITAMINAS FRENTE A VARIOS AGENTES

| Vitamina | Calor | Oxígeno | Luz | Radiación ionizante |
|--------------------------------|-------|---------|-------|---------------------|
| Vitaminas Hidrosolubles | | | | |
| Ácido ascórbico | 0 | ++ | + | ++ |
| Tiamina | ++ | 0 ó + | 0 ó + | ++ |
| Riboflavina | 0 | 0 | ++ | 0 |
| Ácido nicotínico | 0 | 0 | 0 | 0 ó + |
| Ácido pantoténico | + | 0 | 0 | 0 |
| Piridoxina | 0 | 0 ó + | + | + |
| Biotina | + | 0 | 0 | 0 |
| Ácido fólico | + | + | + | 0 |
| Vitamina B ₁₂ | 0 | + | + | ++ |
| Vitaminas Liposolubles | | | | |
| Vitamina A | 0 ó + | + | + | ++ |
| Vitamina D | 0 | 0 ó + | 0 | 0 |
| Vitamina E | 0 | ++ | 0 ó + | ++ |
| Vitamina K | 0 | 0 | + | + ó ++ |

0 = estable
 + = medianamente sensible
 ++ = muy sensible

acuosas que las ocurridas en la irradiación de alimentos. Las pérdidas en éstos varían de forma notable, dependiendo de diversos factores como son, el tipo de alimento irradiado, las condiciones de irradiación (dosis, intensidad de dosis, tipo de radiación, temperatura, medio ambiente) y el tratamiento posterior de los alimentos irradiados (almacenamiento, cocinado, enfriado).

En solución acuosa, los estudios realizados muestran que los factores que más afectan la descomposición radiolítica de la tiamina son: la concentración de vitamina, el pH, la dosis de radiación, así como la presencia de otras sustancias.

Se ha encontrado que las pérdidas de tiamina en soluciones diluidas están estrechamente relacionadas a su concentración. Se calculó el valor $G_{(-\text{tiamina})}$ de una solución 2.5 $\mu\text{g/ml}$ a una dosis de 0.5 kGy el cual fue de 0.07, mientras que para una solución cuya concentración fue de 1mg/ml a 1 kGy, el valor $G_{(-\text{tiamina})}$ fue de 20²⁵. En soluciones acuosas saturadas con aire a una dosis de 5 kGy, las pérdidas encontradas fueron: a una concentración de 0.5×10^{-3} M la pérdida de tiamina fue del 68.5%, para una solución 2.0×10^{-3} M, la pérdida fue del 49.5% y para una concentración 15×10^{-3} M, la pérdida fue del 16.6%, como se ve, la descomposición disminuye al aumentar la concentración ¹⁵.

Maurer y Dittmeyer informaron que la destrucción radiolítica de la tiamina aumenta al disminuir el pH, pero Wilska y Krakowiak han informado que la descomposición radiolítica de la tiamina en solución acuosa disminuye al disminuir el pH. Por otra parte, Kishore *et al* no encontraron diferencias en la destrucción de tiamina al irradiar soluciones acuosas de aireadas de tiamina a pH de 6.8 y 3.0, pero en presencia de aire y glucosa hubo menos pérdida a pH de 3.0 que a pH de 6.8 ²².

Para determinar el efecto de la dosis de irradiación sobre la descomposición radiolítica de la tiamina, se estudió el grado de descomposición provocado por la irradiación de las vitaminas del complejo B en solución acuosa a diferentes dosis y se determinó que ésta es una función de la dosis hasta 25 kGy, tanto en ausencia como en presencia de glucosa como un compuesto protector. La descomposición de tiamina en una solución acuosa 10^{-4} M, fue del 72% a 5 kGy, mientras que a 25 kGy el 97% de la tiamina se destruyó ¹⁴.

La descomposición de tiamina no se vio modificada de manera importante al irradiar soluciones acuosas 10^{-4} M a 5 kGy en diferentes ambientes. Los resultados encontrados indican una descomposición del 33% en un ambiente saturado con O_2 , en ambientes de saturación con aire y de N_2 , la descomposición fue del 39% en ambos casos, y al saturar con N_2O fue del 34% ¹⁴.

Se ha observado que existen sustancias que protegen a las vitaminas de la descomposición causada por la irradiación gamma. El glutatión minimiza la pérdida de tiamina por irradiación ⁶. El empleo de glucosa 0.1 M en soluciones saturadas con O₂ ó N₂O logra la completa protección de las soluciones de tiamina irradiadas hasta una dosis de 0.5 kGy. En ausencia de glucosa la tiamina es destruida casi totalmente a 25 kGy. A dosis de 5 kGy, la pérdida de tiamina fue del 72% sin glucosa y del 33% con glucosa. Sin embargo, a dosis de 25 kGy la tiamina es destruida en un 80% aun en presencia de glucosa. También la tiourea y el triptofano demostraron actuar efectivamente como protectores de la destrucción de la tiamina por irradiación ¹¹.

El efecto de la temperatura fue pronunciado sólo cuando se encuentra también presente glucosa en el sistema. En ausencia de ésta, prácticamente no hubo diferencia entre la degradación radiolítica a temperatura ambiente y a 68°C ¹¹.

Se conoce poco a cerca de la identidad de los productos de degradación de la tiamina por la irradiación gamma en sistemas modelo a pesar de que se conocen para otro tipo de degradación como la térmica o la química ⁶. Groninger y Tappel encontraron que se produce amoníaco en la radiólisis de tiamina y ellos sugieren que proviene del grupo 6-amino del anillo de pirimidina ⁹.

Aun cuando se sabe que la irradiación gamma causa destrucción de la vitamina B₁, no se han logrado elucidar las

reacciones que están involucradas. Se sabe que ambos anillos que forman la molécula de tiamina reaccionan fácilmente con los electrones, pero sólo el anillo de tiazol reacciona con los radicales hidrógeno, los radicales oxidantes como el hidroxilo se adicionan a ambos anillos. Se supone que el paso inicial en su degradación es el rompimiento de la unión entre los anillos de tiazol y pirimidina. Sin embargo, la presencia de los productos resultantes de este rompimiento no se ha hecho evidente. Uno de los estudios efectuados con el propósito de identificar los radicales producidos por la irradiación gamma de la vitamina B₁ es el efectuado por Forrester y Davidson, en el cual se irradió tiamina cristalina, los radicales libres formados se *capturaron* y las especies formadas se analizaron por espectroscopía de resonancia del spin del electrón. Los resultados obtenidos indican que no se produce el 5-hidroxiethyl-4-metiltiazol ni la 2-metil-4-amino-5-hidroxiethyl pirimidina 7.

Los estudios referentes a la pérdida de tiamina en alimentos irradiados se han realizado principalmente en carne, cereales, leche y huevo.

Estudios efectuados inicialmente establecen que la leche en polvo irradiada con 55.8 kGy no presenta pérdida de tiamina, mientras que estudios posteriores indican que el límite de dosis que no causa cambios sensoriales ni pérdidas en el contenido de

tiamina en leche en polvo es de 0.45 kGy y que dosis entre 0.5 a 10 kGy producen pérdidas del 5 al 17%. También se encontró que al irradiar leche entera con 1.47 kGy ocurre una pérdida del 35% de tiamina. En leche condensada irradiada a dosis de 20 kGy se observó una pérdida del 85% de tiamina ²⁵. La presencia de aire o de nitrógeno, no afectó la destrucción radiolítica de tiamina en leche. ²²

El contenido de vitamina B₁ en papas no se vio influenciado por la irradiación con 0.16 kGy y el almacenamiento posterior a 20°C y 7°C ²⁵.

En lo que se refiere a cereales, la irradiación de trigo con 0.2 kGy no mostró cambios aparentes en el contenido de tiamina, así como tampoco la irradiación de arroz a dosis hasta 10 kGy. Tampoco se observaron diferencias significativas en el contenido de tiamina en la harina de maíz irradiada de 1 a 10 kGy y la no irradiada, aun después de un año de almacenamiento ²⁵. En un estudio en el cual se irradiaron semillas de trigo, maíz, haba y garbanzo en un gammacell de cobalto-60 en un intervalo de dosis de 0.5 a 5 kGy, se determinó la pérdida en el contenido de tiamina, niacina y riboflavina causada por la irradiación. La vitamina que disminuyó sensiblemente fue la tiamina. Las pérdidas encontradas a 1 kGy para el trigo, maíz, haba y garbanzo fueron de 3, 7, 9.8 y 13.7%, respectivamente. A la dosis máxima estudiada de 5 kGy las pérdidas fueron de 9, 10, 14.4 y 17%, respectivamente ³. Al

irradiar harina de trigo a una dosis de 0.35 kGy ocurrió una pérdida de tiamina del 20%. Después de 2 meses de almacenamiento se observó que la pérdida de tiamina fue 63% en la harina irradiada comparada con la muestra no-irradiada ²⁵. Con las hojuelas de avena se encontró un efecto sinergista muy claro entre el calentamiento y el almacenamiento después de irradiarlas a 0.25 kGy. Inmediatamente después de la irradiación se observó una pérdida de tiamina del 35%. Después de un almacenamiento de 4 meses hubo una pérdida del 52% en las muestras irradiadas pero no calentadas. El calentamiento provocó en las muestras irradiadas pérdidas del 72% comparadas con las muestras calentadas no-irradiadas ²⁵. El efecto de la atmósfera en la destrucción radiolítica de la tiamina no es claro, sin embargo, Diehl encontró que la exclusión del oxígeno durante la irradiación de rollos de avena disminuyó la pérdida de tiamina de un 86% a un 26% ²².

Por otra parte, no se encontraron pérdidas significativas en el contenido de tiamina al irradiar huevo en polvo hasta 5 kGy y almacenar por 15 meses. En cambio el huevo entero congelado presentó una pérdida del 24% de vitamina B₁ a 5 kGy y del 61% a 50 kGy ²⁵. A pesar de que no se observó ningún efecto en el contenido de tiamina inmediatamente después de la irradiación de huevo en polvo a 0.35 kGy, se observó una disminución gradual durante el almacenamiento (cerca del 50% después de 8 meses). El

calentamiento a 100°C por 10 minutos no provocó una pérdida de tiamina adicional a la causada por el almacenamiento, pero el calentamiento a 200°C por 30 minutos provocó una pérdida del 50% en las muestras no irradiadas y del 75% en las muestras irradiadas 0.35 kGy y con 8 meses de almacenamiento ²⁵.

Se han llevado a cabo varios estudios acerca de la pérdida de tiamina por la irradiación de diferentes tipos de carne. En uno de los primeros estudios en carne de res cruda se encontró que la tiamina fue la vitamina más afectada por la radiación ionizante de las vitaminas del complejo B. La dosis de radiación empleada fue de 3,000,000 rep (27.9 kGy) y la pérdida de tiamina fue del 60% ¹. Groninger y Tappel determinaron la pérdida de tiamina en otros tipos de carne como la de cordero que sufrió una pérdida del 67% a una dosis de 13 kGy, en carne de ternera la pérdida fue del 56% y en tocino del 59% a la misma dosis. A una dosis de 18.6 kGy, las pérdidas encontradas en cordero fueron del 75%, en ternera del 78%, en trucha fueron del 91% y del 86% en pavo. Las atmósferas de N₂ y O₂ no afectaron la pérdida de tiamina en los tipos de carne estudiados ². Posteriores estudios realizados en carne de cerdo indican que al irradiar con rayos gamma a 15 kGy y una temperatura de -45°C la pérdida de tiamina fue del 28%, a 30 kGy se perdió el 50% y a 75 kGy hubo 73% de pérdida, las pérdidas encontradas son comparables e incluso menores que las provocadas

por el procesamiento térmico para la esterilización ²⁴. Cuando se llevó a cabo la irradiación de carne de cerdo empacada al vacío, las pérdidas de tiamina a dosis de 0.57, 1.91, 3.76, 5.52 y 7.25 kGy fueron 7.7, 23.5, 38.1, 49.8 y 57.6 %, respectivamente ¹¹. En este mismo estudio se determinó el efecto del almacenamiento y cocinado en el contenido de tiamina de las muestras irradiadas, y se encontró que estos tratamientos tienen un efecto bajo sobre el contenido de tiamina en carne de cerdo, al compararse con la cantidad de tiamina en la carne de cerdo no-irradiada expuesta a las mismas condiciones de almacenamiento y cocinado ¹¹. Fox *et al* determinaron la pérdida de tiamina, riboflavina, niacina, piridoxina y cobalamina en un intervalo de dosis de 0.49 a 6.65 kGy y un intervalo de temperatura de -20 a 20°C en chuletas de cerdo y pechugas de pollo y con los datos obtenidos desarrollaron una expresión matemática que puede predecir la pérdida de las vitaminas mencionadas en estos alimentos en función de la dosis aplicada y la temperatura a la cual se lleva a cabo la irradiación. Se observó un incremento en la estabilidad radiolítica de la tiamina al disminuir la temperatura ⁵. También Hanis *et al* encontraron una pérdida menor de tiamina al disminuir la temperatura durante la irradiación de carne de pollo, la pérdida de tiamina fue del 43.6% a 10°C, mientras que a -15°C fue del 28% para una dosis de 5 kGy ¹². En un estudio comparativo del efecto de la irradiación gamma (6 y 15 kGy) y el calentamiento de esterilización en el

contenido de tiamina en carne de res, se demostró que las pérdidas inducidas por la irradiación no exceden a las provocadas por el calentamiento de esterilización rutinaria ²⁵, aunque Proctor y Goldblith encontraron que hay más pérdida en alimentos irradiados que en los esterilizados térmicamente ¹⁹. En carne de cerdo irradiada con 1 kGy, el contenido de tiamina se redujo en un 5% y el almacenar por 4 meses a 0°C éste se redujo en un 38% adicional. El calentamiento previo a la irradiación por 10 minutos a 100°C no tuvo prácticamente un efecto adicional en la pérdida de tiamina. Sin embargo, en estas muestras, el almacenamiento por 4 meses redujo el contenido de tiamina en aproximadamente un 50% de su contenido inicial. Cabe mencionar que las muestras no irradiadas sufrieron un deterioro total después de 4 meses ²⁵.

En pescado se comparó el efecto en el contenido de tiamina provocado por la radiopasteurización con los causados por el almacenamiento comercial de filetes de bacalao frescos en hielo por 10 días y de filetes congelados a -20°C por 6 y 12 meses. La dosis de radiación empleada fue de 25 kGy, la cual es 10 veces mayor a la recomendada para la pasteurización. Las pérdidas observadas fueron comparables a las encontradas en las muestras almacenadas comercialmente ²⁵. Cuando se irradió bacalao crudo a 25 kGy, se retuvo el 37% de tiamina. Las almejas irradiadas a una dosis de 45 kGy no mostraron cambios significativos en el contenido de tiamina ²². En un estudio sobre el efecto combinado

de la irradiación gamma con 6 kGy y el cocinado, sobre el valor nutritivo de los filetes de bacalao, se encontró que la tiamina es la más sensible de las vitaminas. La pérdida de tiamina fue del 47%. También se determinó que la pérdida total obtenida por la irradiación seguida del cocinado equivale a la suma de las pérdidas encontradas con cada tratamiento por separado ²⁵.

En resumen, la estabilidad de la vitamina B₁ en un determinado alimento está determinado por una serie de factores tales como la composición del alimento, la atmósfera en la cual se procesa, y la temperatura durante la irradiación, así como el almacenamiento y cocinado posteriores. Cabe señalar que otro factor importante que determina los cambios sufridos al irradiar un alimento y que debe tomarse en cuenta es la geometría del alimento, es decir su tamaño y forma.

Algunos alimentos como el arroz y las almejas no sufren pérdidas importantes de tiamina aun a dosis altas, mientras que otros son muy sensibles como es el caso de la trucha, el pavo y la leche condensada. Las pérdidas de tiamina en la irradiación de cereales en grano son bajas, pero aumentan en las harinas.

En algunos casos el almacenamiento provoca una pérdida mayor de tiamina en alimentos irradiados que en los no irradiados, por ejemplo la carne de cerdo y el huevo en polvo.

TABLA 1.4 PÉRDIDA DE TIAMINA EN ALGUNOS ALIMENTOS IRRADIADOS

| Dosis (kGy) | Alimento | Pérdida de tiamina % | Observaciones | Referencia |
|-------------|------------------------|----------------------|-----------------------|------------|
| 55.8 | Leche en polvo | 0 | | 25 |
| <0.45 | Leche en polvo | 0 | | 25 |
| 5 - 10 | Leche en polvo | 5 - 17 | | 25 |
| 1.47 | Leche entera | 35 | | 25 |
| 20 | Leche condensada | 85 | | 25 |
| 0.16 | Papa | 0 | T almac. 20 y 7°C | 25 |
| 0.2 | Trigo | 0 | | 25 |
| 10 | Arroz | 0 | | 25 |
| 0.35 | Harina de trigo | 20 | aumentó x almac. | 25 |
| 1 | Trigo | 3 | | 3 |
| 1 | Maiz | 7 | | 3 |
| 1 | Garbanzo | 14 | | 3 |
| 5 | Trigo | 9 | | 3 |
| 5 | Maiz | 10 | | 3 |
| 0.25 | Hojuelas de avena | 35 | num. x alm. y calent. | 25 |
| 0.35 | Huevo en polvo | 0 | 50% 8 meses después | 25 |
| 5 | Huevo entero congelado | 24 | | 25 |
| 27.9 | Carne de res cruda | 60 | | 1 |
| 13 | Carne de ternera | 56 | | 9 |
| 18.6 | Trucha | 91 | | 9 |
| 18.6 | Pavo | 86 | | 9 |
| 15 | Carne de cerdo | 28 | T irrad. = -45°C | 24 |
| 30 | Carne de cerdo | 50 | T irrad. = -45°C | 24 |
| 60 | Carne de cerdo | 65 | T irrad. = -45°C | 24 |
| 3.8 | Carne de cerdo emp. | 38 | Empacada al vacío | 11 |
| 7.4 | Carne de cerdo emp. | 58 | Empacada al vacío | 11 |
| 6 | Filetes de bacalao | 47 | | 25 |
| 25 | Bacalao crudo | 63 | | 22 |
| 1 | Carne de pollo | 18.8 | T irrad. = 10°C | 13 |
| 1 | Carne de pollo | 11.2 | T irrad. = -15°C | 13 |
| 2.5 | Carne de pollo | 29.1 | T irrad. = 10°C | 13 |
| 2.5 | Carne de pollo | 22.4 | T irrad. = -15 °C | 13 |
| 5 | Carne de pollo | 43.6 | T irrad. = 10°C | 13 |
| 5 | Carne de pollo | 28 | T irrad. = -15 °C | 13 |
| 45 | Almejas | 0 | | 22 |
| 30 | Tocino | 80 | | 22 |

La atmósfera de O_2 y N_2 no tuvo efecto en la radiólisis de tiamina en carne ni leche, mientras que en rollos de avena la exclusión del oxígeno disminuyó la pérdida de ésta.

En general, la estabilidad radiolítica de la tiamina aumenta al disminuir la temperatura.

El efecto del cocinado de los alimentos irradiados es muy pronunciado en algunos casos, como en el caso de las hojuelas de avena en el cual existe sinergismo entre la irradiación y el cocinado, mientras que en otros casos este efecto no es tan importante.

Por último, cabe señalar que en muchos casos la pérdida de tiamina causada por la irradiación de alimentos es similar e inclusive menor que la provocada por el tratamiento térmico.

Por otra parte, se han realizado muy pocos estudios acerca de la irradiación de soluciones acuosas de tiamina y en éstos existen contradicciones, ya que no está claro cuál es el efecto del pH, la presencia de oxígeno en la solución, la concentración de vitamina y la dosis de radiación en la radiólisis de tiamina.

En cuanto a los productos de descomposición radiolítica de la tiamina prácticamente no hay información al respecto, ni se conoce el mecanismo de descomposición.

OBJETIVOS

El presente trabajo tiene como objetivos:

Calcular la pérdida de tiamina a diferentes dosis de radiación y diferentes valores de pH, en ausencia y en presencia de oxígeno, así como a diferentes concentraciones de vitamina.

Determinar el rendimiento radiolítico (valor G) de descomposición de tiamina.

Determinar algunos de los productos que se forman como resultado de la radiólisis de tiamina.

PARTE EXPERIMENTAL

2.1 Reactivos

El clorhidrato de tiamina fue obtenido por donación de los Laboratorios Roche. Todos los demás reactivos empleados fueron de la más alta pureza disponible en el mercado y se utilizaron sin proceso de purificación adicional.

2.2 Preparación de las muestras

Los estudios de Química de Radiaciones requieren de cuidados especiales en la pureza del agua, la limpieza de los contenedores para irradiación y la preparación de las soluciones, pues se involucra el comportamiento de especies reactivas presentes en muy bajas concentraciones (milimolares o mucho menores), y cualquier impureza presente compite con las especies reactivas o con los solutos y pueden influenciar los resultados obtenidos ⁴.

La purificación del agua para investigación en Química de Radiaciones se lleva a cabo generalmente por una destilación triple de agua destilada ordinaria: la primera destilación parte de una solución de permanganato de potasio alcalino, la segunda a partir de una solución de dicromato de potasio ácido, y la tercera se lleva a cabo sin ningún reactivo. Esto es realizado en un sistema continuo, todo el aparato es de vidrio y el agua nunca debe tener contacto con caucho o plástico ⁴.

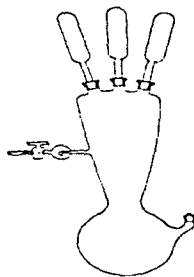
Es obvio que tantos cuidados en la purificación del agua deben ser acompañados por igual cuidado en la limpieza de los contenedores para irradiación. En primer lugar, se lava con detergente y agua corriente, posteriormente se sumerge en una mezcla hirviente de ácido nítrico - ácido sulfúrico (ambos concentrados y en proporción 1:3) durante una hora y se enjuaga, primero con agua destilada ordinaria y después con agua triplemente destilada, se seca a temperatura ambiente y finalmente se lleva a una mufla a una temperatura entre 300 y 350 °C por 30 minutos como mínimo.

Los contenedores para irradiación que se emplearon consisten en ampollas de vidrio de 1.2 cm de diámetro y 4 cm de largo.

La eliminación del aire de las soluciones y el llenado simultáneo de las ampollas para irradiación se realizó por medio de un dispositivo de vidrio como el mostrado en la figura 2.1, el cual posee varios extremos en los cuales se colocan las ampollas y se

llenar con la solución a la cual se desea eliminar el aire. El dispositivo está conectado, a través de una trampa, a una bomba de alto vacío ordinaria. El aire es eliminado por la acción alternada de la agitación y el vacío, en un tiempo aproximado de 30 minutos. Cuando se ha eliminado el aire, se llenan las ampollitas y se colocan respectivas tapas a cada una ⁴.

Fig. 2.1 Dispositivo empleado para eliminar el aire en las muestras para irradiación.



Las soluciones acuosas de tiamina se prepararon utilizando agua triplemente destilada. La concentración de las soluciones estuvo en el intervalo de 10^{-6} a 10^{-1} M. Para las muestras libres de oxígeno molecular, éste se eliminó por acción de vacío durante 30 minutos como se indicó anteriormente.

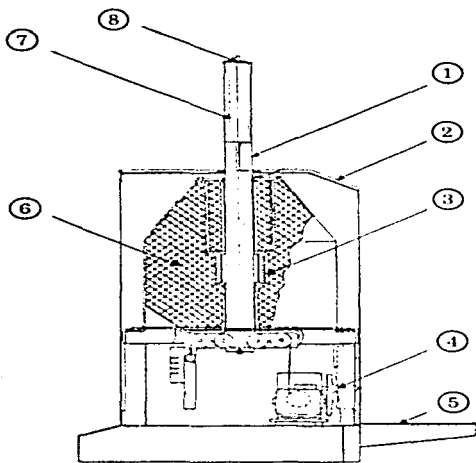
El ajuste del pH de las soluciones se llevó a cabo por la adición de ácido perclórico a dichas soluciones hasta obtener el valor deseado. Las determinaciones del pH de las muestras se llevaron a cabo en un potenciómetro marca Sargent-Welch Scientific Company, modelo LSX.

Después de ser preparadas, las muestras fueron irradiadas y analizadas inmediatamente.

2.3 Irradiación

2.3.1 Fuente de irradiación

La fuente radiactiva empleada fue un irradiador de rayos γ del radionúclido Cobalto-60 denominado *Gammacell 200*, que se encuentra en el Instituto de Ciencias Nucleares, y que consiste básicamente de una fuente de forma anular, un blindaje de plomo alrededor de la fuente y una cavidad cilíndrica (ómbolo) que se mueve verticalmente a través del centro de las fuentes con una cámara de irradiación de 13.9 cm de largo por 8.9 cm de diámetro, donde se coloca la muestra a irradiar desde afuera ². En la figura 2.2 se muestra un esquema ilustrativo del irradiador *Gammacell 200*.



1. Cámara de muestras
2. Panel de control
3. Fuentes de Cobalto 60
4. Parte mecánica
5. Escalón frontal
6. Blindaje de plomo (forrado de acero)
7. Cilindro deslizante
8. Tapón blindado

Fig. 2.2 Irradiador *Gammacell 200*.

La actividad nominal de la fuente fue de 1.3505×10^{14} Bq (3650 Ci). En el momento de este estudio la intensidad de dosis central fue de 2.47 Gy min^{-1} ($2.47 \text{ rad min}^{-1}$), determinada mediante el dosímetro de Fricke.

2.3.2 Dosimetría de la fuente de irradiación

La determinación de la dosis de radiación absorbida por un sistema se logra por medio de un dosímetro. En este estudio se empleó un dosímetro de tipo químico denominado *dosímetro de Fricke*, el cual consiste en una solución acuosa de sulfato ferroso 10^{-3} M, ácido sulfúrico 0.4 M y cloruro de sodio 10^{-3} M. La dosis absorbida se infiere a partir de los cambios en la concentración de los iones férrico, debido a que los iones ferroso presentes en un inicio, son oxidados a iones férrico por acción de la radiación. El empleo de cloruro de sodio es con el propósito de reducir el efecto de posibles impurezas ¹⁷.

El rendimiento radiolítico, $G_{(Fe^{III})}$ y el coeficiente molar de absorción, ϵ de los iones férrico son conocidos para diferentes condiciones de irradiación y de análisis. El incremento en la densidad óptica (absorbancia, A) es determinada en un espectrofotómetro a una longitud de onda de 303 nm y es debido al

incremento en la concentración de los iones férrico. Dicho incremento es proporcional a la dosis absorbida hasta ≈ 200 Gy.

La dosis absorbida, D_a , es determinada a una temperatura dada a partir de los incrementos en la absorbancia y de los valores conocidos $G_{(Fe^{III})}$ y ϵ :

$$D_a = \frac{\Delta A}{G_{(Fe^{III})} \epsilon l \rho}$$

donde

ΔA = incremento en la absorbancia de la solución

$G_{(Fe^{III})}$ = rendimiento radiolítico del ion férrico =

1.62×10^{-6} mol. \cdot J $^{-1}$ para soluciones aireadas, y a 25°C

ϵ = coeficiente molar de absorción del ion férrico =

216.4 m 2 .mol $^{-1}$ a 303 nm y 25°C

l = longitud del paso de la luz en la solución = 1 cm

ρ = densidad de la solución = 1.024 kg.dm $^{-3}$.

2.4 Análisis de las muestras irradiadas

Después de la irradiación, las muestras se analizaron para determinar en primer lugar, el contenido de tiamina en éstas a las diferentes condiciones dadas.

Por otro lado averiguar si se encontraban presentes en las muestras irradiadas, alguno de los posibles productos de descomposición radiolítica de la tiamina. Entre éstos se encuentran el 5-hidroxietil-4-metil tiazol y la 2-metil-4-amino-5-hidroxi-metil pirimidina, que son los que resultarían de la ruptura de la molécula en sus dos anillos constituyentes. Así mismo se investigó si estaba presente el producto de oxidación de tiamina que es el tiocromo, y dado que la molécula posee nitrógeno, se determinó si estaba presente el amoníaco. También se trató de identificar por cromatografía de gases/espectrometría de masas algún producto volátil producido por la radiólisis de tiamina.

En la figura 2.3 se muestra un diagrama del desarrollo experimental que se llevó a cabo.

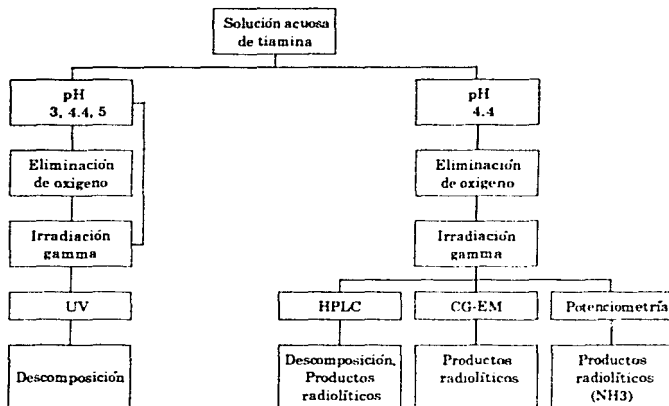


Fig. 2.3 Diagrama del desarrollo experimental.

2.4.1 Espectrofotometría Ultravioleta

Aparato

La determinación de la absorbancia presentada por las muestras se realizó mediante el empleo de un espectrofotómetro marca Perkin-Elmer, modelo 553.

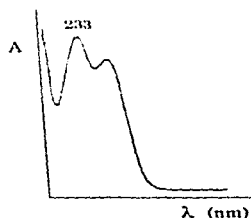
Procedimiento

En primer lugar se preparó una curva patrón de tiamina para lo cual se prepararon soluciones acuosas de tiamina cuyas concentraciones estuvieron en el intervalo 10^{-6} M y 10^{-5} M y la dilución entre una y otra fuera de un factor de 0.25×10^{-5} M. Se registró la absorbancia que presentaron cada una de las soluciones a una longitud de onda de 233 nm, que es donde se encuentra el máximo de absorción (figura 2.4) para lo cual se utilizaron celdas de cuarzo de 1 cm de diámetro. Con los datos obtenidos se trazó una gráfica de concentración vs absorbancia.

Se prepararon soluciones acuosas de tiamina de concentración 10^{-5} M y luego de ser expuestas a la acción de la radiación hasta lograr diferentes dosis dentro del intervalo de 7.4 a 370 Gy, se analizaron al determinar la absorbancia presentada por las soluciones irradiadas a una longitud de onda de 233 nm. La concentración de tiamina en las muestras irradiadas se infirió al interpolar el valor de la absorbancia de las muestras, en la curva

patrón. Este procedimiento se llevó a cabo a diferentes valores de pH dentro del intervalo ácido, tanto en presencia como en ausencia de oxígeno molecular.

Fig. 2.1 Espectro UV de tiamina en solución acuosa.



2.4.2 Cromatografía de Líquidos de Alta Presión

Aparato

Se utilizó un cromatógrafo de líquidos de alta presión, marca Varian, modelo 9010 equipado con un detector espectrofotométrico visible-ultravioleta, marca Varian, modelo 9050. La columna empleada fue de acero inoxidable de 15 cm x 4.6 mm de diámetro interno, la fase estacionaria Hypersil ODS C-18 de 3 μm , y un registrador marca Hewlett-Packard. La fase móvil fue una solución acuosa de metanol 25% v/v, ácido acético 1% v/v y de la sal sódica del ácido hexensulfónico 5×10^{-3} M ²⁷. Las condiciones de trabajo fueron las siguientes: una razón de flujo de la fase móvil de

0.5 ml/min con la cual se alcanzó una presión entre 130–132 atm, una longitud de onda variable, con tiempos de 0–9.85 min (250 nm); de 9.86–13.9 min (226 nm) y de 14–25 min (250 nm). Volumen de inyección 10 µl, la velocidad del papel del registrador 0.5 cm/min y una sensibilidad de detección de 0.1 a.u.f.s.

Procedimiento

Primero se elaboró una curva patrón de tiamina para lo cual se prepararon soluciones acuosas de tiamina de concentraciones entre 2.5×10^{-4} y 2.5×10^{-5} M, y se inyectó cada una en el cromatógrafo. Para cada muestra se registró el tiempo de retención y el área bajo la curva de la señal obtenida. Se trazó una gráfica de concentración de tiamina vs área bajo la curva.

Posteriormente se prepararon soluciones acuosas de tiamina de concentración 2.5×10^{-4} M y se irradiaron con dosis entre 68 y 3,390 Gy. Estas muestras se inyectaron en el cromatógrafo y se cuantificó la cantidad de tiamina por interpolación de los valores del área bajo la curva de las señales, en la gráfica concentración de tiamina vs área.

Por otra parte, se llevó a cabo en las muestras de tiamina irradiada, una identificación confirmativa de los compuestos 5-hidroxietil-4-metil tiazol, 2-metil-4-amino-5-hidroximetilpirimidina y tiocromo, para lo cual se inyectaron en el cromatógrafo de líquidos muestras patrón de cada uno de los compuestos

mencionados por separado, empleando el detector a la longitud de onda de su máxima absorción determinada previamente, y se registró el tiempo de retención en cada caso. Posteriormente se compararon éstos con el tiempo de retención de las señales obtenidas al inyectar las muestras de tiamina irradiada.

2.4.3 Cromatografía de Gases

Aparato

Se utilizó un cromatógrafo de gases marca Hewlett Packard, modelo 5890 A, equipado con un detector de masas marca Hewlett Packard, modelo 5971, una columna capilar de 30 m x 0.25 mm x 0.25 μm de película, de sílice. Se mantuvieron las siguientes condiciones: temperatura del inyector, 230°C; temperatura inicial de la columna, 60°C, la cual se incrementó a razón de 20°C/min hasta alcanzar 290°C. La fase móvil fue helio. Posteriormente se bajó la temperatura del inyector hasta 150°C, manteniendo igual el resto de las condiciones.

Procedimiento

Se hicieron inyecciones en el cromatógrafo de gases de una muestra patrón de tiamina. Posteriormente se inyectó una muestra acuosa de tiamina 10^{-1} M irradiada 2.7 kGy. Se

obtuvieron los cromatogramas de cada muestra y los espectros de masas de las señales obtenidas. Asimismo se obtuvo el cromatograma y espectro de una muestra patrón del 5-hidroxietyl-4-metil tiazol

Aparato

Se empleó también un cromatógrafo de gases marca Hewlett Packard modelo 5890 Serie II Plus, equipado con un detector de ionización de flama. La columna empleada fue capilar SPB-50 de 10m x 0.25 mm x 0.25 μ m. Las condiciones que se mantuvieron fueron: temperatura del detector, 350°C; temperatura inicial de la columna, 60°C, la cual se mantuvo por un minuto y se incrementó a razón de 20°C/min hasta alcanzar 350°C. La fase móvil fue nitrógeno y para la flama se empleó hidrógeno y aire. La inyección de la muestra se realizó "on column".

Procedimiento

En primer lugar se inyectó un blanco de tiamina sin irradiar y una muestra patrón de 5-hidroxietyl-4-metil tiazol. Posteriormente se inyectó la muestra de tiamina irradiada.

Se compararon los cromatogramas obtenidos en cada caso.

2-4-4 Potenciometría iónica selectiva

Aparato

Se empleó un electrodo iónico selectivo para amoníaco, marca Orion, modelo 95-12.

Procedimiento

En primer lugar se elaboró una curva de calibración para amoníaco utilizando solución estándar de diferentes concentraciones de amoníaco y se registró el voltaje que provocaron en el electrodo. Con estos datos se trazó una gráfica del logaritmo de la concentración vs milivoltios registrados.

Muestras acuosas de tiamina 2.5×10^{-4} M irradiadas a diferentes dosis (en un intervalo de 228 a 3,315 Gy) se analizaron para determinar el contenido de amoníaco al medir en el electrodo el voltaje provocado e interpolarlo en la curva patrón.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Cálculo de la pérdida de vitamina B₁

En la tabla 3.1 y figura 3.1 se muestran los resultados de la curva patrón de tiamina que se utilizó para determinar la concentración de tiamina en las muestras irradiadas.

Efecto de la dosis de irradiación

En la tabla 3.2 se observa que la descomposición de la tiamina en soluciones acuosas diluidas expuestas a la radiación y en el intervalo de dosis estudiado es considerable.

TABLA 3.1. CURVA PATRÓN DE TIAMINA

| Conc. de tiamina (M) $\times 10^{-6}$ | Absorbancia a 233 nm |
|--|-------------------------|
| 1.0 | 0.011 |
| 2.0 | 0.021 |
| 4.0 | 0.042 |
| 6.0 | 0.064 |
| 8.0 | 0.084 |
| 10.0 | 0.106 |

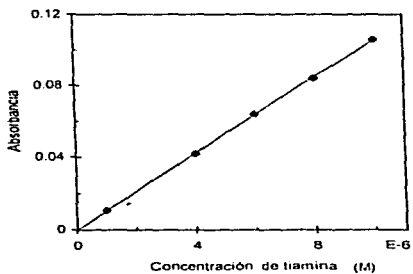


Fig. 3.1. Curva patrón de tiamina.

TABLA 3.2 PÉRDIDA DE TIAMINA A DIFERENTES DOSIS DE RADIACIÓN
CONCENTRACIÓN INICIAL 10^{-6} M

| Dosis (Gy) | % pérdida con O ₂ | % pérdida sin O ₂ |
|------------|------------------------------|------------------------------|
| 74 | 28 | 33 |
| 148 | 47 | 45 |
| 222 | 57 | 48 |
| 296 | 65 | 49 |
| 370 | 67 | 51 |

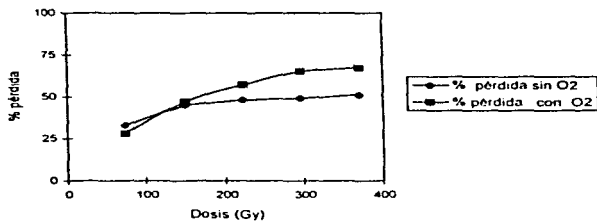


Fig. 3.2. Efecto de la dosis de radiación sobre la descomposición de tiamina.

Debido a que el medio de reacción es acuoso y que el soluto (tiamina) en comparación con el agua, se encuentra en concentraciones muy pequeñas, se considera que la interacción de la radiación en el sistema será en primer lugar con las moléculas de agua. Como ya se mencionó, los productos radiolíticos del agua son bastante reactivos y son los que reaccionarán con la tiamina provocando su descomposición.

Efecto del oxígeno

Como puede apreciarse en la figura 3.2 la diferencia encontrada en el porcentaje de descomposición de la tiamina en ausencia y en presencia de oxígeno molecular, ésta se descompone más cuando hay oxígeno. Por lo que podemos decir que el oxígeno tiene el efecto de aumentar la radiólisis de tiamina a las concentraciones presentes en el medio estudiado.

Efecto del pH

En cuanto al efecto del pH en la descomposición de la tiamina se observa (tabla 3.3 y figura 3.3) que la descomposición radiolítica de la tiamina en soluciones acuosas diluidas, disminuye al disminuir el pH, tanto en presencia como en ausencia de O_2 . Esto nos indica que la concentración de los iones hidronio (H^+) es

TABLA 3.3. PÉRDIDA DE TIAMINA A DIFERENTES VALORES DE pH
 CONCENTRACIÓN INICIAL 10^{-6} M Y DOSIS DE 370 Gy

| pH | % pérdida con O ₂ | % pérdida sin O ₂ |
|-----|------------------------------|------------------------------|
| 3 | 41 | 34 |
| 4.4 | 67 | 51 |
| 5 | 73 | 59 |

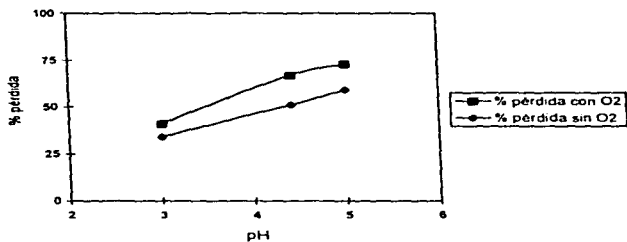


Fig. 3.3. Efecto del pH sobre la pérdida de tiamina ausencia y en presencia de oxígeno.

importante en la radiólisis de la tiamina, debido a que éstos reaccionan más rápidamente con los radicales $\cdot\text{H}$ que es la especie reductora dominante en ese medio, y como resultado de ello la descomposición de la tiamina es menor. También es posible que se deba a que a pH ácido, debido a que la molécula de tiamina se encuentre protonada y es más estable, disminuye su reactividad.

Retención de tiamina

Se cuantificó la pérdida de tiamina por acción de la radiación por cromatografía de líquidos de alta presión. En la tabla 3.4 y figura 3.4 se muestran los datos de la curva patrón de tiamina y enseguida el porcentaje de pérdida a diferentes dosis de radiación (tabla 3.5 y figura 3.5)

Como puede observarse en la tabla 3.5 y figura 3.5, la descomposición de la tiamina en solución acuosa debida a la radiación, es considerable. Aun a dosis bajas por ejemplo, la dosis empleada para inhibir la aparición de brotes en tubérculos que es de 150 Gy, la pérdida de la tiamina en solución acuosa, está alrededor del 30%, y para un tratamiento cuyo propósito sea la desinfestación de granos y que requiere de cerca de 600 Gy, la pérdida presentada fue del 66%. Para dosis mayores similares a

TABLA 3.4 CURVA PATRÓN DE TIAMINA, OBTENIDA POR CROMATOGRAFÍA DE LÍQUIDOS DE ALTA PRESIÓN.

| Conc. Tiamina (M) X 10 ⁻⁴ | Área (X 10 ⁶) |
|---|------------------------------|
| 0 | 0 |
| 2.50 | 9.615 |
| 2.25 | 8.732 |
| 2.00 | 7.604 |
| 1.75 | 6.483 |
| 1.50 | 5.734 |
| 1.25 | 5.158 |
| 1.00 | 3.943 |
| 0.75 | 3.050 |
| 0.50 | 1.942 |
| 0.25 | 0.909 |

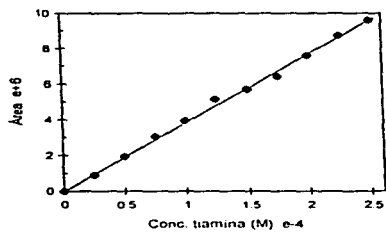


Fig. 3.4 Curva patrón de tiamina

TABLA 3.5. PÉRDIDA DE TIAMINA A DIFERENTES DOSIS DE RADIACIÓN.
CONCENTRACIÓN INICIAL 2.5×10^{-4} M Y LIBRE DE O_2

| Dosis (Gy) | Conc. Tiamina Residual ($\times 10^{-4}$ M) | % pérdida |
|------------|---|-----------|
| 0 | 2.50 | 0 |
| 68 | 2.29 | 8.4 |
| 136 | 1.74 | 30 |
| 203 | 1.65 | 34 |
| 271 | 1.43 | 43 |
| 339 | 1.29 | 48 |
| 407 | 1.13 | 55 |
| 474 | 1.00 | 60 |
| 542 | 0.89 | 64 |
| 610 | 0.85 | 66 |
| 678 | 0.72 | 71 |
| 746 | 0.63 | 75 |
| 814 | 0.49 | 80 |
| 882 | 0.41 | 82 |
| 950 | 0.42 | 83 |
| 1018 | 0.34 | 86 |
| 1086 | 0.24 | 90 |
| 1154 | 0.10 | 96 |
| 1222 | 0.01 | 99 |

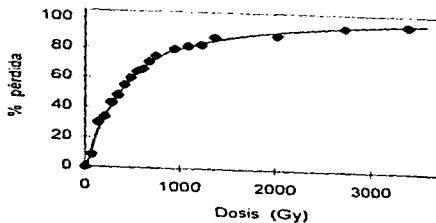


Fig. 3.5 Porcentaje de pérdida de tiamina con la dosis.

las empleadas por ejemplo para eliminar microorganismos patógenos tipo *Salmonella*, las pérdidas fueron muy cercanas al 100%.

En la figura 3.6 se muestra la gráfica del valor G de descomposición de tiamina a una concentración de 2.5×10^{-4} M. A partir de ésta se calculó un valor G° inicial de 5.0.

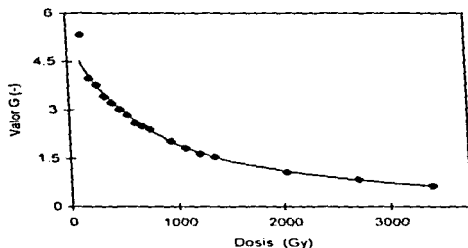


Figura 3.6 Valor G de tiamina acuosa 2.5×10^{-4} M, libre de oxígeno.

Efecto de la concentración de vitamina

Los datos que se obtuvieron de la descomposición de tiamina a diferentes concentraciones se presentan en la tabla 3.6 y figura 3.7. La dosis de irradiación para las diferentes concentraciones fue de 600 Gy.

**TABLA 3.6 PÉRDIDA DE TIAMINA A DIFERENTES CONCENTRACIONES
DOSIS 0.6 kGy**

| Conc. de tiamina | % de pérdida |
|------------------|--------------|
| 10^{-2} M | 8% |
| 10^{-3} M | 45% |
| 10^{-4} M | 67% |

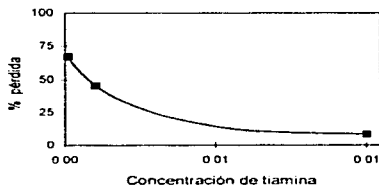


Fig. 3.7 Pérdida de tiamina a diferentes concentraciones.

Se observa que la concentración de vitamina ejerce un papel muy importante en la destrucción radiolítica de la tiamina. A mayor concentración la descomposición de la tiamina es menor. Esto está de acuerdo con los anteriores resultados presentados por Kishore *14, 15*.

Identificación de los productos radiolíticos de la tiamina

En la figura 3.8 se muestra, en primer lugar la gráfica obtenido por cromatografía de líquidos de alta presión (HPLC) de una muestra patrón de tiamina, en el cual se observa una señal con un tiempo de retención de 19.6 minutos.

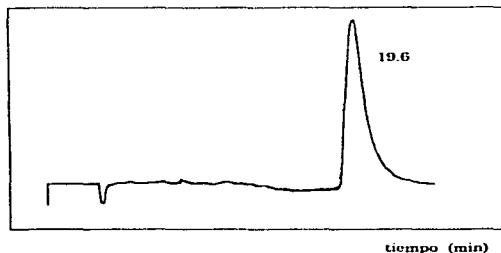


Fig. 3. 8 Cromatograma en HPLC de una muestra patrón de tiamina.

A continuación se presentan (figura 3.9) las gráficas obtenidas por cromatografía de líquidos de alta presión, de soluciones patrón de 5-hidroxietil-4-metil tiazol, 2-metil-4-amino-5-hidroximetil pirimidina y tiocromo, en los cuales se muestra el tiempo de retención respectivo.

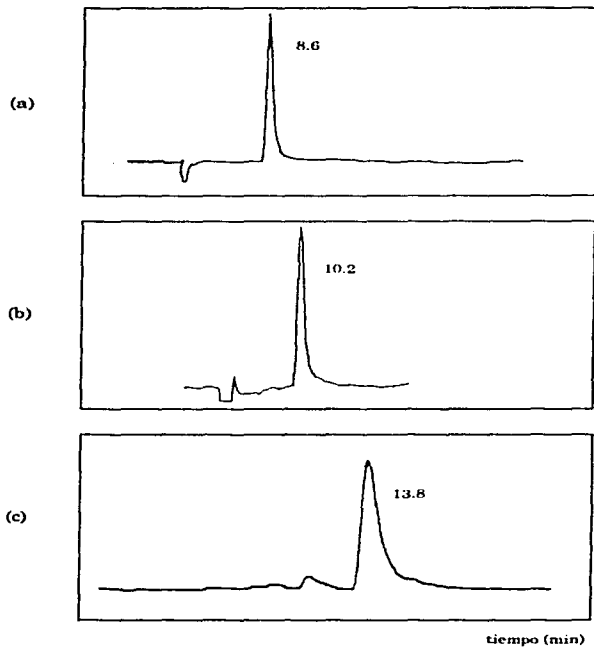


Figura 3.9. Cromatogramas en HPLC de soluciones patrón de (a) 5-hidroxi-etil-4-metil tiazol, (b) 2-metil-4-amino-5-hidroxi-metil pirimidina y (c) tiocromo.

Enseguida se muestra (figura 3.10) el cromatograma obtenido de una muestra de tiamina irradiada 0.5 kGy. En este cromatograma se distingue principalmente la señal que corresponde a la tiamina (t_R 19.6 min), la cual fue disminuyendo con la dosis. No se observan en este cromatograma las señales cuyos tiempo de retención corresponden a los patrones de los compuestos esperados, ni en los cromatogramas obtenidos a dosis mayores. En cambio se observa una señal a los 16 minutos la cual fue aumentando de tamaño en función de la dosis de radiación, como se observa en la figura 3.11.

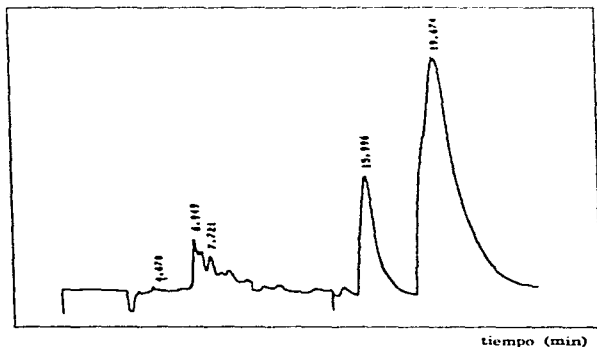


Figura 3.10 Cromatograma en HPLC obtenido de una muestra de tiamina 2.5×10^{-4} M irradiada 0.5 kGy.

El porcentaje del área total para este compuesto a 0.5 kGy fue del 2.1%. Este producto muy probablemente sea el formado por la adición de los radicales OH o H del agua a los dobles enlaces de la molécula de tiamina. También se observan otras señales de menor tamaño debidas a otros productos formados en menor proporción.

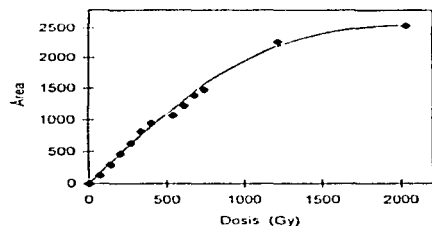


Fig. 3.11 Formación de un producto radiolítico de la tiamina que tuvo un t_R de 16 min.

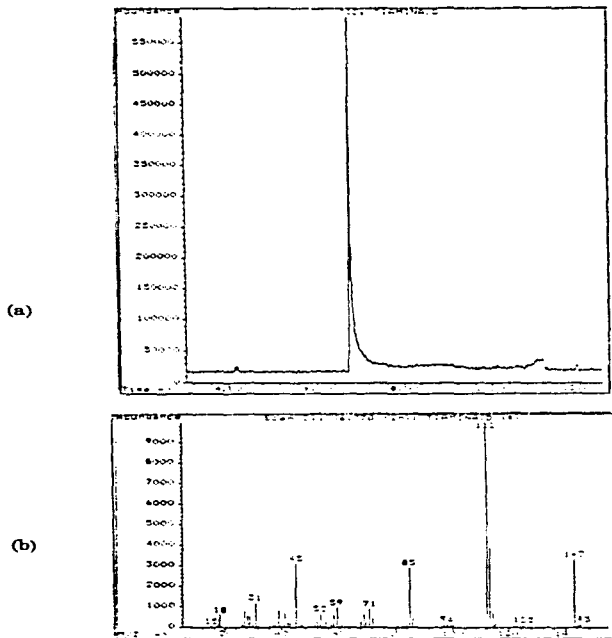
A pesar de que se ha publicado ⁷ que la unión entre los dos anillos que forman a la tiamina es susceptible al ataque, no se encontraron los compuestos que resultarían de esta ruptura, en las soluciones de tiamina irradiada, con lo cual se supone que la radiólisis de tiamina se lleva a cabo por otro mecanismo principal que es el que produce el compuesto cuyo t_R es de 16 min. Tampoco se detectó la presencia de tiocromo que es el producto de la oxidación de tiamina.

Con el propósito de determinar si se producían compuestos volátiles durante la irradiación de soluciones acuosas de tiamina, se analizaron soluciones acuosas de tiamina irradiada, por cromatografía de gases/espectrometría de masas.

En primer lugar se muestra el cromatograma obtenido de una muestra patrón de tiamina, y posteriormente el de una solución de tiamina irradiada 2.7 kGy.

Al analizar una muestra de tiamina irradiada por cromatografía de gases/espectrometría de masas, se observa una señal que fue identificada como el 5-hidroxietil-4-metil tiazol, la cual se observa también en la muestra patrón de tiamina, por lo que se puede decir que éste se forma por la descomposición térmica que sufre la tiamina durante el análisis. Para corroborar esto se inyectó también una muestra patrón de 5-hidroxietil-4-metil tiazol, y dio el mismo t_R y el mismo espectro de masas que los encontrados tanto en la tiamina patrón como en la irradiada. No se detectó por este método ningún otro compuesto.

Debido a los resultados anteriores con los cuales no queda claro si el 5-hidroxietil-4-metil tiazol encontrado es formado por el análisis o bien por la irradiación de tiamina, se empleó un cromatógrafo de gases en el cual la inyección de la muestra se hace directamente en la columna, evitando la posible descomposición de la misma.



**Fig. 3.12 (a) Cromatograma de gases de una muestra patrón de tiamina.
 (b) Espectro de masas del compuesto obtenido.**

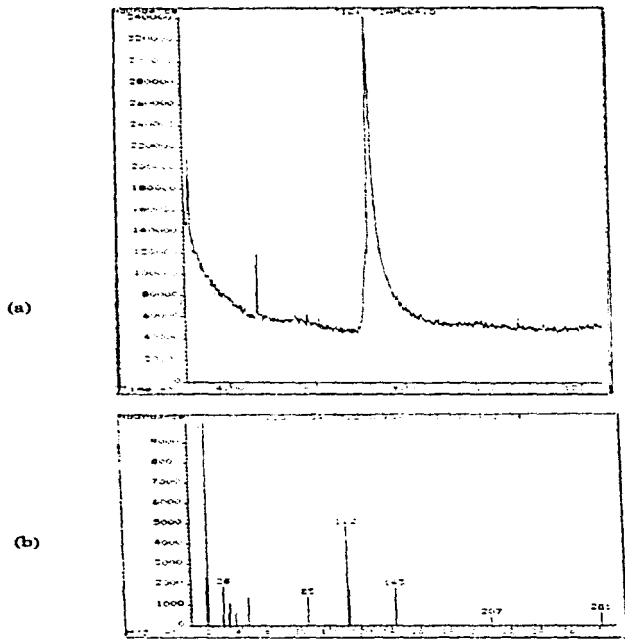


Fig. 3.13 (a) Cromatograma de gases de una muestra de tiamina irradiada 2.7 kGy (b) Espectro de masas de la señal obtenida.

Los resultados obtenidos indican que no hay formación de 5-hidroxietil-4-metil tiazol pues no se obtiene la misma señal en la muestra irradiada que la obtenida al inyectar el patrón de 5-hidroxietil-4-metil tiazol. En la tiamina patrón tampoco está presente dicha señal.

A partir de estos resultados y los obtenidos por cromatografía de líquidos de alta presión se concluye que no hay formación de 5-hidroxietil-4-metil tiazol por la irradiación de soluciones acuosas de tiamina.

Determinación de amoníaco en soluciones acuosas de tiamina irradiada

Los resultados de la potenciometría iónica selectiva se muestran en la tabla 3.7 y figura 3.14. En éstas se observa que hay producción de amoníaco debido a la irradiación de la tiamina. La cantidad de amoníaco formado aumenta al aumentar la dosis de manera lineal hasta los 1,600 Gy, y a partir de ahí la cantidad se hace casi constante. El rendimiento radiolítico de formación calculado para el amoníaco fue de 0.2.

El amoníaco formado proviene muy probablemente del grupo amino de la pirimidina.

TABLA 3.7 AMONIACO FORMADO A DIFERENTES DOSIS DE RADIACION.

| Dosis (Gy) | Conc. Amoníaco producido (µM) |
|------------|-------------------------------|
| 228 | 6 |
| 798 | 19.8 |
| 1,016 | 25.9 |
| 1,653 | 45.3 |
| 2,466 | 51.5 |
| 2,489 | 51.5 |
| 3,078 | 51.5 |
| 3,315 | 51.5 |

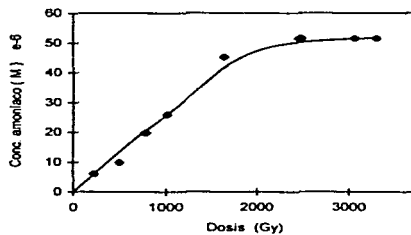


Fig. 3.14 Formación de amoníaco en función de la dosis.

Debe resaltarse que en este estudio se utilizó un sistema modelo, y que debe tenerse cuidado al extrapolar los resultados obtenidos a un sistema mucho más complejo como lo es un alimento, ya que la presencia de los demás componentes que están en mayor proporción ejerce un papel protector de los componentes minoritarios como son las vitaminas. Sin embargo, la importancia del estudio es que, para poder comprender las modificaciones sufridas en los alimentos por acción de la radiación, es necesario conocer la manera en que ésta modifica a sus principales componentes por separado para después estudiar sistemas más complejos.

CONCLUSIONES

Con los datos obtenidos a cerca del efecto de la radiación sobre soluciones acuosas de tiamina podemos enunciar las siguientes conclusiones:

La presencia de oxígeno aumenta la descomposición de la tiamina en las condiciones estudiadas.

El efecto del pH es que la descomposición radiolítica de la tiamina en solución acuosa disminuye al disminuir el pH.

La descomposición radiolítica de la tiamina disminuye de manera importante al aumentar la concentración de ésta.

No hay evidencia de que ocurra rompimiento de la unión entre los dos anillos de que está formada la tiamina por acción de la radiación gamma en solución acuosa.

El valor G° de descomposición de la tiamina en soluciones acuosas 2.5×10^{-4} M, a pH de 4.4 y libres de oxígeno, es de 5.0.

El amoníaco es producido por la descomposición radiolítica de la tiamina, con un rendimiento radiolítico $G = 0.2$.

La pérdida de tiamina con la dosis aumenta rápidamente entre 68 y 1,300 Gy.

Los productos de radiólisis de tiamina posiblemente sean compuestos de adición de OH o H a los dobles enlaces, ya que no ocurre la ruptura de la molécula en el puente metilénico.

REFERENCIAS

1. Alexander, H. D., Day, E. J., Sauberlich, H. E., and Salmon, W. D. 1956. Radiation effects on water soluble vitamins in raw beef. *Fed. Proc.* 15: 921-923.
2. Azamar, J. A. 1982. *Dosimetría de las fuentes de irradiación gamma de ⁶⁰Co del Centro de Estudios Nucleares, UNAM: Gammabeam-650 y Gammacell-200.* Informe técnico. México: Universidad Nacional Autónoma de México.
3. Badshah, A. and Klopfenstein, C. F. 1989. Effects of gamma irradiation on the nutritional quality of grain and legumes. I. Stability of niacin, thiamin, and riboflavin. *Cereal Chem.* 66 (3): 169-170.
4. Draganic, Y. G. and Draganic, Z. 1971. *The Radiation Chemistry of Water.* Nueva York: Academic Press. pp. 203-206.

5. Draganic, I. G. and Draganic, Z. 1990. *Radiation and radioactivity on earth and beyond*. Boca Raton, Florida: CRC. pp. 74-79, 83-86.
6. Dwivedi, B. K. and Arnold, R. G. 1973. Chemistry of thiamine degradation in food products and model systems: a review. *J. Agr. Food Chem.* 21, 1: 54-60.
7. Forrester, A. R. and Davidson I. G. 1990. Identification of radicals produced by gamma-irradiation of vitamins. *Radiat. Phys. Chem.* 36, 3: 403-407.
8. Fox, J. B., Thayer, D. W., Jenkins, R. K., Phillips, J. G., Ackerman, S. A., Beecher, G. R., Holden, J. M., Morrow, F. D., and Quirbach, D. M. 1989. Effect of gamma irradiation on the B vitamins of pork chops and chicken breasts. *Int. J. Radiat. Biol.* 55, 4: 689-703.
9. Groninger, H. S. and Tappel A. L. 1957. The destruction of thiamine in meats and in aqueous solution by gamma radiation. *Food Res.* 22: 519-523.

10. Jansen, B. C. 1972. *Thiamine in: The Vitamins. Chemistry, physiology, pathology, methods.* Sebrell, W. H. and Harris, R. S., eds. New York: Academic Press. pp. 97-101.
11. Jenkins, R. K., Thayer, D. W., and Hansen T. J. 1989. Effect of low-dose irradiation and post-irradiation cooking and storage on the thiamin content of fresh pork. *J. Food Sci.* 54, 6: 1461-1465.
12. Khalid, A. M., Fahad, J. A. and Neelofur, A. A. 1989. *Analytical profile of thiamine hydrochloride in: Analytical Profiles of Drug Substances.* Florey, K. ed. San Diego, California: Academic Press. pp. 431-435.
13. Kilcast, D. 1994. Effect of irradiation on vitamins. *Food Chem.* 49: 157-164.
14. Kishore, K., Moorthy, P. N., and Rao, K. N. 1978. Radiation of vitamins in aqueous systems, Part III. Effects of different variables. *Radiat. Eff.* 38: 97-105.
15. Kishore, K., Moorthy, P. N., and Rao, K. N. 1980. Radiation induced reactions in aqueous solutions of thiamine (vitamin B₁). *Radiat. Phys. Chem.* 15: 669-676.

16. Lamden, M. P. 1972. *Thiamine* in: *The Vitamins. Chemistry, physiology, pathology, methods.* Sebrell, W. H. and Harris, R. S., eds. New York: Academic Press. pp. 114-118.
17. Laughlin, W. L., Boyd, A. W., Chadwick, K. H., Donald, J: C., and Miller, A. 1989. *Dosimetry for radiation processing.* London: Taylor & Francis. pp. 53, 54, 143-145.
18. Muñoz, M., Hernández, M. y Roldán, J. A. 1992. *Tablas del valor nutritivo de los alimentos de mayor consumo en México.* México: Instituto Nacional de Nutrición.
19. Proctor, B. E. and Goldblith, S. A. 1971. *Effects of ionizing radiation on food nutrients* in: *Nutritional evaluation of food processing.* Harris, R. and Loesecke, V. eds. Westport, Conn. : Avi Publishing Company. pp. 133-144.
20. Spinks, J. W. and Woods, R. J. 1990. *An Introduction to Radiation Chemistry.* New York: John Wiley & Sons. pp. 1-3, 17, 18, 477-480.
21. Tabata, Y. 1991. *Handbook of Radiation Chemistry.* Boca Raton: CRC Press. pp. 820-830.

22. Thayer, D. W., Fox, J. B., and Lakritz, L. 1991. *Effects of ionizing radiation on vitamins in: Food Irradiation*. Thorne, S. ed. London: Elsevier. pp. 285-295.
23. The Merck Index: an encyclopedia of chemicals, drugs, and biologicals. 1989. 11ª Edición. Rahway, New Jersey: Merck. p. 9029.
24. Thomas, M. H., Atwood, B. M., Wierbicki, E., and Taub, I. A. 1981. Effect of radiation and conventional processing on the thiamin content of pork. *J. Food Sci.* 46: 824-828.
25. Tobback, P. P. 1977. *Radiation Chemistry of Vitamins in: Radiation Chemistry of major food components*. Elias, P. S. and Cohen, A. J. eds. Amsterdam: Elsevier. pp. 187-220.
26. Urbain, W. M. 1986. *Food Irradiation*. New York: Academic Press. pp. 117-130.
27. Walker, M. C., Carpenter, B. E., and Cooper, E. L. 1981. Simultaneous determination of niacinamide, pyridoxine, riboflavin, and thiamine in multivitamin products by high-pressure liquid chromatography. *J. Pharm. Sci.* 70, 1: 99-101.