



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

INSTITUTO DE CIENCIAS NUCLEARES.

**"RADIÓLISIS DEL ÁCIDO ASPÁRTICO Y SU POSIBLE
APLICACIÓN EN DOSIMETRÍA Y EVOLUCIÓN
QUÍMICA"**

T E S I S

QUE PARA OPTAR EL GRADO DE:

MAESTRA EN CIENCIAS

P R E S E N T A:

Q. ADRIANA LETICIA MELÉNDEZ LÓPEZ

TUTOR:

**Dra. ALICIA NEGRÓN MENDOZA,
Programa de Maestría y Doctorado en Ciencias Químicas.
MÉXICO D.F., DICIEMBRE 2012**



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.

Esta es una excelente oportunidad para agradecer una vez más a la Universidad Nacional Autónoma de México, por acogerme todos estos años, declarando que en mi vida profesional no me pudo haber pasado cosa mejor, Mil gracias.

Por otro lado, quiero agradecer al Instituto de Ciencias Nucleares, UNAM, y en particular al Departamento de Química de Radiaciones y Radioquímica, por permitirme hacer lo que disfruto en sus laboratorios (laboratorio de química de radiaciones y radioquímica, laboratorio de mediciones y al de análisis de muestras).

Agradezco infinitamente al tutor de esta tesis, la Dra. Alicia Negrón Mendoza, por permitirme ser parte de su grupo de trabajo, por su apoyo, consejos, paciencia y su amistad durante todo este tiempo que hemos compartido, de verdad mil gracias.

Agradezco al CONACyT, por permitirme ser becario con No. 254533, durante la realización de mis estudios de Maestría.

A la Dra. Sofía Guillermina Burillo Amezcua, por aceptar ser parte de mi jurado y por el tiempo invertido para la corrección de la misma, gracias.

Al Dr. Juan Manuel Navarrete Tejero, por las clases impartidas durante esta fase de mi vida profesional y por haber aceptado ser parte del jurado, gracias.

A la M. en C. Trinidad Martínez Castillo, por toda su paciencia y dedicación durante las clases impartidas, por su confianza y amistad así como por el tiempo invertido en la revisión de esta tesis, gracias.

A la Dra. Fabiola Monroy Guzmán, le doy las gracias, por haberse tomado el tiempo para leer esta tesis y más aún por las correcciones y sugerencias a este trabajo.

Al Dr. Emilio Bucio Carrillo, muchísimas gracias por la amistad brindada durante este tiempo, por las pláticas, consejos y por su tiempo invertido a este trabajo.

Al Dr. Sergio Ramos Bernal, gracias por sus consejos, clases, regaños, pero principalmente por las pláticas en las que siempre me deja un sabor de boca diferente.

A la Dra. María Colín García, mil gracias, por la amistad, confianza, enseñanzas y por todo tu apoyo, gracias por ser mi amiga.

A la M. en C. Virginia Gomes Vidales, le doy las gracias por todo el tiempo invertido en mi proyecto, por su disposición y consejos, además de todas las pláticas durante el análisis de las muestras.

A la QFB. Claudia Camargo, mil gracias por su apoyo incondicional, por su compañía y amistad, gracias por ser parte de mi vida.

Al Q. Jorge Armando Cruz Castañeda, gracias por ser la persona que me inspira en todo momento, gracias por toda las enseñanzas y por ser el amor de mi vida, TE AMO.

Mil gracias a mi familia que es la principal razón de todo lo que hago día a día,
gracias por todo el apoyo que me brindan, los amo y esto es de ustedes.

INDICE

	<i>Páginas</i>
1. Resumen.....	1
2. Introducción.....	3
3. Generalidades.....	5
3.1 Dosimetría.....	5
3.2 Dosímetros.....	6
3.3 Interacción de la radiación ionizante con la materia.....	8
3.4 Radicales libres	10
3.4.1 Algunas reacciones características de los radicales libres	11
3.5 Ácido aspártico	13
3.5.1 El ácido aspártico y la Evolución Química	13
3.5.2 Fuentes de energía en la Tierra Primitiva	14
3.5.3 Estudio de evolución química en cometas	15
3.6 Resonancia Paramagnética Electrónica (EPR).....	16
4. Objetivos.....	18
5. Desarrollo Experimental.....	19
5.1 Materiales y reactivos.....	19
5.2 Dosimetría Fricke modificado.....	20
5.3 Irradiación de las muestras	21
5.4 Análisis de resultados	21
6. Resultados.....	23
6.1 Dosimetría Fricke modificado	23
6.2 Irradiación de ácido L- α -aspártico a 295, 195 y 77 K	24
6.3 Estabilidad de los radicales por EPR	26
6.4 Análisis de la muestra irradiada por EPR a temperatura variable	27
6.5 Análisis de PET y parafina por EPR	29
7. Análisis de resultados.....	30
7.1 Dosimetría Fricke modificado	30
7.2 Irradiación de ácido L- α -aspártico a 295 K	30
7.3 Irradiación de ácido L- α -aspártico a bajas temperaturas (195 y 77 K)	31
7.4 Estabilidad de los radicales monitoreados por EPR	31
7.5 Análisis de la muestra irradiada por EPR a bajas temperaturas	31
8. Conclusiones	36
9. Bibliografía.....	38
10. Apéndice.....	41

INDICE DE FIGURAS

	<i>Páginas</i>
Fig. 1. A. Efecto fotoeléctrico. B. Efecto Compton.....	8
Fig. 2. Producción de pares.....	9
Fig. 3. Tipos de radicales.....	11
Fig. 4. A. Ácido aspártico. B. La mayoría de aminoácidos tienen dos isómeros, la forma izquierda (L o levógira) y la forma derecha (D o dextrógira).....	13
Fig. 5. Espectrómetro de Resonancia Paramagnética Electrónica Jeol, JES-TE300, Instituto de Química, UNAM.....	17
Fig. 6. Razón de dosis calculada para cada posición del irradiador tomando el valor de la pendiente de la recta resultante al graficar los valores de dosis en cada posición contra el tiempo de irradiación, 15, 25 y 45 min. Obteniendo un coeficiente de correlación mayor que 0,9.....	23
Fig. 7. Curvas dosis-respuesta de ácido L- α -aspártico irradiado a tres diferentes temperaturas. El eje-X corresponde a la dosis medida con el dosímetro de Fricke modificado y el eje-Y corresponde a la distancia de pico a pico de la primera derivada de la señal de EPR. Todas las curvas de calibración se representan como polinomios de segundo orden con coeficientes de correlación mejores que 0,9.....	25
Fig. 8. La forma de los gráficos que se presentan, se puede aproximar bien por una relación lineal, lo que implica que la respuesta del dosímetro a diferentes temperaturas es confiable a ese intervalo ya que el coeficiente de correlación para cada recta esta muy próximo a 1. La respuesta del dosímetro se midió como la distancia de pico a pico de la primera derivada de la señal de EPR.....	25
Fig. 9. Decaimiento del o los radicales, en función del tiempo posterior de irradiación. Observando que aún después de siete meses de haber irradiado una de las muestras, el o los productos se estabilizan en la matriz del sólido.....	26
Fig. 10. La intensidad de la dosis disminuye conforme desciende la temperatura.....	27

Fig. 11. Los cuatro espectros mostrados en esta figura corresponden al ácido L- α -aspártico irradiado a 4 kGy a 77 K, las muestras inmediatamente fueron analizadas por EPR. El espectro a, es la muestra analizada a 295 K, el espectro b corresponde a 285 K, el espectro c se analizó a 145 K, el último espectro se analizó a 115 K. Observando que los cuatro espectros son diferentes. El pasar de una temperatura a otra, hace que señales que habían desaparecieran y que aparezcan nuevas.....28

Fig. 12. El espectro a, corresponde al ácido L- α -aspártico irradiado a una dosis de 12,75 kGy, mientras que el espectro b, es el del tereftalato de polietileno irradiado a 70 kGy y por último, el espectro c es el resultado del análisis de EPR de la parafina irradiada a 70 kGy a temperatura ambiente. Resultando que no existe ningún pico que pueda interferir en el análisis de EPR del dosímetro propuesto.....29

Fig. 13. Mecanismo de reacción para la obtención de un radical identificado por EPR a 283 K. Descarboxilación del ácido L- α -aspártico.....33

Fig. 14. Mecanismo de reacción para la obtención de un radical desaminado y deshidrogenado, identificado por EPR a 283K. Mediante una reacción de reducción.....34

Fig. 15. Radicales 1 y 2 permanecen sin identificar tanto por el análisis teórico como el experimental, debido a que el espectro obtenido al analizar nuestras muestras es muy complejo.....35

INDICE DE TABLAS

Tabla 1. Dosis absorbida en cada posición a diferentes tiempos.....	23
Tabla 2. Ecuación de las rectas mostradas en la Fig. 5.....	24
Tabla 3. Irradiación de ácido L- α -aspártico a 295 K.....	24
Tabla 4. Porcentaje de supervivencia de los radicales monitoreados mediante EPR, se calculan suponiendo que el tiempo cero es cuando se irradió la muestra y por lo tanto lo que se produce y se monitorea por primera vez en EPR es el 100%.....	26
Tabla 5. Valor de la intensidad del pico conforme va descendiendo la temperatura.....	27

1. RESUMEN

El uso intensivo de dosis altas de radiación ionizante ha inducido y promovido una constante investigación de sistemas dosimétricos adecuados en la medición de la dosis aplicada en productos irradiados (Castro, et al., 2009) para garantizar la seguridad o fiabilidad del producto que se irradia (Chadwick, 1979).

La dosimetría es la medición de la *dosis absorbida* que resulta de la interacción radiación-materia. Se pueden dividir en dosímetros primarios (físicos), que evalúan directamente la dosis absorbida midiendo un cambio físico y dosímetros secundarios (químicos), los cuales son más usados, y son aquellos en los que un cambio químico está relacionado de manera lineal con la dosis recibida (Donnell and Sangster, 1970).

En este trabajo se propone como dosímetro de radiación gamma al ácido L- α -aspártico, el cual es un aminoácido más económico que los que se emplean como dosímetros convencionales. Se estudió la radiólisis en estado sólido a diferentes temperaturas (77, 195 y 295 K) mediante el análisis por resonancia paramagnética electrónica (EPR).

Los resultados señalan que el análisis genera una respuesta lineal conforme aumenta la dosis de irradiación en un intervalo confiable para fines industriales y de investigación. A 295 K, el intervalo de dosis comprende de 3 a 20 kGy, mientras que al irradiar las muestras a 195 K el intervalo se incrementa de 3 a 26 kGy aproximadamente y al irradiar las muestras a 77 K, la respuesta es lineal en un intervalo de 3 a 63 kGy. En los estudios de irradiación a 77 K se identificaron dos radicales mediante un monitoreo por EPR *in situ* desde los 115 hasta los 295 K.

La estabilidad de los radicales libres que se producen es alta, ya que después de monitorear una muestra durante siete meses la supervivencia es del 60% aproximadamente.

La radiólisis a bajas temperaturas del ácido L- α -aspártico, se vincula en estudios de evolución química, como un ejemplo de los procesos que se cree que están ocurriendo u ocurrieron en cuerpos celestes debido a la irradiación a bajas temperaturas de moléculas orgánicas de importancia biológica y prebiológica. Algunos experimentos han demostrado que el congelamiento es un mecanismo capaz de promover

oligomerización de algunos compuestos orgánicos (Kanavarioti, et al., 2001). Por ello la importancia de estudiar el comportamiento y la estabilidad de material de interés biológico, como el ácido aspártico, en condiciones de bajas temperaturas y expuestos a campos de irradiación altos.

2. INTRODUCCIÓN

El uso intensivo de dosis altas de radiación ionizante ha inducido y promovido una constante investigación de sistemas dosimétricos para la medición de la dosis aplicada en productos irradiados (Castro et al., 2009). La radiación gamma es extraordinariamente penetrante, y puede ser utilizada para tratar productos voluminosos, en valores de dosis que van desde 1 Gy a 100 kGy en la conservación de alimentos y la esterilización de productos médicos, lo cual reviste importancia directa para la salud humana; también se ha usado en el tratamiento de plásticos y otros productos. Sin embargo, en cada investigación se determina cuál es la eficacia de cada proceso de radiación en relación con la dosis, para garantizar la seguridad o fiabilidad del producto irradiado (Chadwick, 1979).

La irradiación de alimentos puede usarse con diversos objetivos, clasificados de acuerdo a la dosis de radiación utilizada para alcanzar los objetivos propuestos, por ejemplo: aplicando dosis bajas (hasta de 1 kGy), se puede mencionar la inhibición de la germinación, desinfección de insectos y el retraso de la maduración de algunos alimentos; aplicando dosis medias (de 1 a 10 kGy) destaca la reducción de la carga microbiana y la reducción en el número de microorganismos patógenos no esporulados; y para dosis altas (de 10 a 50 kGy) la esterilización con propósitos comerciales y la eliminación de virus (Comité Mixto FAO/OIEA/OMS, 1981). En cuanto al costo aproximado de irradiar alimentos en el Instituto de Ciencias Nucleares, UNAM, es de 7 pesos por kilogramo, lo cual es una ventaja, ya que está por encima, sólo 20 centavos más por kilogramo, frente a los métodos convencionales de desinfección, con calor, cloro u óxido de etileno, entre otros (Cruz, 2011).

Las dosis empleadas en cada sesión y el tiempo de exposición varían según el objeto a irradiar. Para sanitizar envases se aplica una radiación de unos 10 kGy, mientras que en el caso de material quirúrgico la dosis llega a los 25 kGy (Leal, 2010).

Algunas otras aplicaciones implican la irradiación a bajas temperaturas; ejemplos de esto son la irradiación de algunas frutas tropicales y la copolimerización de injerto de varios compuestos químicos en las fibras de polietileno (Hajare, 2010). El irradiar a bajas temperaturas evita que los radicales producidos por la irradiación reaccionen

unos con otros y de esa manera se incrementa la eficiencia de otras reacciones (Rohani, 2007).

Por todo lo anterior el presente trabajo tiene la finalidad de estudiar la radiólisis en estado sólido del ácido L- α -aspártico, el cual es un aminoácido no esencial, para vincular los resultados en el área de la dosimetría gamma.

Si el análisis de la radiólisis genera una linealidad entre la dosis recibida y el análisis de EPR, se puede proponer al ácido L- α -aspártico como dosimetro de radiación gamma, teniendo como ventajas que es un compuesto más económico comparado a los convencionales, y si aunado a esto, se genera esa linealidad en la radiólisis a bajas temperaturas no sólo se puede proponer como dosimetro gamma de bajas temperaturas, sino de igual modo se puede sugerir un análisis que se pueda vincular en el área de evolución química, enfocado primordialmente a la parte de cometas y cuerpos celestes.

Es por esto y más razones que se considera el estudio de la radiólisis del ácido L- α -aspártico, en estado sólido y a diferentes temperaturas.

3. GENERALIDADES.

3.1 Dosimetría.

La dosimetría es la medición de la dosis absorbida que resulta de la interacción radiación-materia, es decir, se refiere a la determinación (por medio de cálculos) de la dosis absorbida, razón de dosis o cualquier otra cantidad radiológica relevante como la exposición a la radiación fluencia, kerma, dosis equivalente, etc. La dosis absorbida se puede referir a cualquier tipo de radiación (Navarrete y Cabrera, 1993).

Por lo que la siguiente expresión se define como dosis absorbida (Montoya, 1998):

$$D = d\varepsilon / dm$$

En donde $d\varepsilon$ es la energía media entregada por la radiación ionizante en un elemento de volumen dm es la masa existente en ese volumen. La dosis absorbida se mide en Gray (Gy), definida como joules (J) por kilogramo (kg).

$$1\text{Gy} = 1\text{J/kg}.$$

Esta unidad en el sistema internacional (SI) ha remplazado al rad (Radical Absorbed Dose), equivalente a:

$$1 \text{ rad} = 100 \text{ ergs/g} = 1\text{Gy}/100.$$

Los defectos dañinos de la radiación sobre los tejidos humanos dependen del tipo de radiación ionizante. Por ello se ha definido la dosis equivalente (H), al resultado de multiplicar la dosis absorbida en Gy por un factor de ponderación de la radiación (W_g) y se mide en sievert (Sv), J/Kg.

$$\text{Dosis equivalente (H}_{\text{TR}}) = W_g \times D_{\text{TR}}$$

Donde $D_{\text{T,R}}$ es la dosis absorbida media en el órgano o tejido T, procedente de la radiación R y W_g , el factor de ponderación.

Además, la probabilidad de efectos nocivos debido a una dosis equivalente depende del tipo del órgano irradiado. Por este motivo se define la dosis efectiva, que es la

suma de las dosis equivalentes en tejido, multiplicada cada una por el factor de ponderación apropiado para el tejido correspondiente:

$$E = \sum W_T H_T$$

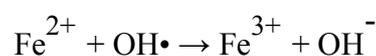
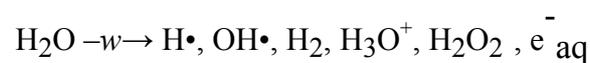
En donde H_T es la dosis equivalente en el tejido T y W_T es el factor de ponderación para el tejido T, la dosis efectiva se expresa en sievert (Sv).

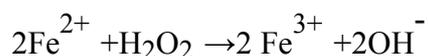
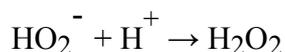
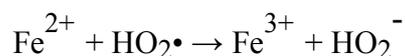
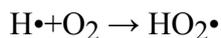
3.2 Dosímetros.

Los sistemas que se usan para determinar la dosis se llaman dosímetros y existen varios tipos. Se pueden dividir en dosímetros primarios (físicos), que evalúan directamente la dosis absorbida midiendo un cambio físico; y dosímetros secundarios (químicos), los más usados, y son aquellos en los que un cambio químico está relacionado (de manera lineal) con la dosis recibida (Donnell and Sangster, 1970).

El rendimiento radiolítico se define como la cantidad de especies formadas o destruidas por unidad de energía depositada. Se representa con el símbolo G, las unidades pueden ser mol/J, o moléculas/100eV. El valor de G puede ser afectado por el pH y es independiente de la temperatura entre 5 y 70 °C.

Para fuentes de radiación de alta intensidad un dosímetro muy utilizado es el Dosímetro de Fricke modificado, que esta formado por una disolución que contiene: sulfato ferroso 1×10^{-3} M, sulfato cúprico 1×10^{-2} M, en medio ácido 5×10^{-3} M de ácido sulfúrico. Este dosímetro posee un intervalo de dosis más amplio que solo el Dosímetro de Fricke (Spinks and Woods, 1990). En el cual, la dosis de radiación se evalúa por el cambio químico producido en un sustrato estable. En ambos casos, se evalúa la oxidación de Fe^{2+} a Fe^{3+} en un medio ácido y presencia de oxígeno, y se monitorea por la obtención de Fe^{3+} , mediante espectrofotometría UV a 304 nm. El mecanismo de la reacción de la oxidación del Fe^{3+} es el siguiente:





Cálculo de G: $G(\text{Fe}^{3+}) = 2 G(\text{H}_2\text{O}_2) + 3 G(\text{H}) + G(\text{OH}) = 15.58$

Este valor se obtiene al sustituir $G(\text{H}_2\text{O}_2)=0,78$, $G(\text{H})= 3,7$ y $G(\text{OH})=2,92$.

La respuesta de los dosímetros químicos para altas dosis es dependiente de la temperatura durante la irradiación. Típicamente, las temperaturas de irradiación se calculan por medio de mediciones, cálculos, o alguna combinación de los dos. Luego, utilizando el coeficiente de temperatura para el sistema de dosimetría, la respuesta del dosímetro se ajusta o se corrige para ser coherente con la temperatura de irradiación para la curva de calibración. Por consiguiente, la estimación de la temperatura de irradiación y la corrección de la respuesta a través del coeficiente de temperatura son las fuentes de incertidumbre en la dosimetría industrial. Hasta la fecha, los estudios de rendimiento del sistema de dosimetría a altas temperaturas han sido limitados. La temperatura máxima de irradiación para los estudios de coeficiente de temperatura de formulaciones comerciales de dosímetros de alanina no ha superado los 50 °C.

La influencia de la temperatura de irradiación en la respuesta de un dosímetro es una cantidad importante a evaluar para la metrología de la radiación. El tratamiento con altas dosis de irradiación podrá causar un aumento significativo en la temperatura del dosímetro. El coeficiente de temperatura, o cambio de respuesta relativo por grado, se determina para cada sistema de dosimetría de modo que la respuesta de un dosímetro se puede ajustar a la temperatura de irradiación empleado para la calibración del sistema. Aunque la magnitud del coeficiente de temperatura no es normalmente grande, la falta de un dispositivo adecuado para medir con precisión la temperatura de irradiación aumenta significativamente la contribución de la etapa de corrección de la temperatura a la incertidumbre de la medición del sistema.

3.3 Interacción de la radiación ionizante con la materia.

Las radiaciones ionizantes cuando interaccionan con la materia, ceden toda su energía o parte de ella, provocando un cambio, el cual es dependiente tanto de la energía y naturaleza de las radiaciones, como de la materia misma. Cuando se hace incidir radiación ionizante sobre la materia, puede dar como resultado dos eventos diferentes: ionización y/o excitación. Si la energía transferida a un electrón es lo suficientemente grande, el electrón es expulsado del átomo causando una ionización, pero si la energía no es lo suficientemente grande, sólo se produce una excitación (Arya, 1976). Las radiaciones electromagnéticas interaccionan con la materia a través de diversos mecanismos, teniendo mayor importancia el efecto fotoeléctrico, la dispersión Compton y la producción de pares.

En el efecto fotoeléctrico, toda la energía del fotón gamma ó X incidente, es absorbida por uno de los átomos con los que interacciona y transferida a un electrón, principalmente de las capas k o l, el cual sale despedido de su órbita con una energía igual a la diferencia que resulta de la energía del fotón absorbido y la energía de amarre del electrón (Fig. 1. A).

El efecto Compton, ocurre cuando un fotón gamma o X interacciona con un átomo, y parte de su energía es transferida a las orbitas externas, generalmente de la capa de valencia. El fotón se dispersa con una energía menor a la incidente, y el electrón sale despedido de su orbita (Compton, 1923) (Fig. 1. B).

Este efecto es el más importante en compuestos orgánicos y soluciones acuosas.

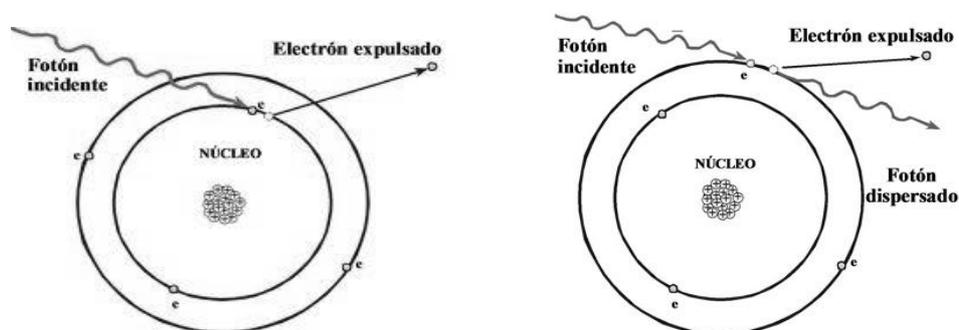


Fig. 1. A. Efecto fotoeléctrico, B. Efecto Compton.

El fenómeno de producción de pares, se da cuando la energía del fotón incidente es muy alta, al menos de 1.02 MeV, y al ser absorbido por la materia se transforma en masa produciendo dos partículas, un electrón y un positrón, los cuales comparten la

energía cinética disponible. Ambas partículas a su vez causan ionización y el positrón existe hasta que se aniquila con un electrón libre, formando ahora dos rayos gamma con energía de 0.511 MeV cada uno, conocidos como radiación de aniquilación. (Anderson, 1936) (Fig. 2).

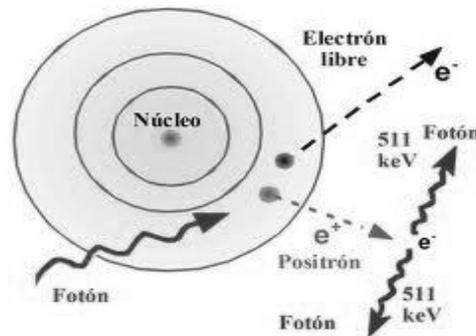
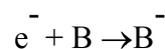
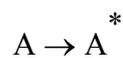


Fig. 2. Producción de pares.

Al paso de la radiación se van a producir especies excitadas e ionizadas. Estas se reorganizan y originan otras especies como los radicales libres.

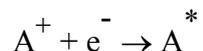
Uno de los efectos más importantes de la radiación ionizante producido en sustancias orgánicas, es la producción de radicales libres, los cuales pueden ser cuantificados y relacionados con la dosis recibida.

Si la acción de la radiación produce ionización de la molécula A, se forma un ion molecular positivo A^+ y un electrón libre e^- . El electrón expulsado puede ser capturado rápidamente por otra molécula B transformándose en un ion molecular negativo B^- ; como resultado se tiene la formación de dos iones moleculares, uno positivo y otro negativo.

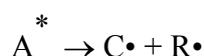


El tipo de ion molecular negativo que se forma, depende de las moléculas que rodean al electrón y de su afinidad por el mismo.

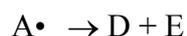
El electrón libre también puede ser recapturado por el ion molecular positivo del cual fue expulsado, dando lugar a la regeneración de la molécula original, pero en una forma excitada.



Por otra parte, si la interacción de la radiación solamente produce la excitación de la molécula A, esta puede sufrir la ruptura de enlaces para dar lugar a la formación de radicales libres.



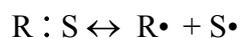
O una redistribución de los enlaces para formar dos nuevas moléculas.



Los iones también forman radicales (Carey).

3.4 Radicales libres.

Los radicales libres son átomos o moléculas que tienen uno o más electrones no apareados, disponibles para formar enlaces químicos. Los radicales, son producidos en el enlace covalente de una molécula, la cual se divide de tal manera que cada uno de los fragmentos formados conserva un electrón de la unión, originando dos radicales, proceso conocido como ruptura homolítica.



El proceso es reversible, es decir, los radicales pueden recombinarse para formar nuevamente la molécula original pero en un estado excitado. Los radicales libres presentan propiedades características, las cuales son conferidas por el electrón impar. Por ejemplo, los hace extremadamente reactivos, por lo que entre los radicales libres pueden ocurrir un gran número de reacciones que dependen de la concentración, tipos y cantidad de radicales libres presentes. Los radicales pueden ser neutros, aniónicos o catiónicos, si poseen carga; o si es negativa o positiva (Fig. 3).

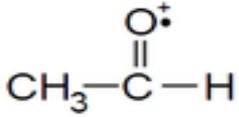
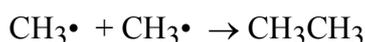
Radical neutro	Anión radical	Catión radical
$\text{H}_3\text{C}\cdot$		
Radical metilo	Anión radical (Efecto de la resonancia)	Catión radical (formaldehído)

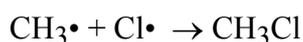
Fig. 3. Tipo de radicales.

3.4.1. Algunas de las reacciones características de los radicales libres

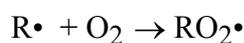
Unión. Dos radicales pueden unirse para formar el producto original sin producir cambio alguno en el medio.



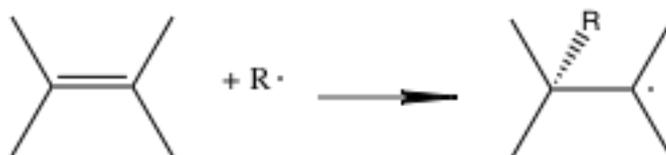
Recombinación. Consisten en la formación de nuevos enlaces con otros radicales, generando especies más estables, influyendo directamente en las propiedades del sistema, los radicales pueden provenir de la misma molécula o de diferente.



Abstracción. También pueden reaccionar por abstracción de un átomo de una molécula, generando un nuevo radical, el cual produce grandes alteraciones en el sistema (Aldabe, et al., 2004).



Adición a enlaces dobles. Consta de: iniciación, propagación y terminación.



La vida media de los radicales libres, depende del medio molecular que los rodea, en solución para la mayoría es muy corta; sin embargo, en algunos materiales cristalinos a temperatura ambiente su vida media es muy grande.

Dentro de las propiedades físicas importantes de los radicales libres está el paramagnetismo, la excitación electrónica entre subniveles, y el decaimiento del estado excitado mediante la emisión de fotones en la región visible del espectro de energías (Wingrove and Caret, 1984) .

Un logro extraordinario ha sido obtener resultados positivos, mediante el análisis de resonancia paramagnética electrónica de los radicales libres radio inducidos (Nam, 1988) en aminoácidos como es el caso de la alanina (Regulla and Deffner, 1985).

La L- α -alanina fue sugerida con fines dosimétricos hace más de 40 años. Durante las dos últimas décadas se han realizado investigaciones detalladas por muchos autores que han sugerido a la alanina como un dosímetro de estado sólido para dosis altas de radiación (de 1 a 100 kGy) (Desrosiers, et al., 2009) que se puede analizar mediante EPR. Este dosímetro ha mostrado tener un comportamiento coherente y estable para todo el intervalo de dosis de radiación gamma.

Los dosímetros de alanina en película, de la marca Kodak Biomax comercialmente disponible en Bruker BioSpin Corporation, tienen una capa activa de 45,0 mm \times 4,0 mm \times 133,5 micras; este está unido a un soporte de 178 micras de espesor de PET. Se debe mencionar que el costo de los dosímetros de alanina se incrementa, ya que son dosímetros de importación.

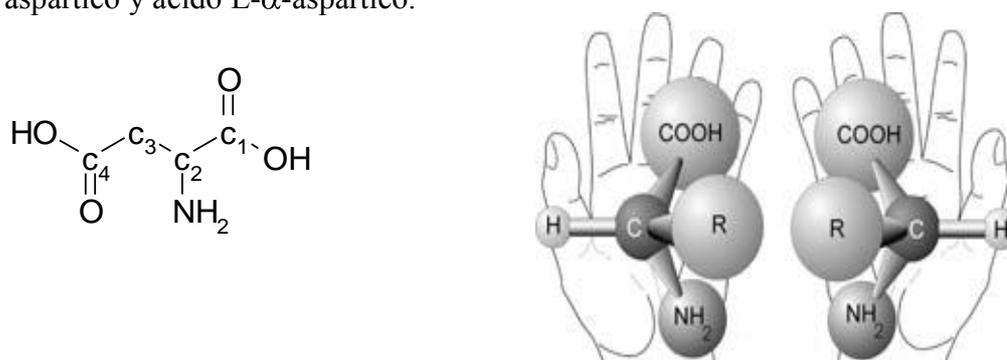
La capa sensible de la película, es una mezcla de L- α -alanina (56.9%) y un aglutinante de Kodak (43,1%) (Negrón A, et al., 2012). La norma ASTM (American Society for Testing and Materials), recomienda el uso de un aglutinante¹ para optimizar la resistencia del dosímetro. Un aglutinante tipo comercial que se ha utilizado en diversas investigaciones es la parafina.

¹ Un **aglutinante** es una sustancia que se usa para dar soporte en general a una mezcla, una cumple la función de medio y vehículo, pasado un tiempo y tras secar la mezcla, se mantienen ambas sustancias estables y adherida al soporte

Se han realizado ensayos para determinar las relaciones alanina/parafina adecuadas para dosimetría de baja dosis (10 Gy), obteniéndose los mejores resultados para los dosímetros que contienen una proporción 80:20 alanina/parafina (Castro, et al., 2009).

3.5 Ácido aspártico.

El ácido aspártico es un aminoácido de tipo no esencial con fórmula química $C_4H_7NO_4$, y masa molecular de 133.10 g/mol (Fig. 4. A), es uno de los veinte aminoácidos con los que las células forman las proteínas, se metaboliza desde el ácido L-glutámico. Su biosíntesis tiene lugar por transaminación del ácido oxalacético, un metabolito intermediario del ciclo de Krebs. Este ciclo es una sucesión de reacciones químicas, que forma parte de la respiración celular en células aeróbicas, en las células eucariotas se realiza en la mitocondria y en las procariotas en el citoplasma, específicamente en el citosol. Al igual que todos los aminoácidos, el ácido aspártico se puede encontrar en dos formas llamadas isómeros naturales (Fig. 4. B), ácido D- α -aspártico y ácido L- α -aspártico.



3.5.1 El ácido aspártico y la Evolución Química.

La evolución química es el estudio de las rutas de síntesis abióticas de compuestos de importancia biológica y los procesos por los cuales estas moléculas fueron aumentando en complejidad y ordenamiento, tomando en consideración las condiciones ambientales de la Tierra primitiva. Aunque la Evolución Química es un proceso perfectamente definido en concepto, no está delimitado espacial o temporalmente con precisión; debió presentarse después del enfriamiento de la Tierra; cuando la superficie de la Tierra se cree ya era hospitalaria para permitir la síntesis de moléculas orgánicas (Draganic, et al., 1991).

Lazcano y Miller en 1994 propusieron que las reacciones que probablemente ocurrieron fueron rápidas, proponen que no habría tomado más de 10 millones de años, tiempo realmente insignificante si se considera que el Sistema Solar se originó hace 4600 millones de años mientras que los fósiles más antiguos indican que la vida existió desde hace unos 3500 millones de años (Could, 1977).

3.5.2 Fuentes de energía en la Tierra primitiva.

Los primeros en demostrar experimentalmente la síntesis de compuestos de importancia biológica fueron Harold C. Urey y Stanley L. Miller en 1953. En el experimento se simulaban las condiciones océano-atmósfera de la Tierra Primitiva, utilizaron metano, amoníaco, ácido sulfhídrico y los sometieron a constantes descargas eléctricas, de aproximadamente 100,000 Volts, simulando una fuente de energía que pudo existir en esa época, con descargas electricas simularon relampagos. Entre los productos orgánicos obtenidos destacan: glicina (2.1%), alanina (1.7%), ácido glutámico (1.9%) y *ácido aspártico* (>0.8%), entre otros (Bada y Lazcano). Sin embargo, es importante mencionar que la síntesis de moléculas más complejas, como por ejemplo la síntesis de una proteína, requiere pureza quiral², y por esto es necesario usar los L- α -aminoácidos. Pero en experimentos prebióticos se han encontrado mezclas racemicas.

Dentro de las fuentes de energía disponibles para los procesos de Evolución Química se encuentra la radiación ionizante, proveniente del decaimiento radioactivo de ^{40}K , ^{232}Th , ^{235}U , ^{244}Pu , entre otros. Entre las características de la radiación ionizante se sabe que es específica para depositar la energía que puede iniciar reacciones (por ejemplo de polimerización) sin importar la concentración de los reactivos, el pH, estado de agregación y/o propiedades ópticas.

² La **quiralidad** es la propiedad de un objeto de no ser superponible con su imagen especular. Como ejemplo sencillo, la mano izquierda humana no es superponible con su imagen especular (la mano derecha). Como contraejemplo, un cubo o una esfera sí son superponibles con sus respectivas imágenes especulares.

Las proteínas son las moléculas de la vida que se utilizan para todo, desde las estructuras como el pelo hasta las enzimas, son también catalizadores que aceleran o regulan reacciones químicas. Del mismo modo que las 26 letras del alfabeto se pueden disponer de formas ilimitadas, la vida utiliza 20 aminoácidos diferentes en una enorme variedad de combinaciones para construir millones de proteínas. Las formas especulares observadas en moléculas biológicas (L-aminoácidos y D-azúcares) representan una propiedad importante para los procesos de reconocimiento molecular y se cree que constituye un prerrequisito para la vida. “Las proteínas sintéticas obtenidas utilizando mezclas de L-aminoácidos y D-aminoácidos no funcionan”. Todos los procedimientos de síntesis de aminoácidos generan mezclas equimolares de las formas D y L. Por esta razón, existe una intensa área de investigación para entender por qué la producción casi exclusiva de una de las formas de esas moléculas surgió de lo que, presumiblemente, era una mezcla de ambas en un mundo prebiótico.

3.5.3 Estudio de Evolución Química en cometas.

Los cometas son cuerpos muy antiguos, tienen una composición rica en hielos, rocas y moléculas orgánicas, en ellos pudieron o pueden realizarse reacciones químicas, promovidas por la radiación, que dan lugar a hacerlos más complejos. Así mismo, pudieron haber contribuido con materia orgánica y agua, para formar el reservorio de moléculas a partir de las cuales evolucionó la vida. En este sentido, Chamberlin y Chamberlin (en 1908) fueron los primeros en sugerir que la materia extraterrestre pudo haber jugado un papel fundamental en el origen de la vida en la Tierra. Después, Joan Oró en la década de los 60 del siglo pasado propuso que los cometas funcionaron como acarreadores de materia orgánica para la Tierra. Desde 1960 que fue propuesto esto, se han realizado diversas investigaciones destacando la participación de los cometas a favor de la importación de materia orgánica a la Tierra (Oró, 1961).

Un ejemplo más reciente fue el que se observó en enero del año 2000, cuando un enorme meteorito explotó en la atmósfera en la región septentrional de la Columbia Británica en Canadá y dispersó fragmentos sobre la superficie helada del lago Tagish. Un análisis por HPLC-MS, arrojó que las muestras tenían aproximadamente cuatro veces más de ácido aspártico en su forma L respecto a su forma D y un ligero exceso de L-alanina, con respecto a su isómero D, en una proporción de un 8% más (Glavin,

2006). Por lo anterior, se ha propuesto que los aminoácidos fueron sintetizados posiblemente en el espacio.

3.6 Resonancia Paramagnética Electrónica.

La espectroscopía de resonancia paramagnética electrónica (RPE), es una técnica que consiste en inducir transiciones entre los subniveles Zeeman electrónicos de un sistema paramagnético (ion, radical, electrón libre, elementos de transición, etc.) aplicando un campo electromagnético de frecuencia, polarización e intensidad adecuados (López, 2005)

En los radicales orgánicos el electrón desapareado se encuentra más o menos deslocalizado en la molécula que los contiene y sus espectros pueden suministrar información acerca de la distribución de la densidad de espín a través de la estructura hiperfina (Weil et al., 1994). Si la medida se realiza con el radical en reposo, en disoluciones congeladas, muestras policristalinas, la riqueza de la estructura hiperfina, junto con su anisotropía empobrece la resolución. En situaciones estacionarias de producción no siempre es posible obtener una concentración detectable de los mismos: ello depende de su persistencia.

Existen radicales libres persistentes durante largo tiempo y, en consecuencia, fácilmente detectables. La observación de otros, más inestables, obliga a acudir a técnicas auxiliares como el empleo de trampas de espín (Janzen and Haire, 1990). Dicho análisis proporciona información acerca de la estructura, la concentración, el estado electrónico y los tiempos de relajamiento de los compuestos paramagnéticos. Es aplicable a sustancias orgánicas (radicales libres) e inorgánicas (compuestos de coordinación, arcillas y semiconductores), así como muestras biológicas en las que se pueden determinar especies reactivas de oxígeno y de nitrógeno, n-óxidos, cantidades mínimas de metales contenidos en enzimas y proteínas, extractos de plantas, tejidos y fluidos biológicos. Las muestras que se analizan pueden ser sólidas o líquidas (Fig. 5).



Fig. 5. Espectrómetro de Resonancia Paramagnética Electrónica Jeol, JES-TE300, Instituto de Química, UNAM³.

³ Espectrómetro de RPE de 1.4 T de campo magnético en banda X, equipo para mediciones a temperatura variable desde temperatura ambiente hasta 113 K y lámpara de luz UV para irradiación *in situ*.

4. OBJETIVOS

La irradiación gamma genera radicales libres, algunos de estos son estables y detectables por espectroscopía de resonancia paramagnética (EPR), por lo que el objetivo general a seguir mediante esta técnica, es la radiólisis a diferentes temperaturas del ácido L- α -aspártico en estado sólido, con la finalidad de valorar su posible uso como dosímetro para bajas temperaturas y además vincular su comportamiento bajo condiciones de bajas temperaturas y altos campos de radiación con estudios de evolución química.

Dentro de los objetivos particulares se han considerado los siguientes:

- Analizar la radiólisis a temperatura ambiente (295 K) del ácido L- α -aspártico en estado sólido mediante resonancia paramagnética electrónica (EPR), a diferentes dosis y determinar si la relación dosis-respuesta a 295 K es lineal.
- Determinar la estabilidad del radical o radicales formados siguiendo el porcentaje de supervivencia con respecto al tiempo de almacenaje de una de las muestras irradiadas a temperatura ambiente, al ser monitoreada por varios meses.
- Estudiar el efecto de la temperatura en la radiólisis del ácido L- α -aspártico en estado sólido. Para lo cual se irradió a dos temperaturas por debajo de la temperatura ambiente: a 77 y 195 K, en el intervalo de dosis de 3 a 70 kGy.
- Identificar alguno de los radicales, analizando las muestras por EPR a temperatura variable, incrementando la temperatura de análisis de 113 a 295 K.
- Vincular la radiólisis del ácido L- α -aspártico a bajas temperaturas con estudios de evolución química, en particular su estabilidad en cuerpos expuestos a altas dosis de radiación, lo cual es relevante en: los cometas y otros cuerpos celestes en los que se han detectado compuestos orgánicos de importancia biológica.

5. DESARROLLO EXPERIMENTAL

5.1 Materiales y reactivos.

En los experimentos realizados en química de radiaciones es necesario tener cuidados, tanto con el material de vidrio como con los reactivos. Las impurezas, en particular las de origen orgánico, aún a nivel de traza pueden competir con las especies reactivas durante la irradiación, obteniéndose resultados erróneos. El agua que se utilizó para preparar las disoluciones fue tridestilada. Ésta se obtuvo partiendo de agua bidestilada comercial y haciéndola pasar por dos medios distintos, uno que contiene 1g de KMnO_4 y 1 g de NaOH por cada litro de agua; el otro sistema contiene 0.5 mL de H_2SO_4 y 1 g de $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ por litro de agua y una tercera destilación sin agregar ningún reactivo, los matraces están conectados para evitar riesgo de contaminación. Con este procedimiento se oxidan los compuestos orgánicos presentes (Draganic et al., 1991).

El material de vidrio que se utilizó se sometió a un proceso de lavado con una mezcla caliente de ácido nítrico y ácido sulfúrico (1:3), durante 30 minutos, después se enjuagó con exceso de agua, para quitar el ácido remanente, se le dio una última enjuagada con agua destilada y por último, se sometió a un proceso de esterilización en una mufla a 300 °C durante una noche. Para la preparación del dosímetro de Fricke modificado los reactivos químicos utilizados fueron de grado analítico y de la más alta pureza disponible en el mercado, estos fueron: $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ de la marca J.T Baker con un 99.2 % de pureza, $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ de la marca J.T. Baker con un 99 % de pureza y H_2SO_4 para análisis de la marca Merck.

El ácido L- α -aspártico ($\text{C}_4\text{H}_7\text{NO}_4$) que se utilizó para irradiar tiene un 99% de pureza y es de la marca Merck.

Para irradiar a bajas temperaturas se utilizó: CO_2 en estado sólido (hielo seco), proporcionado por el Instituto de Química de la UNAM, el cual tiene un punto de sublimación de 195 K y nitrógeno líquido por el Instituto de Investigaciones en Materiales de la UNAM, que tiene una temperatura de ebullición de 77 K, a una atmósfera de presión.

5.2 Dosimetría Fricke modificado.

Se prepararon disoluciones con la siguiente composición: $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (1 mmol), $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (10 mmol) y H_2SO_4 (5 mmol).

Se colocaron 10 mL de disolución del Fricke Modificado en 9 tubos perfectamente limpios, se irradiaron en diferentes posiciones del irradiador (1, 3, 6, 8, 9, 11 y 15), los tiempos de irradiación fueron 15, 25 y 45 minutos, posteriormente se midió mediante espectroscopía UV a 304 nm la oxidación de Fe^{2+} a Fe^{3+} , en un espectrofotómetro Varian Cary 100 Scan UV-Visible, con celdas de cuarzo de la misma marca de 1 cm de longitud, y los datos que arrojó tal estudio se sustituyeron en la siguiente ecuación:

$$D = \frac{N(\text{OD})}{\epsilon l \rho f G(\text{Fe}^{3+})} \text{ ----- Ecuación 1}$$

En donde:

D= dosis.

$G(\text{Fe}^{3+}) = 15,5$ moléculas/100 eV ó $1,607 \times 10^{-6}$ mol/J para radiación gamma de ^{60}Co .

N=número de Avogadro (6.023×10^{23} moléculas/mol).

OD= densidad óptica.

ϵ =coeficiente de extinción molar ($2197 \text{M}^{-1} \text{cm}^{-1}$ a 25°C).

ρ =densidad de la disolución (1.024 g/mol).

f=factor de conversión de rad a eV/ml (6.245×10^{13} eV /g rad).

Dado que todas son constantes y mediante la conversión de rad a Gy^5 se puede simplificar de la siguiente manera:

$$\text{Dosis: } 6,4973 \text{ Gy x DO}$$

^{4,5} Juarez, J., 2005.

⁵ 1 Gy=100 rad.

Si es necesario hacer una corrección por temperatura de análisis de espectroscopía UV, la ecuación se modifica de la siguiente forma:

$$\text{Dosis: } D/[1+0,007(T-25)]$$

En donde T es la temperatura a la que se lleva a cabo las lecturas en grados Celsius.

Para nuestros fines era necesario saber la razón de dosis en cada posición, para elegir posteriormente en dónde se colocarían las muestras.

5.3 Irradiación de las muestras.

Las muestras se colocaron en las posiciones 9 (212 kGy/min) y 11 (213 kGy/min) del irradiador, en el cual los lápices de ^{60}Co están distribuidos en forma de V.

Se pesaron 50 mg de ácido L- α -aspártico en estado sólido, sin ningún tratamiento previo, y se colocó en un tubo perfectamente sellado. Se irradiaron las muestras a 295 K en lapsos de 15, 30, 60, 90, 120, 150, 180, 210 y 300 minutos.

5.4 Análisis por EPR.

Posteriormente se analizaron por EPR en un espectrómetro *Jeol JES-TE300* localizado en el Instituto de Química, UNAM, operando en la banda X con una frecuencia de 100 kHz de modulación y de una cavidad cilíndrica en el modo TE011. La calibración del campo magnético se hizo con un gausímetro, Jeol ES-FC5. Con el fin de lograr una geometría reproducible en la cavidad, las muestras se colocaron en una celda de cuarzo tipo plana y se midieron a temperatura ambiente. Los ajustes del espectrómetro para todos los espectros fueron los siguientes: 334 ± 10 mT; 1 mW de potencia de microondas, horno de microondas de frecuencia 9,44 GHz, modulación de ancho, 0,025 mT; constante de tiempo, 0,1 s; amplitud 125; tiempo de barrido 120 s; 13 scan. Se determinó el intervalo hasta donde el ácido L- α -aspártico mantiene una respuesta lineal, al hacer un gráfico de la distancia de pico a pico que da la señal más intensa en espectro de EPR contra la dosis que reciben las muestras. Una vez que se determinó ese intervalo, se procedió a irradiar las muestras a 77 y 195 K.

Las irradiaciones a bajas temperaturas se realizaron en recipientes que contuvieron la temperatura (Dewar y recipientes de unicel), como referencia se utilizó hielo seco (195 K) y nitrógeno líquido (77 K). Se analizaron las muestras mediante EPR con los siguientes parámetros: campo de centro, 326 ± 10 mT; 1 mW de potencia de microondas, horno de microondas de frecuencia 9,44 GHz, modulación de ancho, 0,032 mT; constante de tiempo, 0,1 s; amplitud 200; tiempo de barrido 120 s; 13 scan. Los espectros EPR se registraron aplicando la primera derivada al espectro.

Para estudiar la estabilidad del radical, se monitoreó una muestra irradiada a temperatura ambiente mediante EPR los primeros 30, 60, 90 días y posteriormente a los 7 meses de haber irradiado la muestra, éstas se mantuvieron a temperatura ambiente en un lugar seco, utilizando los parámetros ya determinados para EPR a temperatura ambiente.

Para caracterizar uno de los radicales, se monitoreó una de las muestras irradiadas a 77 K a una dosis de 4 kGy, bajo un análisis de EPR continuo incrementando la temperatura de 115 a 295 K, con los parámetros utilizados al analizar la muestras que se irradiaron a bajas temperaturas.

6. RESULTADOS

6.1 Dosimetría Fricke Modificado.

Los resultados experimentales de la densidad óptica medida para cada tiempo en las diferentes posiciones del irradiador se sustituyeron en la ecuación para la obtención de dosis (Ecuación 1, pág. 19), obteniendo los valores que se muestran en la Tabla 1. Para obtener la razón de dosis en cada posición se tomó el valor de las pendientes del gráfico de las dosis calculadas (Gy) contra el tiempo de irradiación (Fig. 6).

tiempo (min)	Posición 1	Posición 3	Posición 6	Posición 8	Posición 9	Posición 11	Posición 15
15	0.887	1.14	3.144	3.469	3.455	3.457	1.203
25	1.441	1.938	5.032	5.656	5.576	5.642	2.112
45	2.599	3.448	8.573	9.455	9.316	9.38	3.533

Tabla 1. Dosis absorbida en cada posición a diferentes tiempos.

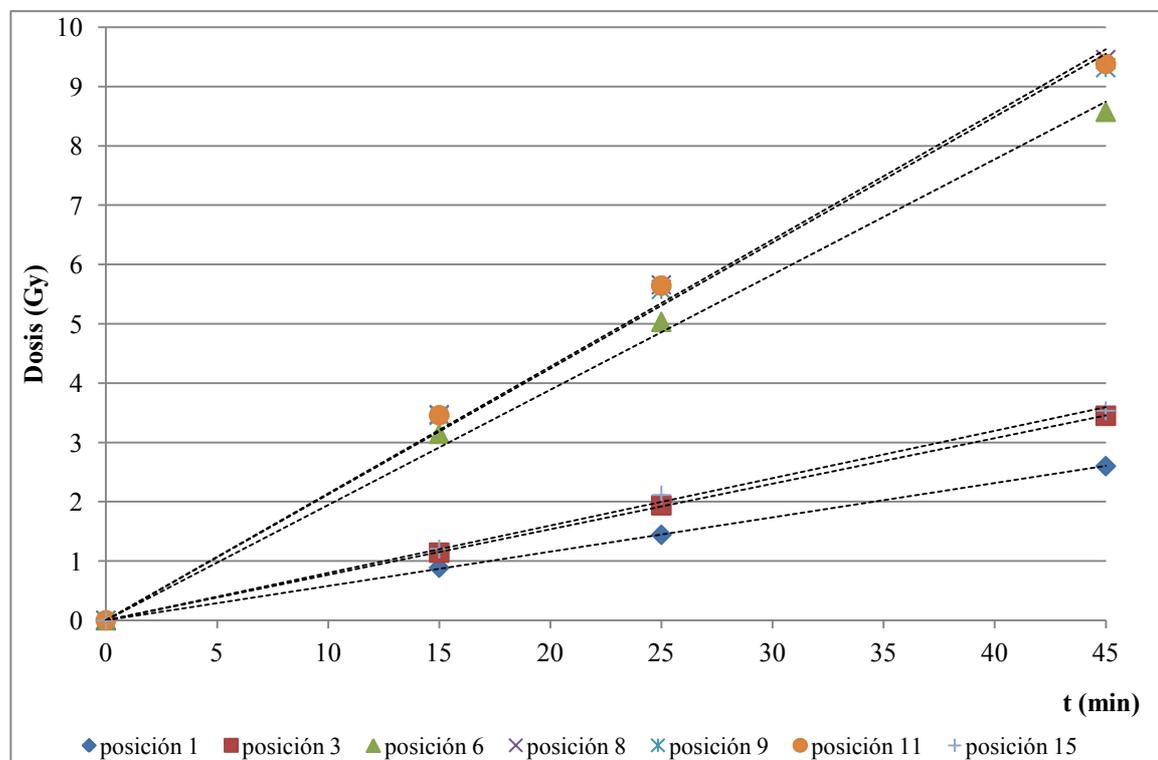


Fig. 6. Razón de dosis calculada para cada posición del irradiador tomando el valor de la pendiente de la recta resultante al graficar los valores de dosis en cada posición contra el tiempo de irradiación, 15, 25 y 45 min. En todos los casos se obtuvo un valor de R^2 mayor a 0,9.

Las ecuaciones de las rectas se muestran en la Tabla 2, en donde la razón de dosis está dada en Gy por minuto.

Posición	Ecuación	Razón de dosis (Gy/min)
1	$y=0,0578x$	57
3	$y=0,0768x$	76
6	$y=0,1943x$	194
8	$y=0,2153x$	215
9	$y=0,2123x$	212
11	$y=0,2139x$	213
15	$y=0,0799x$	79

Tabla 2. Ecuación de las rectas mostradas en la Fig. 6.

6.2 Irradiación de ácido L- α -aspártico a 295, 195 y 77 K.

Los resultados experimentales se muestran en la Tabla 3, en correspondencia a la Fig. 7. La lectura EPR de las muestras duplicadas tenía una diferencia de menos de 1%. Los espectros obtenidos para cada temperatura se muestran en el Apéndice.

Dosis (kGy)	Distancia de pico a pico del espectro de EPR al irradiar a 295 K	Distancia de pico a pico del espectro de EPR al irradiar a 195 K	Distancia de pico a pico del espectro de EPR al irradiar a 77 K
63,750	3769	2409	2305
38,250	3251	2174	1599
25,500	2729	1828	1109
12,750	1890	1137	789
6,375	1024	652	590
3,187	583	410	340

Tabla 3. Irradiación de ácido L- α -aspártico a 295 K.

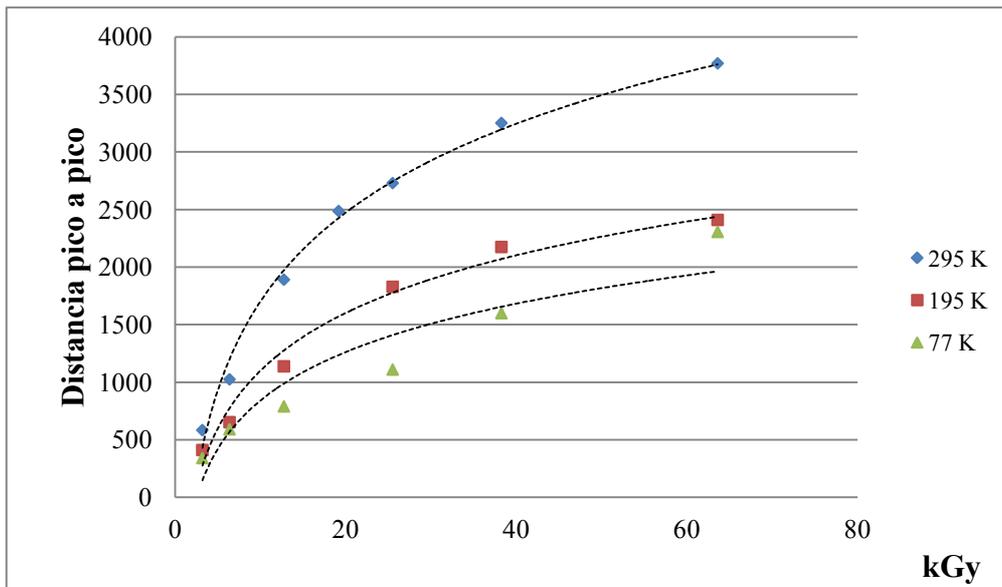


Fig. 7. Curvas dosis-respuesta de ácido L-α-aspártico irradiado a tres diferentes temperaturas. El eje-X corresponde a la dosis irradiada y el eje-Y a la distancia de pico a pico de la primera derivada de la señal de EPR. Todas las curvas de calibración se representan como polinomios de segundo orden con coeficientes de correlación mayores a 0,9.

Proponemos el intervalo donde puede fingir como dosímetro el ácido L-α-aspártico debido al comportamiento lineal de la respuesta de la distancia de pico a pico del espectro de EPR al aumento de la dosis de irradiación (Fig. 8).

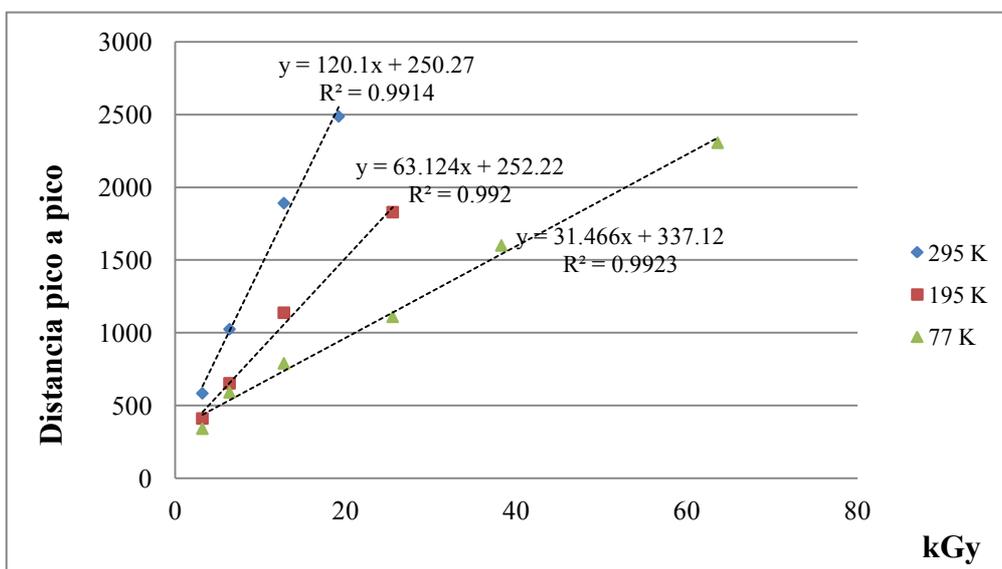


Fig. 8. La forma de los gráficos que se presentan, se puede aproximar bien por una relación lineal, lo que implica que la respuesta del dosímetro a diferentes temperaturas es confiable en este intervalo ya que el coeficiente de correlación para cada recta está muy próximo a 1. La respuesta del dosímetro se midió como la distancia de pico a pico de la primera derivada de la señal de EPR.

6.3 Estabilidad del o los radicales monitoreados por EPR.

Los resultados experimentales se muestran en la Tabla 4, en correspondencia de la Fig.9.

Tiempo (meses)	Distancia pico a pico (EPR)	Supervivencia %
0	2974	100
1	2844	95
2	2717	91
3	2637	88
7	1839	61

Tabla 4. Porcentaje de supervivencia de los radicales monitoreados mediante EPR, se calculan suponiendo que el tiempo cero es cuando se irradió la muestra y por lo tanto lo que se produce y se monitorea por primera vez en EPR es el 100%.

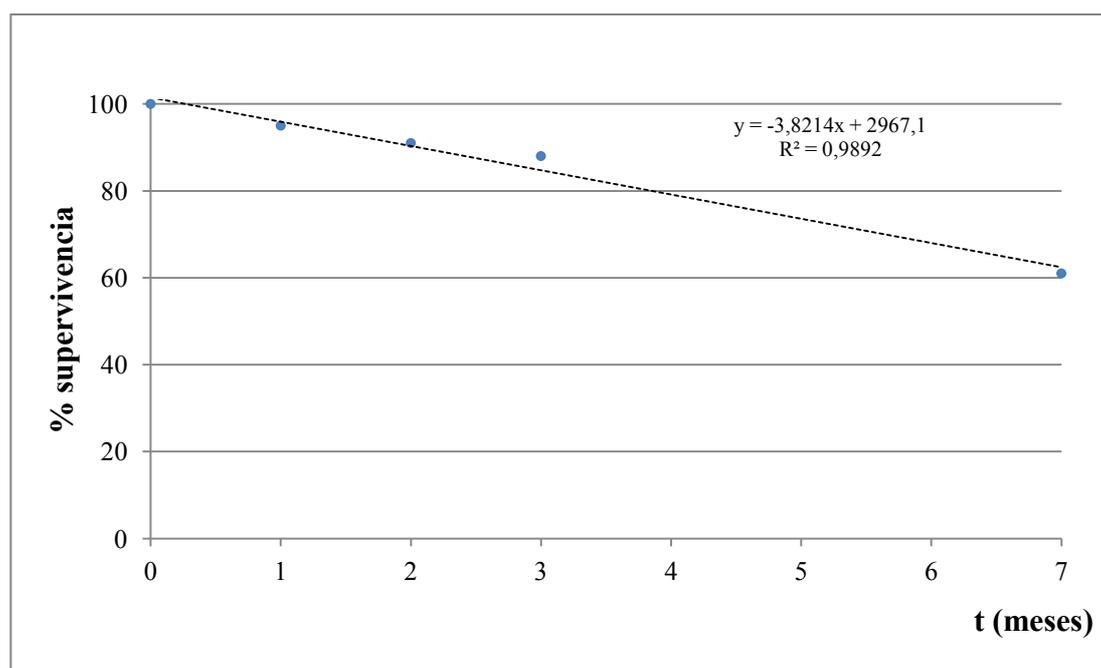


Fig. 9. Decaimiento de los radicales, en función del tiempo posterior de irradiación. Observando que aún después de siete meses de haber irradiado una de las muestras, los productos se estabilizan en la matriz del sólido.

6.4 Análisis de la muestra irradiada por EPR a temperatura variable.

Se monitoreó una de las muestras irradiadas a 77 K a una dosis de 4 kGy, bajo un análisis de EPR continuo a diferentes temperaturas, 115, 145, 175, 205, 235, 285 y 295 K, obteniendo las intensidades mostrados en la Tabla 5. y la Fig. 10. Se compararon los espectros obtenidos para verificar si es la misma especie monitoreada a diferentes temperaturas, resultando que los espectros son diferentes (Fig. 11). Los espectros son diferentes a cada temperatura, es decir, las señales se sobreponen, haciendo notar que no es sólo un radical el que está siendo analizado, sino es un conjunto de radicales que se van observando a diferentes temperaturas.

Temperatura (°C)	Temperatura (K)	Distancia de pico a pico
-160	115	704
-130	145	828
-100	175	899
-70	205	1069
-40	235	1335
-10	265	1451
20	295	1445

Tabla 5. Valor de la distancia de pico a pico conforme va descendiendo la temperatura.

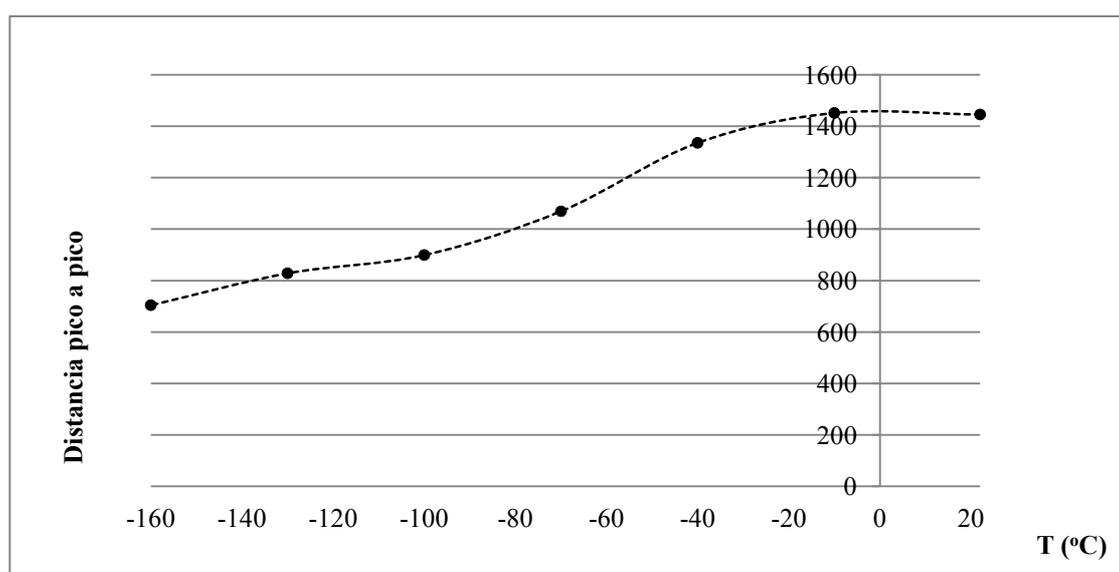


Fig. 10. La distancia de pico a pico del espectro disminuye conforme desciende la temperatura.

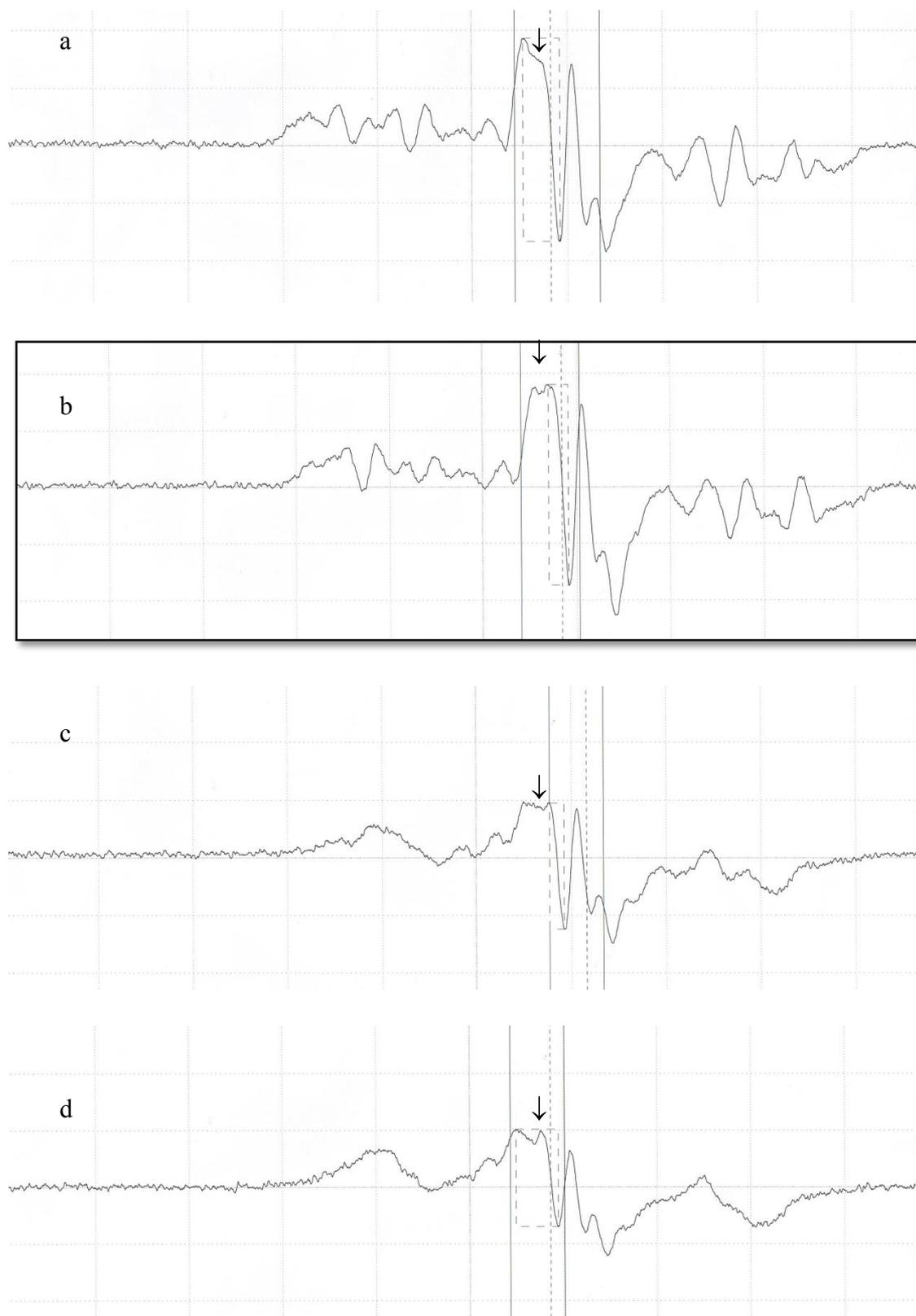


Fig. 11. Los cuatro espectros mostrados en esta figura corresponden al ácido L- α -aspártico irradiado a 4 kGy a 77 K, las muestras inmediatamente fueron analizadas por EPR variando la temperatura de la lectura. El espectro a, es la muestra analizada a 295 K, el espectro b corresponde 285 K, el espectro c se analizó a 145 K, el último espectro se analizó a 115 K. Observando que en los cuatro espectros se notan cambios importantes. El pasar de una temperatura a otra, hace que señales que habían desaparecieran y que aparezcan nuevas.

6.5 Análisis de PET y parafina por EPR

Es importante mencionar que se estudiaron dos materiales como soporte para proponer comercialmente el dosímetro de ácido L- α -aspártico: el tereftalato de polietileno (PET) y la parafina como aglutinante. Se analizó por Espectroscopía de infrarrojo una muestra de BioMax Alanine Dosimeter Film (ver apéndice). Mientras que la parafina que se analizó se tomó de una muestra de vela que se obtiene en cualquier centro comercial. Después de haber irradiado las muestras a 70 kGy, a temperatura ambiente y al analizarlas mediante EPR, los espectros no muestran ningún pico significativo, el cual pueda modificar la respuesta del ácido L- α -aspártico en el intervalo que lo proponemos como dosímetro (Fig. 12). Por lo anterior, proponemos presentar el dosímetro en forma de películas delgadas, utilizando PET (tereftalato de polietileno) con parafina (C₂₅H₅₂) como aglutinante, aún sin saber en que proporciones; debido a que estos dos materiales no dan respuesta a EPR después de haberlos irradiado hasta 70 kGy, además de que son materiales económicos y maleables. Sin embargo, es importante mencionar que en este trabajo no se realizaron ensayos de elaboración de dichas películas, lo cual queda pendiente.



Fig. 12. El espectro a, corresponde al ácido L- α -aspártico irradiado a una dosis de 63 kGy, mientras que el espectro b, es el del tereftalato de polietileno irradiado a 70 kGy y por último, el espectro c es el resultado del análisis de EPR de la parafina irradiada a 70 kGy a temperatura ambiente. Resultando que no existe ningún pico que pueda interferir en el análisis de EPR del dosímetro propuesto.

7. ANÁLISIS DE RESULTADOS

7.1 Dosimetría Fricke Modificado.

La tasa de dosis varía de una a otra posición en el irradiador. La dosis se evaluó en diferentes posiciones para determinar el punto más adecuado para irradiar nuestras muestras. Una vez que se había determinado la razón de dosis en cada posición del irradiador, se decidió trabajar en las posiciones 9 (212 kGy/min) y 11 (213 kGy/min), del gammabeam 651 PT, ubicado en el Instituto de Ciencias Nucleares de la UNAM, las cuales tienen un valor de dosis muy semejantes,

Es importante mencionar que la dosimetría se realizó a temperatura ambiente (22 °C), por lo que no fue necesario hacer ninguna corrección por efecto de la temperatura en el cálculo de la dosis absorbida.

7.2 Irradiación del ácido L- α -aspártico a 295 K.

La idea principal de estos experimentos fue estimar la dosis absorbida por una muestra sólida para que al trazar una curva, se muestre en que intervalo es lineal la respuesta de la intensidad del pico medido por EPR al aumentar la dosis en cada muestra, lo cual se puede interpretar como que ese sólido puede proponerse como dosímetro en ese intervalo de dosis.

Se irradiaron siete muestras por duplicado a diferentes tiempos (0.25, 0.5, 1, 1.5, 2.5, 3.5, y 5 horas, correspondiente un intervalo de dosis de 3 a 70 kGy), por tanto la muestra recibe una dosis mayor en cada tiempo. Los resultados experimentales muestran que no en todo el intervalo (de 3 a 60 kGy) la respuesta es lineal. Sin embargo, para que un dosímetro pueda ser considerado como eficiente sólo basta con que un intervalo de esa curva presente esa linealidad, lo cual se observa de los 3 a los 20 kGy, con un coeficiente de correlación muy cercano a 1. La industria de alimentos, cosméticos y medicamentos, someten infinidad de muestras en un intervalo de 1 a 20 KGy, razón por lo cual podemos proponer como dosímetro al ácido L- α -aspártico para estas dosis.

7.3 Irradiación de ácido L- α -aspártico a bajas temperaturas (195 y 77 K)

Al irradiar a 195 K el ácido L- α -aspártico y analizarlo mediante EPR a temperatura ambiente, el intervalo de dosis en donde la respuesta es lineal aumenta de 20 kGy a 26 kGy aproximadamente, con un coeficiente de correlación cercano a 1, lo cual nos permite ampliar el intervalo en 6 kGy (de 3 a 26 kGy). Los resultados experimentales muestran que el intervalo de dosis a 77 K para el ácido L- α -aspártico tiene una linealidad de los 3 hasta los 63 kGy. Es decir el intervalo se triplica.

Por lo cual podemos proponer este aminoácido como dosímetro para irradiar a bajas temperaturas. Existen muchos alimentos que se deben irradiar a bajas temperaturas, por ejemplo: el pescado y los mariscos, el cual debe siempre estar almacenado a bajas temperaturas, ya que de no ser así se descompone. De igual manera existen muchas reacciones químicas, mediante irradiación gamma, que se ven favorecidas a bajas temperaturas. Cuando se irradia a bajas temperaturas se evita que los radicales producidos reaccionen unos con otros y de esa manera se incrementa la eficiencia de otras reacciones. Se debe siempre tener en cuenta que dosis es la que está recibiendo el medio de reacción, razón por la cual se puede utilizar el ácido L- α -aspártico como dosímetro de bajas temperaturas.

7.4 Estabilidad de los radicales monitoreados por EPR.

Los radicales libres que se formaron quedan atrapados en la matriz del sólido, lo cual permite que sean estables por largos periodos de tiempo. El espectro que resulta al medir mes con mes la muestra, es el mismo, sólo disminuye la intensidad del pico. En siete meses que se monitoreó la muestra, sólo el 40% decayó o se recombinó en nuevas especies que no pueden ser monitoreadas mediante resonancia paramagnética electrónica.

7.5 Análisis de la muestra irradiada por EPR a bajas temperaturas.

Es notable por medio de los espectros de EPR, que es menor la descomposición de la muestra al irradiarla a 77 K comparada con las muestras irradiadas a 295 K, esto puede ser explicado ya que la difusión se ve altamente restringida en estas condiciones. Lo cual puede ser vinculado con los estudios de evolución química, no

sólo en la Tierra primitiva, sino además en cuerpos extraterrestres, ya que ahí existen temperaturas aún más bajas de las usadas en este trabajo.

Se analizó una muestra irradiada a 77 K, mediante un análisis de EPR incrementando la temperatura. Esta técnica se utiliza para tratar de identificar alguna de las especies que se están monitoreando, auxiliándose además de un programa computacional. El análisis comienza analizando la muestra a 115 K y ascendiéndola hasta 295 K, obteniendo espectros que muestran no sólo a un radical, sino a un conjunto, los cuales se van observando conforme incrementa la temperatura.

Para la identificación de los radicales se seleccionó un espectro a una temperatura a la cual se pudieran observar líneas definidas. Mientras incrementa la temperatura del análisis, las señales se hacen más anchas. Por lo tanto, se eligió el espectro b de la Fig. 11 (285 K) para realizar simulaciones teóricas con el programa del equipo de EPR y obtener las constantes de acoplamiento.

La identificación del primer radical, se da cuando se observa un doble de dobles acompañado de un conjunto de líneas, con constantes de acoplamiento $H_{\alpha} = 22$ G y $H_{\beta} = 42$ y valor de $g = 2.00350$; mostrando que ese electrón sólo tiene acoplamiento con átomos de hidrógeno. Estas señales se traslapan con otras que corresponden a otro doble de dobles; lo cual se pudo observar al incrementar la temperatura del análisis de 285 a 295 K, ya que se observa como un pico de ese doble de dobles aumenta cuando el otro disminuye (espectro a y b de la Fig. 11); lo cual nos permite afirmar que no es un solo radical el que da como resultado un espectro complejo y que existen en una proporción semejante. Por lo anterior, se propone que un segundo radical puede monitorearse por las señales pertenecientes a otro doble de dobles. Encontrando que tiene las siguientes constantes de acoplamiento: $H_{\alpha} = 11.5$ G y $H_{\beta} = 3.5$ G y un valor de $g = 2.00480$; que de igual forma sólo se acopla con átomos de hidrógeno.

El primer radical al no tener acoplamiento con un átomo de nitrógeno, nos permite pensar en un radical, el cual es el producto de una reacción de descarboxilación (Fig. 13).

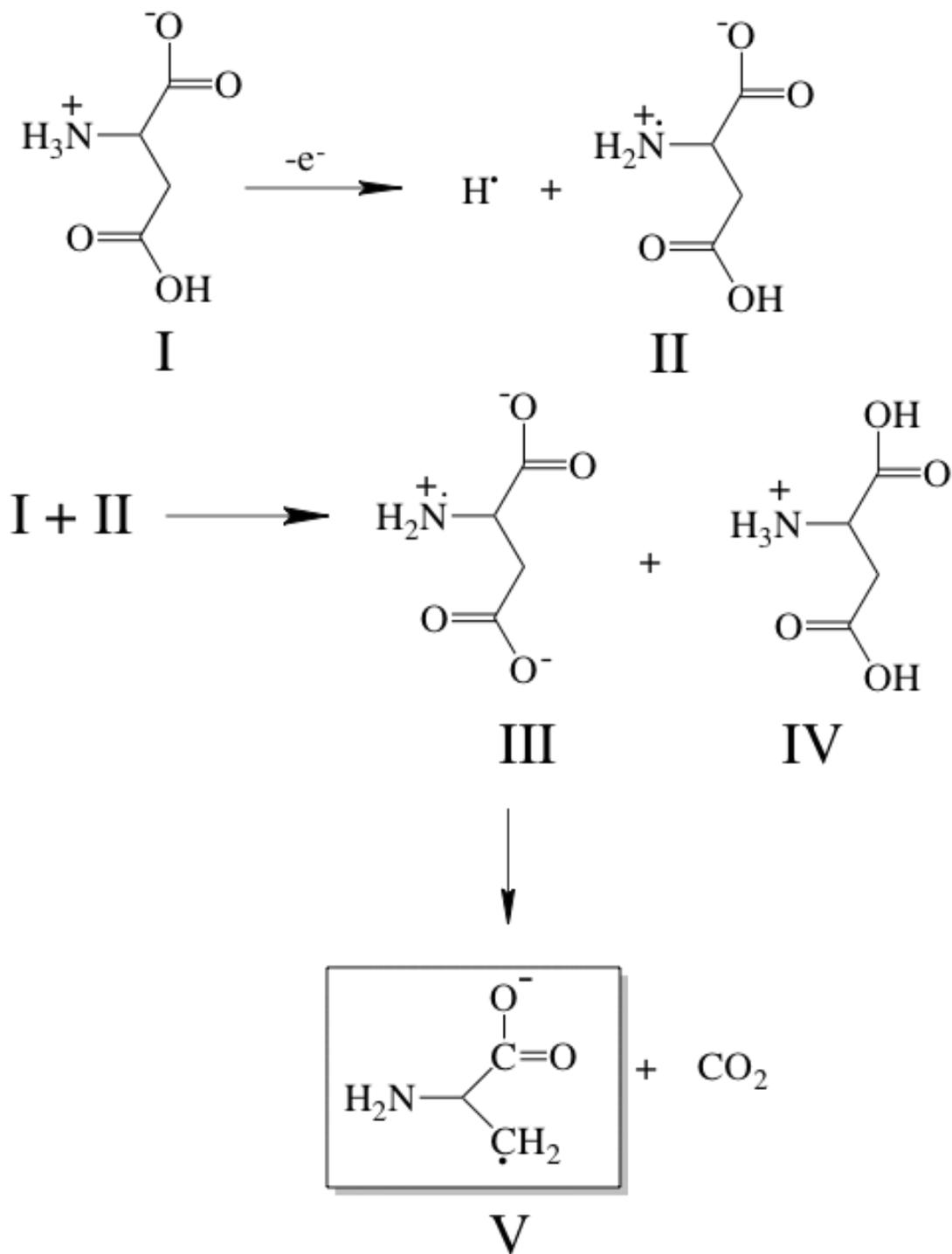


Fig. 13. Mecanismo de reacción para la obtención de un radical identificado por EPR a 283 K. Descarboxilación del ácido L- α -aspártico.

El segundo radical, producto de la reacción de reducción de aminoácidos, al ser un doble de dobles y no tener tampoco acoplamiento con el átomo de nitrógeno, nos permite proponer un radical deshidrogenado y desaminado en C2, siendo un radical parecido al ácido succínico, Lo anterior se resume en la siguiente figura (Fig. 14).

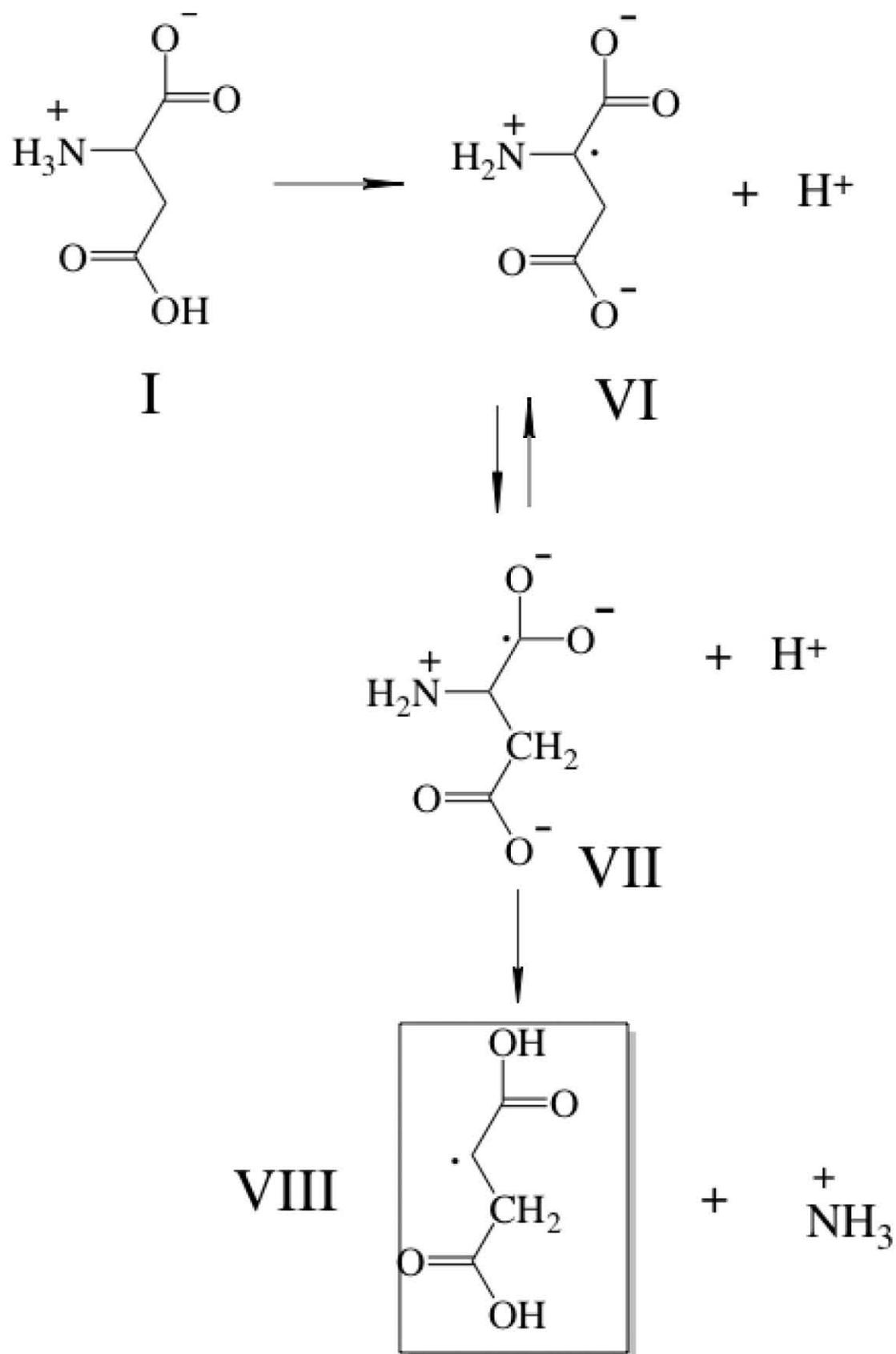


Fig. 14. Mecanismo de reacción para la obtención de un radical desaminado y deshidrogenado, identificado por EPR a 283 K. La reacción ocurrida corresponde a una reducción.

A pesar de que mediante el mecanismo de reacción que se sugiere en la Fig. 15 se puede proponer otro radical que de igual forma puede dar lugar a una descarboxilación en C2 y produciendo la α -alanina (Box, 1977), en este trabajo no se identificaron, debido a que uno de éstos que se propone debería tener acoplamiento con el átomo de nitrógeno, lo que no se observó por lo complejo del espectro.

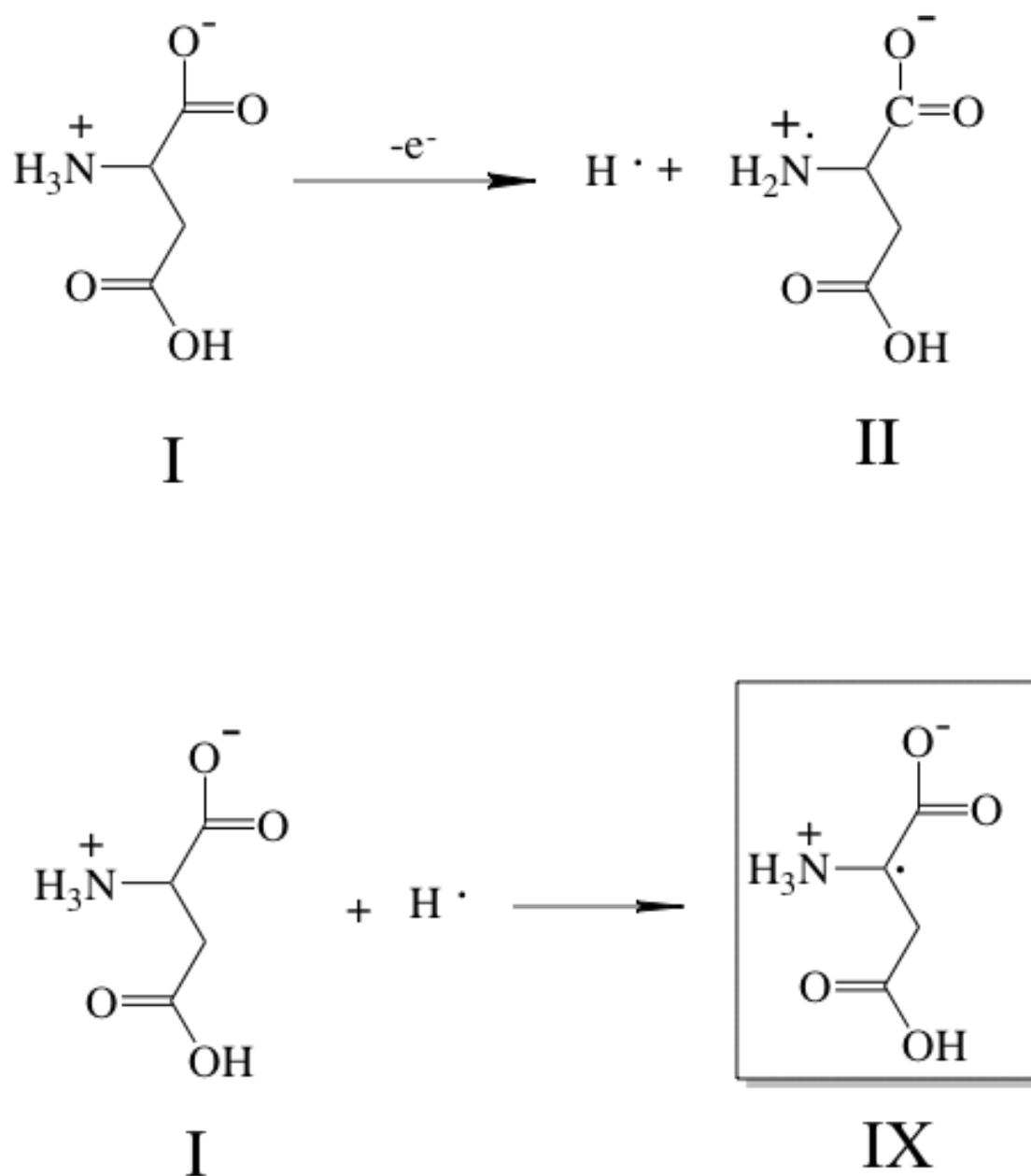


Fig. 15. El radical IX no se identifica dado que el espectro obtenido al analizar las muestras es muy complejo y no se observa el acoplamiento del electrón con el átomo de nitrógeno.

8. CONCLUSIONES

Este trabajo se enfocó al estudio dosimétrico; particularmente de la radiación gamma. Existe una creciente tendencia al empleo de dosis altas para acelerar reacciones químicas, conservar alimentos y esterilizar productos médicos. Por ello, es necesario garantizar la calidad en el tratamiento por irradiación lo que depende fundamentalmente de una dosimetría fiable.

Se propone al ácido L- α -aspártico como dosímetro de radiación gamma para empleo de dosis altas el cual muestra ser confiable en un intervalo de 3 a 20 kGy a temperatura ambiente (295 K), el cual al ser irradiado forma radicales libres que pueden ser monitoreados por Resonancia Paramagnética Electrónica y que al quedarse atrapados en la matriz del sólido, son estables por largos periodos de tiempo, lo cual se observa en el pequeño cambio de la distancia medida de pico a pico en el espectro. Además, el método de lectura propuesto no requiere manipulación química, ni contacto físico alguno con la muestra. Y además como el análisis por EPR no es una técnica destructiva, las muestras (del orden de miligramos) pueden archivarse con fines dosimétricos y sin causar efectos nocivos en el ambiente.

Las ventajas que muestra el dosímetro propuesto de ácido L- α -aspártico sobre el dosímetro de L- α -alanina es que es más económico, además de que el dosímetro propuesto tiene una gran estabilidad al irradiar a bajas temperaturas (195 y 77 K). Incluso, se amplía el intervalo de dosis hasta 60 kGy.

Del mismo modo que el dosímetro de alanina se comercializa, en tiras; el dosímetro en estado sólido que proponemos también se puede adaptar a una tira de Tereftalato de Polietileno (PET) y parafina como aglutinante, ya que ninguno de estos dos materiales dan respuesta a EPR, al menos en el intervalo de dosis sugerido (3 a 63 kGy).

Con base a lo anterior, se concluye que el ácido L- α -aspártico, puede ser utilizado como dosímetro, para procesos a bajas temperaturas y altas dosis de radiación gamma, debido a la alta estabilidad de los radicales formados por largos periodos de tiempo.

Para identificar alguno de los radicales libres formados, se estudió el espectro que se obtuvo de la muestra a 285 K, en el cual se detectan dos dobles de dobles, que corresponden a dos radicales, lo cual se comprobó haciendo las simulaciones teóricas, obteniendo las constantes de acoplamiento para cada uno. Sin embargo, aún quedan señales por interpretar, por lo que se sugiere que existan más radicales, sin identificarlos.

En cuanto a la importancia que se tiene del estudio de la radiólisis del ácido L- α -aspártico a bajas temperaturas en el contexto de evolución química, por medio de los espectros obtenidos mediante EPR se observa que es menor la descomposición de la muestra al irradiarla a 77 K comparada con las muestras irradiadas a 295 K, ya que la difusión se ve altamente restringida en estas condiciones.

Sin embargo, no es nula, lo cual puede llevarnos a pensar que a pesar de esas temperaturas tan bajas, el ácido L- α -aspártico puede llevar a cabo reacciones químicas que pudieron promover la síntesis de otras moléculas de importancia biológica, que posteriormente pudieron ser depositadas en la Tierra. O bien, al ya estar en la Tierra Primitiva y al variar tanto condiciones de temperatura y dosis de radiación gamma, pudo dar lugar a una molécula diferente.

Se ha demostrado que existe materia orgánica en el espacio interestelar, presente en cometas y otros cuerpos interestelares, en los cuales las temperaturas son muy bajas y hay altas dosis de radiación, entonces, podríamos pensar que bajo esas condiciones pueden formarse algunos radicales como los que se proponen, los cuales son muy estables por largos periodos de tiempo. Si se considera la teoría de que los cometas pudieron servir como acarreadores de materia orgánica a la Tierra Primitiva, estos compuestos al aterrizar y encontrarse con condiciones diferentes de temperatura y radiación, pudieron llevar a cabo otro tipo de reacciones que pudieron dar origen a compuestos orgánicos más complejos.

9. REFERENCIAS.

- Aldabe, S., Aramendia, P., Bonazzola, C. and Lacreu, L. *Química II*. Buenos Aires: Química en acción, 2004.
- Anderson, C. D. The Production and Properties of Positrons. Nobel Lecture (1936): 365-376.
- Arya, A. Fundamentals of nuclear physics. Boston: Allin and Bacon Inc., 1976.
- Bada, J. L and A Lazcano, 2003. Prebiotic soup. Revisiting the Miller experiment. *Science* 300:745-746.
- Box H.C. Radiation Effects: ESR and ENDOR Analysis, Academic Press, USA, 1977.
- Carey, F. Chemistry Advanced Organic . USA: Limusa-Wiley, 1990.
- Castro, I., Castellanos E., Gil O., Barreto G. y Díaz M, 2009. Elaboración de dosímetros de alanina y sus posibles aplicaciones en riesgos profesionales. *Universitas Scientiarum*, Volumen 14, pp. 1:86-91.
- Chadwick, K H, 1979. Radiation measurements and quality control. *Radiation Physics and Chemistry*, 14:203-212.
- Compton, A. H., 1923, *Physical*, 21:715.
- Could, P. Atmospheric and Hydrosferic Evolution on the Primitive Earth. USA: McCall, 1977.
- Cruz, Epifanio. Beneficios de la radiación de rayos gamma. *El Universal*. 22 de Noviembre de 2011.
- Desrosiers, M, M Peters and J Puhl, 2009. A study of the alanine dosimeter irradiation temperature coefficient from 25 to 80 °C, 465-467.
- Donnell, O. y J. H. Sangster. Principles of Radiation Chemistry. United Kingdom: Edward Arnold, 1970.

Draganic, I., Bjergbake, E., Draganic, Z. & Sehested, K., 1991. Descomposition of archean waters by 40 K radiation 3800 Ma ago as a source of oxygen and oxidizing species. *Precabin Res.*, pp. 52: 337-345.

Glavin, D. El Universal, La NASA descubre materia orgánica primaria en un meteorito 2006.

Janzen, E and D Haire. Two decades of Spin Trapping, *Advanced in Free Radical Chemistry*. Greenwich: JAI press, 1990.

Juarez, J. M., 2005. El sistema sulfato ferroso amoniacal sólido como dosímetro para procesos a bajas temperaturas y altas dosis de radiación gamma, México, UNAM.

Kanavarioti, A, P. Monnard and D. Deamer, 2001. Eutectic Phase in Ice Facilitate Nonenzimatic Nucleic Acid Synthesis. *Astrobiology*, 271-281.

Leal, Benjamin. Eliminación de microbios y plagas con radiación gamma. El universal. 8 de Febrero de 2010.

López, F. J. Resonancia Pramagnética Electrónica. Universidad Autònoma de Madrid, 2005.

Montoya, M. Protección radiológica. Lima, Peru: Instituto Peruano de Energia Nuclear, 1998.

Nam, J, 1988. Estandarización de dosis altas en el tratamiento por irradiación. OIEA boletín.

Navarrete, M y L Cabrera. Introduccion al estudio de los radioisotopos. México D.F. Facultad de Química, UNAM, 1993.

Negrón A., Bernal S and Uribe, 2012. The gamma ray response of alanine film dosimeters at low temperatures. *Applied Radiation and Isotopes*.

R. Rohani, M., Nasef, H. Saidi and K. Dahlan, 2007. Effect of reaction conditions on electron induced graft copolymerization of styrene onto poly (ethylene-co-tetrafluoroethylene) films: kinetics study.» *Chem. Eng. J*, 27-32.

Regulla, D and U Deffner, 1985. In high-dose dosimetry. *Proc. Int Symp*, 221-235.

S.N. Hajare, S. Saxena, S. Kumar, S. Wadhawan, V. More, B.B. Mishra, M.N. Parte, S. Gautam and A. Sharma, 2010. Quality profile of litchi (*Litchi chinensis*) cultivars from India and effect of radiation processing. *Rad. Phys. Chem*, 994-1004.

Spinks, J and R Woods. *An introduction to radiation chemistry*. New York: A Wiley Interscience Publication, 1990.

Weil, J. A, J Bolton and J Wertz. *Electron Paramagnetic Resonance. Elementary Theory and Practical Applications*. John Wiley and Sons Inc, 1994.

Wingrove, A and R Caret . *Química Orgánica*. USA: Harla, 1984.

Apéndice.

a) L- α -aspártico sin irradiar



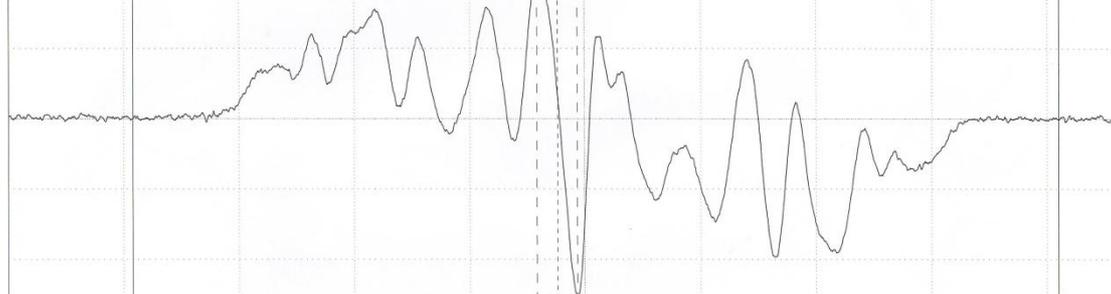
b) L- α -aspártico irradiado a 3,2 kGy (intensidad: 583)



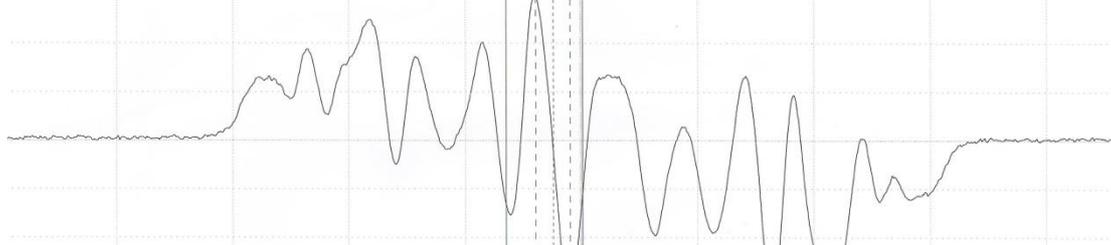
c) L- α -aspártico irradiado a 6,4 kGy (intensidad: 1024)



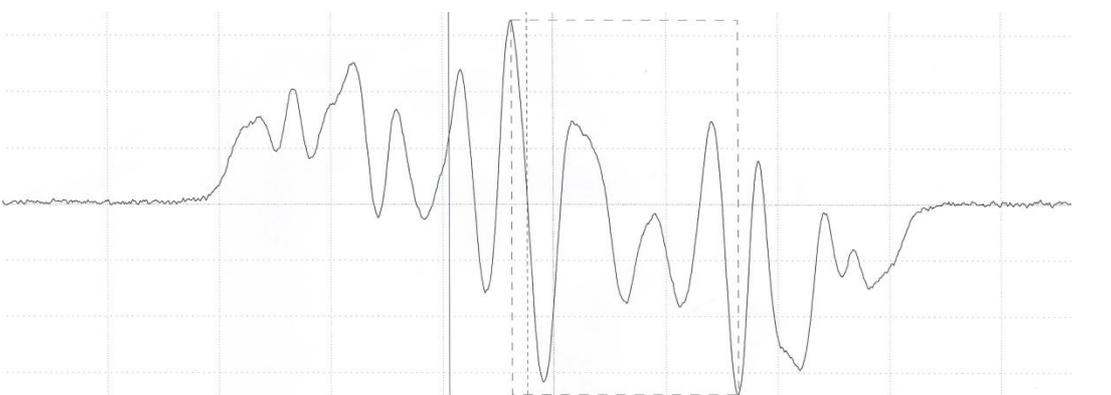
d) L- α -aspártico irradiado a 12,75 kGy (intensidad: 1890)



e) L- α -aspártico irradiado a 25,50 kGy (intensidad: 2729)

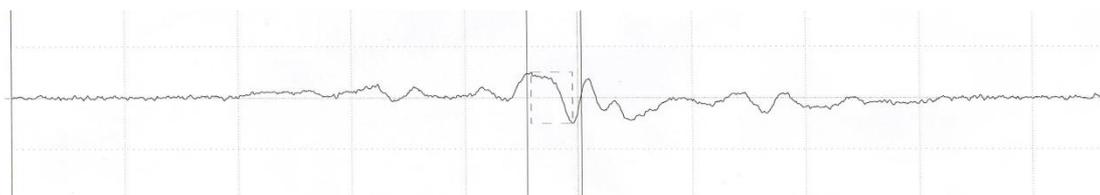


f) L- α -aspártico irradiado a 38,250 kGy (intensidad: 3251)

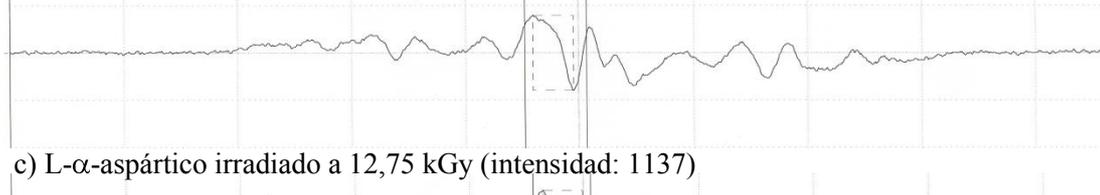


Irradiación del ácido L- α -aspártico a 295 K. Los parámetros de EPR con los que se midieron las muestras son: 334 ± 10 mT; 1 mW de potencia de microondas, horno de microondas de frecuencia 9,44 GHz, modulación de ancho, 0,025 mT; constante de tiempo, 0,1 s; amplitud 125; tiempo de barrido 120 s. El valor de la intensidad del pico incrementa linealmente conforme aumenta la dosis de irradiación.

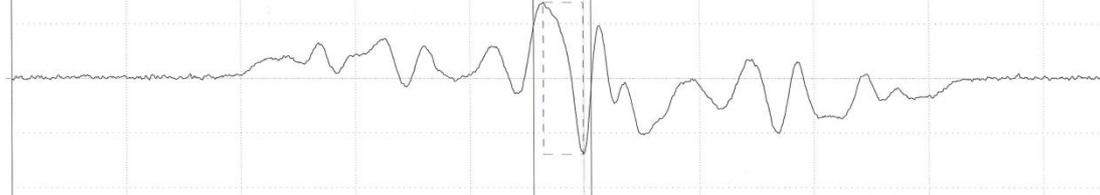
a) L- α -aspártico irradiado a 3,2 kGy (intensidad: 410)



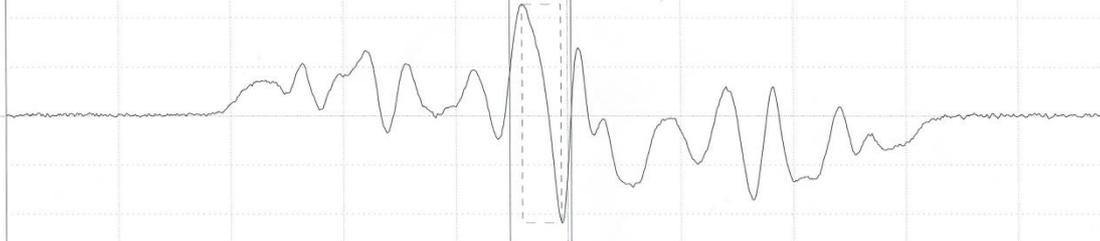
b) L- α -aspártico irradiado a 6,4 kGy (intensidad: 652)



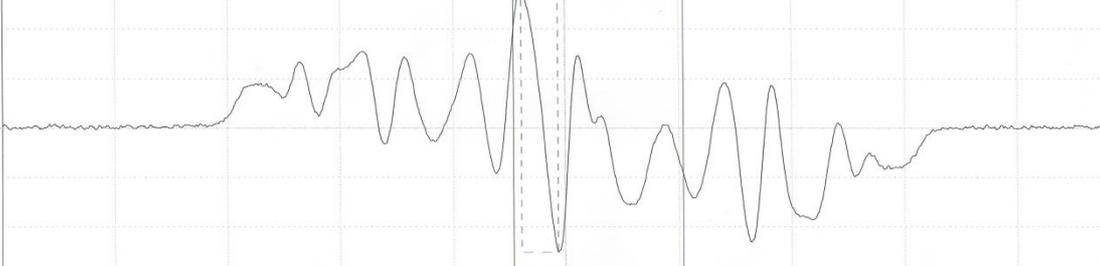
c) L- α -aspártico irradiado a 12,75 kGy (intensidad: 1137)



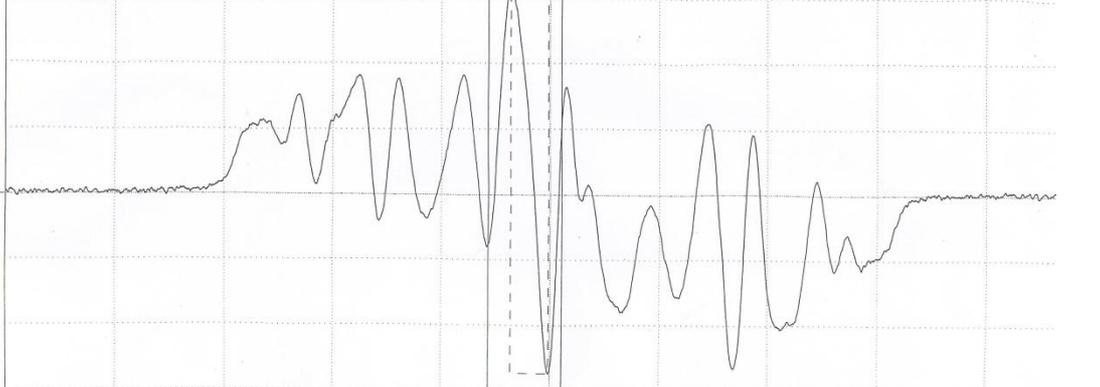
d) L- α -aspártico irradiado a 25,50 kGy (intensidad: 1828)



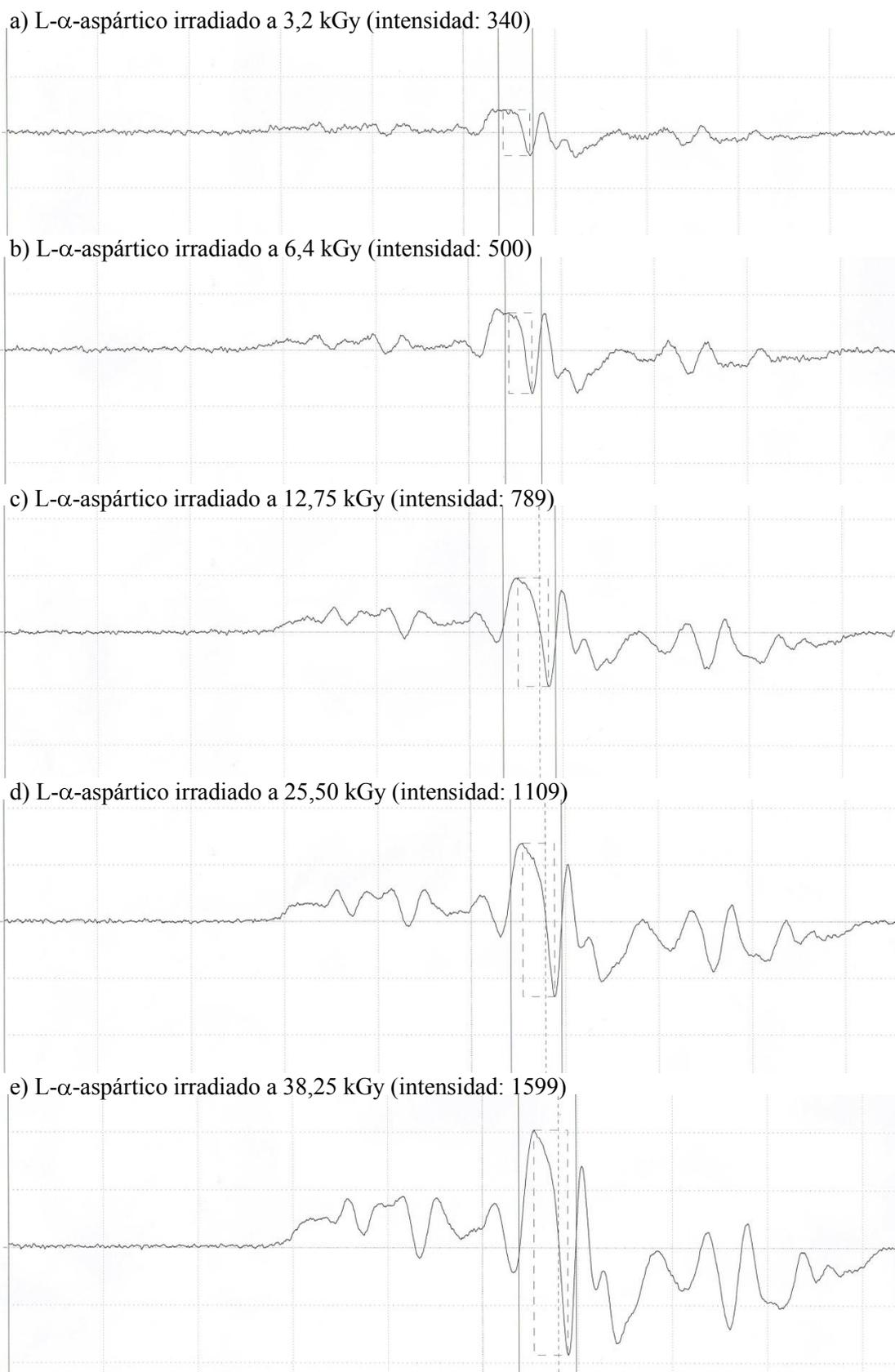
e) L- α -aspártico irradiado a 38,25 kGy (intensidad: 2174)



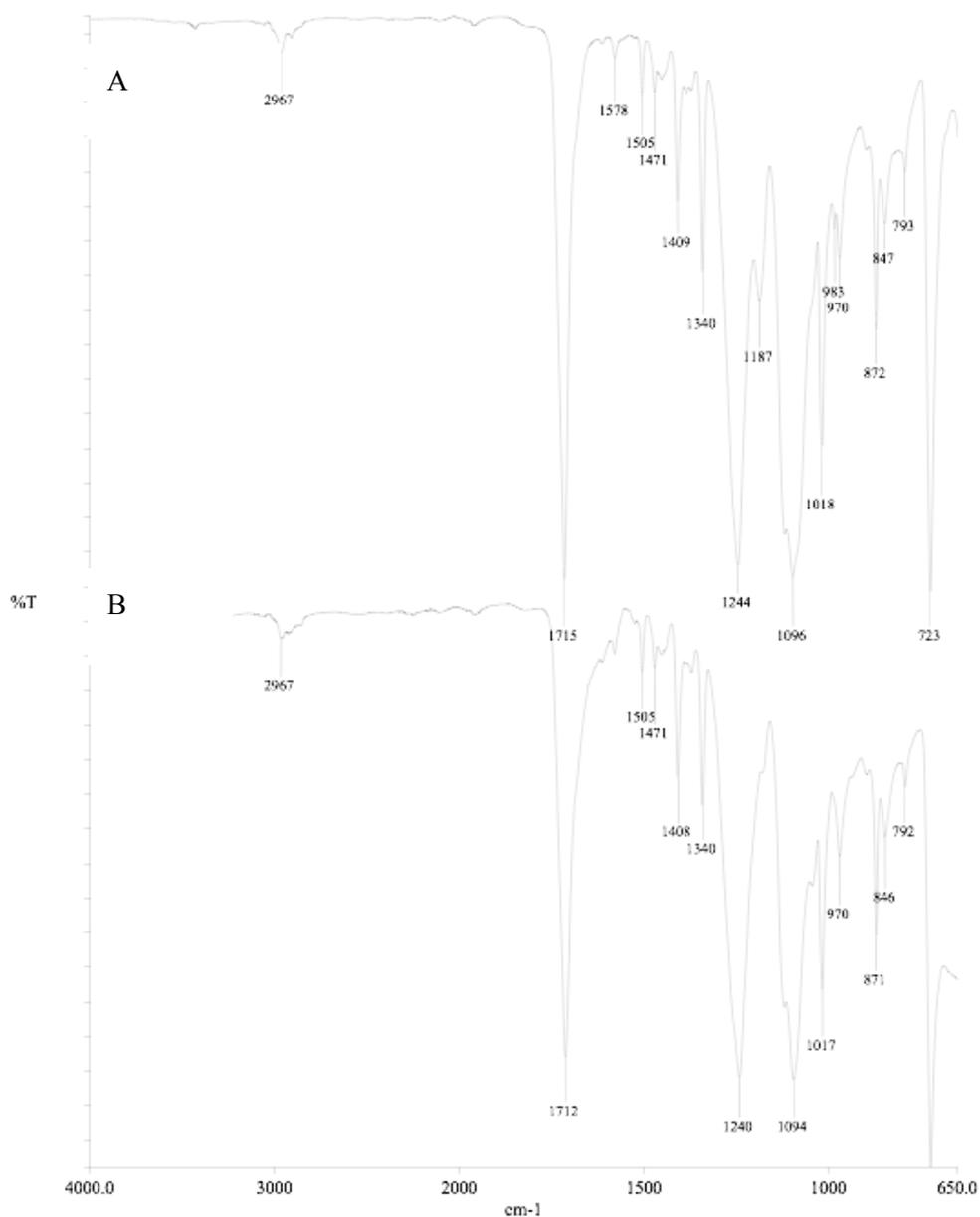
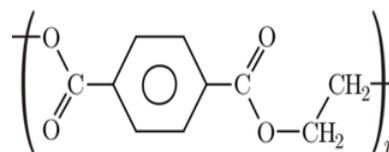
f) L- α -aspártico irradiado a 63,75 kGy (intensidad: 2409)



Irradiación del ácido L- α -aspártico a 195 K. Los parámetros de EPR con los que se midieron las muestras son: campo de centro, 326 ± 10 mT; 1 mW de potencia de microondas, horno de microondas de frecuencia 9,44 GHz, modulación de ancho, 0,032 mT; constante de tiempo, 0,1 s; amplitud 200; tiempo de barrido 120 s.



Irradiación del ácido L- α -aspártico a 77 K. Los parámetros de EPR con los que se midieron las muestras son:: campo de centro, 326 ± 10 mT; 1 mW de potencia de microondas, horno de microondas de frecuencia 9,44 GHz, modulación de ancho, 0,032 mT; constante de tiempo, 0,1 s; amplitud 200; tiempo de barrido 120 s.

Tereftalato de polietileno ($C_{10}H_8O_4$)_n

- A) Estándar.
 B) BioMax Alanine Dosimeter Film, KODAK.

Espectroscopia Infrarroja del tereftalato de polietileno. En el espectro A se muestra un estándar del compuesto y en el espectro B se observa el espectro de la muestra tomada de las películas dosimétricas de L- α -alanina. Observando las señales características del compuesto: en 2967 cm⁻¹ que corresponde a la vibración de tensión entre el enlace C-H, la de 1715 cm⁻¹ corresponde a la vibración de estiramiento C=O y en 1240 cm⁻¹ se observa una señal correspondiente a la flexión del enlace C-H.