

EFFECTOS PRODUCIDOS POR RADIACIONES NUCLEARES EN LECHE EN POLVO

F. UREÑA NUÑEZ*; A. REYES GARCIA**

*Departamento de Física ININ; **Facultad de Química UAEM

INTRODUCCION.- La explosión de la planta nuclear en Chernobyl en abril de 1986, creó una nube radiactiva que se expandió en casi toda Europa, acontecimiento que provocó un incremento significativo de la radiactividad en la atmósfera, contaminando aire, agua y suelo. La contaminación de la vegetación trajo como consecuencia que los elementos radiactivos ingresaran en los animales de pastoreo, provocando de ésta manera la producción de leche contaminada.

En el período de 1987 a 1989, funcionarios de la CONASUPO hicieron compras reconocidas a Irlanda por 40,000 toneladas de leche en polvo. En abril de 1987, se realizó un peritaje a uno de los paquetes, encontrándose altas concentraciones de ^{90}Sr y ^{137}Cs , emisores de radiaciones β y γ cuyas vidas medias son de 28 y 30 años respectivamente, en cantidades diez veces superiores al máximo tolerable por el organismo humano, no obstante, los funcionarios de Gobierno así como las empresas privadas distribuyeron el lácteo contaminado, ya que sólo 3,900 de las 40,000 toneladas importadas fueron devueltas¹.

Lotes de leche LICONSA contaminada por radiactividad, fueron descubiertos en la guardería número 15 del ISSSTE en octubre de 1988. Esta leche con la que alimentó a los niños de la guardería ocasionó trastornos como diarreas e infecciones.

Es importante recalcar que además del riesgo que representa la presencia de elementos radiactivos en cualquier alimento, existen los efectos químicos que se originan por la interacción de las radiaciones ionizantes con las moléculas del medio. Los efectos producidos por la interacción de las radiaciones en los alimentos, varía de acuerdo a la naturaleza

de estos, es decir si se encuentra en estado sólido, semisólido o líquido. En el caso de alimentos sólidos, las radiaciones al interactuar con el alimento crean una considerable cantidad de ionización y excitación de las moléculas del medio, las cuales pueden dar lugar a diferentes combinaciones entre sí, provocando alteraciones químicas entre los diferentes componentes que conforman el alimento.

El objetivo de éste trabajo es el determinar los efectos químicos producidos por las irradiaciones de leches en polvo con rayos γ y partículas β .

METODOLOGIA.- El estudio se llevó a cabo en muestras de leche en polvo de tres diferentes tipos: Leche entera enriquecida con vitaminas A y D (LEE), Leche entera (LE) y Leche semidescremada (LSD).

Análisis de pre-dosis. Antes de someter las muestras de leches a irradiación, éstas fueron analizadas por Resonancia Paramagnética Electrónica, para determinar la presencia de radicales libres en las mismas.

Preparación de muestras. Para llevar a cabo las irradiaciones de las muestras de leche, éstas se prepararon de dos diferentes maneras: 1 gr de cada una de las muestras de leche en polvo se colocaron en contenedores limpios de polietileno. Por otro lado, muestras de 200 gr de cada una de las leches, se colocaron en bolsas de polietileno perfectamente selladas e identificadas.

Irradiación de las muestras. Las irradiaciones de las muestras de leches en polvo con radiación electromagnética, se llevaron a cabo en el irradiador *Gammacell-220*, a diferentes dosis de radiación, 0.001, 0.01, 0.1, 1, 10, 30, 50 y 100 kGy.

Para emular la irradiación de las muestras con partículas β , se empleó el acelerador de electrones PELLETRON. Los contenedores de polietileno con las muestras de leche se fijaron en el centro de la ventana del equipo, Las dosis aplicadas fueron las siguientes: 10, 30, 50, 100, 200, 500 y 1000 kGy.



MX0100228

Análisis por RPE. Las muestras irradiadas de leches en polvo, fueron analizadas en un Espectrómetro de Resonancia Paramagnética Electrónica VARIAN E-15, operado en la banda-X de las microondas, manteniendo las mismas condiciones de operación. Para llevar a cabo las lecturas de cada una de las muestras irradiadas, se pesaron 0.15 gr de cada una de las muestras de leche irradiadas a diferentes dosis, y se colocaron en tubos de cuarzo de 4 mm de diámetro x 15 cm de largo, perfectamente limpios y secos, los cuales se fueron colocando en la cavidad resonante del equipo.

La concentración de los radicales libres presentes en cada una de las muestras, fue determinada mediante las intensidades de sus señales determinadas por la siguiente ecuación:

$$I = \log \frac{h_m/h_{std}}{W_m}$$

Donde, I es la intensidad de la señal, h_m , la altura del pico de la muestra, h_{std} , altura del estándar y W_m el peso de la muestra.

Estabilidad. Para determinar que tan estables eran los radicales libres presentes en las muestras irradiadas de leches, se eligieron una muestra de cada una de ellas, se almacenaron en condiciones ambientales normales, y se analizaron cada semana por un intervalo de seis meses.

Análisis químicos. Para determinar los cambios químicos producidos por las interacciones de las radiaciones con los componentes de las leches en polvo, se realizaron diferentes análisis químicos. Se efectuaron 8 diferentes tipos de análisis, los cuales se llevaron a cabo por triplicado. Muestras de los tres tipos de leches sin irradiar, también fueron analizadas y tomados como referencias.

pH. Las muestras irradiadas a diferentes dosis de leches en polvo, LEE, LE y LSD, se reconstituyeron disolviendo 13 gr de cada una en 90 ml de agua purificada con pH cercano a la neutralidad. Los análisis se efectuaron de acuerdo a la norma NOM-F-317-S-1978, utilizando un potenciómetro CONDUCTRONIC-20, calibrado con soluciones amortiguadoras de pH 4 y 7.

Determinación de la acidez. 13 gr de cada una de las muestras irradiadas, se disolvieron en 90 ml de agua purificada, se tomaron exactamente 9 ml de cada una de ellas y se les adicionó 4 gotas de fenoftaleína. Las muestras se titularon con NaOH 0.1N hasta vire color rosa definido; con los volúmenes gastados de la solución se determinaron los grados Dornic (°D). Los valores se reportan como mg de ácido láctico. Norma NOM-F-420-S-1982.

Determinación de proteínas. Para la determinación de proteínas, se empleó el método de Kjeldahl, utilizando un digestor y un destilador Kjeldahl. A 1 gr de leche en polvo, se le adiciona 10 gr de sulfato de sodio anhidro, 2 gr de sulfato de cobre, 25 ml de ácido sulfúrico concentrado y perlas de ebullición. La mezcla se calienta hasta alcanzar un color azul-verde, se deja enfriar y se le adicionan 400 ml de agua destilada, granallas de zinc y lentamente se le adicionan 50 ml de hidróxido de sodio al 50%. Se efectúa la destilación y se recolecta en un matraz erlenmeyer el cual contiene 50 ml de una solución de ácido bórico al 2% y 4 gotas de indicador Wesslow, hasta que el papel tornasol no presente cambio. El destilado se titula con ácido clorhídrico 0.1 N, y con el volumen gastado en la titulación se determina el nitrógeno total.

$$\% \text{ de Nt} = \frac{(\text{ml})(0.14)(\text{N})(100)}{\text{gr de muestra}}$$

Las proteínas presentes en las muestras se determinan de acuerdo a:

$$\% \text{ PROTEINA} = (\% \text{ de Nt})(\text{factor de conversión})$$

Norma NOM-F-68-S-1980.

Determinación de aminoácidos libres. La presencia de aminoácidos libres en las muestras irradiadas de leches se determinó empleando el método general de la ninhidrina². Una vez separados los aminoácidos de la leche, las soluciones se miden en un espectrofotómetro a 580 nm, obteniéndose valores de densidades ópticas (D.O.) de cada una de las muestras. Los valores se comparan con una curva patrón de densidades ópticas establecida para la glicina.

Determinación de lactosa. La determinación de lactosa se llevó a cabo empleando el método de Fehling³, el cual se basa en la capacidad que tienen los azúcares para reducir las sales cúpricas a óxido cuproso en un medio alcalino en el que se encuentra disuelto o complejadas con tartratos. La reacción tiene lugar en caliente al descomponerse el hidróxido cuproso por el calor, dando un precipitado de color rojo ladrillo. Los mg de lactosa presente en las muestras, se determinan basándose en el factor del reactivo del reactivo de Fehling, y al volumen gastado en la titulación de las muestras de acuerdo a la siguiente expresión:

$$\text{mg de Lactosa en 1 ml} = \frac{(\text{factor})(100)}{\text{ml de solución}}$$

Determinación de grasa. La cuantificación de grasa presente en un alimento se determina por extracción directa con un disolvente adecuado, en este caso, el éter de petróleo es el mejor agente de extracción directa de grasa en material seco. El proceso de extracción es más eficiente si se utilizan extractores continuos tipo Goldfish. 10 gr de cada una de las muestras de leches se secan perfectamente con la finalidad de eliminar la humedad presente, se colocan en el vaso de extracción de grasa para Goldfish y se monta en el equipo, se le adicionan 50 ml de éter de petróleo y se refluja

durante 4 horas. El éter se evapora por calentamiento y se pesa. La cantidad de grasa presente en las muestras irradiadas de leches se determino con la siguiente expresión:

$$\text{Grasa \%} = \frac{(\text{vaso} - (\text{vaso} - \text{grasa}))(100)}{\text{gr de muestra}}$$

Determinación del índice de peróxido. Para conocer la calidad de la grasa presente en las muestras de leches se determinaron los índices de peróxido; estos se llevaron a cabo en las grasas extraídas de las muestras de leche enriquecida y entera, por el método de LEA⁴. Las muestras se disuelven en una mezcla de ácido acético-cloroformo a la cual se le añade yoduro de potasio. El peróxido de oxígeno libera yodo del KI y se valora con tiosulfato de sodio, el índice de peróxido se obtiene expresado en miliequivalentes de oxígeno absorbido por gramo de grasa.

$$\text{IP} = \frac{2(\text{ml de tiosulfato})}{\text{gr de muestra}}$$

Determinación de ácidos grasos libres. Mediante este análisis es posible conocer la hidrólisis de la grasa por efecto de las irradiaciones. La grasa se disuelve en un disolvente neutro y se valora la acidez con alcali normalizado, el valor obtenido representa la descomposición de la grasa. Considerando los ml de NaOH gastados en la valoración, así como el peso de la muestra, se procede a realizar los cálculos necesarios para obtener el % de ácidos grasos libres, reportado como ácido oleico.

$$\% \text{ AGL} = \frac{(\text{ml de NaOH})(0.0282)(100)}{\text{gr de muestra}}$$

RESULTADOS Y DISCUSION.- Intensidad.- Los resultados obtenidos de las intensidades de señal de las muestras de leches irradiadas a diferentes dosis de radiación por Resonancia Paramagnética Electrónica, mostraron un incremento lineal de las intensidades con respecto a la dosis recibida, estos

resultados fueron similares para los tres diferentes tipos de leches, LEE, LE y LSD. Sin embargo, para las muestras de leche LEE y LSD se observó que a 100 kGy hay una disminución en sus intensidades de señal, por lo que se puede decir que a esta dosis ya se ha alcanzado la saturación, es decir que todos los sitios probables para la formación de radicales libres se encuentran afectados, por lo tanto la señal RPE permanece constante o bien tiende a disminuir por efecto de recombinación de radicales. La señal de la leche entera LE aún no alcanza el punto de saturación por lo que su señal sigue incrementándose con respecto a la dosis.

Estabilidad.- Los radicales libres presentan una mayor estabilidad en la LE en comparación con las muestras LEE y LSD, siendo esta última la menos estable.

Los valores reportados de los diferentes análisis químicos, son el promedio de tres repeticiones para cada una de las muestras irradiadas a diferentes dosis.

pH.- El valor promedio de pH de las muestras sin irradiar es de 6.5, este valor presenta una ligera disminución en función de las dosis recibidas. El pH de la leche es consecuencia de la presencia de la caseína y de los aniones fosfóricos y cítricos, por lo que la disminución en el pH puede deberse a los efectos producidos por las radiaciones en estos.

Acidez.- Los resultados mostraron un incremento en la acidez de las muestras irradiadas de leche, incrementándose ésta conforme aumentaba la dosis de irradiación. El aumento de acidez en las leches irradiadas, probablemente se deba a las modificaciones que sufren las proteínas y los sistemas de calcio y fósforo, con la formación de algunos ácidos orgánicos.

Proteínas.- Uno de los efectos producidos por la interacción de las radiaciones con las proteínas es la liberación de amoníaco, los resultados obtenidos para las muestras irradiadas no presentaron una variación significativa por este efecto respecto a la leche sin irradiar. Esto se debe a que en las proteínas se presentan diversos efectos como desenrollamiento, desdoblamiento molecular, coagulación, rompimiento de enlaces y separación de aminoácidos.

Aminoácidos libres.- de acuerdo a los resultados obtenidos existe un incremento paulatino de los aminoácidos presentes en las muestras de leche conforme se aumenta la dosis de radiación. Las leches en polvo sin irradiar presentan una concentración de aminoácidos libres de 1.58 ± 0.03 μmol , ésta concentración se ve aumentada respecto a la dosis recibida hasta 2.66 ± 0.04 μmol para las dosis más altas. El aumento en las concentraciones de aminoácidos libres se debe al rompimiento de enlaces químicos en las proteínas por efecto de las radiaciones, dando lugar a entidades más pequeñas como son los aminoácidos.

Lactosa.- La lactosa es el principal carbohidrato de la leche, el cual por poseer un grupo aldehídico libre es un azúcar reductor, si se hidroliza la lactosa, el poder reductor aumenta considerablemente. De acuerdo con los resultados obtenidos, se observa una disminución de lactosa presente en las muestras de leche respecto a la dosis recibida, dicho comportamiento es semejante en los tres tipos de muestras LEE, LE y LSD. A 0 dosis las muestras contienen en promedio 966.5 ± 0.5 mg de lactosa, la cual se ve disminuida paulatinamente hasta una dosis de 10 kGy, 846 ± 0.45 mg de lactosa, a partir de esta dosis la degradación de la lactosa es más acentuada. Dicha degradación se lleva a cabo por un rompimiento en la estructura de la lactosa, originando con esto la formación de entidades más pequeñas como son la glucosa y la galactosa, aumentando de esta manera el poder reductor de la solución, disminuyendo de la misma manera el contenido de lactosa.

Grasa.- Los efectos producidos por las interacciones de las radiaciones en grasas, se

determinan por el índice de peróxido y la presencia de ácidos grasos libres.

Índice de peróxido.- las muestras de leche en polvo sin irradiar presentan valores de índice de peróxido de 3.55 ± 0.07 meq de O_2/kG de grasa. Si los valores de índice de peróxido son del orden de 20 a 40 meq de O_2/kG de grasa son, en general sinónimo de enranciamiento. En el intervalo de 0 a 5 kGy, el índice de peróxido de las muestras de leche, se mantuvo por debajo de los 20 meq de O_2/kG de grasa, por lo que a esta dosis las leches no presentaron enranciamiento oxidativo, sin embargo, se puede hablar de un periodo de inducción en el cual después de un determinado tiempo de almacenamiento se favorece el enranciamiento. A dosis de 10 kGy y superiores los valores del índice de peróxido se incrementan considerablemente, 60.6 ± 2.0 meq de O_2/kG de grasa para 10 kGy, presentando enranciamiento oxidativo. La autooxidación de las grasas instauradas se inicia y se propaga por formación de radicales libres, por lo que este proceso se acelera con la irradiación de las muestras.

Ácidos grasos.- Los resultados muestran que existe liberación de ácidos grasos por efecto de las interacciones de las radiaciones con la grasa de la leche. Los límites máximos de calidad varían según sea el tipo de grasa, pero como norma general se admite un límite crítico de 1%. Con base a los resultados, las leches irradiadas presentan rancidez hidrolítica a partir de una dosis de 1 kGy, este porcentaje se incrementa hasta una dosis de 50 Kgy, observándose una disminución a dosis mayores, esto se debe a que existe un antagonismo entre el efecto de hidrólisis y el efecto de oxidación de la grasa, es decir que factores como el aumento de acidez se tiene una acción retardadora sobre la lipólisis, pero se favorece la oxidación.

Características sensoriales.- La calidad de un alimento está compuesta por una serie de impresiones sensoriales que en conjunto proporcionan información del aspecto del mismo. A continuación se mencionan las características sensoriales de la leche en polvo: su color debe ser blanco amarillento, de olor y sabor característicos, exento de olores y sabores extraños como a ácido, rancio, caramelizado, a viejo; deberá presentarse en forma de polvo amorfo de color uniforme y sin grumos.

En este estudio se incluyen los cambios sensoriales observados para las leches irradiadas a diferentes dosis como color olor y sabor. A dosis superiores de 5 kGy las muestras presentaron un oscurecimiento en su color; el olor de las leches se percibió a rancio, y su sabor presentaban una marcada acidez. A dosis de 50 kGy y mayores, las características sensoriales cambian drásticamente en color olor y sabor, perdiendo su solubilidad.

CONCLUSIONES.- La interacción de las radiaciones nucleares (rayos gamma y electrones) con las diferentes muestras de leche en polvo, LEE, LE y LSD, dan lugar a la formación de radicales libres, además inducen cambios químicos como son: disminución en el pH; aumento en la acidez conforme la dosis de radiación se incrementa; las proteínas sufren cambios en su estructura molecular con liberación de aminoácidos; degradación de lactosa; formación de peróxido e hidrólisis de la grasa presente en las muestras de leche. Las características sensoriales se modifican considerablemente desde 1 kGy. Los efectos son similares en las tres muestras LEE, LE y LSD.

BIBLIOGRAFIA.-

1. Zamora G. (1997). Caso Conasupo: La leche radiactiva. Editorial Planeta, México, D.F.
2. Alemany D. (1982). Practicas de Bioquímica. 1ª ed. Editorial Alhambra. Madrid, España. pp 70.
3. Less R. (1989). Técnicas de Laboratorio para el Análisis de Alimentos. Editorial Acribia. Zaragoza, España. pp. 119.
4. Romero C. Y Miranda J.L. (1981). Técnicas de Laboratorio para el Análisis de Alimentos. Editorial Acribia. Zaragoza, España. pp. 137.