

## T189 - ESTUDIO DE SOJA IRRADIADA MEDIANTE RESONANCIA DE ESPIN ELECTRONICO (ESR)

G. Facorro<sup>(1)</sup>, E. Rubin de Celis\*<sup>(1)</sup>, A. Hager<sup>(1)</sup> y C. Magnavacca<sup>(2)</sup>

<sup>(1)</sup> Cátedra de Física, Depto. Fisicomatemática, Fac. Farmacia y Bioquímica, UBA. Dirección: Junín 956, (CP 1113), C. A. de Buenos Aires, 54-11-4964-8201, erdec@ffyb.uba.ar.

<sup>(2)</sup> Laboratorio Efluentes y Prod. Irradiados, Centro Atómico Ezeiza, CNEA.

**Palabras Claves:** Soja - Irradiación - Radicales libres - Resonancia de espín electrónico - ESR - EPR.

### INTRODUCCIÓN

La irradiación de alimentos es una tecnología cada vez más empleada en diversos países. Su objetivo es reducir la contaminación microbiana, mejorar las cualidades higiénicas y aumentar los tiempos de comercialización y almacenamiento (www.cnea.gov.ar) (Escobar, 2005).

Independientemente de estos beneficios, diversas posiciones ecológicas, políticas y otras relacionadas con la aceptación de los consumidores han originado una diversidad de situaciones y diferentes marcos normativos respecto a la autorización para comercializar alimentos irradiados en distintos países. Para Argentina, un país tradicionalmente exportador de alimentos, se hace imprescindible disponer de centros de referencia que permitan garantizar y certificar la ausencia del proceso de irradiación, acorde a las normas legales de los países importadores.

Las dosis de radiación usadas comercialmente se ajustan para lograr el beneficio buscado sin llegar a causar efectos adversos ni cambios organolépticos en el producto. A tales dosis, relativamente bajas, existen escasos efectos químicos, fisicoquímicos o biológicos y éstos son detectados sólo mediante tecnologías de gran sensibilidad. Varias metodologías que encaran la detección de distintos tipos de efectos inducidos en diversas clases de productos, fueron objeto de investigaciones desarrolladas principalmente en Europa en la década pasada. Entre ellas están: la Cromatografía Gaseosa con Espectrometría de Masas para alimentos con contenido graso, la Termoluminiscencia para alimentos con minerales de sílice, la Resonancia de Espín Electrónico (ESR) para alimentos que contengan hueso, celulosa o azúcar cristalina, y otros. El Organismo Internacional de Energía Atómica y la Oficina de Referencia de la Unión Europea tuvieron un rol primordial en la generación de una serie de métodos normalizados para la detección de alimentos irradiados (Raffi, 1992). Desde 1997 hasta hoy se han aprobado nueve Normas entre las que se incluyen tres basadas en la resonancia de espín electrónico:

- EN 1786 (1996) "Detección de alimentos irradiados que contengan hueso por ESR";
- EN 1787 (2000) "Detección de alimentos irradiados que contengan celulosa por ESR";
- EN13708 (2001) "Detección de alimentos irradiados que contengan azúcar cristalina por ESR".

La ESR permite detectar radicales libres inducidos por la radiación que permanecen por tiempos limitados en ciertas estructuras químicas contenidas en el hueso, en la celulosa o en los cristales de azúcar. La Norma Europea relativa a alimentos que contienen celulosa (ECS, 2000), fue validada para pistacho a partir de una dosis de radiación absorbida de 2 kGy (dosis de radiación absorbida Gy=Joule/kg), para pimentón a partir de 5 kGy y para frutillas frescas a partir de 1.5 kGy. La estabilidad del radical libre indicado en la Norma, y que depende del contenido de la matriz química y la humedad del producto es, desde 3 semanas para el caso de frutillas hasta un año para el caso del pistacho.

La soja, siendo un producto de gran importancia comercial, es irradiada en algunos países con el objeto de lograr la desinfectación (Ritacco, 2003). La comprobación de dicho proceso de irradiación presenta un desafío para el analista. Algunos autores han estudiado los espectros de ESR de productos de soja irradiados a bajas temperaturas (Lee, 2002). O han enfocado el trabajo hacia el origen y el comportamiento cinético de los iones  $Mn^{2+}$  y el radical libre formado durante la irradiación (Polat, 2003).

El objetivo de este trabajo fue analizar mediante ESR productos de soja tratados experimentalmente con radiaciones ionizantes en las mismas condiciones en que podrían ser irradiados comercialmente, buscando la técnica más apropiada para evacuar las inquietudes empresariales. Se presentan los estudios preliminares relacionados con la detección e identificación de los radicales libres inducidos por la radiación absorbida.

## **MATERIALES Y MÉTODOS**

Se ensayaron tres tipos de muestras de origen local: porotos de soja, harina de soja y pellets de soja para exportación. El contenido de humedad, evaluado por triplicado en estufa a vacío hasta peso constante, fue en todos los casos, menor del 10%. Las muestras fueron irradiadas experimentalmente en la Planta de Irradiación Semi-Industrial del Centro Atómico Ezeiza basada en fuentes de  $^{60}\text{Co}$ , alcanzando dosis comprendidas entre 0,5 y 10 kGy. Para el control de dosis de radiación absorbida se utilizaron dosímetros tipo Fricke y de dicromato de plata y potasio.

Los espectros de ESR fueron obtenidos en un espectrómetro Bruker ECS 106 empleando los siguientes parámetros instrumentales, campo central: 3445 Gauss, ancho de barrido: 1000 Gauss, potencia de la microonda: 0,63 mW, frecuencia de modulación: 50 Khz, amplitud de modulación: 1,0 Gauss, tiempo de conversión: 5,12 ms y constante de tiempo: 5,12 ms. Las muestras, entre 100 y 200 mg, fueron ubicadas en tubos de cuarzo y analizadas en el equipo de ESR.

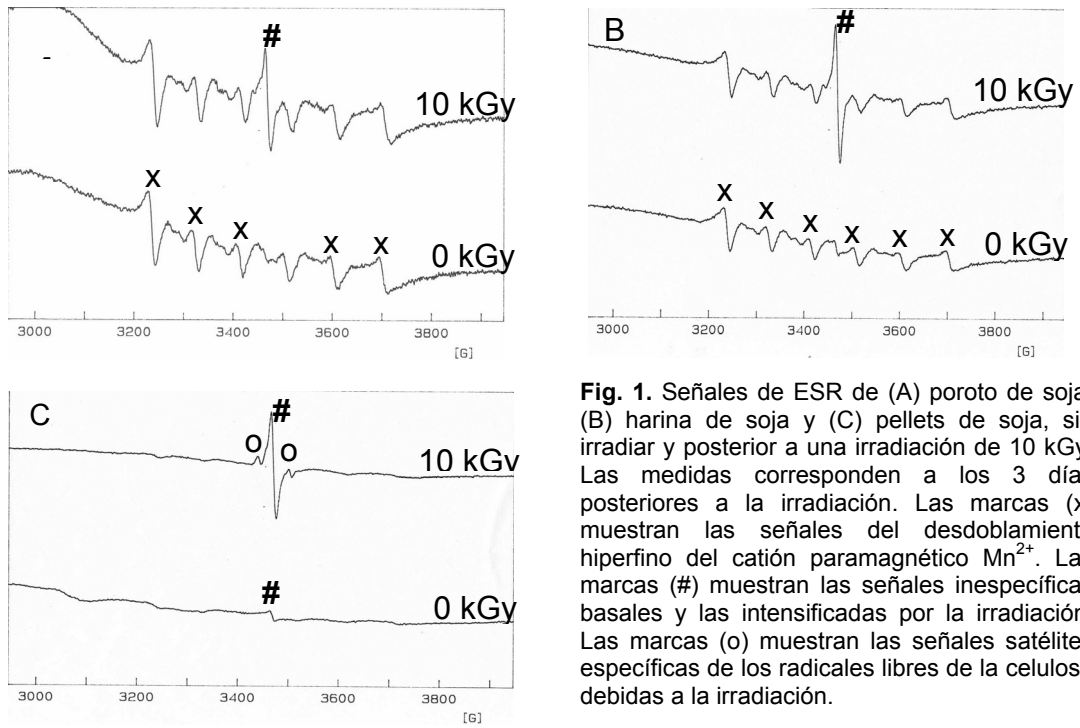
Se realizaron estudios de: (I) intensidad de la señal en función de la potencia nominal de la microonda a fin de establecer los parámetros óptimos para las mediciones, (II) características de los espectros de las muestras analizadas sin irradiar e irradiadas y (III) variación de la intensidad del radical libre en función de la dosis absorbida y del tiempo transcurrido desde la irradiación.

## **RESULTADOS Y CONCLUSIONES**

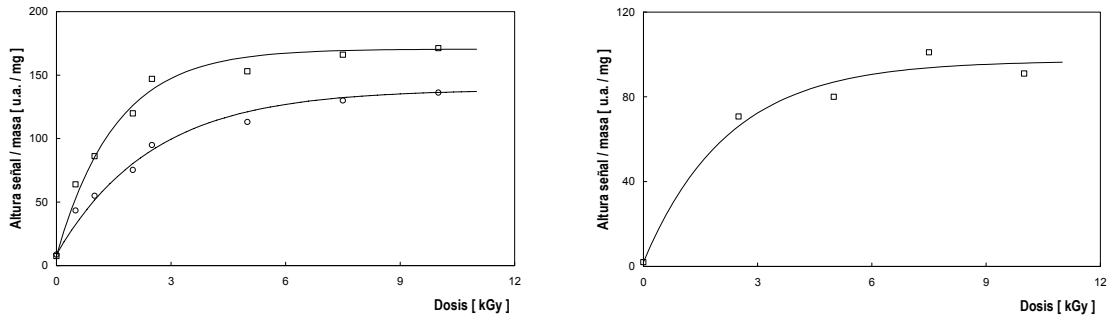
El análisis de las curvas de potencia (datos no mostrados) determinó que el rango óptimo de potencia de trabajo, coincidente con la Norma Europea, fue de 0,60 a 0,80 mW.

La figura 1 muestra los espectros de ESR correspondientes a poroto, harina y pellet de soja. Se observan señales que corresponden al espectro de ESR del catión paramagnético  $\text{Mn}^{2+}$  acomplejado a la proteína lectina presente en la soja. Las señales basales inespecíficas son formadas por radicales libres característicos de la soja y otros compuestos vegetales, que son intensificadas por efecto de la radiación. Sólo son específicas de la irradiación las señales satélites que, en el caso de las muestras de pellets, pueden verse más claramente debido a la minimización de las señales del  $\text{Mn}^{2+}$ . Esta ausencia relativa del  $\text{Mn}^{2+}$  podría deberse al proceso industrial previo de los pellets.

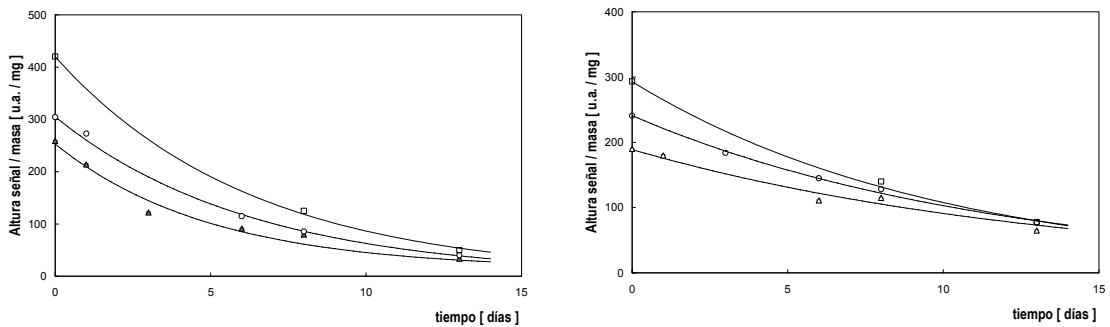
La figura 2 muestra la variación de la intensidad de las señales de ESR correspondientes a los radicales libres para poroto, harina y pellet de soja en función de la dosis de radiación absorbida. La figura 3 muestra la variación temporal de las señales de ESR correspondientes a los radicales libres para harina y pellet de soja.



**Fig. 1.** Señales de ESR de (A) poroto de soja, (B) harina de soja y (C) pellets de soja, sin irradiar y posterior a una irradiación de 10 kGy. Las medidas corresponden a los 3 días posteriores a la irradiación. Las marcas (x) muestran las señales del desdoblamiento hiperfino del catión paramagnético  $Mn^{2+}$ . Las marcas (#) muestran las señales inespecíficas basales y las intensificadas por la irradiación. Las marcas (o) muestran las señales satélites específicas de los radicales libres de la celulosa debidas a la irradiación.

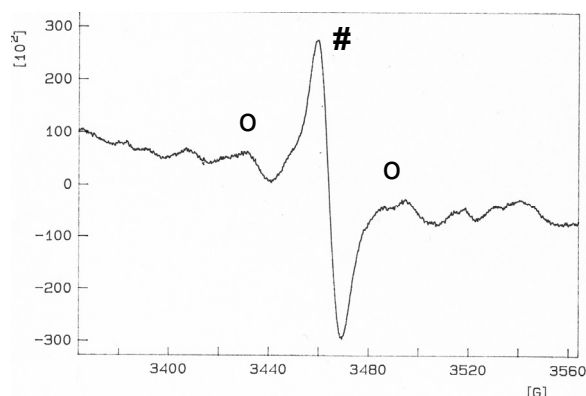


**Fig. 2.** Alturas de las señales de ESR expresadas en unidades arbitrarias y corregidas por masa de muestra correspondientes a los radicales libres para harina de soja (gráfico izquierdo, línea continua), pellet de soja (gráfico izquierdo, línea segmentada) y porotos de soja (gráfico derecho) en función de la dosis de la radiación absorbida. Los espectros fueron obtenidos el día posterior a la irradiación.



**Fig.3.** Alturas de las señales de ESR expresadas en unidades arbitrarias y corregidas por masa de muestra, correspondientes a los radicales libres para harina de soja (gráfico izquierdo) y pellet de soja (gráfico derecho) en función del tiempo transcurrido desde la irradiación para dosis absorbidas de 2,5 kGy (línea punteada) ; 5,0 kGy (línea segmentada) y 7,5 kGy (línea continua).

La mínima dosis de radiación utilizada comercialmente para soja (1 kGy) es detectable por la tecnología aquí demostrada. Vemos en la Fig. 4 los detalles de las señales observables en ese caso. La presencia de las señales satélites además de la señal intensificada del radical libre basal, es prueba inequívoca del proceso de irradiación. La estabilidad de un análisis identificatorio positivo, sin embargo, dependerá del tipo de muestra (las harinas originan señales más destacadas que el poroto), el tratamiento previo de la misma (la extracción de aceites modifica la composición química y por lo tanto, el fondo del espectro), y la temperatura (estacionamientos prolongados a altas temperaturas favorecen la recombinación de los radicales libres). No es posible, por estas razones, establecer un límite de detección en el tiempo que sea válido para todos los casos.



**Fig. 4.** Espectro de ESR de harina de soja posterior a una irradiación de 1,0 kGy. La medida corresponde a los 8 días posteriores a la irradiación. Las marcas (o) muestran las señales satélites específicas de los radicales libres de la celulosa debidas a la irradiación. La marca (#) muestra la señal inespecífica basal intensificada por la irradiación.

Los estudios presentados y los actualmente en ejecución permitirán incorporar la metodología de ESR para el análisis de alimentos irradiados junto a otras técnicas validadas por normas internacionales.

La disponibilidad de un análisis que pueda dar testimonio de un proceso previo de irradiación, puede ser eventualmente importante en el movimiento comercial internacional de la soja.

## AGRADECIMIENTOS

A la Planta de Irradiación Semi-Industrial y Laboratorio de Dosimetría, del Centro Atómico Ezeiza. Al Sr. Miguel Zapata por su colaboración técnica.

## BIBLIOGRAFÍA

- ECS: European Committee for Standardization. (2000). "Foodstuffs. Detection of irradiated food containing cellulose". EN 1787.
- ESCOBAR, E. (2005) "Irradiación de Alimentos: una solución para producir alimentos inocuos y reducir las enfermedades producidas por alimentos". Ingeniería Alimentaria. 55, 136-144.
- LEE, E., VOLKOV, V., BYUN, M., and LEE, C. (2002) "Detection of free radicals in gamma irradiated soybean paste and model system by electron spin resonance spectroscopy". Radiation Physics and Chemistry, 64, 1, 61-66.
- POLAT, M. and KORKMAZ, M. (2003) "Kinetics of the Mn<sup>2+</sup> ion and the free radical observed in  $\gamma$ -irradiated soybean (Glycine max L.)". Food Research International. 36, 9-10, 1073-1080.
- RAFFI, J., STEVENSON, H., KENT, M. THIERRY, J., and BELLARDO, J. (1992) "European intercomparison on electron spin resonance identification of irradiated foodstuffs". Int. J. Food Sci. Technol., 27, 111-124.
- RITACCO, M. (2001) "Radiodesinsectación de Cereales Almacenados". Revista Argentina Nuclear. Nro. 83.