

Both irradiated and non irradiated beets were stored for two months at constant temperature. The main scope of this work is to see the influence of radiation in preventing sprouting, changes in sugar and chemical changes observed in beets. The effect of radiation on the sprouting of beets is discussed. The effect of radiation on the sprouting of beets is discussed. The effect of radiation on the sprouting of beets is discussed.

LA ENERGIA NUCLEAR EN LA MEJORA Y CONSERVACION DE ALGUNAS PLANTAS DE INTERES ALIMENTICIO (*)

Por M. CATALÁN CALVO

Estación Experimental "Aula Dei".—C. S. I. C.—Zaragoza

S U M M A R Y

Results obtained for different investigators on irradiation of various plants are discussed in this paper. Also our own experimental research is introduced.

In recent years a number of authors have observed that ionizing radiation used to inhibit sprouting or to radio-pasteurize of fresh fruit and vegetables, affect some of these products in such a way that they suffer some different changes with increasing doses.

With certain doses the irradiated products become progressively soft. The increasing softening has been attributed to some chemical changes, mainly to a decomposition of pectic substances present in the cell wall. Otherwise, doses inhibiting sprouting affect the wound healing mechanism to such an extent, that this may be considered one of the most important causes of the increased rot.

Our own experiments cover physiological as well as biochemical changes in the sugar beet.

Six samples of beet roots have been irradiated with gamma rays, from a Cesium-137 source, at different doses in the range 7,5-240 Krad. Another sample remained free of radiation and serves as a control.

(*) El presente trabajo fue leído en el XXXI Congreso Internacional de Ciencias Farmacéuticas, que se celebró en Washington en septiembre de 1971.

Both, irradiated and non irradiated beets were stored for two months at constant temperature. The main scope of this storage period is to see the influence of radiation in preventing sprouting, spoilage, loss of sugar and chemical changes.

Pertinent microbiological findings and observations made during the experiment pointed out that at 7,5 and 15 Krad radiation could be used as a microbiological treatment for beets, although at higher doses the micro-organisms were often less radiosensitive than their host.

The irradiated beets were darker in colour than the control, mainly those receiving larger doses.

Sprouting inhibition was very effective at any dose were used.

Softening of vegetable tissue appears immediately after irradiation in all samples, including those receiving lower doses. But several weeks later the irradiated beets present much hardness than the control.

Sugar content decreases at 21° C. more slowly in samples irradiated with lower doses than in the control.

Little biochemical changes have been appreciated by means of chromatographic methods in the nitrogenous and carbohydrate fractions present in the beet. The former of these fractions was weakly affected only by the higher doses.

On the whole, irradiation at certain doses may be used to reduce loss of sugar, sprouting, and growth of microbial flora, with a view to longer storage life of the sugar beet.

1. INTRODUCCION.

Este trabajo recoge los resultados obtenidos por algunos investigadores que han irradiado plantas de interés alimenticio, principalmente frutas, raíces, bulbos y tubérculos comestibles. Pero su autor ha querido aportar también sus propias investigaciones, relatando sus experimentos al irradiar remolacha azucarera.

Ha elegido precisamente esta planta, por la gran relación que ha existido y existe entre la remolacha y los farmacéuticos, y lo mucho que estos profesionales han laborado por el abastecimiento azucarero de la humanidad.

En 1747, cuando Europa padecía gran déficit azucarero y sus técnicos llevaban siglo y medio tratando infructuosamente de obtener azúcar de los más variados productos vegetales —manzanas, uvas, peras, maíz, membrillos, moras, ciruelas, higos, nueces, castañas— un farmacéutico berlinés, A. Marggraf, descubrió la existencia de sacarina en la remolacha (SAILLARD, 1923).

Anal. Bromatol. XXV-2 (1973) 147-168

Marggraf realizaba en su laboratorio unas operaciones que hoy parecen sencillas, pero que en aquel entonces debían resultar complicadas (MCGINNIS, 1951). Troceaba, desecaba y pulverizaba la remolacha. El polvo obtenido lo sometía a la acción del alcohol hirviendo, separándolo luego por filtración. En la porción líquida, al evaporar el disolvente observaba la formación de unos cristales idénticos en todas sus propiedades con los del azúcar de caña.

Su discípulo F. K. Achard perfeccionó los métodos de su maestro, sembró campos de remolacha y fundó en Cütern (Silesia), con ayuda del rey de Prusia Federico Guillermo III, la primera fábrica de azúcar de remolacha que funcionó en el mundo (MANYAS, 1969). Una reproducción de esta fábrica, a escala reducida, se encuentra en el Instituto Azucarero de Berlín.

Pronto el cultivo de la nueva planta azucarera, y la erección de fábricas, se fue extendiendo por los diversos países europeos y, posteriormente, por otros continentes. Actualmente se producen 31 millones de toneladas de azúcar de remolacha anuales, con lo que se cubre casi la mitad del consumo azucarero mundial (LICHT, 1970).

En España puede considerarse como el ensayo fundamental del cultivo de la remolacha, base del establecimiento definitivo de la industria azucarera, el llevado a cabo en la Vega de Granada en el año 1878 por el farmacéutico D. Juan López Rubio (LOMA, 1933), quien cuatro años más tarde fundó la primera fábrica llamada de "San Juan" (SAILLARD, 1923). Desde entonces hasta el momento actual la colaboración de los farmacéuticos españoles en la producción e industrialización de la remolacha ha sido muy notable, tanto estudiando métodos de cultivo y enfermedades de la planta como ocupando puestos técnicos y directivos en fábricas azucareras. Actualmente dedicamos en nuestro país 180.000 hectáreas al cultivo de la remolacha (LICHT, 1969).

Otra de las razones de ocuparnos de la irradiación de esta planta es que se trata de un tema prácticamente inédito, a pesar de la fabulosa importancia económica y social que tendría poder alargar su tiempo de conservación y, con ello, los períodos de industrialización. Sin embargo, sólo se han realizado hasta la fecha ligeras tentativas en este sentido por alguna firma comercial o por la Universidad de Guelph (Canadá) (O.E.C.D., 1967 y 1968), en Israel (FOA y col., 1966) y en Rumanía (STATICESCU y col. 1965).

Vamos, pues, a relatar nuestros experimentos y a discutir los resultados, comparándolos con los obtenidos por algunos investigadores que abordaron temas parecidos.

Anal. Bromatol. XXV-2 (1973) 147-168

2. MATERIAL.

La remolacha empleada pertenece a la variedad *Cesena* y procede de los regadíos de Epila (Zaragoza). Se arrancó y limpió a mano, de forma análoga a como se hace cuando se entrega en las fábricas.

3. METODOS.

3.1. DISTRIBUCION EN LOTES.

De las remolachas arrancadas se eligieron las de tamaño medio, desechando las mayores y también las pequeñas.

A continuación se introducen en 14 cajas de cartón de 40×34×26 centímetros, de forma que cada caja contenga el mismo número de remolachas. Por sorteo se distribuyen las cajas en 7 lotes que se numeran del 1 al 7; cada lote contendrá, por lo tanto, 2 cajas.

Inmediatamente se procede a pesar las remolachas de cada lote y a calcular el peso medio, que es así:

Lote	Peso por remolacha (g.)
1	950
2	904
3	893
4	957
5	1.002
6	1.095
7	923

A continuación se vuelven las remolachas a sus cajas correspondientes, que una vez cerradas se envían a la instalación de irradiación gamma que el Instituto Nacional de Investigaciones Agronómicas posee en su finca "El Encin" (Alcalá de Henares), donde al día siguiente, 18 de agosto, se verificaría la irradiación.

3.2. IRRADIACION DE LA REMOLACHA

El lote n.º 1 no sufrió irradiación alguna y servirá, por tanto, como testigo, aunque efectuó el viaje como los demás para que soportase igual que ellos los efectos del transporte.

Los restantes lotes del 2 al 7 se sometieron respectivamente a las dosis siguientes:

Lote	Dosis recibida
2	7.500 rad.
3	15.000 "
4	30.000 "
5	60.000 "
6	120.000 "
7	240.000 "

La fuente de radiaciones es el Cesio - 137

3.3. PERMANENCIA A TEMPERATURAS CONTROLADAS.

Todas las remolachas, tanto las irradiadas como el lote testigo, vuelven a su lugar de origen (Epila) donde se procede a abrir las cajas y realizar una inspección ocular de su contenido, así como una prueba de la textura de las remolachas de cada uno de los lotes.

También se toman muestras de cada uno de ellos para realizar las determinaciones analíticas que se indican más adelante.

Inmediatamente se coloca la mitad de las remolachas restantes de cada lote en una cámara a 7,5° C. y la otra mitad en otra cámara a 21,2° C. Diariamente se inspeccionan todas las remolachas fijándose especialmente en las posibles variaciones de su textura, su brotación y el ataque de microorganismos. Este trabajo recoge las observaciones verificadas durante los 60 días siguientes a la irradiación, esto es, hasta el 18 de octubre.

3.4. DETERMINACIONES ANALITICAS.

3.4.1. *Sacarosa.*

Algunas remolachas de cada lote se trituran finamente. De la coseta obtenida se pesan 26 gramos que se extraen con agua, y previa defecación con subacetato de plomo se lleva la solución a un polarímetro Schmidt-Haensch. Efectuada en él la lectura se calcula el porcentaje de sacarosa en la remolacha con ayuda de las tablas.

3.4.2. *Cromatografía.*

Para estudiar el efecto que las radiaciones hayan podido ejercer sobre algunos componentes de la remolacha se han efectuado algunas determinaciones cromatográficas.

Se partió del jugo obtenido por presión de la remolacha recién irradiada, que se aplicó con micropipeta en un punto próximo a la base de unas tiras de papel Whatman n.º 1 de 38 cm. de longitud y 7 cm. de anchura. De cada lote de remolacha se prepararon varias tiras.

Las tiras de papel, con su muestra correspondiente, se introdujeron en cabinas de vidrio de 45 cm. de altura y 18×18 cm. de base, que contienen en su fondo el disolvente elegido: butanol-acético-agua (40:10:50). Se empleó en todos los casos cromatografía monodimensional ascendente y la temperatura fue de 22° C. El tiempo invertido por el disolvente en llegar a la parte superior de las tiras fue de unas 24 horas. Terminada esta operación se eliminó el resto del disolvente por secado de las tiras a la temperatura ambiente y a continuación se les roció a unas con distintas soluciones que a otras, según las sustancias que interesase revelar.

Dos grupos de sustancias hemos tratado de poner de manifiesto: las sustancias nitrogenadas y los hidratos de carbono. Para el revelado de las primeras se ha empleado la ninhidrina, según la técnica descrita por CATALÁN y RODRÍGUEZ (1957). Para poner de manifiesto los segundos se han seguido las indicaciones de PARTRIDGE (1950) empleando dos soluciones distintas: el acetato de anilina para revelar las aldosas y ácidos urónicos y el naftoresorcinol-ácido tricloroacético para las cetosas. Únicamente hemos variado la técnica de PARTRIDGE en lo que respecta a la temperatura, ya que en lugar de hacer el revelado a 105-110° C. lo hemos efectuado a 85° C., consiguiendo de esta forma que no se colorea el papel y con ello una mejor detección de las sustancias separadas.

4. RESULTADOS Y DISCUSION.

Las radiaciones ionizantes ejercen sobre las plantas acciones muy variadas que pueden ser distintas de una planta a otra e incluso de un órgano a otro de la misma planta.

Estas acciones pueden manifestarse tanto si las radiaciones actúan sobre la semilla (MILLERS, 1963 y 1967; SYAKUDO y UJIHARA, 1959; VLASYUK, 1959; VLASYUK y col. 1964 y 1964 a); sobre las plantas en distintos estados de crecimiento, proceda la radiación de un emisor externo a la planta (O.E.C.D. 1966; SEMJAKIN, 1958; ZHUNUSOV, 1964, 1966 y 1968) o penetre en su organismo por encontrarse entre los elementos del suelo (KEDROV-ZIKHMAN, 1961; PESEK, 1966); o sobre las plantas adultas y aun sobre ciertas partes de ellas dispuestas para el consumo o para el proceso industrial (BOYLE y col., 1957; GLEGG y col. 1956; KERTESZ, 1964; MATHUR, 1962 y 1962 a; PIJANOWSKI, 1962; SKOU, 1963).

Exponiendo semillas de remolacha a pequeñas dosis de radiación beta o gamma y sembrándolas luego se aumenta el rendimiento y el contenido en azúcar de la raíz (KAINDL y ROSNER, 1965), especialmente si se les suministra nitrógeno en forma de nitrato (MILLERS, 1963). La actividad de ciertas enzimas de la planta aumenta con el radical NO_3^- y disminuye con el NH_4^+ , por lo que el rendimiento es mayor con los fertilizantes nítricos que con los amónicos.

Cuando las dosis aplicadas a la semilla están comprendidas entre 500 y varios miles de radiaciones, se observa que las remolachas obtenidas de esta semilla poseen los núcleos de las células de ciertos tejidos, de distinto tamaño de los procedentes de semilla no irradiada (VLASYUK y SIL'CHENKO, 1964). También ocurren en estos tejidos distintos cambios en los procesos bioquímicos relacionados con la síntesis de proteínas, provocados por la acción de las radiaciones sobre la semilla que luego originará la planta (VLASYUK y col., 1964 a). Con una dosis de 2.000 radiaciones aumenta el rendimiento y el contenido sacarino de la raíz (MILLERS, 1967) obteniéndose hasta 500 Kg. más de azúcar por hectárea.

Si la dosis a que se somete la semilla es superior a 70.000 radiaciones, mueren generalmente las plantas durante el proceso de desarrollo (KELEBERDA, 1965), aunque la facultad germinativa de la semilla apenas viene disminuida incluso con 300.000 radiaciones (SYAKUDO y UJIHARA, 1959). Se observan diferencias entre la radiosensibilidad de las remolachas diploides y tetraploides (KUZDOWICZ, 1965 y 1966) irradiándolas durante la meiosis.

Los efectos de las radiaciones sobre las plantas varían según el

isótopo de que proceden cuando éste se encuentra mezclado con el suelo donde aquellas crecen. El Ca-45 aumenta la actividad fotosintética de la remolacha en un 40 por 100 y del trigo en un 11-14 por 100 (VLASYUK, 1959).

Cuando este mismo isótopo se usa en dosis bajas mezclado con el suelo en el que se siembra remolacha, la fotosíntesis de las plantas nacidas aumenta en un 18-29 por 100, mientras que al llegar a cierta dosis el efecto es depresivo. Tratando la semilla de remolacha con Zn-65, la actividad fotosintética de las plantas tiende a aumentar un 10 por 100 (VLASYUK, 1959). Las remolachas que crecen en un suelo que contiene P-32 aumentan su actividad fotosintética solamente en el caso de adición de S-35. En cambio, si se añade al suelo Co-60, la velocidad de la síntesis de sacarosa en las hojas de remolacha se reduce a la mitad (KEDROV-ZIKHMAN, 1961).

PESEK (1966) da cuenta de una enfermedad fisiológica recientemente descubierta en la remolacha de una comarca de Checoslovaquia, en localidades situadas en el curso de corrientes fluviales que en la edad media recogían las aguas de lavado de las minas que se explotaban en las montañas vecinas. La enfermedad parece ser debida a la existencia en el suelo de diversos elementos radiactivos naturales, y se caracteriza por producir en la planta ciertas desorganizaciones protoplasmáticas, necrosis, pérdida de hojas y anormal absorción de ciertos elementos nutritivos. Como consecuencia, el rendimiento cuantitativo de la remolacha enferma desciende al 49 por 100 y el rendimiento en azúcar al 37,7 por 100.

Muy importante es la acción que ejercen las radiaciones sobre las plantas en sus diferentes estados de crecimiento. Irradiando distintas plantas con 400 radiaciones de rayos gamma se observa que la irradiación no afecta a la planta como conjunto, pero interacciona el proceso que es activo en el momento de efectuarla (ZHUNUSOV, 1964, 1966 y 1968). Así, irradiando con esa dosis ciertos cereales en el período anterior a la floración, que es cuando la proteína se está formando, se produce un aumento de proteína en los granos; similarmente, la irradiación de patatas durante el tiempo de formación del tubérculo, produce en él un aumento del almidón. También se puede aumentar el contenido en proteína en las leguminosas o el de azúcar en la remolacha azucarera, irradiando estas plantas en determinados momentos de su desarrollo.

Escogiendo, por lo tanto, el tiempo adecuado de exposición a la radiación gamma, no sólo se puede inducir mutaciones en ciertas plantas sino también acelerar sus procesos bioquímicos.

Sin embargo, es necesario controlar con exactitud la dosis aplicada, ya que pasado cierto límite su efecto puede ser contraproducente. Así, aplicando dosis de 1.000 radiaciones o ligeramente superiores a re-

molachas madres se observa que la planta tarda un 29 por 100 más de tiempo en llegar a su completo desarrollo, y a la vez se ve más invadida por microorganismos (SEMJAKIN, 1958), ya que esta dosis estimula su propagación.

De gran importancia es también la acción de las radiaciones sobre ciertas partes de plantas (frutos, tubérculos, bulbos, raíces) con objeto de prolongar su conservación.

En algunos de estos productos, para conservarlos durante cierto tiempo, hay que evitar su brotación, ya que de producirse ésta se producen pérdidas considerables de sustancias nutritivas y también pérdida de textura de los tejidos. También hay que evitar el desarrollo exagerado de microorganismos, que pueden igualmente producir los dos tipos de pérdidas antes expuestos.

Para inhibir la brotación de tubérculos, bulbos y raíces, pueden emplearse las radiaciones ionizantes, ya que su acción sobre los tejidos causantes de la reproducción es particularmente intensa incluso con dosis moderadas. Por esto la conservación de patata, cebolla y zanahoria ha sido ampliamente estudiada en numerosos países.

En el Instituto de Biquímica de la Universidad de Estocolmo han observado que las dosis muy bajas (10 a 200 radiaciones) ejercen un efecto estimulante sobre la brotación de la patata (O.E.C.D. 1966), consiguiéndose después de este tratamiento un rápido desarrollo de los brotes y una mayor producción de tubérculos. En cambio con 10.000-15.000 radiaciones se produce una inhibición de los brotes, pudiendo conservar los tubérculos aptos para el consumo humano durante un año y durante dos años para el consumo animal.

Con idénticas dosis han irradiado en Dinamarca patatas con destino al consumo en Groenlandia, en lugar de las patatas tratadas con inhibidores químicos, con resultados muy favorables, pues mientras al final de la experiencia casi el 100 por 100 de las patatas sometidas al tratamiento químico habían brotado, sólo lo habían hecho el 1 por 100 o menos de las irradiadas.

En Polonia, en la India y en Israel también se ha conseguido conservar por irradiación patatas, cebollas y tomates. Las dosis empleadas varían entre 5.000 y 15.000 radiaciones (FOA y col., 1966) y en algunos casos incluso son inferiores, siendo las más corrientes para la patata y cebolla 6.000 radiaciones (MATHUR, 1962) y para el tomate 8.000 radiaciones, conservando este último 35 días a temperaturas comprendidas entre 19 y 33° C. La dosis depende también de la variedad de patata o cebolla, existiendo algunas que requieren 12.000 radiaciones, mientras otras se conservan durante ocho meses con 5.000 radiaciones solamente (MATHUR, 1962 a; PIJANOWSKI, 1962), e incluso se realizan experimentos con 2.000 radiaciones. Algunos países lanzan ya al mercado la patata irradiada.

Pero la irradiación de estos productos vegetales lleva consigo, además del problema de inhibir la brotación, otros no menos importantes como son el de la textura del producto conservado, las transformaciones químicas que sufre o la pérdida de elementos nutritivos. Todos ellos los hemos estudiado en la remolacha.

4.1. BROTAION.

En nuestros experimentos, ninguna de las remolachas que han permanecido dos meses a 7,5° C. ha presentado síntoma alguno de brotación, estuviesen o no irradiadas. Lástima que sea imposible mantener en frigorífico las enormes cantidades de remolacha que se acumulan en las fábricas.

Sin embargo, en el lote testigo mantenido a 21,2° C. comenzó a los ocho días de la irradiación la emisión de brotes en algunas remolachas. Cuatro días más tarde estaban completamente brotadas el 50 por 100 de ellas. Por el contrario, en todo el tiempo que duró la experiencia no brotó ni una sola de las remolachas irradiadas mantenidas a esa temperatura.

La dosis de 15.000 e incluso la de 7.500 radiaciones han demostrado en este experimento ser suficientes para evitar la brotación, por lo que no parece práctico ni necesario emplear dosis mayores. Sin embargo, STATITESCU y col. (1965) no consiguieron una inhibición completa con dosis varias de hasta 12.000 radiaciones.

4.2. TEXTURA.

Uno de los efectos más característicos de la irradiación consiste en rebajar la firmeza de los tejidos, haciéndolos más permeables al agua, a ciertas sustancias nutritivas y lo que es peor, a la invasión de microorganismos.

Este fenómeno ha sido ampliamente estudiado por SKOU (1963) en zanahorias, y por BOYLE y col. (1957), GLEGG y col. (1956), KERTESZ (1964) y KERTESZ y col. (1956) en zanahorias, remolacha y manzanas, encontrando estos últimos investigadores que el reblandecimiento de estos productos aumentaba proporcionalmente al logaritmo de la dosis recibida.

Según GLEGG y col. (1956) y KERTESZ (1964) la remolacha comenzaba a reblandecerse cuando la dosis alcanzaba las 300.000 radiaciones.

En nuestros experimentos no se alcanzó esa dosis, puesto que la mayor empleada fue de 240.000 y correspondió al lote n.º 7. A pesar de ello, las remolachas de este lote resultaron fuertemente afectadas

en su firmeza por la irradiación, ya que inmediatamente después de efectuarla se observa que se han reblandecido considerablemente. Al partir algunas de estas remolachas sus tejidos internos aparecen blandos y esponjosos.

En los restantes lotes el reblandecimiento era mucho menor que en el n.º 7, pero en todos ellos lo hubo incluso en el n.º 2 que sólo había recibido 7.500 radiaciones. Lo que puede asegurarse es que este reblandecimiento no es proporcional a la dosis recibida ya que apenas existe diferencia entre el reblandecimiento sufrido por dos lotes dados, aunque uno de ellos haya recibido una dosis cuatro u ocho veces mayor que el otro.

Sin embargo, con el paso del tiempo las remolachas irradiadas se van endureciendo. Al cabo de cuarenta días las del lote n.º 2, que sólo recibieron 7.500 radiaciones, tienen una dureza similar a las del lote testigo, aumentando ligeramente la dureza en los lotes siguientes, pero haciéndose más pronunciada en los dos que recibieron mayores dosis. Esto es lo que ocurre tanto en las conservadas a 7,5° C. como a 21,2° C., aunque en las primeras la dureza es siempre mayor en cada lote que en su correspondiente de las segundas. Un reblandecimiento y posterior endurecimiento al obtenido por nosotros ha sido observado por MERCIER y MAC QUEEN (1966) en algunas frutas irradiadas.

¿Cuál puede ser el fenómeno causante de este endurecimiento? El reblandecimiento producido durante la irradiación se atribuye a una transformación de las sustancias pécticas que forman las paredes celulares de los tejidos vegetales (KERTESZ y col., 1956). El endurecimiento posterior puede quizá ser debido a una reacción entre las pectinas solubles formadas durante la irradiación y los compuestos cálcicos presentes en la remolacha, pues como ha demostrado SKOU (1963) la presencia de iones calcio en la zanahoria irradiada aumenta la rigidez de sus tejidos.

4.3. ATAQUE MICROBIANO.

Al arrancar la remolacha, su raíz conserva en su parte externa millones de microorganismos procedentes del suelo. La cantidad de gérmenes es mucho menor en la epidermis sana que en las partes contusionadas. Experimentalmente se ha demostrado (WEMAN, 1956 y 1957) que después del lavado la remolacha herida conserva en su superficie una cantidad de microorganismos de 3 a 7 veces superior a la de la remolacha no herida.

Al mecanizar la recolección de la raíz aumentan las heridas que esta sufre y, por lo tanto, las pérdidas de azúcar debido a la infección microbiana. Muchos de estos microorganismos son termofílicos y pue-

den resistir la temperatura del proceso de difusión causando durante él distintos disturbios (reducción del pH, producción de gas) y también en las operaciones posteriores.

La infección va aumentando conforme pasa el tiempo después de la recolección. A mayor número de microbios mayor consumo de azúcar por parte de ellos y, por tanto, menor valor tendrá la remolacha que vamos a industrializar.

Por otra parte, las radiaciones ionizantes pueden alterar, en un sentido o en otro, esa especie de lucha entablada entre los sistemas defensivos de la raíz y los microorganismos que sobre ella crecen.

Así lo hemos observado en nuestro trabajo, ya que en las remolachas conservadas a 21,2° C. se observó a los nueve días de irradiadas principios de ataque microbiano en las heridas de las remolachas que habían recibido 240.000 radiaciones; a los doce días en las de 120.000 radiaciones; a los dieciséis días en las que recibieron 60.000 radiaciones y a los veinte días las que recibieron 30.000 radiaciones. Al día siguiente (o sea a los veintiún días) apareció en el lote testigo, pero en esta fecha la infección era ya muy intensa en los tres lotes que habían recibido las tres dosis más altas (los 5, 6 y 7). En cambio, los lotes 2 y 3, irradiados respectivamente con 7.500 y 15.000 radiaciones, no presentaron durante los dos meses que ha durado la experiencia síntoma alguno de infección microbiana.

Veintiún días más tarde, esto es a los cuarenta y dos de la irradiación, la infección era así: poco intensa en el testigo y sensiblemente igual en el lote 4; algo más en el 5; muy fuerte en los 6 y 7 y nula en los 2 y 3. Así continuaron el resto de la experiencia.

En las remolachas conservadas a 7,5° C. el comienzo del ataque microbiano se retrasa más que a 21,2° C. Así, hasta los veintiún días no aparecen síntomas en los lotes 6 y 7; a los veintisiete y treinta días en los 5 y 4 respectivamente y a los treinta y ocho en el testigo. Luego continúan de manera similar a como lo hacen a la otra temperatura. También en este caso las remolachas que han recibido mayores dosis han sido más fuertemente atacadas.

Las dosis de 7.500 y 15.000 radiaciones parecen estimular las defensas de la raíz frente al ataque microbiano ya que este es en ambos casos menor que en el testigo. Es muy posible que a esas dosis el efecto nocivo de la radiación sobre la flora microbiana que vive en la superficie de la raíz sea mínimo, pero como no hay crecimiento microbiano nos inclinamos a creer que ello se debe a que esas dosis estimulan el mecanismo curativo de las numerosas heridas que la raíz ha sufrido.

A 30.000 radiaciones el efecto de la radiación sobre los microorga-

nismos y sobre la planta debe ser parecido, ya que la infección se mantiene igual que en las remolachas no irradiadas. La dosis de 60.000 radiaciones afecta con mayor intensidad a la planta y por ello la infección es mayor.

No cabe duda de que la dosis de 120.000 y, sobre todo, la de 240.000 radiaciones, eliminan y debilitan buen número de las especies microbianas que viven sobre la raíz aunque no afecten a los mohos, que resisten perfectamente dosis mucho más altas. Estos microorganismos salen prácticamente intactos de la irradiación, y al encontrarse con que ésta ha destruido las defensas de la planta y buena parte de la flora competitiva se desarrollan rápida y abundantemente, y por ello las remolachas sometidas a esas dosis aparecen fuertemente mohosas.

4.4. TRANSFORMACION DE PRINCIPIOS INMEDIATOS.

Las radiaciones ionizantes producen a ciertas dosis transformación de los principios inmediatos contenidos en los tejidos vegetales o animales.

Estas transformaciones alcanzan a los hidratos de carbono a las proteínas, grasas, vitaminas, materias colorantes, etc.

Irradiando soluciones de glucosa (PHILLIPS y MOODY, 1959) o lactosa (ADACHI, 1962), cada una de estas sustancias se transforma en ocho o diez compuestos distintos. Una dosis de 6.000 radiaciones es suficiente para transformar el ácido ascórbico de la patata en dehidroascórbico y para producir acumulación de azúcares y destrucción del sulfuro de alilo en la cebolla (MATHUR, 1962).

En las proteínas se producen profundas transformaciones físicas y biológicas (SCHWEIGERT, 1959). Dosis inferiores a 100.000 radiaciones producen oxidación de las grasas y destrucción de los carotenos (COLEBY, 1959).

Algunos enzimas de la patata disminuyen su acción con dosis inferiores a 10.000 radiaciones (PIJANOWSKI, 1962). Ciertas materias colorantes (antocianos, carotenos, flavonoides) que dan a las frutas y hortalizas sus colores característicos se alteran cuando estos productos reciben dosis superiores a 100.000 radiaciones (SARAVACOS y MARCHIS, 1963; ZEEUW, 1963).

Toda la remolacha irradiada por nosotros presentaba en su superficie un color bastante más oscuro que antes de la irradiación. La transformación era más intensa en los lotes que recibieron las dosis más altas.

También hemos podido observar, con ayuda de la cromatografía,

ciertas alteraciones de las sustancias nitrogenadas y de los hidratos de carbono.

La figura 1 muestra tres cromatogramas en los que se ha empleado como disolvente butanol-acético-agua (40:10:50) y como revelador ninhidrina. De esta forma hemos conseguido separar de la remolacha testigo siete sustancias nitrogenadas (I) cuyos valores Rf aparecen en la figura. En este cromatograma los productos b), c), f) y g) coinciden en sus valores Rf con los obtenidos para la cistina, ácido glutámico, treonina, alanina, metionina y leucinas (CATALÁN y RODRÍGUEZ, 1957) operando en análogas condiciones.

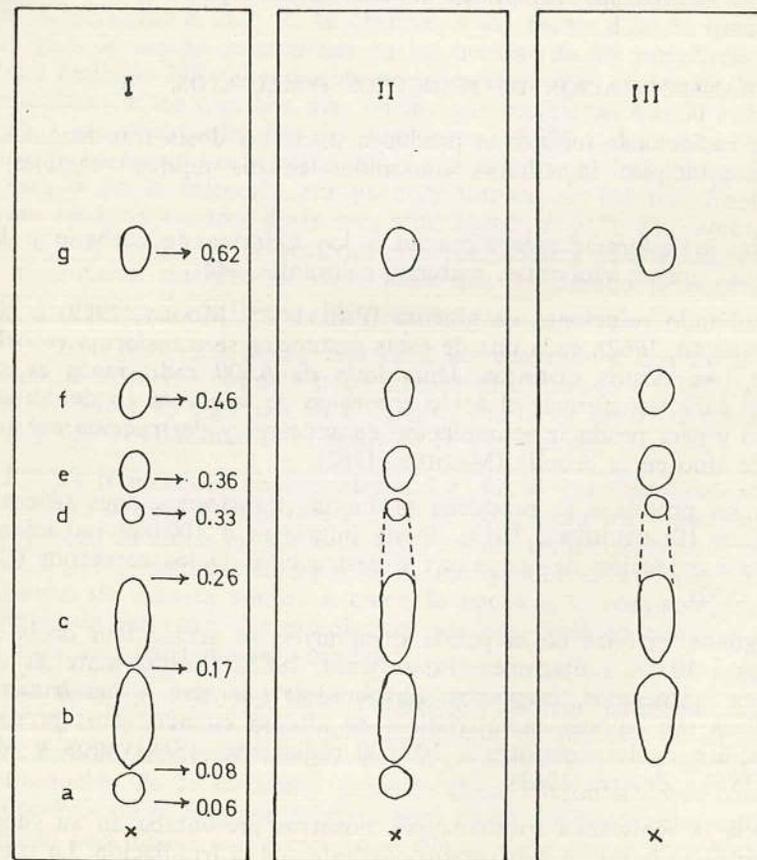


Fig. 1. Cromatografía de sustancias nitrogenadas: I. Remolacha testigo II. Remolacha con 120 Krad - III. Remolacha irradiada con 240 Krad

En las remolachas irradiadas a 7.500, 15.000, 30.000 y 60.000 radiaciones aparecen las siete sustancias exactamente igual que en las testigo.

Cuando han recibido 120.000 radiaciones se observa en el cromatograma correspondiente (II) que comienza la aparición de una nueva sustancia (entre las e) y d), que en la figura va indicada por una línea de puntos; a la vez principia a debilitarse la sustancia a). Este

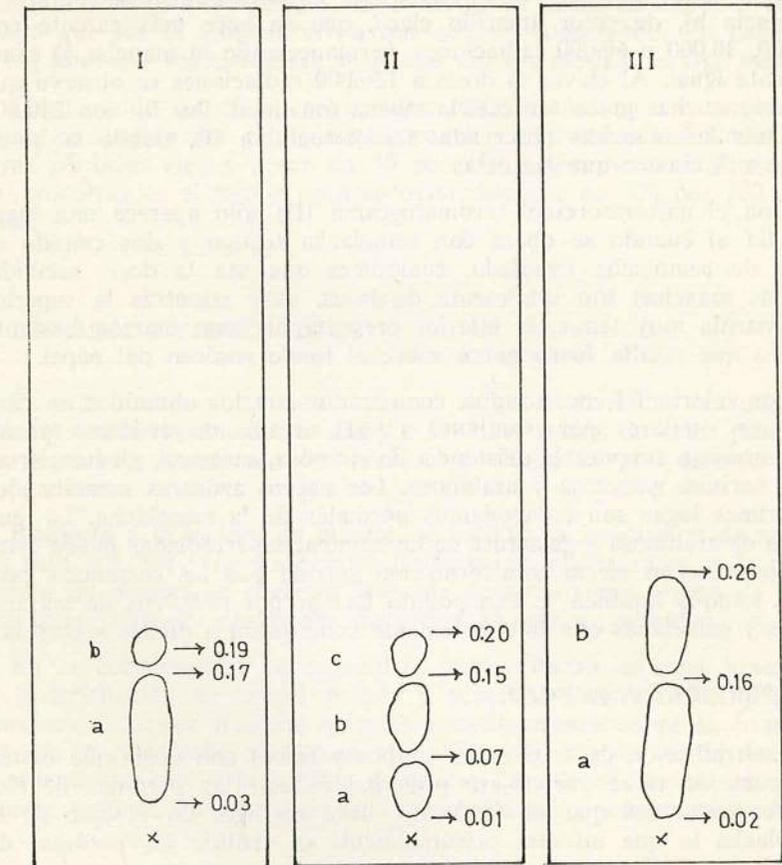


Fig. 2. Cromatografía de hidratos de carbono: I y II. Revelador acetato de anilina - III. Revelador naftoresorcina-tricloroacético - I. Manchas correspondientes a irradiaciones de 7,5 a 120 Krad La intensidad y tono de color varía con la dosis - II. Dosis de 240 Krad - III. Manchas a cualquier dosis de radiación, reveladas con naftoresorcina

fenómeno se hace más ostensible con 240.000 radiaciones, en el que la a) ha desaparecido por completo (III).

Las alteraciones sufridas por los hidratos de carbono pueden observarse en la figura 2. En los cromatogramas I y II se empleó como revelador acetato de anilina y en el III naftoresorcinol-ácido tricloroacético.

Con el primero de estos reactivos sólo se obtiene a partir de las remolachas no irradiadas la mancha a) del cromatograma I, que es de color marrón. Con 7.500 radiaciones comienza la aparición de la sustancia b), de color amarillo claro, que se hace más patente con 15.000, 30.000 y 60.000 radiaciones, permaneciendo la mancha a) exactamente igual. Al elevar la dosis a 120.000 radiaciones se observa que ambas manchas presentan casi la misma tonalidad. Por fin con 240.000 son tres las manchas observadas (cromatograma II), siendo la b) de color más oscuro que las otras.

Con el naftoresorcinol (cromatograma III) sólo aparece una mancha (la a) cuando se opera con remolacha testigo y dos cuando se trata de remolacha irradiada, cualquiera que sea la dosis recibida. Ambas manchas son totalmente distintas, pues mientras la superior es amarilla muy tenue, la inferior presenta un tono marrón bastante oscuro que resalta fuertemente sobre el fondo rosáceo del papel.

Los valores Rf encontrados, comparados con los obtenidos en condiciones similares por TABUENCA (1961), irradiando azúcares puros, nos permiten suponer la existencia de rafinosa, sacarosa, glucosa, fructosa, sorbosa galactosa y arabinosa. Los cuatro azúcares mencionados en primer lugar son componentes normales de la remolacha. La aparición de arabinosa y galactosa en las remolachas irradiadas puede estar relacionada con cierta transformación sufrida por las sustancias pécticas, aunque también se han podido formar por radiolisis de las arabinas y galactanas que frecuentemente acompañan a dichas sustancias.

4.5. PERDIDA DE AZUCAR.

La irradiación de tubérculos, bulbos y raíces con dosis que eviten su brotación tiene por objeto principal reducir las pérdidas de elementos nutritivos que tal fenómeno lleva consigo. En el caso de la remolacha lo que interesa principalmente es reducir las pérdidas de azúcar.

En el lote testigo conservado a 21,2° C., donde se ha observado un elevado porcentaje de brotación, la pérdida de azúcar se eleva a los dos meses al 61,3 por 100 de la que contenía al principio. En cambio, esas mismas remolachas escasamente pierden la tercera parte de esa cantidad cuando se conservan a 7,5° C.

A esta última temperatura todas las remolachas irradiadas han perdido más azúcar que las no irradiadas, incluso las que han recibido 7.500 radiaciones que son las que más se acercan a las testigo. En todos los demás lotes la pérdida es mucho mayor.

En las conservadas a 21,2° C., las que recibieron 7.500 y 15.000 radiaciones experimentan unas pérdidas muy inferiores a las testigo, en lo que coincidimos en STĂTICESCU (1965), y algo mayores a éstas todos los demás lotes. Pero las pérdidas no aumentan en forma proporcional al aumentar las dosis, sufriendo las mayores las que se irradiaron a 30.000 y 60.000 radiaciones. Este hecho ha ocurrido siempre cualquiera que sea la temperatura a que se han conservado. En cambio, en los lotes que recibieron las dosis más altas la pérdida es algo menor.

Comparando las pérdidas que sufre cada lote a una u otra temperatura se observa una relación muy constante en todos los irradiados, cuyas pérdidas vienen a ser un 30 por 100 superiores a 21,2° que a 7,5°, mientras en el testigo eran aproximadamente un 300 por 100 mayores.

5. RESUMEN Y CONCLUSIONES.

En este trabajo se comentan algunas aplicaciones de las radiaciones ionizantes a la mejora de plantas y a la conservación de estos productos vegetales, discutiendo los resultados obtenidos por diversos investigadores.

Respecto a la mejora de plantas, se estudia la irradiación de semillas para que den origen a plantas de mayores rendimientos, o la irradiación de plantas en diversas fases de desarrollo con objeto de que produzcan mayores cantidades de proteínas, azúcar, almidón, etc.

En la conservación de alimentos, hemos hecho especial hincapié en la irradiación de raíces, bulbos y tubérculos comestibles, y presentamos a la vez nuestras propias investigaciones sobre la irradiación de la remolacha azucarera con objeto de impedir su brotación, su enmohecimiento y la pérdida de azúcar durante el tiempo que permanece ensilada en espera de su industrialización, pudiéndose prolongar el período de trabajo en las fábricas.

Nuestras investigaciones consistieron en irradiar seis lotes de remolacha a otras tantas dosis diferentes comprendidas entre 7.500 y 240.000 radiaciones de rayos gamma del Cs-137, otro lote igual se dejó sin irradiar y sirvió de testigo. La mitad de las remolachas de los siete lotes permaneció durante los dos meses que duró la experiencia a 21° C., temperatura normal de la raíz ensilada en las fábricas. Pero

para estudiar la posible influencia de la temperatura se guardó la otra mitad de la remolacha a 7,5° C. Durante todo el tiempo que duró la experiencia se observó la textura y el crecimiento microbiano en las raíces, así como el color y las pérdidas de azúcar. También se han realizado unas determinaciones cromatográficas de las sustancias nitrogenadas e hidratos de carbono.

Nuestras conclusiones son las siguientes:

1.^a Las radiaciones ionizantes tienen un amplio campo de aplicación en el reino vegetal, para aumentar la producción de alimentos y también para conservarlos.

2.^a Los problemas que plantea la conservación de raíces, bulbos y tubérculos comestibles —brotación, textura, pérdida de elementos nutritivos, infección microbiana— son análogos a los que plantea la conservación de la remolacha para alargar su industrialización.

3.^a Las radiaciones ionizantes, incluso a la dosis más baja entre las empleadas, impiden la brotación de la "raíz".

4.^a El color de la remolacha se oscurece al irradiarla, principalmente cuando se van elevando las dosis, pero este fenómeno no afecta a su valor industrial.

5.^a La raíz se reblandece al irradiarla, sobre todo con dosis altas; pero al cabo de pocos días ocurre lo contrario llegando a alcanzar una dureza superior a la normal.

6.^a Las dosis bajas —7.500 y 15.000 radiaciones— conservan las remolachas libres de infección microbiana y con pérdidas de azúcar muy inferiores a las testigo, mientras que ambas cosas son superiores cuando usamos dosis altas.

7.^a Sobre estas dosis bajas creemos deben basarse futuras investigaciones sobre este tema, pues consideramos que las de 30.000 radiaciones o superiores no tienen porvenir alguno.

8.^a Las sustancias nitrogenadas contenidas en la remolacha sólo son afectadas por las dosis más altas empleadas, mientras que a los hidratos de carbono les afectan ya las bajas.

BIBLIOGRAFIA

- ADACHI, S. (1962): Effect of gamma radiation on lactose. II. Isolation and identification of monosaccharides and their derivatives formed in irradiated lactose solution. *J. Dairy Sci.*, 45, 1427-34.
- BOYLE, F. P.; KERTESZ, Z. I.; GLEGG, R. E.; CONNOR, M. A. (1957): Effects of ionizing radiations on plant tissues. II.—Softening of different varieties of apples and carrots by gamma rays. *Food Research*, 22, 89-95.
- CATALÁN, M. (1964 a): Conservación de alimentos por radiaciones ionizantes. Sus diversos aspectos. *Anal. Bromatol.*, 16, 1-45.
- CATALÁN, M. (1964 b): Irradiación de Frutas y Hortalizas. Centro Técnico de Expansión Hortofrutícola de la Cuenca del Ebro (hoy Centro de Desarrollo Agrario del Ebro) Zaragoza.
- CATALÁN, M.; RODRÍGUEZ, M. P. (1957): La reacción Maillard en los zumos de frutas. *Anal. Bromatol.*, 9, 161-178.
- COLEBY, B. (1959): Chemical changes produced in lipids by irradiation. *Int. Jour. App. Rad. and Isotopes*, 6, 71.
- FOA, E.; LAPIDOT, M.; KAHAN, R. S. (1966): The food irradiation programme in Israel. *Food Irradiation*, 6, 3, A-33.
- GLEGG, R. E.; BOYLE, F. P.; TUTTLE, L. W.; WILSON, D. E.; KERTESZ, Z. I. (1956): Effects of ionizing radiations on plant tissues. I.—Quantitative measurements of the softening of apples, beets and carrots. *Rad. Research*, 5, 127-233.
- KAINDL, K.; ROSNER, M. (1965): Atomenergie in der Rübenzuckerindustrie. *Zucker*, 2, 33-36.
- KEDROV-ZIKHMAN, O. K.; AGAFONOVA, A. F.; KOZHERNIKOVA, A. N. (1967): The effect of Co-60 radiation on economic plants. *C. A.*, 55, 14786 b.
- KELEBERDA, G. G. (1965): Influence of large doses of Co-60 gamma rays on sowing quality of seeds, and growth and yield of sugar beets. *Visn. Sil'skogospodar. Nauki*, 8, 75-77.
- KERTESZ, Z. I. (1964): Effects of ionizing radiations on plant tissues. III.—Softening and changes in pectins and cellulose of apples, carrots and beets. *J. of Food Science*, 29, 40-48.
- KERTESZ, Z. I.; MORGAN, B. H.; TUTTLE, L. W.; LAVIN, M. (1956) Effects of ionizing radiation on pectin. *Rad. Research*, 5, 372-381.
- KUZDOWICZ, A. (1965): Mutacje i mozliwosci wykorzystania ich w praktyce. *Biul. Inst. Hodowl. Aklimatyz. Roslin*, N.º 1-2, 5-12.
- KUZDOWICZ, A. (1966): Der Einfluss der Röntgenbestrahlung auf die Mikros-

- porogenese bei di-und tetraploiden Zückerrüben. Tagungsber. Dtsch. Akad. Landwirtschaftsw., N.º 73, 65-68.
- LICHT, F. O. (1969): Facts about sugar. *Sugar y Azúcar*, 64, 6, 52.
- LICHT, F. O. (1970): Facts about sugar. *Sugar y Azúcar*, 65, 6, 40.
- LOMA, J. L. (1933): Cultivo de la Remolacha Azucarera. Manuel Marín y G. Campo, S. L., Editores. Madrid, 254 pp.
- MANYAS, N. (1969): Berlin's Institute for Sugar Technology. *Sugar y Azúcar*, 64, 6, 13-17.
- MATHUR, P. B. (1962): Irradiation of fruits and vegetables in India. *Food Irradiation*, 3, 1-2, A-10.
- MATHUR, P. B. (1962 a): Reversal of gamma-ray-induced dormancy of potato tubers by gibberellic acid. *Food Irradiation*, 2, 3, A-16.
- MCGINNIS, R. A. (1951): Beet Sugar Technology. Reinhold Publishing Corporation. New York, 574 pp.
- MERCIER, R. G.; MAC QUEEN, K. F. (1966): Gamma irradiation to extend post harvest life of fruits and vegetables. *Rep. Ont. Hort. Exp. Stat. Prod. Lab.* 1965, pp. 52-72.
- MILLERS, A. (1963): The effects of irradiation on plants treated with various nitrogen fertilizers. *N. S. A.*, 17, 10442.
- MILLERS, A. (1967): Gamma starojuma ietekme uz cukura saturn cukurbietes. *Latv. PSR Zinat. Akad. Vestis*, N. 10, 89-93.
- O. E. C. D. (1966): Progress of food irradiation work and programmes in O. E. C. D. member countries. *Food Irradiation*, 6, 3, A-2.
- O. E. C. D. (1967): Progress of food irradiation work and programmes in O. E. C. D. member countries. *Food Irradiation*, 7, 3, 5.
- O. E. C. D. (1968): Progress of food irradiation work. *Food Irradiation*, 8, 3, 7 and 9.
- PARTRIDGE, S. M. (1950): Partition Chromatography and its application to carbohydrate Studies. *Biochem. Soc. Symposia*, 3, 52-55.
- PIJANOWSKI, E. (1962): Draft research on food preservation by irradiation in Poland. *Food Irradiation*, 3, 1-2, A-2
- PESEK, F. (1966): Neue vereinzelt vorkommende Erkrankung der Zuckerrübe Beta vulgaris var. Saccharifera/L./Alefeld unter Einwirkung von Bodenmikroelementen und ihre vorläufigen Untersuchungen mittels dosimetrischer und radiographischer Methode. (Trabajo no publicado.)
- PHILLIPS, G. O.; MOODY, G. J. (1959): The chemical action of gamma radiation on aqueous solutions of carbohydrates. *Int. Jour. App. Rad. and Isotopes*, 6, 78.

- SAILLARD, E. (1923): La remolacha y la fabricación del Azúcar de Remolacha. Editorial P. Salvat, Barcelona. 761 pp.
- SARAVACOS, G. D.; MACRIS, B. (1963): Radiation preservation of grapes and some other greek fruits. *Food Irradiation*, 4, 1-2, A-19.
- SCHWEIGERT, B. S. (1959): The effects of radiation on proteins. *Int. Jour. App. Rad. and Isotopes*, 6, 76-78.
- SKOU, J. P. (1963): Changes in the permeability of carrot tissues due to gamma irradiation and other physical and chemical treatments. *Physiologia Plantarum*, 16, 423-441.
- STATICESCU, P.; MARSEU, P.; COSTACHE, A.; ZAMFIRESCU, M.; DIACONU, T. (1965): Cercetari privind influenta radiatiilor ionizante asupra pastrarii sfeclei de zahar. *Industria Alimentara*, 16, 11, 575-78.
- SYAKUDO, K.; UJIHARA, A. (1959): Studies on the utilization of induced mutation for sugar beet breeding. I.—Sensitivity of sugar beet to gamma rays (Co-60). *Bull. Inst. Chem. Res., Kyoto Univ.* 37, 437-439.
- TABUENCA, M. C. (1961): Influencia de la incompatibilidad sobre la composición mineral e hidrocarbonada en algunas variedades y patrones frutales. Tesis Doctoral. Facultad de Ciencias. Zaragoza.
- VLASYUK, P. A. (1959): Effects of nuclear radiation and the conditions for improvement of photosynthetic activity. Probleme Fotosinteza, Doklady 2-oi Konf.; Moscov, 553-556.
- VLASYUK, P. A.; SIL'CHENKO, V. V. (1964): The dimensions of leaf tissue nuclei after irradiation. *Dokl. Akad. Nauk. SSR*. 155-668.
- VLASYUK, P. A.; KOLOMIETS, O. D.; VITRALENKO, L. P. (1964 a): Effect of gamma-irradiation of seeds on extracts of cellular structures of sugar beet leaves. *Dopovidi Akad. Nauk, Ukr, SSR* n.º 5, 678-682.
- WEMAN, N. (1956): Bacterial infection of harvested Sugar beets. *Socker Handlingar II*, 12, 1, 1-6.
- WEMAN, N. (1957): Mikrobiologische Probleme in der Rübenzuckerindustrie *Socker Handlingar II*, 13, 1, 1-4.
- ZEEUW, D. (1963): Summary of fruit irradiation at Wageningen. *Food Irradiation*, 4, 1-2, A-29.
- ZHUNUSOV, R. S. (1964): Changes in the protein and carbohydrate content of plants upon irradiation at various stages of ontogeny *Radiobiologiya*, 4, 599-602.
- ZHUNUSOV, R. S. (1966): Vliyanie ioniziruyushchei radiatsii na sodержanie belka v semenakh zernovykh kultur vyrashchennykh na razlichnykh agrofonakh. *Izv. Akad. Nauk Kaz SSR Ser. Biol.*, 6, 25-29.

ZHUNUSOV, R. S. (1968): Changes of chemical composition in plants during irradiation at various periods of ontogenesis in relation to climatic factors. N. S. A., 22, 31281.

AGRADECIMIENTO.

El autor agradece al Dr. Ing. Industrial, Alfonso Elías de Molíns, Director de la Azucarera del Jalón, Epila (Zaragoza), y al Dr. Ing. Agrónomo, César Gómez Campo, Jefe de la Sección de Aplicación de la Energía Nuclear a la Agricultura (Instituto Nacional de Investigaciones Agronómicas), la ayuda que le han prestado en la parte experimental de este trabajo.