

**USO DE RADIAÇÃO IONIZANTE PARA ESTERILIZAR
ALIMENTOS E DETECÇÃO DE FORMAÇÃO DE
RADICAIS LIVRES POR EPR**

Ladislau Martin Neto
Hilda Rosa Rodrigues
Dinis Gomes Traghetta



Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária

Centro Nacional de Pesquisa e Desenvolvimento de Instrumentação Agropecuária

Ministério da Agricultura e do Abastecimento

Rua XV de Novembro, 1452 - Caixa Postal 741 - CEP 13560-970 - São Carlos - SP

Telefone: (016) 274 2477 - Fax: (016) 272 5958

USO DE RADIAÇÃO IONIZANTE PARA ESTERILIZAR ALIMENTOS E DETECÇÃO DE FORMAÇÃO DE RADICAIS LIVRES POR EPR

Ladislau Martin-Neto¹
Hilda Rosa Rodrigues²
Dinis Gomes Traghetta³

Introdução

A Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação (FAO) estima que 25% da produção mundial de alimentos se perde pela ação de insetos, bactérias e roedores. No caso das raízes e tubérculos, a germinação prematura condena à lata de lixo toneladas de produtos. Baseados nesses dados e nos estudos que comprovam a eficiência da irradiação no combate a esses males, 37 países já aprovaram a irradiação de 40 tipos de alimentos (englobando especiarias, grãos, carne de frango, frutas e legumes), sendo que 24 desse grupo de nações o utilizam atualmente com fins comerciais: Bélgica, França, Hungria, Japão, Países Baixos e alguns países do leste europeu estão irradiando grãos, batatas, cebolas e outros produtos em escala industrial. E outros países, dentre os quais se incluem Argentina, Bangladesh, Chile, China, Filipinas, Israel e Tailândia, iniciaram projetos-piloto de irradiação de batatas, cebolas e alhos (Giurlani, 1996).

No total, cerca de meio milhão de toneladas de produtos e ingredientes alimentícios são irradiados por ano no mundo, quantidade ainda pequena se comparada ao volume total de

¹ Físico, PhD. EMBRAPA/CNPDIA, Rua XV de Novembro, 1452, Caixa Postal 741, CEP 13560-970, São Carlos, SP.

² Eng. Química, MSc. EMBRAPA/CTAA, Av. das Américas, 29.501, CEP: 23020-070, Guaratiba, RJ.

³ Físico, Ph.D. USP/IFSC, Av. Dr. Carlos Botelho, 1.465, Caixa Postal: 369, CEP 13560-970, São Carlos, SP.

alimentos tratados por outros métodos. No processo de irradiação, o alimento nunca entra em contato direto com a fonte de radiação. E mesmo se os produtos ficarem expostos a doses muito elevadas de energia procedentes dessas fontes, o nível máximo de radioatividade induzida seria apenas de um milésimo de Becquerel (unidade de radioatividade equivalente a uma desintegração por segundo) por quilograma do alimento - valor que é 200 mil vezes menor que o nível de radioatividade natural existente nos alimentos (cerca de 150 a 200 Becquerel). As pesquisas também demonstram que os macronutrientes (proteínas, carboidratos e gorduras) permanecem estáveis quando os alimentos são submetidos à dose máxima de radiação de 10 kGray. Já os micronutrientes (especialmente as vitaminas) podem ser sensíveis a qualquer método de conservação ou tratamento, inclusive à radiação. Mas essa sensibilidade é variável e depende de vários fatores, dentro os quais se incluem a dose de radiação à qual o alimento é exposto, o tipo de alimento, sua embalagem e tempo de armazenamento.

Efetivamente, um dos pontos fortes da irradiação é justamente o fato de ela não alterar o aspecto físico, sabor ou valor nutritivo dos produtos.

Apesar desses benefícios para os alimentos submetidos, a radiação ionizante geralmente vem acompanhada da formação dos chamados radicais livres (Schreiber et al, 1993; Ikeya et al, 1989). Esses radicais livres por definição são espécies químicas que contêm número ímpar de elétrons e podem estar carregados positivamente, negativamente ou neutros, e geralmente são extremamente reativos e têm sido associados aos processos de envelhecimento e até geração de processos cancerígenos (Elias, 1989). Portanto, o monitoramento da formação de radicais livres nas partes de alimentos que serão ingeridos pelo homem é um fator importante no uso de radiação ionizante. Por sua vez, em partes sólidas não-comestíveis, como ossos de aves ou mamíferos, a formação de radicais livres é geralmente proporcional à dose de radiação absorvida e é uma alternativa

importante de controle para distinguir alimentos irradiados de não-irradiados (Schreiber et al, 1993).

A técnica de Ressonância Paramagnética Eletrônica (EPR) é certamente a mais qualificada para monitorar e quantificar os radicais livres nos alimentos irradiados. As características desse método são: permite análises não-destrutivas em amostras sólidas, líquidas e gasosas; alta sensibilidade (limite de detecção 10^{11} spins/gr); as análises podem ser conduzidas no mesmo material mais de uma vez, sem alterar a intensidade ou gerar sinais. EPR tem se mostrado útil nas análises de componentes de alimentos com baixo conteúdo de água, como ossos, cartilagens de peixe, pele, sementes, frutas secas e especiarias (Colnago et al, 1996).

Neste trabalho, lotes de pimenta do reino contaminadas por microorganismos foram submetidas a duas doses de radiação ionizante e submetidas a análises de EPR para monitorar o nível de radicais livres formados e comparados com amostras não-irradiadas. Também foram acompanhados os níveis de contaminação biológica nas diferentes amostras.

Desenvolvimento

Preparação das amostras e análises efetuadas

Os lotes de pimenta do reino tinham uma contaminação inicial e foram adicionalmente tratadas com os seguintes microorganismos: salmonella, escherichia coli, bacillus cereus, staphylococcus aureus e clostridium perfringens. As amostras foram incubadas por 2 meses para homogeneização, antes de serem submetidas a irradiação. As amostras foram submetidas a irradiação com doses de 5 e 10 kGy (Fonte de Co 60), no Instituto de Radioproteção e Dosimetria da Comissão Nacional de Energia Nuclear (CNEN), no Rio de Janeiro.

Foram efetuadas as análises dos seguintes microorganismos nas amostras irradiadas e não-irradiadas: Bacillus cereus, staphylococcus aureus, clostridium perfringens, salmonella,

bactérias mesófila, bolores e leveduras, coliformes fecais e coliformes totais.

As análises de EPR foram efetuadas em um Espectrômetro Varian, operando em Banda X (9G Hz), pertencente ao Laboratório de Biofísica do Instituto de Física de São Carlos, Universidade de São Paulo. As medidas foram efetuadas a temperatura ambiente, com amostras sólidas trituradas, somente da casca, e somente miolo da pimenta do reino. Utilizou-se o método do padrão secundário para quantificação do nível de radicais livres nas diferentes amostras de pimenta (Martin-Neto et al, 1994; Colnago et al, 1996).

Resultados e Discussões

Na Tabela 1 mostra-se o controle microbiológico das amostras submetidas e não-submetidas a irradiação. Verifica-se que as amostras de pimenta irradiadas com 5 e 10 kGy tiveram uma significativa redução no conteúdo de todos os microorganismos analisados, sendo que em alguns casos a dosagem de 10 kGy foi mais eficiente que a de 5 kGy, enquanto em outros casos os resultados são semelhantes. Esse resultado mostrou a eficiência do uso de radiação ionizante na eliminação dos microorganismos analisados.

Tabela 1- Controle microbiológico das amostras de pimenta do reino submetidas a diferentes níveis de irradiação ionizante. São apresentados resultados logo após a irradiação (mês - 0) e um ano depois (mês - 12).

Dose (kGy)	Contagem de Microorganismos	
	Bolores e leveduras (máx. 5×10^3 LCF/g)	
	Mês - 0	Mês - 12
0	$1,2 \times 10^3$	$1,5 \times 10^4$
5	< 10	ausente
10	<10	ausente
	Bacillus Cereus (sem padrão)	
	Mês - 0	Mês - 12
0	10^3	ausente
5	ausente	ausente
10	ausente	ausente
	Coliformes Totais (sem padrão)	
	Mês - 0	Mês - 12
0	>2400	9
5	43	ausente
10	ausente	ausente
	Coliformes Fecais (máx. 10^2 a)	
	Mês - 0	Mês - 12
0	>2400	ausente
5	43	ausente
10	ausente	ausente
	Contagem Total (sem padrão)	
	Mês - 0	Mês - 12
0	$5,0 \times 10^6$	$1,3 \times 10^6$
5	$1,7 \times 10^4$	3×10^6
10	<10	10

Além das análises dos microorganismos apresentados na Tabela 1, foram monitorados também *staphylococcus aureus*, *salmonella* e *clostridium*, os quais sempre estiveram ausentes nas análises efetuadas.

Na figura 1 apresentam-se espectros de EPR de amostras de pimenta do reino irradiadas e não-irradiadas (testemunha). Nos dois espectros o sinal de EPR é típico de radical livre, com valor de g próximo de 2 e largura de linha de 6 Gauss. Observa-se também o sinal do padrão do cristal de rubi com Cr^{3+} usado para quantificação do nível de radicais livres.

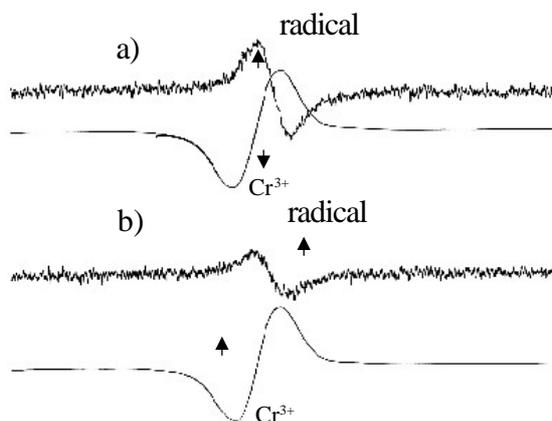


Figura 1 - Espectros de EPR de amostras de pimenta do reino triturada mostrando sinal do radical livre e do padrão com Cr^{3+} : a) amostra "testemunha" - sem irradiar; b) amostra irradiada com 10 kGy.

Na figura 2 são apresentados os níveis de radicais livres nas amostras de pimenta do reino moídas, somente na casca e somente no miolo da pimenta.

Surpreendentemente, observou-se um nível de radicais livres muito superior na amostra sem irradiar (testemunha), comparado com as amostras irradiadas

Esse resultado pode ser entendido considerando que os próprios microorganismos têm capacidade de oxidação de lipídeos e outros constituintes da pimenta que podem dar origem a radicais livres. Assim, na “testemunha” um nível elevado de radicais é observado. Quando submetido a irradiação, os microorganismos são reduzidos em grande extensão e não geram novos radicais livres e aqueles presentes na amostra sem irradiar têm chance de se recombinarem e diminuir. Isso pode ocorrer, principalmente, se houver quantidade mínima de água na pimenta, o que é plenamente possível.

Observou-se, ainda, que para as amostras irradiadas com 10 kGy houve um maior nível de radicais livres do que nas amostras irradiadas com 5 kGy, o que sugere haver geração de radicais livres pela radiação também, ainda que em níveis inferiores aos gerados pelos microorganismos na amostra sem irradiar. Esse tipo de análise é extremamente útil, pois pode determinar a dose ideal de radiação a que a amostra deva ser submetida, combinando redução no conteúdo de microorganismos e formação de radicais livres.

A distribuição do conteúdo de radicais livres nas diferentes partes da pimenta (miolo, casca e amostra triturada) revelou que na casca da pimenta há um conteúdo muito mais elevado de radicais em todas as situações analisadas. Essa informação também é relevante, pois permite, caso seja de interesse, descartar essa parte da pimenta no uso como alimento.

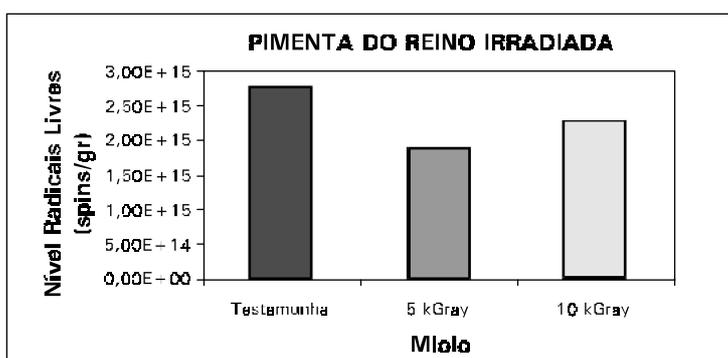
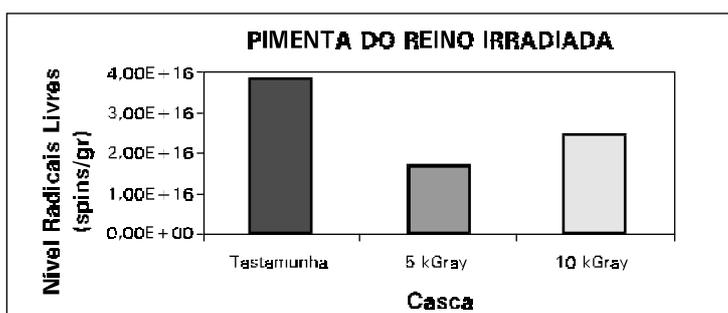
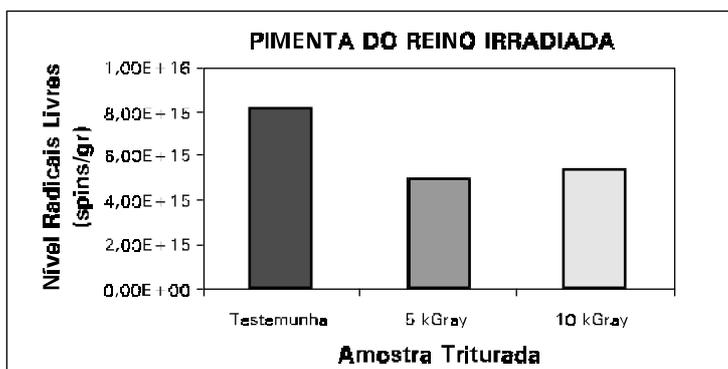


Figura 2 - Gráfico do nível de radicais livres, detectados por EPR, em amostras de pimenta do reino sob diferentes níveis de irradiação

Conclusões

Os experimentos mostraram a total adequação do uso de radiação ionizante como um método eficiente e seguro de descontaminação de pimenta do reino. Através do monitoramento simultâneo do nível de microorganismos por métodos bioquímicos e do nível de radicais livres por espectroscopia de EPR, mostrou-se que houve uma redução, quando não eliminação completa, de microorganismos e ainda redução no nível de radicais livres, originalmente presentes nas amostras. A preocupação com a formação de radicais livres está associada ao seu potencial de ação como produto cancerígeno. Neste caso, portanto, houve uma situação ideal do uso de radiação ionizante, com redução no nível de radicais livres e desinfecção das amostras de pimenta do reino contaminadas por microorganismos.

Um país de clima tropical como o Brasil, onde altas temperaturas e umidade são uma constante, há um considerável favorecimento para o desenvolvimento de microorganismos e patógenos em frutas, sementes e alimentos em geral. O uso de radiação ionizante para reduzir os microorganismos e patógenos se constitui excelente alternativa e deveria ter seu uso incrementado. Nesse momento, no Brasil, a oferta de processos de irradiação está praticamente restrita aos institutos de pesquisa, como por exemplo o CENA/Piracicaba, IPEN/São Paulo, CNEN/Rio de Janeiro, e apenas uma empresa, a EMBRARAD/São Paulo, presta esse serviço de forma comercial e ainda está mais voltada à esterilização de materiais cirúrgicos e farmacêuticos.

Contudo, alguns mitos necessitam ser superados antes da irradiação se tornar um método amplamente aceitável pelo público como:

- irradiação não torna o alimento radioativo;
- irradiação não destrói nutrientes em maior extensão que qualquer outro processo de preservação.

Referências

- COLNAGO, L.A.; MARTIN-NETO, L.; BISCEGLI, C.I.; NASCIMENTO, O.R.; BONAGAMBA, T.J.; PANEPUCCI, H.; VIEIRA, E.M.; SEIDEL, P.R.; SPOSITO, G.; OPELLA, S.J. Aplicações da ressonância magnética nuclear (RMN) e ressonância paramagnética eletrônica (EPR). In: CRESTANA, S.; CRUVINEL, P.E.; MASCARENHAS, S.; BISCEGLI, C.I.; MARTIN-NETO, L.; COLNAGO, L.A. **Instrumentação agropecuária: contribuições no limiar do novo século**. Brasília: EMBRAPA-SPI, 1996. Cap. 1, p.15-50.
- ELIAS, P.S. New Concepts for Assessing the Wholesomeness of Irradiated Foods, **Food Technology**, Estados Unidos, in Overview-oustanding, Symposio in Food Science & Technology, p.81-83, 1989.
- IKEYA, M.; BAFFA-FILHO, O.; MASCARENHAS, S. Quality assessment of coffee beans with ESR and gamma-ray irradiation. **Application Radiation Isotopes**, Londres, v.40, n.10-12, p.1219-1222, 1989.
- GIURLANI, S. Contra moscas, mosquitos e fome, **IRRADIAÇÃO! Brasil Nuclear**, Rio de Janeiro, n.8, p.9-12, 1996.
- MARTIN-NETO, L.; ANDRIULO, A.E.; TRAGHETTA, D.G. Effects of cultivation on ESR spectra of organic matter from soil size fractions of a Mollisol. **Soil Science**, Baltimore, v.157, n.6, p.365-372, 1994.
- SCHREIBER, G.A.; HELLE, N.; SCHULZKI, G.; SPIEGELBERG, A.. LINKE, B.; WAGNER, U.; BOGL, K.W. Intercomparison to evaluate the suritability of gaschromatographic, electron-spin-resonance spectrometric and thermoluminescence methods to detect irradiated foods in routine control. **Radiation Physics and Chemistry**, Londres, v.42, n.1-3, p.391-396, 1993.