

RESSONÂNCIA PARAMAGNÉTICA ELETRÔNICA-RPE APLICADA À ANÁLISE DE ESPECIARIAS IRRADIADAS (COM RADIAÇÃO GAMA)¹

Alexandre Soares LEAL^{2,*}, Klaus KRAMBROCK³, Kassilio GUEDES³, Rogério Rivail RODRIGUES²

RESUMO

O tratamento de alimentos por radiação ionizante é uma tecnologia que tem sido empregada em um número cada vez maior de países em substituição ao uso de produtos químicos. O conhecimento de técnicas seguras e confiáveis de detecção é um fator que pode contribuir para a maior aceitação pelo mercado consumidor de alimentos irradiados. Este trabalho apresenta a ressonância paramagnética eletrônica (RPE) como método de detecção das especiarias alecrim e coentro irradiadas. Os resultados obtidos indicam que a RPE pode ser usada satisfatoriamente para esse grupo de alimentos na identificação das espécies irradiadas e na determinação da dose recebida.

Palavras-chave: irradiação de alimentos; RPE; determinação de dose; especiarias.

SUMMARY

ELECTRONIC PARAMAGNETIC RESONANCE (EPR) OF SPICES TREATED BY GAMA IRRADIATION. The treatment of food by ionizing radiation is a method that has been increased in many countries in substitution for the use of chemical products. The knowledge of safe and reliable techniques of detection of irradiated food is a factor that can contribute to the largest acceptance for the consuming market. This work presents the electron paramagnetic resonance (EPR) as method of detection of the irradiated spices rosemary and cilantro. The obtained results indicate that EPR can be used satisfactorily for that group of victuals in the identification of irradiated species and in the determination of the received dose.

Keywords: food irradiation; EPR; dose assessment; spices.

1 – INTRODUÇÃO

Nos últimos anos, tem se verificado entre a população uma tendência crescente, pelo consumo de alimentos minimamente processados ou livres de aditivos ou produtos químicos, como os chamados orgânicos. Uma das tecnologias de tratamento de alimentos que vem crescendo em todo mundo, mas é ainda pouco difundida no Brasil, é a irradiação de alimentos. Especiarias, grãos, carnes, frutas e tubérculos já são tratados por esse processo em cerca de quarenta países atualmente [12].

O interesse pela irradiação como tecnologia de tratamento de alimentos tem forte justificativa econômica devido as grandes perdas decorrentes da infestação por insetos, contaminação e deterioração por microrganismos, além da germinação prematura de tubérculos ou da maturação, no caso das frutas. Estimativas da FAO (Organização das Nações Unidas para a Agricultura e Desenvolvimento) indicam que cerca de 25% da produção mundial de alimentos é perdida devido à contaminação por bactérias e ação de insetos e roedores. Outro aspecto importante são as doenças transmitidas por alimentos contaminados por bactérias como *Salmonella* e *Campylobacter* que podem levar à morte, além de representar significativo impacto financeiro na saúde pública [10, 16].

Devido ao aumento do comércio internacional de alimentos e das crescentes exigências regulatórias dos mercados consumidores, cada vez mais países importadores e exportadores têm demonstrando interesse na irradiação de alimentos e desenvolvido pesquisas na aplicação prática desta tecnologia [10].

No tratamento de alimentos pela irradiação, é fundamental avaliar os efeitos químicos e físicos provocados pela interação da radiação ionizante com o produto irradiado. Além disso, a exigência da legislação e do mercado consumidor pela rotulagem de alimentos tratados, tem incentivado diversos estudos com o propósito de determinar se o alimento foi irradiado ou não e, em caso afirmativo, qual foi a dose recebida [17]. Segundo BÖGL [2], o desenvolvimento de métodos de identificação de alimentos irradiados permite evitar a re-irradiação, controlar a dose absorvida, verificar o cumprimento dos níveis mínimos de exigência microbiológica, além de contribuir para o controle do mercado internacional de alimentos irradiados [2]. A falta de informações sobre métodos confiáveis de detecção é uma das razões que motiva a desconfiança dos consumidores em relação aos alimentos irradiados. Métodos como a termoluminescência, eletroforese de células isoladas em microgel ou ensaio do cometa [9], análise de espécies voláteis [17] e espectroscopia de ressonância paramagnética eletrônica (RPE) [2, 7, 17], que será discutida em detalhes adiante, têm sido empregados satisfatoriamente na detecção de alimentos irradiados.

No Brasil, existe regulamentação sobre a irradiação de alimentos desde 1973 e portarias complementares foram editadas em 1985 e, 1989 [14]. A Portaria nº 30 de 02/08/89, da Divisão de Alimentos do Ministério da Saúde, determinava o limite superior de irradiação de 10kGy, a lista de produtos aprovados para irradiação

¹ Recebido para publicação em 11/07/2003. Aceito para publicação em 05/07/2004 (001167).

² Centro de Desenvolvimento de Tecnologia Nuclear – CDTN/ Comissão de Energia Nuclear – CNEM. CTDN Serviço de Reator e Irradiações, Rua Mário Werneck, s/n – CampusUFMG – Pampulha. CEP 30123-970. Belo Horizonte-MG. E-mail: asleal@cdtn.br.

³ Universidade Federal de Minas Gerais.

* A quem a correspondência deve ser enviada.

e suas respectivas doses e proibia a re-irradiação. Em 26/01/2001, a Diretoria Colegiada da Agência Nacional de Vigilância Sanitária, (ANVISA), aprovou a Resolução (RDC) nº 21 que não restringe quais alimentos podem ser irradiados e nem a dose máxima absorvida para se obter o fim desejado, desde que não haja prejuízo nas suas qualidades funcionais e sensoriais [8]. A RDC nº 21 estabelece ainda que, quando um produto irradiado é usado como ingrediente em outro alimento, este fato deve ser mencionado na embalagem final. No caso das especiarias este é um aspecto importante, desde que elas são utilizadas na fabricação de outros produtos, como os derivados de carne.

No Brasil, existem dezenas de pequenos sistemas de irradiação gama, a maioria deles localizadas em hospitais e hemocentros e utilizados na irradiação de sangue, e 6 irradiadores de grande porte, que com diversas finalidades, como o tratamento de pedras preciosas, a esterilização de materiais cirúrgicos e, em menor parte, a irradiação de alimentos. A maioria está localizada no Estado de São Paulo, sendo que o do CDTN (Centro de Desenvolvimento da Tecnologia Nuclear) em Belo Horizonte/MG, entrou em operação recentemente.

TABELA 1 – Produtos autorizados para tratamentos por irradiação no Brasil e doses máximas permitidas em kGy. Adaptado de referência [8].

PRODUTO	OBJETIVO	DOSE (kGy)
Arroz	Desinfestação	1.0
Batata	Inibição de brotamento	0.18
Cebola	Inibição de brotamento	0.18
Feijão	Desinfestação	1.0
Milho	Desinfestação	1.0
Trigo	Desinfestação	1.0
Farinha de Trigo	Desinfestação	1.0
Especiarias	Descontaminação	10.0
Mamão	Desinfestação	1.0
	Atraso na maturação	
Morango	Aumento do tempo de prateleira	3.0
Peixe	Desinfestação	1.0-2.2
Frango	Descontaminação	7.0

2 – MATERIAL E MÉTODOS

2.1 – A RPE como método de detecção de alimentos irradiados

A absorção da radiação ionizante pelos alimentos leva à formação de radicais livres, espécies que possuem elétrons desemparelhados, que de acordo com seu tempo de vida, podem ser detectados pela RPE. Normalmente, os radicais livres são espécies transientes de duração bastante curta mas, no caso de matrizes secas como sementes, ossos e grãos o tempo de vida é suficiente para a detecção [6]. A partir de resultados de medidas com gordura e ossos de porco e boi, a RPE foi considerada como método capaz de identificar determinados gru-

pos de alimentos irradiados. Uma descrição mais detalhada da RPE pode ser encontrada na referência [3].

A concentração de radicais livres em uma amostra, gerados ou não pela irradiação, pode ser determinada a partir da intensidade do sinal de RPE. Este sinal, devido ao método usado na detecção, aparece no espectro sob a forma matemática da derivada da curva da absorção e a concentração dos radicais livres presentes pode ser calculada através da área sob a curva resultante. Em alguns poucos casos específicos, a identidade dos radicais livres presentes na amostra pode ser determinada pelo aspecto característico do espectro de RPE [17].

Alguns tipos de alimentos não irradiados, como batatas fritas e macarrão instantâneo, contêm quantidades mensuráveis de elétrons desemparelhados e íons de metais de transição paramagnéticos. Isto quer dizer que a mera presença de radicais livres não determina o tratamento pela irradiação, mas modificações específicas induzidas pela radiação nos radicais existentes [6, 11]. Em outros casos, em alimentos *in natura*, pode-se encontrar metais ou radicais livres pela contaminação de resíduos de fertilizantes [4].

Estudos de RPE de material biológico submetido à irradiação já fazem quase meio século, mas só a partir de 1985 foi utilizado como método de detecção em carne, frutas e frutos do mar irradiados [6]. Atualmente, há uma quantidade significativa de resultados da aplicabilidade da RPE em diversos grupos de alimentos, como método de detecção de irradiação [5, 13, 18]. No Brasil, esta técnica já foi empregada na avaliação de frutas irradiadas [15] e da qualidade de sementes de café [11].

Especiarias são irradiadas normalmente até 20kGy – 1 Gray (Gy) equivale a 1 joule/kilograma – e o efeito esperado, em substituição ao uso de produtos químicos, é a redução do número de microrganismos contaminantes e a eliminação de insetos [10, 16]. A irradiação de cominho até 25kGy evidencia que a intensidade do sinal da RPE varia linearmente com a dose recebida até 8kGy e atinge o limite de saturação em torno de 25kGy.

Por serem matrizes secas, os radicais livres presentes nas especiarias irradiadas têm relativa estabilidade e os sinais podem ser detectados meses após a irradiação. Isto não acontece em alimentos com grande quantidade de água, como as frutas, onde os radicais são altamente reativos. Nesse caso, as amostras devem ser liofilizadas antes da irradiação [1, 15].

Segundo DESROSIERS [6], de um modo geral, os sinais de RPE detectados em especiarias podem ou não ser efeito da irradiação, sendo necessária a amostra de controle. Resultados de RPE de páprica, pimenta-do-reino escura, mostarda em pó e canela irradiadas com doses de até 20kGy, mostram que a intensidade dos sinais diminuem significativamente 4 dias após a irradiação, mas podem ainda ser detectados até 34 dias depois. De modo geral, os resultados da detecção de irradiação por RPE para especiarias indicam boa resposta quanto a especificidade do sinal, sensibilidade

de detecção para doses limites recomendáveis e estabilidade dos radicais gerados.

Medidas de RPE de cominho irradiado obtidas por ABDEL-FATTAH [1] permitiram distinguir satisfatoriamente as espécies irradiadas e avaliar a dose recebida, logo após a irradiação, ou depois de algum tempo pós-irradiação. Foi verificado também que a amplitude do sinal cai 14% para uma irradiação de 2,5kGy e 52% para uma dose de 25kGy, 40 dias após a irradiação.

2.2 – Preparo de amostras e análise

As especiarias utilizadas neste trabalho foram obtidas no comércio de Belo Horizonte, sendo adquiridas a granel, sem as embalagens. A irradiação foi conduzida na gama-câmara com fonte de ^{60}Co do CDTN à taxa de dose de 24Gy/h até doses de 20kGy. As amostras com massa de 0,25g foram submetidas à irradiação acondicionadas em frascos de poliestireno e mantidas no escuro à temperatura ambiente. Para a obtenção do espectro de RPE, realizados no Departamento de Física da UFMG, as amostras foram introduzidas em tubos de quartzo de 0,2x10,0mm. Os espectros de RPE foram gravados à temperatura ambiente em um espectrômetro equipado com uma cavidade cilíndrica (Bruker) que opera na faixa de frequências de microonda de 9 a 11GHz (Varian) e modulação do campo magnético em 100kHz.

3 – RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 – Sensibilidade da RPE à irradiação

Na *Figura 1*, são mostrados os espectros RPE de amostras de alecrim e coentro não irradiadas e irradiadas a 10kGy e a 20kGy. Pode-se observar uma maior alteração no sinal RPE no alecrim comparado ao coentro com o aumento da dose, o que indica um limite mais elevado para a saturação dos radicais livres. Este comportamento sugere também uma maior sensibilidade do alecrim em relação ao coentro para doses mais baixas que 10kGy, resultado que poderia ser esperado de acordo com DESROSIERS [6].

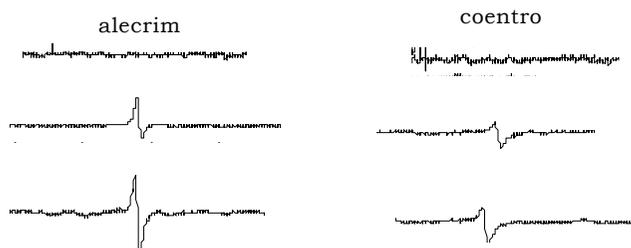


FIGURA 1. Espectros de RPE de alecrim e coentro de amostras não irradiadas, irradiadas a 10kGy (centro) e 20kGy (inferior).

3.2 – Estabilidade dos radicais

Para que os espectros de RPE tenham utilidade na detecção de alimentos irradiados como protocolo de verificação em transações comerciais, onde o tempo de transporte ao destino pode chegar até um mês, os radi-

cais livres gerados pela irradiação devem ter no mínimo esse tempo de estabilidade. No caso do alecrim, cerca de 40% do sinal do RPE pode ser detectado até 50 dias após uma irradiação de 20kGy e para o coentro esse valor é de 33%, como pode ser visto na *Figura 2*. Ainda de acordo com DESROSIERS [6], seria esperado que as duas especiarias apresentassem comportamento similares quanto à estabilidade do sinal da RPE. O tempo de prateleira dessas espécies é de 1 ano. Esse é um tempo longo, mas no caso das especiarias vendidas por peso sem embalagem, em geral não há controle de qualidade na produção e, na prática, não se pode determinar um tempo de validade definido.

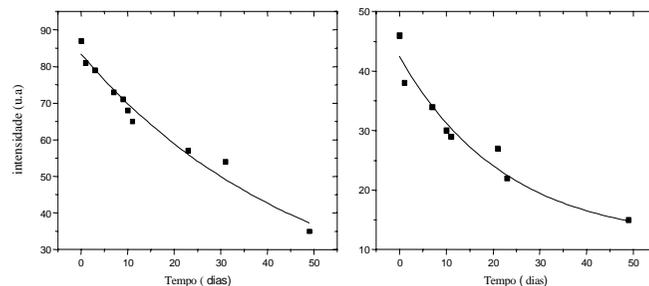


FIGURA 2. Curva de decaimento do sinal da RPE com o tempo para uma irradiação de 20kGy para o alecrim (esquerda) e o coentro (direita).

3.3 – Determinação de dose

Os espectros de RPE podem ser empregados também para a avaliação quantitativa da dose de irradiação recebida por um alimento. No caso do alecrim, o sinal do RPE é proporcional à dose recebida até 10kGy. A determinação da dose inicial recebida pelo alimento irradiado é obtida pela extrapolação sinal RPE x dose, até o valor zero, como mostra a *Figura 3*.

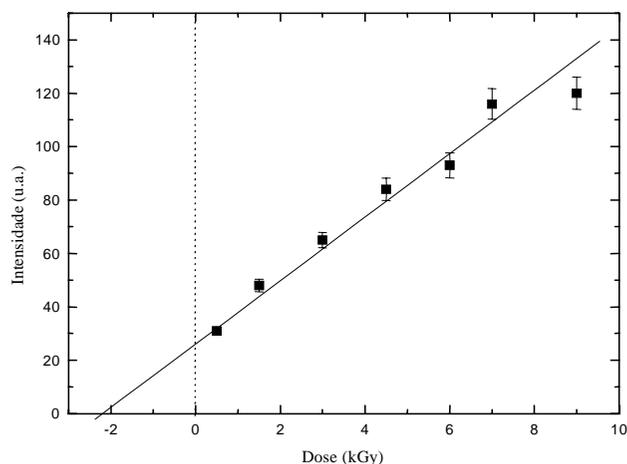


FIGURA 3. Determinação de dose inicial para o alecrim através de irradiações cumulativas dada pela extrapolação da curva até o valor do sinal de RPE igual a zero.

O valor obtido para a dose inicial depende do tempo de armazenamento pós-irradiação e do modelo mate-

mático escolhido, no caso de uma resposta não linear, o que se verifica para doses acima de 10kGy [1]. A obtenção desta curva requer a realização sucessiva de irradiações e a subsequente medida da RPE, em intervalos de 3kGy até 20 a 25kGy. A realização deste trabalho é inviável na gama-câmara do CDTN à taxa de dose de 24Gy/h, pois levaria 125 horas em média para cada medida, o que necessitaria 1000 horas de irradiação em média para obter oito pontos na curva, impossibilitando o uso da gama-câmara, que tem pequeno volume, para outros fins que têm fluxo contínuo, como a irradiação de sangue, células, gemas e outros. Com a recente entrada em operação do Laboratório de Irradiação Gama (LIG) do CDTN, taxas de dose de 15kGy/h podem ser obtidas e medidas da RPE realizadas em seqüência. Levantamento da dosimetria das especiarias aqui apresentadas estão em andamento.

4 – CONCLUSÕES

Os resultados de RPE das especiarias coentro e alecrim evidenciam que este método pode ser empregado satisfatoriamente na investigação do tratamento por irradiação gama. A longa estabilidade dos sinais permite a detecção até 50 dias após a irradiação, permitindo também o uso deste método como protocolo de análise qualitativo e quantitativo em transações comerciais onde o tempo de transporte até o destino seja longo. A irradiação do alecrim mostra que há uma relação linear entre a dose recebida e o sinal do RPE até 10kGy. Este comportamento pode, em princípio, ser utilizado na determinação da dose recebida, irradiando-se cumulativamente a amostra de interesse e avaliando-se o sinal do RPE em seguida. A extrapolação da curva ao nível do sinal da RPE igual a zero é a dose inicial. Embora a RPE exija equipamentos de alto custo, a eficácia dos resultados obtidos na detecção de diferentes grupos de alimentos irradiados poderá contribuir para o desenvolvimento de protótipos mais simples e economicamente viáveis.

5 – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] ABDEL-FATTAH, A.; A. Identification and dose assessment of irradiated cumin by EPR spectrometry. **Appl. Rad. Isot.**, v. 56, p. 557-562, 2002.
- [2] BÖGL, K.W. Identification of Irradiated Foods-Methods, Development and Concepts. **Appl. Radiat. Isot.** v. 40, n. 10-12, p. 1203-1210, 1989.
- [3] CARRINGTON, A.; MCLAUCHLAN, A.D. Introduction to Magnetic Resonance with Applications to Chemistry and Chemical Physics. Chapman and Hall, 1978.

- [4] DE CARVALHO, R.P.; GUEDES, K.J.; PINHEIRO, M.V.B.; KRAMBROCK, K. Biosorption of Cooper by dried plant leaves studied by electron paramagnetic resonance and infrared spectroscopy. **Hydrometallurgy**. v. 59, n. 2-3, p. 407-412, 2001.
- [5] DE JESUS, E.F.O.; ROSSI, A.M.; R.T. LOPES, R.T. Identification and dose determination using ESR measurements in the flesh of irradiated vegetable. **Appl. Rad. Isot.**, v. 52, n. 5, p. 1375-1383, 2000.
- [6] DESROSIERS, M. Current Status of the EPR Method to Detect Irradiated Food. **Appl. Radiat. Isot.** v. 47, n. 11/12, p. 1621-1628, 1996.
- [7] DODD, N.J.F.; LEA, J.S.; SWALLOW, J. The ESR Detection of Irradiated Food. **Appl. Radiat. Isot.** v. 40, n. 10-12, p. 1211-1214, 1989.
- [8] EMBRARAD. 2003, <http://www.embrarad.com.br/alimentos>
- [9] FAIRBAIRN, D.W.; OLIVE, P.L.; O'NEILL, K.L. The comet assay: a comprehensive review. **Mutation Research**, v. 339, p. 37-59, 1994.
- [10] (ICGFI) – GRUPO CONSULTIVO INTERNACIONAL SOBRE IRRADIAÇÃO DE ALIMENTOS (ICGFI), 1999. Fatos sobre a irradiação de alimentos. Ed. CDTN (Centro de Desenvolvimento da Tecnologia Nuclear), Brasil, 46pp.
- [11] IKEYA, M.; BAFFA, F.O; MASCARENHAS, S. Quality Assessment of Coffee Beans with ESR and Gamma-ray irradiation. **Appl. Rad. Isot.** v. 40, n. 10-12, p. 1219-1222, 1989.
- [12] MDS Nordion. 2003, <http://www.mds.nordion.com>
- [13] MOREHOUSE, K.M.; KU, Y.; Gas Chromatographic and Electron Spin Resonance Investigations of g- Irradiated Shrimp. **J. Agric. Food. Chem.**, v. 40, p. 1963-1971, 1992.
- [14] OLIVEIRA, L.C. Present situation of food irradiation in South America and the regulatory perspectives for Brazil. **Radiat. Phys. Chem.**, v. 57, p. 249-252, 2000.
- [15] RAFFI, J.J; AGNEL, J.P.L. Electron Spin Resonance Identification of Irradiated Fruits. **Radiat. Phys. Chem.**, v. 34, n. 6, p. 891-894, 1989.
- [16] RELA, P.R. 2000, **Engenharia de Alimentos**, n. 6, p. 26-29.
- [17] SCHREIBER, G.A.; HELLE, N.; BÖGL, K.W. Detection of irradiated food methods and routine applications. **Int. J. Radiat. Biol.** v. 6, n. 1, p. 105-130, 1993.
- [18] YANG, G.C.; MOSSOBA, M.M.; MERIN, U.; ROSENTHAL, I. Na EPR study of free radicals generated by gamma-radiation of dried spices and spray-dried fruit powders. **Journal of Food Quality**, v. 10, p. 287-294, 1987.

6 – AGRADECIMENTOS

Agradecimentos ao Prof. Paulo Relá da CBE (Companhia Brasileira de Esterilização) onde a irradiação de algumas amostras foram realizadas.

O arquivo disponível sofreu correções conforme ERRATA publicada no Volume 25 Número 1 da revista.