AUTARQUIA ASSOCIADA À UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

**SEGURANÇA ALIMENTAR ATRAVÉS DA FORMAÇÃO DE 2-ALCILCICLOBUTANONAS
EM ALIMENTOS PROCESSADOS POR RADIAÇÃO IONIZANTE**

Rodrigo Mendes Alves

**Dissertação apresentada como parte dos
requisitos para obtenção do Grau de
mestre em Ciências na Área de Tecnologia
Nuclear - Aplicações**

Orientadora:

**Profa. Dra. Anna Lucia Casañas Haasis
Villavicencio**

**SÃO PAULO
2016**

INSTITUTO DE PESQUISAS ENERGÉTICAS E NUCLEARES

Autarquia associada à Universidade de São Paulo

**SEGURANÇA ALIMENTAR ATRAVÉS DA FORMAÇÃO DE 2-
ALCILCICLOBUTANONAS EM ALIMENTOS PROCESSADOS POR RADIAÇÃO
IONIZANTE**

Rodrigo Mendes Alves

**Dissertação apresentada como parte dos
requisitos para obtenção do Grau de
mestre em Ciências na Área de Tecnologia
Nuclear - Aplicações**

Orientadora:

**Profa. Dra. Anna Lucia Casañas Haasis
Villavicencio**

Versão Corrigida

Versão Original disponível no IPEN

**SÃO PAULO
2016**

Primeiramente a Deus, pois sem ele nada teria feito, a minha esposa Natalia dos Santos Alves pelo incentivo, força e compreensão e aos meus pais Jaime Pinto e Celia Mendes Pinto pelo carinho e amor e a todos que me ajudaram.

AGRADECIMENTOS

A Deus primeiramente, pois sem ele nada teria feito, muito obrigado por estar presente em todas as situações ao longo do meu mestrado.

À Dra. Anna Lucia C. H. Villavicencio pela força, incentivo e o grande carinho desde o início até a conclusão deste projeto;

A toda minha família, por estar sempre presente e disposta a me ajudar em tudo, com paciência, carinho e amor;

Ao Dr. Gustavo Fanaro, pela contribuição e solidariedade na elaboração desta dissertação;

Ao Prof. Dr. Eduardo Purgatto, pela colaboração no desenvolvimento desta dissertação;

Ao Pastor Sandoval por suas orações.

Ao Dr. Valter Arthur, pela colaboração no desenvolvimento desta dissertação;

Ao IPEN, especialmente ao CTR - Centro de Tecnologia das Radiações, a gerência do CTR e ao departamento de divisão de pesquisa e desenvolvimento do CTR, pelo constante apoio e pré-disposição em ajudar e buscar soluções;

A CNEN pelo apoio financeiro que foi essencial para o desenvolvimento desta pesquisa;

Ao Marcos e à Claudia pela ajuda nos assuntos administrativos;

Aos Professores Dr. Wilson Aparecido Parejo Calvo, Dr. Jose Oscar Willian Vega Bustillos, Dr. Leonardo Gondim de Andrade e Silva, Dra. Elaine Bortoleti de Araujo, e outros pelos conhecimentos oferecidos em suas aulas.

Em especial aos Amigos do IPEN, que me ajudaram na realização deste trabalho: Flavio Thihara, Renato Duarte, Angélica Barbezan, Regiane Martins, Alexsandra Campos, Amanda Koike, Jeniffer Bueno, Ana Paula Funari, Camila Amorin, Bruna Saporito, Jurandir Tomaz e o Sr. Nelson Mendes Alves.

E a todos aqueles que colaboraram para a criação, desenvolvimento e conclusão deste estudo os meus mais sinceros agradecimentos.

**“Que minha coragem seja maior que meu medo
e que minha força seja tão grande quanto minha fé”**

Marisa Pereira Silva

SEGURANÇA ALIMENTAR ATRAVÉS DA FORMAÇÃO DE 2-ALCILCICLOBUTANONAS EM ALIMENTOS PROCESSADOS POR RADIAÇÃO IONIZANTE

Rodrigo Mendes Alves

RESUMO

A irradiação de alimentos é um meio de preservação de alimentos onde se utiliza uma técnica de processamento que expõe os alimentos a uma radiação ionizante controlada de alta energia. O tratamento realizado com o uso das radiações ionizantes em alimentos tem muitas aplicações tecnologicamente e tecnicamente viáveis incluindo a capacidade de melhorar a segurança microbiológica, reduzir os níveis de bactérias patogênicas, inibir a germinação de tubérculos, aplicação fitossanitária, conservar alimentos armazenados ou a estabilidade de armazenamento e também é utilizada para aumentar a vida de prateleira de determinados produtos devido à redução da contaminação por microrganismos. Em função do 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 e de métodos de detecção do tratamento. Inúmeras pesquisas foram realizadas mundialmente, resultando em eficientes protocolos para identificar quais alimentos foram ou não irradiados. Até então, o “mito” que alimentos irradiados não poderiam ser detectados e que não eram formados quaisquer produtos únicos da radiação foi substituído pelo conhecimento que muitas mudanças podem ocorrer nos alimentos irradiados e essas mudanças poderiam ser utilizadas como ferramentas para identificar essa tecnologia. O processamento por radiação resulta em formações de padrões característicos de hidrocarbonetos saturados, aldeídos, metil e etil ésteres e 2-alcilciclobutanonas, dependendo da composição do ácido graxo do lipídio que

compõe o alimento. Com isso a proposta do trabalho foi levantar dados para comparar os efeitos das diferentes doses de radiação gama e de elétrons em alimentos que possuem gordura para verificar as possíveis alterações decorrentes do uso da irradiação, como a presença de 2-Alcilciclobutanonas e também, mostrar os principais equipamentos utilizados para a irradiação de alimentos e suas categorias, com o objetivo de informar o público em geral.

Palavras-chave: irradiação de alimentos, métodos de detecção, formação de 2-alcilciclobutanonas.

FOOD SAFETY THROUGH THE TRAINING OF 2-ALCILCICLOBUTANONAS IN PROCESSED FOODS BY IONIZING RADIATION

Rodrigo Mendes Alves

ABSTRACT

Food irradiation is a means of preserving food which uses a processing technique that exposes the foods at a controlled high energy ionizing radiation. The treatment with the use of ionizing radiation in foods has many applications technologically and technically feasible, including the ability to improve the microbiological safety and reducing levels of pathogenic bacteria, inhibiting the germination of tubers plant application, preserving stored foods or the stability of storage and is also used to increase the shelf life of certain products due to the reduction of contamination by microorganisms. Due to the increase of international trade in food and the growing regulatory requirements of consumer markets increasingly importing and exporting countries have shown interest in food irradiation and conducted research in the practical application of this technology and detection methods of treatment. Numerous surveys were conducted worldwide, resulting in efficient protocols to identify which foods were irradiated or not. Until then, the "myth" that irradiated food could not be detected and they were not formed any single radiation products has been replaced by the knowledge that many changes can occur in irradiated foods and these changes could be used as tools to identify this technology. The radiation processing resulting in characteristic patterns formations of saturated hydrocarbons, aldehydes, methyl and ethyl esters and 2-alcilciclobutanonas, depending on the fatty acid composition of the lipid that composes the food. Thus the purpose of this study was to collect data to compare the effects of different doses of gamma radiation and electron in foods that have fat to determine possible changes resulting from the use of irradiation, as the presence of 2-Alcilciclobutanonas and also show main equipment used for food irradiation and its categories, with the aim of informing the general public.

Keywords: food irradiation, detection methods, formation of 2-alcilciclobutanonas.

SUMARIO

Página

1. INTRODUÇÃO.....	11
2. OBJETIVO.....	18
3. METODOS.....	19
4. REVISÃO DA LITERATURA.....	20
4.1 Irradiadores.....	20
4.1.1 Tipos de Irradiadores gama.....	20
4.1.1.1 Irradiador gama categoria I (autoblindado).....	21
4.1.1.2 Irradiador gama categoria II panorâmico e com armazenagem da fonte a seco.....	25
4.1.1.3 Irradiador gama categoria III autoblindado com água.....	26
4.1.1.4 Irradiador gama categoria IV panorâmico e de armazenagem da fonte em água.....	27
4.1. 2 Tipos de Irradiadores de Acelerador de elétrons.....	29
4.1.2.1 Acelerador de elétrons de categoria I irradiador blindado.....	29
4.1.2.2 Acelerador de elétrons categoria II irradiador dentro de uma sala blindada..	30
4.1.3 Aplicação comercial no Brasil com o radioisótopo cobalto 60.....	31
4.1.4 Aplicação comercial no Brasil com o Acelerador de elétrons.....	32
4.1.4.1 Vantagens do processo de irradiação por feixes de elétrons.....	33
4.2 Legislação.....	34
4.2.1 Legislação Brasileira.....	34
4.2.1.1 De uma forma resumida os decretos e resoluções do Brasil são.....	35
4.3 Detecção de Alimentos Irradiados.....	36
4.4 Finalidade da norma europeia EN 1785.....	37
4.4.1 Princípio da norma europeia EN 1785.....	38
4.5 Detecção de 2-ACB (2- Alcilciclobutanonas).....	39
4.5.1 Detecção de 2-ACB em Alimentos: abacate.....	40
4.5.2 Detecção de 2-ACB em carnes, aves e ovos após o cozimento.....	43
5. CONCLUSÃO.....	45
6. PROPOSTAS PARA FUTUROS ESTUDOS.....	46
7. REFERÊNCIAS.....	47

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 - O logotipo da Radura do Codex Alimentarius.....	15
FIGURA 2 - Logotipo da Radura ilustração.....	15
FIGURA 3 - Irradiador gama autoblindado categoria I.....	21
FIGURA 4 - Esquema de irradiador gama de Cobalto-60 de categoria I pela SS-107.....	22
FIGURA 5 - irradiador gama autoblindado categoria I, indicado para irradiações de pequena escala.....	23
FIGURA 6 - Esquema do arranjo de fontes dentro do irradiador.....	24
FIGURA 7 - Visualização do corte superior, esquema de funcionamento de irradiador gama autoblindado, com uma fonte radioativa e mesa giratória.....	24
FIGURA 8 - Estrutura física do irradiador gama de categoria II GammaBeam-127, fabricado pela MDS Nordion, catálogo MDS Nordion.....	26
FIGURA 9 - Irradiador gama categoria III autoblindado com água pela AIEA.....	27
FIGURA 10 - Irradiador gama de cobalto-60, categoria IV pela AIEA.....	28
FIGURA 11 - Acelerador de elétrons de categoria I utilizado para a reticulação de filmes plásticos.....	29
FIGURA 12 - Acelerador de elétrons de categoria II. A esteira leva os produtos para serem irradiados sob o feixe de elétrons vindos da corneta (scan horn).....	30
FIGURA 13 - Irradiador gama com fontes de Cobalto 60.....	32
FIGURA 14 - Acelerador linear de elétrons.....	32
FIGURA 15 - Transformação química de ácidos graxos com 2-ACBS pela ação da radiação ionizante.....	39
FIGURA 16 - Cromatograma e espectro dos íons m/z 98 e m/z 112 das 2-CHCH, 2-DCB e 2TCB.....	41
FIGURA 17 - GC -MS Cromatograma do abacate irradiado com 7 kGy, espectro de massa de 2-TCB do abacate irradiado.....	42

1. INTRODUÇÃO

A irradiação de alimentos é um meio de preservação onde se utiliza uma técnica de processamento que expõe alimentos a uma radiação ionizante controlada de alta energia (Diehl, 2002; Fanaro et al., 2012; Driffield et al., 2013).

Este processo em alimentos vem sendo estudado a cerca de 100 anos ao longo da história, mas somente foi consolidado sendo uma tecnologia segura para o processamento de alimentos durante a segunda metade do século XX. A partir desta data houve um aumento significativo de pesquisas relacionadas ao aperfeiçoamento desta técnica (Farkas, J, Farkas C. M, 2011).

Durante a segunda guerra mundial com o desenvolvimento tecnológico, foram construídos equipamentos que poderiam ser adaptados e aumentar a aplicação do processamento por radiação. Estudos realizados pelos Estados Unidos estimularam a realização de experimentos por outros países. Um dos primeiros usos comerciais da irradiação de alimentos na Europa ocorreu na Alemanha em 1957, quando os produtores de condimentos começaram a melhorar a qualidade higiênica de seus produtos (Diehl, 2002).

Entre as décadas de 70 e 80 foram dedicadas em todo mundo pesquisas para comprovar a inocuidade dos alimentos irradiados através de testes toxicológicos, pois era um dos aspetos mais questionados da época. Foram desenvolvidos projetos com a participação de 24 países sob a organização de um Comitê formado pela *International Atomic Energy Agency* (IAEA/Viena), *Food Agriculture Organization* (FAO/Roma) e *Organization for Economic Cooperation* (OEC/Paris) e teve como órgão consultivo a Organização Mundial da Saúde (OMS). Depois de incessantes estudos realizados, que envolviam testes químicos e experimentos com animais que tinha sua alimentação restringida somente com produtos irradiados, o Comitê concluiu, “que a exposição de qualquer produto alimentício com doses de até 10 kGy não apresentaram perigo toxicológico; portanto, testes toxicológicos com alimentos

assim tratados não eram mais necessários” esta afirmação foi declarada em novembro de 1980 (WHO, 1999). Atualmente existem algumas pesquisas que estão empenhadas em rever estas publicações e identificar falhas de pesquisas promovidas por falta de tecnologia/metodologias específicas para estes estudos.

O tratamento realizado com o uso das radiações ionizantes em alimentos tem muitas aplicações tecnologicamente e tecnicamente viáveis incluindo a capacidade de melhorar a segurança microbiológica, reduzir os níveis de bactérias patogênicas, inibir a germinação de tubérculos, aplicação fitossanitária, conservar alimentos armazenados ou a estabilidade de armazenamento e também é utilizada para aumentar a vida de prateleira de determinados produtos devido à redução da contaminação por microrganismos (Delincée, 2002; Morehouse 2002; Farkas, J, Farkas C. M, 2011). A irradiação de alimentos frescos também é útil para a redução de carga microbiana em produtos que são propensos ao ataque de microrganismos, especialmente para alimentos que são vendidos sem tratamento térmico, como a carne de aves, pescados, carne bovina cruas e frutos do mar (Farkas, 2001; Duarte et al., 2009; Crews et al., 2012).

Existem diferentes métodos de conservação de alimentos dentre eles um dos mais eficientes é o uso da irradiação, pois não aumenta significativamente a temperatura do alimento, mantendo próximo ao seu estado natural, diferente dos métodos tradicionais como aquecer ou enlatar que podem causar diferentes alterações em relação a sua cor, textura, sabor e podendo transformá-la em um produto cozido. Tratamentos químicos, térmicos e irradiação (em alimentos que contenham gordura) podem deixar resíduos tóxicos para a saúde humana. A aplicação da irradiação em alimentos prontos para consumo deve ser utilizada em produtos devidamente embalados, incluindo aqueles que não resistem ao calor. Isto significa que o tratamento com a radiação deve ser realizado após a sua embalagem final, evitando a recontaminação ou reinfestação do produto (Farkas, J. 2006; Castro et al., 2011).

De acordo com a Norma Geral do Codex Alimentarius no processo de irradiação de alimentos, utiliza-se diferentes métodos de irradiação como, o radioisótopo ^{60}Co que emite fótons gama, raios-X provenientes dos equipamentos

com energia máxima de até 5 MeV ou aceleradores de elétrons com energia máxima de até 10 MeV e nenhuma destas fontes de energia induz radioatividade nos alimentos ou na sua embalagem o que garante o consumo e a comercialização (Morehouse, 2002; Farkas, J. 2006; Farkas, J, Farkas C. M, 2011).

A utilização da radiação ionizante em alimentos é um processo muito eficaz e dependente da dose de radiação aplicada, principalmente pelo fato de danificar o DNA de microrganismos, tais como *Salmonella*, *Campylobacter* e *Escherichia coli*, insetos gametas, e meristemas de plantas, de modo que as células se tornem inativas impedindo a sua reprodução, também ajuda a retardar o envelhecimento de frutas e legumes por dificultar o amadurecimento, germinação e brotamento, ou para descontaminar alimentos eliminando os insetos invasores (Farkas, J. 2006; Duarte et al., 2009; Driffield et al., 2013).

Os microrganismos são sensíveis à radiação ionizante e esta sensibilidade pode ser relacionada a algumas variáveis como sua composição química, estrutura física e na sua capacidade de se recuperar de uma lesão por radiação ionizante. A energia de radiação necessária para controlar os microrganismos presentes nos alimentos varia conforme a resistência à espécie em particular e de acordo com o número de organismos presentes. Existem também outros fatores como composição do meio, o teor de umidade, a temperatura durante a irradiação, presença ou ausência de oxigênio, no estado fresco ou congelado resistência à influência de radiação, em particular no caso de células vegetativas (Farkas, 2006; Villavicencio, 2007; Castro et al., 2011).

Em relação à salubridade, os alimentos irradiados tem sido extensivamente estudados em diferentes cooperações. São grandes os números de grupos de peritos internacionais que em conjunto a *Food and Agriculture Organization* (FAO), a *International Atomic Energy Agency* (IAEA) e a Organização Mundial da Saúde (OMS), e o Comitê Científico da Alimentação da Comissão Européia concluíram que os alimentos irradiados com o uso de tecnologias apropriadas são meios seguros e nutricionalmente adequadas quando se respeitam as características de composição de cada alimento (Morehouse, 2002; Fanaro, 2009; Farkas, J, Farkas C. M, 2011).

O uso da terminologia “Radura” é um procedimento adotado por diferentes países para padronizar e rotular alimentos irradiados. A palavra "Radura" é derivada de “*radurization*” que significa radiação e "Duro" palavra latina para se referir a algo duradoura, é o símbolo internacional, para mostrar que um alimento foi tratado com processo de irradiação (Ehlermann, 2009).

O Termo Radura foi destinado a substituir a até então denominada terminologia de **esterilização por radiação** ou **pasteurização por radiação** que não eram tecnicamente corretas. O argumento idêntico é válida contra outro proposto como terminologia “**pasteurização a frio**”. Desde o início na década de 60, o símbolo Radura sempre foi usado como um símbolo de qualidade excepcional para alimentos processados por radiação ionizante (Ehlermann, 2009).

Originalmente, o logotipo foi usado exclusivamente pela Planta Piloto para Irradiação de Alimentos, em Wageningen, na Holanda, proprietário dos direitos autorais. Posteriormente foi permitida a utilização do logotipo para todo mundo aderindo às mesmas regras de qualidade (Ehlermann, 2009).

O símbolo Radura (FIG. 1 e 2) pode também ser lido da seguinte forma, o ponto central é a fonte de radiação, os dois segmentos de círculo "folhas" são o escudo biológico com significado de proteger os trabalhadores e o meio ambiente, o anel exterior é o sistema de transporte, a metade inferior é protegida da radiação pelo escudo biológico, a metade superior simboliza os raios que atingem produtos no sistema de transportes (Ehlermann, 2009).

FIGURA 1 - O logotipo da Radura do Codex Alimentarius

Fonte: Adaptada de Ehlermann, 2009

FIGURA 2 - Logotipo da Radura ilustração

Fonte: Adaptada de Steriltr, 2016 (Disponível em: http://www.steriltr.com/sektor.aspx?prjid=28&data=gida_pastorizasyonu_-_gida_isinlama_teknolojisi)

O uso do logotipo da Radura é voluntária de acordo com a norma geral “*Codex Alimentarius*” para alimentos irradiados. No entanto, alguns países como EUA, fazem o seu uso obrigatório, alguns países autorizam o uso opcional, outros, em particular a União Européia, não proporciona a utilização deste logotipo. No Brasil conforme legislação ANVISA RDC 21 de 2001, é necessário ter na rotulagem a especificação que o alimento foi tratado pelo processo de irradiação, mas não obriga rotular com o logo da Radura. Pela norma do Codex o símbolo está em verde, com todos os elementos preenchidos, alguns países permitem diferentes desenhos e diferentes cores (Codex, 2003; Ehlermann, 2009).

É fundamental para o correto estabelecimento do processo de irradiação de alimentos que se utilizem boas práticas de fabricação (“*Good Manufacturing Practices* – GMP”), já que o processamento por irradiação não pode melhorar a má qualidade dos produtos alimentícios ou uma manipulação indevida, pois não reverte o processo fisiológico e químico da decomposição (Delincée, 1998; Araújo et al., 2004).

Em função do 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 e de métodos de detecção do tratamento (ICGFI, 1999; Furgeri et al., 2009).

Métodos de detecção do processamento por radiação têm sido desenvolvidos e padronizados para uma grande gama de alimentos, incluindo especiarias, carnes, grãos, raízes e tubérculos, vegetais e outros (Villavicencio et al., 2000; Farkas, 2006).

A radiação ionizante quando é incorporada por um material biológico, pode ter uma ação direta ou indireta sobre o material que recebeu este procedimento. A ferramenta primária no qual a radiação elimina os microrganismos é dada pela quebra das fitas duplas de DNA (*deoxyribonucleic acid*) ocasionando a inativação dessa célula. Esse procedimento é dominante quando esporos secos de microrganismos são irradiados. Já o efeito indireto é responsável por 70% de todo efeito da radiação e é ocasionado pela interação da radiação com a molécula de água, o que acaba formando os denominados radicais livres. Estes irão exercer interação com outros constituintes do material biológico tratado com a radiação ionizante, de maneira equivalente aos que reagem nos alimentos. Esse processo é muito importante em células vegetais, que possuem uma grande quantidade de água (Hayes et al., 1995; Monk et al., 1995; Morehouse, 1998). Mesmo utilizando doses baixas existe a produção de radicais livres, a interação da água com o oxigênio pode elevar muito a produção desses radicais, e principalmente o peróxido de hidrogênio (H_2O_2) que é reconhecido por ser um agente oxidante (Diehl, 2002; Morrissey 2002; Khattak et al., 2009).

O processamento por radiação resulta em formações de padrões característicos de hidrocarbonetos saturados, aldeídos, metil e etil ésteres e 2-alcilciclobutanonas, dependendo da composição do ácido graxo do lipídio que compõe o alimento. As reações induzidas pela irradiação não são resultados de distribuições estatísticas de deficiências nas ligações químicas. O curso da radiólise segue caminhos que são amplamente influenciados pela estrutura da molécula. No caso de gorduras, onde todas suas moléculas possuem oxigênio, a remoção de elétron é amplamente encontrada no oxigênio e as reações seguintes são fortemente direcionadas pela tendência desse átomo tentar completar seus elétrons nos orbitais (Nawar, 1978).

Hoje já encontramos bases sólidas para a irradiação de alimentos e que são amparadas por normas e legislações nacionais e internacionais decorrentes a estudos e pesquisas ao longo da história, por este motivo esta aplicação vem sendo difundida por muitos países pela sua confiabilidade deste processo (Diehl, 1995; Diehl, 2002; Farkas, 2011).

O uso da irradiação de alimento é um processamento adequado a certos tipos de alimentos, porém a aceitação do consumidor é uma questão delicada e muitas vezes injustas decorrentes da falta de informações, educação e principalmente uma comunicação adequada, assim sendo, se nota que o consumidor tem uma visão distorcida em relação ao alimento tratado com o processo de irradiação, pensando ser algo perigoso ou prejudicial à saúde (IAEA, 2001; Delincée, 2002, Farkas, 2011).

2. OBJETIVO

- Pesquisar sobre o efeito das diferentes doses de radiação gama e de elétrons em alimentos que possuem gordura para verificar as possíveis alterações decorrentes do uso da irradiação;
- Reunir e compilar em forma de revisão, os resultados encontrados sobre a presença de 2-Alcliciclobutanonas pela irradiação em alimentos que possuem gordura.
- Mostrar os principais equipamentos utilizados para a irradiação de alimentos e suas categorias, com o objetivo de informar o público em geral.

3. METODOLOGIA

Foi feito um estudo sobre o tema através de resultados de pesquisas bibliográficas em livros, periódicos e em bases científicas eletrônicas apresentando dados comparativos dos resultados existentes tanto de revisões como trabalhos experimentais.

Na revisão foram utilizadas 49 referências retiradas de bases bibliográficas da USP, Science direct, ANVISA, IPEN e CNEN, sendo utilizadas as palavras - chave: irradiação de alimentos, métodos de detecção, formação de 2-alcilciclobutanonas, food irradiation, detection methods, formation of 2-alcilciclobutanonas em português e inglês.

4 REVISÃO DA LITERATURA

Devido à falta de informação do público em geral sobre como os alimentos são irradiados e quais são os equipamentos utilizados, abaixo são apresentados os principais equipamentos e suas categorias e empresas que utilizam estes equipamentos para fins comerciais.

4.1 Irradiadores

De acordo com a Norma Geral do Codex Alimentarius no processo de irradiação de alimentos, utiliza-se diferentes métodos de irradiação como, o radioisótopo ^{60}Co que emite fótons gama, raios-X provenientes dos equipamentos com energia máxima de até 5 MeV ou aceleradores de elétrons com energia máxima de até 10 MeV e nenhuma destas fontes de energia induz radioatividade nos alimentos ou na sua embalagem o que garante o consumo e a comercialização (Morehouse, 2002; Wen, 2006; Farkas, J. 2006; Farkas, J, Farkas C. M, 2011). Atualmente duas empresas comerciais no Brasil, utilizam fontes de ^{60}Co e aceleradores de elétrons para a irradiação de alimentos: a Sterigenics Brasil, situada no estado de São Paulo e a Acelétron, no estado do Rio de Janeiro.

4.1.1 Tipos de Irradiadores gama

Existem diferentes tipos de irradiadores gama cada um com sua particularidade. A Agência Internacional de Energia Atômica - AIEA classifica os irradiadores gama nas categorias I (autoblindado), II (panorâmico e com armazenagem da fonte a seco), III (autoblindado com água) e IV (panorâmico e de armazenagem da fonte em água), isso de acordo com o design da instalação e principalmente, a acessibilidade e a blindagem das fontes radioativas, a seguir estarão descritos os principais irradiadores que podem ser utilizados para o processo de irradiação de alimentos. (Calvo, 2005; IAEA, 2010; Rodrigues, 2014).

4.1.1.1 Irradiador gama categoria I (autoblindado)

O Irradiador gama autoblindado (Fig.3) contém uma fonte radioativa totalmente selada em um contêiner seco, constituído de um material sólido, que a blindar e a sela permanentemente, de tal forma que o acesso humano a fonte radioativa selada e ao volume durante a irradiação não é fisicamente possível. O material a ser irradiado deve ser levado até a fonte (IAEA, 2010; Rodrigues, Jr, 2014).

FIGURA 3 - Irradiador gama autoblindado categoria I

Fonte: Adaptada do IPEN, 2016 (Disponível em: https://www.ipen.br/portal_por/portal/interna.php?secao_id=35&campo=1728)

FIGURA 4 - Esquema de irradiador gama de Cobalto-60 de categoria I pela SS-107

Fonte: Adaptada de Rodrigues, Jr, 2014

Sample loading tube: Câmara de irradiação, onde o material a ser irradiado deve ser colocado para descer até a fonte.

Shielding collar: Sistema de segurança e blindagem, que somente é liberado para abertura quando o sample loading tube está totalmente para cima.

Shielding source container: Blindagem do conjunto de fontes.

Sample loading drive: Painel de controle do irradiador.

A (Fig.5) demonstra um irradiador gama autoblindado categoria I, indicado para irradiações de pequena escala. O suporte com amostra deve ser colocado na câmara de irradiação, quando se está na posição de carga. E dependendo da taxa de dose do dia que será feito a irradiação, o marcador de tempo no painel de controle (situado na imagem embaixo à direita) é ajustado para fornecer a dose desejada (Rodrigues, Jr, 2014).

FIGURA 5 - irradiador gama autoblindado categoria I, indicado para irradiações de pequena escala

Fonte: Adaptada de Rodrigues, Jr, 2014

É demonstrado na FIG. 6 um exemplo, onde as fontes estão organizadas na forma de anel e a câmara de irradiação com o material a ser exposto é abaixado no meio dele, o que fará com que tal material receba a radiação ionizante de todas as direções, assim garantindo uma boa distribuição de dose.

O uso do irradiador gama autoblindo impõe restrições sobre o volume limite da amostra, isso decorrente à disposição das fontes, seu volume é de 1 a 5 litros. Entretanto, esse volume é muito adequado para pesquisas ou irradiações de pequena escala (IAEA, 2010; Rodrigues, Jr, 2014).

FIGURA 6 - Esquema do arranjo de fontes dentro do irradiador

Fonte: Adaptada de Rodrigues, Jr, 2014

Apesar de ser bastante comum este modelo de irradiador compacto, a sua produção foi interrompida. Em seu lugar, foram colocados modelos cuja câmara de irradiação possui uma única fonte e o material fica girado em torno do próprio eixo em frente a ela, com o propósito de assemelhar a dose. Um esquema desse sistema é demonstrado na FIG. 7. Como o custo do material radioativo é expressivo no valor final desses irradiadores, a grande vantagem é a diminuição do seu preço, com a obtenção do mesmo propósito, embora haja um aumento do tempo de aplicação da dose. (IAEA, 2010; Rodrigues, Jr, 2014).

FIGURA 7 - Visualização do corte superior, esquema de funcionamento de irradiador gama autoblindado, com uma fonte radioativa e mesa giratória

Fonte: Adaptada de Rodrigues, Jr, 2014

4.1.1.2 Irradiador gama categoria II panorâmico com armazenagem da fonte a seco

O irradiador gama de categoria II pela Agência Internacional de Energia Atômica – AIEA tem acesso de pessoas à câmara de irradiação e, por esse motivo, deve ser rigorosamente controlado. Quando a fonte de radiação gama não está sendo usada ela é recolhida para um contêiner de armazenamento seco feito de material sólido, para blindá-la, com isso não há a emissão de radiação, possibilitando o acesso de pessoas cujo propósito seja a manutenção, inspeção ou para a retirada ou colocação de materiais que serão expostos ou que já foram submetidos à radiação (Calvo, 2005; IAEA, 2010; Rodrigues, Jr, 2014).

Quando se quer irradiar algum material, a fonte radioativa deve ser levantada de sua blindagem, mas antes, deve ser feito procedimentos que visam à retirada das pessoas de dentro da câmara de irradiação através dos sistemas de segurança, que a mantém inacessível durante todo o processamento. As pessoas na parte externa do irradiador não são irradiadas, porque, há uma blindagem externa de concreto que reduz o nível de radiação ionizante que sai da fonte, quando ela está fora do contêiner de armazenamento (Calvo, 2005; IAEA, 2010; Rodrigues, Jr, 2014).

A seguir é demonstrado a estrutura física de um irradiador gama de categoria II e suas principais características.

FIGURA 8 - Estrutura física do irradiador gama de categoria II GammaBeam-127, fabricado pela MDS Nordion, catálogo MDS Nordion
Fonte: Adaptada da Rodrigues, Jr, 2014

4.1.1.3 Irradiador gama categoria III autoblindado com água

No Irradiador gama categoria III autoblindado com água pela Agência Internacional de Energia Atômica – AIEA (Fig.9), a fonte selada está fixada no fundo de uma piscina, onde é coberta e blindada pela água deionizada. A água da piscina tem três funções, primeira brindar a radiação emitida, segunda restringir o acesso de pessoas a fonte e terceira e última, dissipar o calor gerado pela fonte. Uma das vantagens deste irradiador é a capacidade de poder utilizar fontes radioativas com energias elevadas, o que limitaria se fosse um irradiador do tipo I ou II (IAEA, 2010; Rodrigues, Jr, 2014).

FIGURA 9 - Irradiador gama categoria III autoblindado com água pela AIEA

Fonte: Adaptada da Rodrigues, Jr, 2014

4.1.1.4 Irradiador gama categoria IV panorâmico e de armazenagem da fonte em água

No Irradiador gama categoria IV pela Agência Internacional de Energia Atômica – AIEA, o acesso de pessoas à câmara de irradiação é possível e, por este motivo, deve ser controlada, a fonte radioativa selada fica armazenada em uma piscina de estocagem, que continuamente é blindada por água deionizada. Quando a fonte não está sendo utilizada ela fica no fundo da piscina por motivos de segurança, e quando ela é utilizada, a fonte fica em posição de exposição e à grade de fontes fica fora do tanque para irradiar os produtos e o compartimento de irradiação é mantido inacessível durante o uso do equipamento. Na figura 10 mostra

um exemplo de um Irradiador gama categoria IV pela AIEA, e seus principais componentes (Calvo, 2005; IAEA, 2010; Rodrigues, Jr, 2014).

FIGURA 10 - Irradiador gama de cobalto-60, categoria IV pela AIEA

Fonte: Adaptada da Rodrigues, Jr, 2014

4.1.2 Tipos de Irradiadores de Acelerador de elétrons

Serão descritos dois irradiadores de acelerador de elétrons um de categoria I irradiador blindado e categoria II irradiador dentro de uma sala blindada.

4.1.2.1 Acelerador de elétrons de categoria I irradiador blindado

No acelerador de categoria I, a unidade de irradiação ionizante é completamente blindada e com intertravamentos de segurança. O formato da blindagem não permite o acesso de pessoas no local de processamento, a figura 11 exibe um acelerador de elétrons para a reticulação de filmes plásticos (Rodrigues, Jr, 2014).

FIGURA 11 - Acelerador de elétrons de categoria I utilizado para a reticulação de filmes plásticos

Fonte: Adaptada da Rodrigues, Jr, 2014

4.1.2.2 Acelerador de elétrons categoria II irradiador dentro de uma sala blindada

O equipamento fica instalado dentro de salas blindadas, onde durante toda a operação fica impossibilitada a entrada de pessoas, sendo assim existem sistemas de seguranças rígidos. Existe somente um feixe de radiação que sai do equipamento, e quando os produtos são colocados nas esteiras deve-se garantir que todo volume seja irradiado, por isso é utilizado a técnica do feixe de varredura. Nela a delimitação da varredura pode ser vista pela dimensão da corneta (*scan horn*), a última etapa do percurso do feixe é mantida em vácuo. O isolamento da corneta do ambiente é feito por finas placas metálicas denominadas janelas, medindo tamanhos extremamente pequenos em torno de dezenas de micrômetros, assim permite que o feixe de elétrons passe com pouca perda por absorção e, ao mesmo tempo, mantém o vácuo no sistema. Um metal bastante utilizado nesta função é o titânio. A seguir é apresentado um acelerador de elétrons de categoria II (Rodrigues, Jr, 2014).

FIGURA 12 - Acelerador de elétrons de categoria II. A esteira leva os produtos para serem irradiados sob o feixe de elétrons vindos da corneta (*scan horn*)

Fonte: Adaptada da Rodrigues, Jr, 2014

4.1.3 Aplicação comercial no Brasil com o radioisótopo cobalto 60

Em 1978, a EMBRARAD foi a empresa pioneira em utilizar a radiação gama para a esterilização em alimentos e produtos no Brasil e atualmente, depois de várias fusões de empresas de irradiação de alimentos, a Sterigenics, companhia Americana, conta com o maior acelerador de partículas (E-BEAN) da América Latina (CBE Sterigenics, 2015).

A empresa esteriliza produtos médicos descartáveis, utiliza doses estabelecidas por RDC do MAPA para utilização fitossanitária e reduz carga microbiana em alimentos e produtos alimentícios por meio da energia ionizante que são métodos simples e eficazes. Os produtos são expostos a uma determinada quantidade de energia gerada pelo acelerador de elétrons, ou por fontes de ^{60}Co (Fig. 13) (a escolha do processo depende do produto a ser tratado). Neste processo a radiação ionizante entra em contato com o alimento ou o produto, rompendo a cadeia de DNA dos micro-organismos levando-os à morte ou à incapacidade de reprodução no caso de insetos (Fitossanitário) (CBE Sterigenics, 2015).

A escolha deste método é feita por uma equipe de especialistas, de acordo com a demanda de cada cliente e produto. Primeiramente é feita uma avaliação, e em seguida os produtos são tratados em ambientes especialmente preparados para o procedimento. Os processos são realizados com os produtos em suas embalagens finais, sem a necessidade de manipulação para não haja uma recontaminação (CBE Sterigenics, 2015).

FIGURA 13 - Irradiador gama com fontes de Cobalto 60

Fonte: Adaptada da CBE Sterigenics, 2015

4.1.4 Aplicação comercial no Brasil com o Acelerador de elétrons

A Acelétron e a Sterigenics são empresas que prestam serviços de irradiação industrial utilizando aceleradores lineares de elétrons (Fig.14). A Aceletron utiliza máquinas do tipo LINAC de 18 kW de potência e 10 MeV de energia cada um, o feixe de elétrons permite irradiar industrialmente os mais variados alimentos, produtos e materiais.

FIGURA 14 - Acelerador linear de elétrons

Fonte: Adaptada da Acelétron, 2015

Os equipamentos geram feixes de elétrons através de um semicondutor catódico, utilizando altas energias que são acelerados pelo LINAC, este sistema é utilizado para irradiar produtos embalados que são transportados por uma esteira, que passam pelo feixe de elétrons. A taxa de dose de cada acelerador linear permanece constante. A dose aplicada ao produto pode ser variada com ajuste na velocidade da esteira transportadora, controlando assim o tempo de exposição do produto ao feixe. O acelerador linear é o componente principal do sistema e é posicionado verticalmente. Este é o lugar onde os elétrons são gerados, concentrados na forma de feixe e acelerados. Uma das vantagens deste sistema é que não existem partes móveis no acelerador linear, requerendo assim baixa manutenção (Acelétron, 2015).

4.1.4.1 Vantagens do processo de irradiação por feixes de elétrons

- > Melhor distribuição de dose
- > Processamento mais rápido de lotes de produtos
- > Maior precisão do mapeamento de dose
- > Não utiliza radioisótopos ou gases
- > Variação de temperatura menor que 1°C para irradiação de alimentos
- > Processamento de produtos em lotes individualizados
- > Não induz nenhum tipo de radioatividade no produto processado

4.2 Legislação

Os grupos de peritos internacionais que em conjunto a FAO, a AIEA e a OMS, ou o Comitê Científico da Alimentação da Comissão Europeia concluíram que os alimentos irradiados com o uso de tecnologias apropriadas são meios seguros e nutricionalmente adequados. Esta afirmação foi declarada pelo comitê técnico que se reuniu no ano de 1976 aonde concluíram que poderia ser utilizado a irradiação de qualquer produto alimentar com uma dose de até 10 kGy, pois não apresentaria perigos toxicológicos e não haveria a necessidade de testes toxicológicos posteriores (Diehl, 2002; Farkas, 2011). Estes conceitos estão sendo revistos devido a estudos mais recentes onde se detectou por métodos mais apurados e específicos com equipamentos de geração mais avançados a formação de produtos químicos unicamente formados pelo processamento por radiação (Gadgil et al., 2002; Marchioni et al., 2009; Crews et al., 2012).

A Norma Geral Codex é um Código Internacional de Recomendações Práticas no Processamento de alimentos irradiados, esta norma mostra diferentes aplicações específicas de irradiação de alimentos que são aprovados pelas legislações nacionais em mais de 55 países em todo o mundo, o Brasil adere esta norma entre outras como recomendações internacionais sugeridas pela *Food and Agriculture Organization* (FAO), *International Atomic Energy Agency* (IAEA) e *Codex Alimentarium*, da Organização das Nações Unidas (ONU) (Morehouse 2002; Farkas, 2011; Rodrigues et al., 2012).

4.2.1 Legislação Brasileira

Na legislação brasileira o uso da radiação ionizante para alimentos é aprovada por meio da resolução RDC nº 21, de 26 de janeiro de 2001, que diz que sua aplicação tenha a finalidade sanitária, fitossanitárias e/ou tecnológicas e a dose mínima absorvida seja suficiente para atingir o objetivo pretendido e a dose máxima seja menor que à dose que possa comprometer as propriedades funcionais ou de qualquer atributo do alimento (ANVISA, 2016).

Uma das principais considerações, que deve ser sempre observada, é que o processo com a radiação ionizante, bem como qualquer outro tratamento utilizado nos alimentos não deve ser substituído pelas boas práticas de fabricação e manuseio. A resolução ainda diz que a embalagem deve ter condições higiênicas aceitáveis, ser conveniente para o procedimento de irradiação, e estar de acordo com a legislação atual e aprovada pela autoridade sanitária competente (ANVISA, 2016).

4.2.1.1 De uma forma resumida os decretos e resoluções do Brasil são:

Decreto-lei nº 986 de 21 de outubro de 1969, aonde institui as normas básicas sobre alimentos e as primícias da legislação brasileira sobre a irradiação de alimentos referenciada no Art 2º VII (ANVISA, 2016).

Decreto nº 72.718 de 29 de Agosto de 1973, Estabelece normas gerais sobre irradiação de alimentos e estabelece à elaboração, armazenamento, transporte, distribuição, importação, exportação e exposição à venda ou entrega ao consumo de alimentos irradiados (ANVISA, 2016).

Resolução RDC nº 21, de 26 de janeiro de 2001, Estabelecer os requisitos gerais para o uso da irradiação de alimentos com vistas à qualidade sanitária do produto final (ANVISA, 2016).

4.3 Detecção de Alimentos Irrradiados

É fundamental para o correto estabelecimento do processo de irradiação de alimentos que se utilizem boas práticas de fabricação (“Good Manufacturing Practices – GMP”), já que o processamento por radiação não pode melhorar a má qualidade dos produtos alimentícios ou uma manipulação indevida, pois não reverte o processo fisiológico e químico da decomposição (Delincée, 1998; Villavicencio et al., 2007; Fanaro, 2009).

Em função do 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 e de métodos de detecção do tratamento (ICGFI, 1999; Villavicencio et al., 2007; Fanaro, 2009).

Métodos de detecção do processamento por irradiação têm sido desenvolvidos e padronizados para uma grande gama de alimentos, incluindo especiarias, carnes, grãos, raízes e tubérculos, vegetais e outros (Farkas, 2006).

Particularmente na Europa, os consumidores permaneceram céticos sobre a tecnologia de irradiação de alimentos e por isso, não foi nenhuma surpresa que alguns países europeus foram pioneiros em desenvolver métodos de detecção. Inúmeras pesquisas foram realizadas tanto na União Européia quanto em todo o mundo, resultando em eficientes protocolos para identificar quais alimentos foram ou não irradiados. Até então, o “mito” que alimentos irradiados não poderiam ser detectados e que não eram formados quaisquer produtos únicos da radiação foi substituído pelo conhecimento que muitas mudanças podem ocorrer nos alimentos irradiados e essas mudanças poderiam ser utilizadas como ferramentas para identificar essa tecnologia. Em um dado momento, mais de 30 testes interlaboratoriais foram desenvolvidos para validar os métodos de detecção (Delincée et al., 2002).

Destas duas foram escritas baseadas na detecção de mudanças estruturais que ocorrem quando lipídios, encontrados nos alimentos, são irradiados, são elas: EN1784 (2003) (detecção de hidrocarbonetos voláteis) e EN1785 (2003) (detecção das 2-alcilciclobutanonas).

O processamento por radiação resulta em formações de padrões característicos de hidrocarbonetos saturados, aldeídos, metil e etil ésteres e 2-alcilciclobutanonas, dependendo da composição do ácido graxo do lipídio que compõe o alimento. As reações induzidas pela irradiação não são resultados de distribuições estatísticas de deficiências nas ligações químicas. O curso da radiólise segue caminhos que são amplamente influenciados pela estrutura da molécula. No caso de gorduras, onde todas suas moléculas possuem oxigênio, a remoção de elétron é amplamente encontrada no oxigênio e as reações seguintes são fortemente direcionadas pela tendência desse átomo tentar completar seus elétrons nos orbitais (Nawar, 1978; Delincée, 1998).

4.4 Finalidade da norma europeia EN 1785

A norma europeia EN 1785 é um método específico para identificar os efeitos das radiações ionizantes em alimentos que possuem gordura. Se baseia na detecção de 2-alcilciclobutanonas, que são formadas pela radiação ionizante, durante o processamento de alimentos e detectados por espectrometria de massas (EM) após a separação por cromatografia gasosa (CG).

O método foi testado com sucesso em ensaios interlaboratoriais em carne de frango, carne suína, ovo líquido, salmão e queijo *Camembert* crus. Outros estudos demonstram que este método é aplicável em uma ampla faixa de produtos alimentícios que possuam gordura (EN1785, 2003).

4.4.1 Princípio da norma europeia EN 1785

Na norma europeia se observa que durante a irradiação, a ligação alcil-oxigênio nos triglicerídeos é quebrada e essa reação resulta na formação das 2-alcilciclobutanonas que possuem o mesmo número de átomos de carbono que seu ácido graxo de origem e o grupo alcil se localiza no anel de posição 2. Deste modo, se a composição do ácido graxo é sabida, as 2-alcilciclobutanonas formadas podem ser preditas (EN1785, 2003).

As 2-alcilciclobutanonas que foram analisadas nos estudos interlaboratoriais foram 2-dodecilmciclobutanona (2-DCB) e as 2-tetradecilmciclobutanona (2-TCB) que são formadas a partir do ácido palmítico e esteárico respectivamente durante a irradiação. As 2-alcilciclobutanonas são extraídas utilizando n-hexano ou n-pentano junto com a gordura. O extrato é então fracionado usando cromatografia por adsorção antes da separação por cromatografia gasosa e a detecção com o espectrômetro de massas. Outras 2-alcilciclobutanonas, exemplo 2-tetradec-5-enilmciclobutanona é derivada do ácido oléico que também é identificado em produtos alimentícios irradiados (EN1785, 2003).

Em um processo alternativo para extração e purificação das 2-alcilciclobutanonas a extração por fluido supercrítico (EFS) tem sido empregada com sucesso. A Cromatografia de adsorção em coluna de sílica gel impregnada com nitrato de prata tem se mostrado efetiva para a detecção de alimentos irradiados com doses muito baixas ou contendo ingredientes irradiados. Cromatografia líquida acoplada (LC)-GC-ME tem sido utilizada com sucesso como um procedimento alternativo para a purificação e detecção. Deve-se notar, entretanto, que essa metodologia alternativa não foi validada e nem utilizada em experimentos interlaboratoriais (EN1785, 2003).

4.5 Detecção de 2-ACB (2-Alcilociclobutanonas)

As 2-ACBs foram detectadas em lipídios irradiados primeiramente por LeTellier e Nawar (1972). Estes autores descobriram que quando os triglicerídeos contendo ácidos graxos com 6, 8, 10, 12, 14, 16 e 18 moléculas de carbono, eram submetidos à irradiação com doses altas (60 kGy), as 2-ACBs eram formadas como produtos radiolíticos. Essas alcilociclobutanonas são compostos cíclicos formados pela perda de um elétron proveniente do oxigênio do carbono do ácido graxo ou triglicerídeo, seguido por um processo de rearranjo, produzindo as 2-ACBs específicas do lipídio de origem, ou seja, o composto resultante possui o mesmo número de átomos de carbono do seu ácido graxo de origem, com um grupo alcil formando um anel na posição 2 (FIG. 15).

FIGURA 15 - Formação de 2-alcilociclobutanonas de um triglicérido pela ação da irradiação ionizante

Fonte: Adaptada de Song et al., 2014

Estudos com carne de frango e ovo lançaram a hipótese que as 2-dodecil-, 2-tetradecadienil- e 2-tetradecenil ciclobutanonas são compostos formados unicamente no processo de irradiação, pois esses compostos só foram detectados após a irradiação. Esses compostos foram batizados de produtos radiolíticos únicos (PRU), e futuramente foram considerados como “marcadores” para se detectar alimentos irradiados (Crone et al. 1992;1993, Castro,2011).

Mas um único artigo escrito por Variyar em 2008 demonstrou que as 2-ACB podem ser detectadas em alimentos não-irradiados. Porém nenhum outro autor conseguiu reproduzir este artigo que utilizou como material de estudo a castanha-de-cajú e a noz-moscada, pois são alimentos com altas concentrações de gordura, o método de extração utilizado foi a supercrítica por CO₂ e um método de concentração denominada de cromatografia de camada delgada. Desta forma conseguiu identificar e quantificar as 2-dodecilciclobutanona e 2-tetradecilciclobutanona, demonstrando que as 2-ACBs não são produtos únicos da irradiação, considerando que as 2-ACBs ainda podem ser consideradas como marcadoras do processamento por radiação, devido ao fato de protocolos oficiais empregados somente conseguem detectar essas substâncias após a irradiação.

Entretanto a possibilidades para novas pesquisas a fim de colaborar com esses resultados. Outros estudos são requeridos para a confirmação desta proposta (Variyar et al., 2008).

4.5.1 Detecção de 2-ACB em Alimentos: abacate

As 2-alcilciclobutanonas são compostos apenas formadas em alimentos processados com radiações ionizantes, as quais são utilizadas como marcadores para detectar alimentos que foram irradiados quando eles têm algum conteúdo de gordura. Amostras de uma pesquisa que foram irradiadas com uma dose de 7 kGy e a extração realizada em Soxhlet de acordo com o método para a detecção EN 1785. Os resultados mostraram a utilidade da 2-alcilciclobutanonas como marcador para a identificação de alimentos irradiados. Os resultados obtidos mostraram que o abacate pode ser identificado pela 2-TCB (Álvarez et al., 2013).

As 2-ACBs foram identificadas usando GC-MS. Os picos correspondentes aos padrões internos 2-ciclohexilciclohexanona (2-CHCH), 2-dodecilciclobutanona (2-DCB) e 2-tetradecilciclobutanona (2-TCB), assim como tempos de retenção e monitorados os íons 98 e 112 m/z e a proporção observada foi de 4:1 para marcadores 2-TCB e 2-DCB tal como descrito na norma EN1785. A FIG. 16 mostra os picos do padrão interno (2-CHCH, 2-DCB e 2-TCB) e a sua retenção tempos para as condições utilizadas e os espectros de massa de íons (Álvarez et al., 2013).

Houve picos claros nos tempos de retenção de 2-CHCH ($17,294 \pm 0,01$ min), 2-DCB ($18,75 \pm 0,01$ min) e 2-TCB ($22,34 \pm 0,01$ min).

FIGURA 16 - Cromatograma e espectro dos íons m/z 98 e m/z 112 das 2-CHCH, 2-DCB e 2TCB

Fonte: Adaptada da Álvarez et al., 2013

As amostras que não foram irradiadas não houve a presença de picos nos tempos de retenção sobre as condições de análise utilizadas, demonstrando que a 2-ACB é um marcador específico de alimentos irradiados contendo gordura (Álvarez et al., 2013).

A FIG. 17 mostra o espectro de massas de abacate irradiado com 7kGy, o cromatograma típico de 2-CHCH em padrão interno foi ilustrado com picos a 17,29 min e 2 - TCB em 22.3.min.

FIGURA 17 - GC -MS Cromatograma do abacate irradiado com 7 kGy.

Espectro de massa de 2-TCB do abacate irradiado

Fonte: Adaptada da Álvarez et al., 2013

As amostras 2-DCB extraídos do abacate produziram picos para os íons de m/z 98 e 112 que são semelhantes para ambas às soluções padrão. O palmítico e ácido oleico são ácidos graxos predominantes no abacate, consequentemente, o tratamento por irradiação deste fruto deve conduzir à formação de 2-DCB e 2-TCB, respectivamente, no entanto, observou-se a produção de 2-TCB mas não 2-DCB, estes dados correspondem aos resultados obtidos por outros pesquisadores na

identificação de abacate irradiadas a 0,5 kGy utilizando o método de extração (Álvarez et al., 2013).

4.5.2 Detecção de 2-ACB em carnes, aves e ovos após o cozimento

O objetivo deste estudo foi de confirmar que a detecção de ambos 2-DCB e 2-TCB em carne cozida, aves e ovos seriam bons marcadores para Alimentos Irrradiados estes alimentos foram irradiados enquanto estavam crus. Os dois níveis de composto foram comparados em amostras irradiadas crus e cozidos, e nas amostras excessivamente aquecidas. Alguns estudos têm sido realizados sobre a estabilidade do 2-Alcilociclobutanonas com o cozimento e processamento de alimentos irradiados (Obana, 2006).

O trabalho mostrou que ambos 2-DCB e 2-TCB podem ser detectadas em carne, aves e ovos, cozidos após o processo com a irradiação; Assim, a análise dos dois compostos nas amostras seria um indicador que estes alimentos foram irradiados. Os níveis dos dois compostos eram principalmente afetados por cozimento numa base de concentração de gordura. Os dois compostos são estáveis desde que a temperatura no interior da amostra permanece sob 100°C durante o cozimento. As concentrações dos dois compostos variaram devido à perda de água e/ou de gordura durante o cozimento, e a adição de gordura exógeno diferente da amostra (Obana, 2006).

A expressão para a concentração de gordura base seria adequada para estimular o nível nas amostras cruas irradiadas, quando as amostras foram preparadas sem outras fontes de gordura. A estabilidade dos dois compostos parece ser semelhante, uma vez que as relações de 2-DCB / 2-TCB não foram alteradas com o cozimento e ambos os compostos foram reduzidos em concentração da mesma maneira (Obana, 2006).

Através do GC/MS detectou-se graves interferências nos cromatogramas devido ao cozimento, isso ocorreu mesmo com as amostras sendo aquecidas nas superfícies em torno de 200°C; Ressaltamos desta forma que os autores relataram que o próprio cozinhar não era um obstáculo para a determinação dos dois compostos. O estudo conclui que a análise de 2-DCB e 2-TCB nas amostras cozidas

seria um indicador confiável para a história da irradiação de carnes crua, aves e ovos (Obana, 2006).

5. CONCLUSÃO

É conhecido que o processamento por radiação ionizante provenientes dos diferentes irradiadores não afeta negativamente alguns níveis de biocompostos naturais nas doses baixas de radiação com finalidades fitossanitárias, são bem conhecidas e de ampla aplicação. As doses de até 10 kGy devem ser empregadas com muita cautela pois dependem do teor de gordura do alimento para se determinar o máximo permissível para a formação de compostos prejudiciais à saúde.

No que diz respeito à aplicação para expandir a vida de prateleira de alimentos minimamente processados, permitindo alcançar novas soluções comerciais, é necessário uma maior cautela no que tange ao tipo e composição nutricional do alimento. Neste trabalho pude observar na forma de revisão de literatura que os trabalhos com alimentos que contém gorduras são os que estão propensos a fornecer compostos com teores menores ou maiores das espécies formadas unicamente pelo processo de irradiação. Neste sentido, todos os estudos anteriores ao ano de 2000, não tinham recursos tecnológicos nem padrões para serem detectadas as 2-alcilciclobutanonas e por isso depois de anos do descobrimento destas espécies radiolíticas terem sido descritas, e muito se ter discutido, além dos métodos de detecção, é urgente uma nova proposta de revisão crítica dos resultados publicados e nos tipos de trabalhos e metodologias utilizadas no sentido de se ter dados precisos e adequados neste novo momento da pesquisa sobre aplicação da radiação ionizante com finalidade de segurança alimentar.

6 PROPOSTAS PARA FUTUROS ESTUDOS

- Estudo de doses média e baixas e a quantificação da formação de 2-ACBs nos alimentos que contenham gordura;
- Revisão crítica da literatura sobre a afirmação da segurança alimentar em alimentos irradiados com doses acima de 8 kGy;
- Estudos comparativos dos diferentes teores de gordura nos alimentos com diferentes doses de radiação;
- Estudos para se estabelecer tipos de alimentos, teores de gordura e doses específicas de radiação para o processamento seguro em alimentos;
- Revisão sobre estudos toxicológicos em animais alimentados com alimentos irradiados que possuem gordura com doses altas de radiação;
- Revisão da legislação brasileira no sentido de incluir a toxicidade nos alimentos que contenham gordura, pela formação de 2-ACBs;
- Promover um Fórum Internacional no tema de Salubridade Alimentar utilizando altas doses de radiação após o advento de descobrimento das 2-ACBs;

7. REFERÊNCIAS

1. ACELÉTRON – **Acelerador linear de elétrons**. Disponível em: <<http://www.aceletron.com.br/tecnologia/acelerador.htm>> Acesso em: 20 de setembro 2015.
2. ÁLVAREZ, D.L.M, L.M.A.; WERNER, D.; VILLAVICENCIO, A.L.C.H.; Detection of 2-alkylcyclobutanones as a marker of irradiated avocado. **International Nuclear Atlantic Conference (INAC)**, Recife, PE, Brasil, 2013.
3. ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária - **Decreto-lei nº 986 de 21 de outubro de 1969**. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/836d7c804745761d8415d43fbc4c6735/dec_lei_986.pdf?MOD=AJPERES> Acesso em: 05 de março de 2016.
4. ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária - **Decreto nº 72.718 de 29 de Agosto de 1973**. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/fc165c00474583c58eecd3fbc4c6735/DECRET_72718_1973.pdf?MOD=AJPERES> Acesso em: 05 de março de 2016.
5. ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária - **Resolução RDC nº 21, de 26 de janeiro de 2001**. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/791ccc804a9b6b1b9672d64600696f00/Resolucao_RDC_n_21_de_26_de_janeiro_de_2001.pdf?MOD=AJPERES> Acesso em: 05 de março de 2016.
6. ARAÚJO, M.M.; MARIN-HUACHACA, N.S.; MANCINI-FILHO, J.; DELINCÉE, H.; VILLAVICENCIO, A.L.C.H. Identification of irradiated refrigerated pork with the DNA comet assay. **Radiat. Phys. Chem.**, v. 71, p. 183-185, 2004.

7. CALVO, W. A. P. **Desenvolvimento do sistema de irradiação em um irradiador multipropósito de cobalto-60 tipo compacto**. 2005. Tese (Doutoramento) - Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares - IPEN-CNEN/SP, São Paulo. Disponível em: < <http://www.teses.usp.br> > Acesso em: 24 maio de 2016.
8. CASTRO, J.J.L. et al. Effect of electron-beam irradiation on cholesterol oxide formation in different ready-to-eat foods. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**., v. 12, p. 519–525, 2011.
9. CBE - Companhia Brasileira de Esterilização – **Tecnologias**. Disponível em: <<http://cbesa.com.br/tecnologias> > Acesso em: 05 de outubro 2015.
10. CODEX ALIMENTARIUS COMMISSION. Codex general standard for irradiated foods. Codex Stan 106-1983. Rev. 1-2003, 2003.
11. CREWS, C. et al. Analysis of 2-alkylcyclobutanones for detection of food irradiation: Current status, needs and prospects. **Journal of Food Composition and Analysis**., v. 26, p. 1-11, 2012.
12. CRONE, A. V. J.; HAMILTON, J. T. G.; STEVENSON, M. H. Effect of storage and cooking on the dose response of 2-dodecylcyclobutanone, a potential marker for irradiated chicken. **J. Sci. Food Agric.**, v. 58, p. 249-252, 1992.
13. CRONE, A. V. J.; HAND, M. V.; HAMILTON, J. T. G.; SHARMA, N. D.; BOYD, D. R.; STEVENSON, M. H. Synthesis, characterisation and use of 2-tetradecylcyclobutanones together with other cyclobutanones as markers of irradiated liquid whole egg. **J. Sci. Food Agric.**, v. 62, p. 361-367, 1993.
14. DELINCÉE, H. Detection of food treated with ionizing radiation. **Trends Food Sci. Technol.**, v. 9, n.2, p. 73 - 82, 1998b.
15. DELINCÉE, H.; POOL-ZOBEL, B. L. Genotoxic properties of 2-dodecylcyclobutanone, A compound formed on irradiation of food containing fat. *Radiat. Phys. Chem.*, v. 52, p. 39-42, 1998.

- 16.DELINCÉE, H. Analytical methods to identify irradiated food-a review. **Radiation Physics and Chemistry.**, v. 63, p. 455-458, 2002.
- 17.DIEHL, J.F. Safety of irradiated foods. New York: Marcel Deckker, 1995.
- 18.DIEHL, J.F. Food irradiation - past, present and future. **Radiation Physics and Chemistry.**, v. 63, p. 211–215, 2002.
- 19.DRIFFIELD, M. et al. Methods of analysis for 2-dodecylcyclobutanone and studies to support its role as a unique marker of food irradiation. **Food Chemistry.**, v. 146, p. 308-313, 2013.
- 20.DUARTE, R.C; ARAÚJO, M.M; SALUM, D.C.; MARCHIONI, E.; VILLAVICENCIO, A.L.C.H. Effects of the ionizing radiations, freezing and thawing duration on chicken liver cells quality. *Radiat. Phys. Chem.*, v. 78(7-8), p. 631-634, 2009.
- 21.EHLERMANN, D.A.E. The RADURA-terminology and food irradiation. **Food Control.**, v. 20, p. 526-528, 2009.
- 22.FANARO, G. B. *Efeito da radiação ionizante na formação de voláteis em chás da planta Camellia sinensis (L)*. 2009. Dissertação (Mestrado) – Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, São Paulo.
- 23.FANARO, G.B.; DUARTE, R.C.; SANTILLO, A.G.; PINTO E SILVA, M.E.M.; PURGATTO, E.; VILLAVICENCIO, A.L.C.H. **Evaluation of γ -radiation on oolong tea odor volatiles**. *Radiat. Phys. Chem.*, v. 81, p. 1152-1156, 2012.
- 24.FARKAS, J.; FARKAS C. M. History and future of food irradiation. **Trends in Food Sci. & Technol.**, v. 22, p. 121-126, 2011.
- 25.FARKAS, J. Irradiation for better foods. **Trends in Food Sci. & Technol.**, v. 17, p. 148-152, 2006.
- 26.FARKAS, J. Physical methods of food preservation. 2. ed., **Washington: ASM**, p. 567–591, 2001.

27. FURGERI, C.; NUNES, T.C.F.; FANARO, G.B.; SOUZA, M.F.F.; BASTOS, D.H.M.; VILLAVICENCIO, A.L.C.H. Evaluation of phenolic compounds in maté (*Ilex paraguariensis*) processed by gamma radiation. *Radiat. Phys. Chem.*, v. 78, p. 639-641, 2009.
28. GADGIL, P.; HACHMEISTER, K. A.; SMITH, J. S.; KROPF, D. H. 2-Alkylcyclobutanones as irradiation dose indicators in irradiated ground beef patties. **J. Agric. Food Chem.**, v. 50, p. 5746-5750, 2002.
29. HAYES, D.J.; MURANO, E.A.; MURANO, P.S.; OLSON, D.G.; SAPP, S.G. **Food Irradiation: A Sourcebook**. 1 ed. [S.I]: Ames, 1995.
30. IAEA. International Atomic Energy Agency - Food irradiation with emphasis on process control and acceptance in Asia. IAEA TEC.DOC-871, 2001.
31. ICGFI – GRUPO CONSULTIVO INTERNACIONAL SOBRE IRRADIAÇÃO DE ALIMENTOS (ICGFI). **Fatos sobre a irradiação de alimentos**. Brasil: CDTN, 1999.
32. INTERNATIONAL ATOMIC ENERGY AGENCY, **Radiation safety of gamma, electron and X ray irradiation facilities**, Specific Safety Guide No. 8, Vienna, 2010.
33. KHATTAK, K.F.; SIMPSON, T.J.; IHASNULLAH. **Effect of gamma irradiation on the microbial load, nutrient composition and free radical scavenging activity of *Nelumbo nucifera* rhizome**. *Radiat. Phys. Chem.*, v. 78, p. 206-212, 2009.
34. LETELLIER, M. H.; NAWAR, W. W. 2-Alkylcyclobutanones from the radiolysis of triglycerides. **Lipids**, v. 7, p. 73-76, 1972.
35. MARCHIONI, E.; HORVATOVICH, P.; NDIAYE, B. **Production yields of 2-alkylcyclobutanones in irradiated foods**. In: 2009 international Nuclear Atlantic Conference. Associação Brasileira de Energia Nuclear, Rio de Janeiro, Brasil, 2009.

36. MONK, J. D.; BEUCHAT, L. R.; DOYLE, M. P. Irradiation inactivation of food-borne microorganisms. **J. Food Protec.**, v. 58, p. 197-208, 1995.
37. MOREHOUSE, M. Food irradiation: the treatment of foods with ionizing radiation. **Food Test. Anal.**, v. 4, 1998.
38. MOREHOUSE, K. M. Food irradiationFUS regulatory considerations. **Radiation Physics and Chemistry.**, v. 63, p. 281–284, 2002.
39. MORRISSEY, R.F.; HERRING, C.M. Radiation sterilization: past, present and future. **Radiat. Phys. Chem.**, v. 63, p. 217-221, 2002.
40. NAWAR, M. M. Reaction mechanisms in the radiolysis of fats: A Review. **J. Agric. Food Chem.**, v. 26, p. 21-25, 1978.
41. OBANA, H.; FURUTA, M.; TANAKA, Y. Detection of 2-Alkylcyclobutanones in Irradiated Meat, Poultry and Egg after Cooking. **Journal of Health Science**, v. 52(4) p. 375–382, 2006.
42. RODRIGUES JUNIOR, A. A. **Irradiadores industriais e sua radioproteção**. 1. ed. Paraná: Maringá, Edição do Autor, 2014. 288 p.
43. RODRIGUES, F.T.; FANARO, G.B.; DUARTE, R.C.; KOIKE, A.C.; VILLAVICENCIO, A.L.C. H. A sensory evaluation of irradiated cookies made from flaxseed meal. **Radiat. Phys. Chem.**, v. 81, p. 1157-1159, 2012.
44. SONG, B.S. et al. A critical review on toxicological safety of 2-alkylcyclobutanones. **Radiation Physics and Chemistry.**, V.103, p. 188–193, 2014.
45. VARIYAR, P. S.; CHATTERJEE, S. SAJILATA, M. G.; SINGHAL, R. S.; SHARMA, A. Natural existence of 2-alkylcyclobutanones. **J. Agric. Food Chem.**, v. 56, p. 11817-11823, 2008.

46. VILLAVICENCIO, A.L.C.H.; FANARO, G.B.; ARAÚJO, M.M.; AQUINO, S.; SILVA, P.V.; MANCINI-FILHO, J. Detection of *Phakopsora pachyrhizi* by polymerase chain reaction (PCR) and use of germination test and DNA comet assay after e-beam processing in soybean. ***Radiat. Phys. Chem.***, v. 76, p. 1878-1881, 2007.
47. VILLAVICENCIO, A.L.C.H.; MANCINI-FILHO, J.; DELINCÉE, H. Application of a rapid screening method to detect irradiated meat in Brazil. ***Radiat. Phys. Chem.***, v. 57, p. 295-298, 2000.
48. WEN, H.W.; CHUNG, H.P.; CHOU, F.I.; LINC, I.H.; HSIEH, P.C. Effect of gamma irradiation on microbial decontamination, and chemical and sensory characteristic of lycium fruit. *Radiat. Phys. Chem.*, v. 75, p. 596-603, 2006.
49. WHO. World Health Organization. High-dose irradiation: wholesomeness of food irradiated with doses above 10 kGy. ***Technical Report Series*** 890, Geneva, 1999.