



INSTITUTO DE PESQUISAS ENERGÉTICAS E NUCLEARES
Autarquia Associada à Universidade de São Paulo

**Utilização da radiação ionizante para a preservação e conservação de
amostras botânicas - exsiccatas**

LENI MEIRE PEREIRA RIBEIRO LIMA

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

**Orientador:
Prof. Dr. Pablo Antonio Vasquez Salvador**

**São Paulo
2021**

INSTITUTO DE PESQUISAS ENERGÉTICAS E NUCLEARES
Autarquia Associada à Universidade de São Paulo

**Utilização da radiação ionizante para a preservação e conservação de
amostras botânicas - exsiccatas**

Versão Corrigida

Versão Original disponível no IPEN

LENI MEIRE PEREIRA RIBEIRO LIMA

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

**Orientador:
Prof. Dr. Pablo Antonio Vasquez Salvador**

**São Paulo
2021**

Autorizo a reprodução e divulgação total ou parcial deste trabalho,
para fins de estudo e pesquisa, desde que citada a fonte

Como citar:

LIMA, L. M. P. R. **Utilização da radiação ionizante para preservação e conservação de amostras botânicas – exsiccatas**. 2021. 111 p. Dissertação (Mestrado em Tecnologia Nuclear), Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, IPEN/CNEN, São Paulo. Disponível em: <www.teses.usp.br> (data de consulta no formato: dd/mm/aaaa)

Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema de geração automática da Biblioteca
IPEN/CNEN, com os dados fornecidos pela autora

Lima, Leni Meire Pereira Ribeiro
Utilização da radiação ionizante para preservação e
conservação de amostras botânicas - exsiccatas / Leni Meire
Pereira Ribeiro Lima; orientador Pablo Antonio Vasquez
Salvador. -- São Paulo, 2021.
111p.
Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-Graduação em
Tecnologia Nuclear (Aplicações) -- Instituto de Pesquisas
Energéticas e Nucleares, São Paulo, 2021.
1. preservação de patrimônio histórico. 2. radiação
ionizante. 3. herbário. 4. coleção botânica. 5.
descontaminação. I. Salvador, Pablo Antonio Vasquez, orient.
II. Título.

FOLHA DE APROVAÇÃO

Autor: Leni Meire Pereira Ribeiro lima

Título: Utilização da radiação ionizante para a preservação e conservação de amostras botânicas - exsiccatas

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Tecnologia Nuclear da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Mestre em Ciências na Área de Tecnologia Nuclear - Aplicações.

Data: 17 / ago / 2021.

Banca Examinadora

Prof. Dr.: Pablo Antonio Vasquez Salvador

Instituição: IPEN / USP

Julgamento: Aprovado

Profa. Dra.: Cynthia Jurkiewicz Kunigk

Instituição: IMT

Julgamento: Aprovado

Prof. Dr.: João Batista Baitello

Instituição: IPA / SIMA

Julgamento: Aprovado

*Dedico este trabalho aos meus pais,
Vicente e Sibebe, pelos ensinamentos de luta e
perseverança. Às minhas irmãs, sempre
incentivadoras.*

*Aos meus filhos e ao meu marido
pelo apoio constante, carinho e paciência
em todos os momentos.*

AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador, Dr. Pablo Antonio Vasquez Salvador, toda a minha gratidão pelo respeito, confiança e ensinamentos no desenvolvimento deste trabalho.

Ao Dr. João Batista Baitello, curador do Herbário Dom Bento José Pickel / Instituto Florestal, pelo conhecimento compartilhado e grande ajuda na seleção das espécies a serem estudadas e informações para realização desta pesquisa.

À Dra. Yasko Kodama pelas análises colorimétricas, pela amizade, pelo apoio e colaboração em vários momentos.

Ao MSc. Paulo de Souza Santos pela irradiação das amostras no irradiador multipropósito.

À Dra. Larissa Otubo pela obtenção das imagens com o FEGSEM.

Ao Dr. Rodrigo Fernando Brambilla de Souza pela aquisição dos espectros no ATR-FTIR e à Dra. Maria José Alves de Oliveira pelas análises referentes ao FTIR.

Aos professores da pós-graduação do IPEN/CNEN, por compartilhar preciosos conhecimentos e ensinamentos.

Ao Luis Alberto Bucci, diretor geral do Instituto Florestal por possibilitar o meu afastamento para realização deste estudo e pelo incentivo.

Aos colegas do Instituto Florestal e Instituto de Botânica, especialmente Osny Thadeu de Aguiar, Geraldo Antonio Daher Corrêa Franco, Luiz Eduardo Longui e Sonia Aragaki pelas informações técnicas.

Gratidão especial à minha família pelo apoio, compreensão e carinho em todos os momentos, à amiga Elaine Aparecida Rodrigues pela motivação, direcionamento e apoio incondicional, às amigas Marta Conceição dos Santos, Maria Luiza Emi Nagai, Maria Aparecida de Moraes Gomes Pereira e Hilda Pereselevicius Antonietto, pela amizade e por deixar esse percurso mais leve e ao amigo Pedro Marcio Munhoz, pelas incansáveis explicações e compartilhamento de conhecimentos.

Ao Instituto Florestal/Secretaria de Infraestrutura e Meio Ambiente do estado de São Paulo pela oportunidade de realizar esta pesquisa, em especial ao Herbário Dom Bento José Pickel pela disponibilização das amostras.

Ao Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares por dar condições para realização desta pesquisa.

“O prazer mais nobre é a alegria do entendimento”

Leonardo Da Vinci

RESUMO

LIMA, L. M. P. R. *Utilização da radiação ionizante para preservação e conservação de amostras botânicas – exsiccatas*. 2021. 111 p. Dissertação (Mestrado em Tecnologia Nuclear), Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, IPEN/CNEN, São Paulo. Disponível em: www.teses.usp.br (data de consulta no formato: dd/mm/aaaa)

Estratégias de conservação e preservação são essenciais no gerenciamento de coleções botânicas dos herbários, em especial os exemplares de material vegetal compostos de plantas prensadas e desidratadas em estufas, denominadas exsiccatas. Particularmente, essas coleções são muito sensíveis ao ataque de insetos e fungos. Nos últimos anos, a desinfecção por radiação ionizante tornou-se uma estratégia eficaz para preservar objetos do patrimônio cultural e material de acervos com excelentes resultados. O objetivo deste trabalho foi estudar os efeitos da radiação gama nas amostras de exsiccatas irradiadas, determinando a dose absorvida de radiação ideal e segura que promova a descontaminação, sem alterar a estrutura do material. Assim, seis duplicatas de exsiccatas foram selecionadas no Herbário Dom Bento José Pickel (SPSF), Instituto Florestal, localizado em São Paulo. Três amostras são da família Asteraceae e foram coletadas em 1946, 1984 e 1986, enquanto outras três amostras pertencem à família Solanaceae e foram obtidas em 1953, 1984 e 2007. As famílias das coleções botânicas selecionadas são muito suscetíveis à biodegradação. A irradiação com raios gama foi realizada no Irradiador Multipropósito de Cobalto-60 do Centro de Tecnologia das Radiações CETER do Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, IPEN/CNEN em São Paulo, com a aplicação de doses absorvidas de 1 kGy, 6 kGy e 10 kGy, valores para desinfestação e desinfecção. Os efeitos da radiação gama sobre as exsiccatas foram analisados por colorimetria com sistema de coordenadas de cores CIELAB, microscopia eletrônica de varredura (FEGSEM) e espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR-ATR). Os resultados confirmaram que não ocorreram alterações significativas nas propriedades colorimétricas e morfológicas das amostras, nas doses utilizadas, evidenciando que a técnica de radiação ionizante é eficaz para a conservação desse tipo de acervo.

Palavras-chave: radiação ionizante, herbário, coleção botânica, descontaminação, preservação de patrimônio cultural

ABSTRACT

LIMA, L. M. P. R. **Use of ionizing radiation for the preservation and conservation of botanical samples – exsiccates**. 2021. 111 p. Dissertação (Mestrado em Tecnologia Nuclear), Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, IPEN/CNEN, São Paulo. Available at: <www.teses.usp.br>

Conservation and preservation strategies are essential to manage botanical collections specially for dried herbarium specimens also known as exsiccates, usually referring to a set of identified specimens belonging to taxa and distributed among all herbaria around the world. Particularly, these collections are very sensitive to the attack of fungi and insects. In recent years, disinfection by ionizing radiation has become an effective strategy to preserve cultural heritage objects and archived materials with excellent results. In this work, the effects of gamma radiation on properties of exsiccates samples were studied. Thus, six exsiccates, botanical pressed and dehydrated samples were selected from the Dom Bento José Pickel Herbarium (SPSF), Forest Institute, situated at São Paulo (Brazil). Three samples from Asteraceae family collected in 1946, 1984 and 1986 and three from Solanaceae family collected in 1953, 1984, 2007. The irradiation was performed by gamma rays at the Multipurpose Gamma Irradiation Facility at IPEN/CNEN applying absorbed doses of 1 kGy, 6 kGy and 10 kGy, which are values of absorbed dose applied for disinfestation and disinfection. Gamma radiation effect was analyzed using colorimetry with CIELAB color space scale, FEGSEM microscopy and FTIR-ATR spectroscopy. The results showed that there were no significant changes on colorimetric neither on morphological properties of the irradiated samples in the dose range studied.

Key words: gamma irradiation, herbaria, cultural heritage, botanical collections, conservation

LISTA DE FIGURAS

	Página
Figura 3.1 – Localização dos herbários no mundo.	17
Figura 3.2 – Número de herbários ativos e espécimes – 1964 a 2020.	18
Figura 3.3 – Exemplos de exsicatas depositadas em herbários.	21
Figura 3.4 – Estrutura da célula vegetal.	23
Figura 3.5 – Estrutura da celulose.	24
Figura 3.6 – Biocidas utilizados para descontaminação de herbários.	34
Figura 3.7 – Os três tipos principais de radiação e suas características.	37
Figura 3.8 – Modos de interação da radiação com a matéria.	40
Figura 3.9 – Representação do sistema colorimétrico CIELAB (1976).	50
Figura 4.1 – Características gerais das amostras de exsicatas.	54
Figura 4.2 – Exemplos das indicações dos pontos de leitura nas amostras de exsicatas utilizadas no presente estudo.	57
Figura 4.3 – Microscópio eletrônico de varredura com canhão de emissão de campo (FEGSEM).	59
Figura 4.4 – Espectrofotômetro FTIR acoplado a acessório ATR conectado a computador portátil.	60
Figura 5. 1 – Diferença de cor no Ponto A (flor/inflorescência) das amostras irradiadas nas diferentes doses em relação à amostra não irradiada.	63
Figura 5. 2 – Diferença de cor no Ponto B (folha – superfície adaxial) das amostras irradiadas nas diferentes doses em relação à amostra não irradiada.	64
Figura 5. 3 – Diferença de cor no Ponto C (folha – superfície abaxial) das amostras irradiadas nas diferentes doses em relação à amostra não irradiada.	65
Figura 5.4 – Diferenças de cor das amostras a) SPSF-4021, b) SPSF-10516, c) SPSF- 10553, d) SPSF-4074, e) SPSF-08821, f) SPSF-39975, nas doses de 1 kGy, 6 kGy e 10 kGy.	66

Figura 5.5 – Micrografias FEGSEM da amostra da família ASTERACEAE SPSF-4021 (espécie <i>Baccharis crispa</i> Spreng. coletada em 1946) não-irradiada e irradiada (10 kGy).	72
Figura 5.6 – Micrografias FEGSEM da amostra da família ASTERACEAE SPSF-10516 (espécie <i>Critoniopsis quinqueflora</i> (Less.) H. Robinson. coletada em 1984) não-irradiada e irradiada (10 kGy).	73
Figura 5.7 – Micrografias FEGSEM da amostra da família ASTERACEAE SPSF-10553 (espécie <i>Baccharis regnellii</i> Sch. Bip ex Baker. coletada em 1986) não- irradiada e irradiada (10 kGy).	74
Figura 5.8 – Micrografias FEGSEM da amostra da família SOLANACEAE SPSF-4074 (espécie <i>Solanum swartzianum</i> Roem. & Schult. coletada em 1983) não- irradiada e irradiada (10 kGy).	75
Figura 5.9 – Micrografias FEGSEM da amostra da família SOLANACEAE SPSF-08821 (espécie <i>Solanum pseudoquina</i> A. Sr.-Hil. coletada em 1984) não-irradiada e irradiada (10 kGy)	76
Figura 5.10 – Micrografias FEGSEM da amostra da família SOLANACEAE SPSF-39975 (espécie <i>Solanum mauritianum</i> Scop. coletada em 2007) não-irradiada e irradiada (10 kGy).	77
Figura 5.11 – Espectros de FTIR da amostra SPSF-4021 não-irradiada (linha preta) e irradiada (10 kGy, linha azul).....	79
Figura 5.12 – Espectros de FTIR da amostra SPSF-10516 não-irradiada (linha preta) e irradiada (10 kGy, linha azul).....	80
Figura 5.13 – Espectros de FTIR da amostra SPSF-10553 não-irradiada (linha preta) e irradiada (10 kGy, linha azul).....	82
Figura 5.14 – Espectros de FTIR da amostra SPSF-4074 não-irradiada (linha preta) e irradiada (10 kGy, linha azul).....	83
Figura 5.15 – Espectros de FTIR da amostra SPSF-08821 não-irradiada (linha preta) e irradiada (10 kGy, linha azul).....	85
Figura 5.16 – Espectros de FTIR da amostra SPSF-39975 não-irradiada (linha preta) e irradiada (10 kGy, linha azul).....	86
Figura 6.1 – Diagrama dos procedimentos para irradiação de material herborizado.....	89

LISTA DE QUADROS

	Página
Quadro 3.1 – Modos de interação da radiação com a matéria.	39

LISTA DE TABELAS

	Página
Tabela 3.1 – Interações da radiação eletromagnética ionizante com a matéria – raios X, raios gama e fótons de aniquilação e seus efeitos.....	40
Tabela 3.2 – Interações das partículas carregadas rápidas e seus efeitos com a matéria.	41
Tabela 4.1 – Identificação principal e classificação geral das amostras de exsiccatas.	53
Tabela 4.2 – Descrição dos pontos avaliados em cada amostra.....	56
Tabela 4.3 – Critério para interpretação do ΔE e a percepção de alteração de cor.	58
Tabela 5.1 – Variação de cor (ΔE) das amostras de exsiccatas SPSF-4021, SPSF-10516, SPSF-10553, SPSF-4074, SPSF-08821, SPSF-39975 irradiadas com doses absorvidas de 1, 6 e 10 kGy em relação às amostras não irradiadas.	61
Tabela 5.2 – Atribuições de bandas gerais do espectro FTIR médio de plantas com base na literatura.....	78

SUMÁRIO

	Página
1 INTRODUÇÃO.....	11
2 OBJETIVO.....	13
2.1 Objetivo Geral.....	13
2.2 Objetivos Específicos	13
3 REVISÃO DA LITERATURA.....	14
3.1 Os Herbários	14
3.1.1 Antecedentes e contexto.....	14
3.1.2 Função dos herbários	18
3.1.3 Características do acervo dos herbários – as exsicatas	21
3.1.4 Preservação e manejo das coleções botânicas nos herbários	26
3.1.4.1 Preservação e Conservação - Terminologia no contexto do patrimônio cultural	26
3.1.4.2 Coleta e organização de espécimes.....	27
3.1.4.3 Empréstimos, permutas e transferências de amostras.....	28
3.1.4.4 Controle ambiental e materiais utilizados.....	29
3.1.4.5 Controle de pragas e tratamentos	30
3.2 Radiação.....	35
3.2.1 Radiação não-ionizante e ionizante	36
3.2.1.1. Radiação não-ionizante.....	36
3.2.1.2 Radiação ionizante	36
3.2.2 Interação da radiação com a matéria.....	38
3.2.3. Radiação Gama	41
3.2.4 Irradiador gama.....	42
3.2.5 Processamento por radiação ionizante	44
3.2.5.1 Efeitos da radiação ionizante nos materiais	46

3.2.5.2 Dose absorvida.....	48
3.3 Projetos de Cooperação.....	48
3.4 Técnicas Analíticas	49
3.4.1 Colorimetria	49
3.4.2 Microscopia eletrônica de varredura com emissão de campo (FEGSEM)	51
3.4.3 Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier – Reflexão Total Atenuada (FTIR-ATR)	51
4 MATERIAIS E MÉTODOS	53
4.1 Seleção e preparação das amostras	53
4.2 Irradiação com raios gama providos do Cobalto-60	55
4.2.1 Doses absorvidas.....	55
4.3 Análise colorimétrica ou colorimetria	56
4.4 Microscopia eletrônica de varredura com emissão de campo (FEGSEM)	58
4.5 Aquisição dos espectros por espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier – Reflexão Total Atenuada (FTIR-ATR)	59
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	61
5.1 Efeitos do processamento com radiação ionizante	61
5.1.1 Análises colorimétricas	61
5.2.2 Análise de microscopia eletrônica de varredura	68
5.2.3 Análise de espectroscopia no infravermelho FTIR	78
6 BOAS PRÁTICAS DE DESCONTAMINAÇÃO DE EXSICATAS PELO PROCESSO DE IRRADIAÇÃO COM RAIOS GAMA.....	88
7 CONCLUSÕES.....	90
8 TRABALHOS FUTUROS	92
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	93
APÊNDICE – MANUAL DE BOAS PRÁTICAS PARA TRATAMENTO DE MATERIAL HERBORIZADO COM USO DA RADIAÇÃO IONIZANTE COM RAIOS GAMA (CO-60).....	103

1 INTRODUÇÃO

O processamento por radiação ionizante tem sido uma área de muito interesse nas últimas décadas e demonstra ser um recurso adequado para diferentes usos nos campos da indústria, saúde, agricultura e meio ambiente. Suas aplicações incluem a irradiação de materiais sintéticos e polímeros para melhoria de suas características, coloração de gemas minerais, inibição de brotamento e aumento da longevidade de frutas e vegetais, degradação de compostos orgânicos de importância ambiental, em nanomateriais a base de grafeno, entre outros. No campo da esterilização, a radiação ionizante é uma técnica bem desenvolvida e estabelecida para diversos produtos, como é o caso dos alimentos, dos produtos farmacêuticos e de tecidos humanos para transplante (CNEN, s/d; GIPA e IIA, 2017; CHMIELEWSKI e HAJI-SAEID, 2004; IAEA, 2005).

O tratamento para desinfecção e desinfestação de artefatos de patrimônio cultural e acervos de documentos com a utilização de raios gama provenientes do Cobalto- 60 é uma alternativa e também tem sido utilizado efetivamente para diferentes materiais (DE TASSIGNY e BROUQUI, 1978; ADAMO, 2004; IAEA, 2017; SANTOS et al., 2017; CAPPITELLI, 2020). Há de se considerar, entretanto, que a interação da radiação transfere energia aos materiais e pode causar alterações moleculares e nas propriedades físico-químicas. Desta forma, muitas pesquisas e investigações com radiação ionizante vêm sendo realizadas, de modo a garantir a qualidade e práticas adequadas do processo de irradiação de objetos produzidos com diferentes materiais e técnicas (BACCARO e CEMMI, 2017; MOISI, 2017; NAGAI, 2019; CORTELLA, 2020).

As coleções botânicas, por sua vez, possuem características similares a outros acervos do patrimônio cultural, principalmente pela sua composição em base celulósica. Essas coleções necessitam de adoção de métodos para conservação e preservação, fundamentais para garantir a sobrevivência de registros, que poderiam ser destruídos, principalmente, por biodeterioração, devido à ação de fungos e insetos (MORI, 1989; BRIDSON e FORMAN, 1992; ESAU, 1974). As coleções botânicas são compostas, em sua maioria, por exsiccatas, que são amostras de material vegetal contendo plantas prensadas e desidratadas em estufa e que ficam armazenadas em herbários (PEIXOTO e MORIM, 2003; PEIXOTO e MAIA, 2013).

De um modo geral, os procedimentos envolvidos nas atividades de preservação e conservação do material herborizado que compõem uma coleção incluem técnicas para preservar o acervo, considerando-se os tratamentos específicos dos materiais no campo, com ou sem uso de estufa portátil a querosene ou lâmpadas e de tratamentos adicionais em laboratório. Essas técnicas incluem a conservação do herbário concentrada no expurgo de insetos e acarinos, a fim de evitar deterioração do acervo (WINDISCH e LONGHI-WAGNER, 2000).

No que concerne à conservação de determinados acervos, o uso da radiação gama como método de tratamento, em comparação a outros métodos tradicionais, aponta vantagens, tais como: relativa facilidade de aplicação e eficácia imediata, não deixa resíduos químicos, não ativa os núcleos dos átomos dos materiais e os produtos processados não requerem quarentena, promovem a erradicação de insetos e fungos definitivamente, pois a radiação age em qualquer estágio do ciclo de vida destes. A desinfecção de artefatos do patrimônio cultural que possuem material à base de celulose com radiação gama tem sido aplicada com sucesso nos últimos anos e os seus resultados demonstram não haver modificação significativa no material irradiado, que permanece estável durante a vida útil restante, em condições ideais de armazenamento (ADAMO, 2003; KODAMA et al., 2016; VASQUEZ, 2017, NAGAI, 2019).

Estudos mostram que a dose absorvida de radiação mínima de 0,5 kGy é suficiente para eliminar os insetos xilófagos, já a desinfecção com objetivo de eliminar fungos e outros microrganismos, requerem doses mais altas, de 2 kGy até 10 kGy em materiais celulósicos. No entanto, embora pesquisas demonstrem semelhanças do efeito biocida pretendido no caso de irradiação em diferentes aplicações e materiais, os efeitos secundários da irradiação podem ser únicos e específicos para cada tipo de material (IAEA, 2017). Nos estudos e dados em literatura utilizados nesta pesquisa, não foram encontrados trabalhos que descrevam o uso desta técnica no material em estudo e, conseqüentemente, os possíveis efeitos em acervos constituídos por exsicatas localizados em herbários. A avaliação e a compreensão dos efeitos secundários do processamento por radiação ionizante de exsicatas são, portanto, essenciais e estão relacionados com as mudanças dos polímeros que constituem os artefatos orgânicos: celulose, lignina e proteínas.

Nesta pesquisa são apresentados os efeitos da radiação gama em exsicatas, irradiadas com doses de 1 kGy, 6 kGy e 10 kGy.

2 OBJETIVO

2.1 Objetivo Geral

O objetivo dessa pesquisa é estudar os efeitos do processamento com radiação gama em amostras botânicas das famílias Asteraceae e Solanaceae, visando sua desinfecção e desinfestação, sem alterar significativamente as suas propriedades morfológicas e de cor.

2.2 Objetivos Específicos

Verificar se a dose absorvida de radiação já utilizada para descontaminação de artefatos do patrimônio cultural é também eficiente para material botânico.

Definir a dose ideal que não altere significativamente algumas propriedades físicas e químicas dos elementos que compõem o material estudado.

Elaborar um procedimento padrão para aplicação das técnicas e procedimentos com uso da radiação ionizante em acervos botânicos constituídos por exsiccatas, desde a preparação do material para irradiação até os cuidados na recolocação do material no local de origem.

3 REVISÃO DA LITERATURA

Neste capítulo serão apresentadas as teorias e técnicas que subsidiaram a realização deste estudo.

Para revisão da literatura foram utilizados os recursos disponíveis nas bases de pesquisa “Web of Science”, Portal de Periódicos CAPES, Scopus e Google Acadêmico, além de outros recursos bibliográficos e sites especializados. Para efetuar a busca de artigos acadêmicos nessas bases de dados foram utilizados os descritores genéricos e específicos relacionados à radiação ionizante, patrimônio cultural, herbário, exsicata, descontaminação, preservação e conservação. No entanto, vale destacar que o uso dos descritores relacionando radiação gama com exsicata ou herbário não detectou nenhuma ocorrência de trabalho publicado sobre o tema. Para os descritores inicialmente não foram delimitados os períodos para publicações. Todos os resultados foram avaliados quanto a sua correlação e relevância com o tema da pesquisa (KOLLER et al., 2014)

3.1 Os Herbários

3.1.1 Antecedentes e contexto

As coleções botânicas são importantes repositórios que certificam a biodiversidade vegetal e a riqueza da flora do planeta. Essas coleções podem ser constituídas por espécies vivas, em jardins botânicos, arboretos e bancos de germoplasma ou preservados em herbários, xilotecas, palinotecas entre outros (PEIXOTO e MORIM, 2003).

Herbário (do latim *herbarium*¹) é o termo utilizado para designar uma coleção de plantas ou de fungos, preservadas técnica e cientificamente, para estudo de longo prazo em qualquer área da ciência (PEIXOTO e MAIA, 2013).

Sua origem está ligada à história da botânica. A Botânica é a “ciência que estuda os vegetais, incluindo sua descrição, classificação, distribuição e relação com os outros seres vivos” (MOLINA, 1998). A ciência das plantas teve início na Grécia Clássica e seu desenvolvimento alcançou a época do Império Romano, quando Aristóteles (384 a.C. – 322 a.C.) produziu o primeiro compêndio com informações sobre espécimes vegetais e animais do que se conhecia na época, dividindo as plantas em dois grupos: plantas com flor e plantas sem flor. Seu discípulo Teofrasto de Eresos (371 a.C – 287 a.C.) prosseguiu os estudos relacionados à botânica e é considerado o “pai da botânica”. Suas principais obras são: *De historia plantarum* (História das plantas), que reúne nove livros sobre botânica aplicada onde descreveu detalhadamente cerca de 500 plantas, com seus habitat e distribuição geográfica, cujos nomes se conservam até hoje; e *De causis plantarum* (Sobre as causas das plantas), que incluem informações sobre a anatomia, fisiologia, morfologia e ecologia vegetais (ARBER, 1912; MOLINA, 1998).

Já no século XV, com a chegada da imprensa com os tipos móveis e ilustrações por xilogravura, foram publicados os primeiros livros botânicos conhecidos como *herbaria*. Inicialmente tratavam de listas com descrições de plantas medicinais e que com o passar do tempo deixariam de tratar somente sob o foco da medicina e se tornariam mais ligados à botânica, passando a compilar as informações da flora². Essas obras eram acompanhadas de espécimes de plantas secas, com descrições botânicas, classificação e ilustrações. O desenvolvimento e progresso da ciência da Botânica deveu-se, portanto, à invenção da imprensa, ao surgimento do papel que possibilitou a elaboração de *herbaria*, a criação dos jardins botânicos e das viagens de expedições botânicas para conhecimento de novas espécies e troca de conhecimento (ARBER, 1912; MOLINA, 1998).

¹ do latim: *herbarium*; plural: *herbaria*. Coleção de plantas secas organizada sistematicamente. Sala ou edifício que aloja uma coleção de plantas secas. Caixa, armário ou outro recipiente no qual as plantas secas são mantidas. Fonte: Society of Herbarium Curators em herbariumcurator.org (SOCIETY, 2021).

² em botânica e ecologia, flora é o conjunto de táxons de plantas (geralmente, apenas as plantas verdes) características de uma região, e objeto de estudo da florística. É possível elaborar uma flora de gêneros, famílias ou, mais normalmente, espécies botânicas de um determinado local ou região (por exemplo: Flora Brasiliensis e Flora Europaea). Fonte: <https://pt.wikipedia.org/wiki/Flora>

Em 1544, na Itália, estabeleceu-se o primeiro jardim botânico, acredita-se que fundado por Luca Ghini (1490-1556). Ghini era professor e criou o primeiro curso de botânica na Faculdade de Medicina em Bolonha, com foco em plantas medicinais. Ele incentivou seus alunos a fazer observações independentes das plantas e manteve espécimes de referência para os alunos usarem, compostas por plantas prensadas e secas coladas nas páginas encadernadas de um livro, denominado herbaria. Seu próprio herbaria não sobreviveu, mas os de alguns de seus alunos e colegas ainda existem. O herbaria *En tibi perpetuis ridentem floribus hortum*, compilado no final dos anos 1500, provavelmente preparado por Francesco Petrolini, um dos alunos de Ghini. O herbário de Leonhard Rauwolf inclui espécimes de sua expedição de coleta para a Turquia no Oriente. Rauwolf aprendeu a técnica do herbário em Montpellier com Guillaume Rondelet, um colega de Ghini. Tanto os herbários Rauwolf quanto o *En tibi* já foram propriedade do imperador de Habsburgo Rodolfo II, e chegaram às mãos da Rainha Cristina da Suécia com inclinação científica. Mais tarde, ela deu os volumes para seu bibliotecário holandês, e hoje eles são mantidos no Centro de Biodiversidade Naturales em Leiden. Muitos anos depois, George Clifford rompeu com a tradição de manter a herbaria nos livros, e em vez disso montou seus espécimes em folhas de papel separadas, para facilitar a reorganização à medida que novos espécimes fossem incorporados. Ao comparar os espécimes do herbário de Clifford com um feito hoje, vemos que a técnica de confecção do espécime não mudou muito (THIERS, 2021b).

Nessa época as coleções de espécimes prensados e secos eram denominadas *hortus siccus* ('jardim seco') ou *hortus mortus* ('jardim morto'). Utilizava-se o mesmo procedimento taxonômico de montagem em cartão de papel com etiquetas descritivas, conforme se faz até os dias de hoje. Essa técnica de herborização possibilitou que um organismo vegetal que já foi vivo se torne inerte e estável. As edificações que abrigaram essas coleções também eram chamadas *herbaria*. (ARBER, 1912).

Um herbário é o local físico que abriga, é responsável pela guarda das exsiccatas (além de outros materiais botânicos) e funciona como um banco de dados dinâmico, mantido por uma série de tarefas que requerem conhecimento, equipe especializada e prática (IBGE, 1992; PEIXOTO e MAIA, 2013).

Os herbários devem estar oficialmente registrados no *Index Herbariorum* (Figura 3.1), gerenciado pelo Jardim Botânico de Nova York e Associação Internacional para a Taxonomia Vegetal (International Association for Plant Taxonomy – IAPT). Para um herbário ser reconhecido formalmente deve ter seu nome, sigla, número de exemplares (no mínimo 2000 exsicatas) e outros dados registrados. Os dados do relatório publicado em janeiro de 2021 indicam 3.426 herbários em todo o mundo (190 deles no Brasil), totalizando uma coleção mundial com mais de 396 milhões de espécimes que documentam a vegetação da Terra nos últimos 400 anos (THIERS, 2021a).

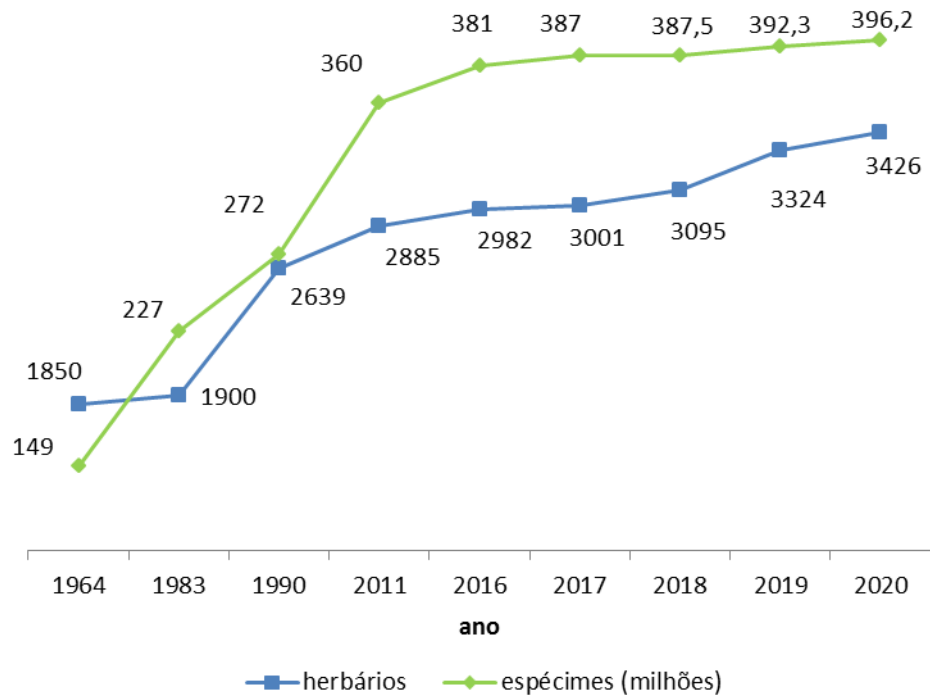
Figura 3.1 – Localização dos herbários no mundo.



Fonte: *Index Herbariorum*, 2021.

O crescimento do número de herbários e o aumento de espécimes nas últimas seis décadas (Figura 3.2), indicam a importância de se desenvolver técnicas de preservação que não agridam a saúde e o meio ambiente, para manutenção destes acervos. O herbário do Museu Nacional de História Natural de Paris é o mais antigo, um dos maiores do mundo e possui cerca de oito milhões de espécimes depositados. No Brasil, todas as amostras registradas nos herbários do país somam, aproximadamente, 8,4 milhões de espécimes (GASPER, 2020; THIERS, 2021a).

Figura 3.2 – Número de herbários ativos e espécimes – 1964 a 2020.



Fonte: autora da dissertação, elaborado com base em THIERS, 2021a.

3.1.2 Função dos herbários

Os herbários são prioritariamente utilizados para estudos de plantas, fungos, algas e líquens de uma determinada localidade, país ou continente. Guardam grande quantidade de informações que servem como referências científicas sobre a diversidade vegetal (PEIXOTO e MAIA, 2013). É fonte de pesquisa sobre a estrutura, anatomia e morfologia das plantas, sua sistemática, bioquímica, biogeografia, genética molecular, história e outros campos do conhecimento. Os estudos proporcionados pelas coleções preservadas nos herbários de maneira padronizada possibilitam examinar e descrever novas espécies, sua evolução e mudanças dos ecossistemas ocorridos ao longo do tempo (BESNARD et al., 2018).

“A guarda da coleção, como patrimônio no qual cada exemplar é único e insubstituível, é a principal tarefa das instituições que detêm esses acervos” (PEIXOTO E

MORIM, 2003). Os herbários provêm o suporte imprescindível ao trabalho de taxonomistas e de muitas outras ciências, que necessitam de conhecimento acerca da diversidade biológica seja em nível nacional, regional ou global (FUNK, 2003; CARINE et al., 2008; HEBERLING e ISAAC, 2017; ESPINOSA e CASTRO, 2018; BIEKER e MARTIN, 2018). Para tratar de temas relacionados à biodiversidade, bem como as relações multilaterais dos países, foram criados mecanismos globais de proteção ambiental. A Convenção sobre Diversidade Biológica (CDB) é o tratado internacional que visa manter a diversidade de vida existente no planeta. A CDB é um dos principais acordos celebrados entre os países durante a Conferência das Nações Unidas sobre Meio Ambiente e Desenvolvimento (CNUMAD) ocorrida em 1992 (SECRETARIAT, 2014). Assim, a conservação do patrimônio sob a guarda dos herbários torna-se fundamental para os governos atingirem os objetivos propostos na CDB.

A relevante função desempenhada pelos herbários para promover ações de preservação e conservação, recuperação de espécies e restauração de ecossistemas é reconhecida pela comunidade científica. É imprescindível concentrar esforços nesse sentido já que 41% das espécies de plantas estão em risco de extinção, conforme dados da Lista Vermelha de Espécies Ameaçadas da União Internacional para Conservação da Natureza. Muitas pesquisas requerem uma abordagem histórica para examinar quais espécies tem desaparecido ao longo do tempo e nesse sentido a existência dos herbários e seus acervos primitivos convergem para esse fim (ROCCHETTI et al., 2020; IUCN, 2021).

Os espécimes de herbários são utilizados como fonte de conservação de dados genéticos. Estudos recentes citados por ROCCHETTI et al. (2020) demonstram que o DNA extraído desses espécimes contribuem para avanço nas áreas da filogenética, genética populacional, biogeografia, etnofarmacologia e fisiologia das plantas. Embora o DNA de espécimes antigas possa estar degradado, devido às mutações espontâneas, às técnicas de armazenamento, à secagem com álcool, aos tratamentos químicos para eliminação de pragas e insetos e à presença de fungos, técnicas novas de sequenciamento estão surgindo e possibilitando estudos com DNAs degradados (JORDON-THADEN et al., 2020).

Recentemente, houve uma apreciação nova e crescente interesse no uso de espécimes de herbário em diferentes campos de pesquisa. Em síntese, conforme aponta BESNARD et al. (2018) o material de herbários e seus dados associados são essenciais

como repositório de biodiversidade e espécie de referência para estudos sistemáticos, possibilitando estudos em: perspectivas para análises evolutivas de DNA em coleções históricas de herbário, documentação dos tempos de floração e folhagem (fenologia) em espécimes úteis para pesquisas sobre mudanças climáticas, identificação e rastreamento de doenças de plantas, etnobotânica, rastrear usos medicinais das plantas em um herbário, investigar a herbivoria medindo os danos em espécimes de plantas, estimar distribuições de espécies, pesquisar evidências para a disseminação de espécies invasoras.

Banco de dados robustos e imagens digitalizadas em alta resolução dos acervos, juntamente com tecnologias novas de modelagem espacial, inteligência artificial e análise de *big data* representam usos potenciais de espécimes dos herbários (BESNARD et al., 2018; SOLTIS et al., 2020; PEARSON et al., 2020; GOËAU et al., 2020; ROCCHETTI et al., 2020). Cada vez mais herbários têm informatizado seus acervos, com georreferenciamento de suas amostras para disponibilizar por meio de plataformas na internet. Essas informações podem ser consultadas remotamente e sem necessidade de manuseio das coleções (PEIXOTO e MORIM, 2003; JAMES et al., 2018).

Conforme apresentado por HEBERLING e ISAAC (2017) os herbários foram estabelecidos para: estudos taxonômicos e florísticos, incluindo descoberta e descrição de espécies; documentação da biodiversidade para aplicação na área de saúde, economia e ciência; identificação de espécies e disponibilização de repositório para *vouchers*, de modo a garantir a realização de pesquisas. Além desses usos, os autores enfocam sobre a expansão e inclusão de funções novas aos herbários. Algumas aplicações citadas são: variação genotípica (banco de genes para medir a variação da população ao longo do tempo, propágulos arquivados); morfometria e anatomia da folha (densidades de estômatos, tricomas e veias); química do tecido (química dos nutrientes (folha N, C, P)); biologia reprodutiva (redes de transporte de pólen); fenologia (época de floração).

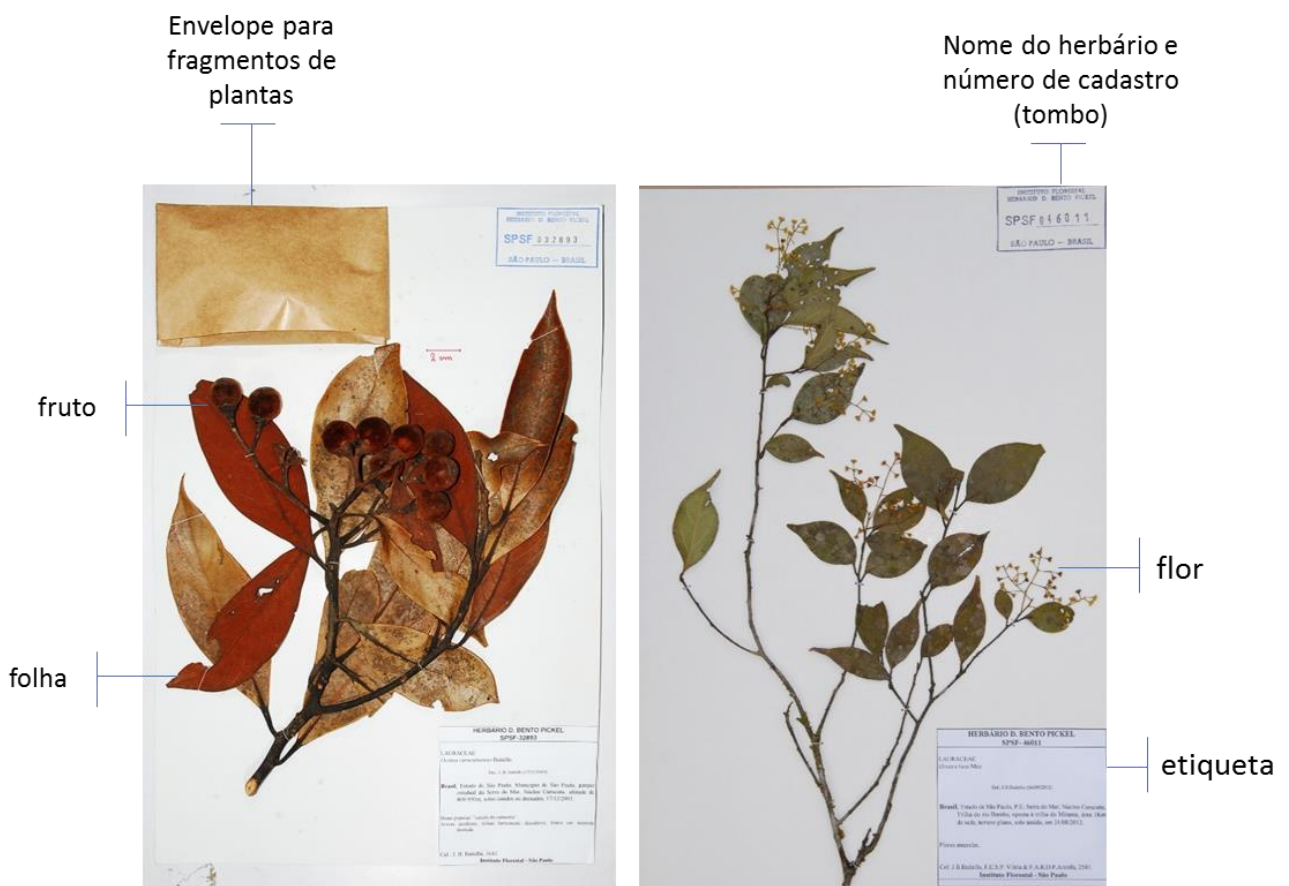
Além das diversas funções desempenhadas pelos herbários no que se refere ao valor histórico e científico como fontes de informações botânicas, eles têm desempenhado importante papel como patrimônio cultural, “garantindo a continuidade de modos de fazer e saberes científicos nas ciências da vida” e como testemunho da história da expansão dos povos no seu território (PICCININI et al., 2016).

3.1.3 Características do acervo dos herbários – as exsicatas

O acervo mantido nos herbários é constituído de coleções de vegetais desidratados, registrados e armazenados de maneira organizada e padronizada. As exsicatas (do latim *exsiccata* = seca) são os componentes principais dos herbários, pertencendo ao estreito grupo de artefatos de patrimônio histórico natural sobre um substrato de papel (SPNHC, 2020).

São compostas em sua maioria de um ramo com folhas, flores e frutos ou outras estruturas reprodutivas (Figura 3.3), representando cada estrutura única de uma planta. Essas plantas após serem coletadas são designadas amostras, exemplares ou espécimes botânicos, que depois de submetidas a um processo de herborização são denominadas exsicatas. Herborizar é o conjunto de procedimentos de prensagem, secagem e preparação do espécime botânico para inclusão em herbário (IBGE, 1992).

Figura 3.3 – Exemplos de exsicatas depositadas em herbários.



Fonte: Herbário Dom Bento José Pickel (SPSF), São Paulo, SP, 2019.

Na ocasião da coleta em campo, são obtidas de três a cinco amostras de um mesmo indivíduo. Após a herborização, uma delas é montada e fixada em suporte de papel tipo papel-cartão dupla face, cartolina ou similar, utilizando-se costura, cola específica ou fita adesiva própria para montagem de exsicatas. As demais são denominadas duplicatas, que são importantes para o processo de intercâmbio ou troca de exsicatas entre herbários. As duplicatas, portanto, são os exemplares de um mesmo indivíduo coletados na mesma ocasião e com o mesmo número de série do coletor, que passaram pelo processo de herborização, porém não montadas. Todas essas amostras que se referem ao mesmo material botânico compõem o conjunto da exsicata e são acondicionadas na mesma pasta de armazenamento. (PEIXOTO e MAIA, 2013; IBGE, 1992; MORI, 1989).

Após a montagem, cada exsicata é numerada sequencialmente em ordem crescente ao ser incorporada ao acervo, recebendo o registro de número do tombo na coleção. Na etiqueta constam informações registradas durante a coleta (data, localização georreferenciada, nome do coletor, procedência ou local da coleta, textura do solo) juntamente com o nome científico, identificador, propriedade e outras informações específicas às plantas (tipo do *habitat*, hábito e forma de vida, porte do indivíduo, cor das folhas, flores e frutos, textura e odor) e outras informações consideradas relevantes (PEIXOTO e MAIA, 2013).

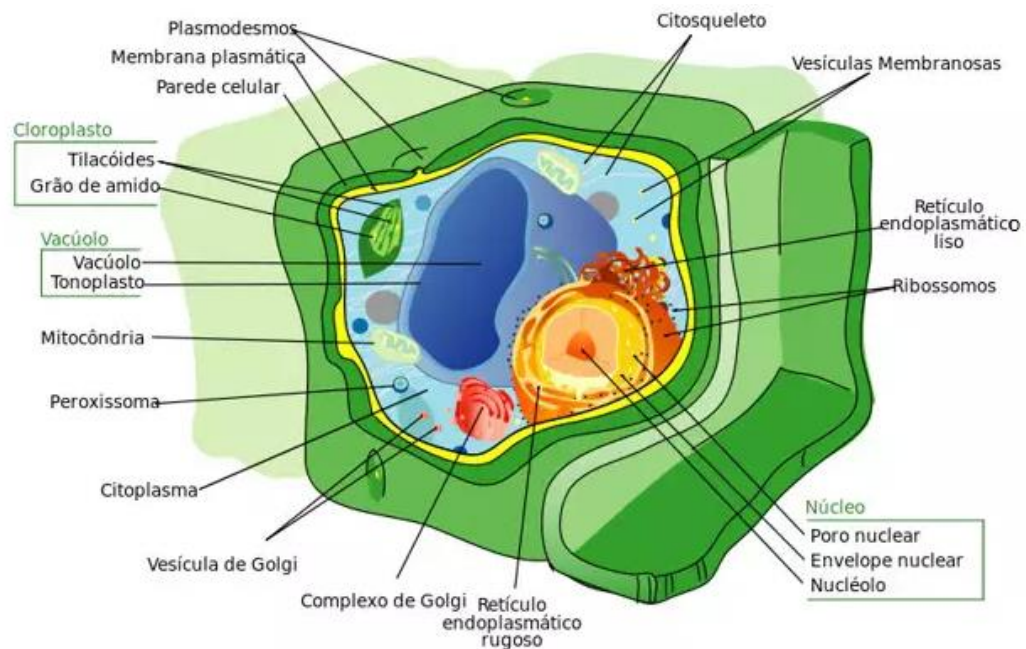
Para plantas com estruturas mais rígidas ou com grande volume são necessários métodos especiais de preservação. Estas necessitam ser armazenadas separadas do restante do espécime, como exemplo, os cactos dispostos em embalagens com etanol e frutos lenhosos da castanha-do-pará em sacos plásticos (SOCIETY, 2021). Agregados a essas coleções, os herbários podem conter outros elementos de origem vegetal, como amostras de madeiras, frutos e pólen.

As exsicatas são constituídas de material orgânico com estruturas complexas, contendo basicamente celulose, lignina, amido, gordura, água e cristais (ESAU, 1974).

A célula vegetal é o componente básico dos seres vivos que fazem parte do Reino *Plantae*. É uma célula do tipo eucarionte da mesma maneira que a célula dos animais e possui um núcleo e várias organelas contendo membrana plasmática, citoplasma e núcleo. Contudo, somente as células vegetais são compostas de parede celular, plastos e vacúolos (Figura 3.4). A parede celular é uma camada exterior à membrana plasmática, composta

principalmente por celulose e substâncias derivadas de proteínas e lipídios. Os plastos ou plastídios são organelas constituídas por duas membranas, tem seu próprio DNA e proteínas. O vacúolo é uma organela envolvida por uma única membrana chamada tonoplasto e preenchida com suco celular. Pode ser formado a partir do retículo endoplasmático ou do complexo de Golgi. O vacúolo constituído de várias substâncias (água, açúcares, proteínas, pigmentos, oxalato de cálcio entre outras) (SALAMONI, 2010; MARTINS-DA-SILVA et al., 2014).

Figura 3.4 – Estrutura da célula vegetal.



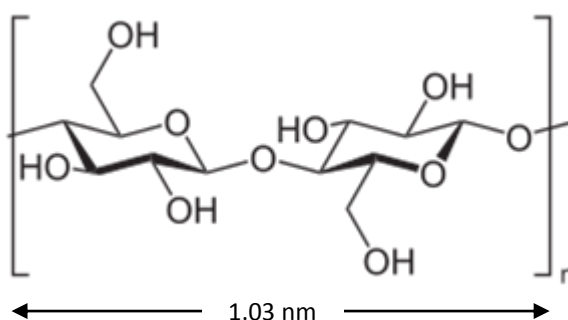
Fonte: Wikipedia, licença Creative Commons.

A molécula da celulose, representada pela fórmula química $C_6H_{10}O_5$, é um dos principais constituintes das paredes celulares das plantas, juntamente com a lignina, a hemicelulose e pectina.

A celulose é um polímero natural de cadeia longa composto de muitas unidades repetidas (Figura 3.5). É classificado como polissacarídeo, formado por moléculas de β -glicose, unidas por ligações β -1,4-glicosídicas. A hemicelulose é um polissacarídeo muito

presente na natureza. Possui estrutura amorfa e ramificada e é facilmente hidrolisado. A lignina é classificada como polifenol, hidrofóbico e possui uma estrutura complexa, também ramificada (JOSEPH, 2021). Com relação à deterioração de acervos, as enzimas produzidas por fungos em substratos à base de celulose podem causar danos irreversíveis. A região amorfa da hemicelulose é a principal matriz de nutrientes para os fungos. Quando um material orgânico entra em processo de degradação, cria-se uma oportunidade para que agentes infecciosos se desenvolvam. Esses agentes agem nas ligações glicosídicas, que são os pontos vulneráveis da cadeia polimérica na celulose (IAEA, 2017; JOSEPH, 2021).

Figura 3.5 – Estrutura da celulose.



Fonte: <http://www.engenhariaflorestal.ufpr.br/>

A folha é o centro de formação de alimento para todo o vegetal, pois é no seu interior que ocorre o processo da fotossíntese. Devido à sua formação bastante diversa é utilizada no processo de identificação sistemática dos vegetais. As características morfológicas das folhas (forma, ápice, base, margem e pilosidade) muitas vezes são a referência principal para a identificação botânica, pois as plantas, dependendo do seu estágio reprodutivo, podem não apresentar flores nem frutos (MARTINS-DA-SILVA et al., 2014). O acesso ao espécime físico da planta facilita a sua identificação, pois muitas vezes os caracteres mais importantes podem ser de difícil visualização ou ausentes em registros fotográficos (SOCIETY, 2021).

O comportamento de cada espécie vegetal varia e algumas delas, após o processo de herborização, se degradam quimicamente impossibilitando análises químicas posteriores.

As características morfológicas que podem se perder no processo da herborização são principalmente cor e odor. Nos herbários as exsicatas das espécies das famílias Asteraceae e Solanaceae estão entre as mais susceptíveis aos processos de biodegradação pelo ataque de insetos e fungos (HALL, 1988; MORI, 1989; BRIDSON e FORMAN, 1992; GUARINO et al., 2020). Por este motivo, amostras de espécies destas famílias foram selecionadas para a presente pesquisa.

▪ Asteraceae

As plantas da família Asteraceae possuem distribuição cosmopolita, com cerca de 1.700 gêneros e 30 mil espécies no mundo. No Brasil ocorrem aproximadamente 290 gêneros e 2.100 espécies (NAKAJIMA et al., 2015).

Diversas plantas medicinais estão também incluídas entre as Asteraceae, destacando-se a carqueja (*Baccharis* spp.), a camomila (*Matricaria recutita*), o guaco (*Mikania* spp.), a estévia (*Stevia rebaudiana*) e a mil-folhas (*Achillea millefolium*). (SOUZA e LORENZI, 2012). Algumas plantas desta família possuem substâncias bioativas como piretrinas, com propriedades inseticidas e repelentes, sendo importante ferramenta natural no manejo de pragas, como exemplo, o crisântemo (*Chrysanthemum*) (MOREIRA et al., 2005).

▪ Solanaceae

A família Solanaceae possui distribuição cosmopolita, concentrada na Região Neotropical incluindo cerca de 150 gêneros e 3 mil espécies. No Brasil ocorrem 34 gêneros e 488 espécies sendo que o maior gênero é o *Solanum* (STEHMANN et al., 2015).

Muitas plantas desta família, reconhecidas por sua importância econômica, são utilizadas na alimentação, como o tomate (*Solanum lycopersicum*), a batata (*Solanum tuberosum*), as pimentas e o pimentão (*Capsicum* spp.), a berinjela (*Solanum melongena*) e o jiló (*Solanum gilo*) ou como ornamentais, como o manacá-de-cheiro (*Brunfelsia uniflora*) e a petúnia (*Petunia hybrida*). O fumo (*Nicotiana tabacum*) também pertence a esta família (SOUZA e LORENZI, 2012).

3.1.4 Preservação e manejo das coleções botânicas nos herbários

As instituições e curadores responsáveis pela manutenção de herbários precisam estar cientes e executar práticas adequadas de manejo e preservação dos acervos. Estes considerados verdadeiros “tesouros” com informações que podem auxiliar na descoberta de novos medicamentos, novas espécies, novas ocorrências, conservação da biodiversidade e apoio na segurança alimentar.

Segundo o relatório de Práticas e Ética do Herbário III disponibilizado pela Sociedade Americana de Taxonomistas de Plantas (RABELER et al., 2019), essas instituições são responsáveis por garantir a preservação e proteção perene dos espécimes, disponibilizar física e digitalmente os espécimes e seus dados para estudo e estimular as coleções com base em pesquisa.

Os procedimentos e técnicas utilizados para coleta, processamento, herborização e manejo da coleção são fundamentais para garantia das coleções.

3.1.4.1 Preservação e Conservação - Terminologia no contexto do patrimônio cultural

Quando se refere às ações de salvaguarda de bens culturais e científicos, os termos preservação e conservação são utilizados muitas vezes como sinônimos. A Resolução de 2008 intitulada *Terminology to characterize the conservation of tangible cultural heritage do International Council of Museums – Committe for Conservation – ICOM-CC* define conservação como sendo ‘todas as medidas e ações destinadas à salvaguarda do patrimônio cultural tangível ao mesmo tempo em que garante a sua acessibilidade às gerações atuais e futuras’. Em termos mais específicos abrange a conservação preventiva, conservação corretiva e restauração (ICOM-CC, 2008).

Nos estudos de BOJANOSKI (2017) sob o uso das terminologias no contexto da conservação e restauração do patrimônio cultural, atualmente há o entendimento de que “a conservação realiza ações e tratamentos, incluindo as medidas preventivas e ambientais concebidas principalmente para prolongar a vida útil de um objeto”. Entende-se que o termo conservação é definido como uma das práticas de preservação dentro da área

patrimonial. Portanto, o termo preservação tem um sentido mais amplo, que inclui as ações de conservação realizadas diretamente e individualmente no artefato.

Nesse sentido também, as definições de CASSARES (2000), dizem que:

***Preservação:** é um conjunto de medidas e estratégias de ordem administrativa, política e operacional que contribuem direta ou indiretamente para a preservação da integridade dos materiais.*

***Conservação:** é um conjunto de ações estabilizadoras que visam desacelerar o processo de degradação de documentos ou objetos, por meio de controle ambiental e de tratamentos específicos (higienização, reparos e acondicionamento) (CASSARES, 2000 p.12).*

Assim, serão consideradas essas definições para serem adotadas de maneira objetiva nesse trabalho.

3.1.4.2 Coleta e organização de espécimes

A coleta de espécimes que compõem os acervos dos herbários pode ser feita por pessoas de diferentes formações ou propósitos sendo, na sua maioria, botânicos ou pesquisadores de determinado grupo de plantas ou de plantas de uma região específica (SOCIETY, 2021).

Quando o espécime coletado é um registro permanente da planta denomina-se “voucher” ou material testemunha. Representa uma peça documental, contribui como fonte de dados primários para as pesquisas botânicas e deve ser depositada em um herbário de reconhecimento público. As características e informações contextuais devem ser anotadas em caderneta de campo e, posteriormente, adicionadas às etiquetas da exsicata. Associado à essas informações deve constar ainda o laudo taxonômico, descrito por especialista do grupo taxonômico correspondente (SOCIETY, 2021; MONTEIRO e SIANI, 2009).

A disposição e organização das coleções nos herbários podem ocorrer de diferentes maneiras, conforme a política da instituição. Entretanto, geralmente, o arranjo segue sistemas de classificação internacionais de acordo com a ordem, família, gêneros e espécies. Como exemplo, para as plantas com flores, a organização ocorre com base no sistema APG (*Angiosperm Phylogeny Group*). Algumas ferramentas *online* para pesquisas taxonômicas estão disponíveis. É necessário, porém, entender sobre os recursos disponíveis e regras de uso (RABELER et al., 2019; SPNHC, 2020).

Em termos jurídicos, os regulamentos para coleta de espécimes dos recursos biológicos variam de país para país. Os processos de solicitação de permissão para realizar pesquisas e coletar espécimes científicos seguem protocolos e licenças específicos. Muitos países têm legislação e regulamentações nacionais e acordos internacionais, conforme as diretrizes estabelecidas pela Convenção da Diversidade Biológica (CDB) e pelo Protocolo de Nagoya (SPNHC, 2020).

A CDB é um dos mais importantes instrumentos internacionais para proteção ao meio ambiente, que entrou em vigor em 1993. A CDB reafirmou a soberania dos países sobre seus recursos biológicos que ocorrem em seu território, determina quem pode coletar e o que os usuários podem fazer com o material. O Protocolo de Nagoya vinculado à CDB entrou em vigor em 2014. É aplicável a recursos genéticos conforme disposições do artigo décimo quinto da CDB e aos benefícios decorrentes da utilização desses recursos (pesquisa e desenvolvimento sobre a composição genética e/ou bioquímica dos recursos genéticos, inclusive por meio da aplicação da biotecnologia). Segundo esse artigo, um recurso genético é qualquer material biológico de planta, animal, microbiano ou outra origem, que tenham unidades funcionais de hereditariedade, obtido na natureza ou em coleções cultivadas pelo homem, com valor real ou potencial. Também é aplicável a conhecimentos tradicionais associados a recursos genéticos no âmbito da CDB e aos benefícios de sua utilização (SECRETARIAT, 2014; PEIXOTO e MORIM, 2003).

3.1.4.3 Empréstimos, permutas e transferências de amostras

Os herbários devem determinar políticas de empréstimos, permutas e doações das amostras depositadas, com procedimentos claros e, preferencialmente, em sistema de gerenciamento de coleções. Geralmente as permutas ocorrem por meio das duplicatas e o intercâmbio é interinstitucional. As duplicatas são exemplares de uma espécie coletados em uma mesma ocasião e que recebem o mesmo número do coletor (PEIXOTO e MAIA, 2013). As transações devem ser devidamente registradas e estarem acessíveis permanentemente. Quando aplicável, as amostras depositadas devem ser coletadas com as devidas autorizações. O número da respectiva licença e documentação deve acompanhar o de espécime. Em transações internacionais há regulamentações alfandegárias específicas com restrições mais ou menos rígidas de acordo com os países, já que os espécimes de

herbário podem ser vetores de doenças ou de espécies invasoras. A convenção sobre o Comércio Internacional das Espécies da Flora e Fauna Selvagens em Perigo de Extinção (Cites) estabelece mecanismos de proteção para garantir a exploração não prejudicial (RABELER et al., 2019).

As práticas de intercâmbio e de permutas são de grande importância pois garantem a sobrevivência dos espécimes e seus registros, em caso de destruição dos herbários por desastres naturais, insetos e outros males (MONTEIRO e SIANE, 2009).

3.1.4.4 Controle ambiental e materiais utilizados

Uma das principais tarefas dos gestores ou curadores é adotar medidas efetivas para a segurança do ambiente livre de pragas, com controle de temperatura e umidade. O armazenamento dos espécimes deve ser realizado em armários de aço e caixas com vedação hermética. Para evitar a proliferação de pragas, a temperatura deve ser mantida entre 15–18°C e umidade relativa de cerca de 50%, com uso de equipamentos apropriados para controle (desumidificadores) e monitoramento (termômetros e higrômetros) (RABELER et al. 2019). O uso de estufas (60°C) é recomendado para o processo de secagem. As estufas podem ser de resistência elétrica, com ou sem circulação de ar, ou aquecidas por lâmpadas (PEIXOTO e MAIA, 2013). Para climatização e desumidificação do ambiente são encontradas, ainda, outras recomendações de temperatura entre 18 e 23°C e a umidade relativa entre 40 e 55%, descritas em Peixoto e Maia, 2013.

Como já explicitado, as partes das plantas coletadas são fixadas em suporte de papel para montagem das exsiccatas. Esses papéis ficam em contato direto com a amostra vegetal. Os papéis, bem como as embalagens utilizadas para armazenamento dos fragmentos devem ter pH neutro e serem constituídos em, no mínimo, 25% fibra de algodão. Da mesma forma, a cola utilizada deve ser de boa qualidade e sem ácido. Para o uso de cliques de papel devem ser adotados os de aço inoxidável e as fitas de tecido em substituição as fitas de celulose. Para as anotações não impressas devem ser utilizadas canetas de qualidade de arquivo quimicamente estável e tintas mais resistentes (*archival ink*) para impressão das etiquetas (RABELER et al., 2019).

3.1.4.5 Controle de pragas e tratamentos

Uma combinação de componentes torna os herbários vulneráveis ao ataque de pragas, como insetos, roedores e microrganismos. Os fungos e algumas espécies de insetos e pragas podem causar deterioração nas exsicatas, visto que estas representam fonte de alimento. Os acervos dos herbários são compostos de matéria orgânica (vegetal) desidratada e outros materiais à base de celulose e compostos proteicos (papel, adesivos naturais e colas). As condições de armazenamento desses materiais sujeitas a alterações de clima, mudanças de temperatura e altos níveis de umidade favorecem o crescimento de fungos (GUARINO et al., 2020).

Alguns grupos de espécies são mais vulneráveis e atrativos ao ataque de insetos, como os petalóides pertencentes às monocotiledôneas e Asteraceae da classe das dicotiledôneas; por outro lado, briófitas e líquens são mais resistentes (HALL, 1988; GUARINO et al., 2020).

Estudos que descrevem as pragas que atacam o material herborizado observam que um fator crítico é a localização dos herbários em regiões tropicais, com clima quente e úmido (MONTEIRO e SIANI, 2009). Uma dificuldade no manejo das pragas está no fato de que parte dos insetos que causa dano ao material herborizado está em sua fase larval, o que dificulta a sua identificação (WINDISCH e LONGHI-WAGNER, 2000).

Os principais agentes de infestação relatados em herbários são: besouros *Lasioderma serricorne*, *Stegobium paniceum*, *Anthrenus verbasci* e *Trogoderma granarium*; tesourinha *Lepisma saccharina*; piolho de livro *Liposcelis* spp.; traças *Plodia interpunctella*, *Tineola bisselliella* e *Tinea pellionella*; baratas *Blattella germânica* e *Periplaneta americana*; brocas e cupins. Outros agentes de contaminação dos herbários são os ácaros, destruidores principalmente de coleções micológicas, e os bolores. (HALL, 1988; BRIDSON e FORMAN, 1992; WINDISCH e LONGHI-WAGNER, 2000; MONTEIRO e SIANI, 2009; GUARINO et al., 2020).

É importante haver uma vigilância constante do acervo com checagem visual, como prevenção rotineira. Todo o material deve ser descontaminado antes de ser colocado junto às coleções (GUARINO et al., 2020; WINDISCH e LONGHI-WAGNER, 2000).

Os processos de desinfestação constituem o principal objetivo da manutenção para garantir a integridade e longa durabilidade de uma exsicata já montada para depósito. MONTEIRO e SIANE (2009) destacam ainda que os cuidados preventivos com a contaminação do material botânico devem ter início desde o momento da sua coleta no campo. Uma pesquisa sobre manuais e guias de apoio aos herbários, realizada pelas autoras citadas, mostrou que faltam informações de técnicas disponíveis sobre cuidados de cunho preventivo, de maneira que fique condicionada a qualidade do material coletado como acervo permanente às medidas de esterilização do material depositado e desinfecção do herbário.

Procedimentos para garantir níveis baixos de contaminação microbiológica e/ou de pragas devem ocorrer desde a etapa de preparação da exsicata, nas áreas de secagem e montagem, nos materiais em estoque e na edificação (MONTEIRO e SIANI, 2009).

As medidas utilizadas de manejo e controle de pragas são semelhantes aos procedimentos adotados para outros contextos de patrimônio cultural. Na abordagem de HALL (1988), para que haja uma efetiva preservação dos espécimes dos herbários, as pragas devem estar completamente ausentes. Padrões de segurança também devem ser priorizados para os seres humanos, visto que o ambiente é acessado rotineiramente por curadores e pesquisadores (GUARINO et al., 2020).

Os métodos de controle podem ser físicos ou químicos aplicados isoladamente ou em conjunto. No entanto, independente dos métodos utilizados, deve ser considerado que se trata de um acervo sensível. A fumigação, por exemplo, pode danificar as amostras, causar o desbotamento de tintas das etiquetas, alterar as cores de imagens e fotografias que compõem os arquivos documentais, promover a decomposição catalisada por ácido em papel e livros do acervo. Sem os cuidados necessários, o uso de certos produtos como fosfina pode danificar os equipamentos (por exemplo, microscópios e lupas) e fiação elétrica dos herbários, pois esse produto é corrosivo para a maioria dos metais e reage em especial com o cobre (HALL, 1988).

3.1.4.5.1 Métodos físicos e semioquímicos de controle

Os principais métodos utilizados para controle físico se referem a tratamento térmico. O uso de freezer para o congelamento das exsicatas embaladas em sacos plásticos

operando a -18°C e durante 48 horas é considerado efetivo (HALL, 1988), em combinação com o aquecimento a altas temperaturas (superiores a 44°C por duas horas) (MONTEIRO e SIANI, 2009). Esses valores de temperatura podem variar de acordo com as práticas estabelecidas por cada herbário, conforme foi observado nas referências utilizadas nesta pesquisa.

Medidas incluem a instalação de telas nas janelas e entradas de ventilação, para bloquear o acesso de insetos voadores (HALL, 1988).

Outra técnica utilizada é o uso de iscas com feromônios, que atraem e prendem os insetos. Este procedimento foi relatado no experimento de GUARINO et al. (2020), conduzido em herbário italiano com o besouro-do-tabaco, espécie *Lasioderma serricorne* (ordem Coleóptera, família Anobiidae), inseto mais infestante encontrado neste herbário.

3.1.4.5.2 Métodos químicos de controle

Vários compostos químicos são usados para prevenir e combater o ataque de pragas em herbários e também em muitas outras coleções de museus e bibliotecas. São utilizadas técnicas de imersão em solução de veneno ou borrifar o produto (inseticida ou repelente) e fumigação (formulações voláteis no estado de vapor ou gás) aplicada periodicamente em sistema hermético (HALL, 1988; MONTEIRO e SIANI, 2009).

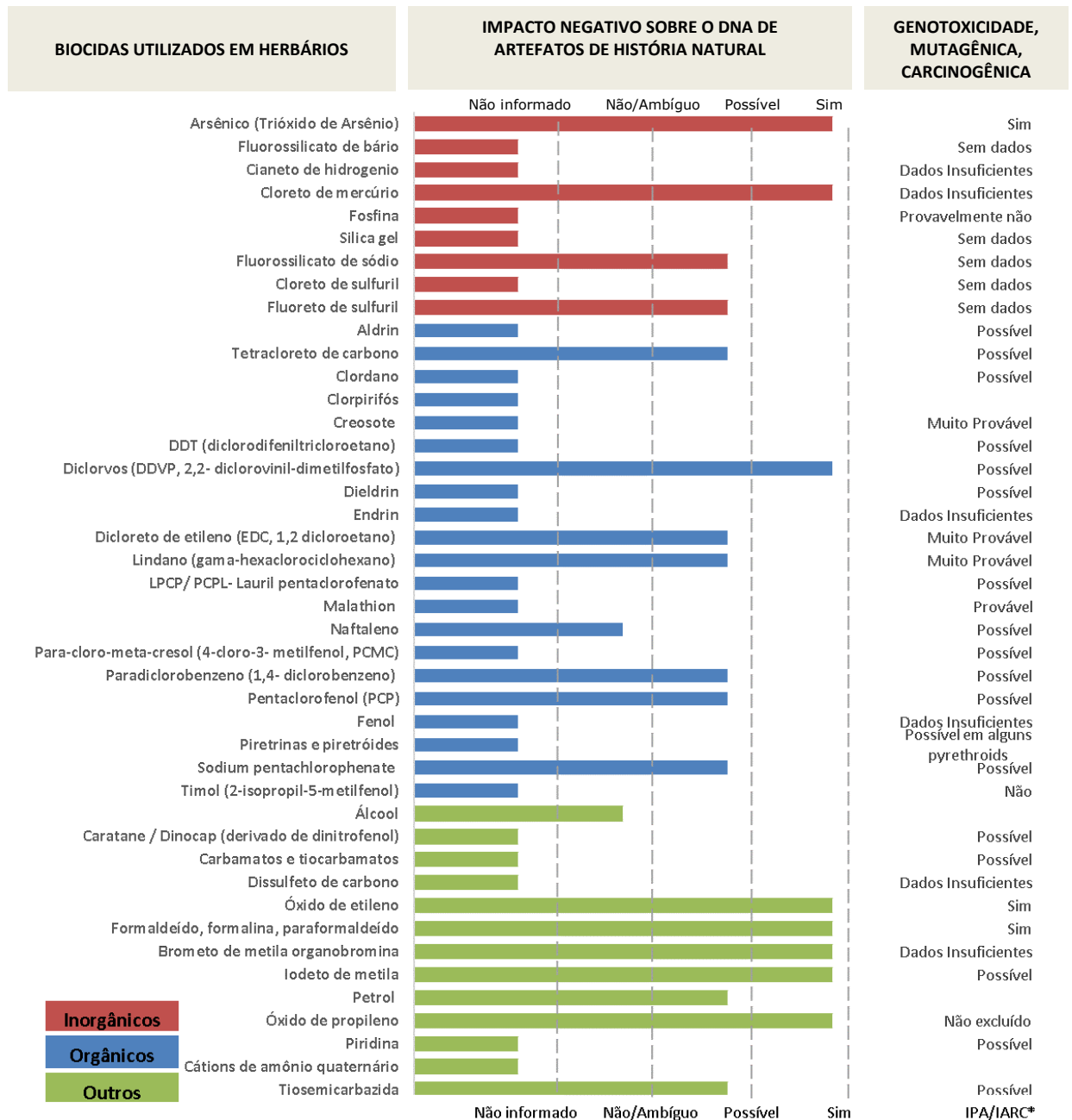
As substâncias biocidas são partes deste conjunto de recursos, que tem como característica o alto risco que representam tanto para os artefatos quanto para as pessoas que manipulam esse patrimônio devido a sua alta toxicidade. Os biocidas são amplamente utilizados para controle de pragas em herbários. Esses compostos têm comprovadamente impactos negativos não somente aos insetos e microrganismos, mas em outras formas de vida, como o ser humano e também aos artefatos, podendo causar danos irreversíveis aos ecossistemas e a saúde humana (SPNHC, 2020; MONTEIRO e SIANI, 2009; HALL, 1988). Como exemplo, o pesticida diclorodifeniltricloroetano sob a sigla DDT foi amplamente utilizado a partir da década de 1940 para diversos fins por sua eficiência imediata e baixo custo, porém por ser comprovadamente tóxico e com efeito cumulativo em longo prazo, teve seu uso proibido (D'AMATO, TORRES, MALM, 2002).

O Óxido de Etileno existe há quase 90 anos e é o agente de esterilização gasosa mais utilizado no mundo. Seu uso tem início na área agrícola e é utilizado em diversos tipos de materiais. No Brasil, sua utilização é permitida para esterilização de materiais e artigos médico-hospitalares, que não possam ser expostos ao calor ou agentes esterilizantes líquidos. Trata-se de método eficaz, porém é um produto altamente tóxico, cancerígeno e explosivo (GIPA/IIA, 2017).

Uma compilação dos biocidas utilizados em herbários, sua formulação, impacto negativo sobre o DNA dos artefatos de história natural e sua toxicidade foi produzido por SPNHC (2017), sintetizado graficamente pela autora desta pesquisa na Figura 3.6.

MONTEIRO e SIANE (2009) indicam que a preservação e manejo dos acervos requerem um grande e contínuo esforço para o controle das contaminações e reinfestações do acervo dos herbários. O uso de fumigação pode resultar, ao longo do tempo, em resistência dos insetos aos produtos químicos aplicados. Técnicas como atmosfera modificada e anóxia, que já são utilizadas em outras coleções do patrimônio cultural são alternativas que vem surgindo.

Figura 3.6 – Biocidas utilizados para descontaminação de herbários.



(*) Genotoxicidade, mutagênica, carcinogênica (fonte: EPA e IARC)

Fonte: Autora da dissertação, elaborado com base em SPNHC (2017).

A utilização da radiação ionizante como técnica de tratamento para desinfecção e desinfestação de acervos de herbários pode ser uma alternativa e, por isso, é objeto do presente estudo, que será tratado detalhadamente na próxima seção.

3.2 Radiação

Elementos químicos instáveis (radioisótopos) têm capacidade de emitir energia sob a forma de partículas ou radiações eletromagnéticas, num fenômeno conhecido como radioatividade. Esses elementos podem existir em diferentes estados físicos, emitir radiação e independentemente das condições de temperatura e pressão ou forma química. Os estudos das radiações tiveram início com as descobertas sobre os raios X em 1895 pelo alemão Wilhelm K. Röntgen. Antoine-Henri Becquerel em seus estudos com sais de urânio, em 1896, descobriu que a radiação emitida pelo urânio era proporcional à sua concentração (ZAHN et al., 2019). Conforme OKUNO e YOSHIMURA (2010) essa descoberta marcou o início da Física Nuclear. Nessa época não se sabia exatamente o que era a radiação. Nos anos seguintes, o casal Pierre e Marie Curie identificou que outros elementos químicos como o tório, o polônio e o rádio também emitiam radiação. Os estudos prosseguiram e Ernest Rutherford, Becquerel e Paul Villard identificaram os três principais tipos de radiação denominadas partículas alfa (α), partículas beta (β) e raios gama (γ) (ZAHN et al., 2019; OKUNO e YOSHIMURA, 2010).

O processo de desintegração nuclear se dá com a emissão ou deslocamento da energia, que ocorre por meio de ondas eletromagnéticas ou partículas que contém massa, carga elétrica e magnética. Além das radiações alfa, beta e gama, outras formas de radiação eletromagnética são o raio X, ultravioleta, luz visível, ondas de rádio, infravermelha, micro-ondas (FIOCRUZ, 2020).

Dependendo da sua origem as radiações podem ser naturais ou artificiais. As fontes naturais são aquelas que ocorrem espontaneamente e que o ser humano e o ambiente estão expostos desde a origem da espécie. Essas fontes de radiação natural podem ser encontradas em rochas ou sedimentos, ser originárias de explosões de supernovas antes da formação do sistema solar, e ainda, da radiação cósmica de altíssima energia proveniente das reações nucleares que alimentam o sol. As artificiais provêm de dispositivos produzidos pelo homem, cuja energia pode ser pequena ou elevada, como exemplos, equipamentos médicos e testes nucleares (ZAHN et al., 2019).

3.2.1 Radiação não-ionizante e ionizante

De acordo com a energia que transmitem, as radiações podem ser classificadas de duas formas: não-ionizante e ionizante. Pelo interesse e necessidade da presente pesquisa a radiação ionizante será abordada com maior profundidade.

3.2.1.1. Radiação não-ionizante

A radiação não ionizante é aquela cujos átomos permanecem estabilizados, pois essa radiação não é capaz de retirar elétrons das órbitas (eletrosferas). As radiações não ionizantes, portanto, não provocam ionização e excitação de átomos e moléculas, por exemplo, radiação infravermelha, micro-ondas, ultravioleta, ondas de rádio e de celular e luz visível (FIOCRUZ, 2020).

3.2.1.2 Radiação ionizante

No modelo atômico-molecular de Rutherford-Bohr proposto no início do século XIX, conhecido como “modelo planetário”, o átomo é formado por um núcleo de carga elétrica positiva, com prótons e nêutrons (chamado de nucleons) e ao seu redor estariam os elétrons com carga elétrica negativa. O núcleo é muito compacto medindo 10^{-15} m e é 100.000 vezes menor que o átomo, que tem diâmetro de 10^{-10} m. Quando em equilíbrio, o núcleo e os elétrons de um átomo estão em orbitais estacionários. Os elétrons gravitam em órbitas ou camadas com diferentes níveis de energia e quando esses passam de um nível mais próximo do centro para camadas mais afastadas, diz-se que o átomo se encontra em estado excitado, ou seja, instável (ZAHN et al., 2019). Ocorre então o processo no qual o átomo tende a voltar a uma condição de equilíbrio, ou seja, ao seu estado fundamental. Esse processo pode gerar a emissão de fótons, com diferentes energias radiantes. Com energia suficiente o elétron escapa do núcleo e o átomo fica carregado positivamente, processo conhecido como ionização.

As radiações classificadas como ionizantes tem a propriedade de extrair elétrons dos átomos ou moléculas. Desta forma, as órbitas dos átomos perdem elétrons e se

transformam em cátions, ou seja, átomos desestabilizados. A radiação que incide é denominada radiação primária e os elétrons extraídos denominados radiação secundária. As radiações ionizantes podem ser classificadas por três formas principais: alfa, beta e gama, cujas características podem ser observadas na Figura 3.8 (ZAHN et al., 2019; FIOCRUZ, 2020).

Figura 3.7 – Os três tipos principais de radiação e suas características.

		RADIAÇÃO		
		ALFA	BETA	GAMA
COMPOSIÇÃO		Núcleos de ${}^4\text{He}$ duplamente ionizados	Elétrons de alta energia	Ondas eletromagnéticas de alta frequência
PODER DE IONIZAÇÃO		Alto. A partícula alfa captura 2 elétrons do meio, se transforma átomo de hélio	Médio. Por possuírem carga elétrica menor	Pequeno. Não possuem carga
CARGA ELÉTRICA		$+2e$	$-e$	0
PENETRAÇÃO		Baixa	Média	Muita alta
VELOCIDADE		5% da velocidade da luz	95% da velocidade da luz	Igual a velocidade da luz
DANOS AO SER HUMANO		Pequenos. São detidos pela camada de células da pele	Médios. Podem penetrar e ionizar moléculas gerando radicais livres	Altos. Pode atravessar o corpo humano, causando danos irreparáveis

Fonte: Autora da dissertação, elaborado com base em ZAHN et al., 2019.

A radiação alfa, ou partícula alfa, tem carga elétrica positiva, sendo constituída em dois prótons e dois nêutrons, idênticos aos núcleos dos átomos de hélio. Perdem energia muito rapidamente quando passam através da matéria. Podem ser detidos com uma folha de papel.

As partículas ou radiação beta possuem elétrons (carga negativa) e são criadas num núcleo quando há um excesso de nêutrons em relação aos prótons. Podem ocorrer também,

quando há o processo de estabilização devido ao excesso de prótons em relação aos nêutrons, com a emissão de pósitron. E se propagam com velocidade semelhante à da luz. Com relação ao fator denominado penetração, dependendo da espessura do material as partículas beta são detidas completamente. A melhor blindagem para este tipo de partícula são materiais de número atômico baixo (Z), tais como o acrílico (ZAHN et al., 2019; OKUNO e YOSHIMURA, 2010).

As radiações podem ser diretamente ou indiretamente ionizantes. São denominadas diretamente ionizantes quando a transferência de energia de uma radiação incidente para a matéria ocorre por partículas com carga elétrica, como alfa, beta e elétrons interagindo com muitos átomos. Já as radiações indiretamente ionizantes são aquelas que não possuem carga, tais como as eletromagnéticas (raios-X e gama) e os nêutrons, interagindo individualmente e transferindo sua energia para elétrons que provocam novas ionizações (TAUHATA, 2013).

3.2.2 Interação da radiação com a matéria

Considerando as diversas aplicações da radiação, que vão de estudos de estruturas internas até a cura de doenças, faz-se imprescindível o entendimento do processo de interação da radiação com os diversos tipos de materiais. Dependendo da velocidade, da massa, da carga da partícula e do impacto quando ocorre a incidência da radiação na matéria, a interação se dá de diferentes formas (TAUHATA, 2013; OKUNO e YOSHIMURA, 2010).

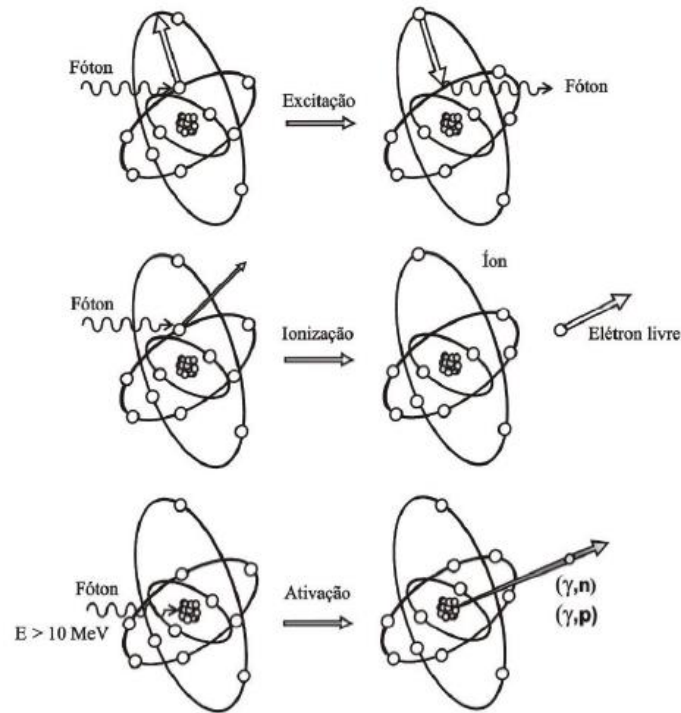
Conforme descreve TAUHATA (2013) é apresentado no Quadro 3.1 e ilustrado na Figura 3.7 o que a radiação ionizante pode provocar, sob o ponto de vista físico, ao interagir com um material.

Quadro 3.1 – Modos de interação da radiação com a matéria.

Modos de interação	Características da interação
Excitação atômica ou molecular	Elétrons são deslocados de seus orbitais de equilíbrio. Quando retornam emitem a energia excedente sob a forma de luz ou raios X característicos.
Ionização	Elétrons são removidos dos orbitais pelas radiações. Geram elétrons livres de alta energia, íons positivos ou radicais livres quando ocorrem quebra de ligações químicas.
Ativação do núcleo	A interação de radiações com energia superior à energia de ligação dos nucleons com um material pode provocar reações nucleares, resultando num núcleo residual e emissão de radiação. Dependendo da natureza do material irradiado e do comportamento de captura do nêutron pelo núcleo pode ocorrer a absorção de nêutrons de baixa energia, denominados de nêutrons térmicos.
Radiação de freamento	Ao interagir com a matéria, as radiações constituídas por partículas carregadas como alfa, beta e elétrons acelerados podem converter uma parte de sua energia de movimento, cerca de 5%, em radiação eletromagnética. Esta radiação, denominada de raios X de freamento, é o resultado da interação entre os campos elétricos da partícula incidente, do núcleo e dos elétrons atômicos. Ocorre com maior probabilidade na interação de elétrons com átomos de número atômico elevado. Devido ao mecanismo e ao ângulo aleatório de saída da partícula após a interação, a energia convertida em raios X é imprevisível, com valor variando de zero até um valor máximo, igual à energia cinética da partícula incidente.

Com fundamentação nas forças responsáveis pelas interações e na modelagem utilizada para sua descrição, as radiações ionizantes são classificadas por YOSHIMURA (2009), e diz que os fótons interagem pela ação dos campos eletromagnéticos e atuam no meio sobre as partículas carregadas que agem em elétrons por interações coulombianas consecutivas; já os nêutrons tem ação sobre prótons e nêutrons de núcleos atômicos pela força nuclear forte.

Figura 3.8 – Modos de interação da radiação com a matéria.



Fonte: TAUHATA, 2013.

Conforme dados compilados por YOSHIMURA (2009), as interações possíveis de ocorrer e suas consequências para: a) radiação eletromagnética ionizante – raios X, raios gama e fótons de aniquilação e b) partículas carregadas rápidas podem ser observadas nas Tabelas 3.1 e 3.2, respectivamente.

Tabela 3.1 – Interações da radiação eletromagnética ionizante com a matéria – raios X, raios gama e fótons de aniquilação e seus efeitos.

Interação – símbolo da seção de choque	O que muda no meio	O que muda na radiação incidente	Radiação ionizante produzida
Espalhamento Coerente - σ_{scor} (espalhamento da radiação pelo átomo)		Direção de propagação, (mantém energia)	REM espalhada de mesma energia
Fotoelétrico - τ (ejeção de elétron ligado)	Ionização e excitação do átomo, recuo do núcleo	Fóton é absorvido	Elétron rápido, raios X característicos, elétrons Auger
Compton - σ_{inc} (espalhamento do fóton por um elétron)	Ionização do átomo	Fóton perde energia e muda de direção	Elétron rápido, fóton com menor energia, espalhado
Produção de Par - κ (energia do fóton é consumida na criação do par (e- e+))	Recuo do núcleo; aniquilação do pósitron	Fóton é absorvido	Elétron e pósitron rápidos, raios X de aniquilação

Fonte: YOSHIMURA (2009).

Tabela 3.2 – Interações das partículas carregadas rápidas e seus efeitos com a matéria.

Partícula carregada	Interações possíveis	O que muda no meio de interação	Radiação ionizante produzida
Elétrons, pósitrons e íons pesados	Colisão inelástica com o átomo (colisão suave)	Excitação e eventual ionização de átomos em camada de valência	Partícula primária com pequena mudança de direção, eventualmente um elétron rápido (secundário)
	Colisão com elétron fortemente ligado (colisão dura)	Ionização (camada interna) e excitação do átomo	Partícula primária, elétron rápido (secundário), raios X característicos, elétrons Auger
	Choque elástico com o núcleo	Recuo do núcleo	Partícula primária com mesma energia e outra trajetória
Elétrons e pósitrons	Choque inelástico com o núcleo	Recuo do núcleo	Partícula primária e radiação de freamento (Bremsstrahlung)
Pósitrons	Aniquilação com um elétron do meio	Ionização e excitação do átomo	Dois fótons de aniquilação, cada um com $h\nu \geq 0,511$ MeV
Todos	Reação nuclear	Núcleo modificado (Z ou A) e excitado	Partículas subnucleares, raios gama de desexcitação nuclear

Fonte: YOSHIMURA (2009).

3.2.3. Radiação Gama

Paul Villard, em 1900, identificou uma forma de radiação que não era defletida na presença de campo elétrico, denominada de radiação gama. Mais tarde, em 1914, Rutherford demonstrou que a radiação gama era composta por ondas eletromagnéticas de comprimento menor que os raios-X, portanto, com frequência e energia maiores (ZAHN et al., 2019).

O raio gama não tem carga elétrica sendo produzidos quando o núcleo libera o excesso de energia sob a forma de radiação eletromagnética. Possui elevada frequência acima de 10¹⁹ Hz, baixo comprimento de onda de 10⁻¹² m e energias acima de 0,1 MeV. Muito penetrantes, podem ser detidos por uma chapa de chumbo de 5 cm (FIOCRUZ, 2020; OKUNO e YOSHIMURA, 2010). TAUHARA (2013) explica ainda que as radiações

eletromagnéticas gama têm como características a ausência de carga e massa de repouso e caráter ondulatório. Essas radiações por possuírem alto poder de penetração no material podem percorrer grandes espessuras até que ocorra a primeira interação. A probabilidade de ocorrer interação depende do valor de sua energia.

A radiação gama é produzida em processo de decaimento nuclear. No decaimento gama ocorre a emissão do excesso de energia de um núcleo excitado (*), ficando o núcleo com estado menor de energia (ZAHN et al., 2019):



A abordagem de NISHIMURA (2009) diz que na radiação gama há possibilidade de ocorrerem interações com o átomo, com elétrons atômicos e com o núcleo; dependendo da energia. Podem ocorrer também “não interações” com a matéria, dependendo das características do meio e da faixa de energia da radiação (eV).

3.2.4 Irradiador Gama

Irradiadores são dispositivos capazes de emitir energia em forma de calor, elétrons, raios X, raios gama, por meio de uma fonte radioativa (radioisótopo ou radiação ionizante) ou equipamentos emissores de radiação. Existem diferentes modelos de irradiadores atualmente em uso comercial e também para aplicação em pesquisa. IAEA (2005) descreve os princípios que baseiam todos os projetos de irradiadores, que são a eficiência na utilização de energia da radiação, uniformidade da dose e segurança e facilidade operacional.

Há centenas de irradiadores gama em operação no mundo. Conforme aponta GIPA/IIA (2017) existem mais de 200 instalações em operação em cerca de 50 países, sendo que a maioria desses está instalada na Europa e América do Norte. Seu uso está dividido metade para esterilização de produtos médicos e a outra metade para esterilização/desinfecção/ desinfestação de produtos diversos.

Conforme IAEA (2010), os irradiadores gama são classificados em quatro categorias de acordo com o seu projeto de instalação, acessibilidade e blindagem da fonte radioativa. São eles: Categoria I (autoblindados, pequeno porte, processam volumes limitados, sistema fixo de fontes), Categoria II (blindagem com materiais sólidos, panorâmicos de armazenamento de fonte seca, sistema de deslocamento para movimentar as fontes radioativas), Categoria III (blindagem com água tipo piscina, fontes radioativas ficam submersas, capacidade limitada, risco de contato do produto tratado com a água) e Categoria IV (fontes armazenadas em piscina de água, alta capacidade de processamento, grande porte, irradiação de produtos nas formas estacionária ou dinâmica, sistema de controle de segurança radiológica para evitar a exposição humana).

A Norma CNEN NN 6.02 (CNEN, 2020a), que dispõe sobre o licenciamento de instalações radiativas no Brasil estabelece que de acordo com a quantidade de material que processam e o grau de risco, as instalações radiativas que utilizam fontes seladas são classificadas em três grupos (I, II e III), sendo: Grupo I – instalações de grande porte que utilizam fontes seladas nos processos industriais, para diversas aplicações, como exemplos esterilização de materiais e preservação de alimentos, Grupo II – instalações que utilizam fontes seladas em equipamentos e Grupo III – instalações com fins comerciais ou de prestação de serviços, onde se manipulam, utilizam ou armazenam fontes seladas que não se enquadram nos outros grupos.

Os dados apresentados por CNEN (2020b) mostram que existem no Brasil 21 instalações autorizadas de irradiação industrial, distribuídas em sete estados. Essas unidades atuam na esterilização de produtos médicos, redução de carga microbiana em gêneros alimentícios, cura de tintas e vernizes, conservação do patrimônio cultural entre outros. Recentemente, em decorrência da pandemia pelo SARS-Cov-2, estudos e projetos têm sido realizados com objetivo de esterilização de materiais hospitalares.

O Cobalto-60 e o Césio-137 são as fontes de radiação gama mais adequadas devido à alta energia de seus raios gama e meia vida longas, 5,3 e 30,1 anos, respectivamente. Entretanto, atualmente, a fonte de radiação gama mais utilizada no processamento por radiação é o radionuclídeo Cobalto-60 ou ^{60}Co . A produção do cobalto radioativo é realizada num reator e tem início quando um átomo do isótopo ^{59}Co absorve um nêutron, conforme a representação $^{59}\text{Co} + n \Rightarrow ^{60}\text{Co}$. O Cobalto-60 decai para o isótopo estável de

níquel-60 (não radioativo) emitindo partícula beta negativa e fótons de energia de 1.17 MeV e 1.33 MeV, $^{60}\text{Co} \Rightarrow ^{60}\text{Ni} + e^- (+ 2 \gamma \text{ fótons})$. Esse radioisótopo é utilizado nos irradiadores em forma de pequenas pastilhas seladas e encapsuladas em tubos de Zircaloy (ligas de zircônio resistentes à corrosão) denominados “lápiz de cobalto”. Os raios gama passam pela fonte encapsulada até atingirem os átomos de um material exposto ao campo de radiação. Essa energia não é alta o suficiente para interagir com o núcleo dos átomos e tornar o material radioativo (IAEA, 2005, IAEA, 2010, GIPA/IIA, 2017).

3.2.5 Processamento por radiação ionizante

A realização de pesquisa científica e aplicações da tecnologia da radiação e de radioisótopos nas áreas da indústria, agricultura, medicina e meio ambiente ocorrem de longa data. As propriedades dos radioisótopos de emitirem radiações, que podem atravessar a matéria ou serem absorvidas por ela, possibilitam o processamento de produtos e matérias-primas para diferentes fins (CNEN, s/d).

É um método muito eficiente para realizar a esterilização por ser capaz de atingir os microrganismos tornando-os inativos, como já bem estabelecido para a esterilização de produtos médicos, cirúrgicos, farmacêuticos e tecidos biológicos para implantes cirúrgicos (GIPA e IIA, 2017; GONÇALVES et al., 2019). No caso da esterilização por radiação ionizante, as vantagens incluem a possibilidade da imediata utilização do material tratado; a elevação mínima da temperatura do produto durante o processamento; o material pode ser esterilizado na própria embalagem, o que contribui para prevenção de recontaminação pós-esterilização; o método de processamento é preciso e reproduzível; o processo é realizado a seco; e a aceitação pública em várias partes do mundo com relação ao uso do processamento para tratamento de alimentos (CHMIELEWSKI e HAJI-SAEID, 2004; IAEA, 2005).

Conforme CNEN (s/d), o que poderia ser algo inconveniente aos seres vivos pode ser usado em seu benefício. A propriedade de destruição de células e pequenos organismos que ocorre por meio da absorção da energia das radiações em forma de calor, pode ser utilizada para destruir células e microrganismos nocivos.

Na indústria alimentícia, a radiação gama é utilizada para controle de microrganismos patogênicos de alimentos, aumento de tempo de prateleira e inibição de brotamento (FAO/WHO, 2003; SILVA et al., 2014). Tem aplicações promissoras na área ambiental como purificação de águas residuais e gases de combustão, no tratamento de efluentes industriais e na degradação de compostos orgânicos tóxicos (CHMIELEWSKI e HAJI-SAEID, 2004; CHMIELEWSKI, 2005). É uma tecnologia bem estabelecida na formulação e modificação de materiais poliméricos, nanomateriais e grafeno, reticulação de revestimentos de fios e cabos, cura de tintas e vernizes, para induzir coloração de pedras preciosas como topázio, quartzo, ametista, citrino e rubelita e beneficiamento de gemas (turmalina, topázio, citrino e ametista) e quartzo (CLELAND et al., 2003; CALVO, 2005). Na medicina, seu uso ocorre desde 1959 na produção de radiofármacos e componentes e dispositivos processados nos irradiadores gama e para fins de esterilização (IAEA, 2002; IAEA, 2008; GIPA/IIA, 2017). Como um exemplo prático especificamente na medicina diagnóstica, o uso do iodo-131 (I-131) que emite partículas beta, radiação gama e tem meia-vida de oito dias, é utilizado nas avaliações das glândulas da tireóide. Outros radioisótopos como o tecnécio-99 (Tc-99m) e Samário-153 (Sm-153), utilizados como contrastes ou traçadores radioativos em exames de cintilografia para obter imagens de diversos órgãos internos do corpo humano (UNITED NATIONS, 2010; CNEN, s/d).

Outro campo de aplicação bastante importante é na desinfestação e desinfecção de artefatos de patrimônio cultural e acervos documentais e bibliográficos. Muitos são os esforços para preservação desse patrimônio, que podem ser impactados por fatores de deterioração devido as condições climáticas e armazenamento. O uso de raios gama como ferramenta para conservação do patrimônio cultural vem de longa data. Estudos indicam a utilização desta técnica com sucesso, que já vem sendo empregada há 50 anos. O tratamento com objetivo biocida (desinfecção e desinfestação) é o mais utilizado, além de consolidação de materiais porosos com uso de resina (IAEA, 2017; BACCARO e CEMMI, 2017; CORTELLA, 2020).

3.2.5.1 Efeitos da radiação ionizante nos materiais

A radiação gama está na região de alta energia dentro do espectro da radiação eletromagnética, assim como os raios-X, sendo suficiente para quebrar as ligações moleculares e ionizar átomos, podendo modificar as propriedades químicas, físicas e biológicas do material irradiado. No entanto, não possui a energia capaz de afetar a estrutura do núcleo atômico, a ponto de torná-lo radioativo (CHMIELEWSKI e HAJI-SAEID, 2004; IAEA, 2005). A radiação gama interage com os elétrons dos átomos e moléculas dos materiais expostos ao campo de radiação gerando elétrons secundários que provocam ionizações e excitação eletrônica de outros átomos e moléculas. Geralmente as espécies radiolíticas se recombinaem após a ionização inicial sem qualquer modificação química aparente ou retornam a um estado desexcitado sem quaisquer efeitos tardios (CORTELLA, 2020).

Considerando a similaridade na constituição dos artefatos do patrimônio cultural e o tratamento de descontaminação adotado, com o material objeto desta pesquisa - exsiccatas sob a guarda dos herbários – o conhecimento do processamento por radiação no patrimônio cultural será utilizado como referência neste estudo. É necessário, portanto, entender as reações que podem ocorrer considerando a natureza do material e a dose de radiação (tema a ser tratado mais detalhadamente adiante).

No tratamento do patrimônio cultural, conforme explicam PONTA et al. (2017), a irradiação é o processo de transferência da energia da radiação para um artefato e seus agentes biológicos causadores dos processos de degradação. Essa transferência de energia provoca alteração química no artefato e nos organismos vivos que, por sua vez, produz efeitos biológicos na estrutura celular. A radiação ionizante interage com os microrganismos de duas formas: a) diretamente provocando alterações estruturais na molécula do DNA, impedindo a reprodução celular e b) indiretamente pelas espécies provenientes da radiólise da água (oxidantes, redutoras, radicais livres, elétron aquoso) (SILVA, et al. 2014; PONTA et al., 2017).

As pesquisas de DOWNS (2002) e WITHROW et al. (2003) apud PONTA et al. (2017) demonstram que é possível efetuar análise de DNA após a irradiação em doses da ordem de 50 kGy. CORTELLA (2017) relata o uso da radiação gama em um espécime congelado de mamute bebê com cerca de 50 mil anos, com dose de 20 kGy para fins de

tratamento sanitário. Ele afirma que embora a radiação gama cause lesões no DNA essa não interferiria no acesso às informações do DNA, exceto para realizar datação por radioluminescência após a irradiação, porque o material perde a informação de datação. Em outro experimento, ABBONDANTE (2009) realizou estudos a fim de analisar os efeitos da radiação gama, de uma fonte de cobalto-60, em DNA forense de matrizes biológicas. A estabilidade das amostras de DNA pós-irradiação foi observada e os resultados obtidos indicaram haver pouca degradação até 5 kGy e que é possível obter o perfil de DNA completo em exposição até 10 kGy. O estudo realizado por GILBERT et al. (2007) demonstrou a possibilidade de análise 20 anos após o tratamento com doses de 20-25 kGy, do mtDNA das múmias Inuit do século 15, escavadas em Qilakitsoq na Groenlândia em 1978. Considerando as doses necessárias para tratamento eficiente de materiais contaminados por insetos (0,5 kGy) e fungos (3 kGy – 10 kGy) e, considerando ainda, que o efeito biocida ocorre de maneira similar em diversos materiais (PAVON FLORES, 1976; IAEA, 2017), as pesquisas indicam ser possível analisar o DNA após a irradiação.

Como apontado anteriormente, a interação da radiação com os materiais pode causar ionização, formação de radicais livres, cujos efeitos podem provocar alterações nos polímeros básicos (celulose, lignina e proteínas) presentes nos artefatos orgânicos. No entanto, a maioria dos radicais livres deixa de existir rapidamente e são menos reativos, por exemplo, que os produzidos pelos fungos, que podem ser mais danosos por permanecer reagindo por muito mais tempo (PONTA et al., 2017). Os estudos de KODAMA et al. (2016), relacionados à estabilidade e as reações químicas cinéticas dos radicais livres formados por radiação ionizante no patrimônio cultural a base de celulose, demonstram que a recombinação acentuada dos radicais livres (50%) ocorreu em até 2 dias e depois de 40 dias permaneceram em cerca de 20%. Isso demonstra que os efeitos pós-irradiação são limitados a determinado período.

Muitas pesquisas foram realizadas para avaliar os efeitos adversos nas propriedades químicas e físicas nos materiais, que integram diferentes tipos de acervos compostos por materiais orgânicos naturais, tendo, portanto, como componente a celulose. De maneira geral, as experiências indicam que a irradiação, no intervalo de dose necessária para erradicação de insetos e com efeito fungicida, é uma alternativa com riscos mínimos para salvaguarda de acervos (ADAMO et al., 2004; MAGAUDDA, 2004; SILVA et al., 2006;

SEVERIANO et al., 2010; BACCARO e CEMMI, 2017; MOISE, 2017; MOISE, 2019; PONTA et al., 2017; CORTELLA, 2019; CAPPITELLI, CATTO e VILLA, 2020)

3.2.5.2 Dose absorvida

Para a mensuração da “energia média” ($d\epsilon$) que é depositada pela radiação em uma “quantidade de massa” (dm) utiliza-se a grandeza dosimétrica denominada “dose absorvida”, D . A *International Commission on Radiation Units and Measurements* (ICRU), fundada em 1925 é a instituição internacional responsável pela definição das grandezas básicas e operacionais das radiações (CNEN, 2011; IAEA, 2013). A dose absorvida é definida pela relação:

$$D = \frac{d\epsilon}{dm} \quad (2)$$

No sistema internacional é utilizada a unidade Gray (Gy), criada em 1975, onde: $1 \text{ Gy} = 1 \text{ J kg}^{-1}$. Anteriormente era empregada a unidade de dose absorvida “rad” (Radiation Absorbed Dose), onde: $1 \text{ Gy} = 100 \text{ rad}$

Para fins de calcular a quantidade de “dose depositada” (dD) por unidade de “tempo” (dt), considera-se a “taxa de dose” (D), conforme mostra a equação a seguir e cuja unidade de medida é Gy.s^{-1} ou kGy.h^{-1} :

$$D = \frac{dD}{dt} \quad (3)$$

3.3 Projetos de Cooperação

O presente trabalho está contemplado nos projetos de pesquisa da Agência Internacional de Energia Atômica – IAEA – com participação do IPEN/CNEN:

- a) CRP F23032 “Developing Radiation Treatment Methodologies and New Resin Formulations for Consolidation and Preservation of Archived Materials and Cultural Heritage Artefacts” mediante o Research Contract n. 18942/R0.

- b) RLA1015 “Harmonizing Integrated Management Systems and Good Irradiation Practice Procedures in Irradiation Facilities” (ARCAL CLX)
- c) RLA1019 “Strengthening Capabilities for the Utilization of Nuclear and Radiation Technology to Characterize, Conserve and Preserve the Cultural Heritage” (ARCAL CLXVII).

3.4 Técnicas Analíticas

O uso de técnicas e instrumentos permite uma investigação mais aprofundada para caracterização das propriedades e análise de materiais pesquisados. A colorimetria é utilizada para analisar a estabilidade da cor, a microscopia eletrônica de varredura, para observação microscópica da morfologia e a espectroscopia vibracional de infravermelho com transformada de Fourier, para determinação da composição e possíveis alterações induzidas pela radiação ionizante.

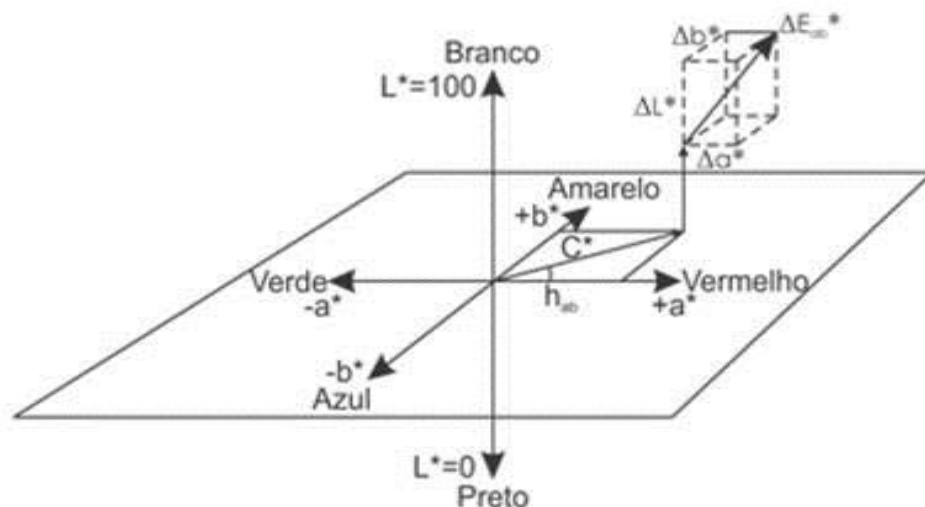
3.4.1 Colorimetria

A cor é um atributo importante para indicar alterações em artefatos culturais submetidos a processamento por radiação ionizante. Entretanto, para ser possível uma avaliação isenta e sem subjetividade é necessário utilizar equipamentos e métodos apropriados. A colorimetria é a ciência e técnica utilizada na descrição da percepção das cores pelo olho humano, com ajuda de modelos matemáticos (X-RITE PANTONE, 2016). Espectrofotômetros e colorímetros são equipamentos adequados para descrever numericamente os elementos da composição de uma cor em superfícies diversas (ASTM, 2016).

A *Commission International de l'Eclairage* (CIE) é uma instituição internacional sediada na Áustria, que provê as especificações de padrões de observação para uso em colorimetria em todos os países. O objetivo do sistema de colorimetria desenvolvido pela CIE é fornecer um padrão para qualificar a percepção da cor.

O CIE 1976 $L^*a^*b^*$ é o espaço de cores recomendado pela CIE, que representa um dos sistemas de colorimetria para determinação dos parâmetros colorimétricos (Figura 3.9). Esse sistema define a sensação de cor baseado em três elementos: a luminosidade ou claridade, a tonalidade ou matiz e a saturação ou cromaticidade (CIE, 2004). Ele oferece uma representação matemática e diferenciação precisa das cores. Essa diferença é expressa como Delta E (ΔE). É calculada comparando os valores de referência com a amostra (L^* = luminosidade: preto 0 ao branco 100, a^* = vermelho (+) para verde (-), b^* = amarelo (+) para azul (-)) para identificar a distância entre duas cores em um espaço de cores. Os cálculos de ΔE quantificarão a magnitude de uma diferença de cor, mas não indicarão necessariamente a direção da diferença (ASTM, 2016; MINOLTA, 2007; HARDEBERG, 1999).

Figura 3.9 – Representação do sistema colorimétrico CIELAB (1976).



Fonte: MINOLTA, 2007.

Estudos na área de conservação de artefatos do patrimônio cultural utilizam essa técnica, para avaliar a ocorrência de alterações inaceitáveis provenientes de efeitos após o processamento por radiação (VUJCIC et al., 2019; VIEIRA et al., 2019; IAEA, 2017; MANEA et. al., 2012; NUNES et al., 2012).

3.4.2 Microscopia eletrônica de varredura com emissão de campo (FEGSEM)

O microscópio eletrônico de varredura é uma ferramenta fundamental em atividades de pesquisa para estudos em que há necessidade de análises de características microestruturais de amostras biológicas e não-biológicas. Possui resolução de até 10 nanômetros e realiza o rastreamento em alguns segundos, cujo resultado gerado é uma imagem tridimensional. O equipamento utiliza elétrons que se dispersam ou são emitidos a partir da superfície da amostra observada. Esta técnica permite examinar estruturas superficiais de diversas estruturas, compreendendo células inteiras e tecidos (CASTRO, 2002).

A grande vantagem do microscópio eletrônico de varredura é a grande profundidade de campo em 10 μm , possibilitando aumentos de 10.000X. Devem ser seguidos procedimentos adequados para preparação das amostras. Para exame de espécimes biológicos a preparação inclui basicamente: montagem do espécime e sua fixação com adesivo em suporte porta-amostras de acordo com a sua dimensão, cobertura com ouro ou carbono para conferir melhor condutividade. Para as imagens de topografia da superfície dos materiais biológicos obtidas com o equipamento, utilizam-se elétrons secundários de baixa energia, com tensões de aceleração entre 5 e 10kV (CASTRO, 2002; DEDAVID, GOMES e MACHADO, 2007).

3.4.3 Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier – Reflexão Total Atenuada (FTIR-ATR)

A espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) é uma técnica de caracterização química não destrutiva que abrange intervalo de número de onda de 12.500 cm^{-1} a 10 cm^{-1} do espectro eletromagnético. Esta técnica instrumental está baseada na detecção de vibrações moleculares, que ocorrem em diferentes frequências de acordo com forças elétricas de ligação dos átomos. Cada molécula possui frequências naturais de vibração, absorvendo, por sua vez, ondas eletromagnéticas em frequências específicas (HARWOOD e CLARIDGE, 1996).

Os espectros de absorção FTIR gerados por um espectrofotômetro passam uma informação de impressão digital molecular “fingerprint” de uma amostra orgânica e inorgânica, qual seja, um composto, um material, um tecido ou uma célula que está sendo analisada. A “região de impressão digital” onde os sinais de vibrações podem aparecer está no intervalo de 1200 cm^{-1} a 600 cm^{-1} . Nesta região, as vibrações moleculares são únicas para cada composto, sendo uma área muito importante para caracterizar com precisão os compostos químicos. Algumas absorções importantes que aparecem nessa região são: C-O em $1150 - 1070\text{ cm}^{-1}$ permite a distinção entre ésteres e cetonas; os grupos nitro e sulfonil dão absorções entre $1550 - 1350\text{ cm}^{-1}$; e a substituição de anéis aromáticos pode muitas vezes ser determinada a partir dos conjuntos de bandas fortes na região de $850 - 730\text{ cm}^{-1}$ que resultam da flexão fora do plano de C-H (HARWOOD e CLARIDGE, 1996).

O princípio de funcionamento do espectrofotômetro com transformada de Fourier consiste na utilização de uma fonte de irradiação infravermelha, onde a radiação emitida passa por um interferômetro antes de incidir na amostra. Um detector capta a radiação incidente não absorvida pela amostra e gera um interferograma. Este é convertido em espectro aplicando-se a transformada de Fourier, que apresenta em forma de bandas o número de onda (ν) da radiação absorvida. O espectro é registrado na faixa de $4000 - 400\text{ cm}^{-1}$. O eixo vertical é calibrado como transmitância percentual, onde 100% corresponde a não absorção e 0% corresponde à absorção total. Os modos de operação mais utilizados para aquisição de espectros FTIR são a transmissão, a transflexão e a Reflexão Total Atenuada (ATR), este último, comum em laboratórios de pesquisa (HARWOOD e CLARIDGE, 1996).

No ATR as amostras são colocadas diretamente em contato com um elemento de reflexão interna, que pode ser um cristal de diamante, ZnSe ou germânio. A luz infravermelha passa pelo cristal e interage com a amostra. Nessa técnica não há necessidade de preparo especial das amostras, como a trituração ou extração com solventes.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

A seguir são descritas as diferentes etapas aplicadas nesse estudo.

4.1 Seleção e preparação das amostras

Foram selecionadas seis duplicatas de amostras botânicas herborizadas de diferentes espécies e datas de coleta do Herbário Dom Bento José Pickel (SPSF), localizado em São Paulo, no Instituto Florestal órgão vinculado à Secretaria de Estado de Infraestrutura e Meio Ambiente, que possui material exposto à contaminação microbiológica.

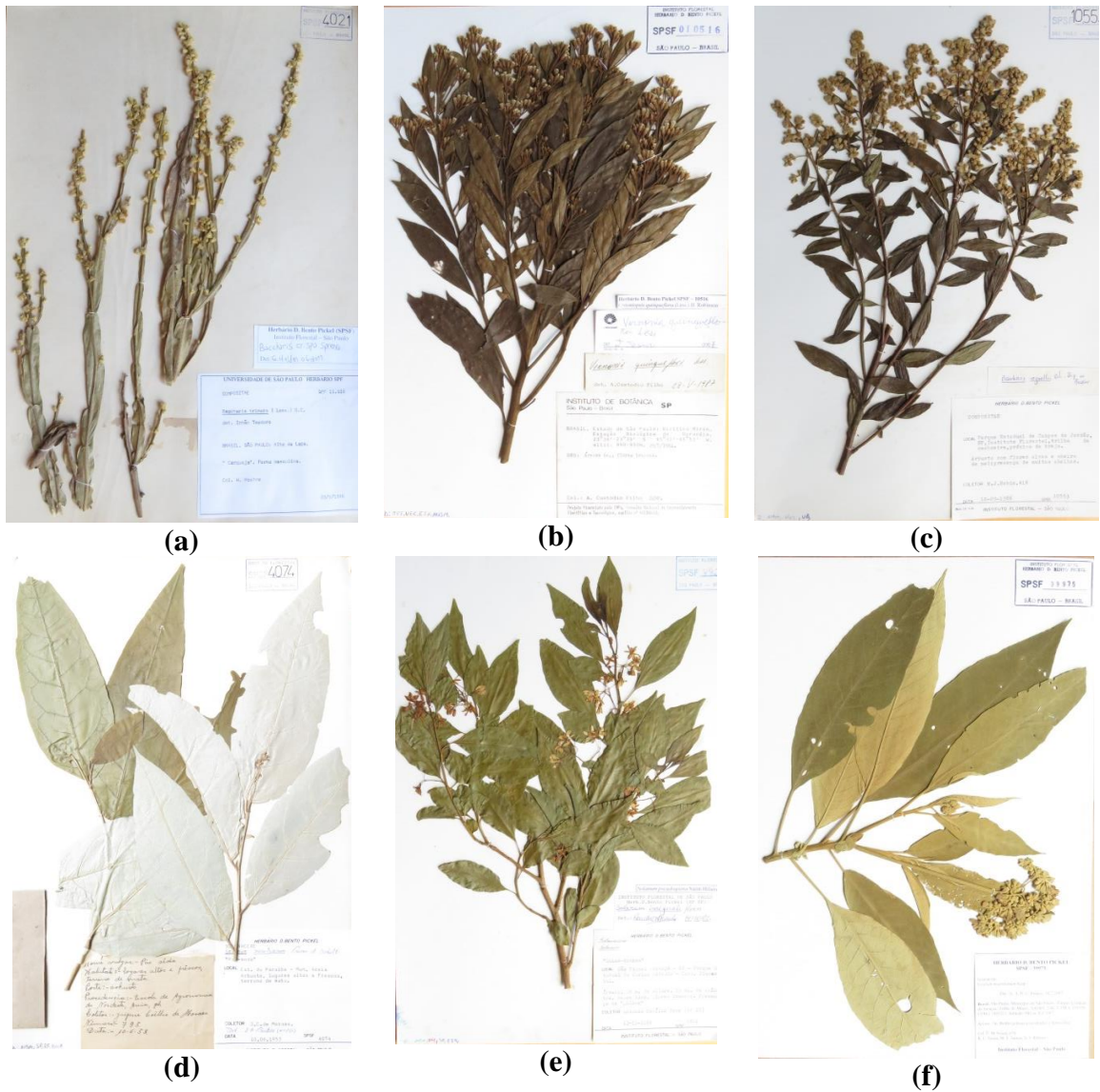
As famílias das amostras botânicas selecionadas foram Asteraceae e Solanaceae. As características gerais e identificação são mostradas na Tabela 4.1. e Figura 4.1.

Tabela 4.1 – Identificação principal e classificação geral das amostras de exsicatas.

Nº de registro da amostra	Data da coleta	Espécie
Família Botânica: Asteraceae		
SPSF-4021	1946	<i>Baccharis crispa</i> Spreng.
SPSF-10516	1984	<i>Critoniopsis quinqueflora</i> (Less.) H. Robinson
SPSF-10553	1986	<i>Baccharis regnellii</i> Sch. Bip. ex Baker
Família Botânica: Solanaceae		
SPSF-4074	1953	<i>Solanum swartzianum</i> Roem. & Schult.
SPSF-08821	1984	<i>Solanum pseudoquina</i> A. St.-Hil.
SPSF-39975	2007	<i>Solanum mauritianum</i> Scop.

Fonte: autora da dissertação, 2020.

Figura 4.1 – Características gerais das amostras de exsicatas. Asteraceae: (a) *Baccharis crispa*, (b) *Critoniopsis quinqueflora*, (c) *Baccharis regnellii* e Solanaceae: (d) *Solanum swartzianum*, (e) *Solanum pseudoquina*, (f) *Solanum mauritianum*.



Fonte: autora da dissertação.

O estudo foi realizado com o material vegetal que compõem as duplicatas (folhas, flores ou inflorescências e ramos). As exsicatas montadas não foram submetidas ao processamento por radiação.

4.2 Irradiação com raios gama provindos do Cobalto-60

As amostras de exsiccatas foram tratadas com radiação gama proveniente do Cobalto-60, no Irradiador Multipropósito de ^{60}Co do Centro de Tecnologia das Radiações (CETER) do Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, IPEN/CNEN em São Paulo. Essa instalação está enquadrada na Categoria IV – IAEA e Categoria I de acordo com a Comissão Nacional de Energia Nuclear (CNEN). É um irradiador do tipo compacto cujas fontes radioativas são armazenadas e protegidas em uma piscina de sete metros de profundidade com água deionizada quando não está processando por radiação. A atividade de cobalto-60 da instalação era de 10.4 PBq (280 kCi) (IAEA, 2010; SANTOS e VASQUEZ, 2015).

As amostras selecionadas no herbário foram preparadas separando das exsiccatas as partes principais (folha, flor e ramo) e acondicionando-as em envelopes de papel, para fins do presente experimento, identificadas pelo número de registro no herbário, família, espécie e ano.

4.2.1 Doses absorvidas

Foram irradiadas com doses absorvidas de 1 kGy, 6 kGy e 10 kGy, sendo esta última a dose máxima necessária para eliminar fungos e outros microrganismos (IAEA, 2017). A taxa de dose foi de 5-6 kGy.h⁻¹.

Em cada etapa de dose de irradiação, dosímetros de polimetilmetacrilato (PMMA) foram utilizados para garantir os valores desejados e calcular a dose absorvida nas amostras processadas.

Para cálculo da dose absorvida, a medição do PMMA foi realizada com uso do espectrofotômetro UV-VIS disponível no CETER do IPEN. É importante esclarecer que, no caso dos dosímetros de PMMA da Harwell os erros na medição estão entre 2% e 2,5% (SANTOS e VASQUEZ, 2015).

4.3 Análise colorimétrica ou colorimetria

A fim de identificar possíveis efeitos da radiação ionizante na cor do material irradiado, que podem ocorrer devido a excitação dos elétrons, ionização e recombinação das espécies radicais livres formadas, estudou-se a variação da cor total das amostras. A cor é um importante indicador de alterações de material submetido ao processamento por radiação.

Para este ensaio, foi utilizado o equipamento PCE-CSM8, usando o sistema de controle de gerenciamento de cores SQC8, conectado a um computador com padronização de iluminante D65 e ângulo de observação 10°, em temperatura ambiente. Para determinação dos parâmetros colorimétricos foi utilizado o sistema de coordenadas de cores CIELAB, publicado em 1976 pela *Commission Internationale d'Eclairage* (CIE), que se tornou o sistema de referência colorimétrica universalmente aceito. Finalmente, foi determinada a variação total da cor, conforme a norma ASTM D2244/2016. Na equação 1, o ΔE representa a variação entre a leitura inicial da amostra e a leitura após o processamento por radiação ionizante (CIE, 2004; ASTM, 2016).

$$\Delta E = \sqrt{\Delta L^* + \Delta a^* + \Delta b^*} \quad (4)$$

As leituras foram feitas em três pontos selecionados em cada amostra (Tabela 4.2 e Figura 4.2). Foram obtidas as médias das 10 leituras efetuadas em cada um dos 72 pontos nas amostras não irradiadas e, posteriormente, nas demais doses de irradiação. As medições foram realizadas em condições laboratoriais constantes e 48 horas após a irradiação do material, quando o processo de excitação dos elétrons está estabilizado (KODAMA et al. 2016)

Tabela 4.2 – Descrição dos pontos avaliados em cada amostra.

Ponto	Descrição
A	Flores / Inflorescências
B	Folhas (superfície adaxial) / ramos
C	Folhas (superfície abaxial) / ramos

Fonte: autora da dissertação.

Figura 4.2 – Exemplos das indicações dos pontos de leitura nas amostras de exsicatas utilizadas no presente estudo.



Fonte: LIMA et al., 2019.

As amostras foram posicionadas em uma peça de cerâmica branca antes das medições com o colorímetro. Esta peça atua como suporte de referência para normalizar medições, uma vez que o material analisado é composto por flores e folhas irregulares. A calibração do colorímetro foi realizada utilizando padrões colorimétricos dos espectros preto e branco, antes de cada processo de medição.

Considerando as características anatômicas das folhas, as aferições de cor foram realizadas nas duas faces, a face adaxial (lado superior) e a face abaxial (lado inferior), recobertas pela epiderme. Esse órgão é formado por um sistema dérmico (epiderme), um sistema fundamental (mesófilo) e um sistema vascular (feixes vasculares) (ESAU, 1974). Como há a presença de tecidos vasculares que percorrem toda a folha, formando as nervuras, a sua superfície é irregular. Então, para o posicionamento mais preciso do aparelho e leitor, a cerâmica foi marcada com um círculo e um retângulo ao centro, o que permitiu verificar cada amostra sempre no mesmo ponto, nos diferentes momentos de leitura.

A identificação da diferença total de cor (ΔE) das amostras não irradiadas (0 kGy) e das irradiadas com 1 kGy, 6 kGy e 10 kGy e sua comparação indicou o quando era perceptível ou não dentro da escala de aceitação (Tabela 4.3). Seus resultados foram interpretados segundo o critério proposto por Hardeberg (1999), que foi utilizado como regra prática na presente pesquisa

Tabela 4.3 – Critério para interpretação do ΔE e a percepção de alteração de cor.

ΔE	Efeito
< 3	Difícilmente perceptível
3 < 6	Perceptível, mas aceitável
> 6	Não aceitável

Fonte: HARDEBERG, 1999.

4.4 Microscopia eletrônica de varredura com emissão de campo (FEGSEM)

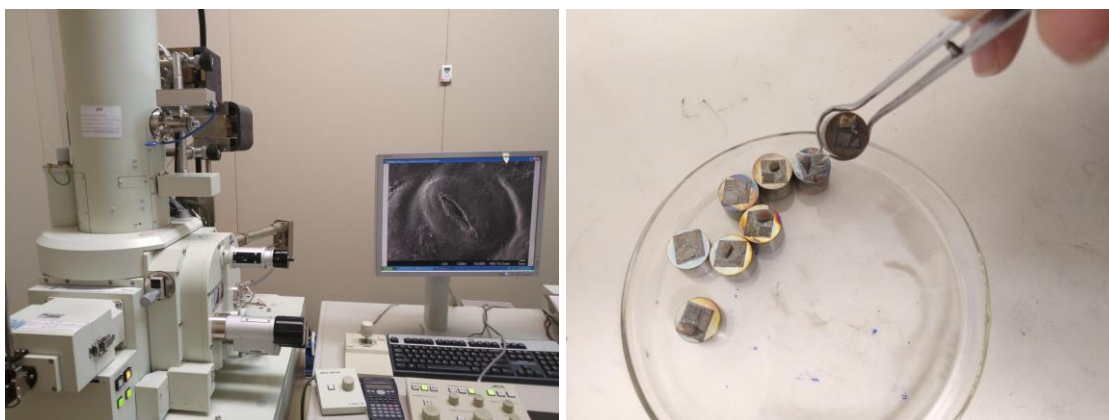
A microscopia foi utilizada para analisar e caracterizar as microestruturas das superfícies das amostras de exsiccadas não irradiadas (0 kGy) e as desinfetadas (10 kGy).

A topografia da superfície e a análise elementar das amostras foram feitas usando um microscópio eletrônico de varredura com canhão de emissão de campo (FEGSEM), marca Jeol modelo JSM-6701F, com uma pistola de emissão de campo operando a 2 kV e 3 kV. A análise ocorreu no Centro de Ciência e Tecnologia de Materiais (CECTM) do IPEN/CNEN.

Por se tratar de amostras orgânicas, mais frágeis, utilizou-se feixe de elétrons com tensão de aceleração mais baixa. Conforme mostra a Figura 4.3, pequenos fragmentos de cada amostra in natura foram seccionados e fixados com fita de carbono dupla face no suporte de metal porta-amostra (*stub*). Foram recobertos com carbono para melhorar a condutividade e o nível de emissão de elétrons, proporcionando a construção da imagem com qualidade (CASTRO, 2002; DEDAVID, GOMES e MACHADO, 2007).

Foram efetuadas imagens de três áreas das amostras: folha - superfície adaxial, folha – superfície abaxial e flor / inflorescência. As imagens mostram diferentes estruturas morfológicas para as exsiccadas SPSF-4021, SPSF-10516, SPSF-10553, SPSF-4074, SPSF-08821 e SPSF-39975, não irradiadas e irradiadas com 10 kGy, em diferentes ampliações. Foi utilizado um aumento mínimo de 35x até o máximo de 5000x.

Figura 4.3 – Microscópio eletrônico de varredura com canhão de emissão de campo (FEGSEM) conectado ao computador (à esquerda). Fragmentos dos materiais herborizados fixados nos portamostras e recobertos com carbono.



Fonte: autora da dissertação.

4.5 Aquisição dos espectros por espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier – Reflexão Total Atenuada (FTIR-ATR)

A espectroscopia no infravermelho foi utilizada para analisar as mudanças ou formação de grupos químicos, antes e depois dos processamentos das amostras botânicas por radiação ionizante.

Os espectros de absorção das amostras botânicas foram adquiridos com um espectrofotômetro de infravermelho do tipo interferométrico Nicolet 6700 da Thermo Scientific®, com detector de MCT refrigerado com nitrogênio líquido, disponível no Laboratório do Centro de Célula a Combustível (CECCO) do IPEN/CNEN. As análises foram conduzidas com um acessório de ATR acoplado da marca Pike Miracle® com um cristal de SeZn/Diamante. Os dados foram obtidos com janela de varredura de 3200 a 600 cm^{-1} (infravermelho médio) e resolução de 4 cm^{-1} .

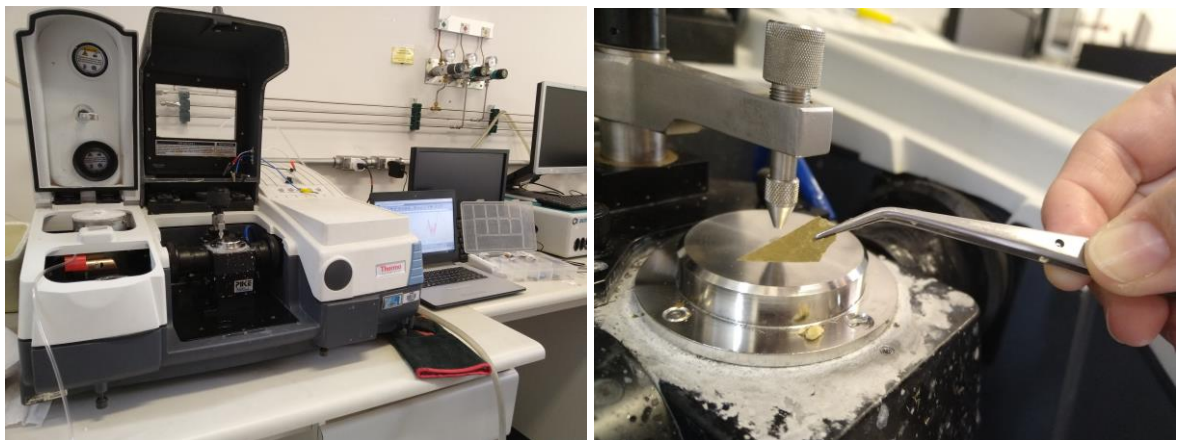
Anteriormente ao procedimento operacional no laboratório, foi selecionado o material foliar desidratado e inflorescência de cada uma das seis espécies estudadas: SPSF-4021, SPSF-10516, SPSF-10553, SPSF-4074, SPSF-08821, SPSF-39975, não irradiadas e irradiadas com 10 kGy. Nas seis amostras foram realizadas leituras espectrais das folhas, sendo que em três delas também foram analisadas as flores/inflorescências

representantes das duas famílias (amostras SPSF-10516 e SPSF-10553 – Asteraceae e SPSF-08821 – Solanaceae).

As coletas foram realizadas nas duas faces das folhas (abaxial e adaxial) e na flor/ inflorescência. Foram efetuadas 30 leituras, sendo que cada leitura produz um conjunto de valores de absorvância nos diferentes números de onda. Cada medição realizada pelo equipamento é a média transformada de Fourier de 64 varreduras “scans”. Procedeu-se a calibração do equipamento antes de cada medida. O instrumento foi ajustado para eliminar a interferência atmosférica.

Nas amostras foliares procurou-se posicionar o leitor do equipamento na lâmina foliar, evitando assim as nervuras centrais para permitir uma pressão e contato adequados, conforme Figura 4.4.

Figura 4.4 – À esquerda um espectrofotômetro FTIR acoplado a acessório ATR conectado a computador portátil. À direita detalhe da amostra sobre o cristal de diamante.



Fonte: autora da dissertação.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Neste capítulo são apresentados os resultados e discussão das análises feitas nas amostras botânicas irradiadas.

5.1 Efeitos do processamento com radiação ionizante

5.1.1 Análises colorimétricas

Os resultados da análise colorimétrica (Tabela 5.1) nos três pontos: A – flor/inflorescência, B – folha (superfície adaxial) e C – folha (superfície abaxial), das amostras irradiadas com 1 kGy, 6 kGy e 10 kGy indicam que a mudança de cor é, predominantemente, *Difícilmente perceptível* conforme o limite de $\Delta E < 3$, sendo *Perceptível, mas aceitável* ($\Delta E 3 < 6$) apenas em um ponto. Destaca-se que nenhum dos pontos medidos indicou uma mudança de cor *Não aceitável* ($\Delta E > 6$). A tabela apresenta os valores médios, considerando que o erro padrão das leituras seja de $\pm 0,01\%$.

Tabela 5.1 – Variação de cor (ΔE) das amostras de exsiccatas SPSF-4021, SPSF-10516, SPSF-10553, SPSF-4074, SPSF-08821, SPSF-39975 irradiadas com doses absorvidas de 1, 6 e 10 kGy em relação às amostras não irradiadas.

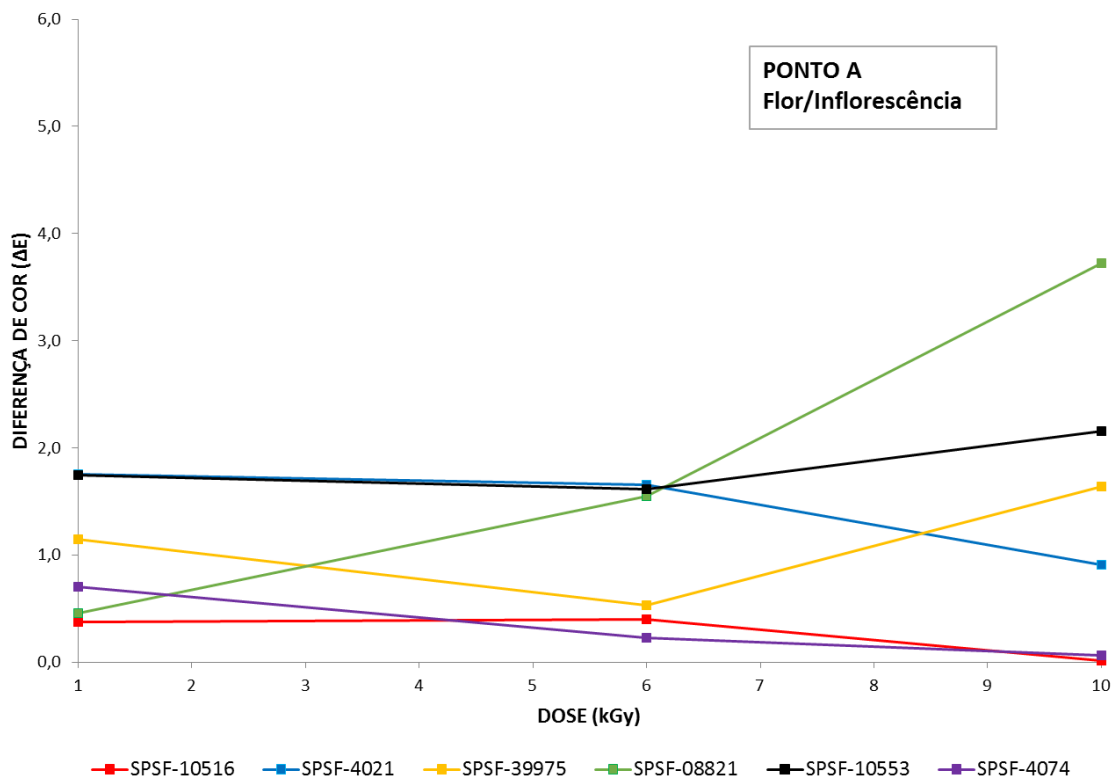
Amostra	Dose (kGy)	Ponto A (ΔE)	Ponto B (ΔE)	Ponto C (ΔE)
	1	1,751	0,206	1,152
SPSF-4021	6	1,655	0,994	0,009
	10	0,913	1,038	0,095

Amostra	Dose (kGy)	Ponto A (ΔE)	Ponto B (ΔE)	Ponto C (ΔE)
SPSF-10516	1	0,376	1,798	0,754
	6	0,402	1,520	0,674
	10	0,015	1,986	0,618
SPSF-10553	1	1,742	0,384	0,402
	6	1,616	0,475	0,616
	10	2,153	0,800	0,108
SPSF-4074	1	0,702	0,175	0,449
	6	0,228	0,149	0,362
	10	0,062	0,375	0,688
SPSF-08821	1	0,454	0,052	0,298
	6	1,545	0,583	0,385
	10	3,724	0,639	0,434
SPSF-39975	1	1,144	0,484	1,308
	6	0,532	0,199	1,108
	10	1,640	0,369	1,240

Fonte: autora da dissertação.

Conforme é mostrado na Figura 5.1, ao comparar os resultados das diferenças de cor efetuadas no Ponto A das seis amostras, nas três doses de irradiação utilizadas, pode-se verificar que houve variação no comportamento. Em algumas delas a diferença aumenta quando se compara a dose de radiação de 1 kGy em relação a dose de 6 kGy e volta a diminuir quando comparada a 10 kGy. Em outras ocorre justamente o inverso. Desta forma, não se pôde constatar aqui nenhuma tendência ou comportamento padrão. Isso pode ser justificado pela característica destas áreas de leitura, por se tratar na parte correspondente a flor, apresentando muitas irregularidades e diversidade da textura do material, com muitos filamentos e partes vazadas.

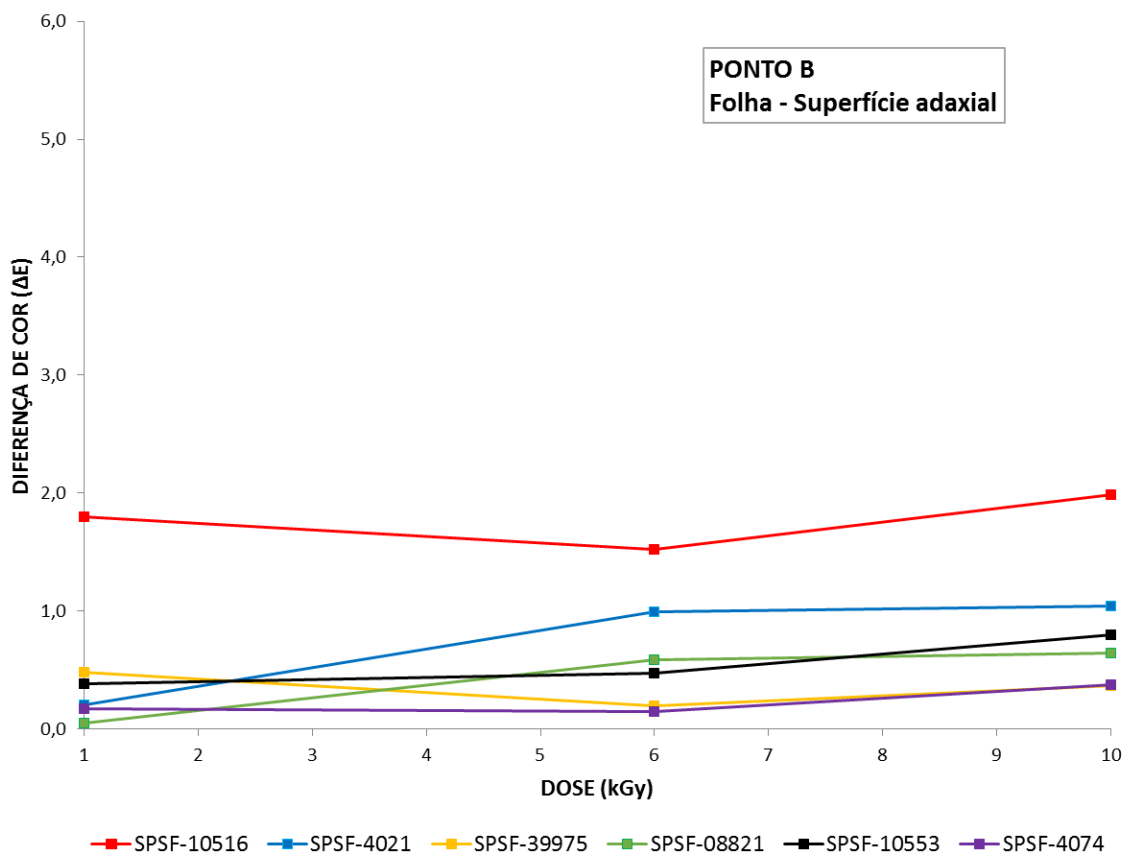
Figura 5. 1 – Diferença de cor no Ponto A (flor/inflorescência) das amostras irradiadas nas diferentes doses em relação à amostra não irradiada.



Fonte: autora da dissertação.

Ao observar o comportamento das diferenças de cor no ponto B (folha – superfície adaxial) das amostras irradiadas com as três doses utilizadas, conforme mostrado na Figura 5.2, pode-se verificar que nesse caso há uma leve tendência de aumento da mudança de cor com o aumento da dose para 10 kGy. Contudo essa variação ocorre em sua maioria no limite de $\Delta E < 3$, dificilmente perceptível.

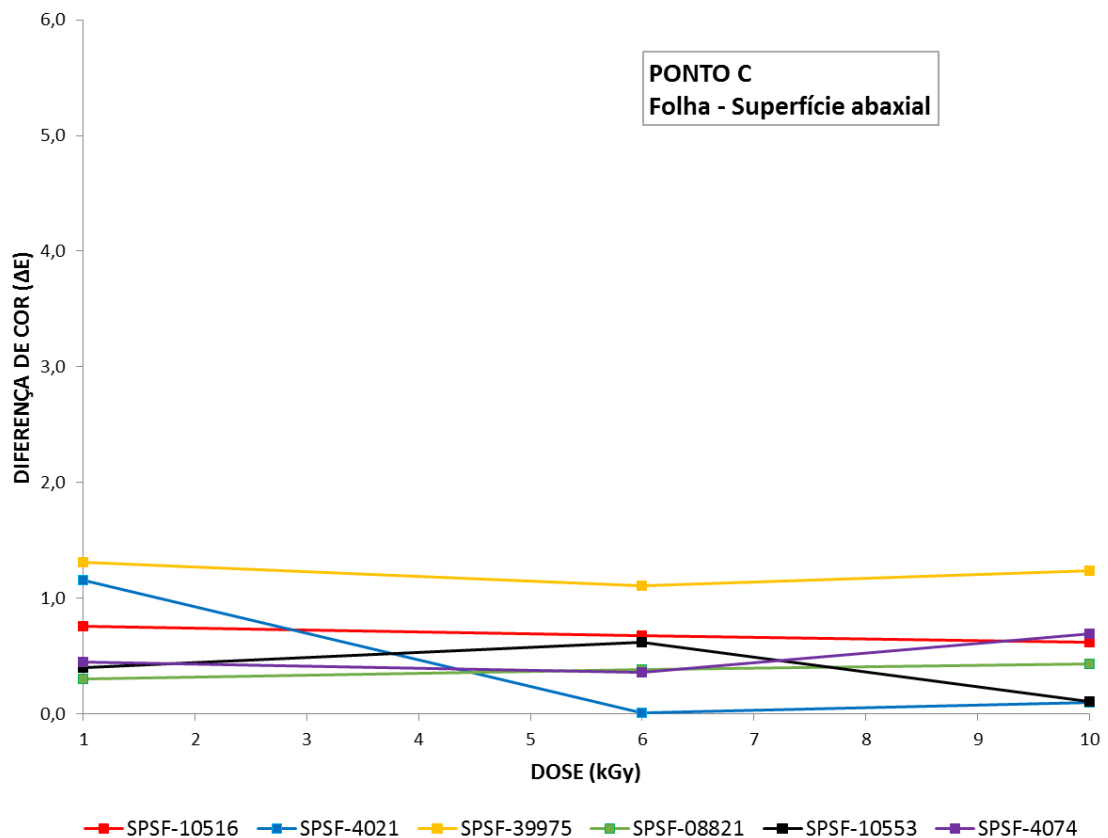
Figura 5. 2 – Diferença de cor no Ponto B (folha – superfície adaxial) das amostras irradiadas nas diferentes doses em relação à amostra não irradiada.



Fonte: autora da dissertação.

Na análise do Ponto C (Figura 5.3), que corresponde a superfície abaxial da folha, foi observado o comportamento das diferenças de cor ficando com $\Delta E < 3$, com percepção de alteração na categoria dificilmente perceptível, demonstrando uma estabilidade de comportamento e padrão. A diferença de cor das amostras SPSF-4021 e SPSF-10553 nos pontos indicativos de irradiação entre 6 e 10 kGy, com comportamento discretamente fora do padrão com relação às demais amostras.

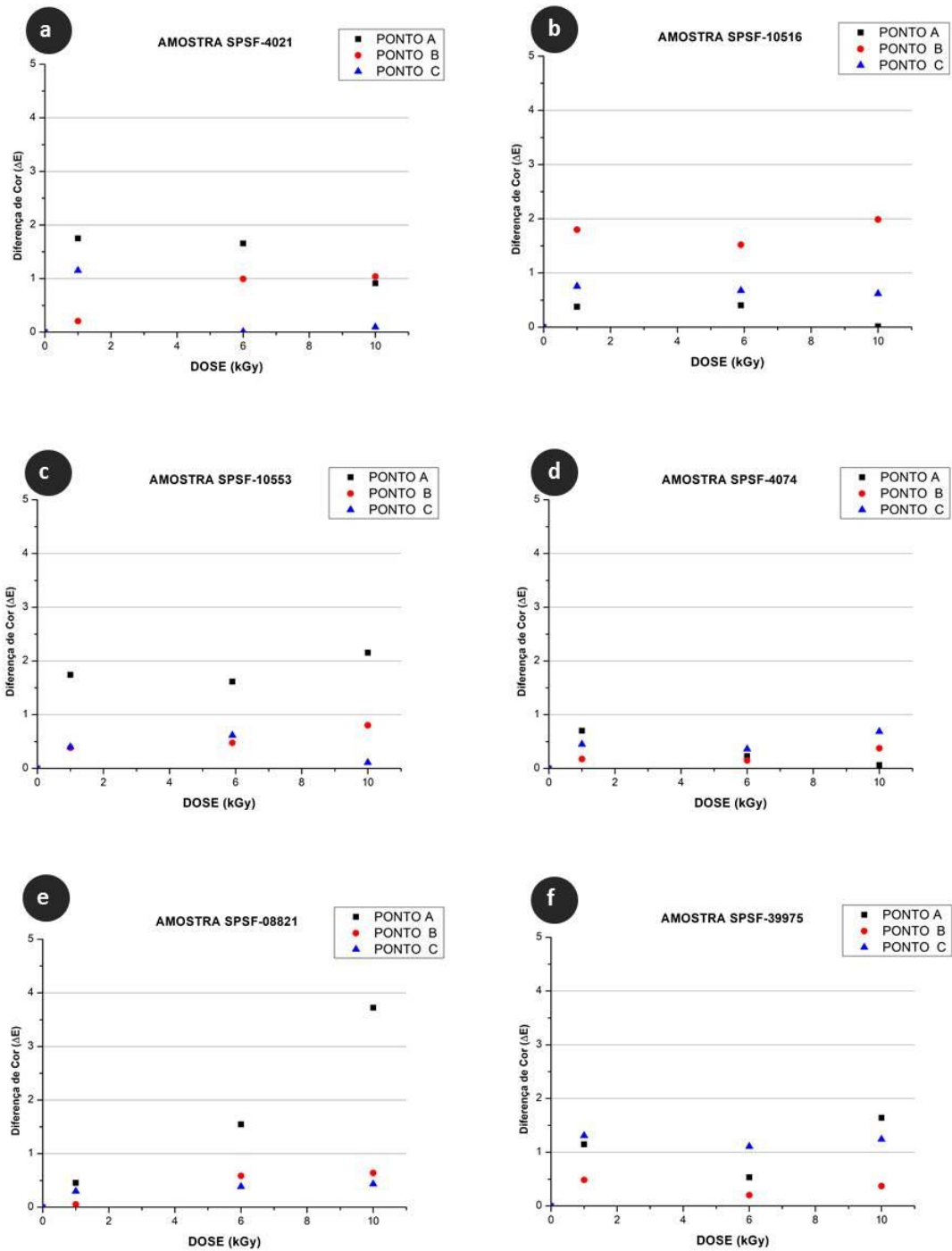
Figura 5. 3 – Diferença de cor no Ponto C (folha – superfície abaxial) das amostras irradiadas nas diferentes doses em relação à amostra não irradiada.



Fonte: autora da dissertação.

Na Figura 5.4 são apresentados os resultados da análise colorimétrica para cada uma das amostras.

Figura 5.4 – Diferenças de cor das amostras a) SPSF-4021, b) SPSF-10516, c) SPSF-10553, d) SPSF-4074, e) SPSF-08821, f) SPSF-39975, nas doses de 1 kGy, 6 kGy e 10 kGy. Ponto A, inflorescência; Ponto B, folha superfície adaxial; e Ponto C, superfície abaxial.



Fonte: autora da dissertação.

Nos resultados da amostra SPSF-4021 (Figura 5.4a), no Ponto A (flor) nota-se que conforme as doses de irradiação foram aumentadas, os valores indicativos de alteração da coloração sofreram um leve decréscimo. No Ponto B, superfície adaxial, os dados indicam um aumento na alteração da cor e no Ponto C, superfície abaxial, houve decréscimo entre 1 kGy e 6 kGy, mantendo-se estável com irradiação de 10 kGy.

Para a amostra SPSF-10516 (Figura 5.4b), nos Pontos A, B e C, nas diferentes doses o ΔE , segundo os critérios adotados neste estudo, estão na categoria de percepção de mudança de cor como dificilmente perceptível ($\Delta E < 3$).

Nas amostras SPSF-10553, SPSF-4074 e SPSF-39975 (Figura 5.4c, d, f) as medidas de ΔE estão no limite de $\Delta E < 3$, *dificilmente perceptível*, nos Pontos A, B e C.

A análise dos Pontos A (flor), B (face adaxial) e C (face abaxial) da amostra SPSF-08821 (Figura 5.4e) indica que conforme as doses de irradiação aumentam, os valores de alteração de cor também acompanham esse crescimento, com maior intensidade no Ponto A. Contudo, as medições permanecem dentro do intervalo aceitável, mesmo com o aumento de ΔE após a irradiação.

Não foram observadas similaridades de comportamento para as mudanças de cor ao comparar as três espécies das Asteraceae com as três espécies das Solanaceae. E, finalmente, não foi encontrada correlação na análise das espécies conforme as suas datas de coletas: 1940-60 (SPSF-4021a e SPSF-4074d), 1980-90 (SPSF-10516b, SPSF-08821e, SPSF-10553c); e 2000 (SPSF-39975f).

Analisando as coordenadas de cor de forma independente, a variação de cor observada nas amostras irradiadas com relação a $L^*a^*b^*$, indica que a cor ficou mais escura na dose de irradiação de 10 kGy em relação a 1 kGy, sendo que a proporção de pontos mais escuros passou de 50% para 55%. A proporção de pontos mais amarelos passou de 44% para 61% e o verde variou de 50% para 61%.

Análises de alterações cromáticas são utilizadas como método de avaliação dos efeitos secundários do tratamento por radiação gama em diferentes artefatos do patrimônio cultural. A grande maioria desses artefatos é composta de materiais orgânicos naturais sejam de origem animal (proteínas) ou de origem vegetal (celulose) (IAEA, 2017).

MANEA et al. (2012) observou que a irradiação não induziu alteração significativa na cor em uma pintura a óleo do artista romeno contemporâneo com doses de radiação de 33 kGy. Da mesma forma, não houve efeito secundário nas cores, em decorrência do processamento por radiação ionizante nas doses para desinfecção, das plumas provenientes da coleção do Museu de Arqueologia e Etnologia da Universidade de São Paulo (VIEIRA et al., 2019). No entanto, devido a sua composição, alguns materiais podem sofrer alterações, como é o caso dos estudos sobre efeitos da radiação de PONTA et al. (2017) que confirmaram alterações na cor em objetos de vidro e pedras transparentes, bem como observou-se escurecimento e amarelecimento em ossos e marfins. Assim também, no experimento de VUJCIC et al. (2019) os resultados indicaram um escurecimento na cor nas amostras com corantes em lã, linho, seda e algodão e doses de radiação gama de 0,5 a 25 kGy. Já o estudo de NUNES et al. (2012) sobre os efeitos da radiação gama nas propriedades de documentos em pergaminho demonstrou não haver alterações significativas nas análises colorimétricas. Essa grande diversidade de matéria-prima, suas características peculiares e as alterações de cor que ocorrem naturalmente devido ao envelhecimento devem ser consideradas quando se trata de reproduzir esses resultados (CORTELLA, 2020). Em materiais de base celulósica, como é o caso da presente pesquisa, os experimentos de BICCHIERI et al. (2016) e DRÁBKOVÁ et al. (2018) indicam haver mudança na cor e amarelecimento com o aumento de dose entre 2 e 9 kGy da radiação gama nas amostras de papéis testadas. Já GONZALEZ et al. (2002) demonstraram que a dose utilizada em torno de 14 kGy não causou alterações na cor do papel irradiado. Esses resultados corroboram com experimentos realizados por CHOI et al. (2012) e MOISE et al. (2012) que relatam a não ocorrência de alterações significativas nas propriedades da cor em papel irradiado com doses absorvidas de radiação até 50 kGy.

5.2.2 Análise de microscopia eletrônica de varredura

Nenhuma alteração na morfologia das amostras irradiadas foi observada nas imagens obtidas no microscópio, conforme é apresentado nas Figuras 5.5 a 5.10. As imagens foram realizadas em diferentes níveis de ampliação e em diferentes áreas das amostras, o que possibilitou uma observação acurada sob o ponto de vista de detectar algum comprometimento do material, após a irradiação com dose de radiação de 10 kGy.

Alguns elementos ou marcas foram verificados, correspondendo a partículas de sujidades, danos e desgastes devido a fragilidade do material e sua condição de manuseio e armazenamento. Algumas imagens foram comparadas em diferentes escalas de ampliação, em virtude da disponibilidade das imagens, o que, no entanto, não comprometeu a análise quanto a integridade ou não da morfologia das amostras.

As folhas e flores do material botânico analisado apresentam vários elementos característicos de material vegetal. Na Figura 5.5 (a) é visualizado o cálice da flor composto pelas brácteas involucrais que protegem os elementos reprodutores internos do capítulo (inflorescência das Asteraceae). Na Figura 5.5 (b), além das brácteas é possível ver os filamentos marginais com pápus (papilhos) cerdosos. Nota-se que as estruturas estão íntegras e preservadas. No entanto, algumas pequenas diferenças observadas nas imagens das amostras (a) e (b) ocorrem em virtude de serem regiões distintas das amostras. Nas imagens (c) e (d) é observada alta densidade estomática, sendo que em (d) alguns estômatos estão com fendas abertas em formato elíptico, chamadas de ostíolos (NAKAJIMA, 2015). Na morfologia vegetal, geralmente os estômatos estão na face abaxial, podendo ocorrer eventualmente na epiderme superior da folha - face adaxial, que corrobora com os elementos visualizados na imagem (ESAU,1974). Em (e) e (f) imagens ampliadas dos papilhos cerdosos mostram que estão íntegros.

Na Figura 5.6 (a) e (b), são vistos pelos não glandulares, chamados de tricomas tectores. Alguns desses pelos estão rompidos ou quebrados, que pode ter sido causado pelo próprio manuseio do material muito delicado. Em (d) alguns elementos parecem ser a base de tricomas rompidos e em (e) observa-se um tricoma quebrado, e circundado por alguns pontos não identificados, mas que parecem ser vestígios de poeira característicos do material armazenado por longo período (essa coleta foi efetuada e depositada no herbário há 36 anos). Na imagem (f) são visualizadas nervuras de 4ª ou 5ª ordem da lâmina foliar.

Na análise da Figura 5.7 (a) e (b) são vistas imagens ampliadas da flor com brácteas involucrais (escamas) de vários tamanhos, perfeitamente preservados. Em (c) e (d) são visualizados estômatos e ostíolos, sendo que na imagem (c) a epiderme aparece rompida, com corte inclinado. Na face adaxial (e) e (f) são vistos pelos articulados e um tipo de estrutura segmentada e fragmentos de pelos quebrados. O retículo foliar é formado por nervuras de várias ordens, que podem ainda ser abertas ou fechadas (ESAU,1974). Essas

características são bastante importantes na identificação de plantas em herbários e nas imagens observadas essas estruturas são claramente visualizadas nas amostras irradiadas, não comprometendo sua identificação.

As imagens que compõem a Figura 5.8 correspondem a amostra SPSF-4074, espécie da família Solanaceae, coletada em 1953. Em (a) e (b) observa-se a superfície foliar adaxial com aspectos e textura preservados. Em (c) e (d) com aumento de 150x, a face abaxial possui superfície lepidota, densamente recoberta por tricomas ou escamas estreladas, nervuras. Em (e) e (f) aparecem nervuras evidentes.

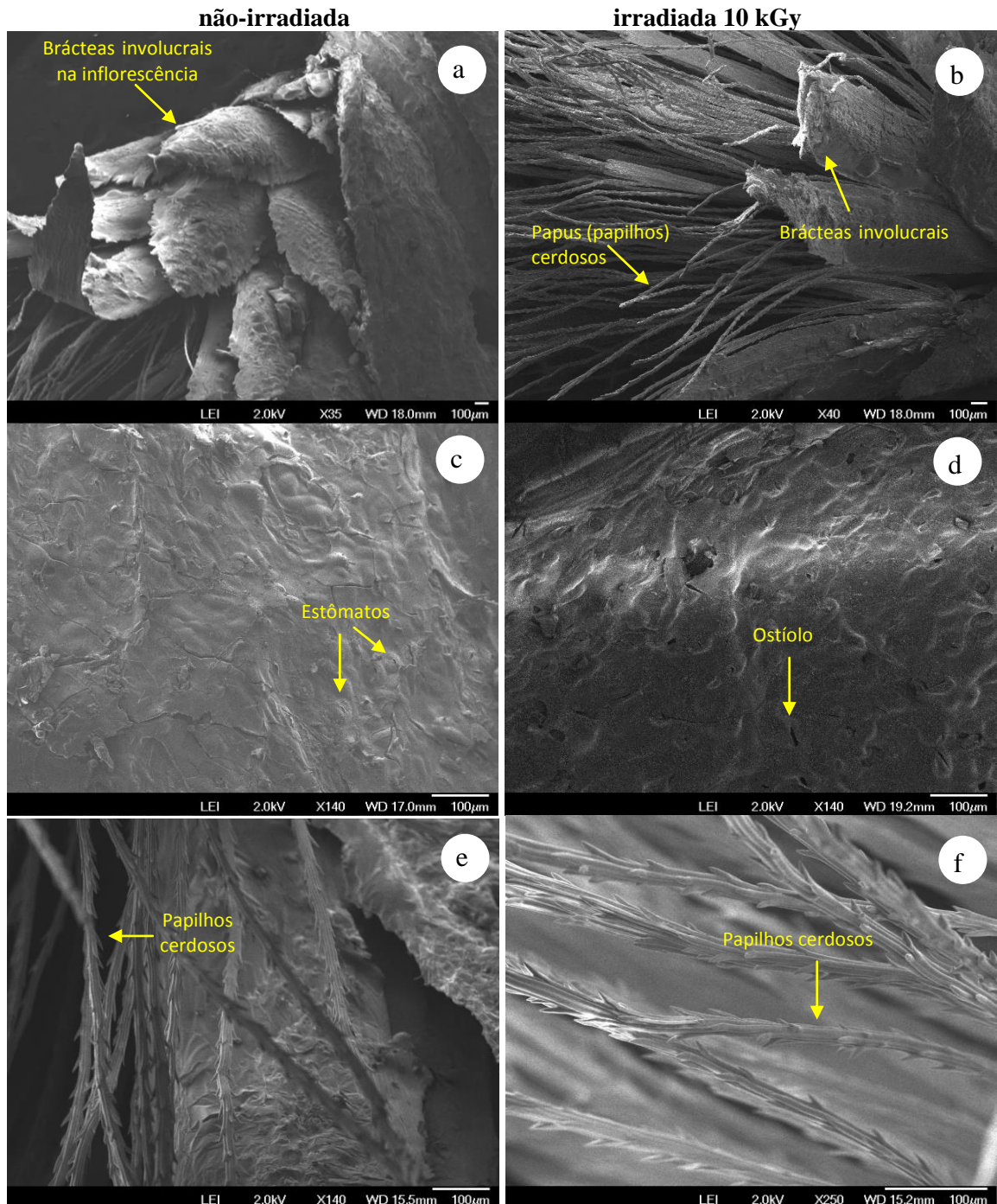
Na Figura 5.9 apresentam-se as imagens correspondentes a microscopia eletrônica de varredura da amostra SPSF-08821. A superfície da folha é apresentada em ampliações de 150x, 500x e 1000x. Nas duas faces adaxial e abaxial são observados estômatos, que podem ocorrer nesta espécie (STEHMANN, 2015). Alguns desses estômatos aparecem em forma de montículos estomáticos e outros em ostíolo bem aberto. Dependendo do local de origem da planta, cerrado ou mata atlântica, a quantidade e funcionamento de estômatos variam (FAPESP, 2008). A análise da imagem demonstra que os elementos não estão comprometidos, em função da dose de irradiação utilizada neste estudo, que foi de 10 kGy.

As imagens da amostra botânica SPSF-39975 estão indicadas na Figura 5.10, correspondendo a parte da flor, da superfície abaxial e adaxial da planta, com ampliações de 40x, 500x e 1000x. A imagem da flor *Solanum mauritianum* da última prancha, (a) e (b) representam parte do cálice da flor com pelos estrelados semelhantes aos das faces abaxial e adaxial da folha. Pode-se observar na diagnose microscópica a ocorrência de pelos estrelados e organelas foliares perfeitamente preservadas nas amostras irradiadas com 10 kGy.

A microscopia eletrônica de varredura (MEV) é utilizada em experimentos na análise da superfície foliar em estudos sistemáticos para identificar estruturas particulares, em diferentes famílias e espécies. CHEN, TAN e WONK (2015), analisaram e caracterizaram a superfície da lâmina foliar inferior prateada da espécie herborizada *Timonius* DC. (Rubiaceae). Neste experimento os autores puderam analisar a morfologia (comprimento, densidade e forma) de pelos, nível estomático e aparência da superfície foliar característicos desta espécie. BUDEL et al. (2018) investigaram a anatomia e micro-morfologia foliar comparativa de seis espécies de *Baccharis*, com uso da microscopia ótica e eletrônica de varredura, e identificaram diferenças

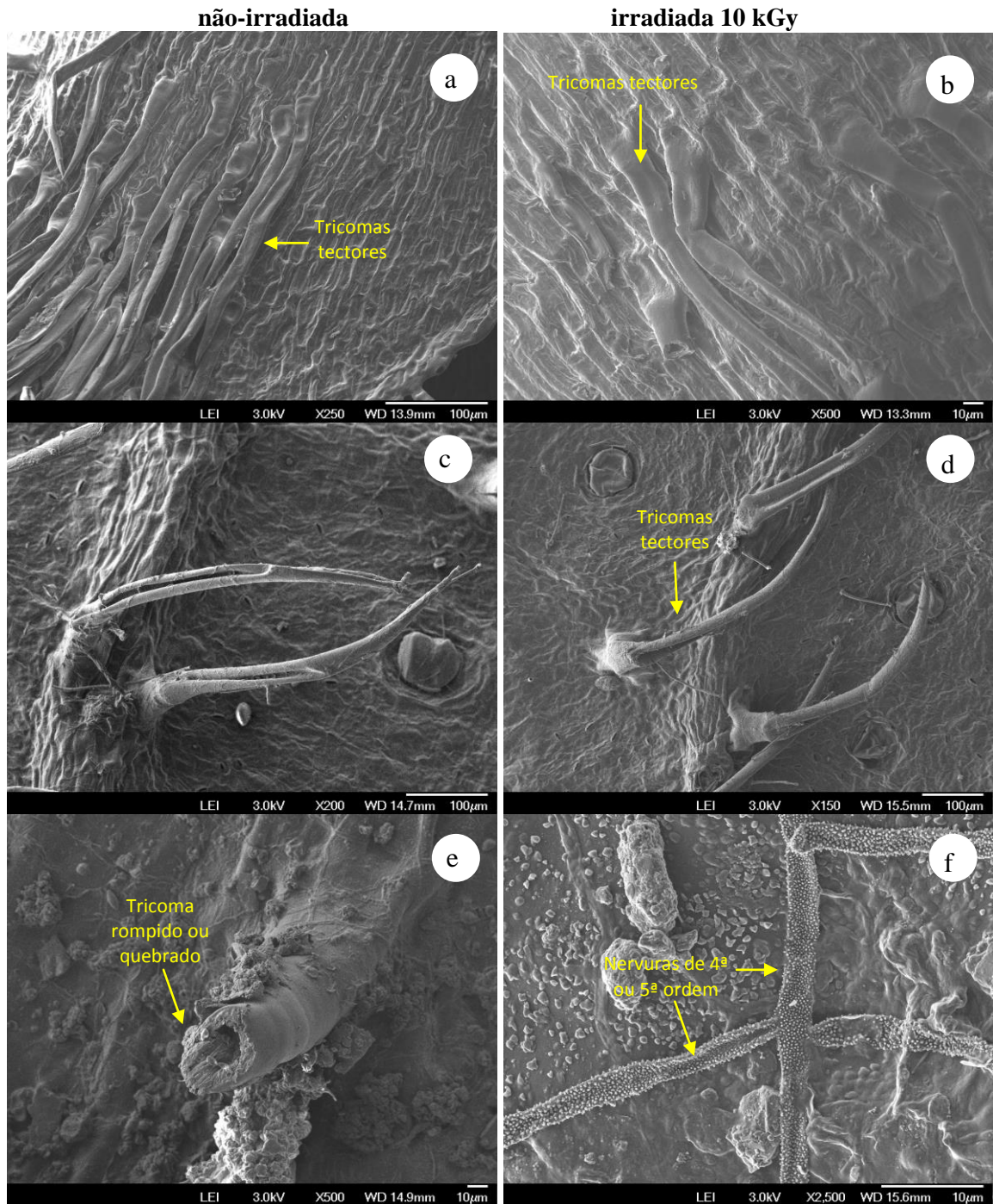
importantes e únicas na cutícula, estômatos, tricomas e tecidos. Da mesma forma, no presente estudo foram observadas as estruturas similares perfeitamente preservadas. Assim, é possível constatar com as imagens obtidas pela microscopia, que as estruturas topográficas das amostras irradiadas não sofreram danos significativos com o uso da dose de 10 kGy, sendo possível realizar estudos taxonômicos e anatômicos, por exemplo, em espécimes herborizados após irradiação.

Figura 5.5 – Micrografias FEGSEM da amostra da família ASTERACEAE SPSF-4021 (espécie *Baccharis crista* Spreng. coletada em 1946) não-irradiada e irradiada (10 kGy), sendo: **imagens de amostras não irradiadas** (a – flor ampliada 35x, c – folha superfície abaxial ampliada 140x, e – flor ampliada 140x) e **imagens de amostras irradiadas com 10 kGy** (b – flor ampliada 40x, d – folha superfície abaxial ampliada 140x, f – flor ampliada 250x).



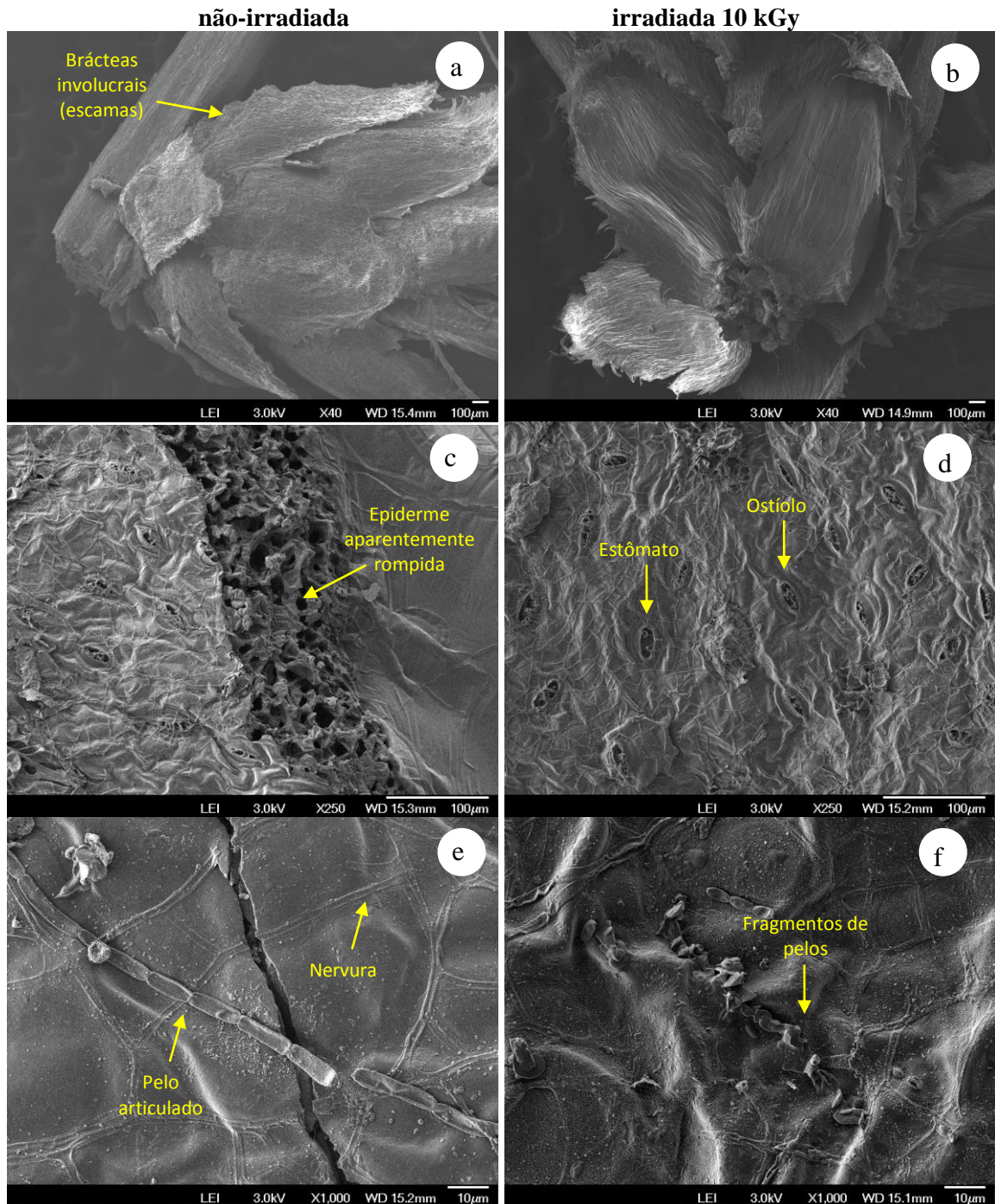
Fonte: autora da dissertação.

Figura 5.6 – Micrografias FEGSEM da amostra da família ASTERACEAE SPSF-10516 (espécie *Critoniopsis quinqueflora* (Less.) H. Robinson. coletada em 1984) não-irradiada e irradiada (10 kGy), sendo: **imagens de amostras não irradiadas** (a – flor ampliada 250x, c – folha superfície abaxial ampliada 200x, e – folha superfície adaxial ampliada 500x) e **imagens de amostras irradiadas com 10 kGy** (b – flor ampliada 500x, d – folha superfície abaxial ampliada 150x, f – folha superfície adaxial ampliada 2500x).



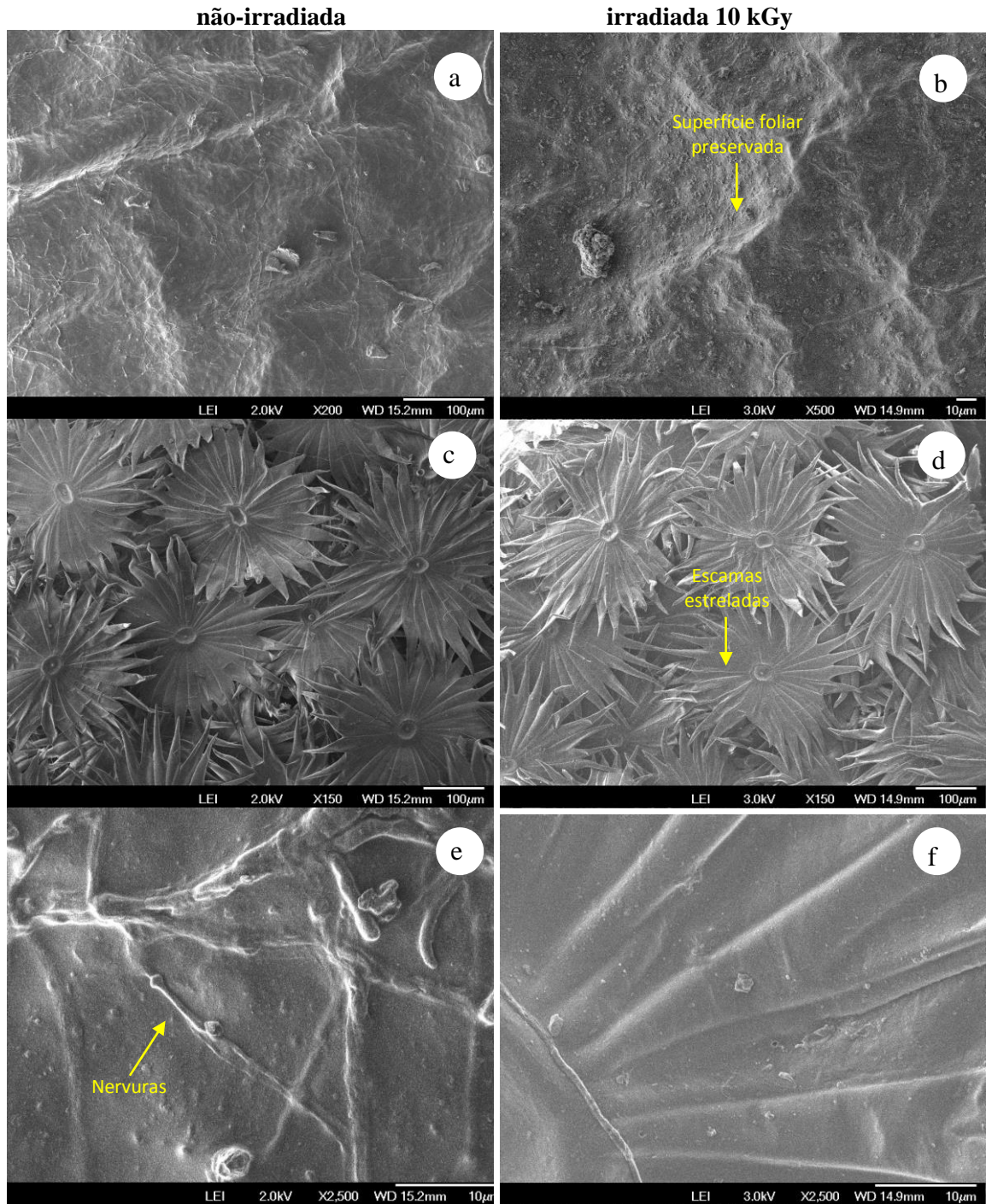
Fonte: autora da dissertação.

Figura 5.7 – Micrografias FEGSEM da amostra da família ASTERACEAE SPSF-10553 (espécie *Baccharis regnellii* Sch. Bip ex Baker. coletada em 1986) não-irradiada e irradiada (10 kGy), sendo: **imagens de amostras não irradiadas** (a – flor ampliada 40x, c – folha superfície abaxial ampliada 250x, e – folha superfície adaxial ampliada 1000x) e **imagens de amostras irradiadas com 10 kGy** (b – flor ampliada 40x, d – folha superfície abaxial ampliada 250x, f – folha superfície adaxial ampliada 1000x).



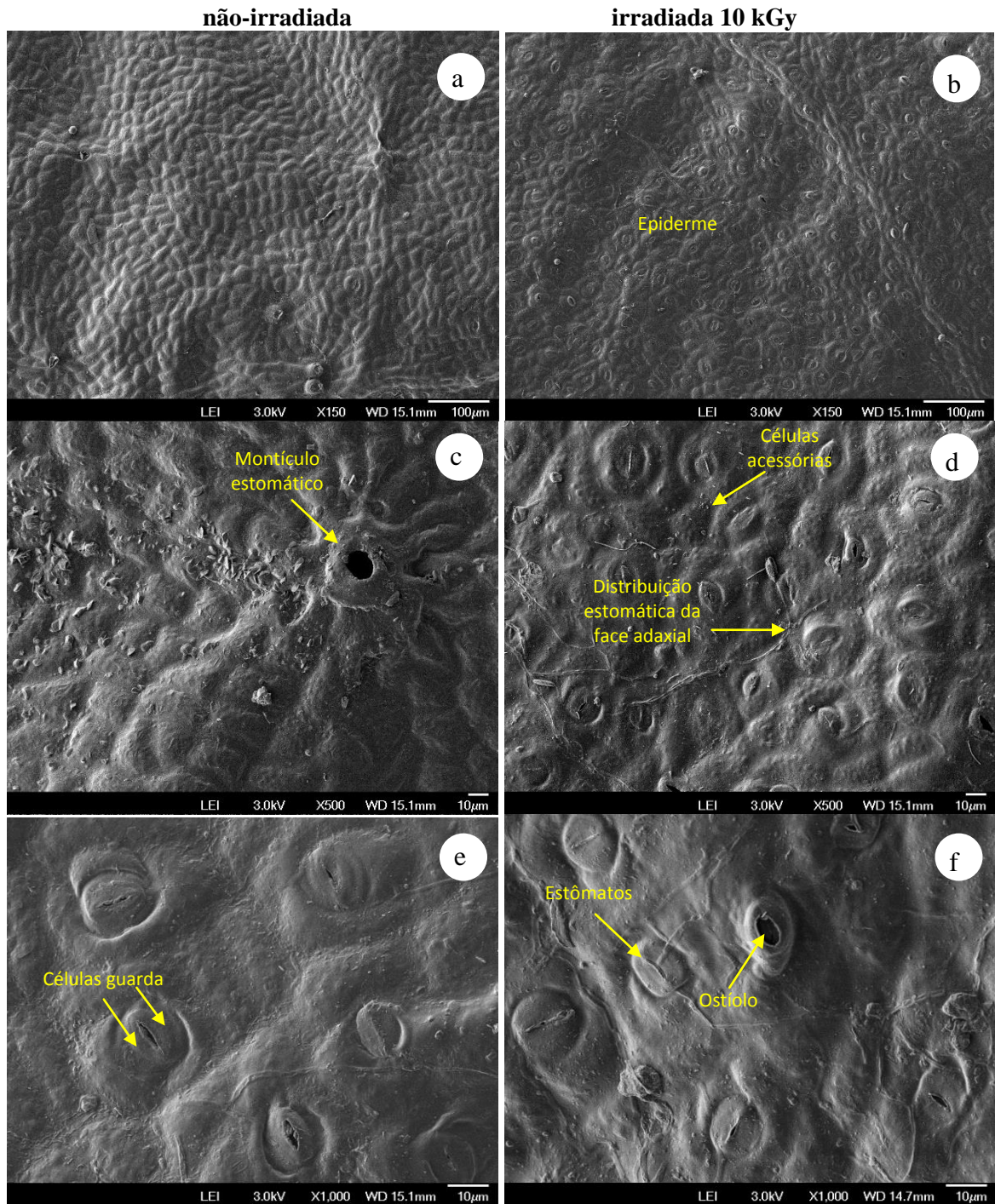
Fonte: autora da dissertação.

Figura 5.8 – Micrografias FEGSEM da amostra da família SOLANACEAE SPSF-4074 (espécie *Solanum swartzianum* Roem. & Schult. coletada em 1983) não-irradiada e irradiada (10 kGy), sendo: **imagens de amostras não irradiadas** (a – folha superfície adaxial ampliada 200x, c – folha superfície abaxial ampliada 150x, e – folha superfície adaxial ampliada 2500x) e **imagens de amostras irradiadas com 10 kGy** (b – folha superfície adaxial ampliada 500x, d – folha superfície abaxial ampliada 150x, f – folha superfície adaxial ampliada 2500x).



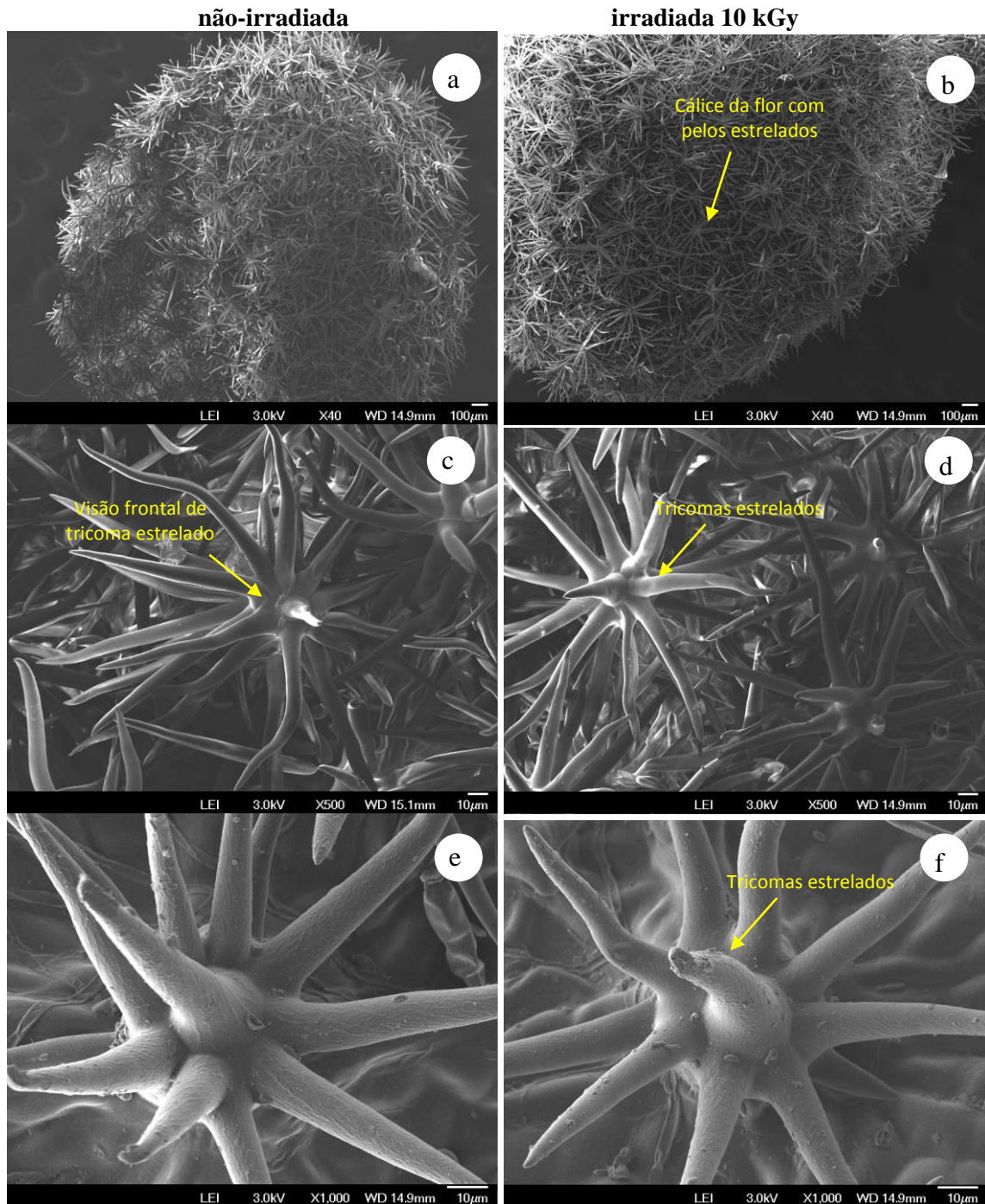
Fonte: autora da dissertação.

Figura 5.9 – Micrografias FEGSEM da amostra da família SOLANACEAE SPSF-08821 (espécie *Solanum pseudoquina* A. Sr.-Hil. coletada em 1984) não-irradiada e irradiada (10 kGy), sendo: **imagens de amostras não irradiadas** (a – folha superfície adaxial ampliada 150x, c – folha superfície adaxial ampliada 500x, e – folha superfície abaxial ampliada 1000x) e **imagens de amostras irradiadas com 10 kGy** (b – folha superfície adaxial ampliada 150x, d – folha superfície adaxial ampliada 500x, f – folha superfície abaxial ampliada 1000x).



Fonte autora da dissertação.

Figura 5.10 – Micrografias FEGSEM da amostra da família SOLANACEAE SPSF-39975 (espécie *Solanum mauritianum* Scop. coletada em 2007) não-irradiada e irradiada (10 kGy), sendo: **imagens de amostras não irradiadas** (a – flor ampliada 40x, c – folha superfície abaxial ampliada 500x, e – folha superfície adaxial ampliada 1000x) e **imagens de amostras irradiadas com 10 kGy** (b – flor ampliada 40x, d – folha superfície abaxial ampliada 500x, f – folha superfície adaxial ampliada 1000x).



Fonte: autora da dissertação.

5.2.3 Análise de espectroscopia no infravermelho FTIR

As Figuras 5.11 a 5.16 apresentam os espectros obtidos na faixa de 3200 a 600 cm^{-1} , que fornecem informações dos modos de vibração nas estruturas orgânicas das amostras botânicas.

A técnica espectroscópica no infravermelho FTIR tem sido usada no auxílio de identificação de amostras botânicas. Embora a identificação de espécies não seja o foco desta pesquisa, os estudos mostram que essa técnica é um recurso importante na discriminação de espécimes provenientes de herbários, caracterizando e quantificando os compostos orgânicos (WANG, 2012; BOTELHO, 2017). Espera-se que as alterações provocadas pelo processamento por radiação possam ser detectadas pela análise com FTIR.

Foram analisadas as partes mais representativas das folhas e flores.

Na Tabela 5.2 constam as posições no intervalo e atribuições de bandas gerais do espectro FTIR médio das amostras analisadas neste trabalho, de acordo com a literatura (CELINO et al. 2014; WANG, 2012; SILVERTEIN, 1998; DERRICK, 1995; ATKINS, 2002; LUZ, 2005).

Tabela 5.2 – Atribuições de bandas gerais do espectro FTIR médio de plantas com base na literatura.

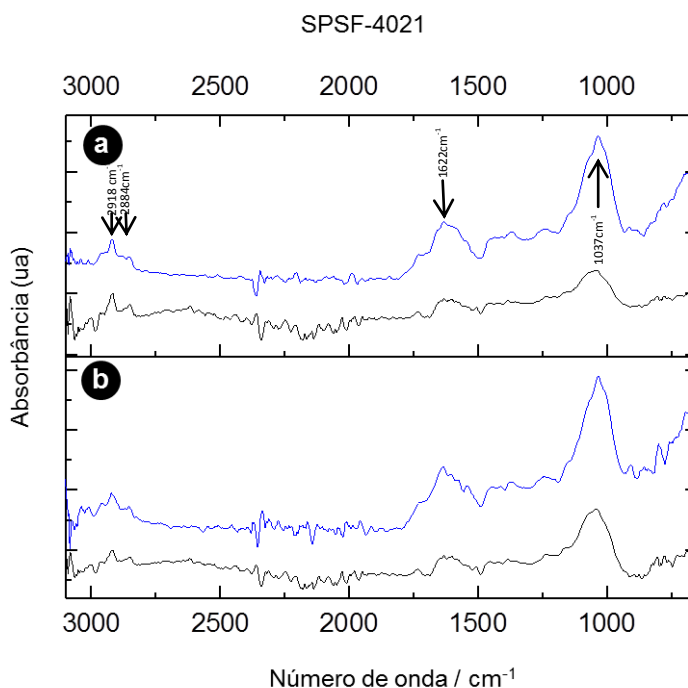
Frequência (cm^{-1})	Definição das atribuições espectrais
2923 - 2884	CH_2 e CH_3 , alongamento assimétrico: principalmente lipídios com uma pequena contribuição de proteínas, carboidratos e ácidos nucleicos
2366	CO_2 atmosférico
1735 - 1727	Éster saturado $\text{C}=\text{O}$ Estiramento: fosfolipídios, ésteres de colesterol, hemicelulose e pectina
1640 - 1614	Amida I (proteína $\text{C}=\text{O}$ Estiramento): proteína e pectina, O-H deformação angular da água residual da amostra.
1604	$\text{C}=\text{O}$ alongamento aromático: lignina
1403	O-H Flexão: polissacarídeos da parede celular, álcoois e ácidos carboxílicos
1261 - 1224	O-H, álcoois amida e aminas ($\text{C}=\text{N}$ e $\text{N}-\text{H}$) principalmente de substâncias proteicas
1170	Ligação simétrica alifático CH_2 , OH ou C-O de vários grupos: parede celular polissacarídeos
1145	Celulose (β -1,4 glucano)
1050 - 1020	C-O Alongamento: polissacarídeos da parede celular (glucomanano) OH e C-OH Alongamento: polissacarídeos da parede celular (arabinano, celulose).

Fonte: autora da dissertação, 2021.

As linhas na cor preta representadas nas Figuras 5.11 a 5.16 indicam os resultados dos espectros das amostras não irradiadas e as linhas na cor azul indicam as amostras irradiadas com 10 kGy.

A Figura 5.11 mostra que não ocorreu deslocamento das bandas vibracionais após a irradiação, tanto para a amostra SPSF-4021 a) face adaxial da folha, quanto para a amostra b) face abaxial da folha. Nota-se que, as amostras irradiadas com 10 kGy a radiação ionizante não promoveu aumento na intensidade na banda próxima a 1000 cm^{-1} , atribuída às vibrações de estiramento C-O e modos de vibração do anel aromático, comparada ao espectro FTIR da amostra 0 kGy (linha preta), em relação às bandas características de estiramento axial CH_3 e CH_2 localizadas nas regiões 2918 e 2884 cm^{-1} respectivamente. Na região de 1622 cm^{-1} associada ao grupo carbonila $\text{C}=\text{O}$ da pectina e, na banda 1037 cm^{-1} CH da celulose, presentes nas folhas de vegetais não se observa aumento da intensidade, esperado ocorrer devido às reações de oxidação entre os radicais livres formados pela interação da radiação com estes compostos e o oxigênio presente no ar. Infere-se que a técnica FTIR-ATR não permite observar pequenas alterações estruturais que ocorreram nos compostos presentes nas exsiccatas.

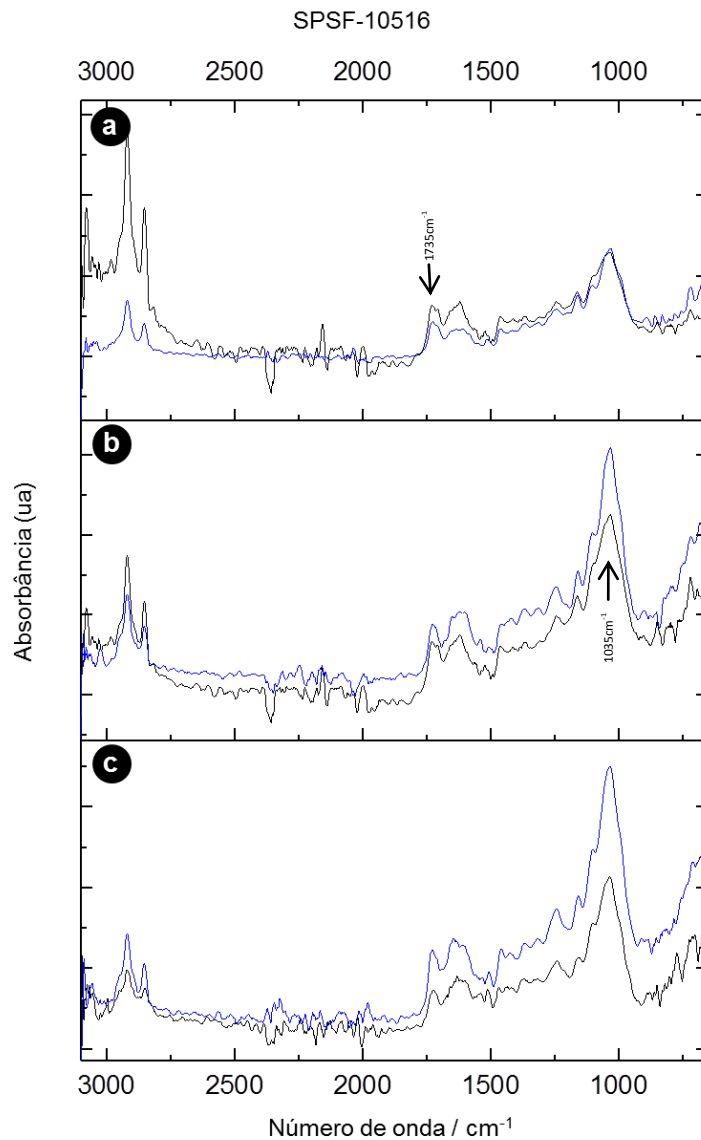
Figura 5.11 – Espectros de FTIR da amostra SPSF-4021 não-irradiada (linha preta) e irradiada (10 kGy, linha azul): a) face adaxial da folha, b) face abaxial da folha.



Fonte: autora da dissertação.

A Figura 5.12 apresenta as bandas características das amostras SPSF-10516: a) face adaxial da folha, nota-se leve redução das intensidades de absorção das bandas de estiramento atribuídas a CH_2 e CH_3 , localizadas nas regiões 2918 e 2884 cm^{-1} para a amostra irradiada com 10 kGy , já que as demais bandas não sofreram mudanças significativas, o que pode ser inferido que proporcionalmente houve leve aumento das bandas $\text{C}=\text{O}$, do mesmo modo observado na Figura 5.11. Enquanto as amostras, b) face abaxial da folha e c) inflorescência, percebe-se que a irradiação ionizante não provocou alteração significativa na intensidade da banda da vibração $\text{C}-\text{OH}$ em 1035 cm^{-1} origem de polissacarídeos.

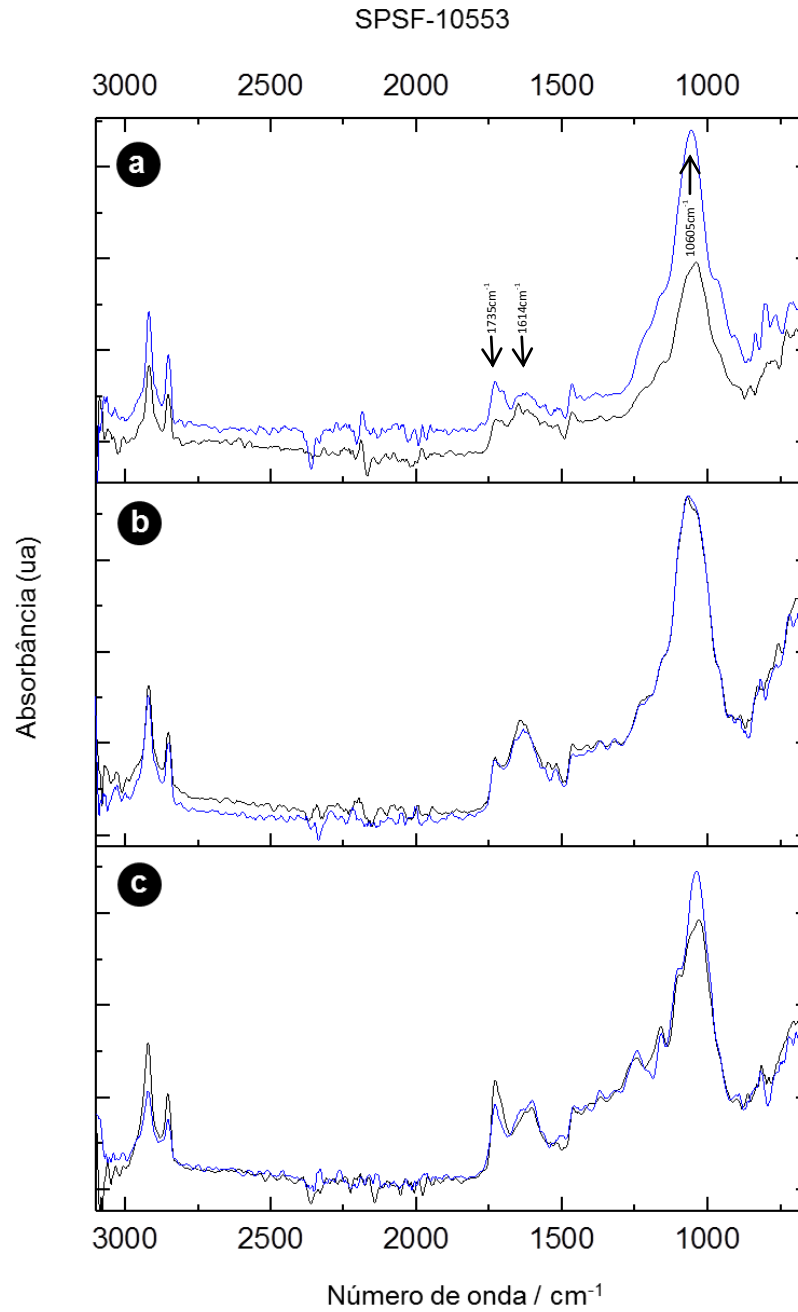
Figura 5.12 – Espectros de FTIR da amostra SPSF-10516 não-irradiada (linha preta) e irradiada (10 kGy , linha azul): a) face adaxial da folha, b) face abaxial da folha, c) flor/inflorescência.



Fonte: autora da dissertação.

A Figura 5.13 apresenta o espectro FTIR com as bandas características das amostras SPSF-10553: a) face adaxial da folha, observa-se que a radiação promoveu pequena intensidade da vibração para as bandas características representadas por CH_2 e CH_3 , localizadas nas regiões 2923 e 2850 cm^{-1} , $\text{C}=\text{O}$ localizado na região 1735 cm^{-1} estiramento de ésteres, para a banda da região 1633 cm^{-1} não ocorreu estiramento vibracional. Essa região de 1727 cm^{-1} $\text{C}=\text{O}$ de ésteres e 1614 cm^{-1} $\text{C}=\text{O}$ estiramento da pectina é correlacionada a uma banda dupla de carbonila, que podem ser vistas em folhas de vegetais e um estiramento mais acentuado para banda 1060 cm^{-1} $\text{C}-\text{O}$ da celulose. Entretanto, para as amostras b) face abaxial da folha e c) inflorescência, percebe-se que a irradiação ionizante não interferiu no comportamento das vibrações das moléculas de forma significativa, comparando-se a amostra irradiada com 10 kGy e com 0 kGy .

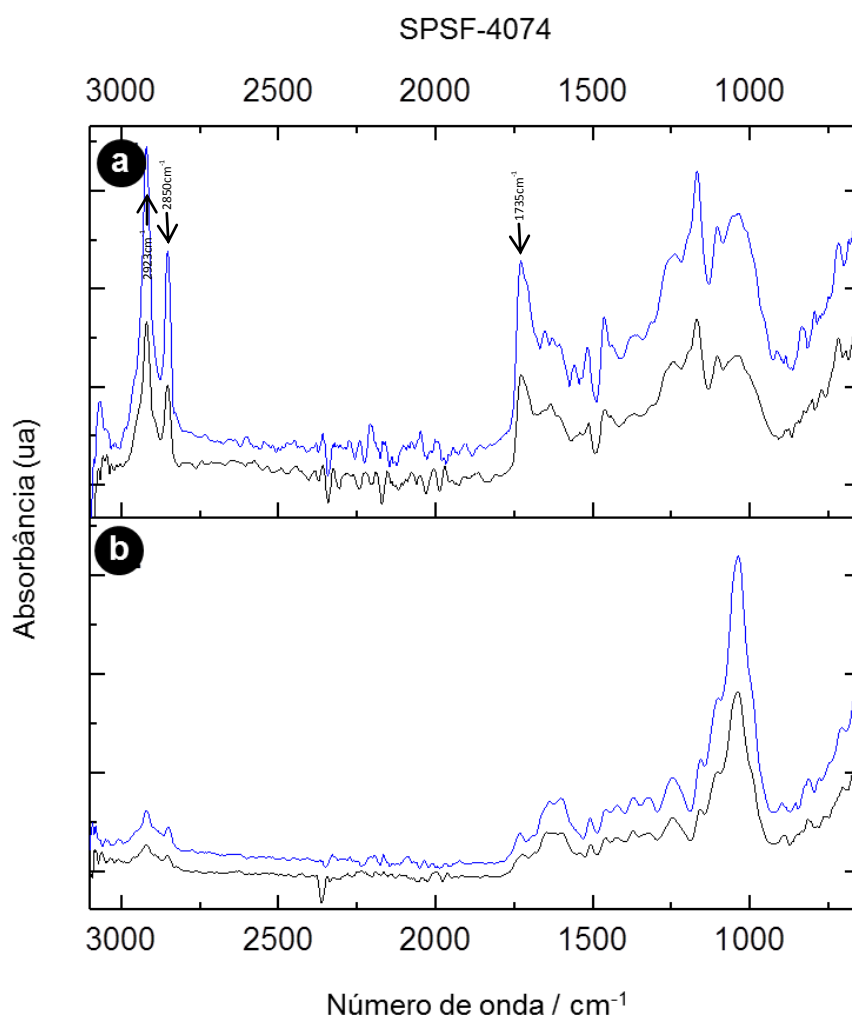
Figura 5.13 – Espectros de FTIR da amostra SPSF-10553 não-irradiada (linha preta) e irradiada (10 kGy, linha azul): a) face adaxial da folha, b) face abaxial da folha, c) flor/inflorescência.



Fonte: autora da dissertação.

Nota-se na Figura 5.14, SPSF-4074, que as amostras: a) face adaxial da folha irradiada com 10 kGy não apresenta alterações das intensidades vibracionais das bandas CH_2 e CH_3 , localizadas nas regiões 2923 e 2850 cm^{-1} , tampouco nas vibrações $\text{C}=\text{O}$ localizadas nas regiões 1735 cm^{-1} estiramento carbonila proveniente de ésteres, 1240 cm^{-1} $\text{C}=\text{N}$ estiramento de proteínas e $1072\text{-}1025\text{ cm}^{-1}$ $\text{C}-\text{C}$, COH $\text{C}-\text{O}$ da celulose. O mesmo se observa para a amostra b) face abaxial da folha irradiada com 10 kGy.

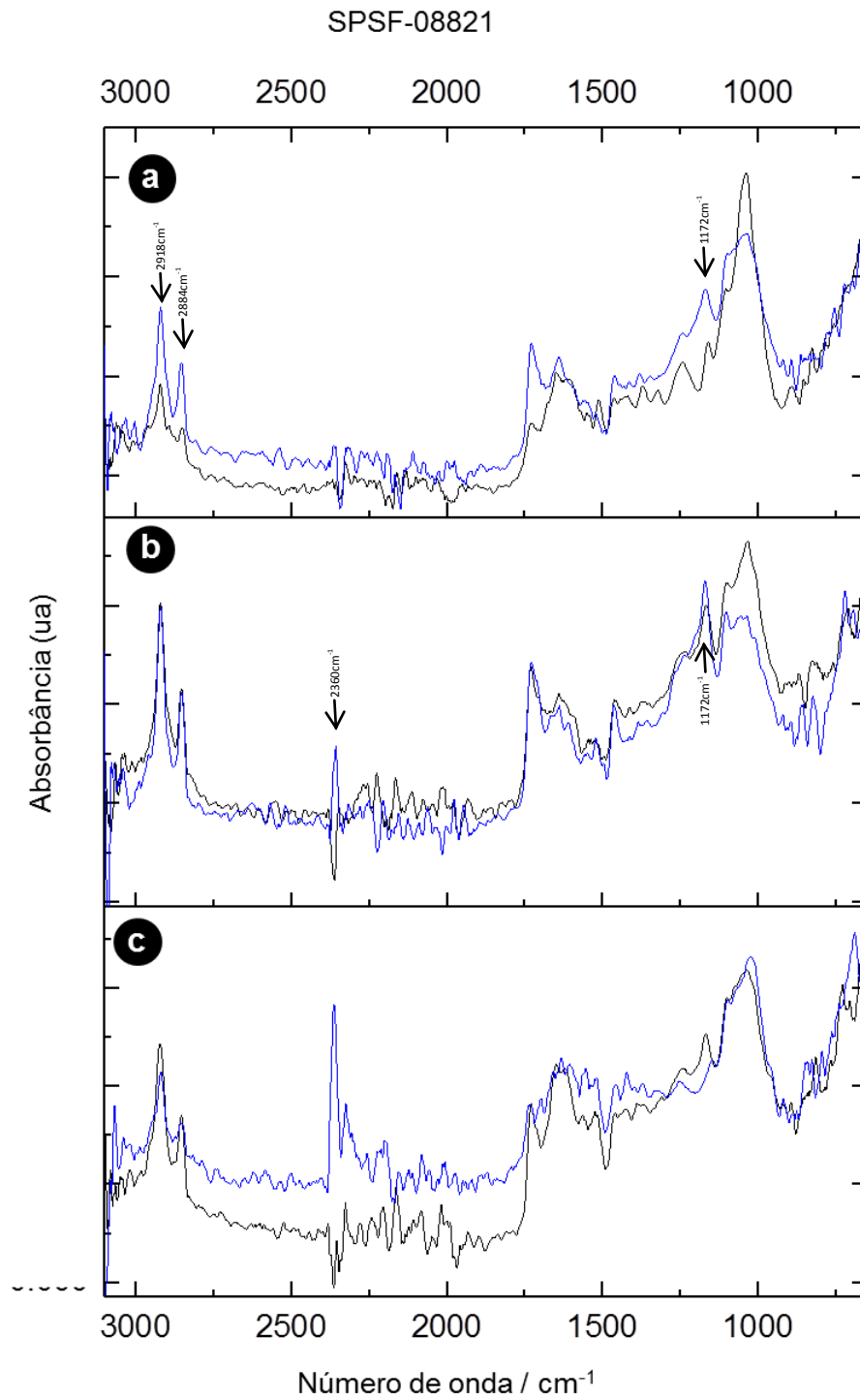
Figura 5.14 – Espectros de FTIR da amostra SPSF-4074 não-irradiada (linha preta) e irradiada (10 kGy, linha azul): a) face adaxial da folha, b) face abaxial da folha.



Fonte: autora da dissertação.

Observa-se na Figura 5.15, SPSF-08821, as bandas características das amostras comparando-se a amostra 0 kGy: a) face adaxial da folha a amostra irradiada a 10 kGy, apresenta leve aumento da intensidade da banda de 1172 cm^{-1} que pode ser atribuída a ligação simétrica alifático CH_2 , OH ou C-O de vários grupos presentes na parede celular de polissacarídeos. Para as amostras b) face abaxial da folha observa-se intensificação de sinal desta banda de banda 1172 cm^{-1} , enquanto, as demais bandas não apresentam mudanças significativas. Na amostra c) inflorescência verifica-se que não ocorreram mudanças significativas para as bandas características. No entanto, observa-se o aparecimento de uma banda na região 2360 cm^{-1} para as amostras irradiadas a 10 kGy tanto para a amostra a) quanto para a amostra b), associado a CO_2 atmosférico, devido às irregularidades das superfícies das amostras, tais como nervuras, que impedem o contato integral da superfície da amostra com o cristal ATR. Outro ponto a ser destacado é no caso das amostras de flores que possuem várias regiões vazadas.

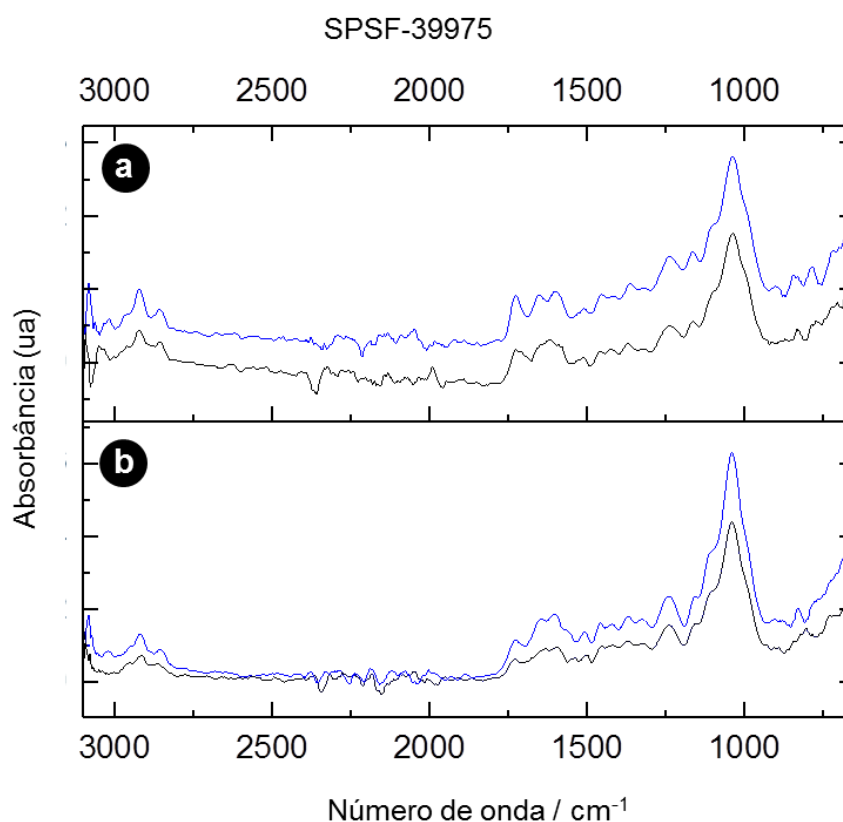
Figura 5.15 – Espectros de FTIR da amostra SPSF-08821 não-irradiada (linha preta) e irradiada (10 kGy, linha azul): a) face adaxial da folha, b) face abaxial da folha, c) flor/inflorescência.



Fonte: autora da dissertação.

Observa-se na Figura 5.16, SPSF-39975: a) face adaxial da folha irradiada com 10 kGy que não apresenta mudanças significativas nas intensidades vibracionais dos grupos funcionais comparadas à amostra não irradiada. O mesmo se observa para a amostra b) face abaxial da folha, irradiadas com 10 kGy.

Figura 5.16 – Espectros de FTIR da amostra SPSF-39975 não-irradiada (linha preta) e irradiada (10 kGy, linha azul): a) face adaxial da folha, b) face abaxial da folha.



Fonte: autora da dissertação.

Conforme os resultados das amostras não irradiadas e das irradiadas com 10 kGy as análises por FTIR-ATR indicam que não ocorreu deslocamentos dos grupos funcionais, indicando que não houve reações com a formação significativa de grupos orgânicos novos, ou a técnica FTIR-ATR não apresenta sensibilidade para detectar essas pequenas alterações. Apenas foi observado variações na intensidade vibracional de algumas bandas características das amostras.

Nas amostras SPSF-08821, observou-se o aparecimento de uma banda na região 2360 cm^{-1} para a amostra irradiada a 10 kGy tanto para b) quanto para c). Essa região da

janela ($2800-1800\text{ cm}^{-1}$) é geralmente uma região de linha de base onde ocorrem poucas bandas de absorção para compostos orgânicos. Porém a banda mais comum nessa região é associada ao dióxido de carbono CO_2 atmosférico (DERRICK et al., 1999).

Na literatura não é relatado o aparecimento dessa banda para compostos presentes em folhas vegetais, tanto que não aparecem nas outras amostras analisadas. Apesar desta banda ter sido derivada da amostra irradiada, não é possível definir que ocorreu uma degradação, porque essa região é muito sensível a formação do CO_2 proveniente da manipulação da amostra. Além disso, as outras bandas presentes na amostra não apresentaram mudanças significativas.

É importante destacar que após a descontaminação do material pelo método da radiação ionizante, o local que receberá os exemplares tratados deverá estar em condições adequadas de armazenamento. Com isso poderão ser evitadas novas contaminações nos locais de guarda das coleções. Embora seja uma técnica segura para tratamento de acervos do patrimônio cultural, deve haver um cuidado adequado visto que as doses absorvidas são cumulativas a cada tratamento realizado por radiação ionizante. Deste modo, é apresentada na próxima seção uma proposta para boas práticas de descontaminação de coleções de exsicatas pelo processo de irradiação com raios gama.

6 BOAS PRÁTICAS DE DESCONTAMINAÇÃO DE EXSICATAS PELO PROCESSO DE IRRADIAÇÃO COM RAIOS GAMA

Os procedimentos de preservação e conservação de exsicatas em herbários seguem as políticas e diretrizes de cada instituição. Os métodos e estratégias de controle de biodeterioração utilizados no gerenciamento das coleções geralmente estão sob a responsabilidade das curadorias dos herbários. Muitos herbários possuem manuais com orientações sobre as diversas etapas desde a coleta do material, processamento, secagem e armazenamento do acervo, com indicações de procedimentos para conservação e descontaminação do material.

O presente estudo, ao consolidar a técnica de irradiação com raios gama de exsicatas como uma alternativa de descontaminação, amplia as opções de novos processos de tratamento de conservação para os herbários. Recentemente, devido ao crescente processamento por radiação ionizante de bens culturais materiais, diretrizes foram estabelecidas para objetos do patrimônio cultural (NAGAI et al., 2021). Contudo, considerando a particularidade das coleções de exsicatas, o presente estudo propõe uma metodologia específica com procedimentos para o tratamento desses exemplares em instalações de irradiadores de raios gama.

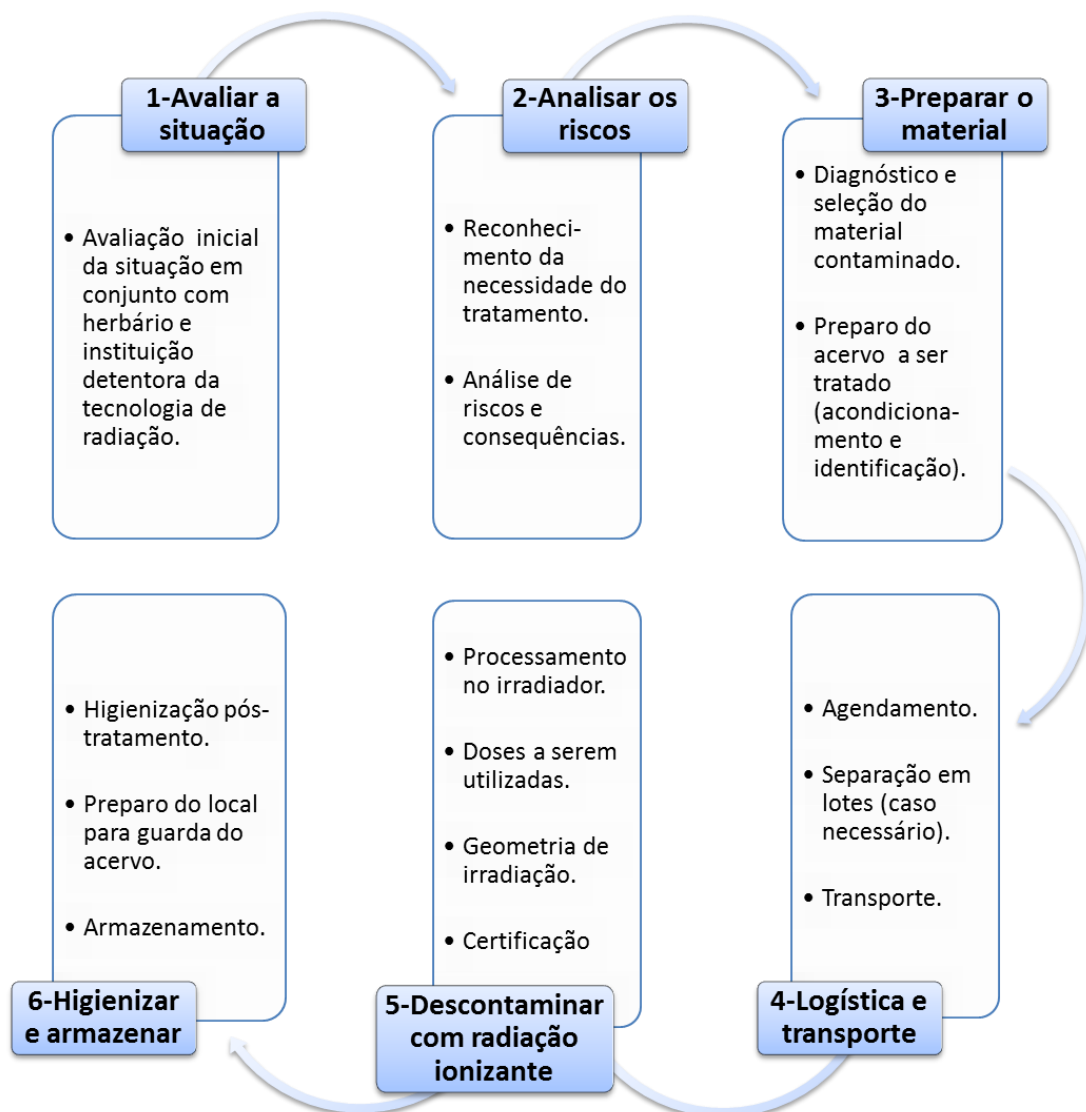
A escolha pelo uso da radiação ionizante com raios gama para fins de descontaminação e desinfestação em material herborizado deve ser realizada em conjunto pela curadoria do herbário e pelos profissionais com expertise na tecnologia de radiação ionizante.

Em São Paulo, o Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, IPEN/CNEN vem realizando em seu Irradiador Multipropósito de Cobalto-60 do Centro de Tecnologia das Radiações (CETER) o tratamento com uso da radiação ionizante de diversos bens do patrimônio cultural. O tratamento segue uma metodologia já definida que inclui desde o diagnóstico e preparação do acervo para processamento no irradiador até os cuidados pós-

tratamento. Da mesma forma, para a descontaminação e desinfestação do material herborizado com uso da radiação com raios gama é importante seguir procedimentos padronizados durante todo o processo.

A sequência de procedimentos para tratamento de exsiccatas está representada no diagrama apresentado na Figura 6.1. O manual de boas práticas de preparação para irradiação de exsiccadas está detalhado no APÊNDICE.

Figura 6.2 – Diagrama dos procedimentos para irradiação de material herborizado.



Fonte: autora da dissertação.

7 CONCLUSÕES

Os resultados revelaram que não ocorrem alterações significativas nas propriedades colorimétricas das amostras irradiadas, aplicando doses absorvidas de 1 kGy, 6 kGy e 10 kGy. As alterações de cor entre as amostras não irradiadas e as amostras irradiadas na dose absorvida alta são perceptíveis, mas aceitáveis conforme a escala adotada. As imagens microscópicas das amostras não irradiadas e irradiadas com 10 kGy não mostraram diferenças significativas na morfologia topográfica das amostras de exsicatas. Conforme os resultados do FTIR das amostras não irradiadas e das irradiadas com 10 kGy os espectros mostraram que não ocorreram deslocamentos significativos dos grupos funcionais nem mudanças moleculares significativas. Portanto, os resultados obtidos corroboram os estudos da aplicação da radiação gama na preservação de materiais de origem celulósica.

Dessa forma, o presente estudo demonstrou que a radiação gama aplicada a coleções botânicas como exsicata para desinfecção de insetos e fungos pode ser alcançada com segurança aplicando a dose de radiação entre 1 kGy a 10 kGy sem alteração ou modificação significativa das propriedades ópticas e de morfologia dos materiais constitutivos e nem nas suas características topográficas. Não obstante os fundamentos encontrados para uso da radiação ionizante como uma alternativa na conservação de espécimes botânicos há de se considerar que não é uma tecnologia disponível e de fácil acesso, visto que são instalações radiativas de alta complexidade e não disponíveis em todas as regiões do país e nem sempre localizadas próximas aos acervos.

As informações obtidas neste estudo auxiliaram na elaboração de um manual de boas práticas, para divulgação da técnica de irradiação de coleções botânicas e procedimentos de controle e armazenamento adequado após o tratamento, a fim de evitar reincidência na contaminação. Importante ressaltar a necessidade de práticas adequadas e cuidados com o acervo após o processamento por radiação, já que os efeitos da radiação são cumulativos e, portanto, há de se considerar com cautela o uso desta alternativa na conservação e preservação de acervos.

Espera-se que o conhecimento gerado com o presente estudo, com o uso da tecnologia das radiações ionizantes para fins de preservação do patrimônio cultural, possa contribuir na expansão de suas aplicações também para acervos sensíveis como é o caso das amostras botânicas em herbários.

8 TRABALHOS FUTUROS

A pesquisa realizada sobre o controle da deterioração das amostras botânicas em herbários apresenta-se como um vasto campo de conhecimento a ser explorado.

Trata-se de um acervo muito diverso em termos de espécimes, com características próprias e singulares de cada espécie. A continuidade dos estudos com abrangência de amostras de outras espécies da família das Asteraceae possibilitará a ampliação dos conhecimentos. Trata-se de uma família que pode ser encontrada em todo mundo (exceção da Antártica) e em diferentes biomas. É muito representativa nos herbários, devido inclusive ao esforço integrado de botânicos em nível mundial para manutenção da biodiversidade dessa família de plantas.

Outras técnicas analíticas também poderão ser empregadas nas avaliações dos efeitos do uso dessa tecnologia em amostras herborizadas, incluindo análise de DNA.

Finalmente, um estudo de fundamental importância será a avaliação da coleção do Herbário Maria Eneyda P. Kaufmann Fidalgo (SP), com importantes famílias como Poaceae e Bromeliaceae, que passou por tratamento em massa com radiação ionizante, em caráter emergencial. As espécies herborizadas foram irradiadas em agosto de 2020, no Irradiador Multipropósito do IPEN/CNEN e estão sob a guarda do herbário. O uso da presente técnica de conservação só foi possível em virtude dos resultados que já haviam sido obtidos por essa pesquisa de mestrado, pois não foram encontrados na literatura referências do uso dessa técnica em coleções com características semelhantes. Faz-se necessário, portanto, o monitoramento e estudo dos efeitos do processamento nesse material em função do tempo.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABBONDANTE, S.F. *The effect of radioactive materials on forensic DNA evidence: Procedures and interpretation*. 2009. 272 p. Tese (Doutorado em Filosofia) Universidade de Canberra.
- ADAMO, M., MAGAUDDA, G., NISINI, P.T.; TRONELLI, G. Susceptibility of cellulose to attack by cellulolytic microfungi after gamma irradiation and ageing. *Restaurator*, v. 24, p.145–151, 2003.
- ADAMO, M.; MAGAUDDA, G.; TATA, A. Radiation technology for cultural heritage restoration. *Restaurator*, v. 25, n. 3, p.159-170, 2004.
- ARBER, A. *Herbals. Their Origin and Evolution – A Chapter in the History of Botany 1470-1670*. New York: Cambridge University Press, 1912.
- ASTM International. *Standard Practice for Calculation of Color Tolerances and Color Differences from Instrumentally Measured Color Coordinates*. United States: ASTM, 2016. (Designation D2244 – 16).
- ATKINS, P.; PAULA, J. *Físico-Química*. Tradução de Edilson C. da Silva, Márcio J.E.M. Cardoso, Oswaldo E. Barcia. Rio de Janeiro: LTC livros técnicos e científicos Editora S.A., vol. 2, 2002.
- BACCARO, S.; CEMMI, A. Radiation activities and application of ionizing radiation on cultural heritage at ENEA Calliope gamma facility. *Nukleonika*, v. 62, n. 4, p.261-267. 2017. Disponível em: <<https://doi.org/10.1515/nuka-2017-0038>>. Acesso em: 01 fev. 2021.
- BESNARD, G.; GAUDEUL, M.; LAVERGNE, S.; MULLER, S.; ROUHAN, G.; SUKHORUKOV, A.P.; VANDERPOORTEN, A.; JABBOUR, F. Herbarium-based science in the twenty-first century. *Botany Letters*, 165:3-4, p.323-327, 2018.
- BICCHIERI, M.; MONTI, M.; PIANTANIDA, G.; SODO, A. Effects of gamma irradiation on deteriorated paper. *Radiation Physics and Chemistry*, 125, p.21-26, 2016.
- BIEKER, V. C.; MARTIN, M. D. Implications and future prospects for evolutionary analyses of DNA in historical herbarium collections, *Botany Letters*, v. 165:3-4, p. 409-418, 2018.
- BOJANOSKI, S. F.; MICHELON, F. F.; BEVILACQUA, C. Os termos preservação, restauração, conservação e conservação preventiva de bens culturais: uma abordagem terminológica. *Calidoscópico*, v. 15, n. 3, p.443-454, set/dez 2017.

BRIDSON, D.; FORMAN, L. *The Herbarium Handbook*. Richmond: Royal Botanic Gardens, Kew, 1992.

BUDEL, J. M.; RAMAN, V.; MONTEIRO, L. M.; ALMEIDA, V. P.; BOBEK, V. B.; HEIDEN, G.; TAKEDA, I. J. M.; KHAN, I. A. Foliar anatomy and microscopy of six Brazilian species of *Baccharis* (Asteraceae). *Microscopy Research and Technique*. 2018, v.81, p. 832–842.

CALVO, W.A.P. *Desenvolvimento do Sistema de irradiação em um irradiador multipropósito de Cobalto-60 tipo compacto*. 2005. 159 p. Tese (Doutorado em Ciências na Área de Tecnologia Nuclear) Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, São Paulo.

CAPPITELLI, F.; CATTO, C.; VILLA, F. The control of cultural heritage microbial deterioration. *Microorganisms*, 8(10), 1542, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.3390/microorganisms8101542>>. Acesso em: 3 mar. 2021.

CARINE, M. A.; CESAR E. A.; ELLIS, L.; HUNNEX J.; PAUL, A. M.; PRAKASH, R.; RUMSEY, F. J.; WAJER, J.; WILBRAHAM, J.; YESILYURT, J.C. Examining the Spectra of Herbarium Uses and Users. *Botany Letters*, v. 165: 3-4, p.328-336, 2018.

CASSARES, N.C. *Como fazer conservação preventiva em arquivos e bibliotecas*. São Paulo: Arquivo do Estado e Imprensa Oficial, 2000.

CASTRO, L.A.S. Processamento de amostras para microscopia eletrônica de varredura. Pelotas: Embrapa Clima Temperado. *Documentos*, n. 93. 1ª ed., 37p. 2002.

CELINO, A., GONÇALVES, O., JACQUEMIN, F., FRÉOUR, S. Quantitative and qualitative assessment of water sorption in natural fibres using ATR-FTIR spectroscopy. *Carbohydrate Polymers*, 101, p. 163-170, 2014.

CHEN, J., TAN, H. T-W., WONG, K. M. 2015. All that Shimmers Is Not the Same: Silvered Leaves and Micromorphological Diversity in *Timonius* DC. (Rubiaceae). *Plant Systematics and Evolution*, 301 (2), p. 841–848.

CHMIELEWSKI, A.G.; HAJI-SAEID, M. Radiation technologies: past, present and future. *Radiation Physics and Chemistry*, 71(1–2), p.16-20, 2004.

CHMIELEWSKI, A. G. Application of ionizing radiation to environment protection. *Nukleonika*, v.50 (Supplement 3): S17-S24. Proceedings. 2005.

CHOI, J.; CHUNG, Y. J.; KANG, D. I.; LEE, K. S.; LEE, J. Effect of radiation on disinfection and mechanical properties of Korean traditional paper, Hanji. *Radiation Physics and Chemistry*, 81, p.1051-1054, 2012.

CIE (Comission Internationale de l'Éclairage). *Colorimetry*. CIE Technical Report 15. 3ª ed. Vienna: CIE Central Bureau, 2004.

CLELAND, M.R.; PARKS, L.A.; CHENG, S. Applications for radiation processing of materials. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section B: Beam Interactions with Materials and Atoms*, v. 208, p.66-73, 2003. Disponível em: <[https://doi.org/10.1016/S0168-583X\(03\)00655-4](https://doi.org/10.1016/S0168-583X(03)00655-4)>. Acesso em: 5 mar. 2021

COMISSÃO NACIONAL DE ENERGIA NUCLEAR. *Aplicações da energia nuclear*. Apostila educativa. [s/d]. Org. Eliezer de Moura Cardoso e col.. 18 p. Disponível em: <<https://www.gov.br/cnen/pt-br/material-divulgacao-videos-imagens-publicacoes/publicacoes-1/aplicacoesdaenergianuclear.pdf>>. Acesso em: 17 dez. 2020.

COMISSÃO NACIONAL DE ENERGIA NUCLEAR. *Grandezas e Unidades para Radiação Ionizante*, Org. Manoel Mattos Oliveira Ramos e Luiz Tauhata. Rio de Janeiro: Instituto de Radioproteção e Dosimetria (IRD) – Laboratório Nacional de Metrologia das Radiações Ionizantes (LNMRI). 35p. 2011.

COMISSÃO NACIONAL DE ENERGIA NUCLEAR. *Licenciamento de instalações radiativas (CNEN NN 6.02)*. Rio de Janeiro: Resolução CNEN 261/20. maio.2020. Disponível em: <http://appasp.cnen.gov.br/seguranca/normas/pdf/Nrm602.pdf>. Acesso em: 02 jan.2021.

COMISSÃO NACIONAL DE ENERGIA NUCLEAR. *Instalações radiativas: ações e práticas*. CGMI/DRS/CNEN. 2020. 13 p. Disponível em: <http://antigo.cnen.gov.br/imagens/cnen/documentos/drs/cgmi/Instalacoes-Radiativas-v4.pdf>. Acesso em: 04 abr.2021.

CORTELLA, L. Khroma the frozen baby mammoth. In: IAEA (Ed.) *Uses of ionizing radiation for tangible cultural heritage conservation*. (Radiation Technology Series, n. 6, STI/PUB/1747). Vienna: IAEA., p.137-139, 2017.

CORTELLA, L. Gamma radiation processing for cultural heritage preservation - biocide treatment of organic materials and consolidation of wooden degraded artifacts by radiation curing resins. In: RADIOACTIVE TECHNIQUES FOR DIAGNOSIS AND CONSERVATION OF CULTURAL HERITAGE, INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON NON-DESTRUCTIVE TESTING OF CULTURAL HERITAGE, DAEJEON, 4 de setembro de 2019. National Research Institute of Cultural Heritage, Daejeon, Republic of Korea. p. 130-144, 2019.

CORTELLA, L.; ALBINO, C.; TRAN, QK; FROMENT, K. 50 years of French experience in using gamma rays as a tool for cultural heritage remedial conservation. Strasbourg: 19th International Meeting on Radiation Processing (IMRP). *Radiation Physics and Chemistry*, v. 171, 2020. Disponível em: <DOI: 10.1016/j.radphyschem.2020.108726>. Acesso em: 3 mar. 2021.

D'AMATO, C.; TORRES, J. P.M.; MALM, O. DDT (dicloro difenil tricloroetano): toxicidade e contaminação ambiental - uma revisão. *Quím. Nova*, v. 25, n. 6a, p. 995-1002, nov./dez. 2002. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1590/S0100-40422002000600017>>. Acesso em: 9 abr. 2021.

DE TASSIGNY, C.; BROUQUI, M. *Adaptation à la désinfection de la momie de Ramsés II du procédé de radio-stérilisation gamma*. Preprints: ICOM COMMITTEE FOR CONSERVATION 5th triennial meeting: Zagreb, 1-8. 78/17/5, p.1-16, 1978.

DEDAVID, B.A.; GOMES, C.I.; MACHADO, G. *Microscopia eletrônica de varredura: aplicações e preparação de amostras* [recurso eletrônico]. Porto Alegre: EDIPUCRS, 60p. 2007.

DERRICK, M. R.; STULIK, D.; LANDRY, J. M. *Infrared spectroscopy in conservation science*. Scientific tools for conservation. Los Angeles, CA: Getty Conservation Institute, 248p. 1999.

DRÁBKOVÁ, K.; DUROVIC, M.; KUCEROVÁ, I. Influence of gamma radiation on properties of paper and textile fibres during disinfection. *Radiation Physics and Chemistry*, v. 152, p. 75-80, 2018.

ESAU, K. *Anatomia das plantas com sementes*. Tradução de Berta Lange de Morretes, São Paulo: Edgard Blücher, 293p.1974.

ESPINOSA F.; CASTRO, M.P. On the use of herbarium specimens for morphological and anatomical research, *Botany Letters*, 165:3-4, p.361-367, 2018.

FAO/WHO *General Standard for Irradiated Foods*, CODEX STAN 106–1983, Rev.1-2003. Codex Alimentarius Commission. Rome: FAO/WHO. 2003.

FIOCRUZ. *Radiação*. Disponível em: http://www.fiocruz.br/biosseguranca/Bis/lab_virtual/radiacao.html. Acesso em: 15 dez.2020.

FUNK V. 100 Uses for an herbarium (Well at Least 72). *American Society of Plant Taxonomists Newsletter* n. 17(2), p. 17-19. 2003.

GASPER, A. L.; STEHMANN, J. R.; ROQUE, N.; BIGIO, N.C.; SARTORI, A.L.B.; GRITZ, G.S. Brazilian herbaria: an overview. *Acta Botanica Brasilica*. [online] v. 34, n. 2, p.352-359, 2020. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1590/0102-33062019abb0390>. Acesso em: 8 mar. 2021.

GILBERT M. T. P., DJURHUUS D., MELCHION L., LYNNERUUP N., WOROBEY M., WILSON A. S., ANDREASEN C., DISSING J., mtDNA from hair and nail clarifies the genetic relationship of the 15th century Qilakitsoq Inuit Mummies, *American Journal of Physical Anthropology*, n. 133, p. 847-853, 2007.

GIPA/IIA – GAMMA INDUSTRY PROCESSING ALLIANCE/INTERNATIONAL IRRADIATION ASSOCIATION. *A Comparison of Gamma, E-beam, X-ray and Ethylene Oxide Technologies for the Industrial Sterilization of Medical Devices and Healthcare Products*. White paper. 2017. Disponível em: <http://iiaglobal.com/wp-content/uploads/2018/01/White-Paper-Comparison-Gamma-Eb-Xray-and-EO-for-Sterilisation.pdf>. Acesso em: 15 dez. 2020

GOËAU, H.; MORA-FALLAS, A.; CHAMP, J.; LOVE, N.L.R.; MAZER, S.J.; MATA-MONTERO, E.; JOLY, A.; P. BONNET, P. A new fine-grained method for automated visual analysis of herbarium specimens: a case study for phenological data extraction. *Applications in Plant Sciences*, v. 8, 6 ed., 2020. Disponível em <<https://doi.org/10.1002/aps3.11368>>. Acesso em: 5 mar. 2021.

GONÇALVES, L.S.; FRANCHI M.; MATHOR, M.B.; LUGAO, A.B.; CARVALHO, V.H.; MEDEIROS M.H.G.; ARTIOLI, G.G.; VARCA, G.H.C. The molecular structure of β -alanine is resistant to sterilising doses of gamma radiation. *PLoS ONE*, v.14(1), 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0210713>>. Acesso em 5 mar.2021.

GONZALES, M. E.; CALVO, A. M.; KAIRIYAMA, E. Gamma radiation for preservation of biologically damaged paper. *Radiation Physics and Chemistry* 63, p. 263-265, 2002.

GUARINO, S.; BASILE, S.; CAIMI, M.; CARRATELLO, A.; MANACHINI, B.; PERI, E. Insect pests of the Herbarium of the Palermo botanical garden and evaluation of semiochemicals for the control of the key pest *Lasioderma serricorne* F. (Coleoptera: Anobiidae). *Journal of Cultural Heritage*, v. 43, p. 37-44, 2020 Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.culher.2019.10.009>>. Acesso em: 6 mar.2021.

HALL, A. V. Pest control in herbaria, *Taxon* v. 37, n. 4, p.885–907, 1988.

HARDEBERG, J.Y. *Acquisition et reproduction d'images couleur: approches colorimétrique et multispec-trale*. Interface homme-machine [cs.HC]. 1999. 253p. Thèse (Docteur Spécialité: Signal et Images) Ecole Nationale Supérieure des Télécommunications - Télécom ParisTech, Français,

HARWOOD, L.M.; CLARIDGE, T.D.W. *Introduction to Organic Spectroscopy*. (Oxford Chemistry Primers, 43). Oxford: Oxford University Press. 98p. 1996.

HEBERLING, J.M.; ISAAC, B.L. Espécimes de herbário como exaptações: novos usos para coleções antigas . *American Journal of Botany* v. 104(7), p. 963-965, 2017.

IBGE - FUNDAÇÃO INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA, Departamento de Recursos Naturais e Estudos Ambientais. *Manual Técnico da Vegetação Brasileira*. (Série Manuais Técnicos em Geociências) vol. 1. Rio de Janeiro: IBGE, 92 p. 1992.

ICOM-CC – INTERNATIONAL COUNCIL OF MUSEUMS – COMMITTEE FOR CONSERVATION. *Terminology to characterize the conservation of tangible cultural heritage*. 15th Triennial Conference, New Delhi, 22-26 September 2008. Disponível em: <http://www.icom-cc.org/54/document/icom-cc-resolution-terminology-english/?id=744#.YH91_-tKiM9>. Acesso em: 7 mar. 2021.

INTERNATIONAL ATOMIC ENERGY AGENCY. Radiation sterilization and decontamination of pharmaceuticals and pharmaceutical raw materials. *CRP Report*. Vienna: IAEA, 120p. 2002.

INTERNATIONAL ATOMIC ENERGY AGENCY. *Gamma Irradiators for Radiation Processing*. Vienna: IAEA. 46p. 2005.

INTERNATIONAL ATOMIC ENERGY AGENCY. *Trends in radiation sterilization of health care products*. Vienna: IAEA, 261p. 2008.

INTERNATIONAL ATOMIC ENERGY AGENCY. Radiation safety of gamma, electron and X ray irradiation facilities, *IAEA Safety Standards Series*, n. SSG-8, Vienna: IAEA, 92p. 2010.

INTERNATIONAL ATOMIC ENERGY AGENCY. Guidelines for the Development, Validation and Routine Control of Industrial Radiation Processes, *IAEA Radiation Technology Series*, n. 4, 2013.

INTERNATIONAL ATOMIC ENERGY AGENCY. Uses of ionizing radiation for tangible cultural heritage conservation. *IAEA Radiation Technology Series*, n. 6, 2017.

IUCN – INTERNATIONAL UNION FOR CONSERVATION OF NATURE AND NATURAL RESOURCES. *The IUCN red list of threatened species*, v. 2021-1. [Recurso eletrônico]. 2021. Disponível em: <http://www.iucnredlist.org>. Acesso em: 30 mar. 2021.

JAMES, S.A.; P.S. SOLTIS; BELBIN, L.; CHAPMAN, A.D.; NELSON, G.; PAUL, D.L.; COLLINS, M. Herbarium data: Global biodiversity and societal botanical needs for novel research. *Applications in Plant Sciences*, v. 6(2), 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/aps3.1024>. Acesso em: 5 mar. 2021.

JORDON-THADEN I.E.; BECK, J.B.; RUSHWORTH, C.A.; WINDHAM, M.D.; DIAZ, N.; CANTLEY J.T.; MARTINE, C.T.; ROTHFELS, C.J. A basic ddRADseq two-enzyme protocol performs well with herbarium and silica-dried tissues across four genera. *Applications in Plant Sciences*, v. 8(4), 2020.

JOSEPH, E. *Microorganisms in the Deterioration and Preservation of Cultural Heritage*. Springer. [recurso eletrônico], 2021. 367 p. <https://doi.org/10.1007/978-3-030-69411-1>

KODAMA, Y.; RODRIGUES JR., O.; GARCIA, R. H. L.; SANTOS, P. S.; VASQUEZ, P. A. S. Study of free radicals in gamma irradiated cellulose of cultural heritage materials using Electron Paramagnetic Resonance. *Radiat. Phys. Chem.*, v.124, p.169-173, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.radphyschem.2016.02.018>>. Acesso em: 27 out. 2020.

KOLLER, S.H.; DE PAULA COUTO, M.C.P.; VON HOHENDORFF, J. *Manual de produção científica*. Porto Alegre: Penso Editora, 2014. 190 p.

LIMA, L. M. P. R.; KODAMA, Y.; OTUBO, L.; SANTOS, P. S.; VASQUEZ, P. A. S. Effect of ionizing radiation on the color of botanical collections - exsiccata. In: INTERNATIONAL NUCLEAR ATLANTIC CONFERENCE, October 21-25, 2019, Santos, SP. *Proceedings...* Rio de Janeiro: Associação Brasileira de Energia Nuclear, 2019. p. 2650-2661.

LUZ, B. R. *Propriedades espectrais das plantas no infravermelho termal (2,5 - 14 µm): da química ao dossel*. 2005. 188 p. Tese (Doutorado em Ciências) Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo.

MAGAUDDA, G. The recovery of biodeteriorated books and archive documents through gamma radiation: some considerations on the results achieved. *J. Cult. Herit.*, v. 5, n. 1. p.113-118, 2004.

MANEA, M. M.; NEGUT, C.D.; STANCULESCU, I. R.; PONTA, C.C. Irradiation effects on canvas oil painting: Spectroscopic observations. *Radiat. Phys. Chem.*, v. 81, n. 12, p. 1595-1599, 2012.

MARTINS-DA-SILVA, R. C. V.; SILVA, A. S. L.; FERNANDES, M. M.; MARGALHO, L. F. *Noções morfológicas e taxonômicas para identificação botânica*. Brasília, DF: Embrapa, 111p. 2014.

MINOLTA. *Precise color communication: color control from perception to Instrumentation*, Minolta Co. Ltd., Japan, 59p. 2007.

MOISE, I. V.; VIRGOLICI, M.; NEGUT, C. D.; MANEA, M.; ALEXANDRU, M.; TRANDAFIR, L.; ZORILA, F. L.; TALASMAN, C. M.; MANEA, D.; NISIPEANU, S.; HAIDECU, M.; BALAN, Z. Establishing the irradiation dose for paper descontamination. *Radiat. Phys. Chem.*, v. 81, p. 1045-1050, 2012.

MOISE, I. V.; ENE, M.; NEGUT, C. D.; CUTRUBINIS, M.; MANEA, M. M. Radiation processing for cultural heritage preservation – Romanian experience. *Nukleonika*, v. 62. n. 4, p.253-260, 2017. Disponível em: <<https://doi.org/10.1515/nuka-2017-0037>>. Acesso em: 01 fev. 2020.

MOISE, I. V.; MANEA, M. M.; VASILCA, S.; PINTILIE, C.; VIRGOLICI, M.; CUTRUBINIS, M.; STANCULESCU, I. R.; MELTZER, V. The crosslinking behaviour of cellulose in gamma irradiated paper. *Polym. Degrad. Stabil.*, v. 160, p. 53-59, 2019.

MOLINA, R. T. **Historia de la Botánica**. Lecciones hipertextuales de Botánica (em espanhol). Universidad de Extremadura. 1998. Disponível em: <<http://www1.biologie.uni-hamburg.de/b-online/ibc99/botanica/presenta.htm>>. Acesso em: 19 dez. 2020.

MONTEIRO, S. S.; SIANI, A. C. A Conservação de Exsicatas em Herbários: Contribuição ao Manejo e Preservação. *Revista Fitos*, [S.l.], v. 4, n. 2, p.24-37, 2009.

MOREIRA, M. D.; PICANÇO, M. C.; SILVA, E. M.; MORENO, S. C.; MARTINS, J. C. Uso de inseticidas botânicos no controle de pragas. In: VENZON, M.; PAULA JÚNIOR, T. J. de; PALLINI, A. (Org.). *Controle alternativo de pragas e doenças*. Viçosa, MG: EPAMIG/CTZM, 2005.

MORI, S. A.; SILVA, L. A. M.; LISBOA, G.; CORADIN, L. *Manual de manejo do herbário fanerogâmico*. 2.ed. Ilhéus: Centro de Pesquisas do Cacau, 104p. 1989.

NAGAI, M. L. E. *Estudo da utilização da radiação ionizante para preservação e conservação de filmes fotográficos e cinematográficos*. 2019. 127 p. Dissertação (Mestrado em Tecnologia Nuclear). Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, São Paulo.

NAGAI, M. L. E., SANTOS, P. S., VASQUEZ, P. A. S. Irradiation protocol for cultural heritage conservation treatment. *Brazilian Journal of Radiation Sciences*. Vol 9 (1A), 2021, 1-16. <https://doi.org/10.15392/bjrs.v9i1A.1351>

NAKAJIMA, J.N.; LOEUILLE, B.; HEIDEN, G.; DEMATTEIS, M.; HATTORI, E.K.O.; MAGENTA, M.A.G.; RITTER, M.R.; MONDIN, C.A.; ROQUE, N.; FERREIRA, S.C.; BORGES, R.A.X.; SOARES, P.N.; ALMEIDA, G.; SCHNEIDER, A.; SANCHO, G.; SAAVEDRA, M.M.; LIRO, R.M.; PEREIRA, A.C.M.; MORAES, M.D.; SILVA, G.A.R.; MEDEIROS, J.D.; LORENCINI, T.S.; TELES, A.M.; MONGE, M.; SINISCALCHI, C.M.; SOUZA-BUTURI, F.O.; BRINGEL JR., J.B. A.; CARNEIRO, C.R.; PASINI, E.; OLIVEIRA, C.T. Asteraceae, *Lista de Espécies da Flora do Brasil* [recurso eletrônico]. Jardim Botânico do Rio de Janeiro, 2015. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB55>>. Acesso em: 5 jan. 2019.

NUNES, I.; MESQUITA, N.; CABO VERDE, S.; TRIGO, M. J.; FERREIRA, A.; CAROLINO, M. M.; PORTUGAL, A.; BOTELHO, M. L. Gamma radiation effects on physical properties of parchment documents: Assessment of Dmax. **Radiat. Phys. Chem.**, 81, n. 12, p. 1943-1946, 2012.

OKUNO, E.; YOSHIMURA, E. M. *Física das radiações*. São Paulo: Oficina de Textos, 2010.

PAVON FLORES, S.C. Gamma radiation as fungicide and its effects on paper. **Bull. Am. Inst. Conserv. Hist. Artistic Works**, v. 16, n. 1, p.15-44, 1976.

PEARSON, K. D.; NELSON, G.; MYLA F. J.; ARONSON, P. B.; BRENSKELLE, L.; DAVIS, C. C.; DENNY, L. G.; ELLWOOD, E. R.; GOËAU, H.; HEBERLING, J. M.; JOLY, A.; LORIEUL, T.; MAZER, A. J.; MEINEKE, E. K.; STUCKY, B. J.; SWEENEY, P.; WHITE, A. E.; SOLTIS, P. S. Machine Learning Using Digitized Herbarium Specimens to Advance Phenological Research. **BioScience**, v. 70, n. 7, 2020.

PEIXOTO, A. L.; MAIA, L. C. *Manual de procedimentos para herbários* [recurso eletrônico] / Organizadoras: Ariane Luna Peixoto e Leonor Costa Maia; [escritos]: Pedro da Costa Gadelha Neto... [et al.] – Recife : Ed. Universitária da UFPE, 52p. 2013, Disponível em: <http://inct.florabrasil.net/wp-content/uploads/2013/11/Manual_Herbario.pdf>.

PEIXOTO, A. L.; MORIM, M. P. Coleções botânicas: documentos da biodiversidade brasileira. **Cienc. Culto**. São Paulo, v. 55, n. 3, p.21-24, 2003. Disponível em <<http://www.jstor.org/stable/3179346>>. Acesso em: 18 mar. 2021.

PESQUISA FAPESP. Pelas folhas e raízes. São Paulo: Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo, **Revista Pesquisa Fapesp**, n. 151, p. 52-55, 2008. Disponível em: <<https://revistapesquisa.fapesp.br/pelas-folhas-e-raizes/>>. Acesso em: 01 jul.2020.

PICCININI, S. M.; GRAEFF, L.; MANGAN, P. K. V. Memória social e patrimônio cultural: transmissão de práticas científicas em um herbário brasileiro, **Bol. Mus. Para. Emílio Goeldi. Cienc. Hum.**, Belém, v.11, n. 2, p.521-533, 2016.

PONTA, C. C.; HAVERMANN, J. B. G.; TRAN, Q. K.; CORTELLA, L. Effects of ionizing radiation on materials. In: IAEA: Uses of ionizing radiation for tangible cultural heritage conservation. **Radiation Technology Series**, n. 6, (STI/PUB/1747), Vienna, p.61-91, 2017.

RABELER, R. K.; SVOBODA, H. T.; THIERS, B.; PRATHER, L. A. ; MACKLIN, J. A.; LAGOMARSINO, L. P.; MAJURE, L. C.; FERGUSON, C. J. Herbarium Practices and Ethics, III. St. Louis, EUA: American Society of Plant Taxonomists. **Systematic Botany**, v. 44, n. 1, p.7-13, 2019.

ROCCHETTI, G. A.; ARMSTRONG, C. G.; ABELI, T.; ORSENIGO, S.; JASPER, C.; JOLY, S.; BRUNEAU, A.; ZYTARUK, M.; VAMOSI, J. C. Reversing extinction trends: new uses of (old) herbarium specimens to accelerate conservation action on threatened species. Tansley review. 2020. **New Phytologist** v. 230, p.433-450, 2021.

SALAMONI, A. T. Aulas teóricas e práticas de morfologia vegetal (célula, tecidos e órgãos). Apostila. Universidade Federal de Santa Maria - CESNORS – Frederico Westphalen, Departamento de Engenharia Florestal. 2010.

SANTOS, P. S. *Estudo e otimização dos parâmetros de processamento por radiação gama em escala industrial considerando fatores operacionais*. 2017. 92 p. Dissertação (Mestrado em Tecnologia Nuclear). Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, São Paulo.

SANTOS, P. S.; VASQUEZ, P. A. S. Two-Faces stationary irradiation method and dosimetric considerations for radiation processing at the Multipurpose Gamma Irradiation Facility/ IPEN/CNEN. In: INTERNATIONAL NUCLEAR ATLANTIC CONFERENCE - INAC 2015. 4-9 Oct 2015; 12. ENAN: Meeting on nuclear applications. *Proceedings...* São Paulo: Associação Brasileira de Energia Nuclear – ABEN, 2015.

SECRETARIAT OF THE CONVENTION ON BIOLOGICAL DIVERSITY. *Global Biodiversity Outlook* (GBO-4). Montreal, 155p. 2014.

SEVERIANO, L. C.; LAHR, F. A. R.; BARDI, M. A. G.; SANTOS, A. C.; MACHADO, L. D. B. Influence of gamma radiation on properties of common Brazilian wood species used in artwork. *Prog. Nucl. Energy*, v. 52, n. 8, p.730-734, 2010.

SILVA, M.; MORAES, A. M. L.; NISHIKAWA, M. M.; GATTI, M. J. A.; ALENCAR, M.A.V.; BRANDÃO, L. E.; NÓBREGA, A. Inactivation of fungi from deteriorated paper materials by radiation. *International Biodeterioration & Biodegradation*, v.57, p.163-167, 2006. Disponível em: <www.elsevier.com/locate/ibiod>. Acesso em: 9 mar. 2021.

SILVA, R. C. da; SILVIA, R. M. da.; AQUINO, K. A. S. A Interação da Radiação Gama com a Matéria no Processo de Esterilização. *Rev. Virtual Quim.* v.6, n.6, p.1624-1641, 2014. Disponível em:<http://www.uff.br/rvq>. Acesso em: 18 jan. 2021.

SILVERSTEIN, R. M., BASSLER, G. C., MORRIL, T. C. *Identificação espectrométrica de compostos orgânicos*. 5ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 1994.

Society for Herbarium Curators. *FAQs* [Recurso eletrônico]. 2021. Disponível em: <www.herbariumcurators.org>. Acesso em 10 jan.2021

SOLTIS, P. S.; NELSON, G.; ZARE, A.; MEINEKE, E. K. Plants meet machines: prospects in machine learning for plant biology. *Applications in Plant Sciences*, v. 8(6), 2020.

SOUZA V.C.; LORENZI, H. *Botânica sistemática: guia ilustrado para identificação das famílias de Fanerógamas nativas e exóticas no Brasil*. 3.ed., Nova Odessa: Instituto Plantarum, 768p. 2012.

SPNHC Wiki contributors. *SPNHC Wiki* [Recurso eletrônico]. 2020. Disponível em: <https://spnhc.biowikifarm.net/w/index.php?title=Main_Page&oldid=3768>. Acesso em: 22 fev.2021

STEHMANN, J. R.; MENTZ, L. A.; AGRA, M. F.; VIGNOLI-SILVA, M.; GIACOMIN, L.; RODRIGUES, I. M. C. Solanaceae. *Lista de Espécies da Flora do Brasil* [recurso eletrônico]. Jardim Botânico do Rio de Janeiro, 2015. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB225>>. Acesso em: 5 jan. 2019.

TAUHATA, L; SALATI, I.; DI PRINZIO, R.; DI PRINZIO, A. R.. *Interação da radiação com a matéria* (INIS-BR - 14043). International Atomic Energy Agency (IAEA) – International Nuclear Information System (INIS). 2013. Disponível em: <https://inis.iaea.org/collection/NCLCollectionStore/_Public/45/073/45073468.pdf?r=1>. Acesso em: 15 dez.2020.

THIERS, B.M. *The world's herbaria 2021: a summary report based on data from Index Herbariorum* - a global directory of public herbaria and associated staff. New York, NY, USA: Botanical Garden's Virtual Herbarium. [Recurso eletrônico]. Disponível em: <<http://sweetgum.nybg.org/ih/>>. Acesso em: 20 mar. 2021a.

_____ *Herbaria: collectively Saving Plant and Fungal Biodiversity*. Palestra apresentada no evento Humanistic Uses of Herbaria organizado por New York Botanical Garden em 19 de março de 2021b.

UNITED NATIONS. *Sources and effects of ionizing radiation*. New York: United Nations Scientific Committee on the Effects of Atomic Radiation. UNSCEAR 2008. Report to the general assembly with scientific annexes – v. I. 2010.

VASQUEZ, P. A. S. Disinfection and consolidation of archived materials and cultural heritage artefacts by radiation processing techniques. In: INTERNATIONAL CONFERENCE ON APPLICATIONS OF RADIATION SCIENCE AND TECHNOLOGY (ICARST 2017). 24 a 28 abr. 2017, Vienna, *Programme & Book of Abstracts*, p.139, 2017. Disponível em: <<https://www-pub.iaea.org/MTCD/Meetings/PDFplus/2017/cn249/cn249Programme-BoA.pdf>>.

VIEIRA, A. C. D.; KODAMA, Y.; OTUBO, L.; SANTOS, P. S.; VASQUEZ, P. A.S. Effect of ionizing radiation on the color of featherwork. In: INTERNATIONAL NUCLEAR ATLANTIC CONFERENCE, October 21-25, 2019, Santos, SP. *Proceedings...* Rio de Janeiro: Associação Brasileira de Energia Nuclear, 2019. p. 2662-2676.

WINDISCH, P.G.; LONGHI-WAGNER H.M. Herbários: visão geral, estrutura e manejo. *Caderno de Pesquisa Ser. Bot.*, Santa Cruz do Sul, v. 12, n. 1, p. 7-16, jan./jun. 2000. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/284187135_Herbarios_visao_geral_estrutura_e_manejo>. Acesso em: 26 maio 2020.

X-RITE PANTONE. *Guide to Understanding Color*. 40p. 2016.

YOSHIMURA, E.M. Física das radiações: interação da radiação com a matéria. *Revista Brasileira de Física Médica* v.3, n.1, p.57-67, 2009.

ZAHN, G.S.; GENEZINI, F.A.; SEMMLER, R. *Fundamentos de física nuclear e aplicações. Uma breve introdução aos fenômenos ligados ao núcleo atômico*. Apostila de aula. 2019.

APÊNDICE – MANUAL DE BOAS PRÁTICAS PARA TRATAMENTO DE MATERIAL HERBORIZADO COM USO DA RADIAÇÃO IONIZANTE COM RAIOS GAMA (Co-60)

1 O que é o tratamento de acervos com radiação ionizante

A conservação e preservação das coleções sob a guarda de herbários é um dos grandes desafios dos curadores e responsáveis por acervo único e insubstituível. Nessa tarefa, que requer um monitoramento contínuo e permanente, muitos recursos de descontaminação e desinfestação são utilizados envolvendo aplicação de produtos químicos e métodos físicos e biológicos de controle. A radiação ionizante, tecnologia que já vem sendo utilizada há mais de meio século em países europeus e mais recentemente no Brasil é uma das alternativas seguras na preservação do patrimônio cultural com características diversas (livros, documentos, esculturas, fósseis, coleções de história natural, móveis de madeira, acervos iconográficos entre outros).

O processamento de material com radiação ionizante para fins de descontaminação de microrganismos e eliminação de insetos e pragas é realizado por meio da exposição do material a uma fonte de radiação em uma instalação radiativa. Trata-se de tecnologia segura, com instalações que contam com sistemas intrínsecos de segurança radiológica e procedimentos de proteção, além de equipe técnica/operacional altamente capacitada no uso da tecnologia das radiações.

A radiação ionizante interage com o material rompendo a cadeia de DNA dos microrganismos ali presentes, causando a sua morte ou impossibilita sua reprodução. Porém, a aplicação da radiação no intervalo de doses recomendadas não produz efeitos secundários significativos na estrutura física e química do material processado.

O “Manual de boas práticas para tratamento de material herborizado com uso da radiação ionizante com raios gama (Co-60)” objetiva descrever os procedimentos básicos para orientar os usuários no uso desta tecnologia, ampliando assim sua divulgação como uma alternativa de tratamento biocida.

2 Quais as principais vantagens desta técnica

- a) Alto poder de penetração e eficácia no tratamento contra todo estágio e ciclo de vida dos agentes de contaminação.
- b) Material tratado na própria embalagem ou container, sem necessidade de manipulação.
- c) Não requer quarentena após o processamento no irradiador.
- d) Controles precisos das doses de radiação calculadas e de processo.
- e) Não deixa resíduo tóxico no material e nem provoca toxidade ao meio ambiente.
- f) O material tratado não se torna radioativo nem com contaminação radioativa.
- g) Pode ser aplicado em grandes quantidades de material ao mesmo tempo.
- h) Permite a utilização em artefatos de dimensões grandes (no caso Irradiador Multipropósito do IPEN/CNEN a dimensão máxima é de 3 metros de largura).
- i) Tecnologia certificada e fiscalizada por organismos internacionais (controle da documentação, testes e calibração dos equipamentos e o mapeamento de dose do irradiador e dos produtos).

3 Doses de radiação recomendadas

As doses apropriadas para o tratamento são definidas de acordo com: o agente de contaminação/infestação; o tipo de material e sua densidade; a disposição do material no irradiador e a sua distância com relação às fontes de radiação.

Basicamente, são utilizados dois níveis de doses de radiação para tratamento de acervos de herbário:

- a) Para eliminação de fungos e esporos utiliza-se o intervalo de dose entre 6 e 10 kGy, sendo a dose média de 8 kGy.
- b) Para insetos e pragas (incluindo a erradicação de ovos) a dose recomendada é de 0,5 a 2 kGy.

No caso de ataque fúngico e por insetos simultaneamente, sempre considerar as doses de radiação mais elevadas para garantir que haja a desinfecção completa do material.

Os cálculos dosimétricos são verificados por medições de dosimetria, com instrumentos calibrados e validados dentro de padrões nacionais e internacionais. Dosímetros específicos são fixados em pontos estratégicos do material e suas leituras são realizadas ao final do processamento por radiação.

4 Terminologia

- **Dose absorvida (D):** quantidade de energia absorvida pelo material durante a irradiação.
- **Gray (Gy):** unidade especial de medida de dose absorvida (1Gy equivale a 1 J/kg). Podem ser utilizados múltiplos e submúltiplos, por exemplo, expresso em kGy (kilogray).
- **Dosimetria:** medição da dose absorvida com uso de um sistema dosimétrico, por exemplo, dosímetros a base de PMMA com leitura em espectrofotômetros cuja absorbância relativa é comparada com curvas de calibração prévias.
- **Cobalto 60:** ^{60}Co é um radioisótopo produzido em reatores nucleares e utilizado em fonte selada de radiação gama em irradiadores. Emite radiação gama de 1,17 e 1,33 MeV, energia média 1,25MeV.
- **Raios Gama:** radiação eletromagnética produzida na desintegração de certos núcleos atômicos radioativos.
- **Radiação ionizante:** radiação eletromagnética ou partículas com carga que carregam energia suficiente para arrancar elétrons de átomos ou moléculas.
- **Irradiação:** processo em que um objeto é exposto a um campo de radiação ionizante ocorrendo a transferência de parte da energia deste campo de radiação para o objeto irradiado.
- **Irradiador:** equipamento ou instalação desenvolvido para utilizar radiação ionizante proveniente do decaimento de Co-60 para irradiar materiais.

- **Processamento por radiação:** irradiação realizada com o propósito de preservar, modificar ou consolidar os materiais.
- **Desinfecção:** ação de eliminar os microrganismos como bactérias, parasitas, vírus e fungos em produtos.
- **Desinfestação:** ação voltada à erradicação de insetos e pragas presentes em objetos.
- **Descontaminação:** extermínio de microrganismos do produto (desinfetar).
- **Microrganismos:** são organismos microscópicos, podendo ser multicelular ou unicelular (bactérias, vírus, protozoários, alguns fungos, algas etc)
- **Exsicata:** plantas coletadas para fins de pesquisa, submetidas a tratamento especial (prensadas e desidratadas em estufa).
- **Herbário:** coleção de plantas secas ou de partes destas, que são representativas da flora de uma região, técnica e cientificamente preparadas para estudos futuros.
- **Herborização:** procedimentos de prensagem, secagem e preparação do exemplar botânico.

5 Preparação do acervo para descontaminação

5.1 Seleção e pré-tratamento do material contaminado

Inicialmente será necessário verificar o tipo de biodeterioração, se a causa provém de insetos e pragas ou fungos e bactérias. Essa informação irá subsidiar a decisão com relação à seleção da dose de radiação a ser utilizada (Fig.1).

Figura 1 – Exsicatas em estado crítico de deterioração, com presença de fungos e insetos.



Fonte: autora da dissertação.

O material deve ser separado do restante da coleção em ambiente distinto para evitar contaminação cruzada.

Em caso de inundação ou infiltração que tenha atingido o acervo será necessário reduzir o nível de umidade do material, o que pode ser feito deixando desumidificadores próximos aos exemplares ou com uso de estufas, quando disponíveis (Fig.2).

Figura 2 – Eliminação do excesso de umidade nas exsicatas com utilização de estufas, antes do processamento no irradiador.



Fonte: autora da dissertação.

5.2 Acondicionamento e identificação do material

O acervo deverá ser acondicionado preferencialmente em caixas de papelão, podendo ser utilizado também caixas de polietileno. O conteúdo acondicionado dentro de embalagens deve ser distribuído de maneira homogênea em termos de massa no interior das caixas (caixas incompletas devem ser evitadas). As embalagens deverão ser fechadas com fitas adesivas de boa qualidade ou grampos resistentes para garantir a segurança no manuseio. Todas as caixas deverão estar etiquetadas com identificação do tipo de material, quantidade em unidades (p.ex. exsicatas), nome da instituição ou herbário, local de procedência, nome do responsável e telefone para contato (Fig. 3). Atentar para quantidade de material a ser colocado em cada caixa, para que o seu peso fique em torno de 15 a 20 kg, para não dificultar o procedimento de acondicionamento no interior da câmara de irradiação e, também, para não causar dano durante o empilhamento do material dentro do irradiador.

Figura 3 – Acondicionamento das exsicatas em caixas de papelão resistente com etiqueta de identificação. Na imagem à direita, o adesivo laranja na etiqueta indica o material já irradiado.



Fonte: autora da dissertação.

A quantidade do material a ser tratado deverá ser dimensionada em unidades e caixas. Definir junto ao fornecedor dos serviços de irradiação, o número de lotes que serão processados considerando a dimensão e a capacidade de processamento do irradiador (Fig. 4).

Figura 4 – Lotes dimensionados conforme a capacidade de processamento do irradiador.



Fonte: autora da dissertação.

Um formulário preenchido com as informações sobre a coleção a ser descontaminada deverá acompanhar a entrega. Deverá conter breve descrição do tipo de material, quantidade, agente contaminante (fungo ou inseto), número de lotes total que serão enviados, instituição ou herbário, pessoa responsável e telefone para contato.

5.3 Logística e transporte

O material botânico contaminado deve ser transportado até o fornecedor em veículo fechado e com as embalagens dispostas de maneira que permaneçam estáveis durante todo o trajeto. As condições de limpeza do veículo devem estar adequadas tanto na entrega do material no Irradiador como na sua retirada, a fim de assegurar a não contaminação durante o transporte (Fig. 5).

Figura 5 – Ambiente do fornecedor (irradiador) com espaço amplo, seguro e organizado.



Fonte: autora da dissertação.

O fornecedor dos serviços de irradiação irá receber o material e registrar a sua entrada e ordem de serviço. O material a ser tratado deverá ser conferido e registrado. As quantidades de caixas e condição das embalagens devem ser cuidadosamente verificadas. Caso seja observada alguma irregularidade, o cliente será avisado sobre a situação observada no recebimento.

O material entregue deve ser armazenado em local seguro, organizado e que possibilite a segregação do material tratado daquele a ser processado no irradiador (Fig.6).

As datas de entrega e retirada do material devem ser rigorosamente seguidas por ambos.

Figura 6 – Ambiente do fornecedor (irradiador) com espaço amplo, seguro e organizado.



Fonte: autora da dissertação.

6 Higienização após o processamento por radiação na instituição de origem

As superfícies dos materiais devem ser limpas após a irradiação, pois permanecem no substrato os resíduos de fungos e microrganismos que podem causar alergias ou outras doenças nas pessoas que manuseiam a coleção. Além disso, esses resíduos podem servir de alimento, que atraem outros insetos e pode provocar nova contaminação.

7 Armazenamento

Informar na etiqueta das exsicatas que receberam o tratamento, o fornecedor do serviço, a data do processamento e a dose de radiação absorvida utilizada.

O material irradiado não deve ser recolocado no mesmo local de origem, sem que haja a devida descontaminação do local, sob o risco de ser novamente atingido pelos agentes contaminantes. As áreas que receberão as coleções tratadas devem ser cuidadosamente limpas e sanitizadas. Devem ser realizados monitoramentos constantes, com objetivo de detectar o aparecimento de novos contaminantes.

8 Documentação

A instituição responsável pela coleção poderá solicitar um certificado de tratamento a ser emitido pelo fornecedor dos serviços de irradiação, contendo a data do processamento, dose de radiação e sistema dosimétrico utilizados e o responsável pela execução dos serviços.

INSTITUTO DE PESQUISAS ENERGÉTICAS E NUCLEARES
Diretoria de Pesquisa, Desenvolvimento e Ensino
Av. Prof. Lineu Prestes, 2242 – Cidade Universitária CEP: 05508-000
Fone/Fax (0xx11) 2810-5553
SÃO PAULO – São Paulo – Brasil
<http://www.ipen.br>

O IPEN é uma Autarquia vinculada à Secretaria de Desenvolvimento, associada à Universidade de São Paulo e gerida técnica e administrativamente pela Comissão Nacional de Energia Nuclear, órgão do Ministério da Ciência, Tecnologia, Inovações e Comunicações.
