

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
Curso de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos
Área de Bromatologia

AVALIAÇÃO DOS EFEITOS DA RADIAÇÃO IONIZANTE DE ^{60}Co EM PROPRIEDADES FÍSICAS, QUÍMICAS E NUTRICIONAIS DOS FEIJÕES *Phaseolus vulgaris L.* e *Vigna unguiculata (L.) Walp.*

ANNA LUCIA CASAÑAS HAASIS VILLAVICENCIO

Tese para obtenção do grau de
Doutor

Orientador:
Prof. Titular *Jorge Mancini-Filho*

São Paulo

1998

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
Curso de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos
Área de Bromatologia

AVALIAÇÃO DOS EFEITOS DA RADIAÇÃO IONIZANTE DE ^{60}Co EM PROPRIEDADES FÍSICAS, QUÍMICAS E NUTRICIONAIS DOS FEIJÕES *Phaseolus vulgaris L.* e *Vigna unguiculata (L.) Walp.*

ANNA LUCIA CASAÑAS HAASIS VILLAVICENCIO

Tese para obtenção do grau de **Doutor**

Orientador:

Prof. Titular ***Jorge Mancini-Filho***

São Paulo

1998



Ficha Catalográfica
Elaborada pela Divisão de Biblioteca e
Documentação do Conjunto das Químicas da USP.

V727a Villavicencio, Anna Lucia Casañas Haasis
Avaliação dos efeitos da radiação ionizante de ^{60}Co em propriedades físicas, químicas e nutricionais dos feijões *Phaseolus vulgaris* L. e *Vigna unguiculata* (L.) Walp / Anna Lucia Casañas Haasis Villavicencio. -- São Paulo, 1998.
138p.

Tese (doutorado) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo. Departamento de Alimentos e Nutrição Experimental.
Orientador: Mancini Filho, Jorge

I. Feijão (*Phaseolus vulgaris*): Valor nutritivo : Ciência dos alimentos I.
T. II. Mancini Filho, Jorge, orientador.

641.35652 CDD

AGRADECIMENTOS

Agradecemos a todos aqueles que, direta ou indiretamente contribuíram para que fosse possível a realização do presente trabalho e particularmente:

*Ao Prof. Titular Dr. Jorge Mancini-Filho,
pela orientação, amizade, apoio e incentivos constantes durante esta jornada na Universidade.*

*Ao Prof. Dr. Henry Delincée,
pela preciosa co-orientação, ensinamentos, estímulo, amizade, paciência e oportunidade que nos deu para executarmos este trabalho junto ao Instituto de Fisiologia Nutricional do "Federal Research Centre for Nutrition", Karlsruhe, Alemanha.*

*Ao Prof. livre-docente Dr. Frederico Maximiliano Wiendl,
pelos incentivos, amizade e conselhos durante anos de pesquisa.*

*Ao Prof. Dr. Ralf Greiner,
pela valiosa amizade e colaboração nas análises de fitatos, taninos e fenólicos no Centro de Biologia Molecular do "Federal Research Centre for Nutrition", Karlsruhe, Alemanha.*

*Ao Prof. Dr. Antal Bognár,
pela prestimosa colaboração nas análises das vitaminas, desenvolvidas no Instituto de Química e Biologia do "Federal Research Centre for Nutrition", Stuttgart (Hohenheim), Alemanha.*

*Ao Prof. Dr. Gerhard Rechkemmer,
Diretor do Instituto de Fisiologia Nutricional, em Leopoldshafen, pelo apoio e cooperação institucional durante nossa estadia na Alemanha.*

*Ao Dr. José de Tadeu Faria,
Diretor do Departamento de Defesa e Inspeção Sanitária, do Ministério da Agricultura e do Abastecimento, pela gentileza da inspeção dos feijões quando enviados para a Alemanha.*

*Ao Dr. Antonio Carlos de Oliveira Barroso,
Diretor da Diretoria de Pesquisa e Desenvolvimento da Comissão Nacional de Energia Nuclear, pelo incentivo e apoio ao nosso estágio na Alemanha.*

Aos Drs. **Jürgen Ammon & Michael Hartmann**,

pela valiosa colaboração nas análises cromatográficas dos hidrocarbonetos, no Instituto de Química do "Chemische Landesuntersuchungsanstalt", Karlsruhe, Alemanha.

Ao Eng. **Paulo Roberto Relá**,

ex-diretor da Gerência de Desenvolvimento de Produtos e Serviços, pelo interesse manifestado na evolução dos trabalhos de pesquisa que constituem o objetivo desta tese, incentivo e apoio aos nossos estudos na Alemanha.

À Dra. **Nélida Lucia Del Mastro**,

pela constante amizade, conselhos e ensinamentos.

À Dra. **Olivia Kimiko Kikuchi**,

pela colaboração na execução da microscopia, amizade e paciência durante todos estes anos.

À Comissão de Energia Nuclear (CNEN), Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares (IPEN),

pela chance e apoio oferecidos à minha formação profissional.

À Agência Internacional de Energia Atômica (IAEA),

pelo auxílio financeiro, durante o desenvolvimento prático deste trabalho.

Ao grande exército de técnicos que me ajudaram a executar este trabalho,

nas pessoas de **Sigrid Delincée, Michael Kraut, Monika Menzler, Ute Stadler-Prayle, Michael Knörr, Annelise Wachs, Edith Haller, Sieglinde Felleisen, Esther Rietschle, Ingrid Nerz, Sepp Dieterich**, e demais colegas alemães, que gentilmente me auxiliaram nas mais diversas fases da execução deste trabalho.

Aos colegas do Departamento TE do IPEN,

pelo incentivo e colaboração durante estes anos.

Aos colegas do Departamento de Alimentos e Nutrição experimental da FCF, USP.,

pelo apoio constante.

*A um certo "Anjo", que me orienta e protege de longe,
sem medir esforços, sem nunca se cansar, ou deixar
de acreditar, que me acompanha e ilumina ao longo
de todos estes anos.*

*Aos meus filhos, Fernanda Luisa e João Marcelo,
pelo constante amor e alegria em minha vida.*

ÍNDICE

RESUMO	i
SUMMARY	ii
LISTA DE FIGURAS	iii
LISTA DE QUADROS	vi
LISTA DE TABELAS	vii
1. INTRODUÇÃO	01
2. OBJETIVOS	02
3. REVISÃO DA LITERATURA	03
3.1 Feijões	03
3.1.1 Compostos fenólicos	04
3.1.2 Compostos fosfatados	06
3.1.3 Processamento	08
3.2 Irradiação de alimentos	11
3.2.1 Alterações dos alimentos induzidas pela radiação ionizante	13
3.2.2 Aplicações das radiações em alimentos	15
3.2.3 Normas para irradiação de alimentos	19

3.3	Valor nutricional dos alimentos irradiados	23
3.4	Deteccção de alimentos irradiados	26
3.4.1	Métodos para deteccção de alimentos irradiados	28
4.	MATERIAIS E MÉTODOS	37
4.1	Amostras	37
4.2	Irradiações	37
4.3	Determinação do tempo de cocção	38
4.4	Análise sensorial	39
4.5	Ensaio biológico	40
4.5.1	Animais	40
4.5.2	Prepação das rações	41
4.6	Determinação dos compostos fenólicos	42
4.6.1	Fenólicos totais	42
4.6.2	Determinação de taninos	43
4.7	Determinação dos diferentes inositois fosfato	43
4.8	Análise química de vitaminas B₁, B₂ e B₆	44
4.9	Determinação do conteúdo protéico	45
4.10	Métodos de deteccção de irradiação	46

4.10.1	Teste de germinação "half embryo test"	46
4.10.2	Teste do DNA	47
4.10.3	Análise por termoluminescência	50
4.10.4	Análise por cromatografia gasosa	51
4.11	Análise estatística	52
5.	RESULTADOS E DISCUSSÃO	53
5.1	Análise do tempo de cocção	53
5.2	Análise das características sensoriais	56
5.3	Determinação dos compostos fenólicos	58
5.3.1	Análise dos fenólicos totais	58
5.3.2	Análise dos taninos	61
5.4	Análise das diferentes frações de inositolis fosfatos	63
5.5	Análise do conteúdo de vitaminas	69
5.5.1	Vitamina B ₁ - Tiamina	69
5.5.2	Vitamina B ₂ - Riboflavina	72
5.5.3	Vitamina B ₆	74
5.6	Análise da quantidade protéica	78
5.7	Ensáio biológico	80
5.8	Métodos de detecção de alimentos irradiados	83

5.8.1	Germinação - "half embryo test"	84
5.8.2	Análise dos fragmentos de DNA - "Comet Assay"	96
5.8.3	Análise dos minerais que contém sílica por termoluminescência	101
5.8.4	Análise dos hidrocarbonetos por cromatografia gasosa	109
6.	RESUMO DOS RESULTADOS	114
7.	CONCLUSÕES	116
8.	ANEXOS	117
9.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	119

RESUMO

Foram estudados os efeitos da radiação ionizante de ^{60}Co nas doses de 0; 0,5; 1,0; 2,5; 5,0 e 10 kGy e do período de estocagem de 6 meses nos feijões, *Phaseolus vulgaris* L., variedade carioca e *Vigna unguiculata* (L.) Walp, variedade macaçar. Determinou-se o tempo de cocção, seguido das análises: sensorial, vitaminas B₁, B₂ e B₆, quantidade protéica, avaliação biológica em ratos [Consumo Alimentar (CA) e Ganho de Peso (GP) em gramas, Digestibilidade aparente (D_a), Utilização Protéica Líquida aparente (NPU_a) e Valor Biológico aparente (VB_a)] e a aplicabilidade de métodos de detecção de alimentos irradiados com testes de germinação, análise da migração do DNA, termoluminescência e análise dos hidrocarbonetos formados pela radiação.

Mudanças no tempo de cocção foram observadas em todas as doses. Quando aplicadas doses até 1 kGy, não houve modificação das qualidades nutricionais dos feijões processados por radiação. A aplicação dos métodos de detecção de alimentos irradiados propostos, possibilitaram a detecção dos feijões irradiados com doses baixas de até 0,5 kGy.

SUMMARY

The effects of ^{60}Co ionizing radiations in doses of 0; 0.5; 1.5; 2.5; 5.0 and 10 kGy on beans, *Phaseolus vulgaris L.*, of the carioca variety and *Vigna unguiculata (L.) Walp.*, of the macaçar variety stored for 6 months were studied.

The cooking time was established, and then the following analyses were carried out: Sensory, vitamins B₁, B₂ and B₆, protein content, biological evaluation in rats [Food intake and Weight gain (in grams), apparent Digestibility (Dapp), apparent Net Protein Utilization (NPUapp) and apparent Biological Value (BVapp)], as well as the applicability of detection methods of irradiated foodstuffs through germination tests, the analysis of DNA migration, thermoluminescence and analysis of the carbohydrates formed by radiation.

Changes in the cooking time were observed for all doses. In doses up to 1 kGy, the nutritional quality of the irradiated beans were not altered. The application of the proposed detection methods of the irradiated foodstuffs allowed the detection of irradiated beans with doses as low as 0.5 kGy.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1.	Símbolo Radura.	20
Figura 2.	Esquema de medida do "half embryo test" do broto e da raiz.	46
Figura 3.	Medidas do deslocamento do DNA.	48
Figura 4.	Efeito da dose de radiação sobre o tempo de cocção após 6 meses de estocagem (feijão carioca).	55
Figura 5.	Efeito da dose de radiação sobre o tempo de cocção após 6 meses de estocagem (feijão macaçar).	55
Figura 6.	Efeito da irradiação sobre o conteúdo de tiamina nas duas variedades estudadas.	71
Figura 7.	Efeito da irradiação sobre o conteúdo de Riboflavina nas duas variedades estudadas.	73
Figura 8.	Efeito da irradiação sobre as frações da vitamina B ₆ no feijão carioca.	76
Figura 9.	Efeito da irradiação sobre as frações da vitamina B ₆ no feijão macaçar.	76
Figura 10.	Influência da irradiação sobre o crescimento das raízes das duas variedades de feijões (Raiz 24 horas, 1 dia após irradiação).	86
Figura 10a.	Influência da irradiação sobre o crescimento das raízes das duas variedades de feijões (Raiz 72 horas, 1 dia após irradiação). ...	86
Figura 11.	Influência da irradiação sobre o crescimento das raízes das duas variedades de feijões (Raiz 24 horas, 6 meses após irradiação).	86
Figura 11a.	Influência da irradiação sobre o crescimento das raízes das duas variedades de feijões (Raiz 72 horas, 6 meses após irradiação).	89
Figura 12.	Influência da irradiação sobre o crescimento das folhas nas duas variedades de feijões (Folhas 24 horas, 1 dia após irradiação).	91

Figura 12a.	Influência da irradiação sobre o crescimento das folhas nas duas variedades de feijões (Folha 72 horas, 1 dia após irradiação).	92
Figura 13.	Influência da irradiação sobre o crescimento das folhas nas duas variedades de feijões (Folhas 24 horas, 6 meses após irradiação).	94
Figura 13a.	Influência da irradiação sobre o crescimento das folhas nas duas variedades de feijões (Folhas 72 horas, 6 meses após irradiação).	95
Figura 14.	Porcentagem de células nos feijões não irradiados.	98
Figura 15.	Porcentagem de células nos feijões que receberam a dose de 1 kGy.	99
Figura 16.	Porcentagem de células nos feijões que receberam a dose de 10 kGy.	99
Figura 17.	Comparação do espectro da leitura da amostra controle com a curva resposta da re-irradiação com 1 kGy.	103
Figura 18.	Comparação do espectro da leitura da amostra 0,5 kGy com a curva resposta da re-irradiação com 1 kGy.	104
Figura 19.	Comparação do espectro da leitura da amostra 1 kGy com a curva resposta da re-irradiação com 1 kGy.	104
Figura 20.	Comparação do espectro da leitura da amostra 5 kGy com a curva resposta da re-irradiação com 1 kGy.	105
Figura 21.	Comparação do espectro da leitura da amostra controle com a curva resposta da re-irradiação com 0,5 kGy.	105
Figura 22.	Comparação do espectro da leitura da amostra 0,5 kGy com a curva resposta da re-irradiação com 0,5 kGy.	106
Figura 23.	Comparação do espectro da leitura da amostra 1 kGy com a curva resposta da re-irradiação com 0,5 kGy.	106
Figura 24.	Comparação do espectro da leitura da amostra 5 kGy com a curva resposta da re-irradiação com 0,5 kGy.	107

- Figura 25.** Hidrocarbonetos formados após a irradiação no feijão carioca.
..... 113
- Figura 26.** Hidrocarbonetos formados após a irradiação no feijão macaçar.
..... 113

LISTA DE QUADROS

Quadro 1.	Tecnologias atuais utilizadas em processos alimentícios.	9
Quadro 2.	Taxas de perdas.	10
Quadro 3.	Aplicações da radiação em produtos alimentícios (Delincée, 1997).	16
Quadro 4.	Comparação das aplicações, limitações e os diferentes tratamentos.	18
Quadro 5.	Alimentos autorizados para serem irradiados no Brasil conforme portaria DINAL No. 30 (D.O.U).	22
Quadro 6.	Métodos Físicos.	29
Quadro 7.	Métodos Químicos.	30
Quadro 8.	Métodos Biológicos.	30
Quadro 9.	Métodos promissores para uso em detecção de alimentos irradiados (Delincée, 1997).	31
Quadro 10.	Métodos de detecção de alimentos irradiados.	36
Quadro 11.	Parâmetros utilizados na determinação do tempo de cocção dos feijões.	38
Quadro 12.	Atributos de qualidade sensorial na avaliação do grau de cozimento.	39

LISTA DE TABELAS

Tabela 1.	Composição da dieta Feijão macaçar.	41
Tabela 2.	Composição da dieta Feijão carioca.	42
Tabela 3.	Efeito da dose de radiação sobre o tempo de cocção dos feijões após a irradiação.	54
Tabela 4.	Avaliação das características sensoriais dos feijões carioca e macaçar irradiados e estocados por 6 meses.	57
Tabela 5.	Efeito de diferentes doses de radiação no conteúdo total de fenólicos nas duas variedades de feijões.	59
Tabela 6.	Efeito de diferentes doses de radiação no conteúdo total de Taninos nas duas variedades de feijões.	61
Tabela 7.	Efeitos da irradiação sobre as diferentes frações do fosfato de inositol do feijão carioca.	64
Tabela 8.	Efeitos da irradiação sobre as diferentes frações do fosfato de inositol do feijão macaçar.	66
Tabela 9.	Efeitos da irradiação sobre a atividade da fitase nas duas variedades de feijão.	68
Tabela 10.	Efeito da dose de radiação e do tempo de cozimento sobre o conteúdo de vitamina B ₁ (Tiamina), nos feijões carioca e macaçar.	70
Tabela 11.	Efeito da dose de radiação e do tempo de cozimento sobre o conteúdo de vitamina B ₂ (Riboflavina), nos feijões carioca e macaçar.	72
Tabela 12.	Efeito da dose de radiação e estocagem no conteúdo de vitamina B ₆ das duas variedades estudadas.	75
Tabela 13.	Influência da irradiação sobre a porcentagem de proteínas das duas variedades estudadas.	79
Tabela 14.	Efeitos da irradiação no valor protéico dos feijões carioca e macaçar. Consumo Alimentar (CA) e Ganho de Peso (GP) em gramas, Digestibilidade aparente (D _a), Utilização Protéica Líquida aparente (NPU _a) e Valor Biológico aparente (VB _a). .	81

Tabela 15.	Avaliação do crescimento das raízes das duas variedades de feijões após a irradiação "half-embryo test".	85
Tabela 16.	Avaliação do crescimento das raízes nas duas variedades de feijões após 6 meses de irradiação.	87
Tabela 17.	Avaliação do crescimento das folhas nas duas variedades de feijões após a irradiação "half-embryo test".	90
Tabela 18.	Avaliação do crescimento das folhas nas duas variedades de feijões após 6 meses de irradiação.	93
Tabela 19.	Análise do DNA pelo "Comet Assay" das alterações ocorridas nas duas variedades irradiadas com diferentes doses.	97
Tabela 20.	Curva da TL nos intervalos de temperatura de (70-500°C) e (170-246°C) nos minerais aderidos aos feijões carioca.	102
Tabela 21.	Hidrocarbonetos derivados da radiólise dos ácidos graxos.	109
Tabela 22.	Composição dos ácidos graxos das variedades estudadas.	110
Tabela 23.	Formação de hidrocarbonetos pela irradiação nos feijões carioca e macaçar.	111

Tabela 15.	Avaliação do crescimento das raízes das duas variedades de feijões após a irradiação "half-embryo test".	85
Tabela 16.	Avaliação do crescimento das raízes nas duas variedades de feijões após 6 meses de irradiação.	87
Tabela 17.	Avaliação do crescimento das folhas nas duas variedades de feijões após a irradiação "half-embryo test".	90
Tabela 18.	Avaliação do crescimento das folhas nas duas variedades de feijões após 6 meses de irradiação.	93
Tabela 19.	Análise do DNA pelo "Comet Assay" das alterações ocorridas nas duas variedades irradiadas com diferentes doses.	97
Tabela 20.	Curva da TL nos intervalos de temperatura de (70-500°C) e (170-246°C) nos minerais aderidos aos feijões carioca.	102
Tabela 21.	Hidrocarbonetos derivados da radiólise dos ácidos graxos.	109
Tabela 22.	Composição dos ácidos graxos das variedades estudadas.	110
Tabela 23.	Formação de hidrocarbonetos pela irradiação nos feijões carioca e macaçar.	111

1. INTRODUÇÃO

As necessidades mundiais de alimentos seguem aumentando e os problemas, advindos da demanda de estruturas adequadas de armazenagem e processamento, nos obrigam a buscar novos métodos de preservação. Nesta época de grandes transformações, a aplicação da radiação ionizante, com o propósito de preservar e desinfestar grãos como o feijão, surge como uma prática promissora, utilizada para estender a vida de prateleira e reduzir as perdas das safras, durante a armazenagem do produto. A irradiação é utilizada como um método de preservação dos alimentos, tanto "in natura", como os processados industrialmente.

Os feijões, particularmente os *Phaseolus vulgaris L.*, variedade carioca e *Vigna unguiculata (L.) Walp.*, variedade macaçar, são importantes fontes protéicas para a população no Brasil. Entretanto, ocorrem altas perdas destes grãos a cada colheita, por infestação. Para combater estas perdas, o processo da irradiação dos feijões é uma alternativa mais atrativa e saudável, comparado aos tratamentos químicos. Resultados conflitantes sobre o efeito da radiação no valor biológico das proteínas e vitaminas do complexo B foram temas de recomendações do comitê misto entre a Organização das Nações Unidas para a Agricultura e a Alimentação (FAO), Organismo Internacional de Energia Atômica (OIEA) e Organização Mundial de Saúde (OMS) em Genebra (1981), que propuseram o esclarecimento sobre a qualidade nutricional dos feijões, com o tratamento por radiação, pela importância desse alimento básico em muitos países.

Alimentos irradiados começam agora a ser uma realidade em diversos países. Para controlar esse tipo de processamento, é aconselhável, não somente confiar no controle administrativo dos irradiadores licenciados e nos certificados de alimentos irradiados, mas também empregar métodos que

permitam detectar o tratamento por irradiação diretamente no alimento. Desta forma, em dezembro de 1988, delegados de cerca de 60 países se reuniram em Genebra, na conferência de aceitação, controle e comércio de alimentos irradiados, juntamente com representantes da FAO/OMS entre outros, e concluíram pela necessidade de métodos e procedimentos-padrões que poderiam detectar se o alimento foi irradiado ou não.

2. OBJETIVOS

Com a perspectiva de se ter mais informações relativas à irradiação de alimentos e considerando a importância dos feijões para a população brasileira, este trabalho teve dois objetivos. O primeiro, é o de se estudar os efeitos da radiação gama em propriedades físicas, químicas e nutricionais de duas variedades de feijão, *Phaseolus vulgaris* variedade carioca e *Vigna unguiculata* (L.) Walp variedade macaçar, submetidas a diversas doses. Os seguintes parâmetros serão avaliados: Tempo de cocção; características sensoriais; concentração de taninos e fenólicos; concentração de fitatos; conteúdo das vitaminas B₁, B₂ e B₆ e as características nutricionais. O segundo objetivo, é o de se estudar a aplicabilidade de novos métodos de detecção de alimentos irradiados, utilizando-se os seguintes métodos: Teste de germinação (half-embryo test); teste do DNA (Comet Assay); termoluminescência e cromatografia gasosa.

3. REVISÃO DA LITERATURA

3.1. Feijões

No Brasil, duas espécies de leguminosas têm um papel importantíssimo no suprimento de proteína vegetal para a população, com seu cultivo e consumo bastante regionalizados: O caupi, *Vigna unguiculata* (L.) Walp., também conhecido como feijão-do-Norte, feijão de corda, macaçar e outros nomes; e o feijão-comum, *Phaseolus vulgaris* L., que representa 70% da produção brasileira de leguminosas, excetuando-se a soja, e é largamente consumido nos estados do Centro e do Sul do Brasil (Lam-Sanches *et al.*, 1990).

Nas últimas décadas, entretanto, o Brasil vem apresentando grandes oscilações no consumo *per capita* de feijão em face às novas alternativas no preparo dos alimentos (Embrapa, 1997). Ademais, o feijão é muito sensível a alterações pós-colheita, no que se refere à sua qualidade de cocção e palatabilidade e, ao ser armazenado por mais de dois meses, os grãos tornam-se escurecidos e de cocção mais difícil (Mancini-Filho, 1990; Nascimento, 1992; Cunha, 1992; Embrapa, 1997). Em países tropicais, a estocagem de feijões sob condições adversas de temperatura e umidade os torna mais susceptíveis aos fenômenos do endurecimento. Desta forma, os feijões com as características do endurecimento são menos aceitos pelos consumidores e possuem menor valor nutritivo (Sgarbieri & Whitaker, 1982; Bressani, 1985; Embrapa, 1997). Em contrapartida, os feijões crus contêm substâncias tóxicas e antinutricionais, tais como os polifenóis, fitatos, inibidores enzimáticos e lecitinas que devem ser retirados ou eliminados para sua efetiva utilização (Mancini-Filho, 1990; Martin-Cabrejas, 1997). Assim sendo, das etapas de preparo do feijão, o cozimento é o mais importante, já que ele é responsável pela inativação dos elementos antinutricionais e assegura ao produto a textura, o sabor, o aroma e a coloração necessários para que o grão

possa ser aceito na dieta humana (Embrapa, 1997; Carmona *et al.*, 1996; Frühbeck, G. *et al.*, 1995).

Considerados como importante fonte protéica na dieta alimentar brasileira (Mancini-Filho, 1990), fornecendo cerca de 20 a 25 % de proteína vegetal (Bobbio, 1992), os feijões são também citados por nutricionistas como importante fonte de ferro e fibras nas dietas alimentares mundiais (Morrow, 1991; Silva & Sgarbieri, 1996). Destacam-se também pelos efeitos benéficos na saúde dos humanos por serem uma excelente fonte de carboidratos e de ácidos graxos poliinsaturados (Martin-Cabrejas, 1997), além de serem considerados como fonte de fósforo (Mancini-Filho, 1990).

Muitas das populações do mundo recorrem aos feijões como matéria-prima alimentícia, particularmente em combinação com cereais. Assim, os feijões são usados nas dietas por causa de seus benefícios nutricionais e por serem uma fonte protéica de baixo custo (Carmona *et al.*, 1996; Gustafsson & Sandberg, 1995).

3.1.1 Compostos fenólicos

Segundo O'Dell (1984), a biodisponibilidade é definida como a proporção dos nutrientes totais nos alimentos e dietas utilizados em funções do organismo. Muitos fatores, incluindo fitatos e taninos, podem contribuir para a baixa biodisponibilidade de ferro em feijões (Ummadi *et al.*, 1995). Segundo o "Swedish National Food Administration", citado por Gustafsson & Sandberg (1995), o conteúdo de ferro nos feijões marrons (*Phaseolus vulgaris L.*) é muito alto (5mg/100 g de feijão seco). Certos compostos fenólicos tem o poder de inibir a absorção de ferro (Gustafsson & Sandberg, 1995), assim sendo, os taninos encontrados principalmente na casca das sementes constituem outro

fator que tem sido sugerido como responsável pela baixa biodisponibilidade de ferro em feijões (Ummadi, 1995). Citam -se também os compostos fenólicos como potentes antioxidantes (Richard-Forget *et al.*, 1995). Os taninos também vêm despertando considerável atenção por possíveis influências nas qualidades estéticas e nutricionais dos alimentos (Guzmán-Maldonado *et al.*, 1996).

A química dos taninos é complexa e não uniforme. Os taninos podem ser divididos em dois grupos: a) Derivados de flavonoides, também chamados de taninos não condensados e, b) taninos hidrolisáveis (o grupo mais importante) os quais são ésteres de um açúcar, usualmente a glicose, com um ou mais ácidos trihidroxibenzenocarboxílicos. Estão amplamente distribuídos em plantas, são substâncias não cristalinas, de cores que podem variar do branco ao marron claro e que formam com água soluções coloidais de sabor adstringente. Têm a propriedade de precipitar proteínas e vários alcalóides em solução, e com ions férricos dão soluções preto-azuladas. Quimicamente são classificados em dois grupos, porém os de maior quantidade e importância em alimentos são os denominados taninos condensados, com estrutura química básica relacionada à estrutura da catequina, descrita pela primeira vez por Runge em 1821 (Bobbio & Bobbio, 1992).

Sendo os taninos um dos principais representantes dos polifenóis encontrados nos feijões e suas folhagens (Aletor *et al.*, 1994; Makkar *et al.*, 1996), solúveis em água e com peso molecular na faixa de 500 a 3.000 daltons, reagem com proteínas através de ligações de hidrogênio, ligações iônicas ou covalentes, formando um complexo fenólico-protéico. Os taninos dos feijões, localizados principalmente na casca do grão, são formados a partir da polimerização de compostos fenólicos e são caracterizados como não hidrolisáveis, pois não são encontradas moléculas de glicose, após incubação sob condições de hidrólise (Mancini-Filho, 1990).

3.1.2 Compostos fosfatados

A importância dos compostos fosfatados em feijões tem sido bastante enfatizada na literatura (Nascimento, 1992). A presença de fitatos numa dieta pode não somente reduzir a disponibilidade aparente do fósforo total, mas contribuir para sua capacidade de formar complexos insolúveis, reduzindo também a disponibilidade nutricional de outros elementos traços e macro elementos (Griffiths, 1982). Fitatos formam complexos com Zn^{2+} , Fe^{2+} , Fe^{3+} , Ca^{2+} , Mg^{2+} e também podem ligar-se a proteínas (Mancini-Filho, 1990), diminuindo, desta forma, a biodisponibilidade nutricional de importantes minerais e proteínas (Greiner, 1993). Por causa de suas fortes propriedades quelantes, o fitato é visto como um fator antinutritivo (Greiner & Jany, 1996). Em monogástricos, inclusive o ser humano, faltam enzimas de degradação de fitatos. A molécula do fitato é carregada negativamente em pH fisiológico e se quela com outros elementos minerais, tornando-os não disponíveis para a absorção (Gustafsson & Sandberg, 1995).

Fitato, o sal do ácido fítico, mioinositol hexafosfato (IP6) (Greiner, 1993), ocorre naturalmente nas plantas, constituindo a maior porção de fósforo total nas sementes. Pode também interagir com resíduos básicos de proteínas, inibindo as enzimas digestivas (Burbano, 1995). O ácido fítico reduz a disponibilidade de minerais por formar complexos e os polifenóis são conhecidos por inibir a atividade proteolítica das enzimas, reduzindo assim a digestibilidade protéica (Martin-Cabrejas, 1997). Os fitatos identificados como inibidores da biodisponibilidade de ferro, têm sido estimados em feijões e cereais (Frühbeck, G. *et al.* 1995). Durante o processamento dos alimentos, envolvendo tratamento por calor, os fitatos naturais das plantas são degradados a formas menores de inositol fosfatos, os quais têm sido reportados como indutores do aumento da solubilidade do ferro através da formação de pequenos complexos de ferro solúveis (Ummadi, 1995).

Apesar de complexar minerais essenciais e os restituir pobremente disponíveis aos animais monogástricos, o fitato, por causa de suas propriedades quelantes, têm sido usado com sucesso para prevenir a formação de cálculos renais (Frühbeck, G. *et al.*, 1995). Os compostos inositol, também foram encontrados, desenvolvendo um importante papel como mensageiros secundários em sinais intracelulares de sistemas de transdução (Berridge & Irvine, 1989) e também exibem efeitos positivos, na redução da incidência de câncer de colon; redução nos níveis de colesterol, redução de cáries e redução da incidência de pedras nos rins, através da redução da concentração de Ca^{2+} livre (Greiner, 1993; Sakamoto *et al.*, 1993).

A enzima responsável pela catálise hidrolítica do fitato é a fitase, que produz menores mioinositol fosfatos e o ácido fosfórico na razão de 1:6 (Greiner, 1993). Segundo Mancini-Filho (1990), Eskin & wiebe, em 1983, demonstraram a presença de fitase principalmente em sementes sob germinação. Assim como, Batnik & Szafranska (1987) verificaram mudanças no conteúdo de fitato e atividade da fitase durante a germinação de alguns cereais. Fitases estão sempre presentes nos germes, mas durante a germinação, encontram-se em uma quantidade maior (Konietzny *et al.*, 1995). Durante a estocagem, fermentação, germinação, processamento dos alimentos ou mesmo na digestão de seres humanos, as fitases hidrolisam o fitato a mioinositol e fosfato inorgânico, via mioinositol fosfato intermediários (Gustafsson & Sandberg, 1995), formando as frações menores de inositol fosfatos, tais como o inositol penta-fosfato (IP5), inositol tetra-fosfato (IP4), inositol tri-fosfato (IP3), inositol di-fosfato (IP2), inositol mono-fosfato (IP1). Somente IP6 e IP5, tem um efeito negativo na biodisponibilidade dos minerais, os outros produtos hidroliticamente formados têm pouca capacidade de se ligarem a minerais ou a complexos formados, sendo assim, mais solúveis (Sandberg *et al.*, 1989).

As fitases são de interesse para aplicações de biotecnologia, especialmente pela redução do fitato em alimentos e rações para animais. A adição de fitases irá diminuir os efeitos antinutricionais dos alimentos, de alto conteúdo de fitato (Greiner *et al.*, 1993). Sabe-se que o conteúdo de fitato dos alimentos diminui, durante os processos alimentícios ou de preparação. Podemos assim, adicionar fitases exógenas de microorganismos aos alimentos processados, fitases que são de grande utilidade nos alimentos, pois são ativadas no estômago, por causa de um baixo pH ótimo. As vantagens das enzimas das plantas é a alta aceitação pelos consumidores, e o baixo risco de reações alérgicas (Greiner & Konietzny, 1996).

3.1.3 Processamento

Grandes perdas de grãos ocorrem devido a infestação por insetos durante o armazenamento. Para combater estas perdas, o processo de irradiação dos feijões oferece uma alternativa promissora e saudável em relação aos tratamentos químicos (FAO/OIEA/VOMS, 1981, Delincée, 1996).

Desde as civilizações mais antigas, a preocupação era a de se desenvolverem técnicas seguras e adequadas para manter seus alimentos por mais tempo e da forma mais saudável, assegurando suas características nutricionais. Assim sendo, várias técnicas de processamento e preservação foram surgindo ao longo dos anos, no intuito de se vencer os obstáculos e suprir as necessidades de cada época. Entre as tecnologias consideradas mais antigas estão a fermentação, secagem, salga e as conservas, enquanto que a fumigação, enlatamento e a pasteurização entre outras são mais recentes, conforme apresentamos no quadro 1 (Käferstein, 1993).

Depois de mais de quarenta anos de pesquisas e desenvolvimento, o tratamento por radiação surge como uma inovação para certas aplicações na indústria dos alimentos.

Quadro 1 . Tecnologias atuais utilizadas em processos alimentícios.

Secagem	Ao sol; ao ar; por vácuo; por congelamento; por spray.
Fermentação	logurte; molho de soja; vinagre; queijo; vinho e cerveja; vegetais.
Tratamentos Químicos	Salga; doce ("sugaring"); fumigação; conserva (Pickling); defumação; aditivos.
Tratamentos Térmicos	Cocção; pasteurização; altas temperaturas por curto tempo; Clareamento; "Asseptic filling"; "Retorting".
Tratamentos a frio	Refrigeração; congelamento.
Atmosfera Modificada	
Microondas	
Radiação Ionizante	

Fonte: Käferstein, 1993.

Uma dessas aplicações é a redução de microorganismos em alimentos sólidos, porém a irradiação dos alimentos pode contribuir para uma melhor qualidade nutricional (Käferstein, 1993; Stevenson, 1994; Diehl, 1995; THAYER, 1996). Produção e perdas agrícolas nacionais são registradas por Resende (1994), que faz uma estimativa dos índices de produtos agrícolas em Minas Gerais, safra de 1993/94. Assinalando os feijões, particularmente, com uma produção de 257,23 mil toneladas e com perdas de até 31% atribuídas ao uso inadequado de equipamentos, estrutura de armazenagem arcaicas, sistema viário precário, embalagens inadequadas, pragas, doenças, entre outros fatores, que constituem os principais entraves. Wiendl (1975) estima uma perda de peso de 20% nos grãos infectados por insetos, assim como Ferreira (1960) e Gallo *et al.* (1988) mostram a perda de peso, a redução do poder germinativo, a redução no valor nutritivo e conseqüente desvalorização comercial. Segundo

dados do Ministério da Agricultura e Reforma Agrária, o Brasil apresenta altas taxas de perdas pós colheita, uma perda substancial na agricultura como vemos no quadro 2 (Farrar IV & Going, 1994).

Quadro 2. Porcentagem de perdas.

Arroz	20 %
Abacaxi	30 %
Banana	40 %
Feijão	30 %
Laranja	15 %
Limão	15 %
Mamão	40 %
Melão	20 %
Manga	20 %
Soja	10 %

Fonte: Farrar IV & Going, 1994

As perdas no setor agrícola chegam a atingir em alguns casos, 30% da produção bruta, o que enseja a adoção de tecnologias modernas de colheita, conservação, processamento e distribuição, para obter significativo aumento na oferta de alimentos. Como alternativa saudável frente ao uso de brometo de metila para o controle da infestação por insetos, o uso da radiação tem sido objeto de várias pesquisas em vários países (Wiendl, 1975; Aguilera, 1985; Mancini - Filho, 1990; Cunha, 1992; Nascimento, 1992; Bognár, 1993; Delincée & Bognar, 1993; Villavicencio *et al.*, 1997).

Alimentos irradiados, são comercializados por 23 países em caráter regular, junto com seus similares não irradiados, e tem tido, de modo geral, boa aceitação (Urioste *et al.*, 1990; Cottee *et al.*, 1995; Derr & Engel, 1993; Loaharanu, 1994, 1995; Derr *et al.*, 1995; ADA, 1996). Nos últimos anos foram realizados testes de aceitação na Argentina, Bangladesh, Chile, China, Estados Unidos, Filipinas, França, Hungria, Indonésia, Israel, Polônia, Tailândia

todos com resultados favoráveis aos alimentos irradiados (ICGFI, 1994; Ehlermann, 1996).

3.2 Irradiação de alimentos

A irradiação de alimentos é um tratamento que consiste em submeter os alimentos, já embalados ou a granel, a uma quantidade minuciosamente controlada de radiação ionizante, por um tempo prefixado, com objetivos bem determinados. O processo não aumenta o nível de radioatividade normal dos alimentos, poderão ser utilizadas nos alimentos as irradiações ionizantes, em geral, cuja energia seja inferior ao limiar das reações nucleares que poderiam induzir radioatividade no material irradiado. A dose média global absorvida por um alimento submetido a um processo de irradiação não excederá 10 kGy, com a finalidade de assegurar a inocuidade do alimento irradiado, sob os pontos de vista toxicológico, nutricional e microbiológico, conforme a legislação brasileira de 1973 e 1985. A irradiação pode impedir a divisão de células vivas, tais como bactérias e células de organismos superiores, ao alterar suas estruturas moleculares, além de retardar a maturação de algumas frutas e legumes, ao produzir reações bioquímicas nos processos fisiológicos dos tecidos vegetais (Boletim IAEA, 1992; Diehl, 1995).

O emprego das radiações ionizantes gama e feixe de elétrons, na preservação de alimentos está crescendo mundialmente. A grande diferença entre os raios gama provenientes de uma fonte de Co^{60} e os elétrons oriundos de um acelerador industrial, é o seu poder de penetração (Hayashi, 1991). A radiação gama tem um grande poder de penetração, mas é de baixa intensidade e o feixe de elétrons gerado por um acelerador tem um poder de penetração menor, mas alta taxa de dose de radiação (Diehl, 1995; Muñoz, 1994). Nem todos os tipos de radiação são apropriados para a irradiação de alimentos,

assim sendo a FAO/OIEA/OMS publicou as normas gerais do Codex para alimentos irradiados (Codex Alimentarius, 1983; Diehl, 1995; ICGF, 1995).

Nos processos industriais por irradiação, é fundamental que se conheça a quantidade de energia absorvida pelo material quando ele é exposto à radiação ionizante. A dose absorvida, ou simplesmente dose, é a quantidade de energia absorvida. A unidade que mede a dose absorvida é o gray (Gy), 1 Gy equivale a 1 J (Joule) de energia absorvida por 1 kg de alimento irradiado. A taxa de dose é a energia absorvida por unidade de tempo, assim, os irradiadores gama diferem dos aceleradores por possuírem uma baixa taxa de dose, levando mais tempo de irradiação enquanto que os aceleradores, com sua alta taxa de dose, podem ser muito mais rápidos (Diehl, 1995).

Os níveis de energia permitidos para uso em irradiação de alimentos são especificamente selecionados para evitar qualquer condição que possa induzir níveis significantes de radioatividade nas mercadorias tratadas. Os níveis de energia permitidos para os raios X ou γ são inferiores ou igual a 5 MeV e para elétrons inferiores, ou igual a 10 MeV (Diehl, 1995; Hayashi, 1991; Legislação Brasileira sobre irradiação de alimentos; McKeon, 1996). O funcionamento das instalações de irradiação deverão estar sujeitos à supervisão das autoridades nacionais competentes, com o objetivo de se assegurar o controle das doses. Para uma dose total média para o processo de irradiação, deve-se tomar em conta a relação de dose máxima e mínima absorvida (coeficiente de uniformidade de dose) pelo produto (FAO/OIEA/OMS, 1981). É importante salientar que tanto a radiação gama de ^{60}Co , como a dos feixes de elétrons dos aceleradores, não têm energia suficiente para provocar qualquer reação nuclear na matéria e, portanto, não deixam nenhum resíduo radioativo no material após a irradiação (IAEA, 1992; Muñoz, 1994; Diehl, 1995; Singh, 1995).

Elementos radioativos naturais são encontrados em todos os alimentos, inevitáveis em nossa dieta diária, tais como isótopos primários de potássio (^{40}K), carbono(^{14}C) e hidrogênio (^3H). Traços de constituintes naturais como rádio (^{22}Ra), tório(^{228}Th), chumbo(^{210}Pb) e polônio(^{210}Po) estão presentes na maioria dos alimentos. Os alimentos consumidos por um adulto em um dia, contêm cerca de 150 - 200 Bq (Becquerel) de radioatividade natural, o que significa que 150 - 200 desintegrações por segundo em média (Muñoz, 1985, 1994; Singh, 1995). Alimentos irradiados são alimentos que foram tratados por um determinado tipo de radiação, deliberadamente e em condições de segurança controladas, para se obterem algumas propriedades convenientes, tais como inibir brotamento ou destruir bactérias, entre outras, além de manter a boa qualidade do alimento por mais tempo (Boletim IAEA, 1992; Findlay *et al.*, 1993; Muñoz, 1994).

3.2.1 Alterações dos alimentos induzidas pela radiação ionizante

Os radicais livres podem se formar não somente durante o processo de irradiação, mas também mediante vários outros tratamentos convencionais de alimentos, tais como a liofilização, torrefação, fervura, os processos normais de oxidação, entre outros (Satin, 1993; Diehl, 1995; Singh, 1995). Quando a célula é bombardeada por radiações ionizantes, vários dos seus componentes químicos podem ser atingidos com a conseqüente ionização que os torna quimicamente muito reativos e, daí por diante, vários fenômenos químicos e posteriormente biológicos podem ocorrer. O alvo crucial dos radicais livres é o DNA (ou o genoma), o qual resulta em inativação dos micróbios/insetos etc (Voisine, 1993). Em frutas por exemplo, onde 90% é água, os radicais livres resultantes da radiólise da água reagem com as proteínas, os amino ácidos, açúcares e componentes menores, como as vitaminas, entre outros, que estão amplamente protegidos, pois a produção dos radicais está

associada ao metabolismo celular do oxigênio e às reações metabólicas e enzimáticas endógenas de oxiredução (Muñoz, 1985,1995; Diehl, 1995, Voisine, 1993; Singh, 1995). Interações químicas induzidas pelas radiações podem ser manifestadas por alterações das propriedades físicas dos alimentos, um dos efeitos mais comuns são os danos causados na membrana celular pela radiação ionizante, servindo assim como método de identificação. É conhecido o mecanismo de transporte de ions pela membrana, desta forma, alterações nas propriedades da membrana, alteram a condutividade desta (IAEA-TECDOC-587, 1991).

Os alimentos em geral, contêm alguns componentes-chaves que, embora presentes em concentrações muito baixas, regulam o sabor, seu aspecto e o seu valor nutritivo (WHO, 1994). Esses componentes são muito sensíveis à irradiação e, se a dose de radiação for alta, pode causar transformações prejudiciais no sabor, no odor e na cor desses alimentos (Singh, 1995). As alterações nas propriedades sensoriais dos alimentos são resultantes principalmente de reações químicas em três tipos de componentes dos alimentos: A primeira, a oxidação de lipídeos, o que resulta num sabor rançoso pois as gorduras insaturadas são mais rapidamente oxidadas que as saturadas. Porém, esse processo pode ser retardado pela eliminação do oxigênio ou pelo processamento em atmosfera de nitrogênio. A segunda interação seria com os aminoácidos, causando pequenas quebras nas cadeias e liberando desagradáveis cheiros sulfurosos, porém devemos lembrar que isto acontece em níveis bem baixos, não acarretando problemas no valor nutricional. Em contrapartida, a atividade enzimática não é afetada nas doses permitidas para extensão da vida de prateleira. O terceiro tipo de reação seria a quebra dos carboidratos, como, no caso da pectina por exemplo, resultando num amaciamento de frutas e vegetais ou como no caso da redução do tempo de cocção dos feijões (Kilcast, 1994).

Pesquisas demonstram que os macronutrientes, tais como as proteínas, os carboidratos e as gorduras são relativamente estáveis às doses até 10 kGy, e que os micronutrientes, principalmente as vitaminas, podem ser sensíveis a qualquer método de tratamento de alimentos (Fox *et al.*, 1989; Diehl, 1992; Fox *et al.*, 1992; Fox *et al.*, 1993; WHO, 1994; Singh, 1995). A sensibilidade de diferentes tipos de vitaminas ao método da irradiação e a outros métodos de tratamentos de alimentos é variada, vitamina C e B, são mais sensíveis à irradiação (Fox *et al.*, 1989; Hau & Liew, 1993; Fox *et al.*, 1994; Kilcast, 1994; FAO, IAEA, WHO, ICGF, 1995). Vitaminas lipossolúveis são parcialmente destruídas pela irradiação e os tocoferóis particularmente são os mais sensíveis; nas doses de pasteurização (Nawar, 1985; Kilcast, 1994; Fox *et al.*, 1994; Diehl, 1995).

3.2.2 Aplicações das radiações em alimentos

O uso de baixas doses para desinfestação de insetos pode eliminar o uso de tratamentos químicos, muitos dos quais produzem danos toxicológicos (Kilcast, 1994). O aumento da vida de prateleira, inibindo o brotamento e eliminando os insetos e parasitas, assim como o incremento das propriedades tecnológicas, é uma constante nessa metodologia (Ahmed, 1993).

A OMS recomenda que só se devem irradiar alimentos saudáveis, manipulados, embalados e armazenados conforme as boas práticas de fabricação, "Good Manufacturing Practices - GMP" (FAO, 1984) e que estejam dentro das condições de higiene e necessidades técnicas (Käferstein, 1993).

As diferentes aplicações do processo de radiação em alimentos são mostradas no quadro 3.

Quadro 3. Aplicações da radiação em produtos alimentícios (Delincée, 1997).

	Propósito	Dose (kGy)	Produtos
Doses baixas (menores que 1 kGy)			
a)	Inibição de brotamento permitindo tempo de estocagem maior, sem o uso de inibidores químicos de brotamento.	0.05 - 0.15	Batatas, cebolas, alho, gengibre, inhame.
b)	Desinfestação de insetos: preventivo contra perda de alimentos sem o uso de fumigantes químicos; preventivo contra insetos no mercado de alimentos; permitindo o tratamento quarentenário sem o uso de fumigantes químicos; Desinfestação de insetos por Parasitas: reduzindo enfermidades causadas por consumo de produtos crus ou mal cozidos infectados, como por exemplo, <i>Trichinae</i> , <i>Taenia sp.</i> , <i>Entamoeba Histolytica</i> , <i>Toxoplasma gondii</i> .	0.15 - 0.75	Cereais, feijões, frutas frescas e secas, peixe seco, carne seca, peixe cru, carne de porco fresca.
c)	Retardo do processo fisiológico: Explo: maturação, permitindo maior tempo de prateleira.	0.25 - 1.0	Frutas frescas e vegetais. (mangas, mamões, bananas, cogumelos).
Doses médias (1.0 - 10.0 kGy)			
a)	Extensão da vida de prateleira: redução de microorganismos.	1.0 - 3.0	Peixe fresco, morangos.
b)	Eliminação de microorganismos patogênicos: <i>Salmonella</i> , <i>Shigella</i> , <i>Listeria</i> , <i>Campylobacter</i> , <i>Vibrio</i> , <i>E. Coli</i> , <i>Yersinia</i> e outros patógenos não formadores de esporos. Prevenção de alimentos envenenados.	1.0 - 5.0	Frutos do mar, carnes de aves, carnes vermelhas, cruas ou congeladas, produtos de ovos, queijo Camember.
c)	Eliminação de esporos e microorganismos patogênicos. permitindo maior tempo de prateleira; prevenção de alimentos envenenados; substituindo fumigantes químicos.	3.0 - 10.0	Ervas e especiarias, condimentos, vegetais desidratados, gomas.
d)	Melhoramento das propriedades tecnológicas	2.0 - 7.0	Uvas: aumentando a produção da suco. Frutas desidratadas: melhorando a rehidratação. Vegetais desidratados: reduzindo o tempo de cocção.
Doses altas (10.0 - 100.0 kGy)*			
a)	Esterilização Industrial (em combinação com calor moderado) destruindo ambos, esporos e microorganismos patogênicos, inclusive esporos antigos de <i>Clostridium botulinum</i> , permitindo um período maior de estocagem em temperatura ambiente.	30 - 100	Carnes vermelhas, aves, frutos do mar, alimentos preparados, dietas hospitalares.
b)	Descontaminação de certos aditivos e ingredientes alimentícios. permitindo maior tempo de prateleira; prevenção de alimentos envenenados; substituindo fumigantes químicos.	10 - 50	Ervas e especiarias, condimentos, preparados de enzimas, gomas naturais.

* Somente em casos especiais, como por ex. dietas de hospitais ou refeições de astronautas. A comissão do Codex Alimentarius e o comitê FAO/WHO ainda não endossaram o uso da aplicação de altas doses.

Além disso, a irradiação é um tratamento que pode ser usado como tratamento quarentenário, sendo uma alternativa muito mais promissora quando comparada a fumigantes químicos ou outros métodos utilizados, tais como o brometo de metila e o óxido de etileno, para desinfestação de insetos (Käferstein, 1993). É de ação lenta e seu uso é predominante nos grãos e não é permitida em frutas (Spalding, 1977).

Os tratamentos térmicos, como a pasteurização a esterilização ou a cocção de um alimento protéico, promovem a reação de Maillard, a denaturação das proteínas, perdas de aminoácidos sulfurados e formação de H_2S . Em carnes enlatadas, a formação de H_2S pode levar à formação de sulfetos de ferro e estanho. O aquecimento da carne pode provocar alterações nas gorduras que resultam na formação de aromas particulares para cada tipo de carne (Bobbio, 1992).

A pasteurização por radiação, quando usada em conjunto com outros processos de conservação e técnicas de preparo, diminui a carga microbiana e outras doenças de alimentos (Satin, 1993; Thayer, 1996). Em combinação com outros processos, como por exemplo, calor, baixa atividade de água, pH, atmosfera modificada, salga, acidificantes, embalagens, etc, a irradiação pode oferecer produtos mais estáveis em condições tropicais (IAEA TECDOC - 843, 1995). Os tratamentos químicos e a radiação entre outros, oferecem vantagens sobre os tratamentos não combinados (quadro 4) e incrementam os efeitos benéficos desta tecnologia (Brynjolfsson, 1980).

Processos tecnológicos alternativos de conservação de alimentos surgem com o uso de tratamentos combinados da radiação e outros processos, minimizando os custos e promovendo uma vida de prateleira maior e segura destes alimentos (Satin 1993; FAO, IAEA, WHO, ICGFI, 1995).

Quadro 4. Comparação das aplicações, limitações e os diferentes tratamentos.

	<i>FUMIGAÇÃO</i>	<i>REFRIGERAÇÃO</i>	<i>PASTEURIZAÇÃO</i>	<i>IRRADIAÇÃO</i>
APLICAÇÕES	efetivo na descontaminação microbiana e de insetos em alimentos secos.	aplicável em alimentos líquidos e sólidos.	Aplicável somente a alimentos líquidos.	aplicável a alimentos "sólidos" (carnes, peixes, cereais, frutas e vegetais), efetiva na inativação de patógenos em alimentos congelados.
LIMITAÇÕES	Resíduos, resistência dos insetos, problemas ambientais e de salubridade	CFCs causam problemas ambientais; não inativam microorganismos patogênicos.	Geralmente não aplicáveis a alimentos "sólidos".	Geralmente não aplicável a alimentos líquidos tem problemas de restrição de regulamentação.
ALIMENTOS				
<i>Especiarias</i>	efetivo porém causa problemas ambientais e de saúde pública.	N/A	efetivo para a maioria das especiarias	altamente efetivo.
<i>Carnes Cruas</i>	N/A	essencial para manter a qualidade, não aplicável a patógenos.	efetivo contra patógenos mas cozinha o produto.	efetivo contra patógenos, necessita ser refrigerado após o tratamento.
<i>Frutas e Vegetais</i>	efetivo porém causa problemas ambientais e de saúde pública	essencial para manter a qualidade, frutas tropicais não podem ter menos de 10°C	N/A	efetivo contra infestação em frutas frescas e frutas secas tem restrições de regulamento.
<i>Cereais e Grãos</i>	efetivo porém causa problemas ambientais e de saúde pública.	N/A	N/A	efetivo contra infestação de insetos
<i>Alimentos Marinhos</i>	geralmente N/A; efetivo para cont de insetos em peixe seco.	essencial para manter a qualidade.	geralmente não aplicável, exceto para caranguejos e ostras.	efetivo contra cont. microbiana, inclui patógenos e desinf em peixe seco
<i>Raízes e Tubérculos</i>	N/A	efetivo para cont de brotamento a baixas temperaturas 1-3°C.	N/A	efetivo para inibição de brotamento
<i>Leite e Bebidas</i>	N/A	essencial para manter a qualidade	efetivo para a descont. microbiana.	N/A
<i>Ovos e Derivados</i>	N/A	importante para manter a qualidade.	aplicável para ovos líquidos	aplicável para ovos líquidos e pó

fonte: FAO,IAEA,WHO, ICGFI document No 18, 1994

N/A - Não aplicável.

Países desenvolvidos exigem alimentos saudáveis com uma prolongada vida de prateleira (IAEA TECDOC - 843, 1995). Todo alimento processado ou não deve ser preservado por uma embalagem que, além da função protetora, pode ter funções de propaganda e facilitar seu manuseio no

processamento, armazenamento e uso pelo consumidor. A natureza do material da embalagem deve, principalmente, atender a critérios de preservação e apresentação do produto (Bobbio, 1992). Estando os alimentos apropriadamente embalados, após seguir uma boa qualidade de processamento, o tratamento por radiação irá preservar a boa qualidade por estar agindo no processo de esterilização, pasteurização e desinfestação de insetos, conforme o caso requerido (Killoran *et al.*, 1979, 1983) Numa irradiação, onde não houver uma correta embalagem do produto, haverá uma reincidência de infestação e o processo se tornará inútil (Diehl, 1995). O material utilizado não deve interagir com os aditivos e/ou o produto embalado ou mesmo ser permeável, a resistência à radiação de vários materiais deve ser testada, porém atualmente com doses limites de até 10 kGy para papel e papelão e 60 kGy para material polimérico, é permitida pelo FDA para embalagens a serem irradiadas (FAO, IAEA, WHO, ICGFI, 1994; Diehl, 1995).

3.2.3 Normas para irradiação de alimentos.

A Comissão do Códex Alimentarius, FAO e OMS, publicou suas normas aplicáveis à irradiação de alimentos. Estas normas estipulam que os alimentos irradiados devem ser acompanhados de documentos de embarque, nos quais devem estar identificados o irradiador, o lote, a dose e outros detalhes do tratamento (Norma Geral do Códex para alimentos irradiados e Código internacional Recomendado de Práticas para o funcionamento de Instalações de irradiação para o tratamento de alimentos, *códex alimentarius*, vol. XV, 1984). Os alimentos que foram tratados por irradiação devem estar corretamente embalados e etiquetados para indicar que, a este produto, foi aplicado este processo. Devem ser utilizados os termos "irradiado" ou "tratado por radiação ionizante", assim como estar presente o símbolo internacional para alimento irradiado conforme figura 1 (ICGFI, N0.3, 1991; ADA, 1996).



Figura 1. Símbolo Radura.

Ahmed (1993), apresenta em seu trabalho, 160 plantas de irradiação comerciais funcionando principalmente para tratar produtos médicos e outros, e que destas, 50 são para uso de irradiação de alimentos em 25 países e que outras 20 estão em construção. Cottee (1995), mostra, em seus trabalhos, a comercialização dos alimentos irradiados nos E.U.A., como se desenvolveram as leis e permissões para irradiação, plantas de irradiadores, como se processam as vendas destes produtos nos supermercados, o controle de doenças transmitidas por alimentos e a aceitação pelos consumidores. Na década de 80, o comércio mundial de produtos irradiados era estimado em mais de dois bilhões de dólares por ano, e continuava crescendo a uma taxa anual de 15 a 20% . Kundstadt (1993) fez estudos sobre a viabilidade econômica da irradiação de alimentos e concluiu que esta dependia de vários fatores tais como da variedade do produto alimentício a ser irradiado, dose aplicada, efeito desejado, densidade da embalagem, mão de obra especializada, suporte técnico e comercial, local de depósito, além de outros itens.

Os custos estimados dos benefícios da irradiação comercial como um tratamento quarentenário, mostra ser competitivo com outros métodos de fumigação e outros tratamentos físicos, tais como o calor ou a refrigeração (Nascimento, 1992; ICGFI document No. 22, vienna, 1995). Estudos recentes no Brasil, patrocinados pela FAO/IAEA e desenvolvidos por Farrar IV & Going (1994) e Farrar IV & Hayes (1996), mostram o potencial do nosso país com relação ao uso de plantas de irradiação de alimentos a nível comercial de

grande porte e a quantidade de produtos alimentícios que poderiam ser beneficiados com este processo. Não necessariamente aumentarão de preço os produtos tratados por irradiação, o custo líquido da irradiação oscila entre 15 e 20 dólares americanos por tonelada, no caso de baixas doses, e entre 100 a 200 dólares americanos por tonelada, no caso de dose alta. Segundo estudos da IAEA, estes custos são competitivos com o de outros tratamentos (Farrar IV & Going, 1994, Farrar IV & Hayes, 1996). A instalação de um irradiador de alimentos oscila entre um milhão a três milhões de dólares americanos, em comparação, uma instalação para esterilizar leite, sucos de fruta e outros líquidos custa por volta de dois milhões de dólares (IAEA Boletim, 1995).

No Brasil, o decreto lei nº. 72.718, de 29 de agosto de 1973 estabelece normas gerais sobre irradiação de alimentos. Em 8 de março de 1985, a portaria nº 9 da DINAL (Divisão de Vigilância Sanitária de Alimentos, do Ministério da Saúde), em conjunto com a CNEN (Comissão Nacional de Energia Nuclear), e o INCQS (Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde) da FIOCRUZ (Fundação Oswaldo Cruz), estabelecem as normas gerais para irradiação de alimentos no Brasil, indicando, para cada caso, o tipo, nível e dose média de energia de radiação e o tratamento prévio, conjunto ou posterior (quadro 5).

Em 25 de setembro de 1989, a portaria da DINAL No. 30 é emitida, desta vez, ampliando autorização a outros tipos de alimentos que não constavam da portaria anterior.

Todas as portarias e decreto-lei foram publicados no Diário Oficial da União (D.O.U.), de 30.08.73; 13.03.85; 28.09.89, Seção I, parte I.

Quadro 5. Alimentos autorizados para serem irradiados no Brasil conforme portaria DINAL No. 30 (D.O.U).

Produto	Ano de aprovação	Dose permitida(kGy)	Finalidade
Arroz	1985	1	Desinfestação de insetos
Aves	1985	7	Desinfestação. Descontaminação e ext. da vida de prateleira
Abacate	1989	1	Desinfestação de ins., controle de maturação, ext. da vida de prat., red. carga microbiana.
Abacaxi	1989	1	Desinf. de ins., contr. de maturação, ext. da vida de prat., red. carga microbiana.
Batata	1985	0.15	Inibição do brotamento
Banana	1989	1	Desinf. de ins., controle de maturação, ext. da vida de prat., red. carga microbiana.
Cebola	1985	0.15	Inibição do brotamento
Caqui	1989	1	Desinf. de insetos, controle de maturação, ext. da vida de prat., red. carga microbiana.
Farinha de Trigo	1985	1	Desinfestação de insetos
Feijão	1985	1	Desinfestação de insetos
Especiarias	1985	10	Desinf., Descontaminação.
Goiaba	1989	1	Desinf. de insetos, controle de maturação, ext. da vida de prat., red. carga microbiana.
Laranja	1989	1	Desinf. de insetos, controle de maturação, ext. da vida de prat., red. carga microbiana.
Limão	1989	1	Desinf. de insetos, controle de maturação, ext. da vida de prat., red. carga microbiana.
Manga	1989	1	Desinf. de insetos, controle de maturação, ext. da vida de prat., red. carga microbiana.
Mamão	1989	1	Desinf. de insetos, contr. de maturação, ext. da vida de prat., red. carga microbiana.
Melão	1989	1	Desinf. de insetos, controle de maturação, ext. da vida de prat., red. carga microbiana.
Milho	1985	0.5	Desinf., cont. de maturação, ext. da vida de prat., red. carga microbiana.
Morango	1989	1	Ext. da vida de prateleira, red. carga microbiana.
Peixe e derivados	1985	2.2	Descontaminação, Desinf. de insetos, Ext. da vida de prat.
Tomate	1989	1	Desinf., controle de mat., ext. da vida de prat., red. carga microbiana.
Trigo	1985	1	Desinfestação de insetos

3.3 Valor nutricional dos alimentos irradiados

Os princípios e diretrizes estabelecidas nas reuniões dos comitês mistos FAO/OIEA/OMS realizados em 1964, 1969, 1976 e 1980, formaram a base de avaliações sobre a comestibilidade dos alimentos irradiados, incluindo os aspectos nutricionais. Em 1980, o comitê da FAO/OIEA/OMS, concluiu que irradiação de qualquer alimento com dose de até 10 kGy não é tóxica e nem introduz problemas de ordem nutricional ou microbiológica (Nawar, 1985; IAEA-TECDOC-642, 1992; FAO/IAEA/WHO/ICGFI, 1995). Porém, este mesmo comitê, insiste na necessidade de se analisar com cuidado todas as alterações significativas relacionadas a cada alimento irradiado em particular e com seu desempenho na dieta populacional; recomendando prosseguir com as pesquisas sobre o efeito da radiação sobre o valor biológico das proteínas e das vitaminas do complexo B em feijões, devido a sua grande importância como alimento básico, para se esclarecer resultados conflitantes da literatura (FAO/OIEA/OMS, 1981).

A adequação nutricional dos alimentos irradiados é sumarizada em muitas revisões, as quais nos mostram claramente que as alterações ocorridas nos alimentos são minimizadas ou mesmo, em alguns casos, nulas, quando se é respeitada a dose certa para cada tipo de alimento e o tratamento por radiação, sendo feito com exclusão de oxigênio e empacotamento em vácuo (Diehl, 1994). Em geral o processo de irradiação nas doses permitidas, acarreta poucas alterações químicas nos alimentos. Baseado nas pesquisas da análise de alimentos, o FDA estimou que a quantidade total de produtos radiolíticos, formados com doses inferiores a 1 kGy, seria inferior a 3 mg por quilograma de alimento irradiado (Boletim IAEA, 1992). Nas doses de até 1 kGy, as perdas nutricionais são consideradas insignificantes (Diehl, 1992; Singh, 1995) e nenhuma das alterações conhecidas encontradas nos alimentos irradiados, é nociva ou perigosa, estando dentro dos limites encontrados normalmente para

alimentos (Satin, 1993). Como resultado do tratamento térmico convencional, também encontramos produtos radiolíticos iguais aos produzidos no tratamento com radiação tais como a glicose, ácido fórmico, aldeído acético, dióxido de carbono e outros (Muñoz, 1994). Pesquisas com ésteres de ácidos graxos e triacilgliceróis, indicam que, com doses altas de 250 kGy, as concentrações de ambos os produtos formados, voláteis e não voláteis, são muito menores que a dos obtidos por temperatura de fritura (180°C) por uma hora (Nawar, 1985).

Várias publicações foram feitas pela comunidade científica sobre a qualidade nutricional dos alimentos irradiados, nos últimos 10 anos (WHO, 1994; Diehl, 1995). A qualidade nutritiva do alimento não é mais afetada do que quando o alimento é tratado por outros métodos convencionais de conservação.

A variação do valor nutritivo do alimento causada pela irradiação, depende de vários fatores, entre eles a dose à qual o alimento é exposto, o tipo de alimento, a sua embalagem, as condições de tratamento, temperatura e armazenamento (Diehl, 1992; Singh, 1995). As perdas são menores quando o tratamento pela irradiação é conjugado com baixa temperatura e vácuo, podendo-se assim, aumentar as doses de radiação, sem prejuízo do valor nutricional do alimento (Diehl, 1994). Os métodos utilizados atualmente no tratamento de alimentos, sejam eles o aquecimento, o congelamento, o tratamento com substâncias químicas, vácuo ou a irradiação, não são destinados a substituir as boas práticas de higiene, estas devem ser seguidas na preparação dos alimentos, independentemente de eles serem tratados por radiação ou por qualquer outro método (Moy, 1993). De acordo com a OMS, alimentos irradiados produzidos de acordo com as boas práticas de fabricação, "Good Manufacturing Practices - GMP" (FAO, 1984; Diehl, 1994), podem ser considerados saudáveis e de qualidade nutricional adequada.

Estudos nutricionais, sobre a toxicidade dos alimentos irradiados, desenvolvidos ao longo de mais de duas décadas com rações para animais de laboratório, mostraram que não há efeitos tóxicos advindos da irradiação destes alimentos testados, assim como não se encontraram problemas de mutagenicidade com as doses permitidas abaixo de 10 kGy (Diehl, 1994).

A irradiação é um método eficaz para garantir a segurança microbiológica dos alimentos, especialmente os de origem animal, porém nenhum método de tratamento deve substituir as GMP e GIP na produção e manipulação dos alimentos. Nenhum processo de tratamento de alimentos pode fazer com que um alimento estragado se torne próprio para o consumo, se o alimento mostra sinais de decomposição, não poderá ser recuperado pela irradiação (Delincée, 1996).

A irradiação é eficaz para destruir a contaminação microbiana entre outros e por razões de saúde pública no caso de *Salmonella*, *Campilobacter* e *E. coli*, especialmente eficaz para a prevenção contra as enfermidades parasitárias transmitidas por alimentos sólidos de origem animal (Singh, 1995; Stecchini 1995; McMurray, 1996; Thayer, 1996).

Produtos avícolas foram introduzidos conforme inspeção de 1957 com a seguinte definição: O termo salubre significa seguro, limpo, saudável e de modo apropriado para alimento de consumo humano (Singh, 1995). Em relação à irradiação de alimentos a Associação Americana de Dietética (ADA), que tem a responsabilidade de educar os consumidores no sentido nutricional, nos EUA, diz que a irradiação dos alimentos oferece uma solução sadia (ADA, 1996). Com respeito a alimentos irradiados, considerações de salubridade ou segurança para consumo, envolvem aspectos de segurança radiológica, toxicológica, microbiológica e adequacidade nutricional (Delincée, 1996; FDA, 1997).

A credibilidade na segurança e salubridade de alimentos irradiados está centrada na aceitação do consumidor para cada alimento e a aceitação do consumidor é primordial para a aceitação Industrial. Portanto, quando examinamos questões associadas com segurança e salubridade de alimentos irradiados, devemos considerar todas as questões acima.

É preciso ter sempre em mente que o propósito desta nova tecnologia não é vender radiação e sim alimento irradiado, nutritivo e saudável aos consumidores (Henon, 1995).

3.4 Detecção de alimentos irradiados

A disponibilidade geral dos métodos de detecção de alimentos irradiados pode contribuir para aumentar a confiança do consumidor com o uso correto da aplicação deste processo, e em seu controle pelas autoridades competentes (Stevenson & Stewart, 1995; McMurray, 1996; Wood, 1996; Delincée, 1996).

Embora se faça o controle administrativo de irradiadores comerciais para alimentos irradiados e sejam emitidos certificados de alimentos irradiados como controle ao final de cada processo, é conveniente aplicar métodos para detectar o tratamento por irradiação diretamente no produto alimentício (Delincée, 1992; Schreiber *et al.*, 1993; Raffi *et al.* 1992; Rahman *et al.*, 1995; McMurray *et al.* 1996).

Na Conferência de Aceitação, Controle e Comércio de Alimentos Irradiados, juntamente com representantes da FAO, WHO e ITC-UNCTAD/GATT (1988), chegou-se à conclusão da necessidade de métodos e

procedimentos padrões que poderiam detectar se o alimento foi irradiado ou não.

Os parâmetros que esta metodologia deveria ter como requisitos seriam: A resposta do método deve ser específica para irradiação e não induzida por outras técnicas de processamento; confiabilidade; rapidez; não envolver o uso de instrumentos complicados e caros; de fácil execução; deve requerer pequenas quantidades de amostras do alimento; sensibilidade; universalmente aplicável a todas as espécies de alimentos; deverá permitir uma estimativa da dose de radiação absorvida no alimento; o método deverá permitir uma identificação de ingredientes irradiados em alimentos compostos.

Na prática, entretanto, este requerimento não pode ser facilmente realizado. As alterações que ocorrem como resultado da irradiação, são, em muitos casos, muito pequenas e muito similares em comparação a outras causadas por outros métodos de preservação de alimentos tratados. Conseqüentemente, muitos testes diferentes são possíveis de serem desenvolvidos e quando necessário, combinados para uma correta identificação. Somente uma certeza, alimento não irradiado não consegue ser classificado como irradiado (IAEA TECDOC -587, 1991).

Em junho de 1994, foi realizada mais uma Conferência mundial com 57 delegados de 19 países, inclusive os representantes oficiais do "Research Program on Analytical Detection Methods for Irradiation Treatment of Foods" (ADMIT), sob os auspícios da OMS e AIEA. O grupo ADMIT não só encorajou o desenvolvimento de testes básicos para irradiação de alimentos como também sua conveniência para uso em saúde pública e outros interessados tais como o comércio nacional e internacional de alimentos irradiados.

Foram ainda reconfirmados nesta reunião, os princípios gerais para o desenvolvimento de métodos de detecção (McMurray *et al.*, 1996), segundo uma lista de critérios técnicos e práticos. Técnicos: discriminação; especificidade; aplicabilidade; estabilidade; confiança; independência; reprodutibilidade e repetibilidade; validade; sensibilidade e dependência da dose. Práticos: simplicidade; baixo custo; pequenas amostras; rapidez; abrangência de amostras; medidas não destrutivas; fácil padronização; confiável e seguro.

A interação da radiação ionizante com o alimento conduz a formação de radicais livres, os quais são muito reativos principalmente com as múltiplas reações possíveis com os componentes do alimento presente. Cabe salientar que a formação dos radicais livres é também estimulada por tratamento com calor, fotólise, catálise de íons metálicos, catálise enzimática (Taub 1984), ultra-som (Murali Krishna *et al.* 1988, Kondo *et al.* 1988), moagem (Redman 1966) ou durante a estocagem e a interação do oxigênio e peróxidos.

Não é de se surpreender que as alterações químicas causadas pela irradiação são muito menores que as causadas por outros métodos de processamento dos alimentos. Os métodos de detecção de alimentos irradiados aqui apresentados, irão depender de diferentes fatores intrínsecos, dependendo da origem do alimento. Os estudos interlaboratoriais se fazem muito importantes neste tipo de pesquisa (McMurray, 1996).

3.4.1 Métodos para detecção de alimentos irradiados

Os métodos são ordenados de acordo com as alterações que ocorrem nos alimentos (quadros 6,7,8) como resultado da irradiação, tais como físicas, químicas e biológicas (Stevenson & Stewart, 1995).

Quadro 6. Métodos Físicos para identificação de alimentos irradiados

Método	Classificação*	Utilização
Impedância elétrica	c	Batatas
Viscosimetria	b	Especiarias
Espectroscopia perto do infra vermelho (NIR)	d	Especiarias
Luminescência foto-estimulada	c	Especiarias, frutos do mar
Termoluminescência	a	Alimentos dos quais os minerais de sílica podem ser isolados (ervas, especiarias, misturas, camarões) Frutas frescas e vegetais Batatas, frutas e vegetais desidratados, crustáceos e mariscos
Ressonância paramagnética eletrônica (ESR)	a a	Alimentos contendo ossos: (frango, carnes, peixes, pernas de rãs). Alimentos contendo celulose: (Casca das nozes de pistáchio, pó de pimentão) (Morangos)

Fonte: Stevenson & Stewart, 1995.

É conhecido que a aplicação do tratamento por radiação ionizante resulta em alterações químicas nos alimentos, assim sendo, a natureza do composto induzido pela radiação depende primariamente da composição do alimento, quantidade de proteínas, lípidos, carboidratos, conteúdo de água, etc. (Kilcast, 1994; Kikuchi *et al.*, 1996). Em adição às condições de irradiação tal como dose, temperatura, ausência ou presença de oxigênio, entre outros, desempenham um parâmetro importante (Diehl, 1995).

Quadro 7. Métodos Químicos para identificação de alimentos irradiados.

Método	Classificação*	Utilização
Determinação de o-tirosina	c	Frangos, camarões, mariscos
Evolução de gases	c	camarões, frango congelados
Determinação de hidrocarbonetos de cadeia longa (CG-MS)	a	produtos que contêm gorduras
Determinação de 2-Alcliclo-butanonas por CG.	a	Ovos, carnes em geral
Ensaio do cometa	b	Carnes, frutas e vegetais.

Fonte: Stevenson & Stewart, 1995.

Quadro 8. Métodos Biológicos.

Método	Classificação*	Utilização
Germinação	c	Sementes de citrus, maçãs, cereais, feijões
Microbiológico(DEFT/APC) e (LAL/GNB)	b	Especiarias e carnes
Imunológico	c	Carnes, ovos e grãos.

Fonte: Stevenson & Stewart, 1995

Classificações apresentadas nos quadros 6, 7 e 8 são definidas como:

? - insuficiente informação; a - métodos padrões; b - testes interlaboratoriais; c - estudos em andamento; d - estudos em estagio inicial.

De toda esta gama de métodos citados para detecção de alimentos irradiados, enfatizamos alguns em particular, pois são citados (Delincée, 1992; Belliardo, 1993; Delincée, 1993; Morehouse & Ku, 1993; Leonardi, *et al.*, 1993; Rahman, 1995; Stevenson, 1994; Schulzki, 1995; McMurray, 1996; Delincée, 1996;) como promissores para serem utilizados em detecção de alimentos irradiados conforme observamos no quadro 9.

Um grande número de estudos tem sido desenvolvidos no sentido de se caracterizar o efeito da radiação sobre proteínas em alimentos através de métodos eletroforéticos ou de cromatografia gasosa (Jeffries 1983, Delincée 1988). Embora estes sejam específicos, mostraram alcance limitado.

Possivelmente a imunodeteção de proteínas seja uma técnica mais recente e de maior potencial analítico (IAEA-TECDOC-587, 1991).

Quadro 9. Métodos promissores para uso em detecção de alimentos irradiados (Wood, 1996).

Item alimentício	Métodos
Especiarias, ervas e vegetais desidratados	Termoluminescência(TL), Ressonância paramagnética eletrônica (ESR), viscosimetria e alterações na microflora
Carnes, peixes e frutos do mar	ESR dos ossos e conchas, TL, substâncias derivadas de lipídeos (Hidrocarbonetos, alilciclobutanonas e peróxidos), avaliação de gases (Co, H ₂ , etc.) e alterações no DNA (eletroforese e imuno ensaio) alterações na microflora.
Bulbos e tubérculos	TL e inibição da divisão celular.
Frutas, vegetais e cereais	Para batatas - impedância TL e ESR. Para certas frutas e cereais o teste de germinação das sementes

Wood, 1996.

Stevenson (1995), apresenta dados atualizados sobre este método de identificação e os produtos estudados. Os produtos radiolíticos provenientes dos carboidratos consistem principalmente de ácidos e compostos carbonílicos (Dauphin & Saint-Lébe, 1977; Adam, 1982), estudos mostraram o aumento da formação de amido das frutas irradiadas, possivelmente a formação de isômeros ópticos é característica, porém mais pesquisas devem ser feitas (IAEA-TECDOC-587, 1991).

A estabilidade das vitaminas em alimentos irradiados é importante do ponto de vista nutricional; análise de resíduos de vitaminas foi proposto como método de detecção. Thayer (1988), propõe que maiores estudos devem ser efetuados neste campo, com a finalidade de desenvolver um método de detecção. Artigos atuais não citam esta metodologia como estabelecida para

detecção de alimento irradiado (Stevenson, 1995). Estudos mostraram efeitos da irradiação no aroma de certos alimentos, podendo-se determinar alguns compostos voláteis por cromatografia gasosa (IAEA-TECDOC-587, 1991). Porém esta metodologia necessita de maiores estudos, pois controvérsias têm sido apontadas.

O método analítico, usando múltiplos sensores de gás, é também rápido, prático e barato de ser efetuado (Delincée, 1996; McMurray, 1996). A medida de gases radiolíticos formados tais como monóxido de carbono e hidrogênio, são utilizadas para detecção de alimentos irradiados. Pela expedição de gases retidos, aquecidos rapidamente com o calor do microondas são medidas as concentrações por sensores eletroquímicos. O uso de sensores de gás múltiplos, por exemplo CO, H₂, H₂S e NH₃ aumentam a possibilidade de análise de vários alimentos congelados e irradiados ou não (Stevenson & Stewart, 1995). O princípio do método consiste na medida de alimentos congelados, carnes em geral, pois caso não estiverem congelados, o gás rapidamente se difunde para fora do alimento e não conseguimos usar esta metodologia como medida (IAEA TECDOC-587, 1991; Delincée, 1995; Stevenson & Stewart, 1995; Rahman, 1995; Delincée, 1996).

Estudos com peixes mostraram uma alteração na impedância na frequência de 50 Hz a 100kHz (Ehlermann 1972). Trabalhos desenvolvidos no Japão e no Brasil, mostram ser possível detectar batatas irradiadas (IAEA-TECDOC-587, 1991; Del Mastro & Villavicencio, 1992). Medidas do potencial elétrico de vinhos, licores, vinagres e sucos foram feitas, porém mais estudos devem ser feitos neste campo (AEA-TECDOC-587, 1991).

A viscosidade de homogenatos e suspensões de material biológico em solventes como a água, dependem da extensão de penetração do solvente na célula e da sua capacidade de permeabilidade, o que é alterada pela

radiação, contribuindo assim para a alteração da viscosidade. Medidas da alteração da viscosidade em especiarias, ervas, vegetais secos, peixes, ovos em pó oferecem um potencial de metodologia de detecção de alimento irradiado (Del Mastro *et al.*, 1991; IAEA-TECDOC-587, 1991; Del Mastro *et al.*, 1991; Menezes & Del Mastro, 1993; Radó & Del Mastro, 1993; Bernardes, 1996).

O método baseado nas alterações ocorridas no DNA pode ser aplicado a grande número de alimentos. Novos progressos na análise do DNA estão surgindo desde que a inativação de microorganismos, desinfestação de insetos de insetos, inibição do brotamento ou maturação nos alimentos irradiados pode ser traçada pelo efeito da radiação ionizante sobre o ácido nucléico (IAEA-TECDOC-587, 1991; Cerda *et al.*, 1993; Delincée, 1993, 1995, 1996; Cerda *et al.*, 1997). A detecção do dano produzido no DNA das células pode ser avaliada usando-se a eletroforese em micro gel, as células não irradiadas exibem uma migração limitada do DNA enquanto que as irradiadas produzem "cometas" característicos da irradiação (Delincée, 1995; Delincée, 1993, 1995, 1996; Cerda *et al.*, 1997). A estimacão por medidas de fluorescência da timina-glicol induzida por radiação é descrita universalmente como método para material biológico (IAEA-TECDOC-587, 1991). Estudos com carne de frango irradiada, processada em microondas, congelada, e várias outras comparações estão sendo desenvolvidos atualmente, assim como com cebolas, peixes, sementes e outros alimentos (Delincée, 1993, 1995, 1996; Villavicencio *et al.*, 1995; Cerda *et al.*, 1997).

Testes de germinação (half-embryo test) de sementes de alimentos irradiados podem constatar variações características nos cotilédones e nas raízes. Este tipo de método já está bem estabelecido e é usado em rotina para a identificação de sementes de frutas cítricas, tais como laranjas e limões e outros tipos de alimentos irradiados pois é fácil, prático e barato (Kawamura,

1992; Belliaro, 1993; Stevenson, 1995; Delincée, 1995; Rahman, 1995; Delincée, 1996; Villavicencio *et al.*, 1997).

A detecção de alimentos irradiados que contém lípidos pode ser feita por Cromatografia Gasosa e Espectrometria de Massa (CG-MS), conforme o padrão Europeu EN 1784 (1996). Os produtos radiolíticos dos lípidos têm sido extensivamente estudados (Nawar 1983, Merritt *et al.* 1985, Delincée 1983; IAEA-TECDOC-587, 1991; Villavicencio *et al.*, 1997), sendo característicos da irradiação do alimento, foi estabelecido que a formação de hidrocarbonetos, aldeídos, cetonas, metil e etil ésteres e ácidos graxos livres estão fortemente ligados com a composição lipídica do alimento e as condições de irradiação. Os hidrocarbonetos provenientes da irradiação de alimentos que contenham lípidos, são facilmente detectados usando-se esta metodologia que não deixa de ser sofisticada e cara, porém precisa. Durante a irradiação, ligações químicas são rompidas em reações primárias e secundárias. Nos triglicérides, as quebras ocorrem principalmente nas posições alfa e beta dos respectivos grupos carbonílicos resultando nos respectivos Cn-1 e Cn-2 hidrocarbonetos (HC). Para podermos identificar estes hidrocarbonetos, necessitamos de padrões conhecidos. Para a detecção do HC, a gordura é isolada da amostra por extração com solvente, a fração de HC é obtida pela adsorção cromatográfica previamente e a separação feita por cromatografia gasosa e a detecção pelo espectrômetro de massa (IAEA TECDOC, 1991, Schreiber *et al.*, 1994; Stevenson & Stewart, 1995; Delincée, 1995; Hartmann *et al.*, 1997; Villavicencio *et al.*, 1997). A detecção de 2-alcilciclobutanona, derivado de lípidos após o tratamento por radiação, também é descrito no padrão Europeu EN 1785 (1996), e o método é baseado na detecção por espectrometria de massa das ciclobutanonas, após a separação em cromatografia gasosa.

Em alimentos secos, os radicais livres induzidos pela radiação persistem por maior tempo do que em material úmido, podendo assim ser

detectado com mais presteza (Desrosiers, 1996). O método de detecção por ressonância de spin eletrônico (ESR), foi proposto há mais de vinte anos, para detectar o tratamento das radiações em carnes que continham ossos (IAEA-TECDOC-587, 1991). Vários estudos intercomparativos foram se desenvolvendo no decorrer destes anos, demonstrando o potencial desta técnica. O princípio do método está descrito no padrão Europeu EN 1786 (1996) e EN 1787 (1996) e consiste basicamente em se observar o sinal assimétrico originado pela hidroxiapatita contida nas matrizes ósseas do alimento que foi submetido ao tratamento por radiação e comparar com os sinais pequenos e simétricos observados nas amostras não irradiadas. Esta técnica é utilizada para se detectar eletrons não pareados em espécies reativas tais como os radicais livres. Podem ser detectados em matrizes ósseas ou de celulose (Delincée, 1992; Villavicencio *et al.*, 1993; Stevenson, 1994; Duarte *et al.*, 1995; Rahman, 1995; Bernardes, 1996).

O princípio do método de termoluminescência consiste em que elétrons transferidos a um estado excitado, pelo efeito da radiação ionizante, retornem com emissão de luz quando estimulados termicamente. Alimentos que contém minerais, quando irradiados, guardam energia pelo processo de aprisionamento, como resultado da exposição à radiação ionizante. A liberação desta energia se dá por aquecimento controlado do mineral isolado. É um método usado em dosimetria da radiação, e foi introduzido como método de identificação de alimentos irradiados (IAEA-TECDOC-587, 1991). Esta metodologia bem está bem estabelecida e é de referencia dos padrões da Comunidade Européia - EN 1788, 1996 (Stevenson, 1995; Delincée, 1995; McMurray, 1996).

Cooperações internacionais têm levado a um grande desenvolvimento dos métodos de detecção de alimentos irradiados, porém somente cinco dentre os vários existentes, estão à disposição das agências de

controle, conforme apresentados no quadro 10. Esses métodos padrão estão publicados no " European Committee of Standardization " (CEN) e são aprovados pela comunidade européia (CEN/TC 275/WG. 8 N) (Stevenson & Stewart, 1995; Delincée, 1996; McMurray, 1996; Wood, 1996). A combinação de vários métodos de detecção de alimentos irradiados em lugar de um só, é mais eficaz. Assim sendo, diferentes centros de pesquisa sugerem que sejam utilizados diferentes testes no alimento a ser analisado (IAEA-TECDOC-587, 1991).

Quadro 10. Métodos de detecção de alimentos irradiados.

Padrões Aprovados*	Métodos	Aplicabilidade
EN 1784 - 1996	Análise por cromatografia gasosa dos hidrocarbonetos	Deteção de alimentos irradiados contendo gorduras
EN 1785 - 1996	Análise por cromatografia gasosa / espectrometria de massa dos 2-alcilciclobutanonas	Deteção de alimentos irradiados contendo gorduras
EN 1786 - 1996	Ressonância paramagnética eletrônica	Deteção de alimentos irradiados contendo ossos
EN 1787 - 1996	Ressonância paramagnética eletrônica	Deteção de alimentos irradiados contendo celulose
EN 1788 - 1996	Termoluminescência	Deteção de alimentos irradiados dos quais se pode isolar minerais de sílica

Wood, 1996. * Padrões Aprovados na Comunidade Européia.

Pela revisão bibliográfica aqui apresentada depreende-se que existe um volume considerável de publicações relativas à irradiação de alimentos. No entanto, devido à grande complexidade e diversidade da composição dos alimentos, ainda se faz necessária a realização de muitos outros estudos. Este trabalho vem ao encontro da proposta de se ter mais estudos sobre os efeitos das radiações ionizantes sobre alguns componentes dos alimentos e mais especificamente sobre o feijão que é um alimento muito utilizado pela população brasileira.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Amostras

Feijão, *Phaseolus vulgaris* L., var. carioca e *Vigna unguiculata* (L.) Walp. var. macaçar. As amostras de feijão foram obtidas no comércio varejista da cidade de São Paulo, da colheita do segundo semestre de 1994. As amostras foram estocadas por 3 meses no Brasil em temperatura média de 24° C, embaladas em sacos de papelão e reembaladas em sacos plásticos, fechadas e acondicionadas em caixas de papelão. Após este período, seguiram por via aérea para a Alemanha, onde foram estocadas em temperatura controlada de 24° C por mais 3 meses onde foram efetivados os experimentos propostos.

4.2 Irradiações

Foram realizadas em duas fontes gama de ⁶⁰Co, Gammacell 220 (A.E.C.L.), a primeira, no IPEN, com uma atividade aproximada de 614 Ci e uma taxa de dose de 0,4 kGy/h, em outubro de 1994, sendo de 1,13 o fator de uniformidade de dose deste tipo de irradiador. A segunda fonte utilizada, pertence ao Forschungszentrum (FK), em Karlsruhe na Alemanha e foi utilizada para a reirradiação das amostras analisadas por termoluminescência com a dose de 0,5 e 1 kGy e a taxa de dose era de 10 kGy/h. As doses utilizadas na irradiação para as análises foram: 0; 0,5; 1,0; 2,5; 5,0 e 10,0 kGy. A temperatura ambiente média era de 24° C e as amostras foram processadas em embalagens de sacos de papelão de 1,5 kg, em duplicata, para cada dose proposta. O fator de decaimento mensal do ⁶⁰Co é de 0,98925.

4.3 Determinação do tempo de cocção

Após o processamento com radiação nas duas variedades, o tempo ótimo de cozimento foi determinado de duas formas, para cada dose a ser utilizada nos experimentos de determinação das vitaminas e nos ensaios com as dietas dos animais.

1- Instrumental - Numa primeira etapa, logo após a irradiação, o tempo de cocção foi medido no aparelho descrito por *Jackson e Vamiano-Mattson* (1981). As amostras de feijões foram previamente embebidas, com água destilada por 17 horas, em temperatura ambiente de 24 °C. Seguiu-se a metodologia descrita por *Mancini-Filho* (1990).

2 - Avaliação sensorial - Após 6 meses de estocagem, o tempo de cocção para as duas variedades foi determinado utilizando-se um painel de análise sensorial. As amostras foram previamente embebidas em água destilada por 17 horas, a temperatura ambiente de 24 °C e em seguida cozidas a 100 °C. Para determinar o tempo ótimo de cocção, a uma temperatura constante de 100°C, as amostras tiveram um intervalo de tempo inicial de 8 minutos. Os parâmetros de cocção estão listados no quadro 11.

Quadro 11. Condições utilizadas na determinação do tempo de cocção dos feijões.

	Peso (g)	Água destilada (g)	Tempo de embebiamento (h) ¹	Temperatura de cozimento (°C) ²	Tempo inicial para cozimento ³	Peso após cozimento ⁴ (g)
Macaçar	250	950	17	100	8	1200
Carioca	250	950	17	100	8	1200

1. A 24°C; 2. Equipamento para cocção; 8 panelas de aço em fogão elétrico; 3. Tempo necessário para a temperatura da água atingir 100°C; 4. Perda de água por evaporação e complementação com água fervente.

Na avaliação sensorial para o perfeito tempo de cocção, utilizou-se uma escala de 5 atributos listados no quadro 12. O tempo ótimo foi determinado,

quando a equipe de análise sensorial considerou os feijões perfeitamente cozidos, utilizando as categorias de classificação descritivas do grau de cozimento.

Quadro 12. Avaliação sensorial do grau de cozimento.

Categoria	Grau de Cozimento	Sabor	Textura
A	ainda cru	cru, acre,	dura, seca,
B	não cozido o suficiente	ainda cru e acre	duro, grão e casca seca
C	perfeitamente cozido	gosto típico, puro	"al dente" macio, úmido
D	totalmente cozido	aguado, ácido	polpa macia e casca firme
E	re-cozido	insípido, ácido	polpa macia, desintegrando

4.4 Análise sensorial

As qualidades sensoriais foram medidas por um painel de 5 panelistas devidamente treinados. Durante e após o cozimento, a textura, a forma, o odor, a cor e o sabor foram avaliados conforme descritivo dos panelistas, usando uma escala de nove pontos, de acordo com o "Official Collection of Testing Methods according to paragraph 35 LMBG 1990". A seguinte escala de pontos foi utilizada:

- 9 Perfeito, Ótimo
- 8 Típico, sem alterações
- 7 Típico com pequenas alterações
- 6 Alterações notáveis
- 5 Suaves deficiências
- 4 Pronunciadas deficiências
- 3 Fortes deficiências
- 2 Muito fortes deficiências
- 1 Completamente alterados (não se pode medir).

Imediatamente após o cozimento as amostras foram analisadas, média e desvio padrão foram calculados e aplicado o teste T

4.5 Ensaio biológico

A utilização protéica líquida (NPU), a digestibilidade aparente (Da) e o valor biológico aparente (VB), foram calculados de acordo com Pellet & Young (1980). Nestas determinações, foram utilizados grupos de 8 ratos recém desmamados, para cada dose de cada variedade e todos receberam dieta e água "ad libitum". Os ensaios foram de curta duração (10 dias), sendo os cinco primeiros dias de adaptação às rações e às condições do ensaio. As medidas feitas de consumo da dieta, ganho de peso, ingestão e excreção de nitrogênio, ingestão e excreção de matéria orgânica não nitrogenada, excreção fecal e de urina, permitiram os cálculos de consumo alimentar, crescimento dos ratos e dos índices de valor nutritivo. Durante os ensaios, a temperatura do laboratório foi mantida a $20-22^{\circ} \text{C} \pm 1^{\circ} \text{C}$, com alternância automática de claro-escuro em períodos de 12h e umidade relativa do ar de 65%.

4.5.1 Animais

Foram utilizados 96 ratos, linhagem Sprague-Dawley machos, recém desmamados, pesando 40 - 50 g, todos SPF (Livres de Patógenos Específicos) provenientes do biotério fornecedor Charles Wiga, Sulzfeld, Alemanha. Utilizaram-se 8 ratos para cada dose de radiação em cada variedade de feijão. Assim que chegaram, os animais eram colocados em gaiolas Macrolon e tinham acesso livre à ração e água utilizadas normalmente no biotério com a finalidade de aclimação, por 4 dias. Subseqüentemente, os animais foram adaptados, durante 4 dias, a suas dietas experimentais (*ad libitum*). Após o período de adaptação, os ratos foram

pesados e colocados em gaiolas metabólicas individuais de aço inox. Os grupos foram alimentados com 10 g da ração de cada experimento, por 4 dias com acesso livre de água. O alimento refutado foi coletado e pesado diariamente. Também as fezes e a urina foram coletadas e pesadas diariamente.

4.5.2 Preparação das rações

As rações foram preparadas para conter 10% de proteínas provenientes dos feijões. A ração foi preparada da seguinte forma: imediatamente após o cozimento, as amostras de feijão foram passadas no liquidificador, utilizando-se todo o caldo. Foram colocadas em bolsas plásticas e fechadas hermeticamente, após retirada do ar, congeladas e em seguida liofilizadas. O material liofilizado foi utilizado no preparo da ração. A composição da ração, para cada variedade utilizada, foi preparada segundo Delincée & Bogнар (1993) e é mostrada nas tabelas 1 e 2.

Tabela 1. Composição da dieta - Feijão macaçar.

Feijão macaçar	408 g
Mistura vitamínica^a	20 g
Mistura de minerais^b	60 g
Óleo de milho Mazola	40 g
Açúcar comum refinado	100 g
Amido de milho	372 g
Total	1.000 g

a) Mistura vitamínica C 1000 da ALTROMIN (ANEXO 1);

b) Mistura de sais minerais C 1000 da ALTROMIN (ANEXO 2).

Após o preparo de cada ração, o conteúdo protéico de 10% foi confirmado por análise de micro Kjeldahl.

Tabela 2. Composição da dieta - Feijão carioca.

Feijão carioca	544 g
Mistura vitamínica^a	20 g
Mistura de minerais^b	60 g
Óleo de milho Mazola	40 g
Açúcar comum refinado	100 g
Amido de milho	236 g
Total	1.000 g

a) Mistura vitamínica C 1000 da ALTROMIN (ANEXO 1);

b) Mistura de sais minerais C 1000 da ALTROMIN (ANEXO 2).

Os feijões utilizados no preparo das rações foram convenientemente cozidos para a destruição dos fatores antinutricionais. Todos os produtos e reagentes utilizados foram p.a.

4.6 Determinação dos compostos fenólicos

4.6.1 Fenólicos totais

A análise dos fenólicos totais foi feita segundo o método de Swain, T & Hills, W.E. (1959) e foram utilizadas 2,5 g das amostras de feijão cru e liofilizado do mesmo lote usado para a análise do valor nutricional. A solução Folin Denis e o carbonato de sódio foram utilizadas para a complexação e a formação de cor. A absorvância foi lida em 720 nm no espectrofotômetro. Foi feito um branco utilizando-se H₂O ao invés de amostra e para a curva padrão, utilizou-se a catequina em concentração de 0 - 0.2 mg mg/mL. Todos os produtos e reagentes utilizados foram p.a.

4.6.2 Determinação de taninos

Para a análise dos taninos, utilizamos o método de Price, M.L. et al. (1978) e também foram utilizadas amostras de feijão cru e liofilizado do mesmo lote usado para a análise do valor nutricional. Utilizaram - se 2,5 g de feijão e adicionaram - se 5.0 mL do reagente de vanilina 1% metanol com 4% HCl, (previamente aquecido a 30°C) para o desenvolvimento da cor. Para cada amostra, foi feito um branco e para todas as doses de radiação, seguiu-se o mesmo procedimento. A absorbância foi lida no espectrofotômetro a 500 nm. Para a curva Padrão utilizou-se a catequina em concentração de 0 - 1,0 mg / mL Todos os produtos e reagentes utilizados foram p.a.

4.7 Determinação dos diferentes inositois fosfato

As diferentes frações dos fitatos foram medidas segundo as metodologias utilizadas por Greiner (1993) e Sandberg & Ahderinne (1986). 200 g de cada amostra foram moidos no moedor moulinex e peneirados em peneira com malha de 0.5 mash. Para a extração, dissolveu-se 1 g da amostra em 20 mL de HCl 2,4% e agitou-se por 3 horas em temperatura ambiente. Centrifugou-se a 18.000 rpm, 39.200 g por 30 minutos a 24°C. O sobrenadante foi congelado e em seguida descongelado e centrifugado a 16.000 rpm, 31.000 G por 30 minutos a 24°C. 1 mL do extrato foi pipetado e adicionado mais 25 mL de água bidestilada, agitando-se em seguida. Eluiu-se em coluna de alteração Aniônica, AG1-X 4, 100 - 200 mesh, lavando-se com água bidestilada e logo após com 25 mL da solução de HCl (0.025 M). Para a eluição dos diferentes inositois fosfato, usaram - se 20 mL de HCl 2 M. Utilizaram-se 15 mL do extrato eluído, para a separação das diferentes frações. Colocou-se em banho de ultra-som por 5 minutos e evaporou-se em evaporador rotatório até 5 mL da amostra, adicionou-se mais 10 mL de água bidestilada e por duas vezes mais repetiu-se este procedimento. Evaporou-se até

secar. Após evaporado, colocaram-se 500 μ L de água bidestilada para dissolver o inositol fosfato das paredes do frasco. Levou-se novamente ao banho de ultra-som por 5 minutos. Congelaram-se as amostras de 500 μ L. Desta solução, retiramos 20 μ L para usar no HPLC.

Para a separação por HPLC, foram utilizadas colunas ULTRASEP ES 100 RP18 (2x250mm), 0.4mL/minuto. O eluente foi constituído por ácido fórmico, metanol, H₂O, TBAH (TetraButilAmonium Hidroxido). 44:56:5:1.5,v/v, pH 4.25. Com este método pode - se quantificar o hexafosfato, pentafosfato, tetrafosfato e o trifosfato. O valor encontrado para IP₆ é o valor correto, para o IP₅ necessita multiplicar por 1.1; para o IP₄, multiplico por 1.5 e para o IP₃ multiplico por 2.4 (estes valores são os diferentes índices dos diferentes inositóis fosfatos). Todos materiais utilizados foram lavados com solução de EDTA a 1 %. Todos os produtos e reagentes utilizados foram p.a.

4.8 Determinação do conteúdo de vitaminas B₁, B₂ e B₆

Foram determinadas fluorometricamente por HPLC II (high-performance liquid chromatography), conforme a metodologia usada nos laboratórios do Instituto de Química e Biologia, Stuttgart, Alemanha (Bognár,1997). Eluição isocrática, coluna de nucleosil 120, C18, 5 μ m (Macherey + Nagel). As análises foram feitas em duplicatas.

Utilizaram - se as amostras cozidas e liofilizadas. O conteúdo de matéria seca foi determinado gravimetricamente por secagem a 103^oC. Dissolveram - se 20 g de amostra em 100 mL de HCl (0,1 M), e 1 mL de óleo de silicone. Deixou-se em banho até atingir 250°C e autoclavou-se por trinta minutos. Deixou-se resfriar até atingir a temperatura de 25°C. Usou-se 610 μ L de acetato de Sódio 2,5 M para B₆ e 580 μ L para B₁ e B₂. O preparo das enzimas foi feito da seguinte forma: 1) Para B₁ e B₂ - Taka-Diastase from *Aspergillus oryzae* - marca

SERVA - 35740, foi pesada 5 g de enzima e dissolvida em 50 mL de H₂O. O que corresponde a 200 mg por amostra (5/50 mL = 2mL por amostra = 200 mg / amostra); 2) Para B₆ - β-Glucosidase (SIGMA, EC 3.2.1.21) from Almonds, 25.000 unidades. Foi pesada 240 mg de enzima e dissolvida em 16 mL H₂O. O que corresponde a 15 mg por amostra. Pipetaram - se 2 mL das respectivas enzimas para B₅, B₁ e B₂ nas amostras. Para B₆, Tampou-se e colocou-se em banho com agitação por 18 horas a 37°C. Para B₁ e B₂, misturou-se suavemente e colocou-se por 18 horas no banho a 45°C. Para os brancos, foram feitos os mesmos procedimentos substituindo-se os 12,5 mL de amostra por 2,5 mL de HCl (1 M).

Após as 18 horas, para B₆, adicionou-se 450 microlitros de H₂SO₄ (1M) e 15 mL de H₂O bidestilada. Devidamente tampado foi colocado em banho a 20°C por 30 minutos. Completou-se com H₂O bidestilada até 20 mL. Verteu-se nos frascos de plástico com tampa e congelou-se. Para B₁ e B₂ colocou-se 400 µL de H₂SO₄ (1 M) e 15 mL de H₂O bidestilada em banho com temperatura de 20°C por 30 minutos, completou-se até 20 mL e agitou-se 3 vezes suavemente, verteu-se nos frascos de plástico com tampa e congelou-se. Todos os produtos e reagentes utilizados foram p.a. A retenção da vitamina B₆ nas amostras foi calculada do seguinte modo:

$$\% \text{ de retenção} = \frac{A}{B} \cdot 100$$

A = conteúdo de vitamina em 100 g de material liofilizado da amostra irradiada e cozida, incluindo o caldo;

B = conteúdo de vitamina em 100 g de material liofilizado da amostra não irradiada e cozida, incluindo o caldo.

4.9 Determinação do conteúdo protéico

O conteúdo de nitrogênio dos feijões, rações, urina e fezes dos animais, foram determinados em triplicatas segundo o método de micro Kjeldahl (AOAC, 1984). Determinou-se o conteúdo de proteína bruta (% N x 6,25) das

amostras cozidas e liofilizadas dos feijões. As leituras foram feitas no aparelho marca Kjelttec Auto 1030. Todos os produtos e reagentes utilizados foram p.a.

4.10 Métodos de detecção de irradiação

4.10.1 Teste de germinação - "half - embryo test"

Foram colocados 40 grãos de cada tipo de feijão por 3 horas de molho em água destilada, para o desenvolvimento do teste de germinação. Para cada dose, são utilizadas três placas de Petri com 10 grãos em cada; forrou - se com papel de filtro umedecido e na tampa, identificamos o material corretamente. Tirou-se a casca dos feijões e abriu-se ao meio a semente. Utilizou-se a metade na qual permaneceu o eixo embrionário, esta parte foi colocada sobre o papel de filtro úmido, as placas com as amostras de cada dose, foram fechadas com papel alumínio para garantir a escuridão total e colocadas em estufa controlada a $35^{\circ} \pm 1^{\circ}\text{C}$, seguindo-se as orientações de Kawamura et al. (1996). Após 24 h inicia-se a medição dos brotos e das raízes com registros do crescimento dos brotos e das raízes em milímetros, conforme ilustrado na figura 2. Baseado na observação do crescimento das raízes e folhas por um período total de 3 dias, as diferenças encontradas nas medidas das duas espécies estudadas são avaliadas.

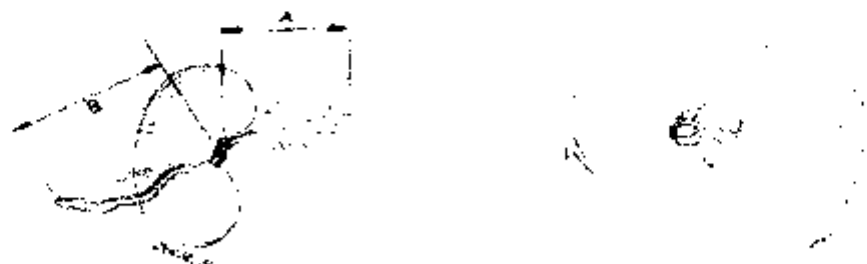


Figura 2. Esquema de medida da germinação, pelo "half embryo test", do broto e da raiz dos feijões.

4.10.2 Teste do DNA

A eletroforese em gel de agarose horizontal, tem sido o método padrão usado para separar, identificar e purificar os ácidos nucleicos e seus fragmentos. Utilizou-se o procedimento modificado por Cerda *et al.* (1993, 1997) e adaptado por nós, para uso em feijões.

Para o ensaio de DNA com os feijões, foram utilizadas 10 sementes de cada amostra, colocadas por 30 minutos, de molho em H₂O bidestilada. Retirou-se a casca, cortou-se na região do broto e retirou-se uma amostra. Pesou-se 1,6 g da amostra macerada e homogeneizada. 4 mL de PBS pH 7.4 foram adicionados e levou - se, por 5 minutos ao banho de gelo, com agitação. Filtrou-se em gase normal, repetiu-se a filtração em filtros com malha de 125 μ (toda esta etapa em banho de gelo por 15 minutos para o amido ir para o fundo).

Pipetaram - se 100 μ L da suspensão de células e 600 μ L da segunda agarose num frasco e misturou-se bem. Pipetaram-se 100 μ L desta mistura na lâmina pronta com a primeira agarose e cobriu-se com a lamínula. Deixou-se 5 minutos sobre o suporte com gelo. As lamínulas foram retiradas e colocadas em banho na solução de LISE por 15 minutos. Antes da eletroforese, as lâminas foram mantidas na câmara por 5 minutos na solução de TBE. Fez-se a corrida de eletroforese por 2,5 minutos e em seguida lavou-se em H₂O bidestilada, colocou-se na bandeja com papel absorvente para escorrer e em estufa até secagem (aproximadamente 20 minutos a 1 hora a 50° C).

Seguiu-se o método para a fixação e posterior coloração. A contagem das células foi feita em microscópio ótico comum, em aumento de 40 vezes para a contagem e medida do tamanho das células, em forma de cometas. Foram contadas 100 células em cada lâmina e para cada formato de célula tipo cometa, foi dado um número, como mostra a figura 3.

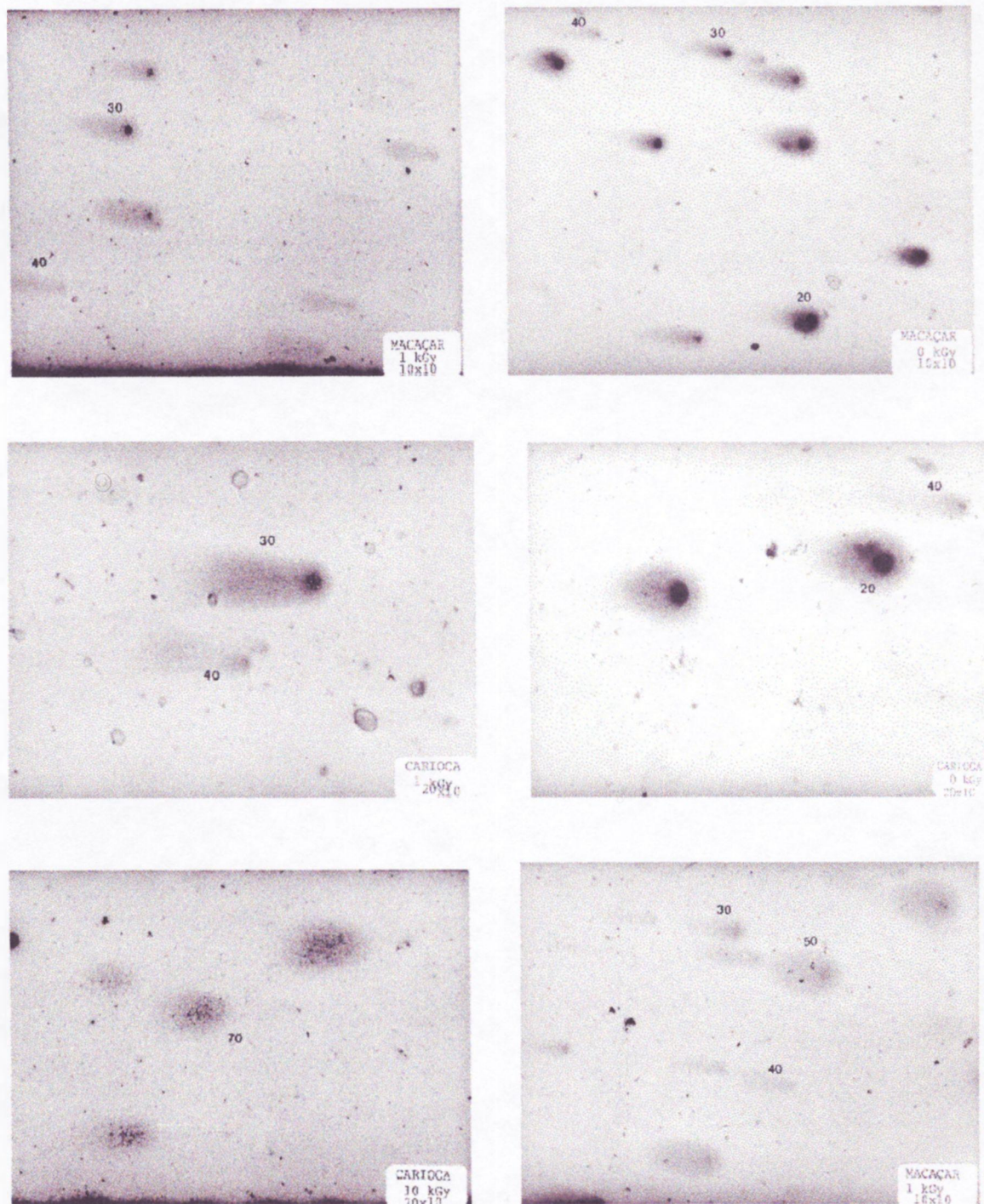


Figura 3. Medidas do deslocamento do DNA da suspensão de células do cotilédone de feijão em gel de agarose, submetidos a diferentes doses de radiação.

Tampão para eletroforese: 0,45 M TBE (Tris-Borato-EDTA - solução estoque)
para 1 litro:

0,446 M tris	54 g
0,445 M ácido bórico	27,5 g
0,5 M EDTA, pH 8.0	20 ml

Tampão LISE: 0,045 M TBE com 2,5% de SDS

Tampão PBS, pH 7,4 estéril: Completar para 1 litro com H₂O bidestilada (q.s.p).

8g	NaCl
0,2g	KCl
1,44 g	Na ₂ HPO ₄

Solução Fixadora: Completar para 1 litro com H₂O bidestilada (q.s.p).

15%	TCA
5%	ZnSO ₄
5%	Glicerina

Solução de coloração: Para 1 litro (q.s.p.)

A	5% Na ₂ CO ₃
B	0,02% (NH ₄) ₂ NO ₃
	0,02 % Ag NO ₃
	0,1% ácido sílicotungstico
	0,05 % formaldeído (37% ig)

Solução de interrupção: Para 1 litro (q.s.p.)

1%	HAC
----	-----

Primeira agarose - 0,5% L-Agarose em H₂O destilada;

Segunda agarose 0,75 % L-Agarose em PBS.

Todos os produtos e reagentes utilizados foram p. a.

4.10.3 Análise por termoluminescência

Para esta metodologia, foram utilizados *Phaseolus vulgaris* lin. var. carioca e duas técnicas de extração dos minerais foram testadas. O isolamento e as medidas dos minerais foram feitas de acordo com as normas da Comunidade Européia, CEN - No. 1788 (1996).

250 g de grãos foram colocadas em beakers de 400 mL e completou-se com H₂O bidestilada. Duas baterias A e B foram feitas:

A- amostras peneiradas;

B- amostras de feijão passadas no banho de ultra-som por 10 minutos.

Para cada bateria de testes, foram feitos os respectivos controles com H₂O bidestilada. Deve-se tomar em conta para esta análise que, os minerais são sensíveis à luz, não deve-se trabalhar em luz intensa. É crucial para o resultado desta metodologia, que o ambiente esteja limpo de qualquer contaminação.

As leituras das amostras foram feitas utilizando-se um aparelho ELSEC modelo C 7185 TL reader com taxa de aquecimento de 10⁰C/sec. e uma temperatura final de 500⁰C. A câmara de aquecimento do leitor de TL era refrescada com nitrogênio (99.996%) e o sistema era checado internamente por uma fonte de ¹⁴C.

Reirradiaram - se as amostras com 0.5 e 1 kGy na Gammacell e colocou - se em estufa por 30 minutos a 50° C para tirar os picos que não são da irradiação. Novamente fez - se a leitura da TL, o obteve - se a segunda e a terceira curva. Somente após a segunda irradiação, pode - se analisar se o material foi ou não irradiado. Todos os produtos e reagentes utilizados foram p.a.

4.10.4 Análise por cromatografia gasosa

Para as análises de CG-MS, utilizou-se as duas variedades de feijões e foram feitas as comparações entre os feijões crus irradiados e os controles, ambos após os 6 meses de estocagem. As doses de radiação variaram de 0, 0.5, 1.0, 2.5, 5.0 e 10.0 kGy. Para a detecção dos hidrocarbonetos, a gordura foi isolada das amostras por extração em solvente. A fração de hidrocarboneto foi obtida por cromatografia com florissil e subsequentemente usando-se um cromatógrafo à gás com detector de ionização de chama (FID) acoplado a um espectrômetro de massa. Todos os reagentes e materiais utilizados tiveram que ser checados para evitar possíveis contaminações com hidrocarbonetos (Hartmann *et al.* 1995).

Para a extração dos lípides, seguiu-se a metodologia de Hartmann *et al.* 1996, onde 25g de cada amostra dos feijões, homogenizados, foram misturados com 25g de sulfato de sódio anidro. A extração foi feita utilizando-se um aparelho Soxhlet durante 5 horas com n-hexano sob refluxo. A análise dos ácidos graxos foi feita pelo preparo dos ácidos graxos metilesteres, usando-se o trimetilsulfonihidróxido (DGF-method C-VI 11e), seguida da quantificação, utilizando-se cromatografia gasosa (DGF-method- C-VI 10a) (Deutsche Gesellschaft für Fettwissenschaft e. V. Münster, 1987).

A isolamento das frações dos hidrocarbonetos foram feitas segundo a metodologia descrita por Hartmann *et al.* 1996. Os hidrocarbonetos foram eluídos com 4 mL de n-hexano a uma taxa de fluxo de 0.5 - 1 mL/min. Para evitar evaporação, 0.5 mL de iso-octano foi adicionado ao eluato, que foi então concentrado num evaporador rotatório até cerca de 0.5 mL. Utilizou-se colunas da J & W Scientific, DB - 5, 30m x 0.32 mm (i.d.) com fase estacionária de 0.25 μ m (5% difenil, 95 % polisiloxane), acoplada a uma abertura de retenção, 2m x

0.53 mm (i.d.), fenil desativado (Macherey & Nagel) do tipo MEGA 5300 da Carlo-Erba, cromatógrafo equipado com detector de ionização de chama.

Os padrões foram adquiridos da TeLA Technische Lebensmittel und Umweltanalytik GmbH, Berlin. As medidas quantitativas foram baseadas na comparação relativa dos picos das áreas com os padrões internos e as análises foram feitas em duplicatas. Todos os produtos e reagentes utilizados foram p.a.

4.11 *Análise estatística*

A análise estatística dos resultados sobre a homogeneidade dos grupos para as variáveis investigadas, foi realizada aplicando-se a análise de variância ANOVA (Yaname, 1977).

Quando foi detectada alguma diferença entre as médias dos grupos, elas foram comparadas pelo teste t de Student ou pelo teste de comparação múltipla de Tukey-Kramer, através do programa GraphPad InStat, versão 2.01, da GraphPad Software.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos com as duas variedades de feijão, *Phaseolus vulgaris* L., cultivar Carioca e *Vigna unguiculata* (L.) Walp., cultivar Macaçar, são mostrados a seguir. A sequência dos resultados apresentados obedece às análises do tempo de cocção, análise sensorial, fenólicos totais, taninos, inositolis fosfatos, análise das vitaminas B₁, B₂ e B₆, análise nutricional e os resultados obtidos com os métodos de detecção de alimentos irradiados pelos testes de germinação, análise do DNA, termoluminescência e cromatografia gasosa-espectrometria de massa para detecção de hidrocarbonetos formados no processo de irradiação nestes dois cultivares de feijões irradiados e estocados por 6 meses. Algumas metodologias foram aplicadas em apenas um dos dois cultivares, assim como em alguns casos foram utilizadas somente as doses 0, 1 e 10 kGy para demonstrar os contrastes obtidos pelo tratamento com radiação.

5.1 Análise do tempo de cocção

Para ambos os cultivares, foi observado um decréscimo linear do tempo de cocção com o aumento da dose de radiação, independente do tempo de estocagem.

O tempo de cocção para as duas variedades, medidos após 24 h da irradiação, no cozedor Mattson, está expresso na tabela 3, onde podemos observar que nas amostras tratadas com radiação, há uma variação significativa no tempo de cozimento.

Tabela 3. Efeito da dose de radiação sobre o tempo de cocção dos feijões, 24 horas após a irradiação.

Dose (kGy)	cultivar Carioca (min.)	cultivar Macaçar (min.)
0	65	34
0,5	46	29
1	42	22
2,5	32	11
5	28	07
10	10	03

A redução no tempo de cocção após o tratamento com radiação, tem sido descrita para diferentes tipos de leguminosas, de acordo com Nene *et al.* (1975), Ismail *et al.* (1976), Iyer *et al.* (1980), Aguilera & Stanley (1985), Rao & Vakil (1985), Aurangzeb *et al.* (1990), (Mancini-Filho, 1990), feijões brancos, ervilhas e lentilhas sofrem pequenas ou nenhuma alteração com doses baixas de radiação, conforme trabalho de Delincée *et al.* (1993). A redução no tempo de cocção tem sido atribuída a alterações do amido de acordo a Sabularse *et al.* (1991). O aumento da solubilidade do amido também foi observado logo após doses de radiação segundo El-Saadany *et al.* (1979).

Pode-se observar nas figuras 4 e 5, os efeitos das doses de radiação sobre o tempo de cocção após 6 meses de estocagem. Nas doses maiores, acima de 2.5 kGy, o tempo de cozimento diminuiu bastante, porém estas doses não estão permitidas para desinfestação de grãos. Outros estudos tem demonstrado que o amolecimento do tecido vegetal pela irradiação está associado a alterações nas substâncias pécicas (Yu *et al.*, 1996).

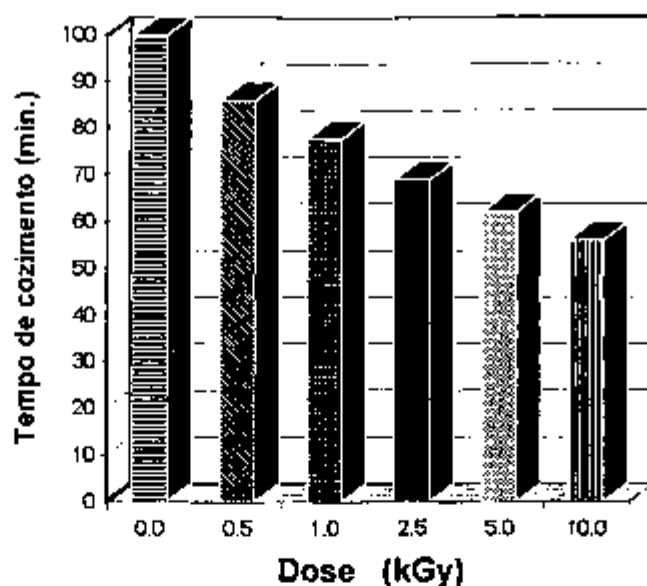


Figura 4. Efeito da dose de radiação sobre o tempo de cocção após 6 meses de estocagem (feijão carioca).

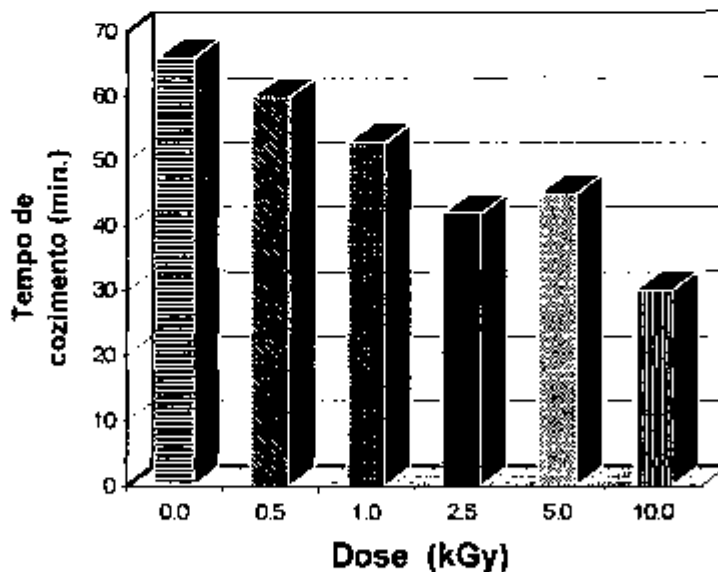


Figura 5. Efeito da dose de radiação sobre o tempo de cocção após 6 meses de estocagem (feijão macaçar).

Uma vez que a irradiação degrada as substâncias pécicas que constituem a lamela média, pode ocorrer uma diminuição no tempo de cocção dos feijões. No entanto, o efeito da irradiação deve ser otimizado não somente na redução do tempo de cocção, mas também de acordo com as propriedades sensoriais, retenção de vitaminas e qualidade proteica (Delincée *et al.*,1993). Estudos com radiação ionizante para degradar celulose de bagaço de cana, casca de arroz e de algodão a serem utilizados em ração animal, são apresentados por Kikuchi & Del Mastro (1993).

5.2 Análise das características sensoriais

A influência do tempo de estocagem nas características sensoriais de acordo com a classificação de cor, textura, sabor, odor e forma, são apresentados na tabela 4. Observamos que para as doses de até 1.0 kGy, os valores encontrados demonstram que o alimento encontra-se similar ao controle, nos dois cultivares estudados.

Para as amostras de 2.5 kGy não são encontradas grandes variações relativas à irradiação em ambas as variedades analisadas. Nas doses que excedem 5 kGy, para ambas as variedades, são notadas grandes transformações no odor, sabor, cor, textura e forma, além de se tornarem inadequadas para o consumo, conforme julgamento dos panelistas.

Rao e Vakil (1985), mostram que a intensidade nas alterações de cor, odor e sabor, aumentam em função da dose de radiação. Delincée *et al.*(1993), citam que não há diferenças significantes para feijão branco, ervilhas e lentilhas com doses até 5 kGy embora algumas diferenças possam ocorrer.

Tabela 4. Avaliação das características sensoriais dos feijões carioca e macaçar irradiados e estocados por 6 meses.

Dose (kGy)	Cor	Odor	Sabor	Forma	Textura
Feijão Carioca					
0	9	9	9	9	9
0,5	8	7 - 8	7 - 8	7 - 8	7 - 8
1	7 - 8	7	7	7 - 8	7
2,5	7	6	6	7	6
5	6	5	5	7	6
10	6	5	4	6	6
Feijão Macaçar					
0	8	7	7	8	7
0,5	8	7	7	8	7
1	8	7	7	8	7
2,5	7	6	6	8	7
5	7	4	4	7	6
10	7	7	7	6	6

Apesar da pequena quantidade, os lípidos em *Phaseolus vulgaris*, são responsáveis pelo desenvolvimento de "off-flavours" durante a estocagem destes feijões (Kermusha *et al.*, 1988). Estes "off-flavours" são relacionados com produtos da degradação de ácidos graxos insaturados. Os ácidos graxos linoléico e linolênico são precursores de aldeídos voláteis de cadeias curtas (Jadhav *et al.*, 1972; Arens *et al.*, 1973), e de aldeídos de cadeia longa voláteis e não voláteis (Grosch & Schwarz, 1971). Os compostos voláteis estão associados com o aparecimento do "off flavor" e com as condições de armazenamento (Van Ruth *et al.*, 1995), devido principalmente à oxidação lipídica.

5.3 Determinação dos compostos fenólicos

Até o presente, muitos estudos foram feitos para extensão da vida de prateleira em alta temperatura de estocagem e alta umidade direcionados a elucidar as alterações fisiológicas pós-colheita em muitos componentes físicos e químicos relacionados ao tempo de cozimento das sementes. Entretanto, alguns trabalhos estão sendo feitos para se determinar as alterações dos componentes antinutricionais nos feijões com relação ao desenvolvimento do fenômeno de endurecimento (Sefa-Dedeş *et al.*, 1979; Varriano-Marston & Jackson, 1981; Mafuleka *et al.*, 1993; Kilmer *et al.*, 1994; Mills *et al.*, 1995; Liu, 1997). Nos últimos anos, estudos com relação aos efeitos antinutricionais de certos compostos biológicos tais como os fitatos e os polifenóis tem aumentado. Todavia, é pouca a informação a cerca do período longo de estocagem e a alteração nos diferentes tipos de fenólicos tais como os polifenóis totais, não taninos, polifenóis, taninos e lignina (Martin-Cabrejas, 1997).

5.3.1 Análise dos fenólicos totais

Na tabela 5 observamos os resultados referentes às concentrações de fenólicos totais, nas duas variedades, depois de terem sido irradiadas e estocadas por 6 meses. Em ambas variedades, conforme podemos observar, os grãos crus analisados, não apresentam modificações no teor de fenólicos totais, frente às diferentes doses, de até 5 kGy. Porém nas doses de 10 kGy, as diferenças encontradas são significativas. Estes resultados mostram que as doses de radiação até 5 kGy, não causam efeitos nos índices de fenólicos totais em feijões não cozidos. Nos resultados encontrados para as amostras cozidas, observou-se uma diminuição em função das doses de radiação. Na dose de 1 kGy, permitida para desinfestação de grãos,

observamos uma redução de 7% nos valores encontrados, em relação ao controle não irradiado.

TABELA 5. Efeito de diferentes doses de radiação no conteúdo total de fenólicos nas duas variedades de feijões.

DOSE (kGy)	FENÓLICOS (mg/g)*	
	CRU	COZIDO
Feijão carioca		
0	0,48 ± 0,00 ^a	0,72 ± 0,00 ^a
0,5	0,49 ± 0,00 ^a	0,73 ± 0,05 ^a
1	0,48 ± 0,01 ^a	0,67 ± 0,01 ^b
2,5	0,48 ± 0,00 ^a	0,63 ± 0,02 ^{bc}
5	0,49 ± 0,01 ^a	0,57 ± 0,00 ^{cd}
10	0,52 ± 0,01 ^a	0,51 ± 0,02 ^e
Feijão macaçar		
0	0,30 ± 0,00 ^a	0,42 ± 0,01 ^a
0,5	0,30 ± 0,01 ^a	0,39 ± 0,00 ^{a,b}
1	0,30 ± 0,01 ^a	0,38 ± 0,00 ^b
2,5	0,31 ± 0,01 ^a	0,34 ± 0,01 ^c
5	0,30 ± 0,00 ^a	0,32 ± 0,01 ^{cd}
10	0,25 ± 0,04 ^b	0,29 ± 0,01 ^{de}

(*) = médias, ± desvio-padrão, (n = 3). Em uma mesma coluna, médias com sobrescrito diferentes, são estatisticamente diferentes (P<0,05).

Nossos resultados estão de acordo com os apresentados por Pinn *et al.* (1993). Para ambas as variedades, após o tratamento com radiação, encontramos uma redução nos fenólicos totais proporcional à dose de radiação.

Ogiangbe & Origbinde (1996), em seus estudos com *Vigna unguiculata* (L) Walp, usaram a mesma metodologia para medir o conteúdo de fenólicos e os valores encontrados para as amostras cruas são similares aos nossos resultados, respeitando-se as características genéticas e diferenças climáticas. Pode-se com isso supor que as diferenças nos valores encontrados nas amostras cozidas são provenientes de efeitos da temperatura no conteúdo total das amostras analisadas.

Martin-Cabrejas (1997), encontrou em seus estudos que polifenólicos totais variam em feijões estocados por longo período quando comparados com feijões recém colhidos. Desta forma, propõe que a redução nos compostos polifenólicos totais e polifenólicos não tanínicos, deve-se, provavelmente à polimerização que acontece nestes compostos, resultando em polímeros insolúveis de alto peso molecular.

A redução de polifenóis é maior em sementes cruas quando embebidas em solução de bicarbonato de sódio, indicando assim que os polifenóis estão reagindo, formando complexos solúveis, segundo trabalho de Vijayakumari *et al.* (1996).

Uma vez que os compostos polifenólicos são solúveis em água, na natureza (Kumar *et al.*, 1979) e freqüentemente localizados nas cascas das sementes (Singh, 1988), a diminuição dos fenólicos totais em água de embebição pode estar sob a influência do gradiente de concentração deste meio (Vijayakumari *et al.*, 1996). É conhecido que a precipitação dos complexos proteínas-polifenóis, ocorre rapidamente em temperaturas elevadas (Clarkson *et al.*, 1992).

5.3.2 Análise dos taninos

Observamos na tabela 6, que os valores dos taninos para os dois cultivares indicam uma diminuição conforme o aumento da dose de radiação. Tanto para as amostras cruas como para as cozidas, estes resultados mostram que o tratamento por radiação afeta o teor de taninos.

TABELA 6. Efeito de diferentes doses de radiação no conteúdo total de taninos nas duas variedades de feijões.

DOSE (kGy)	TANINOS (mg/g)*	
	CRU	COZIDO
Feijão carioca		
0	1,8 ± 0,00 ^a	1,8 ± 0,00 ^a
0,5	1,8 ± 0,00 ^a	1,8 ± 0,00 ^a
1	1,7 ± 0,00 ^a	1,6 ± 0,00 ^b
2,5	1,6 ± 0,00 ^b	1,5 ± 0,00 ^b
5	1,4 ± 0,00 ^c	1,3 ± 0,00 ^c
10	1,4 ± 0,00 ^c	1,0 ± 0,00 ^d
Feijão macaçar		
0	0,42 ± 0,00 ^a	0,64 ± 0,00 ^a
0,5	0,40 ± 0,00 ^a	0,61 ± 0,00 ^b
1	0,39 ± 0,00 ^b	0,59 ± 0,00 ^c
2,5	0,35 ± 0,00 ^c	0,53 ± 0,00 ^c
5	0,34 ± 0,00 ^c	0,49 ± 0,00 ^d
10	0,29 ± 0,00 ^d	0,44 ± 0,00 ^e

(*) = médias, ± desvio-padrão, (n = 3) Em uma mesma coluna, médias com sobrescrito diferentes, são estatisticamente diferentes (P<0,05).

Pinn *et al.* (1993), apresentaram resultados de análise de taninos em *Phaseolus vulgaris* após a irradiação, com doses variando de 0 a 20 kGy, em que os valores encontrados também sofreram um decréscimo conforme o aumento da dose de radiação.

Estudos apresentados por Ene-Obong (1995), sobre os antinutrientes encontrados em feijões, mostraram a variação do conteúdo de taninos em diferentes variedades de *Vigna unguiculata*. Nas concentrações lidas em mg de catequina /g de amostra, como as nossas, nas variedades de cascas mais claras o teor de taninos encontrado foi nulo, porém nas variedades onde a casca era mais escura, observaram-se valores de até 1.42 mg/g. Nossos resultados também apresentam uma variação de 1.8 mg/g para o feijão carioca e de 0.42 mg/g para o feijão macaçar das amostras cruas e de 1.8 mg/g para o feijão carioca e 0.64 mg/g para o feijão macaçar cozidos.

O conteúdo de taninos encontrados nos diferentes cultivares estudados por Martin-Cabrejas (1997), variam de 0.03 a 1.56 mg/g, resultados estes similares aos encontrados por Desphande *et al.* (1982) e Barampana & Simard (1994)

Em geral, o longo período de estocagem tende a aumentar substancialmente o conteúdo de taninos. Isto ocorre possivelmente devido a compostos derivados de material não tanínico de pequeno peso molecular, indicando uma atividade bioquímica pós colheita durante a estocagem (Martin-Cabrejas, 1997). Tal processo pode incluir a atividade de enzimas peroxidase (Fry, 1986), as quais podem estar ativas nos tecidos resultantes da alta umidade e temperatura de estocagem (30 - 40° C, > 75% UR), explicando, assim, o decréscimo de fenólicos totais, e especialmente fenólicos não tanínicos, determinados pelo método de azul da Prússia por Martin-Cabrejas, 1997.

Apesar de se conhecer a ação adversa na digestibilidade proteica, os taninos dos feijões podem exercer uma atividade antioxidante nutricionalmente benéfica, conforme os estudos de Carbonaro *et al.* (1996). Taninos e outros polifenólicos (antocianinas, flavonóides), são sugeridos como antioxidantes, por serem quelantes de íons metálicos de cobre e ferro, além de extinguirem a reatividade do radical, por deslocamento do elétron no anel fenólico (Husain *et al.*, 1987; Bors *et al.*, 1990; Chimi *et al.*, 1991).

5.4 Análise das diferentes frações de inositolis fosfatos

Segundo Sandberg & Ahderinne (1986), a maioria dos métodos para determinação de fitatos são baseados na precipitação do íon férrico, trazendo consigo muitas desvantagens, sendo a mais importante a não discriminação entre os diferentes mioinositolis fosfatos. Nosso trabalho utiliza o método do HPLC proposto por Sandberg *et al.* (1989), visando a melhor forma de se detectar quantitativamente a formação dos tri-, tetra-, penta- e hexafosfatos nos feijões crus irradiados e nas amostras cozidas.

Nossos resultados para as amostras cruas do feijão carioca são apresentados na tabela 7, onde podemos observar que até a dose de 5 kGy, não temos uma variação significativa na fração IP_6 e IP_5 .

As frações IP_4 e IP_3 não foram detectadas. Para as amostras cozidas foram observadas diminuição da fração IP_6 em 21% aproximadamente, e com relação às amostras cruas, um aumento de 57% da fração IP_5 . IP_4 e quantidades traços da IP_3 aparecem. Observou-se que as amostras cozidas, conforme o aumento da dose de radiação, apresentaram um aumento no teor das frações de IP_5 e IP_4 .

Tabela 7. Efeitos da irradiação sobre as diferentes frações do fosfato de inositol do feijão carioca.

DOSE (kGy)	IP ₆ ($\mu\text{mol/g}$)*	IP ₅ ($\mu\text{mol/g}$)*	IP ₄ ($\mu\text{mol/g}$)*	IP ₃ ($\mu\text{mol/g}$)*
Cru				
0	13,5 \pm 0,0 ^a	1,9 \pm 0,0 ^a	0	0
0,5	13,5 \pm 0,0 ^a	1,9 \pm 0,0 ^a	0	0
1	13,2 \pm 0,1 ^a	1,9 \pm 0,0 ^a	0	0
2,5	13,3 \pm 0,0 ^a	1,9 \pm 0,0 ^a	0	0
5	13,2 \pm 0,0 ^a	1,9 \pm 0,0 ^a	0	0
10	12,2 \pm 0,0 ^b	1,9 \pm 0,0 ^a	0	0
Cozido				
0	10,7 \pm 0,0 ^a	3,0 \pm 0,0 ^a	0,8 \pm 0 ^a	tr
0,5	10,6 \pm 0,0 ^a	3,2 \pm 0,0 ^b	1,2 \pm 0 ^b	tr
1	10,4 \pm 0,0 ^a	3,2 \pm 0,0 ^b	1,3 \pm 0 ^b	tr
2,5	10,6 \pm 0,0 ^a	3,2 \pm 0,1 ^b	1,3 \pm 0 ^b	tr
5	10,6 \pm 0,0 ^a	3,3 \pm 0,0 ^c	1,2 \pm 0 ^b	tr
10	10,3 \pm 0,0 ^a	3,4 \pm 0,0 ^c	1,6 \pm 0 ^c	tr

(*) = médias, \pm desvio-padrão, (n = 3). Em uma mesma coluna, médias com sobrescrito diferentes, são estatisticamente diferentes (P<0,05)

IP₅ e IP₄ aumentam durante o tempo de cozimento, pois durante o cozimento, as fitases endógenas são ativadas pelo calor e hidrolisam a fração IP₆ nas formas menores de mioinositol fosfatos (Greiner, 1993) Então, o conteúdo de IP₆ diminui e IP₅ e IP₄ aumentam durante o cozimento. As enzimas endógenas de degradação de fitatos são as responsáveis pela redução do fitato durante o preparo dos feijões (Greiner & Konietzny, 1998). Este mecanismo

provavelmente ocorreu com os feijões cozidos e irradiados, explicando, assim, os resultados obtidos em nosso trabalho.

Durante o processamento dos alimentos envolvendo calor (>140°C), os fitatos naturais dos alimentos são degradados a formas menores de inositolis fosfatos, os quais tem sido descritos como indutores na solubilidade do ferro através da formação de pequenos complexos de ferro solúveis (Sandberg *et al.*, 1989).

Os resultados obtidos nas amostras do feijão macaçar são expressos na tabela 8, onde podemos observar, que os valores obtidos para as amostras cruas não se modificam significativamente para as frações IP₆ e IP₅. As frações IP₄ e IP₃ não foram detectadas.

Para as amostras cozidas, observou - se um aumento de IP₅, IP₄ e traços de IP₃. Os valores de IP₆ diminuíram em 14% aproximadamente, quando comparados com as amostras cruas. As doses mais baixas de radiação para os dois casos, não mostram ter grande influência no teor das diferentes frações.

Segundo Kon & Sanschuck, 1981, o tempo de cocção de feijões brancos aumentou em decorrência de um menor teor de fitato, indicando, assim, que a redução de fitato é um indicio de aumento do endurecimento da semente.

Trabalhos desenvolvidos por Mattson (1946), demonstraram que ervilhas endurecidas contêm menos fitatos do que aquelas com textura normal e que a remoção deste composto através de maceração ou ação enzimática induziu a modificação na textura. Porém, vários outros autores discordam (Nascimento, 1992).

Tabela 8. Efeitos da irradiação sobre as diferentes frações do fosfato de inositol do feijão macaçar

DOSE (kGy)	IP ₆ ($\mu\text{mol/g}$)*	IP ₅ ($\mu\text{mol/g}$)*	IP ₄ ($\mu\text{mol/g}$)*	IP ₃ ($\mu\text{mol/g}$)*
Cru				
0	8,7 \pm 0,0 ^a	1,3 \pm 0,0 ^a	0	0
0,5	8,7 \pm 0,0 ^a	1,3 \pm 0,0 ^a	0	0
1	8,6 \pm 0,0 ^a	1,0 \pm 0,0 ^b	0	0
2,5	8,7 \pm 0,0 ^a	1,3 \pm 0,0 ^a	0	0
5	8,6 \pm 0,0 ^a	1,5 \pm 0,0 ^c	0	0
10	8,6 \pm 0,0 ^a	1,3 \pm 0,0 ^a	0	0
Cozido				
0	7,5 \pm 0,0 ^a	1,9 \pm 0,0 ^a	0,4 \pm 0 ^a	traços
0,5	7,4 \pm 0,0 ^a	1,9 \pm 0,0 ^a	0,4 \pm 0 ^a	traços
1	7,5 \pm 0,0 ^a	2,1 \pm 0,0 ^b	0,4 \pm 0 ^a	traços
2,5	7,5 \pm 0,0 ^a	2,1 \pm 0,0 ^b	0,4 \pm 0 ^a	traços
5	7,4 \pm 0,0 ^a	2,2 \pm 0,0 ^b	0,4 \pm 0 ^a	traços
10	7,4 \pm 0,0 ^a	2,1 \pm 0,0 ^b	0,4 \pm 0 ^a	traços

(*) = médias, \pm desvio-padrão, (n = 3). Em uma mesma coluna, médias com sobrescrito diferentes são estatisticamente diferentes (P < 0,05)

Os fitatos podem ser removidos das sementes por um processo de difusão, pois apresentam elevada solubilidade em água, ou através de hidrólise enzimática (Mancini-Filho, 1990). Chang et al., 1977, observaram que os feijões embebidos por 10 horas a 60°C, perdiam quase totalmente o conteúdo de fitatos, através de hidrólise (75%) e por difusão (25%) para a água de embebedimento. Greiner & Konietzny (1998) mostraram em seu trabalho que a difusão ocorre somente em altas temperaturas (50°C), porém, em altas

temperaturas ambas, difusão e degradação enzimática são responsáveis pela redução do fitato durante o processamento do alimento. Desta forma, comendo-se junto com o alimento a água em que este feijão foi cozido, estaremos ingerindo os inositol fosfatos difundidos no meio.

Muitos fatores, incluindo fitatos e taninos, podem contribuir para uma baixa biodisponibilidade de ferro nos feijões (Ummadi *et al.*, 1995). Os fitatos tem sido identificados como inibidores da biodisponibilidade de ferro (Brune *et al.*, 1992). Pesquisas mostram que há uma considerável variação no conteúdo de fitatos conforme a variedade do feijão, população e genótipo (Griffiths, 1982).

Excessivas quantidades de fitato na dieta podem ter um efeito negativo no balanço dos minerais, pois forma complexos insolúveis com minerais essenciais consequentemente reduzindo sua biodisponibilidade (Burbano, 1995).

Segundo Greiner (1993), as fitases do alimento são ativadas no estômago humano. Assim, IP_6 será degradado a ésteres menores de mioinositol fosfato. Se estas fitases forem inativadas pelo processamento do alimento, a degradação das diferentes frações será impossível.

Na tabela 9, observou-se que, para as duas variedades, a atividade enzimática diminui, conforme o aumento da dose de radiação.

Para as amostras cozidas, não foi verificada nenhuma atividade de fitase, por estas serem termolábeis. Os fitatos são menos degradados durante a fermentação de sorgo quando há alto conteúdo de taninos, indicando assim, um efeito inibidor dos polifenóis na atividade das fitases.

Tabela 9. Efeitos da irradiação sobre a atividade da fitase nas duas variedades de feijão.

DOSE (kGy)	Fitase (mU/g)*	
	CRU	COZIDO
Feijão carioca		
0	38,50 ± 0,00 ^a	0
0,5	39,00 ± 0,00 ^a	0
1	38,50 ± 0,36 ^a	0
2,5	37,00 ± 0,21 ^a	0
5	30,40 ± 0,34 ^b	0
10	27,60 ± 0,15 ^c	0
Feijão macaçar		
0	15,40 ± 0,21 ^a	0
0,5	15,00 ± 0,15 ^a	0
1	13,50 ± 0,06 ^a	0
2,5	12,70 ± 0,17 ^b	0
5	11,20 ± 0,06 ^{bc}	0
10	9,10 ± 0,17 ^c	0

(*) = médias, ± desvio-padrão, (n = 3). Em uma mesma coluna, médias com sobrescrito diferentes, são estatisticamente diferentes (P<0,05).

Vários métodos de processamento de alimentos e também de preparação, tais como embebimento, germinação e fermentação, os quais ativam as fitases intrínsecas dos alimentos, reduzem o conteúdo dos fitatos, sendo que estes mesmos métodos também reduzem o conteúdo dos polifenóis (Gustafsson & Sandberg, 1995).

talvez pela irradiação ativamos um inibidor livre de atividade da fitase. Nossos resultados não puderam ser comparados com outros por falta de estudos específicos associados aos inosítois e a irradiação de alimentos.

5.5 Análise do conteúdo de vitaminas

Os feijões, de modo geral, são citados como um dos principais alimentos fornecedores de tiamina e riboflavina em dietas de populações do estado de São Paulo (Roncada & Mazzilli, 1989). O tratamento com alta pressão no processo de alimentos com finalidades de preservação, também pode ser menos danoso para as vitaminas (Hayashi, 1992; Cheffel, 1992).

5.5.1 Vitamina B₁ - Tiamina

A literatura cita que entre as vitaminas hidrossolúveis, a vitamina C e a B₁ são as mais sensíveis durante o processamento dos alimentícios, pois a tiamina, uma vitamina sensível, se degrada em muitos compostos voláteis sob a influência do calor e da luz (Bognâr *et al.*, 1993). É sabido que as maiores fontes naturais de tiamina são os grãos, castanhas e feijões, porém dietas à base de carnes podem ser uma fonte significativa de tiamina na dieta.

A tabela 10 mostra os efeitos das diferentes doses de radiação nos dois cultivares estudados após o tratamento por radiação e o período de estocagem de 6 meses.

Observa-se um pequeno efeito no conteúdo de tiamina no cultivar carioca nas doses a partir de 2,5 kGy, já para o cultivar Macaçar, não se observam perdas significativas nas amostras.

Tabela 10. Efeito da dose de radiação e do tempo de cozimento sobre o conteúdo de vitamina B₁(Tiamina), nos feijões carioca e macaçar.

Dose (kGy)	Conteúdo de Tiamina μg/100 g matéria seca*	Tempo de Cozimento (min.)	Matéria Seca g/100g Amostra
Feijão Carioca			
0	560 ± 45 ^{**a}	100	92,8
0,5	569 ± 30 ^a	86	89,3
1	552 ± 26 ^a	78	92,7
2,5	520 ± 30 ^b	69	97,9
5	480 ± 15 ^{**c}	62	93,1
10	520 ± 20 ^{**b}	56	98,5
Feijão Macaçar			
0	380 ± 30 ^{**a}	66	97,4
0,5	370 ± 25 ^a	60	93,6
1	395 ± 20 ^a	53	93,1
2,5	395 ± 25 ^a	42	95,1
5	393 ± 25 ^{**a}	45	91,4
10	370 ± 20 ^{**b}	30	93,3

(*) = médias. ± desvio-padrão, (n = 4); (**) = médias. ± desvio-padrão, (n = 2). Em uma mesma coluna, médias com sobrescrito diferentes, são estatisticamente diferentes (P<0,05).

Observando-se os resultados do conteúdo de tiamina nas duas variedades, na figura 6, e comparando-os com os de outros autores, conclui-se que os resultados obtidos estão de acordo com outros estudos sobre o conteúdo de tiamina em alimentos irradiados (Delincée & Bognár, 1993), em níveis de doses de 1 kGy, onde ocorrem somente pequenas perdas de vitaminas do complexo B em leguminosas.

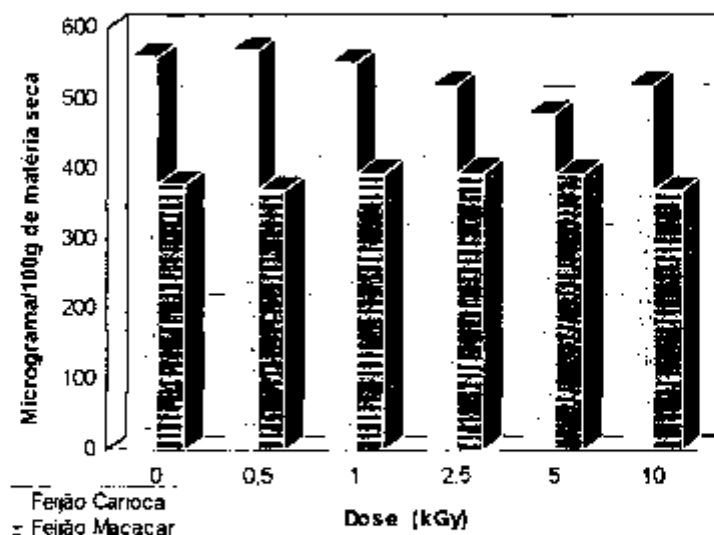


Figura 6. Efeito da irradiação sobre o conteúdo de tiamina nas duas variedades estudadas.

Perdas de tiamina são pequenas em grãos processados por radiação (Kilcast, 1994). Alterações estruturais após o tratamento por radiação nos feijões, podem reduzir o tempo de cocção e aumentar a retenção de tiamina (Sreenivasan, 1974).

A tiamina é frequentemente mais sensível ao calor do que à radiação, como mostra os estudos de Josephson *et al.* (1978), quando compara carne enlatada e esterilizada por processo térmico e radiação. Efeitos da radiação em tiamina encontrada na carne de porco, frango e peixe são descritos por Fox *et al.* (1989; 1992; 1993; 1994). Estudos com carne de frango, feitos por Hanis *et al.* (1985), mostraram o efeito benéfico da conjugação entre irradiação com baixa temperatura em processos de armazenagem prolongada e após cozimento.

5.5.2 Vitamina B₂ - Riboflavina

Na tabela 11, podemos observar os resultados em relação ao comportamento da riboflavina contida nos feijões irradiados e estocados por 6 meses.

Tabela 11. Efeito da dose de radiação e do tempo de cozimento sobre o conteúdo de vitamina B₂ (Riboflavina), nos feijões carioca e macaçar.

Dose (kGy)	Conteúdo de B ₂ µg/100 g matéria seca*	Tempo de Cozimento (min.)	Matéria Seca g/100g Amostra
Feijão Carioca			
0	248 ± 8 ^{***a}	100	92,8
0,5	245 ± 8 ^a	86	89,3
1	242 ± 6 ^a	78	92,7
2,5	245 ± 7 ^a	69	97,9
5	222 ± 8 ^{***b}	62	93,1
10	253 ± 9 ^{***c}	56	98,5
Feijão Macaçar			
0	172 ± 8 ^{***a}	66	97,4
0,5	193 ± 6 ^b	60	93,6
1	209 ± 7 ^c	53	93,1
2,5	190 ± 9 ^b	42	95,1
5	206 ± 10 ^{***c}	45	91,4
10	208 ± 8 ^{***c}	30	93,3

(*) = médias, ± desvio-padrão, (n = 4); (***) = médias, ± desvio-padrão, (n = 2). Em uma mesma coluna, médias com sobrescrito diferentes, são estatisticamente diferentes (P<0,05).

Após este período, as análises indicam um pequeno decréscimo para o feijão carioca, porém não significativo para as doses de 0,5, 1 e 2,5 kGy.

Na dose de 5 kGy, houve um significativo decréscimo e um conseqüente aumento na dose de 10 kGy. Para o feijão macaçar, que apresenta uma menor taxa inicial, verifica-se o aumento do conteúdo de riboflavina com o aumento da dose, conforme pode-se visualizar na figura 7, de acôrdo com a maioria dos dados encontrados na literatura. Segundo trabalho de Nene *et al.* (1975), um tempo de cozimento curto leva a uma retenção de vitamina B₂ em lentilhas, feijões e ervilhas.

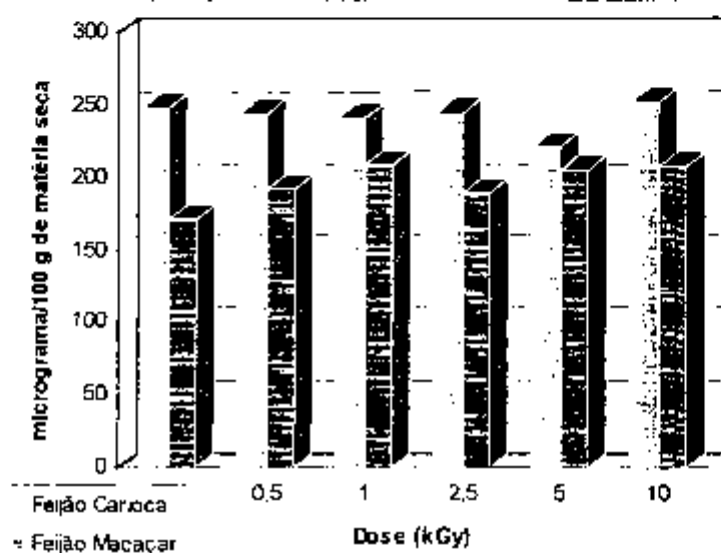


Figura 7. Efeito da irradiação sobre o conteúdo de riboflavina nas duas variedades estudadas.

O aumento da concentração de vitaminas também em alimentos, pelo processo de irradiação, tem sido descrito por diversos autores. Segundo Kilcast (1994), esses resultados podem refletir um aumento induzido pela radiação. A riboflavina tem sido descrita como a vitamina mais estável nos tratamentos por radiação que as vitaminas B₁ e B₆ (Bognár *et al.*, 1993).

Fonseca *et al.* (1974) relatam uma perda de 12% de riboflavina, imediatamente logo após irradiação em dose de 0,15 kGy em kidney beans.

enquanto que após o período de estocagem de 5 meses, mostraram um percentual de perda de 7% em relação aos contrôles. Nossos dados estão de acordo com a literatura, em que Adrian & Frayssinet (1975), não observaram perdas de riboflavina em feijões Macaçar em doses de 0,15 kGy. Não foram encontradas perdas no conteúdo de riboflavina em estudos com milho, trigo e feijões tratados com doses de 0,5 a 5 kGy (Badsharh & Klopfenstein, 1989).

Em geral, os dados da literatura sobre a influência da radiação e a retenção de riboflavina em leguminosas, revelam uma pequena ou nenhuma perda (Delincée *et al.* 1993).

5.5.3 Vitamina B₆

O termo genérico vitamina B₆ é usado para designar todos os compostos derivados 3-hidroxi-2metilpiridina (Snell, 1986), sendo os três vitâmeros, a piridoxina (PN), o piridoxal (PL) e a piridoxamina (PM). As três formas são igualmente eficazes na nutrição e a maior parte da vitamina B₆ nos alimentos está na forma de piridoxal e piridoxamina. Nenhuma Unidade Internacional (IU) de atividade de vitamina B₆ foi definida e os resultados analíticos são expressos em unidades de peso (mg).

As fontes alimentares da vitamina B₆ são de origem tanto animal como vegetal e está presente em todos os alimentos naturais em carnes cruas. A maior quantidade de vitamina B₆ presente nos alimentos encontra-se na forma de PLP. As necessidades ainda não estão bem estabelecidas, porém sabe-se que são influenciadas pela quantidade de ingestão de proteínas na dieta. Quando a ingestão de proteína é mais elevada, a necessidade da vitamina B₆ é maior (Snell, 1986).

Na Tabela 12 podemos observar a quantidade total de Piridoxal, Piridoxamina e Piridoxina que foi analisada nos dois cultivares, em amostras cozidas e liofizadas.

Tabela 12. Efeito da dose de radiação e estocagem no conteúdo de vitamina B₆ das duas variedades estudadas.

Feijões X Dose (kGy)	Tempo de Coção (min.)	Conteúdo µg/100 g de Matéria Seca*				Matéria Seca (g/100g) Amostra
		Vitamina B ₆				
		Piridoxamina	Piridoxal	Piridoxina	Total	
Feijão Carioca						
0	100	162 ± 8 ^{***a}	12 ± 2 ^{***a}	318 ± 10 ^{***a}	492 ± 12 ^{***a}	92,8
0,5	86	153 ± 3 ^a	12 ± 2 ^a	315 ± 8 ^a	480 ± 8 ^a	89,3
1	78	152 ± 5 ^a	12 ± 2 ^a	316 ± 6 ^a	480 ± 6 ^a	92,7
2,5	69	146 ± 5 ^b	11 ± 2 ^a	306 ± 9 ^b	463 ± 9 ^a	97,9
5	62	121 ± 6 ^{***c}	10 ± 2 ^{***b}	290 ± 1 ^{***c}	421 ± 13 ^{***b}	93,1
10	56	111 ± 3 ^{***d}	8 ± 2 ^{***c}	265 ± 10 ^{***d}	384 ± 11 ^{***b}	98,5
Feijão Macaçar						
0	66	120 ± 4 ^{***a}	7 ± 1 ^{***a}	260 ± 9 ^{***b}	387 ± 6 ^{***a}	97,4
0,5	60	115 ± 5 ^a	4 ± 1 ^b	258 ± 7 ^a	377 ± 5 ^a	93,6
1	53	106 ± 2 ^b	3 ± 1 ^b	270 ± 8 ^a	379 ± 7 ^a	93,1
2,5	42	107 ± 3 ^b	3 ± 1 ^b	266 ± 10 ^a	376 ± 6 ^a	95,1
5	45	104 ± 6 ^{***b}	1 ± 1 ^{***c}	261 ± 12 ^{***a}	366 ± 7 ^{***b}	91,4
10	30	87 ± 8 ^{***c}	1 ± 1 ^{***c}	232 ± 11 ^{***b}	320 ± 8 ^{***c}	93,3

(*) = médias, ± desvio-padrão, (n = 4); (***) = médias, ± desvio-padrão, (n = 2). Em uma mesma coluna, médias com sobrescrito diferentes, são estatisticamente diferentes (P < 0,05).

Nossos resultados mostram que o conteúdo total de vitamina B₆ diminuiu com o aumento da dose de radiação para ambas variedades estudadas, conforme ilustrado nas figuras 8 e 9.

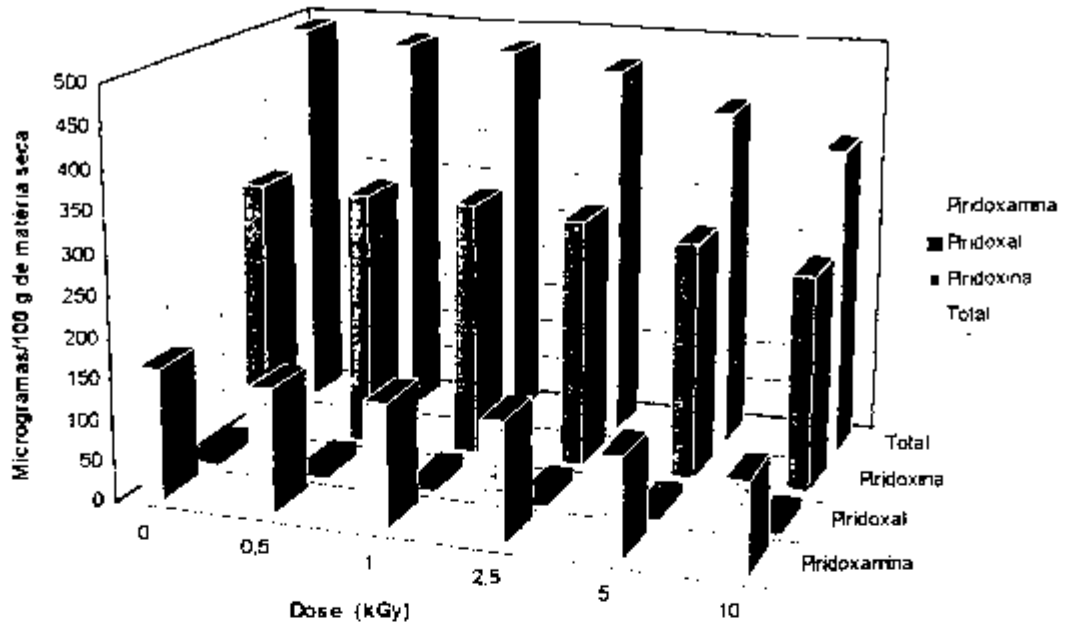


Figura 8. Efeito da irradiação sobre as frações da vitamina B₆ no feijão carioca.

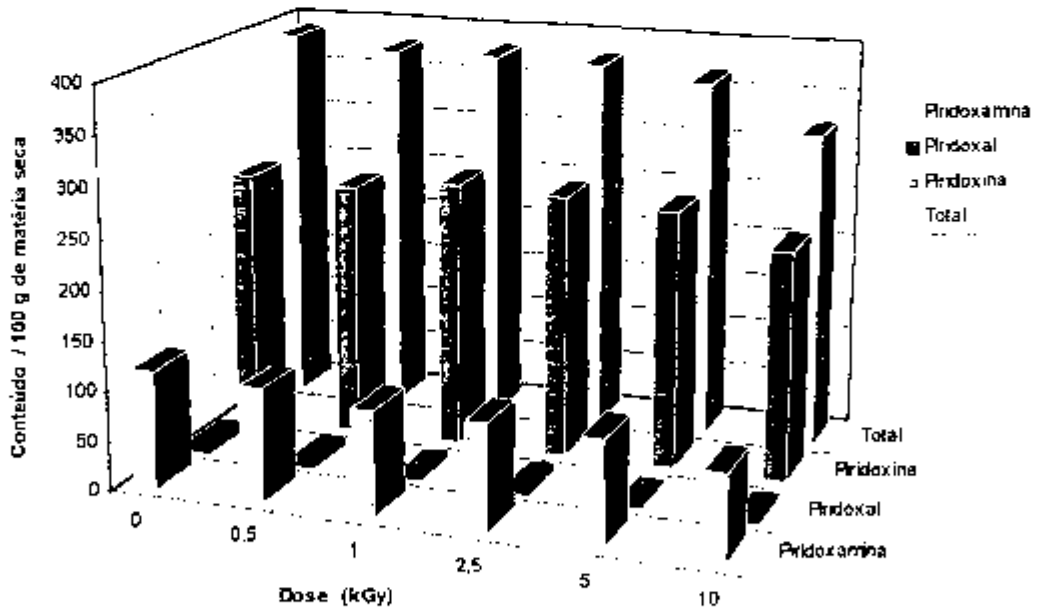


Figura 9. Efeito da irradiação sobre as frações da vitamina B₆ no feijão macaçar

O feijão macaçar mostrou menores valores na soma total das diferentes frações. Perdas observadas na faixa de doses entre 0.5 - 2.5 kGy para ambas variedades, estão aproximadamente entre 0 a 6% . Na dose de 5.0 kGy observamos perdas na faixa de 1 a 12 % e para 10 kGy, de 14 a 19 % . As perdas observadas nas duas variedades estudados, permitiram concluir que a irradiação em dose de desinfestação até 1 kGy provocou um efeito mínimo no conteúdo de vitamina B₆.

Kennedy (1965) não encontrou perdas de vitamina B₆ em trigo irradiado com doses de 2.0 kGy e estocado por 3 meses. Underdal *et al.* (1973) e (1976), mostram que irradiação de filé de bacalhau e de cavalinha com dose de 1 kGy, à temperatura de 0° C causam perdas de 16 e 13 % respectivamente.

Nossos resultados sugerem que a irradiação dessas duas variedades em doses permitidas para desinfestação de até 1 kGy, produz somente uma pequena variação no conteúdo desta vitamina. Estes resultados estão de acôrdo com os trabalhos de Bogнар, (1993) e Delincée & Bogнар, (1993), onde são apresentados dados sobre perdas de vitaminas em diferentes tipos de leguminosas nas doses permitidas para desinfestação .

Todas as formas da vitamina B₆ são afetadas pelo calor, concentração e desidratação (Sauberlich, 1985, Tannembbaum *et al.*, 1985). Em particular, os processos de esterilização de alimentos enlatados induzem a grandes perdas de vitamina B₆. A esterilização do leite produz uma perda de 36-67% da vitamina B₆. Assim observamos a necessidade de fortificar este produto. Segundo Gregory (1959), a redução da atividade é devida principalmente à perda de PL, embora uma significativa proporção deste vitâmero seja convertida em PM. PN.HCl é estável durante processos de destilação, enquanto que PM.2HCl e PL.HCl são 2.5 a 3.5 vezes menos estáveis (Gregory & Hiner, 1983).

Em nossos estudos, para ambas as variedades a fração PL foi a menor detectada, seguida da fração PM, e a maior quantidade foi a de PN. A fração PM é encontrada numa proporção de 31 a 33 % aproximadamente, nos controles em relação ao total para os feijões macaçar e carioca respectivamente. Para doses de 0,5 a 2,5 kGy no feijão carioca a relação é de aproximadamente 31,5 % e para o feijão macaçar, de aproximadamente 28 a 30 % em relação ao total nas mesmas faixas de dose.

Os vitâmeros aldeídicos da vitamina B₆, PL e PLP, são reversivelmente ligados a proteínas como bases, e a PN-glucosídios, que ocorrem exclusivamente em tecidos vegetais, são rapidamente liberados por extração ácida em autoclave (Vanderslice et al., 1985). A forma conjugada da vitamina B₆ identificada em feijões (Tadera e Orite, 1991) libera a vitamina livre quando hidrolisada com álcali e com β -glucosidase (Tadera, Kaneko e Yagi, 1986).

Saidi & Warthesen (1983) demonstraram que não havia degradação significativa de PN.HCl em solução aquosa aquecida em 40 a 60 °C e estocada por mais de 140 dias em níveis de pH variando de 4 a 7, enquanto que PM.2HCl, nas mesmas condições, mostrou uma perda crescente conforme o aumento do pH e PL.HCl, mostrou uma marcante perda em pH 5. Ang (1979) demonstrou que PN.HCl é mais estável e que PM.2HCl é o mais instável dos três vitâmeros, após exposição em solução aquosa e luz normal em diferentes valores de pH.

5.6 Análise da quantidade protéica

As amostras tratadas com radiação não apresentaram alterações apreciáveis no conteúdo protéico. Após o cozimento, conforme a otimização do

tempo de cozimento para cada dose de cada cultivar, os feijões foram liofilizados e o teor de proteína estimado pelo método de kjeldahl. O conteúdo protéico determinado pelo método kjeldahl nos feijões das duas variedades, cru e cozido é mostrado na tabela 13.

Tabela 13. Influência da irradiação sobre a porcentagem de proteínas das duas variedades estudadas.

DOSE (kGy)	% de Proteína*	
	CRU	COZIDO
Carioca		
0	18,3 ± 0,7 ^a	17,8 ± 1,0 ^a
0,5	17,3 ± 0,2 ^a	17,2 ± 0,8 ^a
1	17,5 ± 0,3 ^a	18,1 ± 1,0 ^a
2,5	18,4 ± 0,5 ^a	19,2 ± 0,3 ^a
5	18,1 ± 0,5 ^a	18,4 ± 0,7 ^a
10	18,1 ± 0,2 ^a	19,3 ± 0,2 ^a
Macaçar		
0	23,6 ± 0,4 ^a	24,1 ± 0,2 ^a
0,5	24,6 ± 0,1 ^a	24,3 ± 0,2 ^a
1	23,0 ± 0,4 ^a	24,7 ± 0,8 ^a
2,5	24,2 ± 0,3 ^a	24,4 ± 0,8 ^a
5	24,6 ± 0,2 ^a	24,7 ± 0,06 ^a
10	23,1 ± 0,3 ^a	24,1 ± 0,03 ^a

(*) = médias. ± desvio-padrão, (n = 3). Em uma mesma coluna, médias com sobrescrito diferentes, são estatisticamente diferentes (P<0,05).

Os feijões carioca apresentaram uma quantidade protéica no valor aproximado de 17% e o feijão macaçar, no valor de aproximadamente de 24%. Também não foram observadas alterações apreciáveis nos valores protéicos

nas diferentes doses de radiação a que foram submetidos. Esses valores nos mostraram que o cultivar macaçar é mais rico em proteína que o cultivar carioca.

Nossos resultados estão de acordo com os obtidos por Delincée et al. (1993) em estudos com feijões brancos, ervilhas e lentilhas utilizando-se doses de até 50 kGy. Diehl (1995) mostrou que com doses variando de 10 a 50 kGy, a qualidade protéica não é alterada.

5.7 Ensaio biológico

O ensaio biológico feito para a análise das duas variedades, indicou não haver grandes alterações na qualidade nutricional protéica após o tratamento por radiação e estocagem de 6 meses.

Na tabela 14 são mostrados os resultados referentes às médias e desvios-padrão para Consumo Alimentar (CA) e Ganho de Peso (GP) em gramas, Digestibilidade aparente (D_a), Utilização Protéica Líquida aparente (NPU_a) e Valor Biológico aparente (VB_a).

O consumo alimentar das rações pelos ratos foi em média de 36,0 g/rato ao final do experimento. Embora nas doses mais altas as propriedades sensoriais tenham sido reprovadas pelos panelistas, os animais aceitaram bem a dieta durante o ensaio de avaliação nutricional.

Em relação ao ganho de peso, não foram observadas grandes diferenças entre os animais durante o consumo dos dois cultivares.

Tabela 14. Efeitos da irradiação no valor protéico dos feijões carioca e macaçar. Consumo Alimentar (CA) e Ganho de Peso (GP) em gramas, Digestibilidade aparente (D_a), Utilização Protéica Líquida aparente (NPU_a) e Valor Biológico aparente (VB_a).

DOSE (kGy)	CA (g)*	GP (g)*	D_a (%)*	NPU_a (%)*	VB_a (%)*
Carioca					
0	35,9 ± 3,9 ^a	11,3 ± 1,9 ^a	67,0 ± 5,2 ^a	56,5 ± 5,2 ^a	84,3 ± 2,4 ^a
0,5	35,6 ± 3,0 ^a	10,5 ± 2,6 ^a	64,0 ± 7,1 ^a	54,0 ± 7,6 ^a	84,2 ± 3,6 ^a
1	35,4 ± 2,4 ^a	10,2 ± 2,3 ^a	64,3 ± 6,7 ^a	54,2 ± 7,7 ^a	84,0 ± 4,0 ^a
2,5	36,5 ± 2,1 ^a	12,6 ± 2,3 ^a	61,0 ± 5,0 ^a	52,1 ± 3,0 ^a	85,4 ± 1,4 ^a
5	36,2 ± 3,0 ^a	10,4 ± 2,6 ^a	63,4 ± 7,3 ^a	53,1 ± 7,3 ^a	83,5 ± 2,7 ^a
10	36,2 ± 2,0 ^a	10,8 ± 2,0 ^a	64,7 ± 4,7 ^a	55,5 ± 5,0 ^a	85,7 ± 1,9 ^a
Médias					
Totais	36,0 ± 2,8	11,0 ± 2,3	64,1 ± 6,1	54,2 ± 6,2	84,5 ± 2,8
Macaçar					
0	36,2 ± 2,2 ^a	11,5 ± 1,9 ^a	74,2 ± 1,3 ^a	51,9 ± 2,5 ^a	69,9 ± 2,3 ^a
0,5	33,8 ± 3,9 ^a	8,4 ± 2,0 ^a	70,7 ± 4,4 ^a	49,6 ± 4,6 ^a	70,1 ± 3,1 ^a
1	37,9 ± 1,7 ^a	10,5 ± 2,3 ^a	74,9 ± 3,6 ^a	56,9 ± 4,0 ^a	75,9 ± 2,1 ^a
2,5	38,0 ± 0,8 ^a	10,0 ± 3,0 ^a	74,1 ± 3,2 ^a	55,6 ± 4,5 ^a	74,9 ± 3,2 ^a
5	37,1 ± 1,3 ^a	9,7 ± 3,0 ^a	72,6 ± 4,4 ^a	54,4 ± 5,0 ^a	74,8 ± 3,4 ^a
10	37,4 ± 1,6 ^a	8,4 ± 1,8 ^a	70,2 ± 3,0 ^a	50,1 ± 3,8 ^a	71,4 ± 3,0 ^a
Médias					
Totais	36,7 ± 2,2	9,8 ± 2,4	72,8 ± 3,4	53,1 ± 4,2	72,8 ± 2,9

(*) = médias, ± desvio-padrão, (n = 8). Em uma mesma coluna, médias com sobrescrito diferentes, são estatisticamente diferentes ($P < 0,05$). As médias totais são calculadas sobre seis grupos de tratamentos, no total de 48 ratos. Ensaio de curta duração (10 dias).

O ganho de peso dos animais não se mostrou influenciado pelas diferentes doses, porém variou de acordo com o cultivar incluído na dieta. Um maior aumento de peso foi observado nos animais que consumiram o cultivar carioca.

Os valores encontrados para a digestibilidade mostram que ela é diferente para cada cultivar, indicando um valor mais alto para o cultivar Macaçar. Embora os valores obtidos para a análise da qualidade protéica não tenham sido influenciados pela radiação, observou-se um pequeno aumento nos valores da digestibilidade dos feijões macaçar sobre os cariocas, resultando, assim, num menor valor biológico para o cultivar macaçar em relação ao carioca.

O NPU mostrou-se igual para os dois cultivares e o VB foi mais alto para o cultivar carioca, apesar de não terem sido observadas variações em função das doses utilizadas.

Os resultados do presente estudo com os feijões carioca e macaçar são semelhantes aos descritos na literatura. Estudos feitos por Mancini-Filho (1990) com doses de 0 a 20 Mrads (200 kGy), em feijão carioca, mostraram que as radiações gama são capazes de reduzir o tempo de cocção sem comprometer seu valor biológico.

Nossos resultados confirmam que doses de radiação de até 10 kGy não modificam o valor protéico, isto está de acordo com estudos realizados por Carvalho *et al.* (1992), quando trabalhou com doses de 5 e 10 kGy e seus efeitos sobre a qualidade nutricional dos feijões carioca. Suas conclusões mostram que o quociente de eficiência protéica não é afetado pela radiação e que a digestibilidade protéica, o valor biológico e a utilização líquida de proteína não são afetados pela radiação quando adicionam-se 2% de proteína na dieta.

Ismail *et al* (1976) encontrou um aumento da digestibilidade enzimática *in vitro* da proteína de lentilhas irradiadas com doses de até 10 kGy. Estudos com feijão macaçar irradiados com 0,5 kGy não mostraram destruição dos amino ácidos essenciais nem diminuição no valor nutricional nos estudos com ratos (Adrian & Frayssinet, 1975).

Estudos feitos por Coelho *et al.*(1978) com feijão macaçar, irradiado com doses de 1 a 10 kGy, cru e cozido, não mostraram diferenças na composição dos amino ácidos. Porém, na avaliação protéica utilizando ensaio biológico com ratos, foram encontradas grandes perdas após o tratamento com irradiação, mostrando uma grande diminuição na taxa de eficiência protéica (PER) entre os controles e os animais que consumiram a ração com o tratamento por radiação. Nunca antes uma grande perda nos valores nutricionais fora postulada para feijão macaçar tratado por radiação e estocado por 6 meses, o que gera assim, resultados conflitantes na literatura.

Contraditoriamente a esses resultados, Reddy *et al.* (1979), Daguir *et al.* 1983, trabalhando com rações de lentilhas irradiadas para alimentação de aves, não observaram perdas protéicas. Delincée *et al.* (1993, 1997) assinalam que feijões irradiados e estocados não sofrem quaisquer modificações no seu valor nutricional.

5.8 Métodos de detecção de alimentos irradiados

Um grande número de métodos analíticos de detecção para o tratamento de alimentos por radiação tem sido desenvolvido nos últimos anos. Seguimos propostas em desenvolvimento pela maioria dos pesquisadores nesta área, onde recomenda-se um teste rápido inicialmente como uma varredura e em seguida a confirmação por metodologias mais sofisticadas. Obtivemos,

assim, resultados satisfatórios desde a aplicação de testes rápidos e simples até aos mais sofisticados e precisos.

5.8.1 Germinação - "half-embryo test"

Os resultados da germinação após a aplicação do "half-embryo test", logo após irradiação e com 6 meses de irradiação e estocagem destas duas variedades são apresentados nas tabelas 15, 16, 17 e 18. Nas figuras 10 a 13(a), são mostradas as respostas das duas variedades, no início (24 h) e no final do teste (72 h), para uma melhor visualização.

Observamos que o dano causado pela radiação em raízes e brotos tem algumas características especiais. A tabela 15 mostra os diferentes valores encontrados durante o teste para as duas variedades.

Os resultados obtidos com as amostras do feijão carioca indicaram que no início do teste, para as doses de 0,5 e 1 kGy, foi encontrada uma diminuição do alongamento das raízes em relação aos controles de aproximadamente 20%.

Após 48 h do teste, o alongamento das raízes apresentou um aumento desta diferença para aproximadamente 49%, e ao final das 72 h, para as duas doses, uma diferença de 70% em média. Para as doses de 0,5 kGy e 1 kGy aplicadas ao feijão macaçar, observamos em média uma redução no alongamento das raízes de 14% (24h), 23% (48h) e 48% (72h). O feijão macaçar apresentou uma resposta maior ao efeito do tratamento por radiação ao final do teste. Para as demais doses, nas duas variedades as diferenças foram bem maiores, aumentando conforme a dose de radiação. Pudemos notar uma diminuição marcante no tamanho da raiz, conforme o aumento da dose de

radiação, e uma estagnação do crescimento nos dias subsequentes, a partir do segundo dia do teste.

Tabela 15. Avaliação do crescimento das raízes (cm) das duas variedades de feijões após a irradiação "half-embryo test".

DOSE (kGy)	Tempo (h)*		
	24	48	72
Feijão carioca			
	Crescimento (cm)		
0	30,8 ± 3,2 ^a	75,1 ± 5,5 ^a	121,9 ± 12,6 ^a
0,5	24,3 ± 3,7 ^b	38,6 ± 4,4 ^b	38,6 ± 4,4 ^b
1	24,0 ± 4,0 ^b	33,0 ± 6,5 ^b	33,0 ± 6,5 ^b
2,5	8,5 ± 3,1 ^c	26,2 ± 2,1 ^c	26,2 ± 2,1 ^c
5	5,8 ± 1,2 ^d	5,8 ± 1,2 ^d	5,8 ± 1,2 ^d
10	5,0 ± 0,0 ^d	5,0 ± 0,0 ^d	5,0 ± 0,0 ^d
Feijão macaçar			
0	35,5 ± 5,5 ^a	53,3 ± 4,0 ^a	83,2 ± 10,2 ^a
0,5	30,2 ± 5,2 ^b	43,0 ± 5,8 ^{ab}	43,0 ± 5,8 ^b
1	29,8 ± 2,8 ^{bc}	38,4 ± 4,5 ^b	38,4 ± 4,5 ^{bc}
2,5	25,5 ± 3,0 ^c	29,6 ± 3,2 ^c	29,6 ± 3,2 ^{cd}
5	17,8 ± 5,8 ^d	22,9 ± 2,0 ^d	22,9 ± 2,0 ^d
10	10,1 ± 3,1 ^e	13,4 ± 2,9 ^e	13,4 ± 2,9 ^e

(*) = médias, ± desvio-padrão, (n = 10). Em uma mesma coluna, médias com sobrescrito diferentes, são estatisticamente diferentes (P<0,05).

A figura 10 compara o comprimento das raízes em milímetros, nos dois cultivares, incubados por 24 h, logo após o processo de irradiação. Para ambos cultivares, nas doses de 0; 0,5 e 1 kGy, são observadas diferenças significativas de 5 milímetros no alongamento das raízes, de uma variedade para outra.

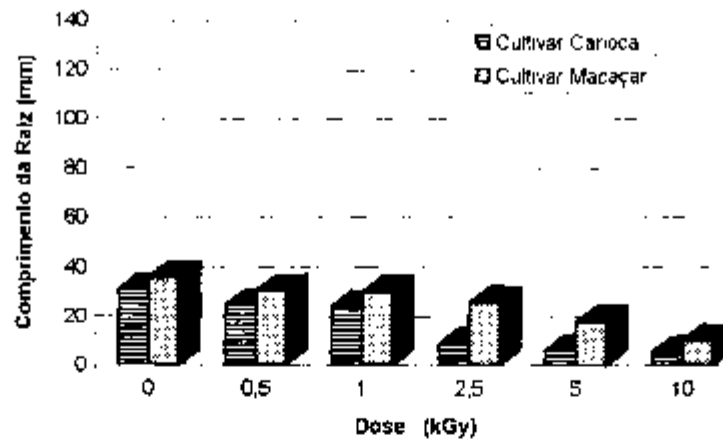


Figura 10. Influência da irradiação sobre o crescimento das raízes das duas variedades de feijões (24 horas, 1 dia após irradiação).

Para as doses de 2,5 e 5,0 kGy, as diferenças do alongamento das raízes são marcantes, com valores por volta de 30%. Com 10 kGy, a diferença entre as duas variedades é de 50%. Na figura 10a, podemos observar nitidamente as diferentes respostas ao tratamento por radiação.

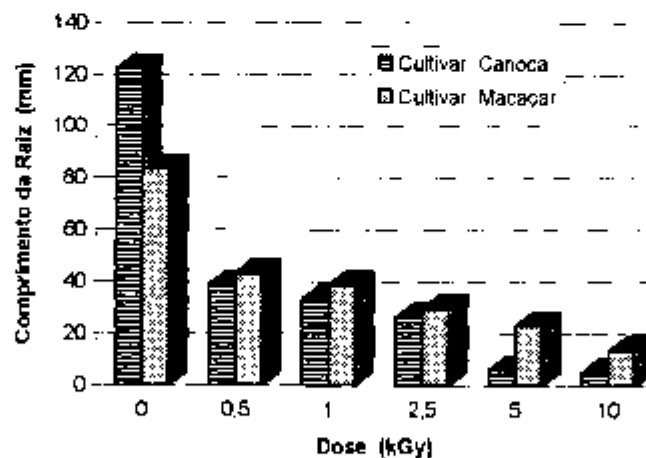


Figura 10a. Influência da irradiação sobre o crescimento das raízes das duas variedades de feijões (72 horas, 1 dia após irradiação).

Após 72 horas de germinação, em ambas as variedades, a resposta do alongamento das raízes do feijão carioca apresentou um maior

crescimento em relação ao feijão macaçar. Porém, ao final do teste, os valores encontrados para o feijão carioca mostraram-se bem menores com relação ao feijão macaçar. Assim, estes resultados sugerem que o feijão carioca tem um leve atraso na germinação, após o tratamento com radiação. Segundo Kikuchi (1987), sementes do feijão carioca irradiadas com 0,5 Gy apresentam um leve atraso na germinação.

Conforme se pode observar na tabela 16, para os três dias de teste, as respostas nas duas variedades são bem menores.

Tabela 16. Avaliação do crescimento (cm) das raízes nas duas variedades de feijões após 6 meses da irradiação.

DOSE (kGy)	Tempo (h)		
	24	48	72
Feijão carioca			
	Crescimento (cm)*		
0	5,8 ± 0,4 ^a	13,8 ± 0,7 ^a	20,0 ± 0,6 ^a
0,5	3,8 ± 0,4 ^b	5,2 ± 0,4 ^c	7,1 ± 0,3 ^c
1	4,9 ± 0,0 ^b	9,8 ± 0,4 ^b	13,2 ± 0,6 ^b
2,5	0,9 ± 0,0 ^c	1,0 ± 0,3 ^d	1,3 ± 0,4 ^e
5	0,9 ± 0,1 ^c	2,1 ± 0,3 ^e	3,8 ± 0,4 ^d
10	0,5 ± 0,0 ^d	0,50 ± 0,0 ^d	0,5 ± 0,0 ^e
Feijão macaçar			
0	17,5 ± 0,7 ^a	21,7 ± 0,8 ^a	27,1 ± 0,5 ^a
0,5	17,5 ± 0,5 ^a	21,7 ± 0,4 ^a	23,9 ± 0,3 ^b
1	12,6 ± 0,5 ^b	15,4 ± 0,6 ^b	17,5 ± 0,5 ^c
2,5	6,9 ± 0,3 ^c	8,3 ± 0,4 ^c	10,8 ± 0,4 ^d
5	3,3 ± 0,4 ^d	3,3 ± 0,4 ^d	3,3 ± 0,4 ^e
10	0,5 ± 0,0 ^e	0,5 ± 0,0 ^e	0,5 ± 0,0 ^f

(*) = médias, ± desvio-padrão, (n = 10). Em uma mesma coluna, médias com sobrescrito diferentes, são estatisticamente diferentes (P<0,05).

Após 6 meses de irradiação e período de estocagem, observou-se uma redução no alongamento das raízes desta vez, porém, o feijão carioca apresentou nas amostras controles um crescimento menor com relação ao feijão macaçar. Estes dados sugerem que o tempo de estocagem interfere também no alongamento das raízes em até 83% para o feijão carioca e em 67,5% para o feijão macaçar, quando comparados com os dados obtidos nos experimentos com os feijões frescos.

A figura 11 compara o feijão carioca com o macaçar. No feijão carioca pode-se notar um menor crescimento, enquanto que, no feijão macaçar observamos um crescimento bem maior. Alterações marcantes são observadas para ambas variedades nas doses acima de 1,0 kGy,

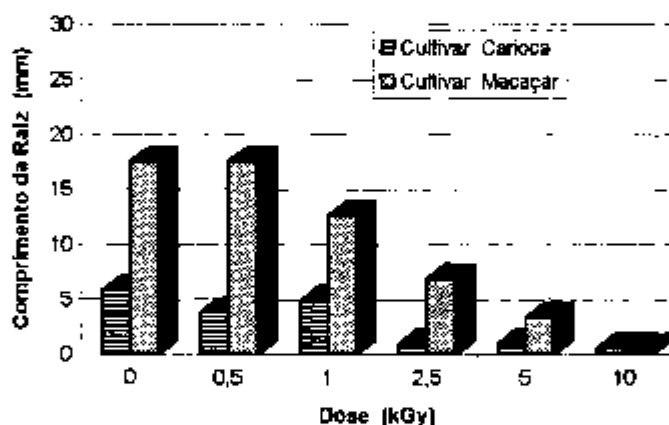


Figura 11. Influência da irradiação sobre o crescimento das raízes das duas variedades de feijões (24 horas, 6 meses após irradiação).

Os dados sobre o crescimento das raízes após 6 meses da irradiação e estocagem, no período de 72 h do teste de germinação, para as duas variedades, são comparados na figura 11 (a). Observamos assim, uma gradativa redução após as 72h do teste, entre os controles e os irradiados, a qual torna-se acentuada nas doses acima de 1 kGy, para ambas as variedades.

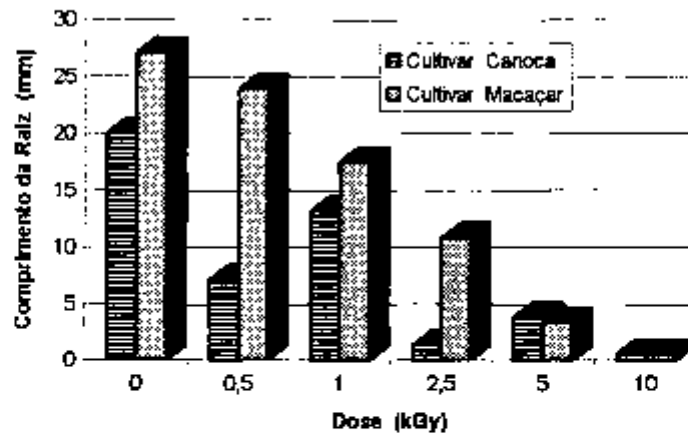


Figura 11a. Influência da irradiação sobre o crescimento das raízes das duas variedades de feijões (72 horas, 6 meses após irradiação).

Para os feijões carioca, as diferenças são marcantes. Observou-se uma redução no alongamento da raiz de 64,5% e 35% respectivamente para as doses de 0,5 e 1,0 kGy. Para os feijões macaçar, os valores encontrados foram de 11,5% e 35% para as doses de 0,5 e 1,0 kGy e valores maiores que 60% para as doses de 2,5; 5 e 10 kGy.

Kawamura *et al.* (1992) fez testes de germinação com sementes de trigo e concluiu que as doses críticas para inibição do brotamento das raízes variam em torno de 0,15 a 0,5 kGy e também que o período de estocagem de 12 meses tem um efeito sobre a redução do comprimento das raízes, induzido pelo tratamento com radiação. Fifiield *et al.* (1967) mostram que a germinação de semente de trigo não é afetada pela radiação nas doses de 0,1 e 0,25 kGy. Entretanto, com 0,5 ou mais, causa uma redução substancial na germinação das sementes de trigo.

Zhu *et al.* (1993) descrevem um retardo no crescimento das raízes e brotos irradiados com doses de 0,33 kGy, e com doses de 10 kGy, não registram germinação das sementes, o que confirma nossos resultados. Testes de germinação com sementes de arroz mostraram, que as doses críticas para

crescimento das raízes variam de 0,15 a 0,5 kGy de acordo com Kawamura *et al.* (1992), podendo discriminar também, em seu trabalho, as sementes irradiadas das não irradiadas, após um período de estocagem de 12 meses.

Analisando-se os resultados da tabela 17, obtidos com a germinação dos brotos medidos em milímetros, podemos observar que:

Tabela 17. Avaliação do crescimento das folhas nas duas variedades de feijões após a irradiação "half-embryo test".

DOSE (kGy)	Tempo (h)		
	24	48	72
Feijão carioca			
	Crescimento (cm)*		
0	5,0 ± 0,0 ^a	8,4 ± 0,8 ^a	15,9 ± 0,8 ^a
0,5	4,5 ± 0,5 ^a	6,0 ± 0,8 ^{ab}	9,2 ± 1,3 ^{ab}
1	4,2 ± 0,4 ^a	4,8 ± 0,4 ^b	4,8 ± 0,4 ^b
2,5	3,6 ± 0,5 ^b	4,0 ± 0,0 ^b	4,0 ± 0,0 ^b
5	3,2 ± 0,4 ^b	3,2 ± 0,4 ^c	3,2 ± 0,4 ^b
10	2,7 ± 0,4 ^c	2,7 ± 0,4 ^c	2,7 ± 0,4 ^{bc}
Feijão macaçar			
0	6,3 ± 1,7 ^a	15,6 ± 0,6 ^a	25,7 ± 0,9 ^a
0,5	6,2 ± 1,1 ^a	13,2 ± 1,5 ^{ab}	18,2 ± 2,8 ^b
1	8,1 ± 1,9 ^b	16,0 ± 0,8 ^a	19,6 ± 2,9 ^b
2,5	5,0 ± 1,2 ^a	9,4 ± 1,6 ^c	10,8 ± 1,6 ^c
5	3,6 ± 1,2 ^c	3,6 ± 1,2 ^d	3,6 ± 1,2 ^d
10	3,6 ± 1,0 ^c	3,6 ± 1,2 ^d	3,6 ± 1,0 ^d

(*) = médias, ± desvio-padrão, (n = 10). Em uma mesma coluna, médias com sobrescrito diferentes, são estatisticamente diferentes (P<0,05).

Os brotos do feijão macaçar controle, durante os três dias do teste, aumentaram em 5 cm, a cada dia, enquanto que os valores das medidas de crescimento do broto do feijão carioca controle, no segundo dia de teste, aumentaram em 3,4 cm, sendo maior o crescimento (7,5 cm) no último dia do teste.

Todas as doses aplicadas nas sementes mostraram ter uma influência no desenvolvimento dos brotos nos dois cultivares estudados, sendo estas modificações menores para as doses de 0,5 kGy ao final do teste.

As doses acima de 1 kGy mostram uma redução acima de 74,9% no desenvolvimento dos brotos, no feijão carioca. Para o feijão macaçar, o percentual foi em média de 61% para as doses acima de 1 kGy ao final do teste.

A figura 12 compara o brotamento das duas variedades após as primeiras 24 h de germinação.

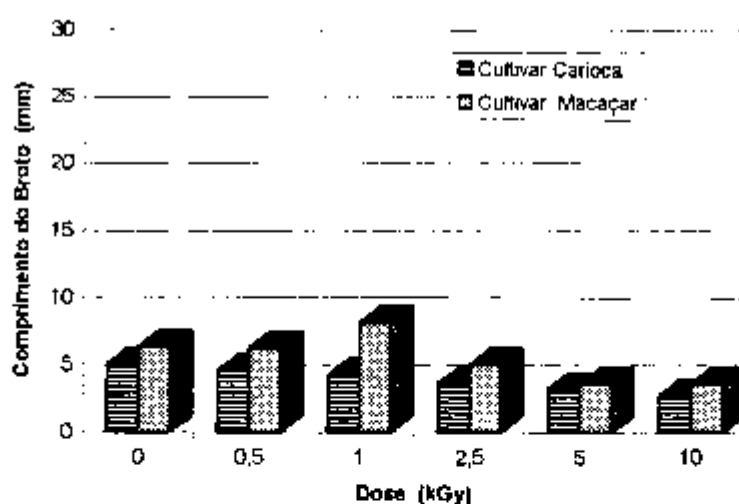


Figura 12. Influência da irradiação sobre o crescimento das folhas nas duas variedades de feijões (24 horas, 1 dia após irradiação).

Após 1 dia do tratamento por radiação, nos feijões carioca e macaçar (controles), as variações observadas são pertinentes a cada variedade, como foi observado no alongamento das raízes. Para todas as doses aplicadas, o feijão macaçar apresentou um desenvolvimento maior, porém para as doses acima de 1,0 kGy, são marcantes as diferenças no brotamento das duas variedades.

Após 72 h de período de incubação, podemos visualizar claramente na figura 12(a) as diferentes respostas do crescimento dos brotos entre as duas variedades e o efeito das diferentes doses de radiação. O feijão macaçar apresenta um índice de mais de 10% de brotamento sobre o feijão carioca, exceto nas doses de 5 e 10 kGy.

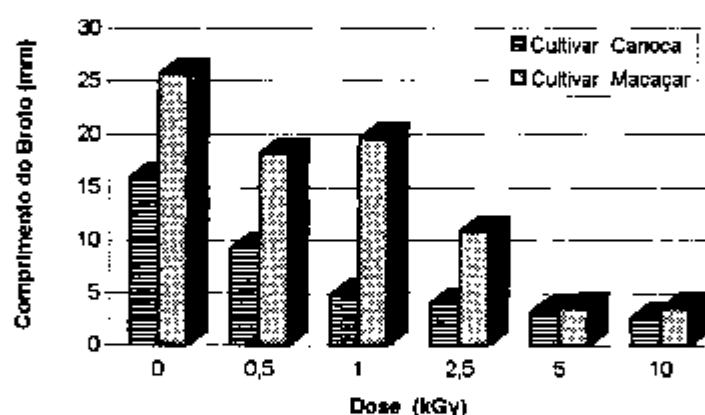


Figura 12a. Influência da irradiação sobre o crescimento das folhas nas duas variedades de feijões (Folha 72 horas, 1 dia após irradiação).

Na tabela 18, observamos as respostas do crescimento dos brotos apresentadas pelas duas variedades durante os três dias de teste após a irradiação e o período de 6 meses de estocagem.

Tabela 18. Avaliação do crescimento das folhas nas duas variedades de feijões após 6 meses de irradiação.

DOSE (kGy)	Tempo (h)		
	24	48	72
Carioca			
	Crescimento (cm)*		
0	1,5 ± 0,2 ^a	5,6 ± 0,2 ^a	8,8 ± 0,4 ^a
0,5	0,8 ± 0,2 ^a	3,1 ± 0,2 ^b	4,5 ± 0,7 ^b
1	0,8 ± 0,1 ^a	3,1 ± 0,2 ^b	4,5 ± 0,5 ^b
2,5	1,3 ± 0,1 ^a	1,3 ± 0,1 ^c	1,3 ± 0,1 ^c
5	1,3 ± 0,1 ^a	1,3 ± 0,1 ^c	1,3 ± 0,1 ^c
10	0,5 ± 0,0 ^b	0,5 ± 0,0 ^d	0,5 ± 0,0 ^d
Macaçar			
0	5,3 ± 0,6 ^a	9,6 ± 0,8 ^a	15,5 ± 0,6 ^a
0,5	3,5 ± 0,4 ^b	4,5 ± 0,6 ^b	6,5 ± 0,5 ^b
1	3,1 ± 0,5 ^b	4,2 ± 0,6 ^b	5,0 ± 0,6 ^c
2,5	2,6 ± 0,6 ^c	3,6 ± 0,5 ^c	4,0 ± 0,4 ^c
5	2,4 ± 0,4 ^c	2,9 ± 1,4 ^c	2,9 ± 1,4 ^d
10	0,5 ± 0,0 ^d	0,5 ± 0,0 ^d	0,5 ± 0,0 ^a

(*) = médias, ± desvio-padrão. (n = 10). Em uma mesma coluna, médias com sobrescrito diferentes, são estatisticamente diferentes (P<0,05).

Os dados apresentados pelos feijões carioca estocados por 6 meses mostram um menor desempenho no crescimento, quando comparados com os obtidos no teste logo após a irradiação. Para os feijões macaçar, esse tempo de estocagem alterou levemente o brotamento na primeira medida do teste ao final das 24 horas, quando comparados com os recém irradiados.

Conforme podemos observar na figura 13, entre ambas as variedades é bem distinta a resposta ao crescimento. Tanto nos controles

quanto nos irradiados, com uma única exceção na dose de 10 kGy, em que os feijões não apresentaram brotamento, não houve desenvolvimento do brotamento acentuado nas primeiras 24 h de teste.

Para as doses de radiação de 0,5 e 1 kGy, houve um crescimento similar entre as amostras, proporcionalmente para cada variedade. Porém, o feijão macaçar respondeu sempre com um aumento um pouco maior no decorrer do teste.

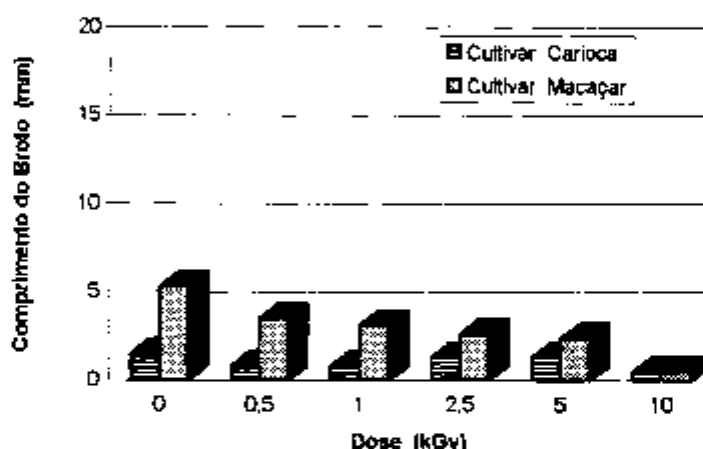


Figura 13. Influência da irradiação sobre o crescimento das folhas nas duas variedades de feijões (24 horas, 6 meses após irradiação).

A figura 13a mostra que ainda prevaleçam as diferenças entre as duas variedades de feijão. Ao final do teste observou-se ainda um decréscimo proporcional à resposta do brotamento após o período de estocagem em relação ao aumento das doses de radiação.

Para as doses de 0,5 e 1 kGy, o feijão carioca continuou ao término das 72 h de incubação, com respostas similares quanto ao crescimento.

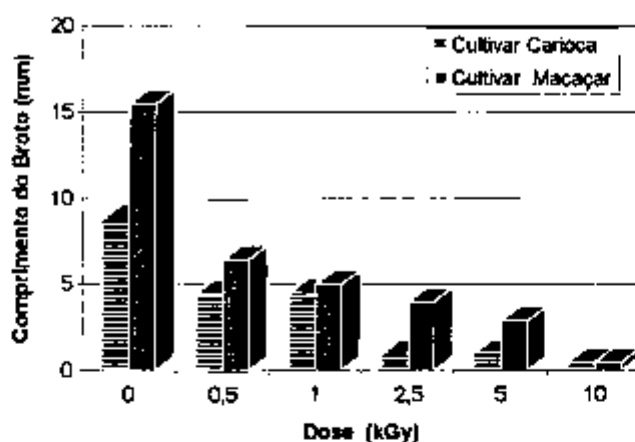


Figura 13a. Influência da irradiação sobre o crescimento das folhas nas duas variedades de feijões (72 horas, 6 meses após irradiação).

A porcentagem de brotamento é de 49% em relação aos controles. Nas doses acima de 1 kGy, estas porcentagens aumentam para mais de 85%. No feijão macaçar, também nota-se esta similaridade, porém com uma diferença no crescimento final de até 5 milímetros para cada dose. O percentual de crescimento para as diferentes doses variaram entre 58% para 0,5 kGy, 67% para 1 kGy e 74% ou mais para as doses de 2,5 kGy e doses maiores.

O "Half embryo test" para identificação de alimentos irradiados foi utilizado por pesquisadores em diferentes tipos de sementes e todos mostraram uma resposta significativa para a radiação (Fifield *et al.*, 1967; Kawamura *et al.*, 1989; Kawamura *et al.*, 1992; Zhu *et al.*, 1993; Kawamura *et al.*, 1996; Villavicencio *et al.*, 1997).

A identificação de sementes irradiadas de grapefruit é descrita por Kawamura *et al.* (1989), em que o autor mostra que o crescimento dos brotos e raízes totalmente retardado com doses acima de 1,5 kGy. Desta forma, pode-se

identificar as sementes provenientes de frutas que sofreram algum tratamento por radiação.

Para sementes de laranjas e limões, Kawamura *et al.*(1989) propuseram o teste de germinação (Half embryo test) como método de identificação de citros irradiados. Estudos colaborativos feitos em frutas cítricas por Kawamura *et al.*(1996) confirmam o uso dessa metodologia como apropriada para detecção do processo de irradiação.

Nesse tipo de teste, é convencional dizer que o alimento analisado sofreu o tratamento por radiação, se a determinação das amostras irradiadas, quando comparadas aos controles, apresentar uma resposta maior que 50%, ao final dos três dias de incubação. Apesar deste conceito ser relativamente novo, esse teste é citado por alguns autores nos últimos anos como um método biológico eficaz para detecção de sementes irradiadas (Delincée, 1993, Stevenson & Stewart, 1995; Rahman *et al.*, 1995).

5.8.2 Análise dos fragmentos de DNA - "Comet Assay"

O dano produzido pela radiação de ^{60}Co , no DNA das células, pôde ser avaliado nas amostras de feijões, usando-se a eletroforese em micro gel.

Na tabela 19, são apresentados os dados referentes à extensão da migração do DNA das células. A numeração apresentada, referente ao tipo de célula, é uma forma convencional de se expressar a correspondência do comprimento da migração dos fragmentos de DNA em micrômetros.

Tabela 19. Análise das alterações ocorridas no DNA das duas variedades de feijão submetidas a diferentes doses de radiação. "Comet Assay".

Tipo de Célula (μm)	DOSE (kGy)		
	0	1	10
Carioca			
10	0	0	0
20	15,0 \pm 2,6	8,3 \pm 2,5	0
30	37,3 \pm 2,0	38,6 \pm 4,5	0
40	48,0 \pm 4,0	54,6 \pm 3,5	0
50	0	0	10,6 \pm 2,8
60	0	0	27,6 \pm 1,1
70	0	0	61,3 \pm 2,0
80	0	0	0
Macaçar			
10	0	0	0
20	9,0 \pm 2,6	7,3 \pm 2,5	0
30	41,3 \pm 2,0	31,6 \pm 8,0	0
40	49,6 \pm 1,5	42,3 \pm 3,2	0
50	0	5,3 \pm 1,1	0
60	0	13,3 \pm 4,0	34,3 \pm 7,2
70	0	0	65,6 \pm 7,2
80	0	0	0

médias, \pm desvio-padrão, (n = 3).

As figuras 14, 15 e 16 mostram a porcentagem em função dos diferentes comprimentos da migração do DNA da célula, nas doses de radiação

aplicadas de 0; 1 e 10 kGy, com a comparação entre os feijões macaçar e carioca.

Nas amostras controle pode-se observar, nas duas variedades estudadas, que a migração dos fragmentos do DNA aparecem em três formas diferentes e características no comprimento da migração. Embora a quantidade destas células variem entre os feijões estudados, as três formas encontradas nas amostras para os feijões macaçar e carioca são as mesmas, conforme observamos na figura 14, em relação ao aspecto e tamanho, medidos em micrometros.

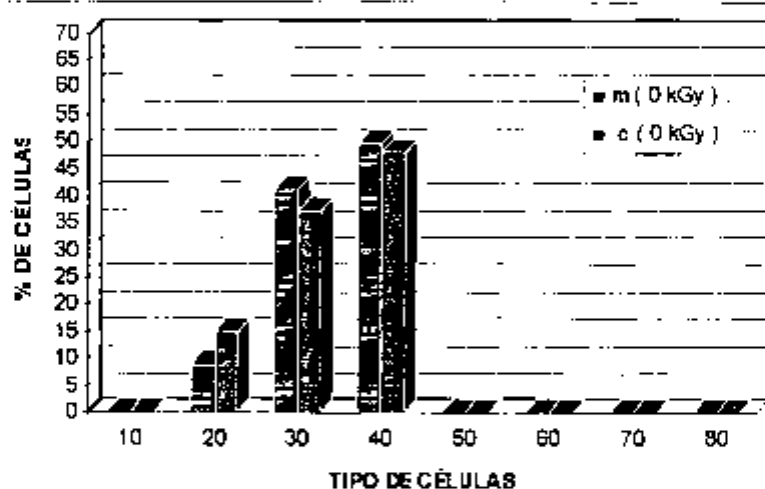


Figura 14. Porcentagem das alterações ocorridas no DNA dos feijões não irradiados.

Na dose permitida para desinfestação, 1 kGy, utilizada comercialmente, observamos, conforme a figura 15, que para a variedade macaçar há um aparecimento de migrações de diferentes tipo "cometa",

indicando que essas células sofreram algum tipo de agressão externa. Neste caso, a irradiação influenciou no comportamento típico de cada variedade.

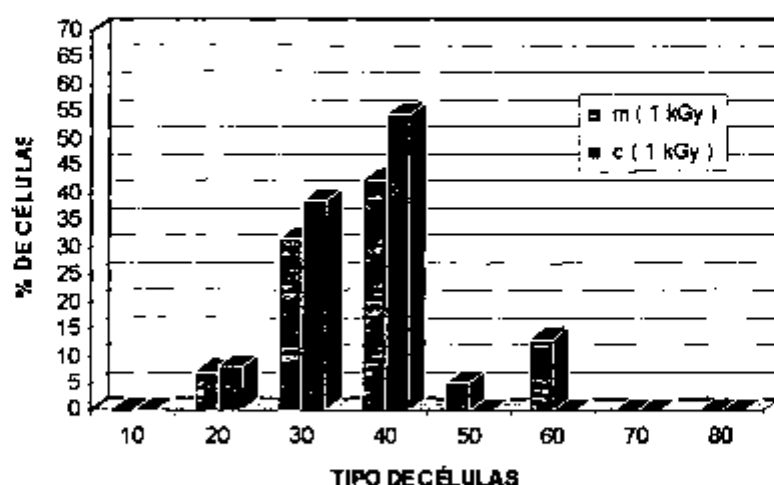


Figura 15. Porcentagem de células nos feijões que receberam a dose de 1 kGy.

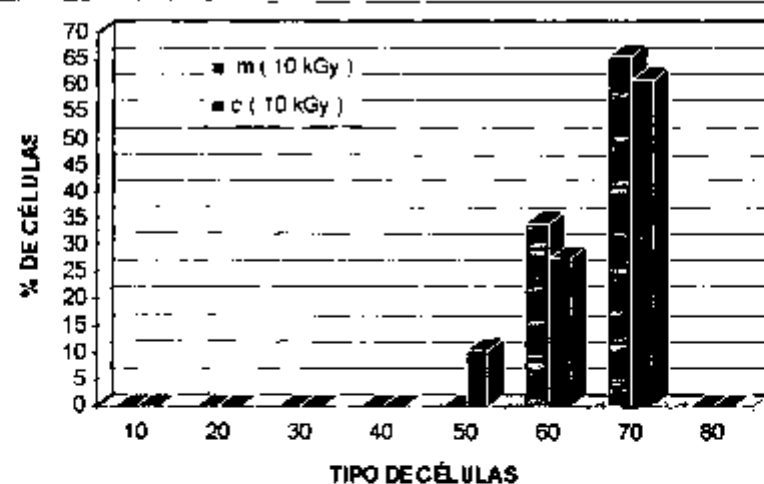


Figura 16. Porcentagem de células nos feijões que receberam a dose de 10 kGy.

Em contra partida, na dose de 10 kGy pode-se observar conforme a figura 16, um aumento da migração dos fragmentos tipo "cometa", revelando um dano extenso no DNA também em ambas as variedades. Neste estudo, pôde-se determinar as migrações "cometas" causadas pela irradiação, mesmo 6 meses após o tratamento por radiação. Observando-se também que, conforme o aumento da dose de radiação, houve um aumento na migração dos fragmentos do DNA. Com doses altas, neste caso, praticamente todo conteúdo celular havia migrado.

Outros trabalhos com amostras de vegetais foram realizados visando a identificação da relação dose de irradiação versus nível de migração dos fragmentos de DNA. Dentre eles destacamos Koppen & Cerda (1997), que utilizaram o método do "comet assay" para identificar sementes de girassol, lentilhas e soja irradiadas com doses baixas de 0,025 kGy a 1 kGy. Delincée (1996) comenta os resultados de seus experimentos provenientes de alimentos de origem vegetal irradiados em acelerador de elétrons. Utilizando a técnica do "comet assay" como método rápido para detecção, confirmaram o uso deste método como uma varredura para a detecção qualitativa do tratamento por radiação.

A técnica do "comet assay" também pode ser empregada na identificação de tecidos animais irradiados. Haine & Jones (1996) mostraram típicos cometas obtidos em tecidos irradiados, diferindo dos obtidos nos tecidos não irradiados. Estudos com carnes de frango, porco e boi foram desenvolvidos por Delincée (1996), em que os resultados obtidos são citados como promissores quando usados para uma varredura na detecção de alimentos irradiados. Belliardo (1993) citou o método do "cometa" baseado na eletroforese dos fragmentos do DNA da mitocôndria, proposto por H. Cerda, como um dos métodos de detecção de alimentos irradiados em desenvolvimento.

Os resultados obtidos na identificação dos fragmentos de DNA dos feijões irradiados sugerem a dependência do dano tecidual com a dose. Pode-se assim, identificar sementes de feijões irradiadas com a finalidade de desinfestação, estocagem e uso agrícola.

5.8.3 *Análise dos minerais que contêm sílica, por termoluminescência*

A identificação dos feijões irradiados pela análise de termoluminescência (TL) pode ser feita através da comparação dos valores obtidos dos espectros dos minerais aderidos aos feijões. Pode-se observar que as amostras que sofreram o tratamento por radiação apresentaram valores maiores em um determinado intervalo de temperatura. A configuração da curva oferece um suporte seguro para a identificação, como pode ser visto nas figuras 17 a 24.

Os resultados obtidos em nossas amostras, A e B, mostram que as duas formas de extração dos minerais foram eficientes. Ambos os processos utilizados nos propiciaram quantidades de minerais aderidos à casca dos feijões suficiente para uma análise por TL. Estudos apresentados por Schreiber *et al.* (1993) mostraram que os sinais de TL eram muito estáveis quando medidos após meses de irradiação e estocagem.

Nossos resultados, tais como outros citados na literatura (Behere *et al.*, 1992; Sharifzadeh & Sohrabpour, 1993; Schreiber *et al.*, 1993; Khan & Delincée, 1995; Bernardes, 1996), mostraram que podemos detectar, sem sombra de dúvida, os alimentos irradiados, quando estes contiverem contaminantes minerais aderidos à sua superfície. Os sinais obtidos após 6 meses de irradiação e estocagem no feijão carioca são apresentados na tabela 20.

Tabela 20. Curva da TL nos intervalos de temperatura de (70-500°C) e (170-246°C) nos minerais aderidos aos feijões carioca.

Dose (kGy)	Intervalo de temperatura			
	70 - 500°C		170 - 246°C	
	A	B	A	B
0				
½*	0,11	0,07	0,07	0,04
1/3**	0,16	0,10	0,12	0,07
0,5				
1/2	0,32	0,37	0,56	0,49
1/3**	0,41	0,49	0,92	0,79
1				
½	0,35	0,44	0,41	0,57
1/3	0,47	0,59	0,73	0,99
2,5				
½*	0,75	0,75	0,95	1,15
1/3**	0,87	1,27	1,56	1,69
5				
½*	0,84	0,87	0,98	1,06
1/3**	1,15	1,29	1,99	2,30
10				
½*	1,26	1,26	2,40	2,54
1/3**	1,32	1,47	4,42	4,88

- * 1/2 - São os resultados da leitura da curva 1 (obtidos na primeira análise), divididos pela leitura da curva 2 (depois da re-irradiação dos minerais com a dose de 1 kGy com o propósito de normalização).
- **1/3 São os resultados da leitura da curva 1 (obtidos na primeira análise), divididos pela leitura da curva 3 (depois da re-irradiação dos minerais com a dose de 0,5 kGy com o propósito de normalização).

Segundo as normas EN - 1788 (1996), os valores obtidos nas curvas das amostras irradiadas são tipicamente maiores que 0,5 contagens/°C, enquanto que os valores obtidos de amostras não irradiadas estão geralmente abaixo de 0,1 contagens/°C. Se os valores encontrados estiverem entre 0,1 e 0,5, a interpretação dos gráficos se torna necessária para se decidir entre uma amostra irradiada ou não. Usualmente, a curva 1 exibe um máximo de leitura entre 150° C a 250° C; entretanto, baixos níveis de radioatividade causam sinais a 300° C.

Em nossos resultados observamos, para as amostras de 0,5 e 1 kGy, valores que estão na faixa entre 0,3 a 0,5 contagens/°C. Assim sendo, os espectros foram analisados e comparados, conforme mostram as figuras 17 a 24.

Os resultados observados nestas figuras mostram que a TL dos minerais contaminantes, comparadas com a intensidade dos sinais da primeira e segunda curvas, e da primeira e terceira curvas, podem determinar o tratamento por radiação em doses de 0,5 kGy ou mais.

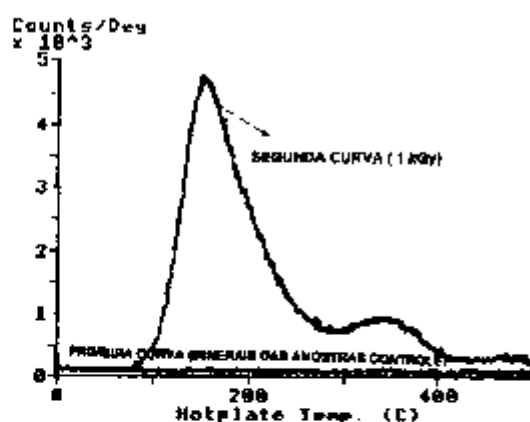


Figura 17. Comparação do espectro da leitura da amostra de feijão (0 kGy) com a curva resposta da re-irradiação com 1 kGy.

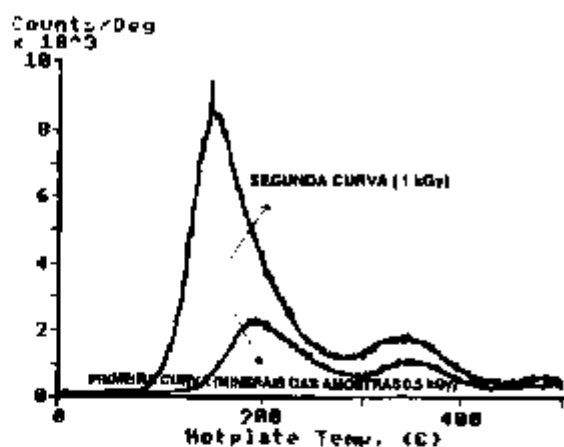


Figura 18. Comparação do espectro da leitura da amostra de feijão (0,5 kGy) com a curva resposta da re-irradiação com 1 kGy.

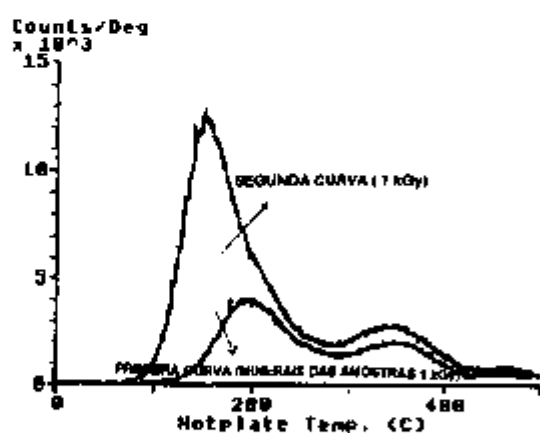


Figura 19. Comparação do espectro da leitura da amostra de feijão (1 kGy) com a curva resposta da re-irradiação com 1 kGy.

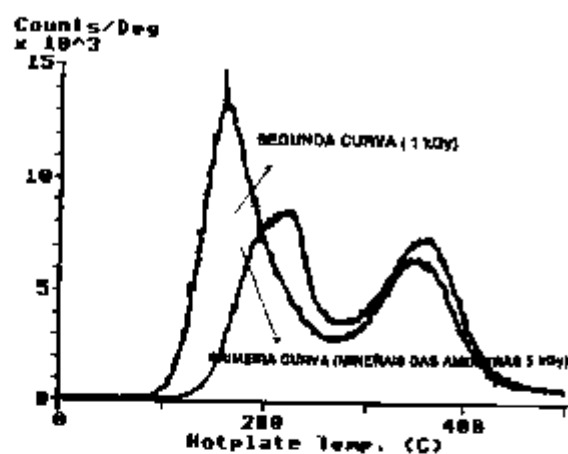


Figura 20. Comparação do espectro da leitura da amostra de feijão (5 kGy) com a curva resposta da re-irradiação com 1 kGy.

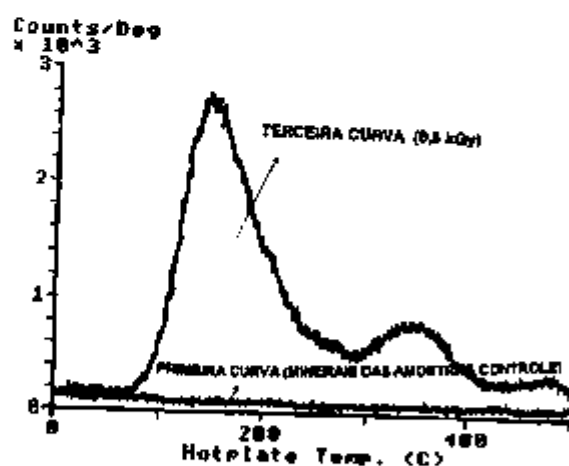


Figura 21. Comparação do espectro da leitura da amostra de feijão (0 kGy) com a curva resposta da re-irradiação com 0,5 kGy.

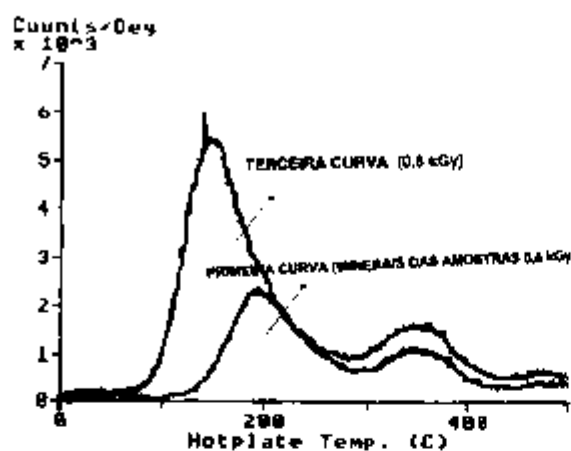


Figura 22. Comparação do espectro da leitura da amostra de feijão (0,5 kGy) com a curva resposta da re-irradiação com 0,5 kGy.

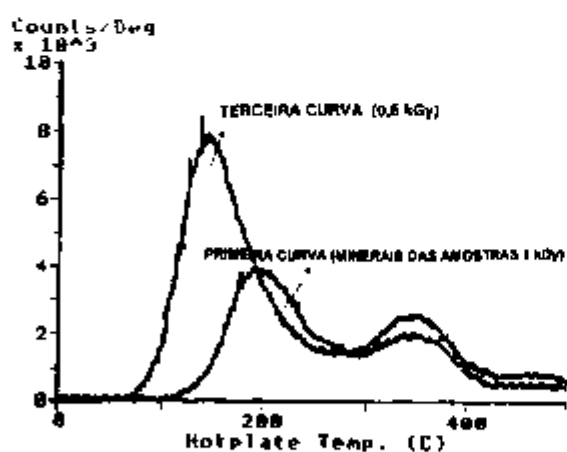


Figura 23. Comparação do espectro da leitura da amostra de feijão (1 kGy) com a curva resposta da re-irradiação com 0,5 kGy.

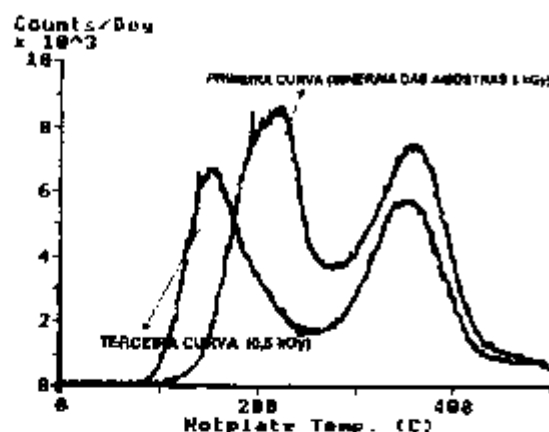


Figura 24. Comparação do espectro da leitura da amostra de feijão (5 kGy) com a curva resposta da re-irradiação com 0,5 kGy.

As respostas da curva de TL para as amostras irradiadas são muito mais altas quando comparadas com as não irradiadas. Isto sugere uma diferença entre as amostras irradiadas e as não irradiadas sobre os resultados da primeira curva de medidas. Entretanto, uma vez que a configuração da curva depende da natureza dos minerais, a primeira curva é geralmente normalizada com uma re-irradiação. As respostas encontradas nesta re-irradiação quando comparadas à primeira curva, em nossos resultados, aumentaram a certeza do processo de irradiação, excluindo uma identificação falso-positiva, assim como os observados por Sanderson *et al.* (1989); Delincée (1992).

Análises por TL de 6 variedades de feijões irradiados que continham minerais agregados à casca foram desenvolvidas recentemente por

Khan *et al.* (1997). Os resultados obtidos por estes autores através da TL, tem sido semelhantes aos resultados obtidos neste trabalho e confirmaram que a detecção do processo de radiação pode ser feita.

Comparando os estudos obtidos por Khan & Delincée (1995) feitos sobre os minerais insolúveis aderidos às amostras de 8 tipos de especiarias e ervas de origem asiática e que receberam as doses de radiação de 1; 5 e 10 kGy, com os encontrados nas nossas amostras nestas doses, observou-se respostas semelhantes. Especiarias em geral, foram identificadas por TL, após o tratamento com radiação por vários autores (Behere *et al.*, 1992; Sharifzadeh & Sohrabpour, 1993b; Schreiber *et al.*, 1993; Khan & Delincée, 1995; Bernardes, 1996), que também confirmaram a possibilidade da utilização desta técnica.

Polonia *et al.* (1995) citaram o método da TL como sendo o melhor para identificação da resposta dos minerais contaminantes encontrados nas pimentas irradiadas. Bernardes (1996) também analisa os sinais dos minerais agregados nas pimentas irradiadas distinguindo doses de 10 e 30 kGy. Kiyak (1995) apresentou estudos feitos com TL para identificação do processo de radiação em alimentos que continham minerais agregados, utilizando batatas, cabolas e kiwi. Seus resultados foram positivos. Estudos sobre a detecção de cogumelos e frutas irradiados e que continham algum tipo de mineral agregado, são descritos por Dangi *et al.* (1993). Ainda sobre frutas irradiadas, encontramos trabalhos de Sharifzadeh & Sohrabpour (1993) e Khan & Delincée (1995), apresentaram resultados positivos na detecção de dátiles irradiados, na análise por TL, dos minerais contaminantes aderidos nas amostras. Análises por TL em fragmentos de conchas marinhas foram feitos por Carmichael *et al.* (1994) e Pinnioja & Pajo (1995), em que os autores concluíram que esse método pode ser utilizado como uma técnica de identificação de alimentos

irradiados sem sombra de dúvida. Nossos resultados, corroboram com toda esta gama de estudos apresentados na literatura.

5.8.4 Análise dos hidrocarbonetos por cromatografia gasosa

A irradiação dos ácidos graxos e triglicérides encontrados nos feijões, originou a formação dos hidrocarbonetos C_{n-1} e $C_{n-2,1}$, por nós detectados, conforme apresentados na tabela 21.

Tabela 21. Hidrocarbonetos derivados da radiólise dos ácidos graxos.

	Ácidos Graxos	Hidrocarbonetos induzidos pela radiação	
		C_{n-1}	$C_{n-2,1}$
C 16:0	ácido palmítico	15:0	1 - 14:1
C 18:1	ácido oléico	8 - 17:1	1,7 - 16:2
C 18:2	ácido linoléico	6,9 - 17:2	1,7,10 - 16:3
C 18:3	ácido linolênico	6,9,12 - 17:3	1,7,10,13 - 16:4

Os feijões estudados continham uma quantidade maior de ácidos palmítico, oléico, linoléico e linolênico, conforme a tabela 22.

Alguns hidrocarbonetos, como por exemplo o pentadecano (C 15:0), estavam também presentes nas amostras não irradiadas. Esta forma de contaminação já foi previamente observada por outros autores, sendo identificada a ocorrência de hidrocarbonetos saturados em função do tipo de material de empacotamento (Grob *et al.*, 1991; Morehouse *et al.*, 1991, 1993; Biedermann *et al.*, 1992; Schreiber *et al.*, 1994; Lembke *et al.*, 1995; Schulzki *et al.*, 1996).

Tabela 22. Composição dos ácidos graxos das variedades estudadas.

Ácido Graxo		Carioca %	Macaçar %
C 12:0	ácido laurico	0,2	-
C 14:0	ácido mirístico	0,1	0,4
C 15:0	pentadecílico	-	0,1
C 16:0	ácido palmítico	11,3	26,8
C 16:1	ácido palmitoleico	0,1	0,9
C 17:0	ácido margarico	0,2	0,2
C 18:0	ácido esteárico	1,9	5,9
C 18:1	ácido oleico	11,0	28,5
C 18:2	ácido linoleico	35,5	19,3
C 18:3	ácido linolênico	36,7	11,3
C 20:0	ácido araquídico	0,5	1,2
C 20:1	ácido gadoleico	0,1	0,5
C 22-24	ácidos maiores	2,3	4,7
% total de gordura		1,0	0,8

100% = total de ácidos graxos determinados.

De acordo com a decomposição lipídica durante a irradiação, como proposto por Nawar (1983, 1986, 1996), um determinado número de hidrocarbonetos podem ser observados. Sendo que a quantidade de hidrocarbonetos aumenta com o aumento da dose de radiação, como observado na tabela 23.

Hidrocarbonetos insaturados também têm sido observados em alimentos não irradiados, tais como peixes (Schulzk *et al.* 1993) ou em carne bovina (Hartmann *et al.*, 1995). Entretanto, a degradação típica formando hidrocarbonetos C_n-1 e C_n-2 derivados de ácidos graxos precursores é característica da irradiação (Nawar, 1988).

Tabela 23. Formação de hidrocarbonetos pela irradiação nos feijões carioca e macaçar.

Hidrocarboneto µg/g gordura	Dose (kGy)					
	0	0,5	1	2,5	5	10
Carioca						
C 15:0	1,47	1,53	1,87	2,07	4,13	6,40
C 1 - 14:1	<0,13	0,60	0,93	2,13	4,87	8,20
C 8 - 17:1	0,73	0,47	0,73	2,27	7,33	12,60
C 1,7 - 16:2	-	1,33	2,13	5,07	11,40	18,70
C 6,9 - 17:2	-	0,89	1,27	2,93	7,53	13,90
C 1,7,10 - 16:3	-	0,93	1,53	3,93	9,00	14,90
Macaçar						
C 15:0	1,46	1,47	1,89	2,89	4,60	8,07
C 1 - 14:1	-	1,73	2,33	6,27	11,60	17,00
C 8 - 17:1	-	<0,13	0,13	0,53	1,00	2,27
C 1,7 - 16:2	-	0,13	0,53	1,40	2,33	4,93
C 6,9 - 17:2	-	0,53	0,93	2,27	4,13	9,33
C 1,7,10 - 16:3	-	<0,13	0,33	2,13	5,27	10,40

É interessante notar que para todos os 3 ácidos graxos, C16 - palmítico, C 18:1 - oléico e C 18:2 linoléico, o hidrocarboneto Cn-2:1 ocorre em uma taxa maior que o hidrocarboneto Cn-1, pelo menos nas doses acima de 1 kGy. A taxa de hidrocarbonetos Cn-2:1 / Cn-1 é cerca de 1.1 - 1.5 para todos os três ácidos graxos, C 16:0, C18:1 e C18: 2 nas doses de 5 e 10 kGy nos feijões carioca. No feijão macaçar, para C18:2 esta taxa é de 1.2, mas para C16:0 e C 18:1, há um aumento de duas vezes, 2.1 - 2.5. Foi observado por diversos autores que, a taxa de formação de hidrocarbonetos Cn-1 é muito mais alta para os ácidos graxos livres do que para os triglicerídeos (Dubravcic and

Nawar, 1976; Nawar et al. 1996). Assim, a presença de ácidos graxos ou de diferentes tipos de gorduras irão influenciar a formação dos hidrocarbonetos durante a irradiação.

Este trabalho mostra que os hidrocarbonetos radiolíticos podem ser detectados em feijões irradiados, usando-se uma análise de cromatografia gasosa relativamente simples. A aplicação da cromatografia gasosa para hidrocarbonetos radiolíticos como uma ferramenta de detecção do tratamento dos alimentos por irradiação está proposta atualmente como padrão na comunidade europeia, sob o registro DIN-EN 1784, 1996. De acordo com esse método-padrão, todos os hidrocarbonetos, C_n-1 e $C_n-2:1$, podem ser detectados. A sensibilidade desse método de detecção possibilitou uma identificação inequívoca dos feijões irradiados nas doses de 1 kGy e maiores.

A formação dos hidrocarbonetos característicos formados durante a irradiação nos dois tipos de feijão são ilustrados nas figuras 25 e 26.

É possível notar nas figuras 25 e 26 que feijões irradiados na dose de 0,5 kGy também podem ser identificados, porém baixas doses podem ser detectadas com maior precisão, usando-se um novo procedimento proposto por Hartmann *et al.*, (1996). Este procedimento proporciona um enriquecimento dos hidrocarbonetos com simultâneas separações dos mesmos em várias frações, tais como alcanos, dienos e trienos, promovendo uma identificação segura.

A análise dos feijões após 6 meses de irradiação e estocagem mostrou que os hidrocarbonetos induzidos pela radiação exibem uma alta estabilidade. Uma vez que o tempo de estocagem dos feijões dura de uma safra para outra, a detecção dos hidrocarbonetos oferece uma identificação segura do tratamento por radiação sob condições de estocagem.

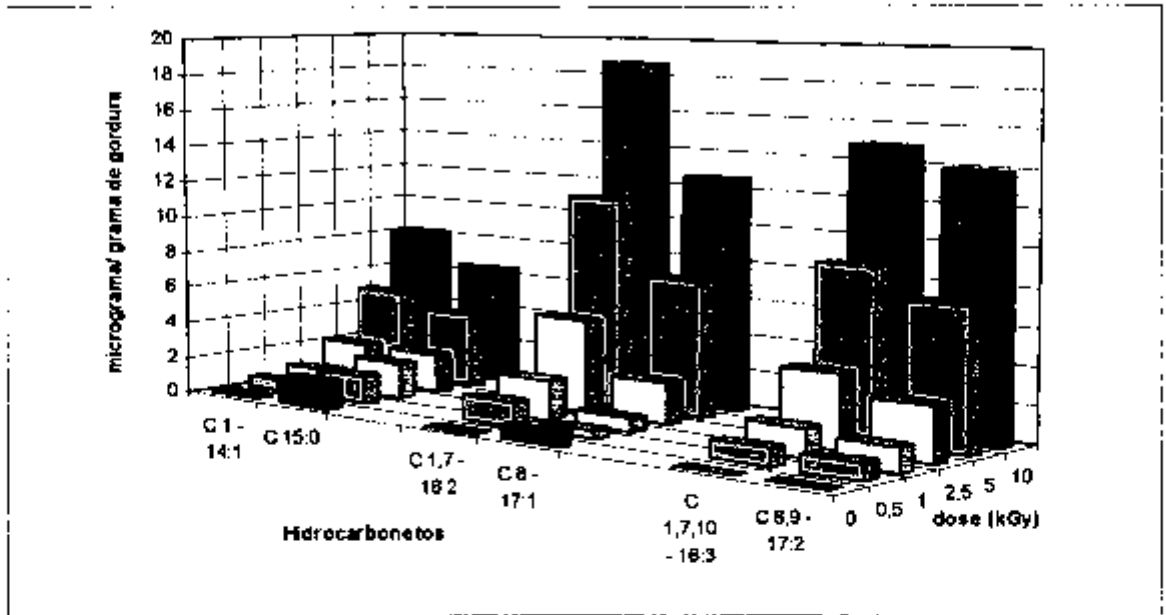


Figura 25. Hidrocarbonetos formados após a irradiação no feijão carioca.

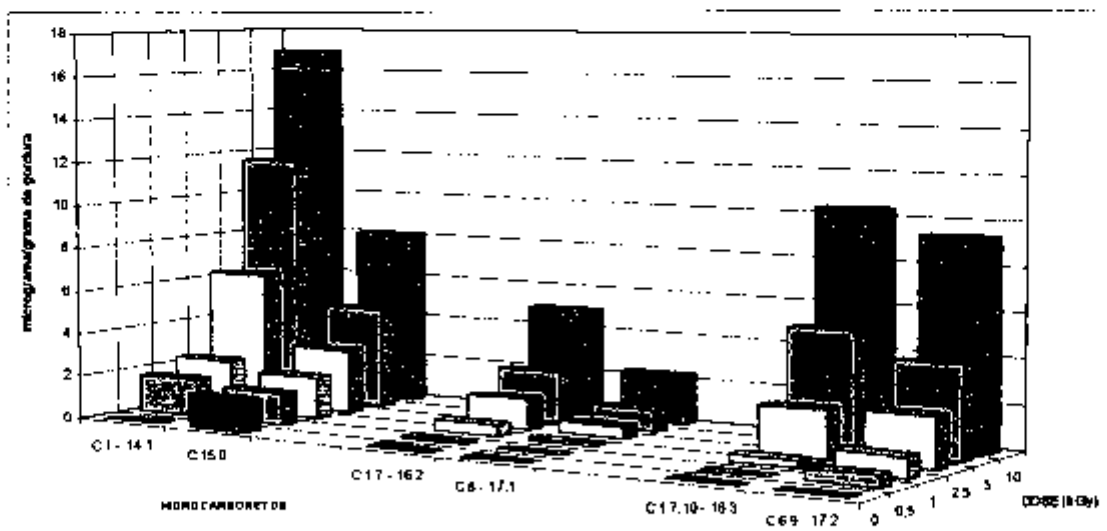


Figura 26. Hidrocarbonetos formados após a irradiação no feijão macaçar.

6. RESUMO DOS RESULTADOS

- 6.1** O tempo de cocção dos feijões foi reduzido com o tratamento pela radiação ionizante. Nas doses de até 1 kGy, as qualidades sensoriais dos feijões não foram afetadas. No entanto, doses acima de 2,5 kGy reduziram consideravelmente o tempo de cocção dos feijões, porém, comprometeram as qualidades sensoriais.
- 6.2** Os valores encontrados para os fenólicos totais das duas variedades, até a dose de 2,5 kGy não se alteraram. Doses acima de 2,5 kGy, induziram uma redução nos valores correspondentes ao aumento das doses de radiação. Os valores encontrados para os taninos também mostraram que nas duas variedades, são sensíveis às radiações ionizantes para doses acima de 2,5 kGy.
- 6.3** Com o cozimento, os fitato dos feijões foram fragmentados a formas menores de fosfato de inositol. Nas amostras cruas tratadas por radiação e estocadas, não foram detectadas as frações IP_4 e IP_3 .
- 6.4** Os feijões da variedade carioca apresentaram perda de vitaminas B_1 e B_6 na dose de 1 kGy, enquanto que a vitamina B_2 não foi afetada pelo processo de irradiação.
- 6.5** Até a dose de 10 kGy, não foram observadas alterações no teor protéico, no valor biológico e na digestibilidade das duas variedades.
- 6.6** O método de detecção de alimentos irradiados por germinação, o "half-embryo test", mostrou ser aplicável como metodologia rápida e barata para uma varredura nos feijões irradiados.

- 6.7** O teste do DNA é um método rápido de detecção, que mostrou ser aplicável no caso dos feijões irradiados. Nas duas variedades estudadas conseguiu-se determinar as migrações causadas pela irradiação;
- 6.8** Na dose permitida de 1 kGy, após 6 meses de estocagem pode detectar-se as alterações no DNA causadas pela irradiação. Conforme o acréscimo da dose de radiação, aumentou a migração do DNA. Com 10 kGy houve migração praticamente de todo conteúdo celular.
- 6.9** Feijões tratados por radiação podem ser detectados pelo ensaio de termoluminescência, desde que contenham minerais agregados à sua casca.
- 6.10** A irradiação das duas variedades de feijões, levou à formação de hidrocarbonetos que foram identificados como potentes sinalizadores do processo de irradiação. A sensibilidade do método e a estabilidade do sinal permitem que esta metodologia seja utilizada em alimentos com qualquer quantidade de lípidos.

7. CONCLUSÕES

Os resultados mostram que não houve alterações na concentração de vitaminas do complexo B e na qualidade biológica de proteínas das duas variedades de feijão, *Phaseolus vulgaris* variedade carioca e *Vigna unguiculata* (L.) Walp variedade macaçar, quando irradiadas com doses de 0; 0,5; 1; 2,5; 5 e 10 kGy. de ^{60}Co .

Os métodos para a identificação de alimentos irradiados, "half-embryo test", "comet assay", termoluminescência e cromatografia gasosa, demonstram serem aplicáveis. A importância destes métodos é dar ao consumidor, a garantia de que o alimento foi tratado por radiação.

Em função dos resultados obtidos, pudemos concluir que a aplicação da radiação ionizante de ^{60}Co é um método adequado para o tratamento de feijões, mantendo a qualidade de preservação destes grãos, fonte protéica muito utilizada na alimentação brasileira.

8. ANEXOS

8.1 CONTEÚDO DE VITAMINAS E OUTROS COMPONENTES NA DIETA

Componentes	Mistura Vitamínica C-1000		Dieta final contendo 2% da mistura vitamínica	
Vitamina A	750 000 (225	IE/kg mg/kg)	15 000 (4.5	IE/kg mg/kg)
Vitamina D ₃	25 000 (625	IE/kg µg/kg)	500 (12.5	IE/kg µg/kg)
Vitamina E	7 500	mg/kg	150	mg/kg
Vitamina K ₃	500	mg/kg	10	mg/kg
Vitamina B ₁	1 000	mg/kg	20	mg/kg
Vitamina B ₂	1 000	mg/kg	20	mg/kg
Vitamina B ₅	750	mg/kg	15	mg/kg
Vitamina B ₁₂	1 500	µg/kg	30	µg/kg
Niacina	2 500	mg/kg	50	mg/kg
Ácido Pantotênico	2 500	mg/kg	50	mg/kg
Folacina	500	mg/kg	10	mg/kg
Biotina	10	mg/kg	200	µg/kg
Colina	50 000	mg/kg	1000	mg/kg
ácido p-Aminobenzoico	5 000	mg/kg	100	mg/kg
Inositol	5 000	mg/kg	100	mg/kg
Vitamina C	1 000	mg/kg	20	mg/kg
DL-Metionina	173 250	mg/kg	3465	mg/kg

8.2 CONTEÚDO DE MINERAIS E ELEMENTOS TRAÇOS NA DIETA

Componentes	Mistura mineral C-1000	Dieta final contendo 6% da mistura mineral
Cálcio	146.0 g/kg	8.76 g/kg
Fósforo	97.4 g/kg	5.84 g/kg
Magnésio	8.78 g/kg	0.527 g/kg
Sódio	39.2 g/kg	2.35 g/kg
Potássio	116.5 g/kg	6.99 g/kg
Cloro	63.5 g/kg	3.81 g/kg
Enxofre	10.5 g/kg	0.632 g/kg
Manganês	1734 mg/kg	104 mg/kg
Zinco	387 mg/kg	23.2 mg/kg
Cobre	85.2 mg/kg	5.11 mg/kg
Iodo	7.5 mg/kg	0.45 mg/kg
Molibdenio	3.31 mg/kg	0.20 mg/kg
Fluor	70.1 mg/kg	4.20 mg/kg
Selênio	3.84 mg/kg	0.23 mg/kg
Cobalto	2.06 mg/kg	0.12 mg/kg
Alumínio	70 µg/kg	4.2 µg/kg

9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADA *Position of the american dietetic association: food irradiation* Journal of the Am. Diet. Assoc. v. 96 - n. 1, p. 69-71, 1996.
- ADAM, S. Radiolysis of α,α - trehalose in concentrated aqueous solution; the effect of co-irradiated proteins and lipids. *Int. J. Radiat. Biol.*, v. 42, p. 531-544, 1982.
- ADRIAN, J., FRAYSSINET, C. La désinsectation des céréals et des légumineuses africaines par l'irradiation gamma. *Aliment. Vie*, Paris, v. 63, p. 265-272, 1975.
- AGUILERA, K. M. and STANLEY, D. W. *A review of textural defects in cooked reconstituted legumes - the influence of storage and processing* J. Food Process. Preserv., Westport, 9, 145-169, 1985.
- AHMED, M. Up-to-date status of food irradiation. *Radiat. Phys. Chem.*, Oxford, v. 42, n. 1-3, p. 245-251, 1993.
- ALETOR, V.A., ABD EL-MONEIM, A.M., GOODCHILD, A.V. Evaluation of the seeds of selected lines of three *Lathyrus* spp. for β -N-oxalylamino-L-alanine (BOAA), tannins, trypsin inhibitor activity and certain *in vitro* characteristics. *J. Sci. Food Agric.*, London, v. 65, p.143-151, 1994.
- ANG, C.Y.W. Stability of three forms of vitamin B₆ to laboratory light conditions. *J. Ass. Off. Analyt. Chem.*, v.62, 1170-1173, 1979.
- AOAC (Association of Official Analytical Chemists) *Official methods of analysis*. 14. ed., Washington, 1984. 1141p.
- ARENS, D., LASKAWY, G., GROSCH, W., Lipoxygenase of peaos formation of volatile aldehydes from linoleic acid. *Z. Lebensm. Unters. Forsch.* v.151, p. 162-166, 1973.
- AURANGZEB, AHMAD, M., BADSHAH, A., BIBI,N. Effect of gamma irradiation on cookability and associated physicochemical properties of two legumes. *J. Sci. Ind. Res.*, Paquistão, v. 33, p. 151-154, 1990.
- BADSHAH K.A., KLOPFENSTEIN, C.F. Effect of GAMMA irradiation on the nutritional quality of grain and legumes. I. Stability of niacin, thiamin and riboflavin. *Cereal Chem.*, St. Paul, v. 66, p. 169-170, 1989.
- BARAMPAMA, Z., SIMARD, R.E. Oligosaccharides, antinutritional factors, and protein digestibility of dry beans as affected by processing. *J. Food Sci.*, v. 59, p.833-838, 1994.
- BARTNIK, M., SZAFRANSKA, I. Changes in phytate content and phytase activity during the germination of some cereals. *J. Cereal. Sci.*, London, v. 5, p. 23-28, 1987.
- BEHERE, A., DESAI, S.R.P., RAO, S.M.D., NAIR, P.M. A simple method for identification of irradiated spices *Radiat. Phys. Chem.*, Oxford, v. 40, n.1, p. 27-30. 1992.

- BELLIARDO, J.J. Methods for the detection of foodstuffs treated by irradiation. *Radiat. Phys. Chem.*, Oxford, v. 42, n. 1-3, p. 377-382, 1993.
- BERNARDES, D.M.L. Avaliação dos métodos de identificação de especiarias e vegetais desidratados submetidos a processamento por radiação. São Paulo, 1996. 78 p. [Tese de Doutorado – Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares].
- BERRIDGE, M.J., IRVINE, R.F. Inositol phosphates and cell signalling. *Nature*, London, v. 341, p. 197-205, 1989.
- BIEDERMANN, M. ; GROB, K. ; FRÖLICH, D. ; MEIER, W. On-line coupled liquid chromatography-gaschromatography (LC-GC) and LC-LC-GC for detecting irradiation of fat-containing foods *Lebensm. Unters. Forsch.* 195, 409-416, 1992.
- BOBBIO, P. A., BOBBIO, F. O. *Introdução à química de alimentos*. 2. ed. São Paulo: Livraria Varela, 1992. 306p.
- BOBBIO, P. A., BOBBIO, F. O. *Química do processamento de alimentos*. 2. ed. São Paulo: Livraria Varela, 1992. 151p.
- BÖGL, K.W., SCHREIBER, G.A. Identification of irradiated foods. In: Proceedings of EURO FOOD CHEM VIII, Hrsg.: G.Sonntag, W. Pfannhauser, Vienna, September 18 -20, v. 1, 154-157, 1995.
- BOGNÁR, A. Influence of extraction on the determination of vitamin B₆ in food by HPLC. *Z. Lebensm. Unters. Forsch.*, Munich, v. 204, p. 327-335, 1997.
- BOGNÁR, A. Determination of vitamin B₁ in food by high-performance liquid chromatography and post-column derivatization. *Fresenius J. Anal. Chem.*, Wiesbaden, v. 343, p. 155-156, 1992.
- BOGNÁR, A. Optimierung der Vitamin B1 und B2 Bestimmung in Lebensmitteln mit Hilfe der Hochdruckflüssigkeits-Chromatographie (HPLC). *BFE-Bericht R-89-01 Karlsruhe*, pp. 9-19, 1989.
- BOGNÁR, A., BUTZ, P., KOWALSKI, E., LUDWIG, G. H., TAUSCHER, B. Stability of thiamine in pressurized model solutions and pork. In: *BIOAVAILABILITY'93*, Nutritional, Chemical and Food Processing Implications of Nutrient Availability Karlsruhe, 1993. *Proceedings*. Karlsruhe, BFE, 1993. pt.2, 352-356. [Berichte der Bundesforschungsanstalt für Ernährung BFE-R-93-01]
- BOLETIM IAEA, Vienna, 1992.
- BORS, W., HELLER, W., MICHEL, C., SARAM, M. Radical chemistry of flavonoid antioxidant. In: EMERIT, I. et al. (eds.), *Antioxidants in therapy and preventive medicine*. New York: Plenum Press, pp. 165-170, 1990.
- BRESSANI, R. Acondicionamento, procesamiento y aspectos nutricionales y toxicológicos de leguminosas. In: SEMINÁRIO LATINOAMERICANO DE CIÊNCIAS Y TECNOLOGIA DE ALIMENTOS, 5., Viña del Mar, 1985.

- BRUNE, M., ROSSANDER-HULTEN, L., HALLBERG, L., GLEERUP, A., SANDBERG, A.S. Iron absorption from bread in humans: inhibition effects of cereal fiber, phytate and inositol phosphates with different numbers of phosphate groups. *J. Nutr.*, Philadelphia, v. 122, p. 442-449, 1992.
- BRYNJOLFSSON, A. Combination processes in food irradiation. *Proc. IAEA*, 466p. Vienna, 1980.
- BURBANO, C., MUZQUIZ, M., OSAGIE, A., AYETZ, G., CUADRADO, C. Determination of phytate and lower inositol phosphates in Spanish legumes by HPLC methodology. *Food Chem.*, Barking, v. 52, p. 321-325, 1995.
- CARBONARO, M., VIRGILI, F., CARNOVALE, E. Evidence for protein-tannin interaction in legumes: implications in the antioxidant properties of faba bean tannins. *Lebensm. Wiss. Technol.*, Zurich, v. 29, p. 743-750, 1996.
- CARMICHAEL, L.A., SANDERSON, D.C.W., NI RIAIN, S. Thermoluminescence measurement of calcite. *Radiat. Meas.*, Oxford, v. 23, n. 2/3, p. 455-463, 1994.
- CARMONA, A., BORGUDD, L., BORGES, G., LEVY-BENSHIMOL, A. Effect of black bean tannins on in vitro carbohydrate digestion and absorption. *J. Nutr. Biochem.*, Stoneham, v.7, p. 445-450, 1996.
- CARVALHO, M.R.B., RODRIGUES, M.A.A.P.S., TAVARES, D.G., MCGINNIS, J., SGARBIERI, V.C. Efeito da irradiação (raios Gama) sobre as propriedades físicas, sensoriais e nutricionais dos grãos de feijão (*Phaseolus vulgaris*, L.) cv. Carioca 80. *Pesq. Agrop. Bras.*, Brasília, 1992.
- CERDA, H., DELINCÉE, H., HAINE, H., RUPP, H. The DNA "comet assay" as a rapid screening technique to control irradiated food. *Mutat. Res.*, Amsterdam, v.375, p. 167-181, 1997.
- CERDA, H., HOFSTEN, B., JOHANSON, K.J. Identification of irradiated food by microelectrophoresis of DNA from single cells. In: *Recent advances of new methods of detection of irradiated food. Proceedings of the workshop*. Ancona, 24-26 Sept. 1991, (Leonardi, M., Belliaro, J.J., Raffi, J.J., eds.), Luxembourg: Commission of the European Communities. EUR 14315, pp. 401-405, 1993.
- CHANG, R., SCHWIMMER, S., BURR, K.K. Phytate: removed from whole dry beans by enzymatic hydrolysis and diffusion. *J. Food Sci.*, Chicago, v.42, p. 1141-1143, 1977.
- CHEFTEL, J. C. , "High pressure and biotechnology" Eds. C. Balny, R. Hayashi, K. Heremans and P. Masson, Colloque *INSERM/John Libbey Eurotext Ltd.* , 224, 195-209, 1992.
- CHIMI, H., CILLARD, J., CILLARD, P., RAHAMANI, M. Peroxyl and hidroxil radical scavenging activity of some natural phenolic antioxidants. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, v. 68, p. 307-312, 1991.

- CLARKSON, S.P., LARGE, P.L., BAMMFORTH, C.W. Oxygen-scavenging enzymes in barley and malt and their effects during mashing. *J. Inst. Brew.*, v. 98, p. 111-115, 1992.
- CODEX ALIMENTARIUS General standard for irradiated foods. vol. XV. 1983.
- COELHO, L.C.B.B., MEDEIROS, R.B. DE, FLORES, H. Effect of storage on the amino acid composition and biological quality of irradiated macaçar beans, *Vigna Unguiculata (L.) Walp. J. Food Sci.*, Chicago, v. 43, p. 215-217, 221, 1978.
- COTTEE, J., KUNSTADT, P., FRASER, F. Commercialization of food irradiation in the U.S.A. *Radiat. Phys. Chem.*, Oxford, v. 46, n. 4-6, p. 659-672, 1995.
- CUNHA, M. F. Efeitos de tratamento por radiação gama ou microondas em propriedades físicas, bioquímicas, químicas e sensoriais do feijão (*Phaseolus vulgaris, L.*) da variedade carioca 80 S. H., antes e durante a estocagem Campinas, 129 p. (*Tese de Mestrado Universidade Estadual de Campinas - UNICAMP*) 1992.
- DANGL, T., LEITNER-WILD, E., HILLE, P., NOWOTNY, R. Detection of irradiated mushrooms and kiwi fruits by thermoluminescence measurement. *Radiat. Phys. Chem.*, Oxford, v. 41, n. 3, p. 447-452, 1993.
- DAGUIR, N.J., SELL, J.L., MATHEOS, G.G. Effect of gamma irradiation on nutritional value of lentils (*lens Culinaris*) for chicks. *Nutrition Reports International*, v.27, p. 1087-1093, 1983.
- DAUPHIN, J. F. and SAINT-LÉBE, L. Radiation chemistry of carbohydrates, in: P. S. Elias, A. J. Gohen (eds.), "*Radiation chemistry of major food components*". Elsevier, Amsterdam, 131-185, 1977.
- DeL MASTRO, N.L., VILLAVICENCIO, A.L.C.H. Impedance measurement of irradiated potatoes: a method to identify radiation processing. *Symposium: Técnicas Experimentais em Física*, São Paulo, 1992.
- DeL MASTRO, N.L., VILLAVICENCIO, A.L.C.H., YAMASAKI, M.C.R. Effect of electron beam irradiation on viscosity/temperature characteristics of cellulose derivatives. *Publicação IPEN-CNEN/SP.*, n.354, 1991
- DELINCÉE, H. ; EHLERMANN, D. A. E. and BÖGL, K. W. *The feasibility of an identification of radiation processed food* In Who, ISH-125, 1988.
- DELINCÉE, H. A rapid and simple screening to identify irradiated food using multiple gas sensors. In: McMURRAY, C. H., STEWART, E.M., GRAY, R., PEARCE, J., eds. *Detection methods for irradiated foods: current status*. Cambridge: Royal Society of Chemistry, p. 327-330, 1996.
- DELINCÉE, H. Application of the DNA "Comet Assay" to detect irradiation treatment of foods. In: McMURRAY, C. H., STEWART, E.M., GRAY, R., PEARCE, J., eds.

- Detection methods for irradiated foods: current status.** Cambridge: Royal Society of Chemistry, p. 350-352, 1996.
- DELINCÉE, H. Control of irradiated food: recent developments in analytical detection methods. *Radiat. Phys. Chem.*, Oxford, v. 42, n. 1-3, p. 351-357, 1993.
- DELINCÉE, H. Detection methods for irradiated foods. Food Irradiation Symposium, Agriculture Canada, St. Hyacinthe, 34 p., 1992.
- DELINCÉE, H. Detection methods for irradiated foods: an overview. *Radiat. Phys. Chem.*, Oxford, v. 48, n. 3, p. 378-379, 1996.
- DELINCÉE, H. DNA "comet assay" for rapid detection of irradiated food. *Acta Aliment.*, Budapest, v. 25, n. 3, p. 319-321, 1996.
- DELINCÉE, H. Estimation of radiolytic gases as a rapid screening technique to control irradiated food. *Acta Aliment.*, Budapest, v. 25, n. 3, p. 315-318, 1996.
- DELINCÉE, H. Introduction to DNA methods for identification of irradiated foods. In: McMURRAY, C. H., STEWART, E.M., GRAY, R., PEARCE, J., eds. **Detection methods for irradiated foods: current status.** Cambridge: Royal Society of Chemistry, p. 346-348, 1996.
- DELINCÉE, H. Rapid and simple screening tests to detect the radiation treatment of foods. *Radiat. Phys. Chem.*, Oxford, v. 46, n. 4-6, p. 667-680, 1995.
- DELINCÉE, H. Recent advances in radiation chemistry of proteins. In: ELIAS, P.S., COHEN, A.J., eds. **Recent advances in food irradiation.** Amsterdam: Elsevier Biomedical Press, p. 129-147, 1983.
- DELINCÉE, H., BOGNÁR, A. Effect of ionizing radiation on the nutritional value of legumes. In: **BIOAVAILABILITY'93. Nutritional, Chemical and Food Processing Implications of Nutrient Availability** Karlsruhe, 1993. *Proceedings*, Karlsruhe, BFE, 1993, pt.2, 367-371. [Berichte der Bundesforschungsanstalt für Ernährung BFE-R-93-01]
1. DELINCÉE, H., MANCINI-FILHO, J., VILLAVICENCIO, A.L.C.H. Protein quality of irradiated brazilian beans. *Radiation, Physics and Chemistry*, Oxford, vol 52:1-6, 43-47, 1998
- DELINCÉE, H., MARCHIONI, E., HASSELMAN, C. Changes in DNA for the detection of irradiated food. *Commission of the European Communities - bcr information. EUR 15012 EN*, 1993
- DERR, D. D. et al. Progress of food irradiation in the United States. *Radiat. Phys. Chem.*, Oxford, v. 46, n. 4-6, p. 681-688, 1995.
- DERR, D. D., ENGEL, R. E. Status of food irradiation in the United States. *Radiat. Phys. Chem.*, Oxford, v. 42, n. 1/3, p. 289-296, 1993.

- DESPHANDE, S.S., SATHE, S.K., SALUNKHE, D.K., CORNFORTH, D.P. Effects of dehulling on phytic acid, polyphenols, and enzyme inhibitors of dry beans (*Phaseolus vulgaris* L.). *J. Food Sci.*, v. 47, p. 1846-1850, 1982.
- DESROSIERS, M.F. Current status of EPR method to detect irradiated food. *Appl. Radiat. Isot.*, Oxford, v. 47, p. 1621-1628, 1996.
- DEUTSCHE GESELLSCHAFT für FETTWISSENSCHAFT e.V. Münster. Deutsche Einheitsmethoden zur Untersuchung von Fetten. *Fettprodukten, Tensiden und verwandten Stoffen; Wissenschaft. Verlagsges.* : Stuttgart, 1987.
- DIEHL, J. F. Food irradiation: is it an alternative to chemical preservatives? *Food Addit. Contam.*, London, v. 9, p. 409-416, 1992.
- DIEHL, J. F. *Safety of irradiated foods*. New York: Marcel Dekker, 454p. 1995.
- DIEHL, J. F., JOSEPHSON, E. S. Assessment of wholesomeness of irradiated foods: a review. *Acta Aliment.*, Budapest, v. 23, n. 2, p. 195-214, 1994.
- DIEHL, J.F. Will irradiation enhance or reduce food safety? *Food Policy*, Guildford, v.18, p.143-151, 1993.
- DUBRAVCIC, M. F. ; NAWAR, W. W. Efecct of free fatty acids on the radiolysis of triglycerides *J. Agric. Food Chem.* 24, 1087-1088, 1976.
- DUARTE, C.L., VILLAVICENCIO, A.L.C.H., DEL MASTRO, N.L. Detection of irradiated chicken by ESR spectroscopy of bones *Radiat. Phys. Chem.*, Oxford, v. 46, n. 4-6, p. 689-692, 1995.
- EHLERMANN, D. The possible identification of an irradiation treatment of fish by means of electrical (ac) resistance measurement *J. Food Sci.* 37, 501, 1972.
- EHLERMANN, D., DELINCÉE, H. Lebensmittelbestrahlung - Antworten auf oft gestellte fragen. Publicação BFE, 8p. 1996.
- EHLERMANN, D.A.E. Dosimetry and identification as a tool for official control of food irradiation. *Radiat. Phys. Chem.*, Oxford, v. 46, n. 4-6, p. 693-698, 1995.
- EMBRAPA Agroindústria requer variedades com características específicas. *Feijão com Arroz*, Goiânia, v.1, n.3, p. 3, 1997.
- EMBRAPA Industrialização do feijão pode aumentar consumo per capita. *Feijão com Arroz*. Goiânia, v.1, n.2, p. 4-5, 1997

- ENE-OBONG, H.N. Content of antinutrients and in vitro protein digestibility of the African yambean, pigeon and cowpea. *Plant Foods Hum. Nutr.*, Dordrecht, v. 48, p. 225-233, 1995.
- ENE-OBONG, H.N., OBIZOBA, I.C. Effect of domestic processing on the cooking time, nutrients, antinutrients and in vitro Protein digestibility of the African yambean (*Sphenostylis stenocarpa*) *Plant Foods Hum. Nutr.*, Dordrecht, v. 49, p. 43-52, 1996.
- EL SAADANY, R.M.A., FODA, Y.H., EL SAADANY, F.M. Improving of Egyptian rice by means of gamma radiation. *Stärke*, v.31, p. 230-234, 1979.
- FAO, Codex General Standard for Irradiated Foods and Recommended International Code of Practice for the Operation of Radiation Facilities used for the treatment of food. Codex Alimentarius, vol. XV. Rome, 1984.
- FAO, IAEA, ADMIT. Co-Ordinated Research Programme on analytical detection methods for irradiation treatment of foods. Warsaw, 1990. 45p.
- FAO, IAEA, WHO. Report of a consultation group on the legal aspects of food irradiation. p. 12-15, Vienna, 1973.
- FAO, IAEA,WHO, ICGFI. Catch the Wave. 6p. Vienna, 1996.
- FAO. IAEA,WHO, ICGFI. Code of good irradiation practice for insect disinfestation of dried fruits and tree nuts. ICGFI/XI/WP-10. 1994.
- FAO, IAEA,WHO, ICGFI. Review of data on high dose (10-70 kGy) irradiation of food. *World Health Organization Food Safety Unit*, Geneva, 67p. 1995.
- FAO/IAEA. Food irradiation newsletter. *Supplement to Food irradiation newsletter* v. 19, n. 2, 1995
- FAO/OIEA/OMS. La comestibilidad de los alimentos irradiados. Ginebra, 41p.1981.
- FARRAR IV, H., GOING, T. Commercial application of food irradiation in Brazil. An *FAO/IAEA mission report IAEA*. pp. 1-41, Vienna, 1994.
- FARRAR IV, H., HAYES, D. J. Commercial application of food irradiation in Brazi (Part II) *An FAO/IAEA mission report IAEA*, pp. 1-67, Vienna, 1996.
- FDA - Department of Health and Human Services Irradiation in the production, processing and handling of food. *Fed. Reg.* v. 62, n. 232, 64107-64121, 1997.
- FERREIRA, A. M. Subsídios para o estudo de uma praga de feijão (*Zabrotes subfasciatus* Boh.) (Coleoptera, Bruchidae) dos climas tropicais. *Garcia de Orta*, Lisboa, v.8, n.3, p. 559-581, 1960.
- FIFIELD, C.C., GOLUMBIC, C., PEARSON, J.L. *Cereal Science Today*. v. 12(6). p. 253-261, 1967.

- FINDLAY, D. J. S., PARSONS, T. V., SENE, M. R. Irradiation of food and the induction of radioactivity. *Radiat. Phys. Chem.*, Oxford, v. 42, n. 1-3, p. 417-420, 1993.
- FONSECA, H., NOGUEIRA, J. N., MAFFEI, C. I., OLIVEIRA, M. G. Effect of gamma irradiation on the organoleptic and nutritive properties of common beans (*Phaseolus vulgaris* L. cv. mulatinho). Piracicaba: *Centro de Energia Nuclear na Agricultura*, 1974. [CENA-BC-018].
- FOX Jr., J. B., THAYER, D. W., JENKINS, R. K., PHILLIPS, J. G., ACKERMAN, J. B., BEECHER, G. R., HOLDEN, J. M., MORROWS, F. D., QUIRBACHS, D. M. Effect of gamma irradiation on the B vitamins of pork chops and chicken breasts. *Int. J. Radiat. Biol.*, London, v. 55, n. 4, p. 689-703, 1989.
- FOX Jr., J. B., THAYER, D. W., PHILLIPS, J. G. An exponential model equation for thiamin loss in irradiated ground pork as a function of dose and temperature of irradiation. *Radiat. Phys. Chem.*, Oxford, (*Int. J. Radiat. Appl. Instrum., part C*), v. 34, n. 6, p. 957-961, 1989.
- FOX Jr., J.B., ACKERMAN, S., THAYER, D.W. The effect of radiation scavengers on the destruction of thiamin and riboflavin in buffers and pork due to gamma irradiation. *Prehrambeno-Tehnof. Biotehnol. Rev.*, Zagreb, v. 30, n. 4, p. 171-175, 1992.
- FOX Jr., J.B., LAKRITZ, L., KOHOUT, K.M., THAYER, D.W. Water concentration/Activity and loss of vitamins B₁ and E in pork due to gamma radiation. *J. Food Sci.*, Chicago, v. 59, n. 6, p. 1291-1295, 1994.
- FOX Jr., J.B., LAKRITZ, L., THAYER, D.W. Effect of reductant level in skeletal muscle and liver on the rate of loss of thiamin due to γ -radiation. *Int. J. Radiat. Biol.*, London, v. 64, n. 3, p. 305-309, 1993.
- FRÜHBECK, G., ALONSO, R. MARZO, F., SANTIDRIÁN, S. A modified method for the indirect quantitative analysis of phytate in foodstuffs. *Anal. Biochem.*, Baltimore, v. 225, p. 206-212, 1995.
- FRY, S.C. Cross-linking of matrix polymers in the growing cell walls of angiosperms. *Annu. Rev. Plant Physiol.*, v. 37, p.165-186, 1986.
- GALLO, D., NAKANO, O., SILVEIRA NETO, S. *Manual de entomologia agrícola*. 2. ed. São Paulo: Ceres, 1988. p. 599-600.
- GREGORY, J. F. The effect of heat on the vitamin B6 of milk. 1. Microbiological tests. *J. Dairy res.*, v. 26, p. 203-214, 1959.
- GREGORY, J. F., HINER, M.E. Thermal stability of vitamin B6 compounds in liquid model food systems. *J. Food Sci.*, v. 48, p. 1323-1327, 1339, 1983.
- GREGORY, J. F., INK, S. L., SARTIN, D.B. Degradation and binding to food proteins of vitamin B-6 compounds during thermal processing. *J. Food Sci.*, v.51, p. 1345-1351, 1986.

- GREINER, R. Reinigung, Charakterisierung und Überexpression einer Phytase aus *Escherichia coli* ATCC 33965. Stuttgart. 1993. [Tese de Doutorado - Institut für biochemie der Universität Stuttgart].
- GREINER, R., JANY, K.D. Ist Phytat ein unerwünschter Inhaltsstoff in Getreideprodukten? *Getreid, Mehl und Brot*, v50, p.368-372, 1996
- GREINER, R., KONIETZNY, U. Endogenous phytate-degradating enzymes are responsible for phytate reduction while preparing beans (*Phaseolus vulgaris*) *J. Food Process. Preserv.*, Westport, 1998 - In Press.
- GREINER, R., KONIETZNY, U. Phytate hydrolysis in black beans by endogeneous and exogeneous enzymes. COST 98 Effects of antinutrients on the animal value of legume diets. 4, 19-27, 1996.
- GREINER, R., KONIETZNY, U., JANY, K. D. Purification and characterization of two phytases from *Escherichia coli*. *Arch. Biochem. Biophys.*, New York, v. 203, p. 1-15, 1993.
- GRIFFTHIS, D.W., THOMAS, T.A. Phytate and total phosphorus content of field beans (*Vicia faba* L.). *J. Sci. Food Agric.*, London, v. 32, p. 187-192, 1981.
- GRIFFTHIS, D.W. The phytate content and iron-binding capacity of various field bean (*vicia faba*) preparations and extracts. *J. Sci. Food Agric.*, London, v. 33, p. 847-851, 1982.
- GROB, K. ; BIEDERMANN, M. ; ARTHO, A. ; EGLI, J. Food contamination by hydrocarbons from packaging materials determined by couple *Lebensm. Unters. Forsch.* , 193, 213-219, 1991.
- GROSCH, W., SCHWARZ, J.M., Linoleic and linolenic acid as precursor of the cucumber flavor. *lipids*, v.6, p. 351-352, 1971.
- GUSTAFSSON, E-L., SANDBERG, A-S. Phytate reduction in brown beans (*Phaseolus vulgaris* L.). *J. Food Sci.*, Chicago, v.60, p. 149-152, 1995.
- GUZMÁN-MALDONADO, H., CASTELLANOS, J., GONZÁLEZ DE MEJÍA, E. Relationship between theoretical and experimentally detected tannin content of common beans (*Phaseolus vulgaris* L.). *Food Chem.*, Barking, v. 55, n. 4, 333-335, 1996.
- HAINÉ, H., JONES, L. Microgel electrophoresis of DNA to detect irradiation treatment of seeds. *Food.Sci. Technol. Today*, v. 10, n. 3, p.1996.
- HANIS,T., MRJUKOVÁ, J., POSPISIL, M., KLÍR, P., BONDY, R. Effect of irradiation and storage time on the content of thiamin, riboflavin and vitamin A in feeds based on cereals. *Z. Versuchstierkd.*, Jena, v. 27, p. 169-173, 1985.

- HARINDER, P., MAKKAR, S., GOODCHILD, A.V., EL-MONEIM, A.M.A., BECKER, K. Cell: constituents, tannin levels by chemical and biological assays and nutritional value of some legume foliage and straws. *J. Sci. Food Agric.*, London, v. 71, p. 129-136, 1996.
- HARTMANN, M., AMMON, J., BERG, H. Determination of radiation-induced hydrocarbons in processed food and complex lipid matrices. *Lebensm Unters Forsch.*, v. 204A, p. 231-236, 1997.
- HARTMANN, M., AMMON, J., BERG, H. Nachweis einer strahlenbehandlung in weiterverarbeiteten Lebensmitteln anhand der analytisch strahleninduzierter Kohlenwasserstoffe. Teil 2 *Lebensm Unters Forsch.*, v. 92, p. 137-141, 1996.
- HARTMANN, M., AMMON, J., BERG, H. Nachweis einer strahlenbehandlung in weiterverarbeiteten Lebensmitteln anhand der analytisch strahleninduzierter Kohlenwasserstoffe. *Lebensm Unters Forsch.*, v. 91, p. 277-281, 1995.
- HAU, L. B., LIEW, M. S. Effects of γ -irradiation and cooking time on vitamins B₆ and B₁₂ in grass prawns (*Penaeus monodon*). *Radiat. Phys. Chem., Oxford*, v. 42, n. 1-3, p. 297-300, 1993.
- HAYASHI, R. , "High pressure and biotechnology" Eds. C. Balny, R. Hayashi, K. Heremans and P. Masson. Colloque INSERM/John Libbey Eurotext Ltd. , 224, 185-193, 1992.
- HAYASHI, T. Comparative effectiveness of gamma-rays and electron beams in food irradiation. In: Stuart Thorne, Food irradiation, 1991
- HENON, Y.M. Commercial aspects of food irradiation in France. Proc. of 9Th. World Congress of food Science and Technology. Budapest, Hungary, 1995.
- HENON, Y.M. Food irradiation in perspective. *Radiat. Phys. Chem.*, Oxford, v. 46, n. 4-6, p. 647-651, 1995.
- HUSAIN, S.R., CILLARD, J., CILLARD, P. Hydroxyl radical scavenging activity of flavonoiss. *Phytochemistry*, v. 26, p. 2489-2491, 1987.
- IAEA (International Atomic Energy Agency) Analytical detection methods for irradiated foods: a review of the current literature. Vienna, 1991. 172p. [IAEA-TECDOC-587].
- IAEA Bulletin, PI/A 335, Vienna, 1992.
- IAEA Bulletin, Vienna, 1995.
- IAEA. Food irradiation with emphasis on process control and acceptance in Asia. IAEA-TECDOC-871, 1996.
- IAEA Proceedings Series: Use of irradiation as a quarantine treatment of food and agricultural commodities. Vienna, 1992.
- IAEA-TECDOC- 843, Shelf-Stable foods through irradiation processing. Vienna, 1995.

- IAEA-TECDOC-642. Harmonization of regulations on food irradiation in the Americas. **FAO, IAEA, WHO, 1992.**
- ICGFI Documento GCIIA. No. 3 Código de las buenas practicas de irradiacion para la desinfestación de insectos de granos cereales. Vienna. 1991.
- ICGFI Document No. 22. ASEAN/ICGFI - **Seminar on food irradiation.** Vienna. 1995.
- ICGF (1995) Control of irradiated food in trade - A compilation of principles and international recommendations for regulatory control measures. Vienna. pp.15.
- ICGFI (International Consultative Group on Food Irradiation) **Code of good irradiation practice for insect disinfection of cereal grains.** Vienna. 1991. [ICGFI Document n. 3]
- ICGFI (International Consultative Group on Food Irradiation) **Food Irradiation and consumers.** Vienna. 1994. 172p. [ICGFI Document n. 18]
- ICGFI (International Consultative Group on Food Irradiation) **ICGFI, ASEAN/ ICGFI SEMINAR ON FOOD IRRADIATION.** Vienna, 1995. [ICGFI Document n. 22]
- ISMAIL, F.A., Effect of irradiation on broad bean (*Vicia faba*) textural qualities. **Lebensm. Wiss. u. - Technol.** v. 9, p. 18-20, 1976.
- JACKSON, G.M., VARRIANO-MARTSON, E. Hard to cook phenomenon in beans: effect of accelerated storage on water absorption and cooking. **J. Food Sci.**, Chicago, v. 46, p. 799-803. 1981.
- JADHAV, S., SINGH, B., SALUNKHE, D.K. Metabolims of unsaturated fatty acids in tomato fruits: linoleic and linolenic acid as precursors of hexanal. **Plant Cell Physiol.** v. 13,p. 449-459, 1972.
- JEFFRIES, D.A. Detection of irradiated foods. Leatherhead Food R.A., Lit. Surv., No. 14, 22pp., 1983.
- JOSEPHSON, E.S., THOMAS, M.H., CALHOUN, W.K. Nutritional aspects of food irradiation: an overview. **J. Food Process. Preserv.**, Westport, v. 2, p. 299-313. 1978.
- KÄFERSTEIN, F. K., MOY, G. G. **Public health aspects of food irradiation** Journal of Public Health Policy, vol 14 - n. 2, Summer 1993.
- KAWAMURA, Y. Germination test for identification of gamma-irradiated wheat. **Radiat. Phys. Chem.**, Oxford, v. 39, n. 2, p. 203-207, 1992.
- KAWAMURA, Y., MIURA, A., SUGITA, T., YAMADA, T., SAITO, Y. Application Half-embryo test to irradiated apples and cherries. **Radiat. Phys. Chem.**, Oxford, v. 46, n. 3, p. 371-375, 1995.
- KAWAMURA, Y., SUGITA, T., YAMADA, T., SAITO, Y. Half-embryo test for identification of irradiated citrus fruit: collaborative study. **Radiat. Phys. Chem.**, Oxford, v. 48, n. 5, p. 665-668. 1996.
- KAWAMURA, Y., SUZUKI, N., UCHIYAMA, S., SAITO, Y. Germination test for identification of gamma-irradiated wheat. **Radiat. Phys. Chem.**, Oxford, v. 40, n. 1, p. 17-22. 1992.
- KAWAMURA, Y., UCHIYAMA, S., SAITO, Y. A half-embryo test for identification of gamma-irradiated grapefruit. **J. Food Sci.**, Chicago, v. 54, p.379-382, 1989.

- KAWAMURA, Y., UCHIYAMA, S., SAITO, Y. Improvement of the half-embryo test for detection of gamma-irradiated grapefruit and its applications to irradiated oranges and lemons. *J. Food Sci.*, Chicago, v. 54, p.1501-1504, 1989.
- KENNEDY, T.S. Studies on the nutritional value of foods treated with γ -radiation. 1. Effects on some B complex vitamins in egg and wheat. *J. Sci. Food Agric.*, London, v. 16, p. 81-84, 1965.
- KERMASHA, S., ALLI, I., METCHE, M. Changes in peroxidase activity during the development and processing of *Phaseolus vulgaris* cv. haricot seed. *J. Food Sci.*, v. 53, p. 1753-1755, 1988.
- KHAN, H., DELINCÉE, H. Detection of radiation treatment of spices and herbs of asian origin using thermoluminescence of mineral contaminants. *Appl. Radiat. Isot.*, Oxford, v. 46, n. 10, p. 1071-1075, 1995.
- KHAN, H.M., DELINCÉE, H. Detection of irradiation treatment of dates using thermoluminescence of mineral contaminants. *Radiat. Phys. Chem.*, Oxford, v. 46, n. 4-6, p. 717-720, 1995.
- KHAN, H.M., BHATTI, I.J., DELINCÉE, H. Identification of irradiated pulses by thermoluminescence of the contaminating minerals. *Radiat. Phys. Chem.*, Oxford, 1997 (*in press*).
- KIKUCHI, O.K., Efeitos de baixas doses de radiação gama de ^{60}Co sobre sementes de feijão, arroz e rabanete São Paulo, 65p. [Dissertação de mestrado Instituto de Pesquisas Energeticas e Nucleares USP], 1987.
- KIKUCHI, O.K., DEL MASTRO, N.L. Electron beam irradiation and ammonia treatment of cellulosic wastes. In: *Anais do seminário regional sobre aplicações ambientais de los isotopos y radiaciones, para países de américa latina y el caribe*. Santiago, 1993.
- KIKUCHI, O.K., VILLAVICENCIO, A.L.C.H., DEL MASTRO, N.L. Some biochemical gamma radiation effects on potato tubers. *Rev. Bras. Pesqui. Desenvolv.*, São Paulo, v. 1, n. 1, p.11-17, 1996.
- KILCAST, D. Effect of irradiation on vitamins. *Food Chem.*, Barking, v. 49, p. 157-164, 1994.
- KILLORAN, J. J. et al. Packaging irradiated foods. In: JOSEPHSON, E. S., PETERSON, M. S., eds. *Preservation food by ionizing radiation*. Boca Raton: CRC Press, 1983. v.2, p.317.
- KILLORAN, J. J. et al. Reliability of flexible packaging of radappertized beef under production conditions. *J. Food. Process. Preserv.*, Westport, v. 3, p. 25, 1979.
- KILLORAN, J. J. et al. Reliability of the tinplate can for packaging of radappertized beef under production conditions. *J. Food. Process. Preserv.*, Westport, v. 3, p. 11, 1979.
- KILMER, O.L., SEIB, P.A., HOSENEY, R.C. Effects of minerals and apparent phytase activity in the development of the hard to cook state of beans. *Cereal Chem.*, v. 71, p. 476-482, 1994.
- KIYAK, N. Application of thermoluminescence technique to identify radiation processed foods. *Radiat. Phys. Chem.*, Oxford, v. 46, n. 4-6, p. 721-723, 1995.
- KON, SANSHUCK, D.W. Phytate content and its effects on cooking quality of beans. *J. Food Proc. Preserv.*, v.5, n.3, p.169-178, 1981

- KONDO, T. et al. Free radical generation by ultrasound in aqueous solutions of nucleic acid base and nucleosides: an ESR and spin-trapping study. *Int. J. Radiat. Biol.*, London, v. 53, p. 331-342, 1988.
- KONIETZNY, U., GREINER, R., JANY, K.D. Purification and characterization of a phytase from spelt. *J. Food Biochem.*, Westport p.165-183, 1995.
- KOPPEN, G., CERDA, H. Identification of low-dose irradiated seeds using the neutral comet assay. *Lebensm. Wiss. Technol.*, Zunch, v. 30, p. 452-457, 1997.
- KUMMAR, N.R., REDDY, A.N., RAO, K.N. Levels of phenolics substances in the leacheates in *Cicer* seed. *Indian J. Expt. Biol.* v. 17, p. 114-116, 1979.
- KUNNSTADT, P. et al. Economics of food irradiation. *Radiat. Phys. Chem.*, Oxford, v. 42, n. 1-3, p. 259-268, 1993.
- KWON, J. et al. Gamma irradiation combined with improved packaging for preserving and improving the quality of dried fish (*Engraulis encrasicolus*). *Radiat. Phys. Chem.*, Oxford, v. 46, n. 4-6, p. 725-729, 1995.
- LAM-SANCHES, A., DURIGAN, J.F., CAMPOS, S.L., SILVESTRE, S.R., PEDROSO, P.A.C., BANZATTO, D.A. *Efeitos da época de sementeira sobre a composição química e características físico-químicas de grãos de cultivares de phaseolus vulgaris L., Phaseolus angularis (willd) wright e Vigna unguiculata (L) Walp* Alim. Nutr., São Paulo, v.2, p. 35-44, 1990.
- LEGISLAÇÃO BRASILEIRA SOBRE IRRADIAÇÃO DE ALIMENTOS in: ABIA (Associação Brasileira das Indústrias da Alimentação) *Compêndio da legislação de alimentos*, São Paulo, 1992, v.1, p. 2.12-2.13, 2.30-2.32, 2.45-2.46.
- LEMBKE, P.; BÖRNERT, J.; ENGELHARDT, H. Characterization of irradiated food by SFE and GC-MSD *J. Agric. Food. Chem.* 43, 38-45, 1995.
- LEONARDI, M., RAFFI, J.J., BELLIARDO, J.J. Recent advances on detection of irradiated food In: Commission of the European Communities - bcr information. EUR 14315 EN, 1993.
- LIU, K. Storage proteins and hard to cook phenomenon in legume seeds. *Food Technol.*, Chicago, v. 51, n.5, p. 58-61, 1997.
- LOAHARANU, P. Food irradiation in developing countries: a practical alternative. *IAEA Bull.*, Vienna, v. 1, p. 30 -35, 1994.
- LOAHARANU, P. Global status of commercialization and developments on international trade in irradiated food. *Radiat. Phys. Chem.*, Oxford, v. 46, n. 4-6, 1995.
- LYER,V., SALUNKE, D.K., SATHE,S.K., POCKLAND,B. Quick-cooking beans (*Phaseolus vulgaris* L.): I. Invesstigations on quality. *Qualitas plantarum - Plant Foods for Human Nutrition*. v.30, p.27-43, 1980.
- LYER,V., SALUNKE, D.K., SATHE,S.K., POCKLAND,B. Quick-cooking beans (*Phaseolus vulgaris* L.): II. Phytate, oligosaccharides, and antienzimes. *Qualitas plantarum - Plant Foods for Human Nutrition*. v.30, p.45-52, 1980.

- MAFULEKA, M.M., OTT, D.B., HOSFIELD, G.L., UEBERSAX, M.A. The role of phylase and lignin in decorticated dry beans (*Phaseolus vulgaris*) hardening during storage. *J. Food. Process. Preserv.*, Westport, v.17, p. 1-20, 1993.
- MAKKAR, H.P.S., GOODCHILD, A.V., ABD EL-MONEIM, A.M., BECKER, K. Cell-constituents, tannin levels by chemical and biological assays and nutritional value of some legume foliage and straws. *J. Sci. Food Agric.*, London, v.71, p. 129-136, 1996.
- MAMOON, A.M. Thermoluminescence of irradiated milk powders. *Appl. Radiat. Isot.*, Oxford, v. 46, n. 6/7, p. 733-734, 1995
- MANCINI-FILHO, J. *Efeitos das radiações gama sobre algumas características físico-químicas e nutricionais de feijões (Phaseolus vulgaris L.) armazenados*. São Paulo, 100p. [Tese de Livre Docência Faculdade de Ciências Farmacêuticas da USP].1990.
- MARTÍN-CABREJAS, M.A., ESTEBAN, R.M., PÉREZ, P., MAINA, G., WALDRON, K.W. Changes in physicochemical properties of dry beans (*Phaseolus vulgaris* L.) during long-term storage. *J. Agric. Food Chem.*, Washington, v. 45, p. 3223-3227, 1997.
- MATTSON, S. The cookability of yellow peas. *Acta Agricultural Suecana*, Estocolmo, v. 2, n.2, p. 182-231, 1946.
- McKEON, J., DREWELL, N.H. Physical Mechanisms of irradiation technologies and their characteristics effects. In: McMURRAY, C. H., STEWART, E.M., GRAY, R., PEARCE, J., eds. *Detection methods for irradiated foods: current status*. Cambridge: Royal Society of Chemistry, 1996, p. 3-13.
- McMURRAY, C. H., STEWART, E.M., GRAY, R., PEARCE, J., eds. *Detection methods for irradiated foods: current status*. Cambridge: Royal Society of Chemistry, 1996.
- MENEZES, W.S., DeL MASTRO, N.L. Aplicação da técnica de viscosimetria na identificação de pimenta submetida a processamento por irradiação. *Proceedings os the II National Meeting on Nuclear Applications*, Caxambú, p. 159-160, 1993.
- MERRITT Jr., C., VAJDI, M., ANGELINI, P. A quantitative comparison of the yields of radiolytic products in various meats and their relationship to precursors. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, Washington, v. 62, p.708-713, 1985.
- MILLS, J.T., DESPHANDE, S.S., WOODS, S.M. Factors affecting the cooking quality of field peas and white beans stored under simulated farm conditions. *J. Food Qual.*, Westport, v. 18, p. 45-69, 1995.
- MOREHOUSE, K.M., KU, Y. Identification of irradiated foods by monitoring radiolytically produced hydrocarbons. *Radiat. Phys. Chem.*, Oxford, v. 42, n. 1-3, p. 359-362, 1993.
- MORROW, B. The rebirth of legumes. *Food Technol.*, Chicago, v. 45, n.9, p. 96-121, 1991.
- MORTON SATIN, Food Irradiation, a Guidebook, 1993.
- MOY, G. *Foodborne disease and the preventive role of food irradiation* Int. At. Energy Agency Bull. v. 34(4) p. 39-43, 1992.
- MOY, J.H. Efficacy of irradiation vs thermal methods as quarantine treatments for tropical fruits. *Radiat. Phys. Chem.*, Oxford, v. 42, n. 1-3, p. 269-272, 1993.

- MOY, J.H. Radiation disinfection of food and agricultural products. *International conference*. p. 67-368, 1985.
- MUÑOZ, R.B. et al. *Preservación de alimentos por irradiación*. Quito: Escuela Politecnica Nacional, 1985. 363p.
- MUÑOZ, R.B. *Química de radiaciones de los alimentos irradiados*. Quito: Escuela Politecnica Nacional, p. 1-37, 1994.
- MURALI KRISHNA, C. et al. Sonochemistry of aqueous solutions of amino acids and peptides. a spin trapping study. *Radiat. Phys. Chem.*, Oxford, v. 32, p. 121-128, 1988.
- NASCIMENTO, L. M. *Efeito da radiação gama (^{60}Co) nas propriedades físico-químicas e sensoriais de feijões envelhecidos (*Phaseolus vulgaris*, L.)* São Paulo, 135 p. (Tese de Doutorado Faculdade de Ciências Farmacêuticas - USP) 1992.
- NAWAR, W. W. Analysis of volatiles as a method for the identification of irradiated foods *Health Impact, Identification, and Dosimetry of Irradiated Foods* ISH-Heft 125, p. 287-296, 1988.
- NAWAR, W. W. ; ZHU, Z. ; WAN, H. ; DeGROOTE, E. ; CHEN, Y. ; ACIUKWICZ, T. Progress in the detection of irradiated foods by measurement of lipid-derived volatiles *Royal Society of Chemistry*, 250-258, 1996.
- NAWAR, W.W. Comparison of chemical consequences of heat and irradiation treatment of lipids. In: ELIAS, P. S., A.J. COHEN, A. J., eds. *Recent advances in food irradiation*. Amsterdam: Elsevier, 1983. p.115-127.
- NAWAR, W.W. Lípidos. In: FENNEMA, O. R., ed. *Food chemistry*. 1985. p.139-244.
- NAWAR, W.W. Radiolysis on nonaqueous components of foods. In: JOSEPHSON, E.S., PETERSON, M. S., eds. *Preservation of food by ionizing radiation*. Boca Raton: CRC Press, 1983. v. 2. 75-124.
- NAWAR, W.W. Volatiles from food irradiation. *Food Rev. Int.*, New York, v. 21, p.45-78, 1986.
- NENE, S.P., VAKIL, U.K., SREENIVASAN, A. Improvement in the textural qualities of irradiated legumes. *Acta Alim.*, v. 4, p. 199-209, 1975.
- NENE, S.P., VAKIL, U.K., SREENIVASAN, A. Effect of gamma-irradiation on physico-chemical characteristics of red gram (*Cajanus cajan*) starch. *J. Food Sci.*, Chicago, v. 40, p. 943-946, 1975.
- O'DELL, B.L. Bioavailability of trace elements. *Nutr. Rev.*, New York, v. 42, p. 301-308, 1984.
- OIGIANGBE, N.O., ONIGBINDE, A.O. The association between some physico-chemical characteristics and susceptibility of cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp) to *Callosobruchus maculatus* (F.). *J. Stored Prod. Res.*, Oxford, v. 32, n. 1, p. 7-11, 1996.
- PELLETT, P., YOUNG, V. Nutritional evaluation of protein foods. *The United Nations University* eds. . 1980.
- PINN, A. B. R. O. *Efeitos das radiações gama sobre a biodisponibilidade do ferro em feijões (*Phaseolus vulgaris*, L.)* São Paulo, 129p. (Tese de Mestrado Faculdade de Ciências Farmacêuticas - USP) 1992.

- PINN, A.B.O., COLLI, C., MANCINI FILHO, J. Beans *Phaseolus vulgaris* irradiation. I. Iron bioavailability. In: BIOAVAILABILITY'93. Nutritional, Chemical and Food Processing Implications of Nutrient Availability Karlsruhe, 1993. *Proceedings*. Karlsruhe, BFE, 1993. pt.2, 195-199. [Berichte der Bundesforschungsanstalt für Ernährung BFE-R-93-01]
- PINNIOJA, S., PAJO, L. Thermoluminescence of minerals useful for identification of irradiated seafood. *Radiat. Phys. Chem.*, Oxford, v. 46, n. 4-6, p. 753-756, 1995.
- POLÓNIA, I., ESTEVES, M.P., ANDRADE, M.E., EMPIS, J. Identification of irradiated peppers by electron spin resonance, thermoluminescence and viscosity. *Radiat. Phys. Chem.*, Oxford, v. 46, n. 4-6, p. 757-760, 1995.
- PRICE, M. L., VAN SCOYOC, S., BUTLER, L.G. A critical evaluation of the ninillin reaction as an assay for tannin in sorghu grain. *J. Agric. Food Chem.*, Washington, v. 26, p. 1212-1218, 1978.
- RADÓ, C.S., DeL MASTRO, NL. Determinação viscosimétrica do guaraná submetido a processamento por radiação. *Proceedings as the II National Meeting on Nuclear Applications*, Caxambú, p. 161-162, 1983.
- RAFFI, J. *Radiation treatment of foods* J. Pharm. Belg. v. 47(2) p. 150-153, 1992.
- RAHMAN, A.K.M.M., MATABUDALL, D., HAQUE, A.K., SUMAR, S. A rapid method (SFE-TLC) for the identification of irradiated chicken. *Food Res. Int.*, Barking, v.29., n. 3-4, p. 301-307, 1996.
- RAHMAN, A.K.M.M., SUMAR, S. Chemical and biological methods for the identification of irradiated foodstuffs. *Nutr. Food Sci.*, London, v. 1, p. 4-11, 1995.
- RAHMAN, A.K.M.M., SUMAR, S. Physical methods for the identification of irradiated foodstuffs. *Nutr. Food Sci.*, London, v. 2, p. 36-41, 1995.
- RAO, V.S., VAKIL, U.K. Effects of gamma-irradiation on cooking quality and sensory attribute of four legumes. *J. Food Sci.*, Chicago, v. 50, p. 372-375, 1985.
- REDMAN, D.G., AXFORD, D.W.E., ELTON, G.A.H. Mechanically produced radicals in flour. *Chem. Ind.*, London, p. 1298-1299, 1966.
- REDDY, S.J., PUBOLS, M.H., MCGINNIS, J. Effect of gamma irradiation on nutritional value of dry field beans (*Phaseolus vulgaris*) for chicks *J. Nutr.*, v.109, p. 1307-1312, 1979.
- RESENDE, J.B. *O desperdício dos alimentos em Minas Gerais*. Belo Horizonte: Fundação João Pinheiro. Sistema educacional de planejamento. 1994
- RICHARD-FORGET, F., GAUILLARD, F., HUGUES, M., JEAN-MARC, T., BOVIN, P. AND NICOLAS, J. Inhibition of horse bean and germination Barley lipoxygenases by some phenolic compounds. *J. Food Sci.*, Chicago, v. 60, n. 6, p.1325-1329, 1995.
- RONCADA, M.J., MAZZILLI, R. N. Fontes de vitaminas na dieta de populações do estado de São Paulo, Brasil. *Aliment. Nutr.*, São Paulo, v. 1, p. 71-86, 1989.
- SABULARSE, V.C., LIUZZO, J.A., RAO, R.M., GRODNER, R.M. Cooking quality of brown rice as influenced by gamma irradiation, variety and storage. *J. Food Sci.*, Chicago, v. 56, p. 96-98, 108, 1991.

- SAKAMOTO, K., VUCENIK, I., SHAMSUDDINI, A.M. [^3H] phytic acid (inositol hexaphosphate) is absorbed and distributed to various tissues in rats. *J. Nutr.*, Philadelphia, v. 123, p. 713-720, 1993.
- SAIDI, B., WARTHENSEN, J.J. Influence of pH and light on the kinetics of vitamin b6 degradation. *J. Agric. Food Chem.*, v. 31, p. 876-880, 1983.
- SANDBERG, A.S., AHDERINNE, R. HPLC Method for determination of inositol tri-, tetra-, penta-, and hexaphosphates in foods and intestinal contents. *J. Food Sci.*, Chicago, v. 51, n. 3, p. 547-550, 1986.
- SANDBERG, A.S., CARLSSON, N.G., SVANBERG, U. Effects of inositol tri-, tetra-, penta-, and hexaphosphates on in vitro estimation of iron availability. *J. Food Sci.*, Chicago, v. 54, p. 159-161, 1989.
- SANDERSON, D.C.W., CARMICHAEL, L.A., NAYLOR, J.D. Photostimulated luminescence and thermoluminescence techniques for the detection of irradiated food. *Food Sci. Technol. Today*, v. 9, n. 3, p. 1989.
- SATIN, M. *The case of food irradiation* International Conference of the Agricultural Research Institute p.93-110, 1993.
- SAUBERLICH, H.E. Bioavailability of vitamins. *Prog. Food Nutr. Sci.*, Oxford, v. 9, p. 1-33, 1985.
- SCHREIBER, G.A. et al. New developments in food, feed and waste irradiation. *SozEp Hefte - 16 Germany*, ISSN 0175-4246, 1993.
- SCHREIBER, G.A., HELLE, N., BÖGL, K.W. Detection of irradiated food - Methods and routine applications. *Int. J. Radiat. Biol.*, London, v. 63, n. 1, 105-130, 1993.
- SCHREIBER, G.A., SCHULZKI, G., SPIEGELBERG, A., HELLE, N., BÖGL, K.W. Evaluation of a gas chromatographic method to identify irradiated chicken, pork, and beef by detection of volatile hydrocarbons. *J. AOAC Int.*, Washington, v. 77, n. 5, p. 1202-1217, 1994.
- SCHULZKI, G.; SPIEGELBERG, A.; BÖGL, K.W.; SCHREIBER, G.A. Irradiation detection in complex lipid matrices by means of on-line coupled (LC-) LC-GC *Royal Society of Chemistry* p. 359-268, 1996.
- SCHULZKI, G.; SPIEGELBERG, A.; HELLE, N.; BÖGL, K.W.; SCHREIBER, G.A. On-line coupled LC-GC for irradiation detection in complex lipid matrices *SozEp-Hefte* 16, 55-60, 1993.
- SCHULZKI, G., SPIEGELBERG, A., BÖGL, K.W., SCHREIBER, G.A. Detection of radiation-induced hydrocarbons in baked sponge cake prepared with irradiated liquid egg. *Radiat. Phys. Chem.*, Oxford, v. 46, n. 4-6, p. 765-789, 1995.
- SEFA-DEDEH, S., STANLEY, D.W., VOISEY, P.W. Effect of storage time and conditions on the hard to cook defect in cowpeas. *J. Food Sci.*, Chicago, v. 44, p. 790-798, 1979.
- SGARBIERI, V.C., WHITAKER, J.R. Physical, chemical and nutritional properties of common bean (*Phaseolus*) proteins. *Adv. Food Res.*, New York, v. 28, p. 93-166, 1982.
- SHARIFZADEH, M., SOHRABPOUR, M. Identification of irradiated spices by the use of thermoluminescence method(TL). *Radiat. Phys. Chem.*, Oxford, v. 42, n. 1-3, p. 401-405, 1993.

- SHARIFZADEH, M., SOHRABPOUR, M. investigation of the irradiation history of iranian dates pistachio nuts using thermoluminescence technique. *Radiat. Phys. Chem.*, Oxford, v. 42, n. 1-3, p. 407-411, 1993
- SILVA, R. D., SGARBIERI, V. C. Efeitos de frações fibrosas extraídas de feijão (*Phaseolus vulgaris*, L.) na utilização de macro e micronutrientes da dieta pelo rato. *Ciênc. Tecnol. Aliment.*, Campinas, v. 16, n.2, p. 100-107, 1996.
- SINGH, H. Wholesomeness of irradiated foods. FIPCOS'95-9. St. Hyacinthe, Quebec, 1995.
- SINGH, U. Antinutritional factors of chickpea and pigeonpea and their removal by processing. *Plant Food Hum. Nutr.*, v. 38, p. 251-261, 1988.
- SNELL, E.E. Pyridoxal phosphate: History and nomenclature. In Vitamin B6 Pyridoxal Phosphate. Chemical, Biochemical and Medical Aspects, Part A. (eds D. Dolphin, R. Poulson, O. Avramovic), John Wiley & Sons, New York, pp. 1-12, 1986.
- SPALDING, D.H. et al. Methyl bromide and phosphine fumigation injury to avocados and mangoes. Proc. Fla. State Hortic. Soc. No.90. pp. 268-270, 1977.
- SREENIVASAN, A. Compositional and quality in some irradiated foods. In: *Improvement of Food Quality by Irradiation*, IAEA, Vienna. 129-155. 1974.
- STECCHINI, M.L. et al. Effect of electron irradiation and packaging atmosphere on the survival of aeromonas hydrophila in minced poultry meat. *Radiat. Phys. Chem.*, Oxford, v. 46, n. 4-6, p. 779-784, 1995.
- STEVENSON, M. H. Nutritional and other implications of irradiating meat. *Proc. Nutr. Soc.* Cambridge, v. 53, p. 317-325, 1994.
- STEVENSON, M.H. et al. A consumer trial to assess the acceptability of an irradiated chilled ready meal. *Radiat. Phys. Chem.*, Oxford, v. 46, n. 4-6, p. 785-788, 1995.
- STEVENSON, M.H. Identification of irradiated foods. *Food Technol.*, Chicago, v.48, n.5, p. 141-144, 1994.
- STEVENSON, M.H., STEWART, E.M. Identification of irradiated food: the current status. *Radiat. Phys. Chem.*, Oxford, v. 46, n. 4-6, p. 653-658, 1995.
- SWAIN, T., HILLS, W.E. Determinação de fenólicos totais. *J. Sci. Food Agric.*, London, v.10, p. 63-68, 1959.
- TADERA, K., KANEKO, T., YAGI, F. Evidence for the occurrence and distribution of a new type of vitamin B6 conjugate in plant foods. *Agric. Biol. Chem.*, Tokyo, v. 50, p. 2933-2934, 1986.
- TADERA, K., ORITE, K. Isolation and structure of a new vitamin B6 conjugate in rice bran. *J. Food Sci.*, Chicago, v. 56, p. 268-269, 1991.
- TANNENBAUM, S.R., YOUNG, V.R., ARCHER, M.C. Vitamins and minerals. In: FENNEMA, O. R., ed. *Food chemistry*, 2. ed. New York: Marcel Dekker, 1985. p. 477-544.
- TAUB, J. A. Free radicals reactions in food. *J. Chem. Educ.*, Easton, v. 61, p. 313-324, 1984.

- THAYER, D. W. *Radiation pasteurization of food* Issue paper no. 7, Council for Agricultural Science and Technology, Ames, Iowa, 1996.
- THAYER, D. W. *Residual thiamin analyses as a method for the identification of irradiated foods* Who p. 313-319, 1988.
- UMMADI, P., CHENOWETH, W. L., UEBERSAX, M.A. The influence of extrusion processing on iron dialyability, phytates and tannins in legumes. *J. Food Process. Preserv.*, Westport, v.19, p.119-131, 1995.
- UNDERDAL, B., NORDHAL, J., LUNDE, G., EGGUM, B. The effect of ionizing radiation on the nutritional value of mackerel. *Lebensm. Wiss. Technol.* v.6, p. 90-93, 1973.
- UNDERDAL, B., NORDHAL, J., LUNDE, G., EGGUM, B. The effect of ionizing radiation on the nutritional value of fish (cod) protein. *Lebensm. Wiss. Technol.* v.9, p. 72-74, 1976.
- URIOSTE, A.M., CROCI, C.A., CURZIO, O.A. consumer acceptance of irradiated onions in Argentina. *Food Technol.*, Chicago, v. 44, n. 5, p. 134-136, 1990.
- US. Food and Drug Administration. Irradiation in the production, processing and handling of food, Final Rule, *Fed. Reg.*, Washington, v.51, p.13376-13399, 1986.
- VANDERSLICE, J.T., BROWNLEE, S.G., CORTISSOZ, M.E., MAIRE, C.E. Vitamin B6 analyses; sample preparation, extraction procedures, and chromatographic separations. In: *Modern Chromatographic Analysis of the Vitamins* (eds. A.P. De Leanheer, W.E. Lambert and M.G.M. de Ruyter), Marcel Dekker Inc., New York, pp.435-475, 1985.
- Van RUTH, S.M., ROOZEN, J. P., POSTHUMUS, M. A. Instrumental and sensory evaluation of the flavour of dried french beans (*Phaseolus vulgaris*) influenced by storage conditions. *J. Sci. Food Agric.*, London, v. 69, p. 393-401, 1995.
- VARRIANO-MARSTON, E., JACKSON, G.M. Hard to cook phenomenon in beans. Structural changes during storage and inhibition. *J. Food Sci.*, Chicago, v. 46, p. 1379-1385, 1981.
- VIJAYAKUMARI, K., SIDDHURAJU, P., JANARDHANAN, K. Effect of various water or hydrothermal treatments on certain antinutritional compounds in the seeds of the tribal pulse, *Dolichos lablab* var. *vulgaris* L. *Plant Foods Hum. Nutr.*, Dordrecht, v. 48, p. 17-29, 1995.
- VIJAYAKUMARI, K., SIDDHURAJU, P., JANARDHANAN, K. Effects of different post-harvest treatments on antinutritional factors in seeds of the tribal pulse, *Mucuna pruriens* (L.) DC. *Int. J. Food Sci. Nutr.*, Basingstoke, v. 47, p. 263-272, 1996.
- VILLAVICENCIO, A.L.C.H., DUARTE, C.L., DEL MASTRO, N.L. Detection by ESR of ⁶⁰Co irradiated chicken. Anais do II Encontro Nacional de Aplicações Nucleares, Caxambu, p. 155-156, 1993.
- VILLAVICENCIO, A.L.C.H., MANCINI-FILHO, J., DELINCÉE, H. Detecção de feijões irradiados com ⁶⁰Co por eletroforese em micro gel. In: *Simpósio latino Americano de Ciência de Alimentos*. Campinas, 1995.
- VILLAVICENCIO, A.L.C.H., MANCINI-FILHO, J., DELINCÉE, H., BOGNÁR, A. Efeitos da irradiação e estocagem em duas variedades de leguminosas. In: *Anales del I Congreso Ibero Americano de Ingeniería de Alimentos*. Valencia, v.2, p.522-529, 1996.

1. VILLAVICENCIO, A.L.C.H., MANCINI-FILHO, J., DELINCÉE, H. *Application of different techniques to identify the effect of irradiation on Brazilian beans after six months storage. Radiation Physics and Chemistry, Oxford*, vol. 52:1-6, 161-166, 1998.
- VILLAVICENCIO, A.L.C.H., MANCINI-FILHO, J., DELINCÉE, H. *Utilization of half-embryo test to identify irradiated beans. Boll. Chim. Farm., Milan*, v. 136, n.11, p. 670-673, 1997.
- VILLAVICENCIO, A.L.C.H., MANCINI-FILHO, J., HARTMANN, M., AMMON, J., DELINCÉE, H. *Formation of hydrocarbons in irradiated brazilian beans: gas chromatographic analysis to detect radiation processing. J. Agric. Food Chem., Washington*, v. 45, p. 4215-4220, 1997.
- VOISINE, R. ; HOMBOURGER, C. ; WILLEMOT, C. ; CASTAIGNE, F. ; MAKHLOUF, J. *Effect of high carbon dioxide storage and gamma irradiation on membrane deterioration in cauliflower florets Postharvest Biol. Technol.* v. 2(4) p. 279-289, 1993.
- WHO Safety and nutritional adequacy of irradiated food. Geneva, 1994.
- WIENDL, F.M. A desinfecção de grãos e produtos armazenados por meio de radiação ionizante. Boletim de divulgação CENA, No. 18, 26p. Piracicaba, 1975.
- WOOD, R. The progress of the European Committee for Standardisation (CEN) in developing methods of analysis for the detection of food irradiation. *Food Sci. Technol. Today*, v. 10, n.3, p. 171-173, 1996.
- YANAME, T. *Estatística*. Haria, Ciudad de México, 540p., 1977.
- YU, L., REITMEIER, C.A., LOVE, M.H. Strawberry texture and pectin content as affected by electron beam irradiation. *J. Food Sci., Chicago*, v. 61, n. 4, 844-846, 1996.
- ZHU, S., KUME, T., (SHIGAKI, I. Detection of irradiated wheat by germination. *Radiat. Phys. Chem., Oxford*, v. 42, n. 1-3, p.421-424, 1993.