

# IDENTIFICAÇÃO DE CARNE DE FRANGO RESFRIADA E IRRADIADA COM <sup>60</sup>CO

Walquiria S.G. Souza & Anna Lucia C.H. Villavicencio

IPEN/CNEN-SP.

Travessa R, Nº 400 - Cid. Univer.-São Paulo -  
CEP. 05508-910 - SP. - Brasil.

## RESUMO

A irradiação é eficaz pois destrói microorganismos nocivos como *Salmonella*, *Campilobacter*, *E. coli*, e parasitas transmitidos por alimentos sólidos de origem animal. É conveniente aplicar métodos para detectar o tratamento por irradiação diretamente no produto alimentício. Uma vez que a molécula do DNA é um alvo, particularmente sensível, à radiação ionizante, as quebras ocorridas oferecem um potencial método de detecção de alimentos irradiados. Este método é também conhecido como “ensaio do cometa” pois baseia-se nas quebras ocorridas no DNA e pode ser aplicado a um grande número de alimentos.

Nosso trabalho objetiva aplicar a técnica de detecção dos fragmentos do DNA formados pela radiação na carne de frango refrigerada e irradiada. Foram utilizados pedaços de peito de frango desossados e resfriados, obtidos nos supermercados de São Paulo. As irradiações foram feitas em fontes de <sup>60</sup>Co mantendo-se a temperatura a 6°C e com doses de 0; 1,5; 2,5; 3,5 e 7,0 kGy. Foram identificadas as alterações causadas pela irradiação no DNA. Observou-se um aumento na migração das frações do DNA com o aumento da dose de radiação.

**Palavras Chaves:** irradiação de alimentos, irradiação, identificação de alimentos irradiados, DNA.

## I. INTRODUÇÃO

A pasteurização por radiação, quando usada em conjunto com outros processos e técnicas de preparo, diminui drasticamente a probabilidade de que patógenos, associados a alimentos contaminados em carnes vermelhas e aves, atinjam o consumidor [1 a 3]. O uso da irradiação para aumentar a salubridade e a vida de prateleira reduzindo contaminações microbiológicas das carnes de frango e seus derivados, está recebendo cada vez mais considerável atenção em todo mundo [4, 5].

A aprovação nos Estados Unidos, do uso de alimentos de origem animal, tratados com radiação ionizante, é limitada a frango cru e empacotado, com doses entre 1.5 e 3.0 kGy. Para eliminação de patógenos [6] e controle de doenças causadas por microorganismos em carnes de frango, o FDA aprovou a dose de 3 kGy [7]. Para carcaças de porco ou cortes frescos são usadas doses de 0.3 a 1.0 kGy para eliminar *Trichinella spirallis* [8]. Entretanto, o FDA está sempre revendo as petições para uso de irradiação em

carnes refrigeradas ou congeladas em doses de 1.5 a 4.5 kGy, para reduzir patógenos e parasitas e estender a vida de prateleira [9]. O uso do tratamento por radiação em carnes cruas refrigeradas ou congeladas para controle de patógenos e extensão da vida de prateleira vem tornando-se cada vez mais aceitável em todo mundo. Atualmente a dose máxima, nos EUA, para carnes vermelhas cruas não congeladas é de 4.5 kGy e a dose máxima para carnes congeladas é de 7.0 kGy [10]. No Brasil, a dose permitida é de 7.0 kGy [11].

Embora se faça o controle administrativo nos 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 [12, 13]. Uma vez que a molécula do DNA é um alvo, particularmente sensível, à radiação ionizante, as quebras ocorridas oferecem um método em potencial de identificação de alimentos irradiados. Esta técnica foi desenvolvida por Östling & Johanson [14] e modificada para detecção de alimentos irradiados por

Cerda *et al.* [15, 16]. É também chamada de “ensaio do cometa” pois basea-se nas quebras ocorridas no DNA e pode ser aplicado a um grande número de alimentos.

Nosso trabalho objetiva aplicar a técnica de identificação dos fragmentos do DNA formados pela radiação na carne de frango refrigerada e irradiada. Foram identificadas as alterações causadas pela irradiação no DNA e conforme o aumento da dose de radiação, houve aumento na migração das frações do DNA nas amostras estudadas.

## II. MATERIAL E MÉTODOS

Neste estudo, foi utilizado peito de frango resfriado, obtido nos supermercados de São Paulo. As irradiações foram realizadas numa fonte gama de  $^{60}\text{Co}$ , Gammacell 220 (A.E.C.L.), no IPEN, com uma taxa de dose de 8,36 kGy/h, em março de 1998. Manteve-se a temperatura de 6°C e as diferentes amostras foram processadas com doses de 0; 1,5; 2,5; 3,5 e 7,0 kGy. Para o ensaio de DNA utilizamos o procedimento modificado por Cerda [15, 16]. A classificação do tipo de células obedece a uma escala aleatória, onde o número 20, corresponde às células intactas e os números subsequentes aos diferentes comprimentos de migração ( $\mu\text{m}$ ), provenientes dos fragmentos de DNA.

## III. RESULTADOS E DISCUSSÕES

Nossos resultados mostram que podemos distinguir com clareza as amostras de frango resfriado não irradiado, das amostras que foram submetidas ao tratamento por radiação. Os diferentes comprimentos da migração dos fragmentos do DNA, “comprimento do cometa”, aumentam com o aumento da dose de radiação, conforme podemos observar nas figuras de 1 a 5.

Observamos na figura 1 que as células intactas estão em uma proporção de 46%, quando comparadas com as que apresentam uma migração maior nos fragmentos de DNA, que estão em uma proporção de 13%.

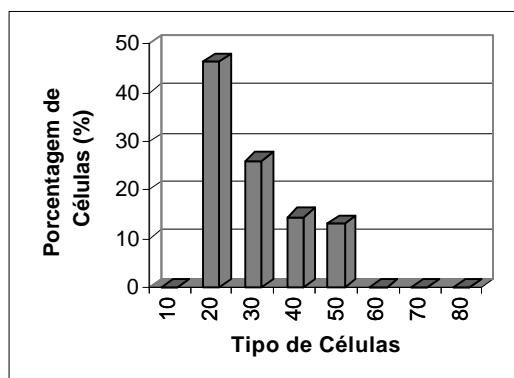


Figura 1. Frango resfriado controle.

Na figura 2, observamos uma diminuição na contagem das células intactas numa proporção de 26% e um conseqüente aumento nas formas que apresentam algum tipo de migração do DNA.

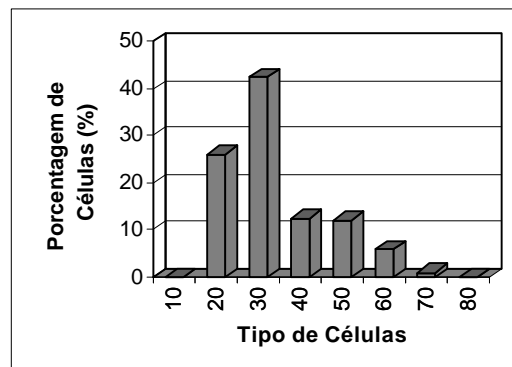


Figura 2. Frango resfriado e irradiado com 1,5 kGy.

Com a dose de 2,5 kGy, conforme observamos na figura 3, a quantidade de células intactas diminui para 6%, e as migrações com distâncias maiores começam a ser evidenciadas.

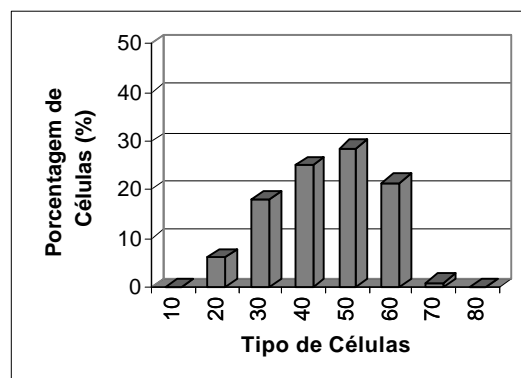


Figura 3. Frango resfriado e irradiado com 2,5 kGy.

Com a dose de 3,5 kGy, dose suficiente para eliminar patógenos tais como as *Samonelas sp* [6, 17, 18.], em carnes de frango, podemos observar na figura 4, um grande aumento das células que apresentam um comprimento maior na migração do DNA fragmentado. Porém, ainda podemos observar células intactas na proporção de 3%, sendo que a porcentagem de células com migrações de comprimento de 6 $\mu\text{m}$  é de 59%. Há também um aumento de 6% na porcentagem de células com migrações bem diferenciadas.

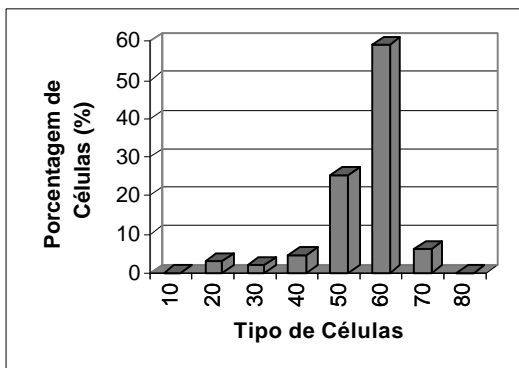


Figura 4. Frango resfriado e irradiado com 3,5 kGy.

Observamos na figura 5, que a maioria das células contadas apresentam migração dos fragmentos do DNA após 7 kGy, dose permitida atualmente pela legislação brasileira para carne de frango [11]. Não são observadas células intactas e o aparecimento da grande extensão das migrações dos fragmentos do DNA é visível.

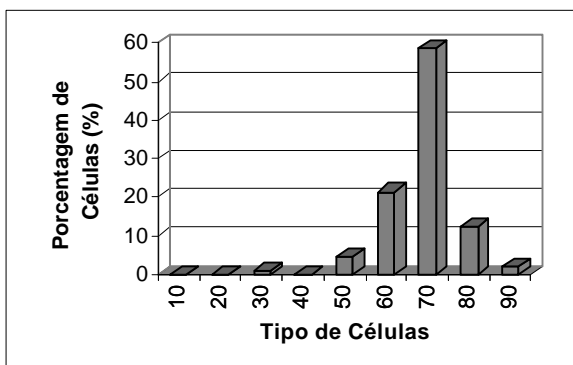


Figura 5. Frango resfriado e irradiado com 7,0 kGy

Nossos resultados estão de acordo com outros da literatura [12,16,19,20], onde o método do “Cometa” para análise do dano do DNA de células, tem sido sucessivamente usado em estudos de alimentos submetidos ao tratamento por radiação. O método pode ser utilizado para analisar tanto amostras irradiadas com pequenas doses, de poucos quilograys (kGy) a amostras processadas com doses acima de 10 kGy [15,19].

Observamos por este método sensível para identificação dos fragmentos do DNA, formados a partir do tratamento por irradiação, que na carne de frango resfriada e irradiada é possível detectar-se as diferenças das migrações dos fragmentos nas diferentes doses de radiação.

De modo geral, a decisão se um alimento foi ou não irradiado, deve ser feita por inspeção visual, pelas

alterações na cor e na textura do alimento, por exemplo. Se necessário, uma avaliação mais apurada, por análise de imagens pode ser feita conforme os vários tipos de alimentos e os métodos de identificação para cada um em particular.

#### IV. CONCLUSÃO

O teste do cometa pode ser utilizado como método de identificação de alimentos irradiados. No caso da carne de frango resfriada, podemos determinar diferentes graus de migração do DNA entre as amostras, conforme o aumento da dose de radiação.

Este método é um teste rápido, que serve de varredura inicial, podendo ser utilizado em conjunto com outros métodos de identificação, tais como, a termoluminescência, a ressonância paramagnética eletrônica e a determinação de hidrocarbonetos e do 2-alcilciclobutanona por CG, mais sofisticados para a identificação dos diferentes tipos de alimentos irradiados.

#### VI. REFERÊNCIAS

- [1] DIEHL, J.F. Will irradiation enhance or reduce food safety? *Food Policy*, April, p.143-151, 1993.
- [2] WHO - Safety and nutritional adequacy of irradiated food. WHO, Geneva, 1994.
- [3] THAYER, D. W. *Radiation pasteurization of food* Issue paper no. 7, Council for Agricultural Science and Technology, Ames, Iowa, 1996.
- [4] HEATH, J. L. Effects of high-energy electron irradiation of chicken meat on salmonella and aerobic plate count. *Poult-Sci. Champaign*, iii: *Poultry Sci. Assoc.*, v.69(1), p. 150-156, 1990.
- [5] LOAHARANU, P. Food irradiation in developing countries: A practical alternative. *IAEA Bulletin*, 30-35, 1994.
- [6] USDA Irradiation in the production, processing, and handling of food. *Federal Register*. 50:29658, 1985.
- [7] FDA Irradiation of poultry. *Federal Register*. v.50, p. 18538, 1990.
- [8] FDA Irradiation in the production, processing, and handling of food. Final rule. U.S. Food and Drug Administration, *Fed. Reg.* v.50, pp.29658-29659, 21 CFR part 179, 1985.

- [9] FDA Filing of food additive petition. Notice U.S. Food and Drug Administration, Federal Reg. v.59, pp. 43848-43849, 1994.
- [10] FDA Irradiation in the production, processing, and handling of food. Final rule. U.S. Food and Drug Administration, Fed. Reg. v.62, n.232, pp. 64107-64121, 1997.
- [11] 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.
- [12] DELINCÉE, H. AND MARCHIONI, E. "Changes in DNA for the Detection of Irradiated Food." H. Delincée, E. Marchioni and C. Hasselmann, Eds., Commission of the European Communities (BCR), Brussels, Luxembourg, EUR 15012 En, p. 8, 1993.
- [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.
- [14] ÖSTLING, O. AND JOHANSON, K. J. Microelectrophoretic study of radiation-induced DNA damages in individual mammalian cells. *Biochem and Biophys. Res. Comm.* v.123, p.291-298, 1984.
- [15] 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., Belliario, J.J., Raffi, J.J., eds.), Luxembourg: Commission of the European Communities. EUR 14315, pp. 401-405. 1993
- [16] 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.
- [17] KAMPELMACHER, E.H. Prospects of eliminating pathogens by the process of food irradiation. In: *Combination process in food irradiation. Proceedings of a symposium held in Colombo, 1980*. IAEA, Vienna, pp. 265-289, 1981.
- [18] MOSSEL, D.A.A. AND STEGEMAN, H. Irradiation: An effective mode of processing food for safety. In: *Food Irradiation Processing. Proceedings of a held in Washington, DC*. IAEA, Vienna, p. 251, 1985.
- [19] CERDA, H., "Analysis of DNA in fresh meat, poultry and fish. Possibility of identifying irradiated samples" H. Delincée, E. Marchioni and C. Hasselmann, Eds., Commission of the European Communities (BCR), Brussels, Luxembourg, EUR 15012 EN, p. 5, 1993.
- [20] 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.