

DETECÇÃO POR RPE DE FRANGO IRRADIADO COM ^{60}Co

A.L.C.H. Villavicencio, C.L. Duarte* e N.L. Del Mastro

Coordenadoria de Aplicações na Engenharia e Indústria

*Área de Calibração e Dosimetria, IPEN-CNEN/SP, C.P. 11049, 05422-900 São Paulo, SP, Brasil

Resumo

A Espectrometria de Ressonância Paramagnética Eletrônica (RPE) foi usada para medir a produção de radicais livres induzida pela radiação ionizante nos ossos de frango nas doses de 3.5 e 7.0 kGy.

Os sinais de RPE induzidos pela radiação de ^{60}Co no osso puderam ser distinguidos do sinal da amostra testemunha.

Foi estudado o decaimento do sinal por 30 dias após irradiação em temperatura ambiente. Os resultados indicam que as medidas por ressonância em ossos podem ser usadas para detectar se uma amostra de carne que contém osso foi irradiada ou não. As medidas efetuadas indicam a possibilidade de utilização de uma dosimetria pós-irradiação em produtos alimentícios.

Introdução

A irradiação de carne de aves reduz os riscos para o consumidor de contrair doenças, sobretudo aquelas produzidas por *Salmonella*, bactéria que pode contaminar frangos, perús e outras aves frescas ou congeladas.

Depois de vários estudos, em 1990 a "Food and Drug Administration" (FDA), dos EUA, aprovou o tratamento por irradiação da carne de aves para reduzir os riscos do consumidor de contrair doenças⁽¹⁹⁾.

No Brasil, a Divisão Nacional de Vigilância Sanitária de Alimentos (DINAL) da Secretaria Nacional de Vigilância Sanitária do Ministério da Saúde, regulamentou as normas gerais para irradiação de alimentos, através da portaria DINAL n.º 9 de 8 de março de 1985. No caso das aves, foi regulamentado o tratamento com radiação gama de ⁶⁰Co e ¹³⁷Cs com dose média de até 7.0 kGy. Este tratamento tem por objetivo reduzir o número de microorganismos patogênicos em aves evisceradas e armazenadas abaixo de 10°C e aumentar o período de armazenamento observando-se, logicamente, as mesmas precauções higiênicas de manipulação do alimento, permitindo assim, que nosso país integre o conjunto de nações que permitem o tratamento de alimentos com tecnologia avançada e com os correspondentes controles de qualidade da irradiação dos alimentos e doses⁽¹⁷⁾.

É importante distinguir se um alimento foi tratado por radiação ou não. O tratamento por radiação é geralmente bem aceito em vários países, porém não universalmente permitido para alimentos de consumo humano. Em vista disso, torna-se necessário o desenvolvimento de métodos de detecção de alimentos irradiados. Bem conhecido que a exposição de ossos à radiação ionizante causa a formação de uma grande variedade de radicais, os quais estão localizados nos compartimentos mineral e orgânico desses tecidos. Estes radicais foram bem estudados nos últimos anos⁽¹⁰⁾.

A hidroxiapatita é utilizada como modelo para o estudo da formação de radicais no compartimento mineral de tecidos calcificados. As condições que permitem a formação e aprisionamento desses radicais foi objeto de estudo de diversos autores^(5,6,7,9,12,15,16). A natureza das mudanças induzidas pela radiação vai depender da composição química do produto, da quantidade de proteínas, lipídeos, carboidratos, água, bem como do tipo e condições de irradiação tais como dose, temperatura ou presença de oxigênio⁽¹¹⁾.

A técnica de espectrometria de ressonância eletrônica de spin (ESR) ou ressonância paramagnética eletrônica (RPE) é usada para detectar radicais livres sendo um método não destrutivo. Sabido que estes radicais livres estão presentes no osso, ou em qualquer tecido calcificado, após a exposição à radiação ionizante. Os radicais livres são aprisionados pela estrutura cristalina, e podem ser detectados por um longo período. Em adição, a quantificação destes centros permite calcular a dose absorvida pelo processo de irradiação⁽²⁾.

Sendo a RPE um método não destrutivo estabelecido para análise de radicais livres é utilizado para dosimetria radiológica, exame de ossos e dentes em casos de exposição acidental a radiação, para datação de material fóssil e para análise da reação de peroxidação em alimentos, por exemplo na qualidade dos grãos de café^(1,4,8,12,13,20). Os ossos são constituídos por um mineral microcristalino, a hidroxiapatita, $(\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2)_3\text{Ca}(\text{OH})_2$ e por uma proteína orgânica, o colágeno. Pequenas quantidades de bicarbonato de cálcio (CaCO_3) estão também presentes⁽¹⁴⁾. O tecido ósseo quando exposto à radiação ionizante, apresenta um centro paramagnético que é caracterizado por um sinal assimétrico espectroscopicamente distinguível do sinal endógeno. Este espectro induzido pela radiação tem sido atribuído a centros paramagnéticos derivados da hidroxiapatita mineral, constituinte do tecido ósseo⁽²⁾.

O objetivo deste trabalho é o estudo pelo método de RPE dos sinais de radicais livres obtidos como resultado do tratamento pela radiação em ossos de frango, com o propósito de se desenvolver métodos para identificação de alimentos irradiados.

Materiais e Métodos

Materiais

Utilizou-se amostras de asa de frango embaladas para comercialização. As asas foram embaladas separadamente e levadas para irradiação. Após a irradiação os pedaços foram separados e dessossados com a ajuda de um bisturi.

Os ossos foram quebrados para a remoção da medula e logo a seguir lavados e secados. Os pedaços foram colocados em frascos secos sem tampa, congelados

e liofilizados por um período de 12 horas. Os ossos foram então moídos separadamente utilizando-se um moedor elétrico MOULINEX júnior e peneirados em malha de 16 mesh. As pontas dos ossos foram moídas e analisadas separadamente.

Irradiação

As amostras selecionadas foram irradiadas em temperatura ambiente, porém inicialmente congeladas. Utilizou-se uma GammaCell 220 de ^{60}Co com taxa de dose de 571.3 Gy/h. As doses utilizadas foram: 0, 3.5 e 7.0 kGy.

Medidas no Espectrômetro de RPE

Os tubos de quartzo para medida no espectrômetro ESR — Japan Electron Optic Ltda — JEOL — JESME3X, X-band, foram preenchidos com as amostras até uma altura de 3.5 cm, diâmetro médio aproximadamente, 4.2 mm. Preparou-se seis tubos para cada amostra da parte central do osso e dois tubos para as partes distais e a amostra testemunha. As condições operacionais do RPE estão presentes na tabela 1. Estas condições variam de um instrumento para outro.

Tabela 1. Condições operacionais do Espectrômetro de RPE.

TEMPERATURA	ambiente
CAMPO	3345 ± 100 G
AMPLITUDE	5.0×100
MODULAÇÃO	0.5×10 G
POTÊNCIA	0.1 mW
RESPOSTA	0.3 s

As amostras foram medidas simultaneamente com padrão de manganês, que é utilizado para corrigir alterações na sensibilidade do espectrômetro, as quais podem ocorrer durante as medidas.

A medida da estabilidade do sinal em função do tempo foi realizada repetindo-se as leituras por um período de até 30 dias.

Resultadós e Discussão

A modificações químicas que ocorrem nos alimentos durante a exposição à radiação são primariamente atribuídas à produção de radicais livres reativos⁽³⁾. Pela técnica da espectrometria por ESR é possível a detecção e identificação direta desses radicais livres.

O manganês utilizado como padrão interno no presente trabalho, apresenta seis picos de ressonância e os radicais livres orgânicos apresentam picos de ressonância entre o 3º e 4º pico do manganês.

Na Fig. 1 é apresentado o espectro característico obtido para o osso de frango irradiado com 7.0 kGy e o 3º e 4º pico do manganês.

Na Fig. 2 é apresentado o espectro da amostra testemunha em pedaços (a) e após moagem destes pedaços (b). O sinal apresentado na amostra (b) é resultante dos radicais livres produzidos no processo de moagem. O espectro está com a amplitude aumentada duas vezes.

Na tabela 2 são apresentados os resultados obtidos para as amostras de ossos da asa irradiada. Os valores correspondem às médias da altura do sinal de seis amostras com os respectivos desvios padrões.

Tabela 2. Medidas por RPE de amostras de osso de asa de frango irradiadas.

Doses de Irradiação (kGy)	Altura do sinal (unidade arbitrária)	
	Parte central	Parte distal
0	1,4 ± 0,9	—
3.5	19,2 ± 0,9	13,5 ± 0,5
7.0	38,4 ± 2,6	18,2 ± 0,8

Os resultados mostram um sensível aumento da altura do sinal com o aumento da dose de radiação. A altura do sinal nas amostras da parte distal mostrou-se visivelmente menor que na parte central do osso. Este fato pode ser explicado pela menor densidade óssea da parte distal, com formação de um número menor de radicais e, conseqüentemente, redução do sinal.

As variações do sinal com o tempo são mostradas na Fig. 3. Pode-se notar que houve uma ligeira queda na altura do sinal com o decorrer do tempo, a qual pode ser justificada pela umidade, pois a água absorve a energia de microondas e reduz o sinal. Para confirmar este fato, as amostras foram liofilizadas novamente e as medidas repetidas. A altura do sinal voltou ao valor anterior.

Os presentes resultados corroboram aqueles obtidos por outros autores que empregaram amostras diversas de tecido ósseo.

Nos trabalhos com carne de frango contendo osso, os autores destacam a importância da preparação da amostra e a relação do sinal medido por RPE e as doses mínimas detectáveis foram de 50 e 100 Gy^(1,4,5,6,16).

De acordo com Raffi et al. (1989)⁽¹⁸⁾, o sinal para pernas de rã irradiadas é proporcional à dose de radiação acima de 14 kGy, e não há mudanças com o tempo até o período de 2 anos. Em ossos de frango, o sinal de RPE mostrou ser estável durante a estocagem a -20°C por 28 dias e só foi diminuído em 10% a 5°C ⁽¹⁾. Alguns autores concluíram que o método de RPE só pode ser utilizado para carnes contendo ossos, uma vez que os sinais não são observados na carne^(1,4,8) ou cartilagem^(1,4,5).

A ressonância paramagnética eletrônica apresenta-se assim como uma técnica extremamente promissora dentre os métodos físicos de detecção de alimentos irradiados que pode vir a ser introduzida na rotina como controle⁽⁹⁾.

Referências bibliográficas

1. Analytical Detection Methods for Irradiated Foods. IAEA-TECDOC-587, 1991.
2. Coordinated Research Programme on Analytical Detection Methods for Irradiation Treatment of Foods, Joint FAO/IAEA Division, 1990, Poland.
3. N.L. Del Mastro, Noções básicas de química da radiação de sistemas biológicos, Publicação IPEN-CNEN/SP, n^o276, 17p. (1989).
4. H. Delincée and D.A.E. Ehlermann, Recent advances in the identification of irradiated food, *Radiat. Phys. Chem.* **34**(6):877-890 (1989).
5. M.F. Desrosiers and M.G. Simic, Post irradiation dosimetry of meat by electron spin resonance spectroscopy of bones, *J. Agric. Food Chem.* **36**, 601-603 (1988).

6. N.J.F. Dodd, J.S. Lea and A.J. Swallow, The ESR detection of irradiated food, *Appl. Radiat. Isot.* **40**(10-12): 1211-1214 (1989).
7. N.J.F. Dodd and A.J. Swallow, Use of ESR to identify irradiated food, *Radiat. Phys. Chem.* **26**(4):451-453 (1985).
8. B.A. Goodman, D.B. MacPhail and D.M.L. Duthie, Electron spin resonance spectroscopy of some irradiated foodstuffs, *J. Sci. Food. Agric.* **47**, 101-111 (1989).
9. R. Gray and M.H. Stevenson, Detection of irradiated deboned turkey meat using electron spin resonance spectroscopy, *Radiat. Phys. Chem.* **34**(6): 899-902 (1989).
10. M. Geoffroy and H.J. Tochon-Danguy, Long-lived radicals in irradiated apatites of biological interest: An E.S.R. study of apatite-samples treated with $^{13}\text{C}_2$, *Int. J. Radiat. Biol.* **48**(4): 621-633 (1985).
11. M. Grootveld, R. Jain, A.W.D. Claxson, D. Naughton and D.R. Blake, The Detection of irradiated foodstuffs. *Foods in Food Science & Tecnology*, 7-14, July, 1990.
12. M. Ikeya, F.O. Baffa and S. Mascarenhas, Quality assessment of coffee beans with ESR and gamma-ray irradiation. *Appl. Radiat. Isot.* **40**(10-12): 1219-1222 (1989).
13. M. Ikeya, Dating and radiation dosimetry with electron spin resonance, *Magnetic Resonance Review* **13**, 91-134 (1988).
14. S.W. Jacob and C.A. Francone, *Structure and function in man*, Copyright 1974 by Saunders Company.
15. L.G. Ladomery, Food irradiation, *Food Laboratory News* **6**, 3, (21): 13-14 (1990).
16. J.S. Lea, N.J.F. Dodd and J.S. Swallow, A method of testing for irradiation of Poultry, *Int. Jour. of Food Scie. and Tech.* **23**, 625-632 (1988).
17. Portaria DINAL — Norma de Irradiação de Alimentos, N^o9 de 08 de março de 1985, D.O.U. pp. 4420-4421 de 13 de março de 1985.
18. J. Raffi, J.C. Evans, J.P. Agnel, C.C. Rowlands and G. Lesgards, ESR analysis of irradiated frogs legs and fishes, *Appl. Radiat. Isot.* **40**(10-12): 1215-1218 (1989).
19. *Regulations in the Field of Food Irradiation*, IAEA-TECDOC-585 (1991).
20. A.J. Swallow, Need and role of identification of irradiated food. *Radiat. Phys. Chem.* **35**(1-3): 311-316 (1990).

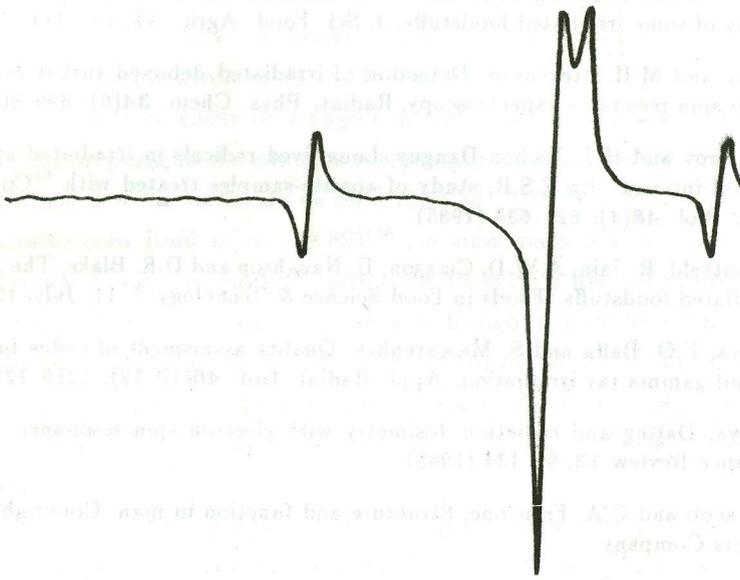


Fig. 1. Espectro de RPE obtido para osso de frango irradiado.



Fig. 2. Espectro de RPE obtido para osso de frango não irradiado.

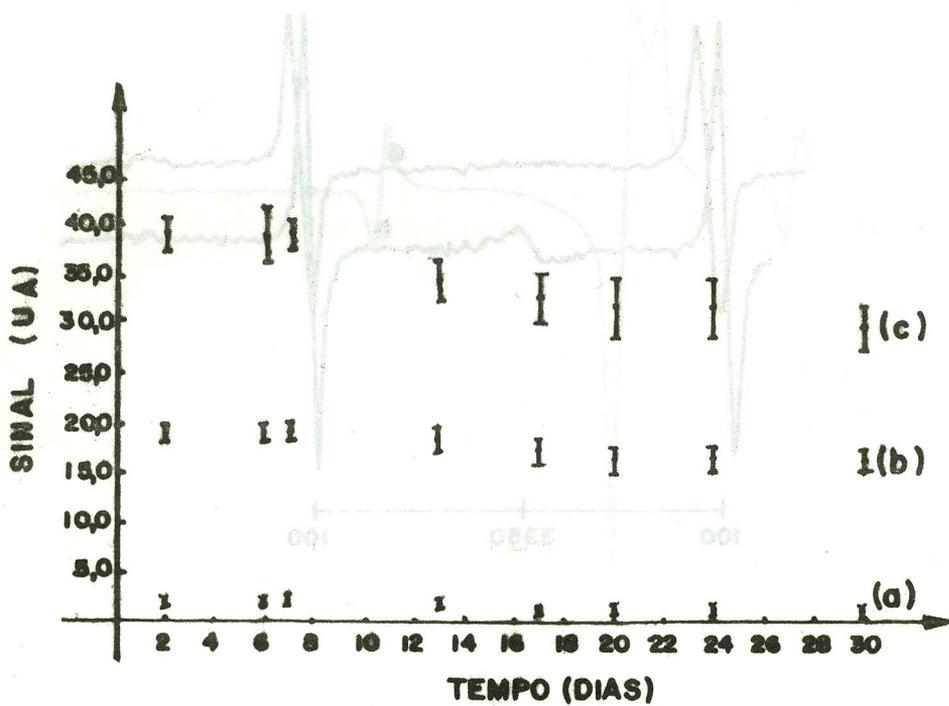


Fig. 3. Decaimento do sinal com o tempo: Testemunha (a), 3.5 kGy (b) e 7.0 kGy (c).