AUTARQUIA ASSOCIADA À UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

**EFEITO DA RADIAÇÃO GAMA NAS PROPRIEDADES NUTRICIONAIS E BIOATIVAS DE
ALIMENTOS MINIMAMENTE PROCESSADOS DESTINADOS A DIETAS ESPECIAIS**

Fabiana Kawassaki Hirashima

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

Orientadora:

Profa. Dra. Susy Frey Sabato

Coorientadora:

Profa. Dra. Ursula Maria Lanfer Marquez

São Paulo

2016

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

**EFEITO DA RADIAÇÃO GAMA NAS PROPRIEDADES NUTRICIONAIS E BIOATIVAS DE
ALIMENTOS MINIMAMENTE PROCESSADOS DESTINADOS A DIETAS ESPECIAIS**

Fabiana Kawassaki Hirashima

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

**Orientadora:
Profa. Dra. Susy Frey Sabato**

**Coorientadora:
Profa. Dra. Ursula Maria Lanfer Marquez**

Versão Corrigida
Versão Original disponível no IPEN

São Paulo
2016

Fonte de Financiamento: IAEA, CNPq

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

Como citar:

HIRASHIMA, F. K. ***Efeito da radiação gama nas propriedades nutricionais e bioativos de alimentos minimamente processados destinados a dietas especiais***. 2016. 137 p. Tese (Doutorado em Tecnologia Nuclear), Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, IPEN-CNEN/SP, São Paulo. Disponível em: <www.teses.usp.br> (data de consulta no formato: dd/mm/aaaa)

Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema de geração automática da Biblioteca IPEN/USP,
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

Hirashima, Fabiana Kawassaki

Efeito da radiação gama nas propriedades nutricionais e bioativas de alimentos minimamente processados destinados a dietas especiais / Fabiana Kawassaki Hirashima; orientadora Susy Frey Sabato; co-orientadora Ursula Maria Lanfer Marquez. -- São Paulo, 2016.

137 p.

Tese (Doutorado) - Programa de Pós-Graduação em Tecnologia Nuclear (Aplicações) -- Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, São Paulo, 2016.

1. irradiação de alimentos. 2. alimentos minimamente processados. 3. compostos bioativos. 4. antioxidante. I. Sabato, Susy Frey, orient. II. Marquez, Ursula Maria Lanfer, co-orient. III. Título.

FOLHA DE APROVAÇÃO

Autor: **Fabiana Kawassaki Hirashima**

Título: **Efeito da radiação gama nas propriedades nutricionais e bioativas de alimentos minimamente processados destinados a dietas especiais**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Tecnologia Nuclear da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Doutor em Ciências.

Data: ____/____/____

Banca Examinadora

Prof. Dr.: _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr.: _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr.: _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr.: _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

*À Deus,
sempre presente em minha vida,*

*Aos meus pais Keiko e Sergio,
pela compreensão, apoio, incentivo e amor incondicional,*

*À minha irmã Aline e meu sobrinho Davi,
peças preciosas em minha vida,*

*Ao Daniel,
por ser a força que move e apoia meus sonhos,
meu eterno amigo e meu grande amor,*

E para aquele que está chegando em nossas vidas,

DEDICO.

AGRADECIMENTOS

À Dra. Susy Frey Sabato, por me aceitar como sua orientada, pela amizade que foi construída ao longo dos 4 anos de doutorado e pela sua compreensão, confiança e suporte em todos os momentos.

À Profa. Dra. Ursula Lanfer Marquez, pela co-orientação, confiança e suporte desde o mestrado até hoje. Um de seus ensinamentos que levarei para a vida é a forma clara e fluida de escrever. Agradeço todos os ensinamentos que servirão de guia para o meu crescimento profissional.

Aos Profs. Dr. Eduardo Purgatto e Dr. Wilson Aparecido Parejo Calvo, pela disponibilidade e participação em todas as etapas do trabalho, sempre contribuindo de forma expressiva e com preciosas e pertinentes sugestões.

Ao Dr. Alexandre Bera, por me apresentar ao Ipen e pelos anos de convivência no laboratório de Análise de Alimentos.

À amiga Adriana Fabbri, pela amizade, confiança, auxílio em todos os momentos, viagens malucas e muitas risadas, e às colegas de trabalho, Juliana Sagretti, Maria Luiza Marchiori e Thaise Nunes pelos momentos de descontração e dúvidas.

À amiga Isabel Louro Massaretto, pela grande amizade construída ao longo destes anos de convivência, pelos momentos de alegrias e risadas, apoio nos momentos difíceis e de ansiedade, além da confiança, no auxílio em muitas análises e muitos almoços e jantares de desabafo e descontração. É um prazer ter sua companhia e sua amizade!

Às amigas Silvia Meza e Luciana Yoshime, que sempre me demonstraram força e persistência em suas características pessoais. Agradeço pela amizade, horas de descontração, almoços, desabafos e muitas conversas.

Aos amigos Rosa Cerdeira e Elias Araújo, pela amizade desde o mestrado, convivência prazerosa, pelos momentos de descontração e conversas triviais, cafezinhos, almoços e pela ajuda e ensinamentos com o desenvolvimento do meu trabalho.

Aos colegas e amigos do Departamento de Alimentos e Nutrição Experimental (FCF/USP): Luciene Lauer, Kelly Souza, Tatyane Freitas, Gabriela Lima, Renata Araujo, Priscila Donado, Carlos Donado, Heloisa Pique, Simone Faria, Guto Sattler, Marcio Moura, Illana Pereira, Lucilia Rabello, Fernanda Santana pelos auxílios durante a jornada, momentos compartilhados de descontração e muitas conversas.

Aos amigos do Instituto Adolfo Lutz, em especial à Lucile Matsumoto e Simone Alves, pela amizade construída desde que passei pelo Instituto, pelas trocas de experiência, almoços descontraídos e muitas conversas prazerosas.

À amiga Angela Mikaro, pela amizade ao longo destes anos, tanto na parte pessoal quanto profissional.

Aos funcionários do Irradiador Multipropósito do CTR, que sempre foram solícitos aos meus pedidos de irradiação de material, em especial ao Dr. Pablo Vasquez Salvador e aos técnicos Paulo de S. Santos, José A. Nunes e Manoel E. da Silva.

Aos funcionários do CTR (IPEN), do Departamento de Alimentos e Nutrição Experimental (FCF/USP) e do Programa de Pós-Graduação (IPEN), pelo auxílio em todas as situações.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela bolsa de estudos concedida.

À Amelia Liyoko Koga, pelo carinho e preocupação, além das caronas diárias.

Enfim, a todos que contribuíram de forma direta e indireta para a realização deste trabalho, meu muito obrigada!

“A mais bela e profunda experiência é a
sensação do mistério. Ela é semeadora
de toda verdadeira ciência.”

(Albert Einstein)

RESUMO

HIRASHIMA, F.K. *Efeito da radiação gama nas propriedades nutricionais e bioativas de alimentos minimamente processados destinados a dietas especiais*. 2016. p. Tese (Doutorado em Tecnologia Nuclear) – Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares – IPEN–CNEN/SP. São Paulo.

A nutrição possui papel de fundamental importância na promoção da saúde. Os alimentos *in natura* podem ser encontrados na forma de frutas e vegetais minimamente processados (*fresh-cut*) embalados. Uma alternativa para a administração de alguns alimentos *in natura* aos indivíduos imunocomprometidos e neutropênicos, ou até mesmo para a população em geral, é a aplicação de radiação gama, em doses sub-esterilizantes, com o intuito de oferecer alimentos de qualidade e seguros do ponto de vista microbiológico. A descrição na literatura sobre tentativas de oferecer alimentos seguros e saudáveis aos indivíduos portadores de patologias do sistema imune é escassa. Assim, o objetivo do trabalho foi avaliar o efeito de diferentes doses de radiação gama na composição química, no teor de compostos bioativos e atividade antioxidante de abacaxi, salada de frutas, mini cenouras e salada de folhas minimamente processados destinados a dietas especiais. As amostras foram submetidas à radiação gama, com doses de 0.5, 1, 2 e 3 kGy e analisadas juntamente com as amostras controle (não irradiadas). Foram analisados a composição centesimal, compostos fenólicos, flavonóides, proantocianidinas, atividade antioxidante por ORAC e DPPH•, vitamina C e carotenóides. Não foram observadas alterações significativas nos compostos avaliados antes e após a irradiação, com exceção dos carotenóides que demonstraram um aumento significativo dos teores após a aplicação de radiação gama. Assim, pode-se concluir que a irradiação, aplicada em baixas doses e em alimentos minimamente processados, promove a manutenção do valor nutricional do alimento, trazendo benefícios aos indivíduos que necessitam de alimentos seguros e de suficiente aporte nutricional que garanta a promoção e recuperação da saúde, tais como os imunocomprometidos.

Palavras chave: irradiação de alimentos; alimentos minimamente processados; compostos bioativos; antioxidantes.

ABSTRACT

HIRASHIMA, F.K. *Effect of gamma radiation on nutritional and bioactive properties in minimally processed food intended for special diets*. 2016. p. Tese (Doutorado em Tecnologia Nuclear) – Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares – IPEN–CNEN/SP. São Paulo.

Nutrition plays a fundamental role in promoting health. The fresh food can be found in form of minimally processed fruits and vegetables (fresh-cut). An alternative of fresh food administration to immunocompromised and neutropenic individuals, or even to the general population, is the application of gamma radiation in sub-sterilizing doses, in order to provide quality and safe food in microbiological point of view. The description in the literature on attempts to provide safe and healthy food to individuals with immune system disorders is scarce. The objective of the study was to evaluate the effect of different doses of gamma radiation in the chemical composition, the bioactive compounds content and antioxidant activity of minimally processed pineapple, fruit salad, mini carrots and leaves salad for special diets. Samples were subjected to gamma radiation doses of 0.5, 1, 2 to 3 kGy and analyzed at the same time with control samples (not irradiated). There were analyzed the chemical composition, phenolic compounds, flavonoids, proanthocyanidins, antioxidant activity by ORAC and DPPH•, vitamin C and carotenoids. No significant changes were observed in compounds contents before and after irradiation, except carotenoids that have demonstrated a significant increase in levels after application of gamma radiation. Thus, it can be concluded that irradiation applied in low doses and in minimally processed foods promotes the maintenance of food nutritional value, bringing benefits to the individuals who need safe food and adequate nutritional supply to ensure the promotion and recovery health, such as immunocompromised.

Keywords: food irradiation; minimally processed food; bioactive compounds; antioxidants.

LISTA DE TABELAS

	Página
Tabela 1 – Alimentos trabalhados por cada país no CRP-IAEA: Irradiated foods for immunocompromised patient and other potential target groups.....	23
Tabela 2 – Dados microbiológicos de salada de fruta minimamente processada.....	24
Tabela 3 – Dados microbiológicos de abacaxi minimamente processado.....	25
Tabela 4 – Dados microbiológicos de salada de hortaliças minimamente processada.....	25
Tabela 5 – Classificação dos níveis de doses em alimentos, suas funções e doses médias utilizadas.....	54
Tabela 6 – Importantes acontecimentos na história da irradiação de alimentos.....	58
Tabela 7 – Teores de umidade, cinzas, lipídeos, proteínas e carboidratos em abacaxi, salada de frutas, mini cenouras e salada Mix Primavera minimamente processados submetidos a diferentes doses de radiação gama, expressos em gramas/100 gramas em base úmida.	87
Tabela 8 – Teores de fenólicos totais, flavonóides e proantocianidinas em abacaxi, salada de frutas, mini cenouras e salada Mix Primavera minimamente processados submetidos a diferentes doses de radiação gama, em base seca.....	92
Tabela 9 – Capacidade antioxidante medidos pelos métodos de ORAC e DPPH• em abacaxi, salada de frutas, mini cenouras e salada Mix Primavera minimamente processados submetidos a diferentes doses de radiação gama, expressos em micromol equivalente de Trolox/grama em base seca.....	98
Tabela 10 – Teores de vitamina C total, ácido ascórbico e ácido deidroascórbico em abacaxi, salada de frutas, mini cenouras e salada Mix Primavera minimamente processados submetidos a diferentes doses de radiação gama, expressos em miligramas de ácido ascórbico / 100 gramas em base úmida.....	104
Tabela 11 – Teores de α -caroteno, β -caroteno e luteína em abacaxi, salada de frutas, mini cenouras e salada Mix Primavera minimamente processados	

submetidos a diferentes doses de radiação gama, expressos em microgramas/grama em base seca.....	108
---	-----

LISTA DE FIGURAS

	Página
Figura 1 – Classificação dos compostos fenólicos e derivados	31
Figura 2 – Representação da estrutura química dos compostos fenólicos insolúveis ligados à parede celular de um vegetal	32
Figura 3 – Estrutura química das principais classes de flavonóides	35
Figura 4 – Estrutura química das principais classes de flavonóides	36
Figura 5 - Reação do radical 1,1-difenil-2-picril-hidrazil (DPPH [•]) com o antioxidante.....	41
Figura 6 – Estrutura química dos carotenóides mais encontrados na alimentação humana	44
Figura 7 – Estrutura química do ácido ascórbico e ácido deidroascórbico	47
Figura 8 – Estrutura de Irradiador de ⁶⁰ Co, categoria IV (IAEA)	50
Figura 9 – Irradiador Multipropósito do Centro de Tecnologia das Radiações (CTR), IPEN /CNEN – SP.	51
Figura 10 – Fonte selada de radiação gama de um irradiador (radioisótopo).....	51
Figura 11 – Dosímetros de polimetilmetacrilato (PMMA) que variam de cor de acordo com a dose de radiação aplicada.	52
Figura 12 – Países onde a irradiação de alimentos é aprovada (marcações em amarelo) e onde é permitida para uso comercial (marcações em preto).....	56
Figura 13 – Símbolo da radura.	64
Figura 14 – Alimentos “in natura” irradiados na Nova Zelândia.	65
Figura 15 – Alimentos minimamente processados comercializados no varejo.....	66
Figura 16 – Etapas do processamento dos alimentos minimamente processados.	68
Figura 17 – Detalhamento das etapas da produção de alimentos minimamente processados.	69
Figura 18 – Fluxograma estrutural das análises químicas realizadas nas amostras e as doses de radiação utilizadas no trabalho.	72
Figura 19 – Salada de frutas minimamente processada.....	73
Figura 20 – Abacaxi minimamente processado	73
Figura 21 – Salada de hortaliças minimamente processada (Salada Mix Primavera)	74
Figura 22 – Cenouras minimamente processadas (Mini Cenouras)	74

Figura 23 – Irradiador Multipropósito do Centro de Tecnologia das Radiações (CTR), IPEN-CNEN/SP	75
Figura 24 – Curva de calibração do ácido gálico ($\mu\text{g/mL}$) para quantificação de compostos fenólicos, com pontos em triplicata.	78
Figura 25 – Curva de calibração da catequina ($\mu\text{g/mL}$) para quantificação de flavonóides, com pontos em triplicata.	79
Figura 26 – Curva de calibração da catequina ($\mu\text{g/mL}$) para quantificação de proantocianidinas, com pontos em triplicata.	80
Figura 27 – Curva de calibração do Trolox (μM) para quantificação de atividade antioxidante pelo método de DPPH, com pontos em triplicata.	81
Figura 28 – Ilustração sobre a determinação de atividade antioxidante expressa como a área entre as curvas do decréscimo da fluorescência (AUC).	82
Figura 29 – Curva de calibração do Trolox (μM) para quantificação de atividade antioxidante pelo método de ORAC, com pontos em triplicata.	82
Figura 30 – Teores de carboidratos, proteínas, cinzas e lipídeos do abacaxi minimamente processado segundo doses de radiação aplicadas	89
Figura 31 – Teores de carboidratos, proteínas, cinzas e lipídeos da salada de frutas minimamente processada segundo doses de radiação aplicadas.....	89
Figura 32 – Teores de carboidratos, proteínas, cinzas e lipídeos das mini cenouras minimamente processadas segundo doses de radiação aplicadas	90
Figura 33 – Teores de carboidratos, proteínas, cinzas e lipídeos da salada Mix Primavera minimamente processada segundo doses de radiação aplicadas	90
Figura 34 – Teores de fenólicos do abacaxi minimamente processado segundo doses de radiação aplicadas	95
Figura 35 – Teores de fenólicos, flavonóides e proantocianidinas da salada de frutas minimamente processada segundo doses de radiação aplicadas.....	95
Figura 36 – Teores de fenólicos, flavonóides e proantocianidinas das mini cenouras minimamente processada segundo doses de radiação aplicadas.....	96
Figura 37 – Teores de fenólicos, flavonóides e proantocianidinas da salada Mix Primavera minimamente processada segundo doses de radiação aplicadas	96
Figura 38 – Atividade antioxidante medido pelos métodos de ORAC e DPPH• do abacaxi minimamente processado segundo doses de radiação aplicadas	99

Figura 39 – Atividade antioxidante medido pelos métodos de ORAC e DPPH• da salada de frutas minimamente processada segundo doses de radiação aplicadas.....	99
Figura 40 – Atividade antioxidante medido pelos métodos de ORAC e DPPH• das mini cenouras minimamente processada segundo doses de radiação aplicadas.....	100
Figura 41 – Atividade antioxidante medido pelos métodos de ORAC e DPPH• da salada Mix Primavera minimamente processada segundo doses de radiação aplicadas	100
Figura 42 – Cromatograma obtido por CLAE do ácido ascórbico extraído antes (A) e após (B) redução do ácido deidroascórbico no abacaxi minimamente processado	103
Figura 43 – Cromatograma obtido por CLAE do ácido ascórbico extraído antes (A) e após (B) redução do ácido deidroascórbico na salada Mix Primavera minimamente.....	103
Figura 44 – Teores de vitamina C total e suas frações (ácido ascórbico e ácido deidroascórbico) do abacaxi minimamente processado segundo doses de radiação aplicadas	105
Figura 45 – Teores de vitamina C total e suas frações (ácido ascórbico e ácido deidroascórbico) da salada Mix Primavera minimamente processada segundo doses de radiação aplicadas	105
Figura 46 – Cromatograma obtido por CLAE das mini cenouras minimamente processadas com a identificação do α -caroteno (454 nm) e β -caroteno (454 nm).....	107
Figura 47 – Cromatograma obtido por CLAE da salada Mix Primavera minimamente processada com a identificação da luteína (448 nm), α -caroteno (454 nm) e β -caroteno (454 nm)	107
Figura 48 – Teores de α e β -caroteno das mini cenouras minimamente processada segundo doses de radiação aplicadas	110
Figura 49 – Teores de α e β -caroteno e luteína da salada Mix Primavera minimamente processada segundo doses de radiação aplicadas.....	110
Figura 50 - Análise por componentes principais (PC1 x PC2) dos componentes do abacaxi minimamente processado. A) Gráfico de dispersão das amostras	

com diferentes doses de radiação gama e B) gráfico das variáveis que influenciam o modelo	112
Figura 51 - Dendograma de análise hierárquica de agrupamento do abacaxi minimamente processado segundo doses de radiação aplicadas	113
Figura 52 - Análise de função discriminante do abacaxi minimamente processado. A) Gráfico de dispersão das amostras com diferentes doses de radiação gama e B) gráfico das variáveis que influenciam o modelo	114
Figura 53 - Análise por componentes principais (PC1 x PC2) da salada de frutas minimamente processada. A) Gráfico de dispersão das amostras com diferentes doses de radiação gama e B) gráfico das variáveis que influenciam o modelo	115
Figura 54 - Dendograma de análise hierárquica de agrupamento da salada de frutas minimamente processada segundo doses de radiação aplicadas.....	116
Figura 55 - Análise de função discriminante da salada de frutas minimamente processada. A) Gráfico de dispersão das amostras com diferentes doses de radiação gama e B) gráfico das variáveis que influenciam o modelo.....	116
Figura 56 - Análise por componentes principais (PC1 x PC2) da mini cenoura minimamente processada. A) Gráfico de dispersão das amostras com diferentes doses de radiação gama e B) gráfico das variáveis que influenciam o modelo	118
Figura 57 - Dendograma de análise hierárquica de agrupamento da mini cenoura minimamente processada segundo doses de radiação aplicadas.....	118
Figura 58 - Análise de função discriminante da mini cenoura minimamente processada. A) Gráfico de dispersão das amostras com diferentes doses de radiação gama e B) gráfico das variáveis que influenciam o modelo.....	119
Figura 59 - Análise por componentes principais (PC1 x PC2) da salada Mix Primavera minimamente processada. A) Gráfico de dispersão das amostras com diferentes doses de radiação gama e B) gráfico das variáveis que influenciam o modelo	120
Figura 60 - Dendograma de análise hierárquica de agrupamento da salada Mix Primavera minimamente processada segundo doses de radiação aplicadas ...	121
Figura 61 - Análise de função discriminante salada Mix Primavera minimamente processada. A) Gráfico de dispersão das amostras com diferentes doses de radiação gama e B) gráfico das variáveis que influenciam o modelo.....	121

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	18
2	JUSTIFICATIVA	21
3	OBJETIVOS.....	26
3.1	Objetivo Geral.....	26
3.2	Objetivos Específicos.....	26
4	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	27
4.1	Nutrição em dietas especiais	27
4.2	Compostos Bioativos dos alimentos	30
4.2.1	Compostos fenólicos	30
4.2.1.1	Ácidos fenólicos.....	34
4.2.1.2	Flavonóides	35
4.2.1.3	Taninos.....	36
4.2.2	Atividade antioxidante	37
4.2.2.1	Metodologias de avaliação da atividade antioxidante	40
4.2.2.1.1	DPPH [•] (1,1-difenil-2-picril-hidrazil).....	41
4.2.2.1.2	Método ORAC (Oxygen radical absorbance capacity)	42
4.2.3	Carotenóides	43
4.2.4	Vitamina C	46
4.3	Radiação ionizante	48
4.3.1	Processo de irradiação.....	49
4.3.2	Irradiação de alimentos	52
4.3.2.1	História da irradiação de alimentos.....	56
4.3.2.2	Irradiação de alimentos no Brasil e legislação.....	62
4.3.2.3	Rotulagem	64
4.4	Alimentos minimamente processados.....	65
5	MATERIAIS E MÉTODOS	72
5.1	Delineamento da execução do projeto	72
5.2	Amostras	73
5.3	Irradiação das amostras	74
5.4	Análises químicas	75

5.4.1	Composição Centesimal.....	75
5.4.1.1	Umidade.....	75
5.4.1.2	Resíduo mineral	75
5.4.1.3	Extrato etéreo	76
5.4.1.4	Proteínas.....	76
5.4.1.5	Carboidratos.....	76
5.4.2	Extração e análise dos compostos bioativos	77
5.4.2.1	Extração dos compostos fenólicos	77
5.4.2.2	Análise dos compostos fenólicos totais (CFT)	77
5.4.2.3	Análise de flavonóides totais	78
5.4.2.4	Análise de proantocianidinas	79
5.4.3	Análise da atividade antioxidante dos compostos bioativos.....	80
5.4.3.1	Método de DPPH•	80
5.4.3.2	Método ORAC	81
5.4.4	Vitamina C	82
5.4.5	Carotenóides	83
5.5	Análise estatística.....	84
5.5.1	Análise estatística univariada.....	84
5.5.2	Análise estatística multivariada	84
6	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	86
6.1	Composição Centesimal.....	86
6.2	Compostos Bioativos	91
6.3	Atividade Antioxidante.....	97
6.4	Vitamina C	102
6.5	Carotenóides	106
6.6	Análise Multivariada.....	111
6.6.1	Abacaxi minimamente processado	111
6.6.2	Salada de frutas minimamente processada	114
6.6.3	Mini Cenoura minimamente processada.....	117
6.6.4	Salada Mix Primavera.....	119
7	CONCLUSÕES	122
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	123

1 INTRODUÇÃO

Desde os tempos mais remotos, a nutrição possui papel de fundamental importância na promoção da saúde, tendo como principal função oferecer nutrientes necessários para prover energia ao corpo, a fim de manter o funcionamento adequado de suas atividades básicas e atuar na prevenção de doenças (TORRANCE, 1991).

No ambiente hospitalar, a nutrição é tratada como uma ciência fundamental para a recuperação de pacientes por garantir o aporte de nutrientes necessários para preservação ou melhora do seu estado nutricional durante sua internação (GARCIA, 2006). Assim, os alimentos servidos nestes locais devem ser selecionados, preparados e/ou controlados rigorosamente com o intuito de evitar o risco de doenças de origem alimentar em pacientes, principalmente em aqueles mais susceptíveis e vulneráveis, e até mesmo em seus funcionários. Para pacientes neutropênicos e portadores de imunodeficiências, deve haver uma atenção especial em relação aos alimentos com baixa carga microbiana, uma vez que as defesas naturais do seu organismo estão abaixo do que é considerado normalidade (LUND & O'BRIEN, 2009).

Além dos indivíduos anteriormente citados, alguns grupos populacionais tais como crianças, gestantes e idosos são considerados como grupos de risco por apresentarem o sistema imunológico incompleto ou deficiente. Esta é a razão pela qual a ingestão de um pequeno número de patógenos é suficiente para causar doença nestes indivíduos. Deve-se considerar que estas patologias podem manifestar-se de forma mais acentuada, causando sérias complicações ou até mesmo a morte (BUZBY, 2002).

Com o intuito de preservar a saúde de portadores de deficiências do sistema imune, são oferecidas dietas de teor microbiano reduzido como cautela, afim de tentar eliminar qualquer risco possível de ingestão de organismos patógenos como bactérias e fungos. Nesta dieta é restrito o oferecimento de frutas, hortaliças, vegetais, ovos e carne crus ou submetidos a pouco tempo de cozimento, laticínios não-pasteurizados, água não esterilizada, embutidos, entre outros (HANEKON et al., 2010; IAEA, 2009).

Porém a prioridade não é somente enfatizar a prevenção destes pacientes, mas também é importante fornecer o suporte nutricional necessário para contribuir com sua recuperação e melhora do estado nutricional e, principalmente, do sistema imunológico. A nutrição entra como uma importante aliada neste processo quando administrada de forma adequada, de acordo com as necessidades do indivíduo e priorizando a ingestão de alimentos saudáveis e de alto valor nutricional como alimentos *in natura*.

Estudos epidemiológicos confirmam uma relação inversa entre o consumo de frutas e hortaliças e a incidência de doenças cardiovasculares, degenerativas e proliferativas, e há evidências convincentes de que o consumo destes alimentos proporciona benefícios para a saúde devido às suas composições químicas específicas, particularmente aos compostos de relevância nutricional, como por exemplo, os compostos fenólicos (LIU, 2004; HUSSAIN et al., 2013). Estudos *in vitro* atestam forte atividade antioxidante em alimentos ricos em compostos fenólicos, que são hábeis no sequestro de substâncias reativas do oxigênio, nitrogênio e espécies de cloreto. Estes compostos também produzem outros efeitos biológicos podendo modular a atividade enzimática e inibir a proliferação celular, tornando-os candidatos potenciais para exercer ação anti-inflamatória, antimutagênica e anticarcinogênica (TULIPANI et al., 2008; HALLIWELL et al., 2005; ROSS & KASUM, 2002; PRIOR et al., 2005; CHUN et al., 2005; SOOBRATTEE et al., 2005).

Uma alternativa para a administração de alguns alimentos *in natura* aos indivíduos imunocomprometidos e neutropênicos, ou até mesmo para a população em geral, é a aplicação de radiação gama emitida pelo radioisótopo ^{60}Co , com o intuito de oferecer alimentos “limpos” e, ao mesmo tempo, oferecer uma ampla variedade de refeições para estes pacientes, permitindo a inclusão de alguns produtos normalmente considerados como “alto risco” devido à sua carga microbiana, mas que podem ser nutricionalmente adequados (PRYKE & TAYLOR, 1995; MOHÁCSI-FARKAS et al., 2014).

Esta tecnologia foi aprovada pelo Brasil e por muitos países, incluindo EUA pela *Food and Drug Administration* (FDA), e usado para muitas finalidades. A radiação ionizante foi comprovada como eficaz no controle do risco de patógenos em alimentos, oferecendo proteção ao consumidor e, dependendo da dose aplicada, vários outros efeitos podem ser alcançados como significativa redução nas perdas de alimentos por armazenamento e vida de prateleira prolongada (FARKAS, 2006; ISMAIL & UMIT, 2007; LEE et al., 2012).

Existem outras alternativas de tratamento utilizadas para atuar no controle microbiológico de alimentos *in natura*, como a produção de alimentos minimamente processados. É um método de conservação que visa manter o frescor e o estado natural do

produto, além de proporcionar ligeiro aumento na vida de prateleira. Estes alimentos são acondicionados em embalagens com atmosfera modificada ou controladas e armazenados com controle de temperatura e umidade. É caracterizado por um preparo mínimo, que incluem pesagem, seleção, higienização, descascamento e corte. Embora o frescor e o valor nutritivo dos alimentos sejam preservados, apresentam aumento na taxa de respiração e a possibilidade de haver contaminação por microrganismos, existindo necessidade de prevenção e controle durante todo o manuseio, incluindo o processo de fabricação e acondicionamento dos produtos (LIMA et al., 2003; OLIVEIRA et al., 2011).

2 JUSTIFICATIVA

Em 2009, na Austria, foi realizada uma reunião organizada pela *International Atomic Energy Agency* (IAEA) para a discussão de uma proposta de projeto que avaliaria o uso da radiação gama na estabilidade de alimentos para pacientes imunocomprometidos e outros grupos específicos. Nesta reunião foram convidados representantes de vários países, incluindo o Brasil, representado pela Prof^a. Dra. Susy Frey Sabato.

O tema do doutorado esteve associado ao projeto: “*Development of Irradiated Foods for Immuno-Compromised Patients and other Potential Target Groups*”; desenvolvido pelo *Programme for Nuclear Techniques in Food and Agriculture* (NAFA) e registrado como CRP D6.20.09. O NAFA é um subprograma da parceria entre a *Food and Agriculture Organization of the United Nations* (FAO) e a IAEA.

O Programa FAO/IAEA auxilia países membros da FAO e da IAEA na utilização de técnicas nucleares e suas biotecnologias relacionadas para o desenvolvimento de melhores estratégias de segurança alimentar.

O objetivo geral do projeto foi avaliar a tecnologia de processamento por radiação, no contexto nutricional e no consumo de alimentos *in natura*, visando também aumentar a variedade, disponibilidade e aceitabilidade dos alimentos destinados à pacientes imunocomprometidos e outros grupos-alvo potenciais com necessidades dietéticas especiais. Isso promove um trabalho de colaboração com a comunidade de saúde na pesquisa de alimentos apropriados, como por exemplo, produtos frescos irradiados (frutas, vegetais, saladas) e alimentos prontos para consumo. Também possibilita a obtenção de dados sobre a aceitação de alimentos irradiados tanto em termos de fatores quantitativos (segurança microbiológica, propriedades nutricionais e organolépticas) e propriedades qualitativas (bem-estar psicológico, qualidade de vida). Na Tabela 1, apresenta-se os países participantes e respectivos alimentos analisados.

O grupo coordenado pela Dr^a. Susy Frey Sabato atuou na pesquisa intitulada “*Application of ionizing radiation in foods for people with specific diets*” (IAEA-16226, aprovado em 17 de junho de 2010) e teve como objetivo estudar e garantir a qualidade

microbiológica nutricional e sensorial de alguns tipos de alimentos, visto que o Brasil ainda apresenta poucos dados sobre o assunto.

Duas teses de doutorado que fizeram parte do projeto do IAEA e orientadas pela Prof^a. Dra. Susy Frey Sabato já foram defendidas em 2014 (FABBRI, 2014) e 2015 (NUNES, 2015) com resultados físico-químicos, microbiológicos e sensoriais de salada de frutas, abacaxi e salada de folhas minimamente processadas e irradiadas. Diante dos resultados obtidos, em relação à segurança microbiológica, a dose de 3,0 kGy aplicada na salada de fruta e no abacaxi minimamente processado e a dose de 2,0 kGy aplicada na salada de folhas apresentou resultados que atendem à legislação (BRASIL, 2001^a) que determina os padrões microbiológicos para estes tipos de alimentos, conforme pode ser observado nas Tabelas 2-4.

Além disso, os aspectos físico-químicos e sensoriais destes alimentos, quando aplicadas as doses necessárias para garantir a segurança microbiológica, também apresentaram resultados satisfatórios, cuja a aceitação sensorial foi boa.

O projeto foi finalizado em junho de 2015 em uma reunião em Viena, Áustria, com a apresentação dos resultados obtidos pelo grupo, tanto em relação às teses já defendidas, como com os resultados obtidos pelo presente trabalho até aquele momento.

Com a crescente demanda de produtos minimamente processados no mercado, observou-se a importância de incluir mais alimentos para avaliação nutricional. Desta maneira, optou-se pela inclusão de cenouras minimamente processadas, ou mini cenouras, que possuem grande visibilidade perante aos consumidores. A ampliação de alimentos estudados destinados a dietas especiais só traz benefícios aos pacientes e grupos específicos de pessoas que dependem da alimentação para sua recuperação.

A avaliação de propriedades bioativas de alimentos submetidos à radiação gama é um assunto com poucas referências em literatura. Existe a importância do consumo de alimentos in natura que tenham suas propriedades nutricionais inalteradas, com tempo de prateleira maior e seguros do ponto de vista microbiológico, mas que também proporcionem benefícios funcionais por parte de princípios bioativos mesmo após a aplicação de radiação. Estes compostos bioativos têm recebido grande atenção nestes últimos anos por apresentarem diversas vantagens na promoção da saúde, o que contribui para que mais estudos sejam realizados, avaliando o comportamento destes compostos em alimentos submetidos a tratamentos, seja térmico, químico ou ionizante.

A associação entre alimentos minimamente processados e a irradiação de alimentos pode trazer benefícios, principalmente aos indivíduos imunodeprimidos e

neutropênicos. O oferecimento de alimentos in natura, já processados e prontos para consumo (com mínima manipulação), aliado a segurança microbiológica por meio da irradiação, tem como objetivo proporcionar uma alimentação saudável e que possa auxiliar na recuperação ou manutenção da saúde destes pacientes.

Este estudo também pode auxiliar na construção de informações, reforçando dados importantes sobre os alimentos irradiados, assunto este que ainda mantém mitos por parte dos consumidores que apresentam aversão a este tipo de alimento.

Tabela 1 – Alimentos trabalhados por cada país no CRP-IAEA: Irradiated foods for immunocompromised patient and other potential target groups.

País	Alimentos	Público Alvo	Segurança e Parâmetros de qualidade			
			Físico-Químicos	Segurança Microbiol.	Extensão Shelf-Life	Sensorial
Argentina	Frutas, vegetais, carne, queijo	Hospital	X	X	X	X
Bangladesh	Vegetais frescos	Hospital	X	X	X	X
Brasil	Salada de Frutas, vegetais, sorvete	Hospital	X	X	-	X
China	Picles (vegetais)	Hospital	X	X	X	X
EUA	Salada de Frutas, vegetais, carne (bife)	Hospital	X	X	-	X
Filipinas	Produtos cárneos	Hospital	X	X	X	X
Hungria	Frutas, vegetais	Hospital	X	X	-	X
Índia	Será decidido com o Hospital	Hospital	X	X	X	X
Indonésia	Pratos prontos (carne, frango, peixe) com vegetais	Hospital, Rações para animais	X	X	X	X

País	Alimentos	Público Alvo	Segurança e Parâmetros de qualidade			
			Físico-Químicos	Segurança Microbiol.	Extensão Shelf-Life	Sensorial
Paquistão	Pratos prontos (legumes e frango); pão e sorvete de ervas	Hospital	X	X	X	X
República da Coréia	Vegetais, frutas, pratos prontos, sorvete	Hospital, Rações para animais, Astronautas	X	X	X	X
Tunísia	Vegetais e carne vermelha	Hospital	-	X	X	X

Fonte: IAEA, 2015.

Tabela 2 – Dados microbiológicos de salada de fruta minimamente processada.

Dose	Aeróbios UFC/g	<i>S.aureus</i> UFC/g	Leveduras UFC/g	Bolores UFC/g	Coliformes Totais NMP/g	<i>E. Coli</i> NMP/g	Salmonella 25g
Controle	1,87x10 ⁴	3,95x10 ²	5x10 ¹	2,5x10 ²	ND	ND	Ausência
1,5 kGy	5x10 ¹	2,5x10 ¹	5x10 ¹	8x10 ²	ND	ND	-
2,0 kGy	2x10 ¹	ND	4,5x10 ¹	5x10 ¹	ND	ND	-
3,0 kGy	ND	ND	6x10¹	4,5x10¹	ND	ND	Ausência

* UFC: Unidades Formadoras de Colônias; NMP: Número mais provável

** Não detectada (ND)

Fonte: FABBRI, A.D.T., 2014.

Tabela 3 – Dados microbiológicos de abacaxi minimamente processado.

Dose	Aeróbios UFC/g	<i>S.aureus</i> UFC/g	Bolores e Leveduras UFC/g	Coliformes Totais NMP/g	<i>E. Coli</i> NMP/g	Salmonella 25g
Controle	1,4x10 ⁴	<1x10 ¹	1,6x10 ³	2,3x10 ¹	ND	Ausência
3,0 kGy	2x10³	ND	ND	ND	ND	Ausência

* UFC: Unidades Formadoras de Colônias; NMP: Número mais provável

** Não detectada (ND)

Fonte: FABBRI, A.D.T., 2014.

Tabela 4 – Dados microbiológicos de salada de hortaliças minimamente processada.

Dose	Aeróbios UFC/g	<i>S.aureus</i> UFC/g	Leveduras UFC/g	Bolores UFC/g	Coliformes Totais NMP/g	<i>E. Coli</i> NMP/g	Salmonella 25g
Controle	5,9x10 ⁶	ND	4,0x10 ²	8,5x10 ³	9,7x10 ³	ND	Ausência
1,0 kGy	5,8x10 ³	ND	0,5x10 ¹	2,2x10 ³	0,5x10 ¹	ND	Ausência
2,0 kGy	ND	ND	ND	4,6x10²	ND	ND	Ausência
3,0 kGy	ND	ND	ND	0,8x10 ¹	ND	ND	Ausência

* UFC: Unidades Formadoras de Colônias; NMP: Número mais provável

** Não detectada (ND)

Fonte: NUNES, T.C.F., 2015.

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo Geral

Avaliar o efeito de diferentes doses de radiação gama na composição química, no teor de compostos bioativos e atividade antioxidante de alimentos minimamente processados destinados a dietas especiais.

3.2 Objetivos Específicos

- Avaliar a composição centesimal das amostras de salada de frutas, salada de hortaliças, abacaxi e mini cenouras minimamente processadas, antes e após a aplicação da radiação gama;
- Avaliar o teor de compostos fenólicos, flavonóides, proantocianidinas e carotenóides, além da dosagem de vitamina C nas amostras submetidas a diversas doses de radiação gama (0,5, 1, 2 e 3 kGy);
- Avaliar a atividade antioxidante pelos métodos DPPH[•] (1,1-difenil-2-picril-hidrazil) e ORAC (*Oxygen radical absorbance capacity*);
- Avaliar o comportamento dos compostos analisados diante das diferentes doses de radiação aplicadas.

4 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

4.1 Nutrição em dietas especiais

A nutrição desempenha um papel importante na prevenção primária e secundária das doenças não transmissíveis (DNT), como doenças cardiovasculares. O consumo de frutas e vegetais é uma das recomendações nutricionais essenciais para prevenir este tipo de doença. Numerosos estudos têm demonstrado que a ingestão de 3-5 porções diárias de frutas e vegetais que protegem contra as DNT (CHANG et al., 2016).

Frutas e vegetais constituem uma parte importante da dieta humana. Além disso, frutos podem ser consumidos como parte de práticas religiosas e como terapia nutricional em diferentes tradições humanas em todo o mundo (CHANG et al., 2016).

A proporção das pessoas vulneráveis na sociedade está aumentando em todo o mundo. Essas pessoas são suscetíveis a todos os tipos de complicações infecciosas de quaisquer microrganismos. A população vulnerável inclui vários grupos de pessoas, como por exemplo pessoas com imunodeficiência primária, os pacientes imunocomprometidos, incluindo os tratados com quimioterapia ou radioterapia, doentes transplantados, pessoas com leucemia ou com doenças do sistema imune, doentes com síndrome da imunodeficiência adquirida (SIDA) ou *acquired immunodeficiency syndrome* (AIDS), as pessoas subnutridas, mulheres grávidas, crianças e pessoas idosas (MOHÁCSI-FARKAS, 2016).

Além disso, a população vulnerável pode apresentar um quadro chamado neutropenia, que é caracterizada pela redução do número absoluto de neutrófilos (leucócitos) na corrente sanguínea, podendo ser uma doença congênita ou derivada de infecções virais e bacteriológicas, induzida por uso de medicação e também adquirida por deficiência nutricional, ou seja, ingestão ou absorção insuficiente de vitamina B12 e folato (THOMAS, 2007). Diferentemente da neutopenia, a imunodeficiência é caracterizada pela ausência ou deficiência de células e/ou componentes humorais (imunoglobulinas, linfócitos) do sistema imune, geralmente adquiridas, resultante de um processo patológico ou de seu tratamento. Também pode ser herdada, ocorrendo com mais raridade na população. Exemplos de

imunodeficiência incluem portadores de AIDS, infecções diversas, malignidades hematopoiéticas e indivíduos originários de tratamento com citostáticos e/ou imunossupressores, medicamentos estes administrados aos pacientes com neoplasias malignas, transplantados e doenças reumáticas auto-imunes (BIJL et al., 2011).

Para as pessoas especialmente vulneráveis, ou seja, que se enquadram nas condições citadas anteriormente, muitos hospitais utilizam dietas com baixa carga microbiana, que evitam os alimentos que são mais susceptíveis a conter microrganismos patogênicos e substitui por alimentos com um menor risco de presença destes organismos (LUND, 2014).

A primeira dieta com baixa carga microbiana foi desenvolvida na década de 1960 com a intenção de fornecer uma dieta completamente livre de germes. Desde então, os alimentos foram esterilizados por autoclave, cozidos por tempo prolongado, tratados com radiação gama ou feitos em conservas. Essas dietas livres de germes foram consideradas intragáveis; portanto, foi estipulado que seriam somente servidos alimentos cozidos, ou seja, surge a “dieta cozida”. Apesar de não ser totalmente livre de germes, esta dieta foi destinada a eliminar os alimentos com altas contagens bacterianas. Embora a dieta cozida teve mais aceitação pelos pacientes do que a dieta livre de germes, os pacientes que aderiram a esta dieta por mais de quatro semanas, muitas vezes tornaram-se frustrados com a seleção de comida (MOODY, et al., 2002; VAN DALEN et al., 2016).

As alterações no alimento devido ao aquecimento são a tal ponto que os pacientes rejeitam a comida por causa da aparência, ou porque o sabor e a textura mudaram. Devido à situação de estresse dos pacientes imunodeficientes, é essencial para a sua recuperação comer com prazer (MOHÁCSI-FARKAS, 2016).

Hoje em dia, a dieta cozida também é chamada de dieta neutropênica, em referência aos neutropênicos, que necessitam ser resguardados de qualquer tipo de infecção, principalmente de doenças transmitidas por alimentos. Não há um consenso sobre quais alimentos são permitidos ou proibidos na dieta neutropênica, tanto na literatura como nos locais onde é oferecida a dieta aos pacientes. Assim, fica a cargo de cada unidade de alimentação elaborar suas permissões e restrições, contanto que a dieta sempre seja de baixa contagem microbiana e que sigam as normas de Boas Práticas de Fabricação (BPF). Os alimentos mais comumente restritos incluem vegetais frescos, frutas frescas e secas, carnes, frango, ovos e frutos do mar mal passados, cerveja e condimentos dispostos em recipientes para compartilhamento (saleiro e pimenteiro) (MOODY et al, 2002).

Na ausência de normas sobre a dieta neutropênica, pode-se considerar as diretrizes sobre segurança alimentar publicadas pela *Food and Drug Administration*. É aconselhado somente o consumo de suco, leite ou queijo pasteurizado e ovos, frango, carne e peixe bem cozidos por pacientes imunocomprometidos. Eles também fornecem informações sobre higiene pessoal, especialmente importante para pacientes imunodeficientes. As orientações são semelhantes àquelas para as mulheres grávidas e são um requisito para todos os serviços de alimentação hospitalares e escolares (MOODY et al, 2002).

No Brasil, a RDC nº 12 traz uma observação sobre a microbiologia para dietas de imunocomprometidos, onde o Anexo 26 traz a seguinte informação: “Alimentos para grupos populacionais específicos, incluindo as dietas enterais e excluindo os infantis”. No item 1B: “Alimentos para imunodeprimidos e imunocomprometidos, excluídos os que serão consumidos após a adição de líquidos, com emprego de calor”. Tal item não apresenta divisões entre as diferentes categorias de alimentos (carnes/massas/frutas/vegetais), generalizando e englobando todos os tipos de alimentos num único padrão alimentar, mas estabelece limites microbiológicos aceitáveis para dietas específicas (BRASIL^a, 2001).

As doenças transmitidas por alimentos (DTA) e suas epidemias infecciosas foram rastreados por quase um século, o que revelou que os vetores mais comuns dessas infecções são carne, aves e ovos mal cozidos e água. *Campylobacter*, *Shigella*, e *Salmonella* representam os três mais agressivos microrganismos recorrentes em DTA (MOODY et al, 2002).

As doenças infecciosas são considerados uma das principais causas de morbidade e mortalidade em indivíduos imunocomprometidos. No entanto, essas doenças são frequentemente previsíveis e podem ser impedidas. Uma das melhores intervenções simultâneas para prevenir infecções do hospedeiro comprometido é a redução da exposição a patógenos exógenos. A prevenção da infecção de origem alimentar em um ambiente de saúde é essencial. Casos e surtos de infecção de origem alimentar pode resultar em doenças graves, desperdício de tratamentos médicos caros e propagação da infecção (FELICIANO et al., 2014).

A restrição de frutas e vegetais crus pode alterar o delicado equilíbrio do intestino e sua flora microbiana, além de aumentar o risco de crescimento excessivo e translocação de bactérias. Além disso, a dieta neutropênica, que limita as escolhas alimentares, pode comprometer o estado nutricional geral de pacientes, com a falta de suporte nutricional adequado (ingestão de alimentos ricos em vitaminas, minerais e até

mesmo compostos antioxidantes), e levar a um aumento da morbidade e prolongamento no tratamento destes pacientes. Pesquisas têm demonstrado que a dieta desempenha um papel importante na qualidade de vida de doentes (MOODY et al, 2002). Assim, há uma necessidade de aumentar a variedade de itens alimentares simples, bem como complexas (por exemplo, pratos à base de carne) disponível para imunodeficientes (FELICIANO et al., 2014).

4.2 Compostos Bioativos dos alimentos

4.2.1 Compostos fenólicos

Os compostos fenólicos são metabólitos secundários das plantas e constituem a maior classe de fitoquímicos do reino vegetal. Possuem funções essenciais na reprodução e no crescimento das plantas, agindo como mecanismo de defesa contra patógenos, parasitas e predadores, além de contribuir com a coloração das plantas. Também influencia nas propriedades de sinalização, particularmente nas interações entre plantas e seu ambiente e nas propriedades sensoriais que caracterizam um vegetal, como no caso do aroma, sabor e adstringência (BALASUNDRAM et al., 2006; BOUDET, 2007). Estruturalmente, os compostos fenólicos compreendem um anel aromático, tendo um ou mais hidroxilas ligadas, e uma gama de moléculas fenólicas simples para compostos altamente polimerizados (BALASUNDRAM et al., 2006). São subdivididos em várias classes, sendo alguns deles os ácidos fenólicos, flavonóides, estilbenos, cumarinas e taninos mostrados na Figura 1 (KARAKAYA, 2004; LIU, 2007). Ácidos fenólicos, flavonóides e taninos são considerados como os principais compostos fenólicos encontrados na dieta (BALASUNDRAM et al., 2006).

São derivados das vias de pentose fosfato, chiquimato e fenilpropanóide, vias estas que derivam de metabolismo primário. Há cada vez mais evidências de que a duplicação de genes essenciais do metabolismo primário tem sido uma base importante para o recrutamento do gene do metabolismo secundário. No curso da evolução, esses genes duplicados adquiriram novas funções e foram otimizados, diversificando seus papéis em novas vias. De um ponto de vista evolutivo, estas vias metabólicas foram enriquecidas progressivamente para fornecer adaptações específicas para diferentes famílias de plantas e a notável diversidade bioquímica que podemos observar (BOUDET, 2007).

E, além de possuir funções necessárias nas plantas, os compostos fenólicos também possuem ação no organismo humano. As principais fontes de fenólicos na dieta

humana são alimentos vegetais (frutas e hortaliças) e os seus derivados (vinho, cerveja e chá). E essa distribuição de compostos fenólicos na alimentação humana tem recebido muita atenção nos dias atuais, sendo estudada com o intuito de verificar se os efeitos detectados *in vitro* podem ocorrer em sistemas biológicos.

Não existe uma recomendação diária de consumo de fenólicos pela população, como existe para outros tipos de nutrientes. A estimativa de consumo destes compostos é limitada pelas informações ainda recentes sobre o assunto e pela inexistente uniformidade de metodologia relacionada à extração dos fenólicos nos alimentos.

Figura 1 – Classificação dos compostos fenólicos e derivados

Fonte: Adaptado de LIU, R.H., 2007; KARAKAYA, S., 2004.

Do ponto de vista físico-químico, os fenólicos nos vegetais podem estar nas formas solúvel e insolúvel. Os fenólicos solúveis (livres e conjugados) se localizam

compartimentalizados nos vacúolos celulares e frequentemente são encontrados sob a forma de ésteres e amidas, raramente ocorrendo como glicosídeos. São compostos de baixo peso molecular, solúveis em água, presentes no citosol, ou formas lipossolúveis, associadas às ceras da superfície da planta. Os insolúveis (encontrados, principalmente na forma de β -glicosídeos) são os mais abundantes e representam aproximadamente, respectivamente, 60 e 40% dos fenólicos totais. Estão associados covalentemente a estruturas da parede celular, esterificados com arabinose ou resíduos de galactose dos componentes pécicos ou hemicelulósicos, conforme pode ser observado na representação mostrada na Figura 2 (BALASUNDRAM et al., 2006; KARAKAYA, 2004; NACZK & SHAHIDI, 2004).

Os fenólicos têm recebido atenção pelos seus potenciais efeitos biológicos benéficos para a saúde humana. Na literatura são descritas propriedades antioxidante, anti-inflamatória, antimutagênica e anticarcinogênica, além de sua habilidade para modular algumas atividades enzimáticas no interior das células (LIU, 2004; CHUN et al., 2005; SOOBRAATTEE et al., 2005). O stress oxidativo imposto por espécies reativas de oxigênio (ERO), na verdade desempenha um papel crucial na patofisiologia associada com neoplasia, aterosclerose e doenças neurodegenerativas (BOUDET, 2007).

Figura 2 – Representação da estrutura química dos compostos fenólicos insolúveis ligados à parede celular de um vegetal

Fonte: Adaptado de KARAKAYA, S., 2004; ZHOU et al., 2002.

A atividade biológica dos compostos fenólicos depende primariamente da sua absorção e metabolização, que, por sua vez, está relacionada com a solubilidade. A biodisponibilidade dos compostos fenólicos ainda é regida por outras variáveis, tais como conjugação com outros compostos fenólicos, grau de glicosilação/acetilação, tamanho molecular, metabolismo pela microflora intestinal, cinética plasmática, natureza dos metabólitos circulantes, ligação à albumina, captação celular, metabolismo intracelular, acúmulo nos tecidos e excreção biliar e urinária, diferenças nas estruturas da parede celular, localização de glicosídeos em células e ligação de compostos fenólicos no interior da matriz alimentar (BALASUNDRAM et al., 2006). Todas essas variáveis dificultam a integração das informações e a relação de seus efeitos fisiológicos (MANACH et al., 2004).

O mecanismo preciso pelo qual alguns fenólicos glicosilados são absorvidos a partir do trato gastrointestinal ainda está sendo elucidado, mas o envolvimento da enzima lactase-florizina hidrolase, do transporte ativo de glicose (SGIT1), do processo de transporte mediado por transportador e o possível papel da proteína resistente a múltiplas drogas (MRP) foi sugerido (BALASUNDRAM et al., 2006).

Uma vez ingeridos, os compostos fenólicos podem ser submetidos a três tipos de conjugação: metilação, sulfatação e glicuronidação no intestino delgado, fígado ou rins (YANG et al., 2001). Cada uma dessas reações é catalisada por enzimas distintas. Algumas enzimas envolvidas apresentam polimorfismos e podem ser induzidas ou inibidas pela dieta. Os locais de expressão de cada enzima nos tecidos humanos determinam o metabolismo e a farmacocinética dos compostos fenólicos ingeridos (SCALBERT & WILLIAMSON, 2000; ZHAO et al., 2004).

A identificação dos metabólitos circulantes na corrente sanguínea é ainda limitada a poucos polifenóis. Os metabólitos absorvidos circulam no organismo, ligados a proteínas plasmáticas, principalmente, albumina. A afinidade com a albumina é variável, de acordo com a estrutura de cada composto fenólico (DANGLES; DUFOUR; BRET, 1999). A concentração de compostos fenólicos e os seus metabólitos acumulados *in vivo* no plasma após ingestão de uma dieta normal é baixa (cerca de 1 mmol/l), quando comparado às substâncias antioxidantes tais como ácido ascórbico, α -tocoferol ou glutathione (KALINOWSKA et al., 2014).

Na microflora intestinal, as enzimas secretadas hidrolisam os glicosídeos não absorvidos, removem os conjugados de suas porções associadas, quebram os fenólicos maiores em moléculas mais simples, tais como os ácidos fenólicos, ou dividem o anel heterocíclico contendo oxigênio (BALASUNDRAM et al., 2006).

Os metabólitos podem seguir duas vias de excreção: biliar ou urinária. A conjugação atua como uma destoxificação metabólica, comum a vários xenobióticos, facilitando a excreção biliar e urinária, pelo aumento do caráter hidrofílico das estruturas. Os metabólitos extensivamente conjugados são preferencialmente eliminados com a bile e passam novamente por ação da β -glicuronidase microbiana, nos segmentos distais do intestino, para serem posteriormente reabsorvidos. Essa reciclagem entero-hepática pode levar a uma permanência prolongada dos compostos fenólicos no organismo após a ingestão. Já os metabólitos pouco conjugados, como os monossulfatos, são preferencialmente excretados na urina (MANACH et al., 2004).

Na extração dos fenólicos nos alimentos, a solubilidade é governada pela polaridade do solvente utilizado, seu grau de polimerização, sua interação com outros constituintes do alimento e formação de complexos insolúveis. Assim, fatores como composição do solvente, tempo e temperatura de extração, relação solvente:amostra, tratamento da amostra, entre outros, tem influência significativa na eficácia de extração, refletindo na maior ou menor recuperação dos compostos fenólicos (LIYANNA-PATHIRANA & SHAHIDI, 2005; NAM et al., 2005).

4.2.1.1 Ácidos fenólicos

Os ácidos fenólicos caracterizam-se pela presença de um anel benzênico, um grupamento carboxílico e pelo menos uma hidroxila e/ou metoxila na molécula (SOARES, 2002). Estes ácidos são divididos em três grupos. O primeiro é composto pelos ácidos benzóicos, que possuem sete átomos de carbono (C6-C1) e são os ácidos fenólicos mais simples encontrados na natureza incluindo p-hydroxibenzenóico, protocatecóico, vanilínico, siríngico e ácido gálico. Geralmente são encontrados na forma ligada e são componentes típicos de estruturas complexas como ligninas e taninos hidrolisáveis; também podem ser encontrados como derivados de açúcares e ácidos orgânicos em plantas destinadas ao consumo humano (LIU, 2007).

O segundo é formado pelos ácidos cinâmicos, que possuem nove átomos de carbono (C6-C3), sendo os ácidos o-cumárico, m-cumárico, p-cumárico, caféico, ferúlico e sináptico os mais comumente encontrados no reino vegetal. Também podem ser encontrados na forma ligada, associadas a estruturas da parede celular como celulose, lignina e proteínas por ligações com ésteres (LIU, 2007). E o terceiro são as cumarinas, derivadas do ácido cinâmico por ciclização da cadeia lateral do ácido o-cumárico (SOARES, 2002).

4.2.1.2 Flavonóides

Os flavonóides são compostos amplamente distribuídos no reino vegetal, respondendo por mais da metade dos oito mil compostos fenólicos que ocorrem naturalmente (BALASUNDRAM et al., 2006). Estão presentes em diversas partes dos vegetais, nas formas de glicosídeos ou agliconas, e ajudam a proteger a planta contra a luz UV, parasitas fúngicos, herbívoros, patógenos e lesão celular oxidativa (IGNAT et al., 2011). De forma geral, são compostos de baixo peso molecular, consistindo em quinze átomos de carbono, organizados na disposição C₆-C₃-C₆. A estrutura química básica dos flavonóides consiste em dois anéis aromáticos (A e B, conforme Figura 3) ligados por três átomos de carbono (difenilpropano) que formam um anel heterocíclico oxigenado (anel C). A substituição desse anel C padrão, resulta em importantes classes de flavonóides, como flavonóis, flavonas, isoflavonas, flavanonas, antocianidinas e flavanóis (catequinas e proantocianidinas) (Figura 4). Substituições nos anéis A e B originam diferentes compostos dentro de cada classe de flavonóides, que podem incluir oxigenação, alquilação, glicosilação, acilação e sulfatação (BALASUNDRAM et al., 2006; HOLLMAN & KATAN, 1999).

Figura 3 – Estrutura química das principais classes de flavonóides

Fonte: BALASUNDRAM et al., 2006.

Para metabolização dos flavonóides, é necessária a remoção do açúcar da molécula por glicosidases. Após a hidrólise, as agliconas passam a ser metabolizadas em vários ácidos aromáticos. Assim, os flavonóis produzem principalmente ácido hidroxifenilacético, enquanto, flavonas e flavanonas, principalmente, ácido hidroxifenilpropiônico. Já os flavanóis geram majoritariamente, fenilvalerolactonas e ácidos hidroxifenilpropiônicos. Esses ácidos são posteriormente metabolizados em derivados do ácido benzóico (MANACH et al., 2004).

Os flavonóides compõem um grupo de antioxidantes potentes, o que lhes permite agir como agentes redutores, doadores de hidrogénio, e supressores de oxigênio singlete (IGNAT et al., 2011). Podem exercer extensivas propriedades biológicas, como a redução do risco de doenças cardiovasculares por meio da ação antioxidante nas lipoproteínas de baixa densidade (LDL) e modesta atividade antiplaquetária e anti-inflamatória (RIQUE et al., 2002). Além disso, eles têm um potencial de metal quelante (IGNAT et al., 2011).

Figura 4 – Estrutura química das principais classes de flavonóides

Fonte: Adaptado de MANACH et al., 2004.

4.2.1.3 Taninos

Os taninos, compostos de peso molecular relativamente elevado, constituem o terceiro grupo mais importante de compostos fenólicos e podem ser subdivididos em taninos hidrolisáveis e condensados (BALASUNDRAM et al., 2006; IGNAT et al., 2011). Os primeiros são os ésteres de ácido gálico (gallo- e ellagi-taninos), enquanto que o último (também conhecido como proantocianidinas) são os polímeros de monômeros

polihidroxiflavan-3-ol. Uma terceira subdivisão, os florotaninos, constituídos inteiramente de floroglucinol, foi isolado a partir de vários gêneros de algas castanhas, mas estes não são significativos na dieta humana (BALASUNDRAM et al., 2006).

As proantocianidinas (taninos condensados) são os flavonóides poliméricos. Embora as vias de biossíntese dos flavonóides para a síntese são bem compreendidos, as etapas que levam à condensação e polimerização não foram elucidadas. Os taninos condensados mais amplamente estudados são baseados em flavan-3-óis (-) - epicatequina e (+) - catequina. Já os taninos hidrolisáveis são derivados do ácido gálico (ácido benzóico-3,4,5-trihidroxil). O ácido gálico é esterificado com um poliol de núcleo, e os grupos galoil pode ainda ser esterificado ou oxidativamente reticulado para se obter taninos hidrolisáveis mais complexos (IGNAT et al., 2011).

Taninos têm diversos efeitos sobre os sistemas biológicos, uma vez que são potenciais agentes quelantes de íons metálicos, agentes de precipitação de proteínas e antioxidantes biológicos. Devido aos variados papéis biológicos que podem desempenhar e à enorme variação estrutural, tem sido difícil desenvolver modelos que permitam uma previsão precisa dos seus efeitos em qualquer sistema (IGNAT et al., 2011).

4.2.2 Atividade antioxidante

O termo radical livre é definido como qualquer átomo ou molécula que apresente um ou mais elétrons desemparelhados em sua órbita externa. Esta configuração faz dos radicais livres moléculas altamente instáveis, de meia-vida curta e quimicamente muito reativas, capazes de reagir com qualquer composto situado próximo à sua órbita externa, passando a ter uma função oxidante ou redutora. São formados durante processos fisiológicos de oxidação, podendo ser produzidos no citoplasma, nas mitocôndrias e nas membranas celulares e seu alvo celular está relacionado com seu local de formação (HALLIWELL & GUTTERIDGE, 2007; MANACH et al., 2004).

Os radicais livres são formados por fontes endógenas, originando-se de processos biológicos que normalmente ocorrem no organismo: redução de flavinas e tióis, como resultado da atividade de oxidases, cicloxigenases, lipoxigenases, desidrogenases e peroxidases; presença de metais de transição no interior da célula, sistemas de transporte de elétrons. Também há fontes exógenas geradoras de radicais livres que incluem tabagismo, poluição do ar, exercício físico intenso, consumo excessivo de álcool, utilização de anestésicos, ingestão de pesticidas e radiações (SOARES, 2002).

Em organismos vivos, as espécies reativas de oxigênio ou radicais livres (radical hidroxila, ânion superóxido e oxigênio singlet) reagem com biomoléculas como proteínas e lipídios. Uma produção exacerbada de radicais livres leva a importantes alterações em nível molecular que estão associadas a danos às macromoléculas biológicas, causando sérias lesões na membrana celular e em seu DNA. Existem indícios de que estes processos estejam fortemente associados à carcinogênese, doenças neurodegenerativas, artrite reumatoide, cataratogênese, doenças cardiovasculares e aos processos degenerativos da idade (MADHUJITH & SHAHIDI, 2005; HALLIWELL & GUTTERIDGE, 2007).

Um efetivo sistema de defesa capaz de neutralizar a ação tóxica dos radicais livres é encontrado no corpo humano. Este sistema inclui enzimas com ação antioxidante, como superóxido dismutase, glutathione peroxidase, glutathione reductase e catalase. O sistema de defesa ainda inclui antioxidantes de alto peso molecular, como albumina e ferritina, e antioxidantes de baixo peso molecular como glutathione e ácido úrico. Alguns nutrientes encontrados em alimentos, como os compostos fenólicos (flavonóides, derivados do ácido cinâmico, cumarinas, tocoferóis e ácidos orgânicos polifuncionais) possuem capacidade antioxidante e atuam como coadjuvantes neste sistema de defesa (ISSA et al., 2006; MENDIS et al., 2005).

Mais de 90% do oxigênio disponível no organismo é consumido pelas mitocôndrias, sendo o principal local de formação de espécies reativas de oxigênio (LERFALL, 2016). A maior parte dos radicais livres é derivada do metabolismo do oxigênio molecular (O_2) utilizado na cadeia respiratória, que ocorre na membrana interna da mitocôndria para a produção de energia (ATP), sendo, portanto, chamados de espécies reativas do metabolismo do oxigênio (ERO).

Durante o processo de obtenção de energia, a enzima citocromo oxidase adiciona 4 elétrons à molécula de oxigênio e a reduz em água, em quatro passos sequenciais que liberam sucessivas espécies reativas como o ânion superóxido ($O_2^{\bullet-}$), o peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e o radical hidroxila ($OH^\bullet$) (VALKO et al., 2006):

O ânion superóxido é formado no organismo principalmente através da cadeia de transporte de elétrons ou por ação de células fagocitárias (neutrófilos, monócitos, macrófagos e eosinófilos) para defesa contra microrganismos invasores na via metabólica catalisada por NADPH oxidase. É formado pela adição de um elétron na molécula de O_2 em seu estado fundamental, podendo gerar outras espécies de maior reatividade, como peróxido de hidrogênio, hidroxila e peroxinitrito (HALLIWELL & GUTTERIDGE, 2007).

Apesar de não ser um radical livre pela ausência de elétrons desemparelhados na última camada, o peróxido de hidrogênio é um metabólito do oxigênio extremamente deletério, pois participa da produção do radical $OH\bullet$. As mitocôndrias são importantes fontes de ânion superóxido, entretanto, a presença deste ânion-radical pode causar sérios danos, sendo necessária à sua conversão a H_2O_2 de modo enzimático pela ação da superóxido dismutase. O peróxido de hidrogênio também pode ser gerado por conversão espontânea resultante da redução bivalente do O_2 na terceira etapa da respiração, que ocorre no interior da mitocôndria (HALLIWELL & GUTTERIDGE, 2007; FERREIRA & MATSUBARA, 1997).

O radical hidroxila ($OH\bullet$) é o mais reativo em sistemas biológicos. Sua formação *in vivo* pode estar relacionada com a decomposição do peroxinitrito, do peróxido de hidrogênio e com reações catalisadas por metais de transição, como o ferro, pela reação de Fenton. Os íons de metais de transição também podem catalisar a reação entre H_2O_2 e ânion superóxido, conduzindo à produção de radical $OH\bullet$ pela chamada Reação de Haber-Weiss (HALLIWELL & GUTTERIDGE, 2007).

Outra fonte endógena de radicais livres são os fagócitos, que destroem células infectadas por bactérias ou vírus liberando oxidantes como óxido nítrico, ânion superóxido e peróxido de hidrogênio (VALKO et al., 2006).

Óxido nítrico ($NO\cdot$) e o peroxinitrito ($ONOO\cdot$) fazem parte das espécies reativas do metabolismo de nitrogênio (ERN). O óxido nítrico é gerado *in vivo* a partir do aminoácido arginina e está relacionado à formação de outras espécies altamente reativas, como o radical hidroxila e o peroxinitrito. Este último por sua vez é também uma espécie potencialmente tóxica e age diretamente sobre moléculas biológicas, podendo ser encontrado na fumaça gerada pela queima do cigarro e de materiais orgânicos (HALLIWELL et al., 1995).

O termo antioxidante refere-se a qualquer substância que, presente em baixas concentrações quando comparada a do substrato oxidável, retarda ou inibe a oxidação deste substrato, impedindo ou diminuindo o estresse oxidativo e o consequente dano celular (HALLIWELL & GUTTERIDGE, 2007).

As características de um bom antioxidante são a presença de substituintes doadores de elétrons ou de hidrogênio ao radical livre em função do seu potencial de redução, a capacidade de deslocamento do radical formado em sua estrutura, a capacidade de quelar metais de transição implicados nos processos oxidativos e acesso ao local de ação dependendo de sua hidrofília ou lipofília e de seu coeficiente de partição (MANACH et al., 2004).

Os antioxidantes são classificados de acordo com seu mecanismo de ação, em duas categorias: os antioxidantes preventivos e os antioxidantes que interrompem a reação oxidativa. Os preventivos como a superóxido dismutase, catalase, peroxidase e a transferrina, inibem a formação dos radicais livres impossibilitando a etapa de iniciação. Os antioxidantes que interrompem a reação oxidativa, também conhecidos como chain-breaking, seqüestram os radicais importantes na etapa de propagação, como alcoxila e peroxila, inibindo esta etapa do processo oxidativo. Os antioxidantes chain-breaking mais conhecidos são as vitaminas C e E, ácido úrico, bilirrubina, compostos fenólicos, entre outros (OU et al., 2001; MATTHÄUS, 2002).

Também é considerada uma terceira classificação de antioxidantes, que são aqueles que reparam as lesões causadas pelas ERO. Esse processo está relacionado com a remoção de danos da molécula de DNA e a reconstituição das membranas celulares danificadas (THOMAS, 2000; VANDENBROUCKE et al., 2001).

Outra classificação divide os antioxidantes em sintéticos e naturais. Os sintéticos são comumente utilizados na indústria alimentícia para aumentar a vida de prateleira dos alimentos. Alguns exemplos de antioxidantes sintéticos: butilhidroxitolueno (BHT), butilhidroxianisol (BHA), propilgalato (PG) e o terciobutilhidroxinona (TBHQ). Estes antioxidantes têm sido associados ao desenvolvimento de alguns tipos de cânceres em ratos quando relacionado com a ingestão. Estes fatos têm levado as indústrias a reduzir ou substituir seu uso por antioxidantes naturais provenientes de alecrim e orégano, por exemplo. (BARREIROS & DAVID, 2006; GUNDUC & EL, 2003; SVILAAS et al., 2004).

Os antioxidantes naturais são aqueles encontrados em frutas, hortaliças, cereais. Entre os principais antioxidantes naturais exógenos conhecidos estão o ácido ascórbico, tocoferóis, carotenóides e compostos fenólicos.

4.2.2.1 Metodologias de avaliação da atividade antioxidante

Os métodos de avaliação da capacidade antioxidante são divididos em ensaios baseados nas reações de transferência de elétron e de átomos de hidrogênio, de acordo com

as reações químicas envolvidas. Os ensaios baseados na transferência de elétrons envolvem uma reação de redução, com o agente oxidante, como indicador da reação final. Os ensaios baseados na transferência de hidrogênio geralmente utilizam um gerador sintético de radicais livres, um agente oxidante (marcador) e um antioxidante doador de átomos de hidrogênio. Devido às particularidades dos métodos, não é possível a comparação entre os resultados dos diferentes ensaios, tanto pela ordem de grandeza quando a atividade antioxidante é expressa, quanto pelo tipo de reação entre o radical livre e o antioxidante (HUANG et al., 2005).

Não existem metodologias universais para a análise da atividade antioxidante, sendo necessária a aplicação de diversas metodologias que possam se complementar e trazer diferentes informações sobre o tipo de antioxidante presente na amostra, de acordo com princípio de reação e condições experimentais.

4.2.2.1.1 DPPH[•] (1,1-difenil-2-picril-hidrazil)

A medida da atividade antioxidante pelo método de DPPH[•] é baseada na reação do radical livre estável, 1,1-difenil-2-picril-hidrazil, com compostos doadores de H⁺. Esta reação promove a descoloração do radical de coloração violeta, atuando no decréscimo da absorbância a 517nm, como pode ser observado na Figura 5 (BRAND-WILLIAMS et al., 1995; BONDET et al., 1997; MOLYNEUX, 2004).

Figura 5 - Reação do radical 1,1-difenil-2-picril-hidrazil (DPPH[•]) com o antioxidante

Fonte: Adaptado de HALLIWELL & GUTTERIDGE, 2007.

É considerada uma metodologia fácil e rápida, além de utilizar um radical estável que pode ser adquirido comercialmente. É comumente empregada na avaliação da atividade

antioxidante de compostos fenólicos, contudo, não pode ser aplicada em ensaios biológicos devido à precipitação de proteínas quando em contato com meio alcoólico (metanol ou etanol utilizado na reação) (BRAND-WILLIAMS et al., 1995).

4.2.2.1.2 Método ORAC (Oxygen radical absorbance capacity)

A análise pelo método ORAC foi baseada no estudo realizado por Glazer (1990) e adaptado por Cao e Prior (1999) e Ou, Hampsch-Woodill e Prior (2001). É uma análise amplamente empregada e avalia a habilidade do antioxidante de proteger a fluoresceína da oxidação pelo radical livre AAPH [2,2'-azobis(2-amidinopropane) dihidroclorídrico]. O AAPH, em contato com o oxigênio, gera radicais peroxil que oxidam o indicador fluorescente, resultando em produtos não fluorescentes. Com o antioxidante presente no meio, proveniente da amostra, os radicais livres irão reagir primeiramente com este antioxidante, doando átomos de hidrogênio. Após o decréscimo da atividade antioxidante, o radical irá reagir com a fluoresceína degradando sua estrutura química e levando à perda da sua conformação inicial. Consequentemente, ocorre a redução da emissão de fluorescência pela fluoresceína (OU et al., 2001).

A utilização da fluoresceína substituiu a ficoeritrina, que foi utilizada inicialmente nos ensaios de ORAC. A ficoeritrina é uma proteína isolada derivada de espécies de algas roxas e cianobactérias, altamente fluorescente, fotosensível e de alto custo; do outro lado, a fluoresceína é um marcador sintético que também emite fluorescência, tem baixo custo em relação à ficoeritrina, é um composto termo e fotoestável e que não reage com compostos antioxidantes da amostra, além de exercer o mesmo mecanismo que a proteína, e até introduzindo sensíveis melhoras na metodologia (OU et al., 2001; PÉREZ-JIMÉNEZ & SAURA-CALIXTO, 2006; HUANG et al., 2005; HUANG et al., 2002).

Uma vantagem na utilização deste ensaio em relação aos demais métodos de análise de atividade antioxidante que utilizam medida de absorbância é o uso da fluorescência como mensurador do dano oxidativo. Com este princípio, compostos pigmentados não influenciam na metodologia. Outra vantagem é a proximidade do tipo de reação com os sistemas biológicos, onde há utilização de temperatura para reação em 37 °C e meio em tampão com pH 7,4, semelhante ao encontrado fisiologicamente.

Também pode-se considerar que é o único método que mede a reação completa, diferentemente das outras metodologias que medem a inibição do radical livre por um antioxidante em um tempo fixo e pontual.

O método de ORAC utiliza a AUC (sigla em inglês de área abaixo da curva) para calcular a capacidade antioxidante das amostras. A vantagem é que esta metodologia pode ser aplicada em amostras que apresentam fase lag distintas e para amostras que não apresentam a fase lag. A fase lag ocorre quando as alterações ainda não foram suficientes para promover mudanças espectrofotométricas visíveis no marcador. A AUC torna este método muito útil na análise dos alimentos, já que estes possuem muitos ingredientes e reações cinéticas complexas (HUANG et al., 2005; HUANG et al., 2002).

4.2.3 Carotenóides

Os carotenóides (Figura 6) são uma classe de pigmentos naturais metabolizados pelas plantas, algas e bactérias fotossintéticas, que são responsáveis pela coloração amarela, laranja e tons de vermelho em várias frutas e legumes (SAINI et al., 2015). São derivados de uma estrutura de base de 40 átomos de carbono numa cadeia de polieno, sendo o caroteno, que engloba α -caroteno, β -caroteno e licopeno, e a xantofila, incluindo luteína e zeaxantina, as duas principais classes dos carotenóides. Estes são uma das mais importantes classes de pigmentos de plantas classificadas como hidrocarbonetos puros (carotenos) e seus derivados oxigenados (xantofilas de hidrocarbonetos) (SINGH et al., 2016). Além da grande variedade de carotenóides na natureza, estes podem ocorrer em diferentes estereoisômeros (E/Z) e isômeros ópticos (R/S) (ELLISON, 2016, LERFALL, 2016).

A diferenciação dos carotenóides é observada pelas modificações nas extremidades da cadeia de polieno. A quantidade de pigmentação depende não só da acumulação de carotenóides na planta, mas também na regulação de genes envolvidos na síntese, degradação e armazenamento destes compostos (ELLISON, 2016).

São compostos lábeis e podem decompor-se quando expostos à luz, oxigênio, alta pressão, ou potencialmente outros componentes químicos. Alguns fatores que afetam a estabilidade durante o processamento de carotenóides são o aumento da temperatura, o tempo de processamento prolongado, altas concentrações de oxigênio e/ou de cloreto de sódio, pró-oxidantes, ranço e alta pressão (LERFALL, 2016).

Em plantas, os carotenóides têm um papel crítico na foto proteção, captura de luz, produção do ácido abscísico (ABA) e estrigolactona, além de atrair polinizadores. O ácido abscísico mede a resposta da planta em relação ao stress ambiental, normalmente através do controle da abertura dos estômatos e transpiração durante a alta salinidade, temperatura ou a exposição à luz, bem como na seca, e pode induzir muitos produtos de genes relacionados com o stress. Além disso, o ácido abscísico promove vários processos de

desenvolvimento, incluindo a dormência das sementes, germinação, e maturação e a transição entre o crescimento vegetativo e reprodutivo (ELLISON, 2016).

Figura 6 – Estrutura química dos carotenóides mais encontrados na alimentação humana

Fonte: adaptado de ELLISON, S.L., 2016.

O tipo e a disponibilidade de carotenóides em frutas e vegetais podem ser previstos pela cor, como nos vegetais e frutas amarelo-laranjados que são geralmente ricos em β -caroteno e o α -caroteno. α -criptoxantina e zeinoxantina podem ser encontrados em frutos de cor laranja, como tangerina, laranja e mamão. Da mesma forma, pigmentos de licopeno (responsável pela cor vermelha brilhante) são os principais constituintes de tomates e derivados. A luteína (aproximadamente 45%) e β -caroteno (25-30%), seguido por violaxantina (10-15%), e neoxantina (10-15%) são as formas predominantes de carotenóides em vegetais de folhas verdes, ainda que a concentração absoluta de cada um dos carotenóides varia consideravelmente entre os diferentes vegetais. Na maioria das frutas e legumes, o β -

caroteno é geralmente predominar em comparação com o seu isômero geométrico α -caroteno. Teores significativos de α -caroteno pode ser encontrado em um número limitado de frutas e hortaliças, como batata doce, cenoura, abóbora e vegetais verdes escuros, como feijão verde, espinafre e brócolis (SAINI et al., 2015).

Mais de 700 carotenóides naturais foram identificadas a partir de plantas, animais, fungos e microrganismos e cerca de 50 possuem atividade pró-vitamina A, que é a capacidade dos carotenóides de formar vitamina A (retinol e retinal) por ação de enzimas caroteno-dioxigenases. Dentre os carotenóides que possuem atividade pró-vitamina A, incluem β -caroteno, α -caroteno, γ -caroteno e β -criptoxantina (SAINI et al., 2015).

No organismo humano, a conversão de β -caroteno em vitamina A ocorre no intestino e em outros tecidos. Assim, depois da ingestão, tanto β -caroteno e o seu metabólito de retinol podem ser encontrados intactos na circulação. A conversão de β -caroteno em vitamina A ocorre supostamente por duas vias possíveis: a via central de clivagem, que produz duas moléculas de retinal e pela via alternativa, onde uma molécula da retinal pode ser produzida depois da oxidação por etapas do β -caroteno, começando em qualquer uma das duplas ligações na cadeia de polieno conjugado (LERFALL, 2016).

Na nutrição humana, os carotenóides são as principais fontes de retinol, além de possuir funções fisiológicas únicas como atividade pró-vitamina A e papel importante como agente antioxidante (MONEGO et al., 2017; SINGH et al., 2016). Estes têm sido amplamente estudados quanto ao seu papel na redução de desenvolvimento de vários distúrbios causados pelo stress oxidativo, em particular alguns tipos de cancro, doenças cardiovasculares e doenças oftalmológicas (MONEGO et al., 2017; SINGH et al., 2016). A atividade biológica dos carotenóides é avaliada pela sua conversão em equivalentes de retinol (RE; 1 RE = 1 μ g de retinol) (SAINI et al., 2015).

Além disso, os carotenóides são capazes de interagir quimicamente com radicais livres *in vivo* por diversos mecanismos diferentes. Os mais importantes são a transferência de elétrons, abstração do átomo de hidrogênio pelo radical, e a adição do radical ao carotenoide para formação de aduto (MONEGO et al., 2017).

A biodisponibilidade de carotenóides é afetada por vários fatores. Devido à sua característica de lipofilicidade, os carotenóides são liberados após digestão do alimento cozido e formam micelas mistas, que são, posteriormente, absorvidos. Sua distribuição no plasma é responsabilidade das lipoproteínas; β -caroteno e licopeno são transportados principalmente por lipoproteínas de baixa densidade (LDL), enquanto que os mais polares, luteína e de zeaxantina, são carregadas por lipoproteínas de alta densidade (HDL)

(GRIFFITHS, 2016). Diferentes carotenóides têm diferentes níveis de atividade de vitamina A, dependendo da eficiência da sua absorção e a taxa de sua conversão em vitamina A (SCHÖNFELDT et al., 2016).

4.2.4 Vitamina C

A vitamina C é um nutriente essencial para a dieta humana com efeitos benéficos para a saúde, devido à sua função defensiva primária de neutralizador de radicais livres de espécies reativas de oxigênio e nitrogênio (RUIZ et al., 2016). O corpo humano é incapaz de sintetizar a vitamina C, devido à falta da enzima L-gulonolactone oxidase, uma enzima terminal na via biossintética de ácido ascórbico (DAUD et al., 2016; LEONG & OEY, 2012). Assim, é necessário que seja obtida através da alimentação, sendo encontrada principalmente nas frutas e vegetais (RUIZ et al., 2016).

Existe uma grande variedade de alimentos que contêm vitamina C. Hoje, sabe-se que as melhores fontes de vitamina C são as frutas cítricas, como laranja e seus sucos. Uma grande variedade de outros alimentos também contêm quantidades suficientes de vitamina C, como abacaxi, pimentão, brócolis, couve, couve-flor, groselhas negras (NOJAVAN et al., 2008) e acerola.

Nas plantas, a forma ativa da vitamina C é chamado de ácido L-ascórbico (L-AA, $C_6H_8O_6$). O termo vitamina C refere-se a todos os compostos que possuem atividade biológica equivalente ao L-AA, incluindo os seus produtos da oxidação (ácido dehidroascórbico, DHAA), isômeros (ácido isoascórbico, IAA), ésteres (palmitato de ascorbilo), e formas sintéticas (6- desoxi-L-AA, 2-fosfato de L-AA). L-AA é rapidamente oxidado para DHAA, e sua oxidação pode ser induzida pela exposição a altas temperaturas e pH, luz, a presença de oxigênio ou de metais (Fe^{3+} , Ag^+ , Cu^{2+}) e ação enzimática (SPÍNOLA et al., 2014). Na Figura 7 observa-se as estruturas moleculares do ácido ascórbico e do ácido deidroascórbico.

DHAA exibe uma atividade biológica equivalente ao L-AA, por isso, é importante avaliar ambas as concentrações para saber o total de ácido ascórbico (TAA) ou conteúdo total de vitamina C nos gêneros alimentícios. O equilíbrio entre a L-AA e DHAA depende da pré-colheita da amostra (origem, práticas de cultivo, estágio de maturidade) e condições pós-colheita (de movimentação e armazenagem de amostras) (SPÍNOLA et al., 2014).

Figura 7 – Estrutura química do ácido ascórbico e ácido deidroascórbico

Fonte: TORALLES et al., 2008.

É uma das mais importantes vitaminas solúveis em água para a saúde humana, conhecidos pela sua elevada atividade antioxidante. Participa em muitas funções bioquímicas, tais como a síntese de colágeno e hormônios (co-fator de enzima), a neutralização de radicais livres resultantes do metabolismo celular (antioxidante) e como substrato para a biossíntese do oxalato e tartarato (LEONG & OEY, 2012). Ela impede a aparência de envelhecimento, formação de catarata, aterosclerose, câncer e doenças cardiovasculares (SPÍNOLA et al., 2014).

A vitamina C ajuda a prevenir contra o escorbuto, caracterizada por alterações gengivais, dor nas extremidades e manifestações hemorrágicas que conduzem à morte (DAUD et al., 2016), além de reduzir o risco de cânceres e doenças cardiovasculares, e aumentar a absorção de ferro para prevenir a anemia (LEONG & OEY, 2012). Na absorção do ferro, a vitamina C ajuda a aumentar a absorção intestinal do ferro não-heme, reduzindo-o para uma forma mais absorvível (DAUD et al., 2016).

O processo de cicatrização de feridas também depende fortemente da suficiência alimentar, especialmente de vitamina C. O ácido ascórbico desempenha um papel importante em todas as fases de cicatrização de feridas. Durante a fase inflamatória (respostas naturais do organismo à lesão), a vitamina C é necessária para a apoptose e recarga de neutrófilos, bem como para neutralizar radicais livres formados como parte do processo de limpeza. À medida que o ferimento progride para a fase de proliferação (o ferimento é reconstruído com novos tecidos de granulação compreendendo colágeno e matriz extracelular), a vitamina C é necessária como um co-fator para a síntese de tecidos de colágeno. Enquanto isso, durante a fase de maturação (remodelação do colágeno de Tipo III para I, que ocorreu após o fechamento do ferimento), é necessária a vitamina C para manter a integridade da produção de colágeno e formação de cicatriz (DAUD et al., 2016).

Tradicionalmente a vitamina C tem sido reivindicada como sendo úteis na prevenção e no tratamento de gripes e resfriados. Apesar do grande número de publicações sobre este aspecto, as evidências científicas para apoiar a utilização de suplementos de vitamina C para reduzir a incidência e a duração da gripe é relativamente fraca (DAUD et al., 2016).

O ácido ascórbico também é frequentemente adicionado a produtos processados que contenham frutas e vegetais, seja para enriquecimento ou fortificação, ou como antioxidante e anti-escurecimento para proteger outros nutrientes (como compostos fenólicos) da oxidação (RUIZ et al., 2016).

4.3 Radiação ionizante

A irradiação é um processo de exposição dos produtos a energias radiantes como os raios gama emitidos por radioisótopos ^{60}Co (mais comum, com energia de 1,17 e 1,33 MeV) e ^{137}Cs (com energia de 0,662 MeV), feixes de elétrons (produzidos em acelerador de partículas, como um acelerador linear – Linac – ou um gerador de Van de Graaff - com velocidade próxima a da luz) com energia cinética de até 10 MeV e raios X provenientes de máquinas que trabalham com energia de até 5 MeV (ARVANITOYANNIS, 2010; KOMOLPRASERT & MOREHOUSE, 2004). A radiação é uma forma de energia que atravessa o espaço em um padrão de ondas e pode ocorrer naturalmente (produzida pelo sol ou minérios) ou produzida por equipamentos eletrônicos (microndas e televisores). A frequência ou comprimento de onda de energia produzidas por diferentes fontes distinguem o tipo e funcionalidade da radiação; radiação de alta frequência de raios UV, X e gama geram riscos significativos para a saúde humana (ARVANITOYANNIS, 2010).

O princípio da radiação explica como os raios gama, feixes de elétrons e raios X interagem com a matéria; quando a radiação ionizante atravessa a matéria, a energia é perdida (a energia é absorvida pela matéria). Esta energia (ou dose) absorvida resulta na formação de elétrons energizados que aleatoriamente circundam a matéria, o que causa a ionização ou excitação dos átomos e moléculas (íons moleculares energéticos). Estes íons podem estar sujeitos a captura de elétrons e dissociação, assim como a um rápido rearranjo entre reações íon-molécula, ou podem dissociar-se dependendo da complexidade do íon molecular (KOMOLPRASERT & MOREHOUSE, 2004; PATIL, 2004).

Efeitos da radiação na matéria dependem do tipo de radiação e seu nível de energia, assim como da composição, estado físico, temperatura e ambiente atmosférico do material a ser irradiado. A mudança química na matéria pode ocorrer primeiramente por

efeito da radiólise, que ocorre como resultado da adsorção da energia pela matéria absorvente, ou por efeitos secundários, que ocorrem como resultado da alta reatividade dos radicais livres e íons excitados produzidos como resultado dos efeitos primários. Estas altas reatividades intermediárias podem desencadear uma variedade de reações que levam a produtos estáveis. Em geral, são estes produtos que são detectados e chamados de produtos da radiólise. Para os seres vivos, estas alterações químicas podem, em última análise, ter consequências biológicas em casos de irradiação de organismos vivos (KOMOLPRASERT & MOREHOUSE, 2004).

As radiações eletromagnéticas dos raios gama (^{60}Co) e raios X (5 MeV) apresentam boa capacidade de penetração, enquanto que os feixes de elétrons (10 MeV) apresentam baixa difusibilidade. Entretanto, nenhuma destas fontes de energia induzem radioatividade no alimento ou em sua embalagem. A unidade da quantidade de energia absorvida (dose) é medido em gray (Gy), de acordo com o Sistema Internacional de Unidades, e equivale a 1J/kg de energia absorvida (FARKAS & MOHÁCSI-FARKAS, 2011; PATIL, 2004).

4.3.1 Processo de irradiação

Qualquer instalação de processamento utilizando radiação, dentro do território nacional, deve operar de acordo com o padrão de segurança estabelecido e com devidas autorizações fornecidas pela Comissão Nacional de Energia Nuclear (CNEN). Estas instalações precisam ser licenciadas, regulamentadas e inspecionadas pelas autoridades nacionais de segurança radiológica e de saúde (GHOBIL, 2008). E isso se aplica a qualquer instalação de utilização de feixes de elétrons, raios gama ou raios X.

O processo de irradiação envolve a exposição do material à radiação ionizante, que, no caso de irradiação por raios gama, comumente utiliza-se o ^{60}Co como fonte de energia. A vantagem desta fonte é o seu alto poder de penetração e boa uniformidade de dose, além de estar comercialmente disponível e possuir baixo risco ambiental (decaimento do ^{60}Co em níquel não radioativo). Porém, apresenta meia-vida de 5,261 anos, devendo ser repostado anualmente 12,34% da fonte para manter o potencial original (CALVO, 2005; LEONEL, 2008).

A irradiação é realizada em instalações chamadas irradiadores (Figura 8 e 9), que possuem capacidade de processar materiais e consistem em uma fonte de ^{60}Co instalada em um “*bunker*”, ou seja, em uma câmara de irradiação cujas paredes são blindagens em concreto e possuem aproximadamente dois metros de espessura (o que assegura que a

radiação ionizante não escape para fora da sala). No caso de reparos na instalação ou quando não está em operação, a fonte fica armazenada em uma piscina blindada (poço) com água deionizada (Figura 10), localizado abaixo da área de processamento; a água é uma das blindagens mais apropriadas contra esse tipo de radiação, levando em conta os aspectos tecnológicos e econômicos, pois absorve a energia e protege os trabalhadores da exposição à radiação (LIMA FILHO et al., 2012; MODANEZ, 2012; SILVA, 2011; GHOBIL, 2008).

Figura 8 – Estrutura de Irradiador de ^{60}Co , categoria IV (IAEA)

Fonte: Adaptado de SPOTO, M.H.F., [s.d.].

Quando o irradiador está em funcionamento, ocorre a elevação da fonte e os produtos a serem irradiados, embalados ou a granel, são transportados manualmente ou automaticamente (através de monotrilha ou esteira automática) para o interior da câmara de irradiação, onde recebem a dose programada de radiação. Operadores qualificados (treinados pela CNEN) controlam e monitoram a fonte de ^{60}Co e o tratamento dos produtos, através de um console situado fora da câmara de irradiação (SILVA, 2011).

Além do irradiador mostrado na Figura 8, outros tipos de irradiadores como o gamma cell, ou máquinas elétricas como aceleradores de elétrons podem ser empregados.

Figura 9 – Irradiador Multipropósito do Centro de Tecnologia das Radiações (CTR), IPEN /CNEN – SP.

Fonte: IPEN, 2016.

Figura 10 – Fonte selada de radiação gama de um irradiador (radioisótopo).

Fonte: MODANEZ, L., 2012.

O conhecimento exato da dose administrada aos materiais é essencial. A medida da dose absorvida (dosimetria) requer o uso de dosímetros (Figura 11) e de um sistema de dosimetria que fornece uma resposta química ou física bem definida e que pode ser medida e relacionada com a dose absorvida através da curva de calibração do sistema (ROBERTS, 2016). No caso de dosímetros de cloreto de polivinila (PVC), estes são impregnados com

corantes e, de acordo com a dose recebida, o cloreto de hidrogênio é liberado do PVC, produzindo uma alteração qualitativa ou quantitativa na coloração do corante.

Figura 11 – Dosímetros de polimetilmetacrilato (PMMA) que variam de cor de acordo com a dose de radiação aplicada.

Dosímetros	Faixa de Dose (kGy)	Comprimento de onda (nm)	Incerteza (%)	Espessura nominal (mm)
Red Perspex	5 - 50	640	± 2,0	3,0
Amber	1 - 30	603 e 651	± 2,5	3,0
Gammachrome	0,1 – 3,0	530	± 3,0	1,7

Fonte – Adaptado de CALVO, W.A.P., 2005; HARWELL, 2014 e KOVÁCS, A., [s.d.].

4.3.2 Irradiação de alimentos

A irradiação de alimentos é um processo físico de tratamento que consiste em submeter o alimento, já embalado ou a granel, a doses controladas de radiação ionizante, com finalidades sanitária, fitossanitária e ou tecnológica (BRASIL^b, 2001). Em vários países, o uso da irradiação é limitada à vegetais desidratados, ervas, pimentas e temperos, para redução da carga microbiana. É um processo altamente eficaz contra a maioria dos patógenos relacionados com o produto e oferece benefícios por ser capaz de atingir os poros internos e fissuras onde os patógenos podem se alocar, longe do alcance de métodos de higienização tradicionais. Também, por ser a frio, o tratamento mantém as características de frescor do produto (PRAKASH, 2016).

A estabilidade da temperatura do produto é uma das vantagens da utilização do tratamento por radiação. Praticamente não há aumento da temperatura quando há a aplicação da radiação, permitindo a utilização de embalagens que não suportam aquecimento. Assim, o tratamento pode ser aplicado também após a embalagem, evitando a recontaminação ou reinfestação do produto (FARKAS & MOHÁCSI-FARKAS, 2011). Essas embalagens devem ser fabricadas em material que mantém a integridade dos alimentos, não ocasionando a difusão de quaisquer materiais tóxicos, durante ou depois do processo (ROBERTS, 2016).

A aplicação apropriada da irradiação pode ser efetiva na eliminação e/ou redução de microrganismos patogênicos e deteriorantes e infestação de insetos, reduzindo os riscos de doenças transmitidas por alimentos (MODANEZ, 2012). Surtos relacionados a produtos *in natura* têm aumentado significativamente nos últimos anos, com enormes custos para a vida humana, produtividade e economia, na qual grande parte é devido ao fato de que muitos destes produtos são consumidos crus ou não são submetidos a tratamentos eficientes para a eliminação de patógenos (PRAKASH, 2016).

Com relação às doses geralmente aplicadas em alimentos, podem ser classificadas em 3 níveis de irradiação conforme a necessidade (CGEE, [s.d.]; LIMA FILHO et al., 2012):

- Doses baixas, de até 1 kGy, também chamado de radurização. São doses ionizantes que reduzem sensivelmente a carga microbiana sem que haja alteração do produto;
- Doses médias ou intermediárias, de 1 kGy a 10 kGy, também chamado de radicidação ou radiopasteurização;
- Doses elevadas, acima de 10 kGy, também chamado de radapertização ou esterilização comercial. São doses de radiação suficientes para eliminar todos os microrganismos vivos de forma que não possam ser detectados por nenhum método microbiológico.

Na Tabela 5 encontram-se algumas alimentos e doses médias geralmente aplicadas, com suas respectivas funções.

Em relação aos microrganismos presentes nos alimentos, a irradiação produz efeitos reativos que alteram a estrutura da membrana celular dos patógenos de forma imediata, afetando a atividade de enzimas metabólicas. Entretanto, o efeito mais significativo ocorre no ácido desoxirribonucleico (DNA) e nas moléculas de ácido ribonucleico no núcleo das células, fundamentais para o crescimento e reprodução dos microrganismos (FELLOWS, 2006; LIMA FILHO et al., 2012).

Entretanto, quanto menor e mais simples o microrganismo, maior é a dose necessária de irradiação para sua eliminação. Esporos e bactérias produtoras de esporos, como o *Clostridium botulinum* e o *Bacillus cereus*, e algumas espécies que são capazes de reparar rapidamente o DNA danificado são geralmente mais resistentes à irradiação do que células vegetativas e bactérias não produtoras de esporos; bactérias Gram-negativas são mais sensíveis do que as Gram-positivas (FELLOWS, 2006; FRANCO & LANDGRAF, 2008; LIMA FILHO et al., 2012).

Tabela 5 – Classificação dos níveis de doses em alimentos, suas funções e doses médias utilizadas.

Nível de dose	Função	Dose (kGy)	Produtos Irrradiados
Doses baixas (até 1 kGy)	Inibir a germinação	0,05 - 0,15	Batatas, cebolas, alho, raiz de gengibre e outros
	Eliminar insetos e parasitas	0,15 - 0,50	Cereais e legumes, frutas frescas e secas, pescados e carnes frescas e secas, carne de porco fresca
	Atrasar processos fisiológicos	0,50 - 1,00	Frutas e hortaliças frescas
Doses médias (1 a 10 kGy)	Prolongar tempo de conservação	1,00 - 3,00	Pescado Fresco
	Eliminar microorganismos de decomposição e patógenos	1,00 - 7,00	Mariscos frescos e congelados, aves, carne crua ou congelada
	Melhorar as propriedades tecnológicas do alimento	2,00 - 7,00	Uvas (aumentando a produção de sumo), verduras desidratadas (diminui o tempo de cocção)
Dose elevada (acima de 10 kGy)	Descontaminar certos aditivos alimentares e ingredientes	10,00 - 50,00	Especiarias, preparações enzimáticas
	Esterilização industrial (juntamente com o calor suave)	30,00 - 50,00	Carne, aves, mariscos, alimentos preparados, dietas hospitalares esterilizadas

Fonte: CGEE, [s.d.].

A eficiência do tratamento depende de vários fatores como o número de microrganismos (quanto maior a quantidade presente no alimento maior será a dose de radiação exigida); a composição do alimento; a presença ou ausência de oxigênio; estado físico dos alimentos; a condição do microrganismo e a radiorresistência do microrganismo, na qual geralmente quanto maior/mais complexo o DNA, maior a sensibilidade dos microrganismos à radiação (FRANCO & LANDGRAF, 2008; LIMA FILHO et al., 2012).

No entanto, a radiação ionizante proporciona, além da segurança no consumo de muitos alimentos, o prolongamento da vida de prateleira, retardando ou cessando processos biológicos naturais como amadurecimento, germinação ou brotamento nos alimentos (MODANEZ, 2012). Neste caso, funções estruturais e metabólicas das células são paralisadas, ocorrendo a inibição da produção de hormônios e a interrupção dos processos bioquímicos de divisão e crescimento celular, o que afeta a sua reprodução e, consequentemente, os processos celulares que levam ao brotamento e amadurecimento (LEONEL, 2008; FELLOWS, 2006). No entanto, no caso do retardo do amadurecimento dos alimentos, estes devem estar maduros antes da irradiação, pois o amadurecimento é cessado após o processamento (FELLOWS, 2006).

Porém, vale lembrar que a técnica de irradiação não é adequada para todo tipo de alimento e da mesma forma que outros métodos de conservação de alimentos, a tecnologia de irradiação não permite a inversão do processo; jamais um alimento com sujidades ou deteriorado se tornará próprio para o consumo (MODANEZ, 2012). Também não pode substituir os agrotóxicos utilizados no campo, mas pode, por exemplo, substituir o uso de aditivos químicos em alimentos e também dos produtos químicos usados para a desinfecção de frutas (SILVA, 2011). E, da mesma forma, não dispensa as boas práticas de manuseio e fabricação.

Já houveram tentativas locais de irradiar frutas em escala comercial em duas empresas brasileiras. Uma das empresas localizava-se perto de um dos mercados atacadistas das Centrais Estaduais de Abastecimento (CEASA), o que representou uma falha estratégica, pois as frutas já chegavam parcialmente degradadas para serem irradiadas. Para minimizar as perdas pós-colheita, as unidades de irradiação devem ser instaladas próximo a centros produtores de frutas (PEROZZI, 2007).

Cerca de 60 países aprovaram e regulamentaram o uso da irradiação em pelo menos um alimento ou classe de alimentos (ROBERTS, 2016). Na Figura 12 estão demonstrados alguns países que utilizam a irradiação para uso comercial em alimentos (marcados com bandeiras pretas) ou que aprovam o uso da irradiação (bandeiras amarelas).

O grande número de países que permitem o uso da radiação em alimentos demonstra que é um processo vantajoso, trazendo diversos benefícios como os principais listados a seguir (CGEE, [s.d.]; FELLOWS, 2006; HALLMAN, 2016):

- Pouco ou nenhum aquecimento do alimento;
- Irradiação de alimentos já embalados e/ou congelados;
- Manutenção das características físico-químicas dos alimentos;
- Redução de perdas pós-colheita (perda de produtos agrícolas pelo amadurecimento, germinação, ou crescimento prematuros e redução ou até mesmo eliminação de organismos prejudiciais às plantas e produtos vegetais);
- Desinfestação de vegetais frescos e de produtos armazenados;
- Prorrogação/aumento do prazo de validade dos alimentos, tais como frutas, frutos secos, especiarias, vegetais, produtos cárneos e pescados;
- Redução dos microrganismos responsáveis pela deterioração;
- Eliminação de microrganismos causadores de doenças (redução do risco de doenças de origem alimentar pela destruição de microrganismos patogênicos).

Figura 12 – Países onde a irradiação de alimentos é aprovada (marcações em amarelo) e onde é permitida para uso comercial (marcações em preto).

Fonte: Adaptado de CCR, 2006.

4.3.2.1 História da irradiação de alimentos

A radiação ionizante, em suas diversas formas, foi descoberta em 1895/1896 por Röntgen e Becquerel. Röntgen observou que algumas emissões dos tubos de Crookes

(formados por tubos de vidros selados e eletrodos) tinham a capacidade de viajar distâncias significativas e, mesmo atravessando alguns obstáculos, formavam imagens em placas fotográficas; chamou estas emissões de radiação X (BEREJKA et. al., 2014; LIMA et al., 2009). Becquerel realizou experimentos semelhantes ao de Röntgen, onde pôde observar que as emissões dos sais de urânio também podiam viajar distâncias através da matéria; tais materiais foram descritos como sendo radioativos (BEREJKA et. al., 2014; EHLERMANN, 2016). Ao mesmo tempo, foi proposto o uso da radiação ionizante como forma de eliminação de microrganismos em alimentos por F. Minsch; e, posteriormente, S. C. Prescott sugeriu que este novo tipo de radiação poderia ter efeito bactericida (ANDRESS, 2001; EHLERMANN, 2016; BEREJKA et. al., 2014).

Na Tabela 6, é apresentada uma descrição de acontecimentos importantes na história da irradiação de alimentos em ordem cronológica.

Em 1905, J. Appleby e A. J. Banks conseguiram uma patente britânica para sua invenção, que tinha como objetivo “trazer melhoria na condição dos gêneros alimentícios” e “na manutenção geral da qualidade”. Foi proposto o uso da radiação α , β ou γ , provenientes de substâncias como o rádio ou outros elementos radioativos, em alimentos, sendo inicialmente testado em cereais. A patente enfatizaria ainda “a enorme vantagem em relação a ausência do uso direto ou emprego de compostos químicos” (DIEHL, 2002). Esta foi a primeira proposta de um processo contínuo adequado para o processamento industrial; o princípio desta abordagem, muito mais tarde, foi usado para irradiação em larga escala de grãos para eliminação de insetos (EHLERMANN, 2016).

Durante a primeira metade do século 20, a irradiação de alimentos foi um assunto estritamente acadêmico. O avanço na área ocorreu somente após 1953, na qual o discurso chamado de “*Atoms for Peace*” (FISCHER, 1997; IAEA, 2014), realizado pelo então presidente dos Estados Unidos Dwight D. Eisenhower, na Assembléia Geral das Nações Unidas, promoveu o incentivo a expansão da pesquisa nuclear fora da área militar, o que incluía a irradiação de alimentos. Além disso, Eisenhower propôs a criação de uma agência que promoveria o uso pacífico da energia nuclear, fato este que daria início à criação do IAEA. Este discurso serviu de modelo para vários outros países inaugurarem programas similares, levando também à cooperação internacional, que resolveria a questão sobre a segurança dos alimentos irradiados (EHLERMANN, 2016; FISCHER, 1997; IAEA, 2014).

Tabela 6 – Importantes acontecimentos na história da irradiação de alimentos.

ANO	DESCRIÇÃO
1895	Descoberta do raio X por Wilhelm Conrad Röntgen (Prêmio Nobel de Física, em 1901)
1896	Descoberta da radioatividade natural por Antoine Henri Becquerel (Prêmio Nobel de Física em 1903, juntamente com Pierre Curie e Marie Curie); Proposta de uso terapêutico por Minck
1904	Descrição dos efeitos bactericidas por Samuel Prescott (Massachusetts Institute of Technology, MIT)
1905	Patentes americana e inglesa são obtidas com o propósito de eliminar bactérias em alimentos com radiação ionizante
1906	J. Appleby & A. J. Banks: patente inglesa para utilização de isótopos radioativos para irradiação de alimentos particulados
1918	Gillett: patente americana para utilização do raio X na preservação de alimentos
1921	B. Schwartz, pesquisador do <i>United States Department of Agriculture</i> (USDA), publicou estudos sobre o efeito letal dos raios X em <i>Trichinella spiralis</i> em carne de porco
1930	Wuest: patente francesa para irradiação de alimentos
1940-1950	Governo americano, indústrias privadas e universidades conduziram pesquisas sobre irradiação de alimentos
1943	Preservação de carne moída pela exposição aos raios-X demonstrou ser viável
1950	<i>U.S. Atomic Energy Commission</i> iniciou programa para utilização de radioisótopos na preservação de alimentos; Inglaterra e Europa iniciaram seus programas de irradiação de alimentos
1953	Dwight D. Eisenhower: discurso na Assembléia Geral das Nações Unidas chamado de “ <i>Atoms for Peace</i> ”, que também propôs a criação do IAEA
1958	Primeira irradiação de alimento (pimenta) com objetivo comercial no mundo em Stuttgart, na Alemanha; <i>U.S. Federal Food, Drug and Cosmetic Act</i> é alterado, legalmente definindo radiação ionizante como aditivo alimentar em vez de um processo; USSR aprovam irradiação para batatas e grãos
1960	Canadá aprova irradiação para batatas
1963	<i>Food and Drug Administration</i> (FDA) aprova a irradiação como ferramenta para desinfestação de insetos em trigo
1964	FDA aprova a irradiação para inibir brotamento em batatas
1965	FDA aprova a irradiação para prolongar o <i>shelf life</i> de batatas
1966	Primeiro Simpósio internacional sobre irradiação de alimentos foi realizado em Karlsruhe, Alemanha

ANO	DESCRIÇÃO
1968	FDA e USDA cancelam a aprovação para irradiação de bacon concedido em 1963
1973	Japão: inibição de brotamento em batatas, que vigora até hoje
1976	<i>Joint FAO/IAEA/WHO Expert Committee on the Wholesomeness and Safety of Food Irradiation</i> aprova vários alimentos irradiados e recomenda que a irradiação de alimentos seja classificada com um processo físico
1980	<i>Joint FAO/IAEA/WHO Expert Committee</i> conclui que alimentos irradiados com dose média de até 10 kGy não apresentam risco de toxicidade
1983	FDA e Canadá aprovam a irradiação para desinfestação de insetos em pimentas e temperos vegetais secos (38 commodities); Normas Gerais do <i>Codex Alimentarius</i> para alimentos irradiados: qualquer alimento até uma dose média de 10 kGy
1985	FDA aprova a irradiação como forma de controle da <i>Trichinella spiralis</i> in carne de porco e para desinfestação de preparação de enzimas secas
1986	FDA aprova a irradiação para retardar a maturação (amadurecimento) de algumas frutas e vegetais e para descontaminar as preparações de enzimas secas ou desidratadas
1990	FDA aprova a irradiação como controle de patógenos como a <i>Salmonella</i> em aves frescas e congeladas
1997 (FDA) e 1999 (USDA)	Aprovação da irradiação para controle de patógenos em carnes frescas e congeladas (carne bovina, de cordeiro e de porco)
2000	Irradiador de grãos Odessa
2003	Normas Gerais do <i>Codex Alimentarius</i> para alimentos irradiados: não há limite superior de dose

Fonte: ANDRESS, E.L., 2001; EHLERMANN, D.A.E., 2016 e FISCHER, D., 1997.

Na década de 1950, isótopos radioativos como ^{60}Co e ^{137}Cs se tornaram disponíveis em quantidade suficiente como fonte de radiação para utilização em indústrias. No mesmo período, aceleradores de partículas se tornaram disponíveis e sua primeira aplicação em alimentos foi com pimentas (1958) em Stuttgart, na Alemanha, porém, esta abordagem se tornou obsoleta logo em seguida, com o banimento de qualquer alimento irradiado na Alemanha. Até esta data, a irradiação de alimentos não era regulamentada em toda Europa. Com o incentivo americano ao uso da irradiação, inclusive em alimentos, iniciou-se então o aprofundamento das pesquisas e cooperações internacionais, particularmente após a Segunda Guerra Mundial (EHLERMANN, 2016).

Em um fato curioso nos Estados Unidos, em 1958, o *Federal Food, Drug, and Cosmetic Act* (FD&C Act) passou por uma alteração e classificou a irradiação de alimentos como um aditivo alimentar; seguindo esta linha de raciocínio, o FDA também regulamentou a irradiação de alimentos como um aditivo alimentar, ao invés de classificá-la como um processo. O Congresso americano definiu explicitamente uma fonte de radiação como um aditivo alimentar ao afirmar que "fontes de radiação (incluindo isótopos radioativos, aceleradores de partículas, e máquinas de raios X) para uso em processamento de alimentos estão incluídos no termo 'aditivo alimentar', como definido na legislação". Para esclarecimento, o estatuto não definia a forma de energia ou o processo como um aditivo, mas sim o equipamento utilizado para irradiar a comida, pois poderia afetar as características do alimento (MOREHOUSE & KOMOLPRASERT, 2004).

A partir disso, muitos países aprovaram o uso da irradiação em alguns alimentos, dando início a uma série de regulamentos e concessões. A primeira aprovação para irradiação comercial de alimentos nos Estados Unidos foi concedida pelo FDA em 1963, como resultado de uma petição para controle de infestação de insetos em processamento de trigo e subprodutos (NORDION, 2011).

Programas específicos de pesquisa e projetos internacionais apoiados por agências especializadas das Nações Unidas, como a FAO, IAEA e *World Health Organization* (WHO), se tornam importantes alicerces no progresso da área. O mais importante e vasto projeto internacional cooperativo foi chamado de *International Project in the Field of Food Irradiation* (IFIP, Karlsruhe), que contou com mais de 24 países envolvidos entre 1970 e 1982 (FARKAS & MOHÁCSI-FARKAS, 2011). Este projeto envolveu o estudo de alterações químicas nos alimentos irradiados com doses de até 10 kGy, testes de triagem de curta duração e estudos de alimentação animal de longa duração em uma ampla gama de alimentos irradiados, como carne, peixe, frutas, especiarias, trigo e arroz (DIEHL, 2002; NORDION, 2011).

A aliança entre FAO/IAEA/WHO gerou um grupo especialista internacional chamado *Joint FAO/IAEA/WHO Expert Committee on the Wholesomeness of Irradiated Food* (JECFI), que avaliavam periodicamente os resultados do IFIP. Reuniões foram convocadas nos anos de 1970, 1976 e 1980, e, nesta última reunião, o JECFI decisivamente afirmou que a irradiação de qualquer alimento (comodities) com dose média de até 10 kGy não apresenta risco de toxicidade e problemas microbiológicos ou nutricionais especiais, além daqueles provocada por técnicas de processamento de alimentos convencionais (DIEHL, 2002;

FARKAS & MOHÁCSI-FARKAS, 2011; KOMOLPRASERT & MOREHOUSE, 2004; NORDION, 2011).

Baseados nos resultados do JECFI, o WHO publicou um documento chamado “*Wholesomeness of Irradiated Foods*“, em Genebra, em 1981. Este documento conclui que nenhuma pesquisa toxicológica e nutricional é necessária em alimentos irradiados até dose máxima de 10 kGy (NORDION, 2011).

Com o cumprimento das atividades propostas, o IFIP foi finalizado em 1982. Porém, as agências internacionais FAO/IAEA/WHO consideraram de grande importância as atividades desenvolvidas pelo IFIP e, para manter a pesquisa sobre a irradiação de alimentos, decidiram criar o *International Consultative Group on Food Irradiation* (ICGFI) em 1983. Representantes do governo de 19 países membros da Nações Unidas e as três agências internacionais assinaram uma declaração que estabeleceu a ICGFI em 1984; possuiu 45 países membros, incluindo o Brasil, e teve como atividade fornecer publicações sobre a segurança dos alimentos irradiados, a efetividade da irradiação, a eficácia e comercialização do processo, aspectos legais, controle das instalações de irradiação e aceitação e informações sobre irradiação de alimentos, além de organizar cursos de formação para técnicos, inspetores de alimentos, jornalistas e outros. O objetivo principal ICGFI foi avaliar a evolução global e fornecer um ponto focal de conselho sobre a aplicação da irradiação de alimentos aos Estados membros (DIEHL, 2002; NORDION, 2011). O ICGFI encerrou suas atividades em 2001 (DEL MASTRO, 2015).

As organizações citadas anteriormente, juntamente com o *Codex Alimentarius Commission* (Codex) e inúmeras agências regulatórias têm endossado a segurança da irradiação de alimentos, desde que Boas Práticas de Fabricação (BPF), boas práticas de irradiação e os Princípios Gerais do Codex sobre Higiene dos Alimentos sejam utilizados. Isso resultou na aprovação de alimentos irradiados por muitos governos, embora nem todas as aprovações têm sido aplicadas em alimentos disponíveis no mercado (KOMOLPRASERT & MOREHOUSE, 2004).

O Codex é responsável pelas normas relativas à saúde humana e faz parte do quadro internacional para o comércio mundial. A pedra angular da irradiação de alimentos foi definida com a adoção da Normas Gerais do Codex para Alimentos Irradiados em 1983, que incluiu uma revisão significativa em 2003. Esta norma define as fontes de radiação que podem ser utilizadas e elabora práticas gerais de higiene, controle de processos e requisitos tecnológicos (FARKAS & MOHÁCSI-FARKAS, 2011; NORDION, 2011; ROBERTS, 2016).

Na Europa, em 1986, 1992 e 1998, o *Scientific Committee on Food* (SCF) formulou pareceres favoráveis quanto a irradiação de frutas, vegetais, cereais, tubérculos ricos em amido, especiarias e condimentos, peixes, mariscos, carnes frescas, aves, queijo camembert proveniente de leite cru, pernas de rã, goma arábica, caseína/caseinatos, ovos, flocos de cereais, farinha de arroz, e produtos derivados do sangue. O SCF enfatizou que a irradiação de alimentos não deve ser usado para cobrir negligência no manuseio de alimentos, nem para mascarar a sua inadequação para o uso como alimento (ARVANITOYANNIS, 2010).

Em 1997, um grupo de estudos sobre alta dose de irradiação do trio de agências internacionais FAO/IAEA/WHO examinou os resultados de estudos de segurança realizados em alimentos irradiados com doses mais elevadas do que 10 kGy. Poucos alimentos teleram doses acima 10 kGy sem perda de qualidade sensorial. Por outro lado, estudos de longo prazo em alimentos irradiados utilizados em ração animal, com doses elevadas de 70 kGy, não revelaram quaisquer efeitos adversos à saúde dos animais relacionados com o tratamento. O grupo de estudo concluiu que um alimento irradiado com uma dose apta a atingir o objetivo tecnológico destinado é seguro para consumo e nutricionalmente adequados (DIEHL, 2002).

Globalmente, a legislação de cada país ainda é muito divergente. Esta falta de harmonização internacional é vista como um grande impedimento para o comércio internacional, uma vez que constitui uma barreira não-tarifária. Por exemplo, a União Europeia ainda não chegou a um acordo sobre orientação para a regulação da irradiação de alimentos, devido à resistência da Alemanha. Em contraste com a Alemanha, Holanda, Bélgica e França rotineiramente irradiam muitos alimentos. O desenvolvimento regulamentar na África do Sul merece uma menção especial, pois, além de ser um dos pioneiros na comercialização, é também o único país onde são permitidos pré-cozidos e produtos cárneos não-perecíveis irradiados com dose de 45 kGy para venda no varejo. Mais de 40 países já aprovaram coletivamente a irradiação de mais de 50 tipos diferentes de alimentos (NORDION, 2011).

4.3.2.2 Irradiação de alimentos no Brasil e legislação

No Brasil, a irradiação foi aprovada pela primeira vez em 1973 pelas autoridades de regulamentação alimentar e em 2001 essas regulamentações foram revisadas e ampliadas (RDC nº 21 de 26 de janeiro de 2001 – BRASIL, 2001^b). O regulamento brasileiro tem como objetivo estabelecer os requisitos gerais para o uso da irradiação de alimentos com vistas à

qualidade sanitária do produto final e determina que a dose mínima deve ser suficiente para alcançar a finalidade pretendida e que a dose máxima seja inferior àquela que comprometeria as propriedades funcionais e/ou atributos sensoriais do alimento. Qualquer alimento pode ser irradiado, desde que observados os limites mínimos e máximos da dosagem aplicada. Em outros países, inclusive no Brasil, os alimentos irradiados devem ser rotulados com a inscrição “tratado por processo de irradiação” (BRASIL, 2001^b; BEHRENS et al., 2009).

Esta RDC também regulamenta o emprego de radiação em alimentos no Brasil, estabelecendo que as fontes de radiação utilizadas devem ser as autorizadas pela CNEN. No caso de isótopos radioativos emissores de radiação gama, a legislação permite a utilização de Cobalto 60 e Césio 137 (BRASIL, 2001^b).

Outra legislação que complementa a RDC é a Instrução Normativa nº 9 (de 24 de fevereiro de 2011) do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), que trata o uso da irradiação como medida fitossanitária, com o objetivo de prevenir a introdução ou disseminação de pragas quarentenárias regulamentadas no território brasileiro (BRASIL, 2011). Além da RDC e da Instrução Normativa citada anteriormente, o Brasil também segue as recomendações internacionais sugeridas pela FAO, IAEA e *Codex Alimentarius*.

Atualmente, algumas empresas de grande porte possuem infraestrutura física e licença para irradiar alimentos no Brasil. Ainda não se tem registro em literatura sobre alimentos (como um todo, como frutas, carnes) irradiados no território nacional em comercialização, e sim evidências de que alguns ingredientes que compõe produtos alimentícios industrializados passam pelo processo de irradiação, como no caso de especiarias. Silva et al. (2010) descreve que somente algumas indústrias alimentícias no país declaram que seus produtos contêm ingredientes irradiados nos rótulos (salgadinhos de milho, batata frita, biscoito salgado, macarrão instantâneo).

Na década de 1980, foram fornecidas autorizações para irradiação de alguns produtos alimentícios, bem como da instalação da primeira unidade comercial privada de prestação de serviços de irradiação em geral. Produtos não perecíveis, como descartáveis para uso médico, eram processados de forma rotineira pela indústria de irradiações, beneficiada pelas autorizações. E a indústria de especiarias aproveitou a oportunidade para utilizar a infraestrutura de irradiação já existente, processando seus produtos e mantendo o mercado até os dias de hoje (DEL MASTRO, 2015).

4.3.2.3 Rotulagem

A legislação brasileira (RDC nº 21 de 26 de janeiro de 2001) estabelece que o rótulo dos alimentos irradiados, além dos dizeres exigidos para os alimentos em geral e específico do alimento, deve constar no painel principal: "Alimento tratado por processo de irradiação", com as letras de tamanho não inferior a um terço ($1/3$) do da letra de maior tamanho nos dizeres de rotulagem. No entanto, quando um produto irradiado é utilizado como ingrediente em outro alimento, deve declarar essa circunstância na lista de ingredientes, entre parênteses, após o nome do mesmo. Para produtos a granel irradiados, os locais de exposição devem afixar cartaz, placa ou assemelhado com a seguinte informação: "Alimento tratado por processo de irradiação" (BRASIL, 2001^b).

As Normas Gerais do Codex para alimentos irradiados citam que os alimentos irradiados devem ser rotulados de acordo com a Norma Geral do Codex para a rotulagem de alimentos pré-embalados. Esta norma exige que o rótulo de um alimento que tenha sido tratado por radiação ionizante deve apresentar uma comunicação escrita indicando o tratamento, localizado próximo ao nome do alimento irradiado. O uso do símbolo internacional de irradiação de alimentos, a radura (Figura 13), é opcional, mas quando é utilizado, deve se localizar próximo ao nome do alimento submetido ao processamento. Quando o produto irradiado for utilizado como ingrediente em outro alimento, este deve ser assim declarado na lista de ingredientes. Quando um produto de único ingrediente é preparado a partir de uma matéria-prima que foi irradiado, o rótulo do produto deverá conter uma declaração indicando o tratamento (ROBERTS, 2016).

Na Figura 14 é possível observar a indicação de que alguns alimentos foram tratados por irradiação, em um ponto de varejo na Nova Zelândia.

Figura 13 – Símbolo da radura.

Fonte: JEFFERS, L.A., 2015.

Quanto ao FDA, este exige no rótulo o símbolo da radura e a frase "tratado com radiação" ou "tratado por irradiação." No entanto, se os ingredientes irradiados são adicionados aos alimentos que não foram irradiados, não é exigida identificação especial nas embalagens de varejo (KOMOLPRASERT & MOREHOUSE, 2004).

Figura 14 – Alimentos “in natura” irradiados na Nova Zelândia.

Fonte: NALDER, K., 2015.

4.4 Alimentos minimamente processados

Frutas e hortaliças são reconhecidas pelos consumidores por seus benefícios à saúde e seu consumo *in natura* é fortemente promovido devido à quantidade elevada de nutrientes, vitaminas, minerais e fibras (GOODBURN & WALLACE, 2013; SIROLI et al., 2015).

A importância destes alimentos também é refletida na economia do Brasil, na qual a hortifruticultura tem grande destaque devido a imensa área territorial em que o país se encontra. Isso coloca o Brasil entre os três maiores produtores de frutas no mundo com aproximadamente 43 milhões de toneladas em 2013, atrás apenas da China, classificada em 1ª colocada com 137 milhões de toneladas e da Índia, a 2ª colocada com 71 milhões de toneladas (SEBRAE, 2015). Já em relação às hortaliças, em 2013 foram produzidos aproximadamente 280 milhões de toneladas, sendo que 58% deste total foi produzido pela China (1º lugar) e 12% produzido pela Índia (2º lugar). O Brasil figurou em 10º lugar, com produção de quase 3 milhões de toneladas naquele ano (FAO, 2013).

A indústria de alimentos e mercados de varejo oferecem uma ampla gama de produtos derivados da hortifruticultura, e dentre eles estão os vegetais minimamente processados (*fresh-cut*) embalados (Figura 15), que unem "saúde" e "conveniência" em um

mesmo conceito, como uma alternativa para a aquisição e aumento do consumo de alimentos *in natura* (SIROLI, 2015). Este conceito também deve contemplar a preservação das características organolépticas e sensoriais naturais dos alimentos.

De acordo com a *International Fresh Cut Producers Association* (IFPA), produtos minimamente processados são frutas ou hortaliças modificadas fisicamente, mas que mantém o seu estado fresco; é qualquer fruta ou hortaliça, ou combinação destas, que tenha sido fisiologicamente alterado, mas permanece no estado fresco (CENCI, 2011).

A comercialização de alimentos minimamente processados também está associada à praticidade, uma vez que foram desenvolvidos de acordo com a necessidade dos consumidores de ter produtos de fácil preparação e que levem menos tempo para o seu preparo (SILLANI & NASSIVERA, 2015; VAISHNAV et al., 2015). Se enquadram neste grupo saladas de frutas prontas para consumo imediato, salada de folhas higienizadas e fatiadas, vegetais descascados e higienizados, entre outros.

Figura 15 – Alimentos minimamente processados comercializados no varejo.

Fonte: GIBBONS, K., 2013.

A produção de hortaliças minimamente processadas normalmente envolve operações como recepção, seleção, lavagem, descascamento, corte/trituração, secagem, embalagem e armazenamento a baixa temperatura (PATRIGNANI et al., 2015; VAISHNAV et al., 2015), conforme pode ser observado nas Figura 16 e 17. Estas operações estão também associadas a métodos de conservação adicionais como uso de sanitizantes, técnicas de branqueamento, atmosfera modificada, irradiação ou acondicionamento em embalagens diferenciadas (ANTUNES et al., 2014). As principais desvantagens dos alimentos minimamente processados são derivados da redução da vida de prateleira dos alimentos

devido ao rompimento do tecido mediante corte seguido de aumento da respiração e a rápida deterioração (BARRIGA et al., 1991; VAISHNAV et al., 2015). O aumento da taxa metabólica da fruta é decorrente do aumento da superfície exposta à atmosfera após o corte, o que facilita a penetração do oxigênio no interior das células (CENCI, 2011).

Os processos de descascamento, corte e centrifugação dos alimentos são pontos principais na produção de minimamente processados; são nestas etapas em que ocorrem as injúrias nos tecidos dos vegetais. Assim, como consequência das injúrias, pode ocorrer a descompartimentação celular, o que possibilita o contato das enzimas com os substratos. Dessa forma se originam as modificações bioquímicas como escurecimento enzimático, formação de odores desagradáveis, oxidação de lipídeos, aumento na perda de água e perda da textura original (ANTUNES et al., 2014; CENCI, 2011). Além disso, o aumento na respiração e na produção do etileno resulta numa redução drástica da vida pós-colheita do produto pré-processado (ANTUNES et al., 2014; CENCI, 2011). O descascamento e o corte também provocam rupturas superficiais e destruição de tecidos resultando em modificações na cor, aroma, sabor e textura, além de favorecer o crescimento microbiano devido à liberação de substâncias nutritivas e o transporte da microbiota localizada nas superfícies de frutas e vegetais para as superfícies cortadas (ANTUNES et al., 2014; PATRIGNANI et al., 2015).

Para manter o frescor das frutas e hortaliças, existem basicamente dois outros problemas a serem enfrentados: o primeiro é que trata-se de tecidos vivos, nos quais inúmeras reações químicas e bioquímicas estão ocorrendo, e, algumas reações, se não controladas, podem levar rapidamente à senescência do vegetal e a consequente perda de frescor; o segundo é que deve-se minimizar ao máximo o risco de contaminação microbiológica, uma vez que isto compromete a segurança do alimento e a qualidade final do produto, já que o crescimento microbiológico pode levar a sérias alterações como o aparecimento de odores e sabores indesejáveis e/ou à alteração da cor e/ou textura do vegetal (CENCI, 2011).

Embora haja algumas desvantagens e problemas na produção de minimamente processados, a indústria afirma que seus produtos são alternativas convenientes e saudáveis para atender as necessidades nutricionais para alimentos frescos (RICO et al., 2007). Muitos estabelecimentos de *fast food* estão diversificando seu menu, a fim de oferecer uma gama de saladas e outros alimentos prontos para consumo para seus clientes.

Atualmente, o prazo de validade e segurança no consumo de hortaliças minimamente processadas são baseados em ferramentas aplicadas durante o plantio e a

produção das frutas processadas, tais como a aplicação de boas práticas agrícolas (BPA), boas práticas de fabricação (BPF) e análise de perigos e pontos críticos de controle (APPCC), além da manutenção da cadeia de frio (ALEGRE et al., 2010; GOODBURN & WALLACE, 2013; SILVA et al., 2011). No Brasil não há legislação específica que regulamenta a produção e comercialização para estes alimentos, entretanto, devem ser seguidas algumas Resoluções, Portarias e Decretos, como a RDC nº 12 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), que estabelece os parâmetros microbiológicos para frutas frescas, in natura, preparadas, sanitizadas, refrigeradas ou congeladas, para consumo direto (BRASIL, 2001^a).

Em outros países, os alimentos minimamente processados são regulamentados por organizações e instituições que estabelecem padrões fitossanitários. Dentre eles estão o *Codex Alimentarius*, FDA, *International Commission on Microbiological Specifications for Food* (ICMSF).

Figura 16 – Etapas do processamento dos alimentos minimamente processados.

Fonte: SILVA et al., 2011.

Figura 17 – Detalhamento das etapas da produção de alimentos minimamente processados.

Fonte: SILVA et al., 2011.

A comercialização destes produtos acontece desde a década de 30 nos Estados Unidos. Com o surgimento das redes de alimentação rápida na década de 50, os chamados “*fast food*”, houve um crescimento expressivo da atividade de processamento mínimo de frutas e hortaliças. O restaurante idealizado pelos irmãos Richard e Maurice McDonald, onde os clientes tinham um serviço rápido e eficiente, foi um dos primeiros empreendimentos a utilizar produtos minimamente processados e, com isso, estimulou a estruturação de empresas nesse setor. Nos anos 70, quando os *fast foods* aumentaram a oferta de alface e cebolas picadas, os processadores desses alimentos também empreenderam uma busca por melhores tecnologias de produção na base de tentativas e erros. Não obstante, nessa mesma década, as empresas também começaram a recorrer a centros de excelência em pesquisas e estudos para o desenvolvimento de novas tecnologias mais baratas e eficientes. Assim, enquanto o início dos anos 80 viu nascer a indústria de hortaliças minimamente processadas, quando as grandes redes de *fast food* como começaram a preparar e empacotar saladas prontas, tais itens só foram disponibilizados nos supermercados norte americanos em 1989. Somente a partir de 1987 que a indústria americana de processamento mínimo experimentou um grande salto, com a automação do processo de embalagem de saladas prontas que lhe permitiu atender à demanda crescente do mercado por meio da produção em escala. Outra contribuição muito importante para o crescimento da demanda de alimentos minimamente processados, também originária dos EUA em 1994, foi o desenvolvimento das mini cenouras (também conhecidas como *baby carrots*) que conquistaram, principalmente, o público infantil (SEBRAE, 2008). Hoje, os Estados Unidos é o maior país produtor de minimamente processado e com isso movimentou de forma expressiva o poder econômico do setor de hortifrutis.

Até o final de 2012, as compras de hortaliças minimamente processadas na Itália apresentaram uma tendência de crescimento constante, onde a qualidade dos produtos e facilidade de uso impulsionaram o consumo em 380% em dez anos, apesar dos preços mais elevados do que os produtos frescos tradicionais (SILLANI & NASSIVERA, 2015).

No país, o início da atividade de processamento mínimo de frutas e hortaliças se iniciou com a chegada das redes de *fast food* no final da década de 70. A pesquisa e o desenvolvimento dessa tecnologia iniciaram-se de forma consistente e sistematizada a partir de meados da década de 90, permitindo que os empresários do setor pudessem atuar de forma mais organizada, sustentável e competitiva (SEBRAE, 2008). O processamento mínimo de frutas e hortaliças no país ainda é recente, embora se apresente como um nicho de mercado

em fase de crescimento e consolidação e esteja voltado para um perfil de consumidor com poder aquisitivo mais elevado.

Porém a qualidade e segurança microbiológica de hortaliças minimamente processadas tem sido motivo de preocupação nas últimas décadas devido a sua associação a surtos de doenças transmitidas por alimentos. Vários estudos relataram a ocorrência de patógenos de origem alimentar em vegetais, especialmente nos alimentos minimamente processados, tais como *Salmonella* spp., *Escherichia coli* enteropatogênica, e *Listeria monocytogenes*. Estudos também têm sido direcionados para avaliação de microrganismos indicadores de higiene, como os microrganismos mesófilos e psicrotróficos, *Pseudomonas* spp., coliformes (totais e fecais) e *Escherichia coli*. Nota-se que estes produtos não sofrem qualquer tipo de tratamento térmico durante o processamento, produção ou preparação, o que intensifica a dificuldade em eliminar o risco associado ao consumo. Por isso, salienta-se que organismos patogênicos têm sido encontrados em grandes quantidades nestes alimentos (MAISTRO et al., 2012; SANTOS et al., 2012).

Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS, 2012), as doenças transmitidas por alimentos (DTAs) são consideradas problemas de saúde pública, e vêm apresentando números crescentes de casos nos últimos anos pelo mundo. Também são responsáveis pela alta taxa de morbidade e mortalidade na população, especialmente nos grupos de imunodebilitados.

Dessa forma, é possível a utilização da irradiação nos alimentos minimamente processados como um método adicional para minimizar estes problemas, promovendo a segurança microbiológica do alimento.

5 MATERIAIS E MÉTODOS

5.1 Delineamento da execução do projeto

O projeto foi delineado conforme fluxograma apresentado na Figura 18. Todas as amostras foram analisadas em triplicata, ou seja, em 3 lotes diferentes.

Figura 18 – Fluxograma estrutural das análises químicas realizadas nas amostras e as doses de radiação utilizadas no trabalho.

Fonte: Autor da tese.

5.2 Amostras

Foram analisadas amostras minimamente processadas de salada de frutas (Figura 19), abacaxi (Figura 20), salada de hortaliças (salada Mix Primavera, Figura 21) e mini cenouras (Figura 22). A salada de frutas é composta por maçã, melão, uva e manga e a salada de vegetais composta por repolho verde e roxo. A salada de hortaliças e as mini cenouras foram adquiridas em mercado local e a salada de fruta e o abacaxi foram adquiridos diretamente de um fornecedor específico, que também fornecia seus produtos ao Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (FMUSP), e para o mercado internacional. Este possui implementado em sua empresa as normas de BPF (Boas Práticas de Fabricação) e outras ferramentas para obtenção de produtos de alta qualidade.

Figura 19 – Salada de frutas minimamente processada

Fonte: Autor da tese.

Figura 20 – Abacaxi minimamente processado

Fonte: Autor da tese.

Figura 21 – Salada de hortaliças minimamente processada (Salada Mix Primavera)

Fonte: Autor da tese.

Figura 22 – Cenouras minimamente processadas (Mini Cenouras)

Fonte: Autor da tese.

Cada tipo de amostra foi fracionada em cinco partes, sendo um deles o controle (não irradiado). Nas outras quatro partes foram aplicadas diferentes doses de radiação, sendo de 0,5, 1, 2 e 3 kGy, doses estas avaliadas por Fabbri (2014) e Nunes (2015) quanto à microbiologia e propriedades físico-químicas.

5.3 Irradiação das amostras

As amostras foram irradiadas no Irradiador Multipropósito (Figura 23), do Centro de Tecnologia das Radiações (IPEN-CNEN/SP) que possui como fonte o ^{60}Co , com monitoramento por dosímetros de rotina *Gammachrome YR Bath 530nm* do Laboratório de Dosimetria em Processos de Irradiação do CTR. A taxa de dose do Irradiador se manteve em torno de 5 kGy/hora durante a irradiação das amostras. Após a irradiação, as amostras foram mantidas em câmara fria à $4^\circ \pm 2^\circ\text{C}$ para posterior análise.

Figura 23 – Irradiador Multipropósito do Centro de Tecnologia das Radiações (CTR), IPEN-CNEN/SP

Fonte: IPEN, 2016.

5.4 Análises químicas

Todas as análises foram realizadas em triplicata e as amostras foram submetidas à liofilização, em equipamento liofilizador, (EC-SuperModulyo, Thermo Scientific Corporation, Milford, MA, EUA) de acordo com a necessidade da análise. As análises químicas foram realizadas nas dependências do Laboratório de Análise de Alimentos, localizado na Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo (FCF/USP).

5.4.1 Composição Centesimal

5.4.1.1 Umidade

A umidade foi determinada em estufa a 105 °C, onde 5 g de amostra foram acondicionadas em cápsulas de porcelana previamente taradas por aproximadamente 3 horas, e depois pesadas até que apresentassem massa constante (AOAC, 1995).

5.4.1.2 Resíduo mineral

A amostra (5 g) foi incinerada dentro de cadinhos de porcelana previamente calcinados e tarados em chapa elétrica até total carbonização e, posteriormente, os cadinhos

foram colocados em mufla a 550 °C por 5 horas para combustão completa da matéria orgânica (AOAC,1995).

5.4.1.3 Extrato etéreo

A extração dos lipídeos foi feita em cartucho de papel filtro. Foram pesados 5 g de amostra liofilizada e tamisada em peneira de 80 mesh. Na extração foi utilizado extrator de Soxhlet acoplado a um balão previamente tarado e éter etílico como solvente, onde o fluxo foi mantido constantemente durante 8 horas. O solvente foi evaporado em capela e o balão contendo resíduo foi pesado até atingir peso constante, conforme AOAC (1995).

5.4.1.4 Proteínas

O teor de nitrogênio total foi analisado pelo método de micro Kjeldahl e o resultado multiplicado pelo fator 5,75, proposto pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) para alimentos de origem vegetal. Este fator é aplicado no cálculo de conversão de nitrogênio em proteína (BRASIL, 2003). Foram utilizados de 50 a 100 mg de amostra liofilizada, dependendo do teor de proteínas em cada matriz.

O método baseia-se na digestão da amostra com ácido sulfúrico (H_2SO_4) na presença de mistura catalisadora contendo sulfato de cobre ($CuSO_4$) e sulfato de potássio (K_2SO_4). O carbono e hidrogênio são oxidados a gás carbônico e água e o nitrogênio da proteína reduzido e transformado em sulfato de amônio. Quantidades apropriadas de amostras liofilizadas (homogeneizadas e peneiradas em malha de 80 mesh) foram colocadas em tubos destinados à determinação de proteínas e adicionadas de aproximadamente 2 g de K_2SO_4 , 50 mg de $CuSO_4$ e 3 mL de H_2SO_4 . Os tubos foram colocados em bloco digestor a uma temperatura de 350 °C por efetivamente 4 horas. Destilou-se a amostra digerida após adição de 15 mL de hidróxido de sódio (NaOH) 40% para a liberação da amônia. A amônia foi recolhida em erlenmeyers contendo 5 mL de solução de ácido bórico saturado e indicador de Kjeldahl, que contém vermelho de metila e azul de metileno. Houve a formação de borato de amônio, que foi quantificado por titulação com ácido clorídrico 0,01 M padronizado com carbonato de sódio (AOAC, 1995).

5.4.1.5 Carboidratos

Os carboidratos totais foram determinados por diferença, calculando-se a soma das porcentagens de umidade, proteínas, lipídeos e resíduo mineral subtraído por 100, sendo o restante considerado carboidrato, de acordo com método descrito pela AOAC (1995).

5.4.2 Extração e análise dos compostos bioativos

5.4.2.1 Extração dos compostos fenólicos

As amostras foram congeladas em nitrogênio líquido e liofilizadas, para posterior moagem em moinho analítico, além de peneiradas em tamis com malha de 80 mesh e armazenadas a -20 °C até o momento das análises.

Após a realização de alguns testes com diferentes proporções de metanol/água para melhor extrair os compostos desejados, a solução que melhor apresentou resultado foi a de metanol 70% acidificado com ácido clorídrico 0,5% (v/v). As amostras foram homogeneizadas com esta solução. Em seguida, foram colocadas em banho de ultrassom por 5 minutos e centrifugados por 10 minutos a 8000 rpm. O sobrenadante foi filtrado e recolhido, sendo que o resíduo foi submetido a mais duas re-extrações com o mesmo solvente.

5.4.2.2 Análise dos compostos fenólicos totais (CFT)

Os compostos fenólicos totais de todos os extratos foram quantificados pela reação com o reagente Folin-Ciocalteu, de acordo com o método descrito por Singleton, Orthofer e Lammela-Ravenson (1999), com modificação, onde a neutralizando da solução foi feita com NaOH 0,5M ao invés de Na₂CO₃.

Diluições apropriadas dos extratos fenólicos foram adicionadas de 100 µL de reagente de Folin-Ciocalteu (Sigma Aldrich, St. Louis, MO), 950 µL de água destilada e alcalinizadas com 800 µL de NaOH 0,5M. O produto da reação foi incubado em temperatura ambiente e em local escuro por duas horas. Após a reação completa, alíquotas de 200 µL desta reação foram pipetadas em uma microplaca transparente, de fundo chato de poliestireno transparente, composta de 96 poços com capacidade de 300 µL por poço. Foi medida a absorbância em espectrofotômetro a 760 nm contra um branco de reagentes. O teor de fenólicos foi calculado utilizando curva padrão de ácido gálico (Sigma Aldrich, St. Louis, MO), com concentrações variando entre 1,5 e 11,25 µg/mL em triplicata, que está apresentada na Figura 24. Os resultados foram expressos em µg equivalentes de ácido gálico (AG)/g amostra em base seca.

Figura 24 – Curva de calibração do ácido gálico ($\mu\text{g/mL}$) para quantificação de compostos fenólicos, com pontos em triplicata.

Fonte: Autor da tese.

5.4.2.3 Análise de flavonóides totais

O teor de flavonóides totais foi determinado por método colorimétrico nos extratos fenólicos, no qual ocorre a reação entre os flavonóides do extrato com nitrito de sódio, cloreto de alumínio e hidróxido de sódio, formando um complexo que pode ser lido em espectrofotômetro, em comprimento de onda de 510 nm (CHEN; CHEN, 2011). Aliquotas apropriadas do extrato obtido para análise de fenólicos foi misturado à 75 μL de NaNO_2 5% (m/v) e submetido à agitação. Após 6 minutos, foram adicionados 150 μL de AlCl_3 10% (m/v) e submetido à agitação. Após 5 minutos, adicionou-se 500 μL de NaOH 1 M e novamente submetido à agitação. Aliquotas de 200 μL da reação formada foram pipetadas em uma microplaca transparente, de fundo chato de poliestireno transparente, composta de 96 poços com capacidade de 300 μL por poço. A leitura foi realizada em espectrofotômetro à 510 nm. Uma curva padrão de catequina foi utilizada como base para o cálculo da concentração e o resultado foi expresso em microgramas equivalentes de catequina (Cat) por grama de amostra em base seca (Figura 25).

Figura 25 – Curva de calibração da catequina ($\mu\text{g/mL}$) para quantificação de flavonóides, com pontos em triplicata.

Fonte: Autor da tese.

5.4.2.4 Análise de proantocianidinas

As proantocianidinas foram analisadas de acordo com método proposto por Xu e Chang (2007), com adição de 1,5 mL de solução de vanilina/metanol 4% (m/v) e 750 μL de ácido clorídrico concentrado ao extrato obtido para análise de fenólicos, para leitura espectrofotométrica em 500nm. Aliquotas de 200 μL da reação formada foram pipetadas em uma microplaca transparente, de fundo chato de poliestireno transparente, composta de 96 poços com capacidade de 300 μL por poço e a reação foi lida em espectrofotômetro. Uma curva padrão de catequina foi utilizada como base para o cálculo da concentração e o resultado foi expresso em microgramas equivalentes de catequina (Cat) por grama de amostra em base seca (Figura 26).

Figura 26 – Curva de calibração da catequina ($\mu\text{g/mL}$) para quantificação de proantocianidinas, com pontos em triplicata.

Fonte: Autor da tese.

5.4.3 Análise da atividade antioxidante dos compostos bioativos

5.4.3.1 Método de DPPH•

O método proposto por Brand-Williams et al. (1995), Bondet et al. (1997) e Molyneux (2004) foi escolhido para análise da atividade antioxidante das amostras estudadas por ser uma análise rápida. A reação foi realizada em microplaca transparente de poliestireno de fundo chato, composta por 96 poços e capacidade de 300 μL por poço. Aliquotas de 50 μL dos extratos fenólicos obtidos foram pipetadas em cada cavidade e, imediatamente antes da primeira leitura de absorbância no leitor de placas (Synergy HT, Bio Tek Instruments, Inc., USA), adicionou-se 150 μL de solução metanólica de DPPH• (Sigma Aldrich, St. Louis, MO) 7×10^{-5} M. Para o controle da reação, utilizou-se 50 μL de MeOH 80% (v/v) ao invés da amostra. Todas as amostras foram analisadas em, no mínimo, triplicata.

A cinética da reação foi monitorada medindo-se o decréscimo da absorbância em 517 nm em 10 minutos. A partir dos valores de absorbância nos tempos de 0 e 10 minutos, foram determinados os percentuais de DPPH• remanescentes (% DPPH•_{REM}), conforme a equação:

$$\% \text{ DPPH}^{\bullet}_{\text{REM}} = (\text{Abs}_{\text{T=t}} / \text{Abs}_{\text{controle}}) \times 100$$

na qual $\text{Abs}_{\text{T=t}}$ é a média das absorbâncias da triplicata das amostras após 10 minutos de reação e $\text{Abs}_{\text{controle}}$ é a média das absorbâncias do controle.

A atividade antioxidante foi calculada por regressão linear a partir da curva de calibração com concentrações variando de 0 a 100 μM , sendo cada ponto medido em triplicata (Figura 27). Os resultados foram expressos em μmol equivalentes de Trolox (ácido 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcroman-2-carboxílico, Sigma Aldrich, St. Louis, MO) por grama de amostra em base seca.

Figura 27 – Curva de calibração do Trolox (μM) para quantificação de atividade antioxidante pelo método de DPPH, com pontos em triplicata.

Fonte: Autor da tese.

5.4.3.2 Método ORAC

A análise pelo método ORAC foi baseada no estudo realizado por Glazer (1990) e adaptado por Cao e Prior (1999). Aliquotas de 25 μL dos extratos fenólicos adequadamente diluídos foram pipetadas em uma microplaca preta de fundo chato de poliestireno transparente, composta de 96 poços com capacidade de 300 μL por poço. As amostras foram homogeneizadas com 150 μL de fluoresceína (Sigma Aldrich, St. Louis, MO) 40×10^{-9} M e após 30 minutos, foi adicionado 25 μL de AAPH (Sigma Aldrich, St. Louis, MO) 0,15 M à reação. A placa foi previamente termostatizada antes do início das reações na temperatura de 37 °C e o pH mantido em 7,4 pelo emprego de tampão fosfato, com o intuito de simular condições fisiológicas.

A reação dos radicais livres com a fluoresceína e a perda da fluorescência foi monitorada a cada minuto durante 1 hora, utilizando-se um comprimento de excitação em 493 nm (filtro 485/20) e emissão em 515 nm (filtro 528/20) no leitor de microplacas (Synergy HT, BioTek Instruments, Inc., USA).

A atividade antioxidante foi calculada com base na área entre a curva de decaimento do branco e da amostra, denominada Net AUC, em relação a uma curva padrão de Trolox na faixa de concentração de 0 a 100 μM (Figura 28). O resultado foi expresso em μmol equivalentes de Trolox por grama de arroz em base seca (Figura 29). Este método que permite combinar tanto a porcentagem da perda da fluorescência como o tempo necessário para o sequestro total do radical livre pelo antioxidante.

Figura 28 – Ilustração sobre a determinação de atividade antioxidante expressa como a área entre as curvas do decréscimo da fluorescência (AUC).

Fonte: Autor da tese.

Figura 29 – Curva de calibração do Trolox (μM) para quantificação de atividade antioxidante pelo método de ORAC, com pontos em triplicata.

Fonte: Autor da tese.

5.4.4 Vitamina C

A vitamina C total (soma de ácido ascórbico e deidroascórbico) foi determinada por CLAE (cromatografia líquida de alta eficiência), de acordo com Plaza et. al. (2011) e Tarrago-Trani et. al. (2012). Para determinação de ácido ascórbico, as amostras foram

analisadas logo após a irradiação para minimizar a perda de vitamina, sendo 1 g de amostra homogeneizado com 25 mL de solução de ácido meta-fosfórico 3% (m/v) e ácido acético 8% (v/v) em Ultra-Turrax® (Ika, China) e banho de gelo e posteriormente filtrado à vácuo em funil de Büchner com papel filtro. O recolhido foi avolumado para 25 mL em balão âmbar, para minimizar as perdas de vitamina C durante o processo. Em seguida, uma alíquota foi filtrada em membrana de 0,22 µm (PTFE, Millipore) e injetados no cromatógrafo com detector espectrofotométrico na região do UV-visível e arranjo de diodos (Shimadzu, Japão). Posteriormente uma alíquota de 250 µL do extrato filtrado extrato foi adicionada de 1,5 mL de solução de dl-ditiotreitol (20 mg/mL, m/v, preparado no momento da análise) e deixada em espera por 2 horas, na ausência de luz, para que houvesse a redução do ácido deidroascórbico em ácido ascórbico. Uma alíquota desta solução foi injetada no cromatógrafo.

A corrida foi realizada em coluna C18 Synergi HydroRP (4,6 x 250 mm, 5 µm, Phenomenex, Torrance, CA), com fluxo de 0,7 mL/min, volume de injeção de 20µL, em modo isocrático. A fase móvel consistia de ácido orto-fosfórico 0,02% e a determinação dos ácidos foram realizadas em 254 nm. Uma curva padrão de ácido ascórbico foi utilizada como base para o cálculo da concentração e o resultado foi expresso em mg de ácido ascórbico por grama de amostra em base seca.

5.4.5 Carotenóides

Para a determinação de carotenóides nas amostras, utilizou-se a técnica de microextração previamente descrita por Sérino et. al. (2009), partindo-se de 200 mg de amostra pesados em tubo de microcentrífuga âmbar e adição de 100 µL de solução de NaCl saturado e 200 µL de diclorometano alternado com agitação por 30 segundos. Em seguida, adicionou-se 500 µL de solução de hexano:éter etílico (1:1, v/v), agitou-se por 30 segundos e centrifugou-se a 13000 x g por 5 minutos à 4 °C para extração dos carotenóides. O sobrenadante foi recolhido em outro tubo de microcentrífuga âmbar e os passos a partir da adição de solução de hexano:éter etílico foram repetidos mais 3 vezes, com combinação dos sobrenadantes. Posteriormente, o extrato obtido foi seco sob nitrogênio e reconstituído com 200 µL de acetato de etila. Uma alíquota foi filtrada em membrana de 0,22 µm (PTFE, Millipore) para injeção no cromatógrafo. Os carotenóides foram analisados em CLAE com detector espectrofotométrico na região do UV-visível e arranjo de diodos (Shimadzu, Japão). Para separação de picos, utilizou-se uma coluna C18, com fluxo de 1 mL/min, volume de injeção de 10 µL, em modo isocrático, temperatura de forno de 28 °C. A fase móvel é

composta por acetonitrila:água:acetato de etila (53:7:40, v/v/v) e a determinação dos carotenóides foi realizada no intervalo de 200–750 nm, sendo 454 nm para α -caroteno e β -caroteno e 448 nm para luteína. Curvas padrões de cada carotenóide citado foram utilizadas como base para o cálculo da concentração.

5.5 Análise estatística

5.5.1 Análise estatística univariada

Os resultados foram avaliados estatisticamente com o auxílio do programa STATISTICA versão 8.0, adotando-se nível de significância de 5% ($p < 0,05$).

Todos os dados analisados neste trabalho foram testados quanto à distribuição normal (teste de Shapiro-Wilk) e homogeneidade das variâncias (testes de Levene e Brown-Forsythe). Quando os dados apresentaram distribuição normal e homogeneidade de variância, foi aplicado o teste Two-way ANOVA (Análise de Variância), seguido do teste Tukey para comparação de médias ou seu correspondente não paramétrico quando o conjunto de dados não demonstrou distribuição normal e, principalmente, homogeneidade das variâncias.

5.5.2 Análise estatística multivariada

A análise multivariada envolve a observação e análise de mais de uma variável estatística ao mesmo tempo. Foi utilizada a Análise de Componentes Principais (ACP), a Análise de Função Discriminante (AFD) no trabalho.

A ACP é uma análise multivariada não supervisionada, não requer que os dados apresentem distribuição normal e homocedasticidade, já que não se fazem inferências estatísticas a partir desta análise. Trata-se de uma ferramenta que reorganiza a informação a partir de um conjunto de dados e converter um número de variáveis possivelmente correlacionadas em um menor número de variáveis não correlacionadas, chamadas de componentes principais. O primeiro componente principal concentra a maior variância possível do conjunto de dados inicial e cada componente posterior acumula sucessivamente a máxima variância remanescente. O objetivo principal ao utilizar esta análise foi reduzir os dados a um número menor de dimensões preservando o máximo possível de informação.

Já a AFD é uma análise estatística multivariada supervisionada, que requer distribuição normal e homocedasticidade dos dados, e um de seus objetivos é a separação dos grupos de amostras com significância estatística. Essa separação se dá por uma equação

construída a partir de uma combinação linear de características observadas que apresente maior poder de discriminação entre as populações de amostras.

6 RESULTADOS E DISCUSSÃO

6.1 Composição Centesimal

Dados sobre a composição centesimal dos alimentos minimamente processados estudados estão apresentados na Tabela 7.

Nas Figuras 30-33 estão demonstradas, de forma ilustrativa, os dados obtidos de cinzas, lipídeos, proteínas e carboidratos do abacaxi, da salada de frutas, das mini cenouras e da salada Mix Primavera minimamente processados estudados neste trabalho.

A umidade das amostras de abacaxi, salada de frutas, mini cenouras e salada Mix Primavera se mantiveram em aproximadamente 87, 85, 91 e 93%, respectivamente, mesmo após a aplicação de radiação gama em diversas doses.

Com relação ao teor de cinzas, o abacaxi minimamente processado apresentou teor ao redor de 0,3%. Na comparação entre as doses aplicadas, estatisticamente foi observada diferença significativa na dose de 0,5 kGy quando comparada à dose de 2,0 e 3,0 kGy, porém os valores observados nas médias foram muito semelhantes. Apesar da análise estatística apontar diferenças significativas, o valor médio não se alterou, podendo-se dizer que a irradiação não afetou os teores de cinzas no abacaxi. Quanto aos outros macroelementos, não foram observadas diferenças estatisticamente significativas, onde o teor médio de lipídeos se manteve em 0,2% em todas as doses. O mesmo aconteceu com o teor de proteínas, que se manteve por volta de 0,4% e o teor de carboidratos, que apresentou uma média de 12% em todas as doses avaliadas. Assim, pode-se observar que a irradiação não afetou os teores de cinzas, lipídeos, proteínas e carboidratos do abacaxi minimamente processado submetido à radiação gama, nas doses de 0,5, 1, 2 e 3 kGy.

Comparando os valores obtidos com uma tabela de composição nutricional (TACO, 2011), os teores do abacaxi não irradiado, mesmo minimamente processado, foram muito similares. A tabela nutricional apresenta 0,1% de lipídeos, 12,3% de carboidratos e 0,4% de cinzas. Somente o valor de proteínas foi diferente, onde a tabela apresenta 0,9% e o encontrado foi de 0,4%. Esta diferença pode ser atribuída às diferentes variedades de abacaxi, na qual não foi especificado pela tabela nutricional.

Tabela 7 – Teores de umidade, cinzas, lipídeos, proteínas e carboidratos em abacaxi, salada de frutas, mini cenouras e salada Mix Primavera minimamente processados submetidos a diferentes doses de radiação gama, expressos em gramas/100 gramas em base úmida.

Amostras	Parâmetros	Doses (kGy)				
		Controle	0,5	1,0	2,0	3,0
Abacaxi	Umidade	86,7 ± 1,9	88,0 ± 0,1	86,5 ± 0,9	87,5 ± 1,5	86,0 ± 0,4
	Cinzas	0,3 ± 0,02 ^{a,b}	0,3 ± 0,01 ^a	0,3 ± 0,01 ^{a,b}	0,3 ± 0,05 ^b	0,3 ± 0,02 ^b
	Lipídeos	0,2 ± 0,05 ^a	0,2 ± 0,01 ^a	0,2 ± 0,04 ^a	0,2 ± 0,04 ^a	0,1 ± 0,00 ^a
	Proteínas	0,4 ± 0,01 ^a	0,4 ± 0,04 ^a	0,4 ± 0,02 ^a	0,5 ± 0,07 ^a	0,5 ± 0,04 ^a
	Carboidratos	12,4 ± 1,93 ^a	11,1 ± 0,09 ^a	12,6 ± 0,92 ^a	11,6 ± 1,46 ^a	13,2 ± 0,41 ^a
Salada de Frutas	Umidade	84,7 ± 0,06	84,5 ± 0,32	84,0 ± 0,03	84,8 ± 0,02	83,4 ± 0,15
	Cinzas	0,6 ± 0,01 ^a	0,5 ± 0,00 ^a	0,6 ± 0,03 ^a	0,6 ± 0,01 ^a	0,6 ± 0,01 ^a
	Lipídeos	0,2 ± 0,05 ^{a,c}	0,2 ± 0,03 ^a	0,2 ± 0,03 ^b	0,2 ± 0,04 ^{c,b}	0,2 ± 0,04 ^{d,b}
	Proteínas	0,5 ± 0,01 ^{a,d}	0,5 ± 0,01 ^b	0,5 ± 0,01 ^{c,c}	0,5 ± 0,01 ^d	0,5 ± 0,00 ^c
	Carboidratos	14,1 ± 0,03 ^{a,b}	14,3 ± 0,09 ^{a,b}	14,6 ± 0,03 ^{a,b}	14,0 ± 0,02 ^a	15,4 ± 0,05 ^b
Mini Cenouras	Umidade	91,2 ± 0,2	91,3 ± 0,1	91,7 ± 0,4	91,2 ± 0,1	91,5 ± 0,1
	Cinzas	0,6 ± 0,01 ^a	0,6 ± 0,01 ^a	0,6 ± 0,01 ^a	0,6 ± 0,05 ^a	0,6 ± 0,04 ^a
	Lipídeos	0,2 ± 0,03 ^a	0,2 ± 0,02 ^a	0,2 ± 0,02 ^a	0,2 ± 0,02 ^a	0,2 ± 0,02 ^a
	Proteínas	0,9 ± 0,18 ^a	0,9 ± 0,15 ^a	0,9 ± 0,20 ^a	0,9 ± 0,25 ^a	0,9 ± 0,21 ^a
	Carboidratos	7,1 ± 0,26 ^a	7,0 ± 0,10 ^a	6,6 ± 0,42 ^a	7,1 ± 0,25 ^a	6,8 ± 0,24 ^a
Salada Mix Primavera	Umidade	93,4 ± 0,5	94,0 ± 0,4	93,8 ± 0,2	93,8 ± 0,6	93,8 ± 0,6
	Cinzas	0,5 ± 0,02 ^a	0,5 ± 0,02 ^a	0,5 ± 0,01 ^a	0,4 ± 0,04 ^a	0,5 ± 0,01 ^a
	Lipídeos	0,2 ± 0,01 ^a	0,1 ± 0,01 ^{a,b}	0,1 ± 0,01 ^b	0,1 ± 0,02 ^{a,b}	0,1 ± 0,00 ^{a,b}
	Proteínas	0,8 ± 0,03 ^a	0,8 ± 0,10 ^a	0,8 ± 0,08 ^a	0,8 ± 0,09 ^a	0,8 ± 0,13 ^a
	Carboidratos	5,2 ± 0,54 ^a	4,7 ± 0,25 ^a	4,8 ± 0,13 ^a	4,8 ± 0,41 ^a	4,8 ± 0,54 ^a

Fonte: Autor da tese.

Notas: Resultados expressos como média ± desvio padrão (n=3); letras iguais na mesma linha não indicam diferenças estatisticamente significativas (p<0,05) pelo teste ANOVA pelo seu equivalente não paramétrico quando apropriado.

A salada de frutas minimamente processada não apresentou alterações após irradiação no teor de cinzas. Entretanto, observou-se que os lipídeos apresentaram diferença estatística entre as doses aplicadas, mas o teor se manteve em aproximadamente 0,2%. O

mesmo pode-se dizer do teor de proteínas, que apresentou teores por volta de 0,5%, e carboidratos, com média de 14%. A diferença estatística observada nos carboidratos na dose de 3 kGy se deve ao teor de umidade apresentar valor abaixo das demais amostras, uma vez que o valor de carboidratos é resultante da soma dos macroelementos subtraído por 100. Dessa maneira, ao observar todos os valores obtidos em cada dose aplicada, pode-se dizer que, apesar da estatística apresentar diferenças significativas entre doses de alguns macroelementos, os valores médios permaneceram semelhantes, o que mostra que a irradiação não afetou a composição da salada de frutas.

Diferentemente das outras amostras estudadas, as mini cenouras não apresentaram diferenças estatisticamente significativas em nenhuma das macromoléculas estudadas, quando comparadas entre as doses de radiação aplicadas. O teor de cinzas não foi alterado, apresentando valores por volta de 0,6%; nem o de lipídeos, com aproximadamente 0,2%; as proteínas apresentaram valores médios de 0,9% em todas as doses avaliadas e o teor de carboidratos, apesar da variação observada nos valores obtidos, não apresentaram diferenças significativas, com valor médio de 6,9%.

Ao realizar a comparação entre as mini cenouras com a Tabela nutricional (TACO, 2011), não foram encontradas informações sobre mini cenouras, mas sim sobre cenouras cruas. E ao utilizar as cenouras cruas, foram observados valores próximos aos encontrados nas mini cenouras não irradiadas. A quantidade de lipídeos e carboidratos foram semelhantes, com 0,2 e 7,7%, respectivamente, apresentados pela tabela nutricional. Já os teores de cinzas e proteínas, de 0,9 e 1,3%, respectivamente, diferiram dos encontrados neste trabalho, talvez devido à variedade de cenoura utilizada para avaliação ser diferente do reportado pela tabela, que não fornece estas informações. As cinzas também são afetadas pelo modo de cultivo, uma vez que os minerais são influenciados pela quantidade de minerais presentes na terra em que são cultivados. Assim, a variação no teor de cinzas é normalmente encontrada na literatura.

Figura 30 – Teores de carboidratos, proteínas, cinzas e lipídeos do abacaxi minimamente processado segundo doses de radiação aplicadas

Fonte: Autor da tese.

Notas: Barras de variação representam o desvio padrão das amostras; letras diferentes em cada linha/barras indicam diferenças estatisticamente significativas (p<0,05) pelo teste ANOVA seguida de Tukey ou seu equivalente não paramétrico; valores expressos em base úmida.

Figura 31 – Teores de carboidratos, proteínas, cinzas e lipídeos da salada de frutas minimamente processada segundo doses de radiação aplicadas

Fonte: Autor da tese.

Notas: Barras de variação representam o desvio padrão das amostras; letras diferentes em cada linha/barras indicam diferenças estatisticamente significativas (p<0,05) pelo teste ANOVA seguida de Tukey ou seu equivalente não paramétrico; valores expressos em base úmida.

Figura 32 – Teores de carboidratos, proteínas, cinzas e lipídeos das mini cenouras minimamente processadas segundo doses de radiação aplicadas

Fonte: Autor da tese.

Notas: Barras de variação representam o desvio padrão das amostras; letras diferentes em cada linha/barra indicam diferenças estatisticamente significativas ($p < 0,05$) pelo teste ANOVA seguida de Tukey ou seu equivalente não paramétrico; valores expressos em base úmida.

Figura 33 – Teores de carboidratos, proteínas, cinzas e lipídeos da salada Mix Primavera minimamente processada segundo doses de radiação aplicadas

Fonte: Autor da tese.

Notas: Barras de variação representam o desvio padrão das amostras; letras diferentes em cada linha/barra indicam diferenças estatisticamente significativas ($p < 0,05$) pelo teste ANOVA seguida de Tukey ou seu equivalente não paramétrico; valores expressos em base úmida.

Na salada Mix Primavera, os teores de cinzas, proteínas e carboidratos não sofreram alteração após a irradiação, apresentando valores médios de 0,5, 0,8 e 4,9%, respectivamente. Já entre os lipídeos, houve diferença estatisticamente significativa entre o controle e a dose de 1,0 kGy, mostrando uma redução de 0,1% no seu teor. Apesar dessa redução ter sido apontada pela análise estatística, ao observar os valores médios encontrados antes e após a irradiação com as diferentes doses, pode-se dizer que o teor não sofreu alteração, mantendo-se em torno de 0,1%.

A salada de frutas e a salada Mix Primavera, por serem produtos compostos por uma mistura de frutas e/ou vegetais, não foi possível comparar com nenhum produto apresentado na tabela nutricional, uma vez que a comparação poderia ser realizada somente entre produtos similares que tivessem a mesma composição.

Uma hipótese sobre as diferenças significativas encontradas pela análise estatística é que os valores obtidos em cada análise foram próximos, mesmo considerando três lotes distintos. A diferença observada se deve a casas decimais, e, qualquer alteração pode ser percebida nas análises estatísticas. No caso da salada de frutas, como é um produto composto por 4 diferentes frutas, cada uma com propriedades nutricionais próprias, a proporção de cada uma delas não é repetida exatamente da mesma forma em cada unidade de produto, ou seja, a proporção entre as frutas é variável de unidade para unidade de salada. Mesmo com a homogeneização do lote todo antes da irradiação, essa diferença nas proporções pode ter influenciado nos teores de cada macroelemento, gerando a variação estatística observada.

Estudos conduzidos por Khattak, Simpson e Ihasnullah (2009) em raiz de lótus também não demonstraram alterações nos teores de cinzas, lipídeos e proteínas após aplicação da radiação gama. Foram utilizadas doses entre 1 e 6 kGy, doses estas semelhantes ao presente trabalho. Nathawat et. al. (2013) também avaliaram o efeito da irradiação na composição centesimal de uma fruta chamada *kachri* (*Cucumis callosus*) e não observou alteração com a aplicação de doses entre 2,5 e 7 kGy.

Apesar das variações encontradas, nutricionalmente não houve alteração significativa entre as doses de radiação aplicadas no alimentos estudados, ou seja, a irradiação não afetou as propriedades nutricionais dos alimentos minimamente processados.

6.2 Compostos Bioativos

Com relação aos compostos bioativos, também não foram observadas alterações significativas nos teores de fenólicos no abacaxi, por volta de 1900 µg eq. AG/g de amostra,

conforme Tabela 8. Os teores de compostos fenólicos na mini cenoura, com valores aproximados de 1200 µg eq. AG/g, também não tiveram influência da radiação gama. Da mesma forma, os flavonóides encontrados nas mini cenoura também não tiveram seus teores alterados significativamente após aplicação de radiação gama (média de 139 µg eq. Cat/g).

Tabela 8 – Teores de fenólicos totais, flavonóides e proantocianidinas em abacaxi, salada de frutas, mini cenouras e salada Mix Primavera minimamente processados submetidos a diferentes doses de radiação gama, em base seca.

Amostras	Parâmetros	Doses (kGy)				
		Controle	0,5	1,0	2,0	3,0
Abacaxi	Fenólicos (µg eq. AG/g)	1992 ± 151 ^a	1982 ± 105 ^a	2012 ± 183 ^a	1968 ± 120 ^a	1867 ± 147 ^a
	Flavonóides (µg eq. Cat/g)	ND	ND	ND	ND	ND
	Proantocianidinas (µg eq. Cat/g)	ND	ND	ND	ND	ND
Salada de Frutas	Fenólicos (µg eq. AG/g)	1838 ± 55 ^a	1330 ± 13 ^b	1223 ± 39 ^c	1453 ± 47 ^d	1428 ± 17 ^{b,d}
	Flavonóides (µg eq. Cat/g)	149 ± 18 ^a	169 ± 15 ^a	182 ± 19 ^b	237 ± 12 ^c	214 ± 13 ^d
	Proantocianidinas (µg eq. Cat/g)	1928 ± 66 ^a	1222 ± 54 ^b	1213 ± 100 ^{b,c}	1517 ± 101 ^d	1386 ± 58 ^{b,c,d}
Mini Cenouras	Fenólicos (µg eq. AG/g)	1222 ± 34 ^a	1223 ± 26 ^a	1331 ± 16 ^a	1132 ± 65 ^a	1397 ± 185 ^a
	Flavonóides (µg eq. Cat/g)	162 ± 17 ^a	145 ± 17 ^a	124 ± 3 ^a	153 ± 30 ^a	111 ± 14 ^a
	Proantocianidinas (µg eq. Cat/g)	ND	ND	ND	ND	ND
Salada Mix Primavera	Fenólicos (µg eq. AG/g)	2635 ± 633 ^a	2590 ± 542 ^a	2659 ± 327 ^a	2612 ± 467 ^a	2437 ± 406 ^a
	Flavonóides (µg eq. Cat/g)	335 ± 115 ^a	320 ± 114 ^a	352 ± 110 ^a	354 ± 87 ^a	309 ± 88 ^a
	Proantocianidinas (µg eq. Cat/g)	1667 ± 237 ^a	1547 ± 177 ^a	1643 ± 409 ^a	1660 ± 546 ^a	1417 ± 588 ^a

Fonte: Autor da tese.

Notas: ND = não detectado; resultados expressos como média ± desvio padrão (n=3); letras iguais na mesma linha não indicam diferenças estatisticamente significativas (p<0,05) pelo teste ANOVA.

O mesmo comportamento foi observado na salada Mix Primavera, onde os teores de compostos fenólicos (média de 2586 µg eq. AG/g), flavonóides (média de 334 µg eq. Cat/g) e proantocianidinas (média de 1586 µg eq. Cat/g) não tiveram alteração significativa

após aplicação de várias doses de radiação gama. Isto significa que as doses utilizadas não foram suficientes para causar oxidação ou degradação destes compostos.

Quanto à salada de frutas, os teores de fenólicos apresentaram diferença estatisticamente significativa, apresentando uma diminuição dos teores com a aplicação de doses de 0,5 (1330 µg eq. AG/g) e 1,0 kGy (1223 µg eq. AG/g), quando comparado à amostra não irradiada (1838 µg eq. AG/g). Porém, ao aplicar uma dose de 2,0 e 3,0 kGy, os teores ainda foram menores que a amostra não irradiada, mas maiores que as doses citadas anteriormente (1453 e 1428 µg eq. AG/g, respectivamente). Talvez estas diferenças encontradas em diferentes doses podem ser atribuídas ao mesmo motivo citado anteriormente, sobre a amostra ser composta por uma mistura de frutas com diferentes características e propriedades nutricionais, o que influenciaria na variação dos teores em relação às doses aplicadas. Entretanto, também é possível dizer que estes compostos podem ser afetados pela irradiação, dependendo do tipo de ligação presente entre as estruturas de fenólicos, o que causaria a degradação dos fenólicos (por isso a redução dos teores dependendo da dose aplicada).

Ao observar os teores de flavonóides, houve um comportamento inverso quando comparado aos teores de fenólicos, apesar dos flavonóides pertencerem à classe de compostos fenólicos. Observou-se um aumento significativo no teor de flavonóides ao mesmo tempo em que houve aumento da dose de radiação gama. Inicialmente, o teor de flavonoides na salada de frutas não irradiada foi de 149 µg eq. Cat/g. Após aplicação de 0,5 kGy, houve um aumento de aproximadamente 13% (teor encontrado de 169 µg eq. Cat/g). Com 1,0 kGy, o aumento em relação a amostra não irradiada foi de 22% e com 2,0 kGy, o aumento foi ainda maior, de 59%. Já com 3,0 kGy, o aumento foi de 43% quando comparado a salada de frutas não irradiada.

Quanto aos teores de proantocianidinas, o comportamento observado foi similar ao dos fenólicos, onde houve diminuição dos teores após a aplicação de várias doses de radiação. Após a aplicação de 0,5 kGy e 1,0 kGy, a redução do teor de proantocianidinas foi de 37%, aproximadamente, quando comparado ao teor inicialmente observado na amostra não irradiada (de 1928 para 1222 e 1213 µg eq. Cat/g). Quando aplicada a dose de 2,0 kGy, a perda foi menor, sendo esta de 22%, quando comparado a amostra controle. Entretanto, com 3,0 kGy, houve uma diminuição significativa de 29% do teor de proantocianidinas em relação ao controle. Assim, a redução observada não foi linear, ou seja, os teores variaram de acordo com a dose aplicada, porém sempre reduzidos em relação à amostra não irradiada.

A irradiação induz a acumulação de compostos fenólicos e flavonóides em plantas como um mecanismo de defesa contra a radiação gama, e o aumento dos teores de flavonóides podem ser atribuídos à indução da atividade de fenilalanina amônia-liase, que é uma das enzimas chave na síntese de compostos fenólicos em tecidos vegetais (KHATUN et al., 2012). A fenilalanina amônia-liase faz parte de um sistema enzimático encontrado no metabolismo das plantas, juntamente com a catalase, peroxidase e polifenoloxidase. Esses sistemas enzimáticos, quando ativados pelo processamento, injúrias e até mesmo quando submetidos à irradiação, causam o aparecimento de odores estranhos (*“off flavors”*), escurecimento do vegetal e lignificação da parede celular, diminuindo a qualidade do alimento (SILVA et al., 2009). Em frutas, as alterações químicas e físicas acontecem de forma mais rápida do que na maioria dos vegetais, onde provavelmente as condições para ativação do sistema enzimático são mais favoráveis, o que poderia explicar a variação dos teores de bioativos encontrada somente na salada de frutas.

Alguns estudos têm reportado a influência da radiação gama em compostos bioativos, demonstrando aumento ou perdas nos teores destes compostos. No caso do estudo da raiz de lótus citado anteriormente, os autores também avaliaram os teores de fenólicos antes e após a irradiação. Foi notado um aumento nesses teores na dose de 6 kGy, quando comparado à amostra não irradiada, hipotetizando-se que a irradiação pode ocasionar a quebra das ligações entre os polifenóis e a liberação destes como fenólicos solúveis (KHATTAK et al., 2009). Porém, Fabbri (2014) avaliou propriedades físico-químicas e sensoriais de saladas de frutas com doses de até 3 kGy e verificou que a textura e as propriedades sensoriais são afetadas quando aplicada a dose máxima estipulada no trabalho. Assim, existem dois lados a serem avaliados quando se estuda quais doses serão estipulados para avaliar um alimento, sendo um lado em relação à provável liberação de fenólicos e o aumento no teor destes no alimento e o outro em relação às mudanças físico-químicas, como textura e sabor, que podem influenciar na aceitação do produto por parte do consumidor.

Camargo et al. (2015) avaliaram o efeito da radiação gama na pele do amendoim e encontraram aumento nos teores de proantocianidinas e fenólicos totais após aplicação de doses de 2,5 e 5 kGy. Em contrapartida, foi observada redução nos teores de flavonóides neste mesmo estudo. Ou seja, o comportamento dos bioativos perante ao processo de irradiação é variável, de acordo com o tipo de alimento estudado e as doses aplicadas (KHATTAK, 2013).

Nas Figuras 34-37 são mostrados, de forma ilustrativa, os dados obtidos dos compostos bioativos analisados em cada uma das amostras estudadas.

Figura 34 – Teores de fenólicos do abacaxi minimamente processado segundo doses de radiação aplicadas

Fonte: Autor da tese.

Notas: Barras de variação representam o desvio padrão das amostras; letras diferentes em cada barra indicam diferenças estatisticamente significativas ($p < 0,05$) pelo teste ANOVA seguida de Tukey ou seu equivalente não paramétrico; valores expressos em base seca.

Figura 35 – Teores de fenólicos, flavonóides e proantocianidinas da salada de frutas minimamente processada segundo doses de radiação aplicadas

Fonte: Autor da tese.

Notas: Barras de variação representam o desvio padrão das amostras; letras diferentes em cada grupo de barras indicam diferenças estatisticamente significativas ($p < 0,05$) pelo teste ANOVA seguida de Tukey ou seu equivalente não paramétrico; valores expressos em base seca.

Figura 36 – Teores de fenólicos, flavonóides e proantocianidinas das mini cenouras minimamente processada segundo doses de radiação aplicadas

Fonte: Autor da tese.

Notas: Barras de variação representam o desvio padrão das amostras; letras diferentes em cada grupo de barras indicam diferenças estatisticamente significativas ($p < 0,05$) pelo teste ANOVA seguida de Tukey ou seu equivalente não paramétrico; valores expressos em base seca.

Figura 37 – Teores de fenólicos, flavonóides e proantocianidinas da salada Mix Primavera minimamente processada segundo doses de radiação aplicadas

Fonte: Autor da tese.

Notas: Barras de variação representam o desvio padrão das amostras; letras diferentes em cada grupo de barras indicam diferenças estatisticamente significativas ($p < 0,05$) pelo teste ANOVA seguida de Tukey ou seu equivalente não paramétrico; valores expressos em base seca.

As proantocianidinas, ou taninos condensados, variam entre dímeros e oligômeros, diferença esta que pode influenciar em sua degradação diante de aplicação de processamento nos alimentos. No caso de grandes estruturas moleculares como oligômeros e fenólicos insolúveis, estes ligados à componentes da parede celular, a dificuldade na quebra de ligações intraestruturais possibilitam a manutenção destes compostos nos alimentos, mesmo após a irradiação em baixas doses (0,5 a 5,0 kGy) (CAMARGO et.al., 2015).

Conforme descrito na Tabela 8, não foi possível determinar a quantidade de proantocianidinas no abacaxi e nas mini cenouras minimamente processadas, pois estes são encontrados em alimentos que possuem coloração avermelhada (HAN et al., 2015), o que não é o caso do abacaxi nem das mini cenouras. Na cenoura e no abacaxi, os compostos que confere coloração alaranjada e amarelada, respectivamente, são os carotenóides, que também são considerados compostos bioativos por possuírem ação antioxidante. O tipo e a disponibilidade dos carotenóides nas frutas e vegetais podem ser predictos pela coloração, onde os alimentos amarelo alaranjados são ricos em α e β -caroteno (SAINI et al., 2015).

No abacaxi também não foi possível determinar o teor de flavonóides e isto se deve, talvez, à quantidade reduzida de flavonóides no abacaxi, que possui cerca de 40 $\mu\text{g/g}$ de fruta (ALOTHMAN et al., 2009^a). Outro fator que pode influenciar na determinação dos flavonoides do abacaxi é degradação dos compostos fenólicos devido à ativação de enzimas como glicosidases, polifenoloxidasas (PPO) e peroxidases no momento do processamento das frutas (NAYAK et al., 2015). Com a quantidade reduzida e ainda a possibilidade de degradação destes compostos, o teor de flavonóides na fruta pode estar abaixo do limite de quantificação inerente à metodologia empregada.

6.3 Atividade Antioxidante

O comportamento da atividade antioxidante diante da irradiação, medida por dois métodos distintos, foi similar em todas as amostras (Tabela 9). Não houveram alterações significativas na capacidade antioxidante do abacaxi, da salada de frutas, das mini cenouras e da salada Mix Primavera antes e após a irradiação.

No abacaxi, a média da atividade medida pelo método de ORAC foi de 42 $\mu\text{mol eq. Trolox/g}$ e pelo método de DPPH• foi de 2 $\mu\text{mol eq. Trolox/g}$. Na salada de frutas, a média de atividade encontrada por ORAC e DPPH• foi de 45 e 2,4 $\mu\text{mol eq. Trolox/g}$, respectivamente. Quanto às mini cenouras, a média foi de 44 $\mu\text{mol eq. Trolox/g}$ para ORAC e 2,4 $\mu\text{mol eq. Trolox/g}$ para DPPH•. Já na salada Mix Primavera, a média de atividade antioxidante por ORAC foi de 116 $\mu\text{mol eq. Trolox/g}$ e 2,5 $\mu\text{mol eq. Trolox/g}$ por DPPH•.

Nas Figuras 38-41 são mostrados, de forma ilustrativa, os dados obtidos da atividade antioxidante analisados em cada uma das amostras estudadas (do abacaxi, da salada de frutas, das mini cenouras e da salada Mix Primavera minimamente processados).

Isto demonstra que a atividade antioxidante ainda continua nos alimentos, mesmo depois de minimamente processado e irradiado. Para pacientes que necessitam de aporte nutricional reforçado para contribuir com a recuperação da saúde, estes dados são importantes, pois mostram que o alimento ainda possui atividade antioxidante mesmo após o processamento.

Tabela 9 – Capacidade antioxidante medidos pelos métodos de ORAC e DPPH• em abacaxi, salada de frutas, mini cenouras e salada Mix Primavera minimamente processados submetidos a diferentes doses de radiação gama, expressos em micromol equivalente de Trolox/grama em base seca.

Amostras	Parâmetros	Doses (kGy)				
		Controle	0,5	1,0	2,0	3,0
Abacaxi	ORAC	41,5 ± 6,9 ^a	44,9 ± 3,4 ^a	45,6 ± 4,3 ^a	40,2 ± 0,8 ^a	40,6 ± 1,2 ^a
	DPPH•	2,1 ± 0,2 ^a	2,1 ± 0,2 ^a	2,1 ± 0,2 ^a	2,1 ± 0,1 ^a	2,1 ± 0,2 ^a
Salada de Frutas	ORAC	46,2 ± 1,0 ^a	42,8 ± 2,2 ^a	46,1 ± 6,2 ^a	45,0 ± 0,6 ^a	45,8 ± 2,7 ^a
	DPPH•	2,4 ± 0,0 ^a	2,4 ± 0,0 ^a	2,4 ± 0,0 ^a	2,4 ± 0,0 ^a	2,4 ± 0,0 ^a
Mini Cenouras	ORAC	43,1 ± 4,0 ^a	45,2 ± 2,1 ^a	45,6 ± 4,8 ^a	44,8 ± 4,0 ^a	45,3 ± 4,3 ^a
	DPPH•	2,4 ± 0,0 ^a	2,4 ± 0,0 ^a	2,4 ± 0,0 ^a	2,3 ± 0,1 ^a	2,4 ± 0,0 ^a
Salada Mix Primavera	ORAC	125,0 ± 8,8 ^a	118,3 ± 2,2 ^a	114,3 ± 4,2 ^a	115,3 ± 16,8 ^a	109,1 ± 10,1 ^a
	DPPH•	2,5 ± 0,3 ^a	2,5 ± 0,3 ^a	2,5 ± 0,2 ^a	2,5 ± 0,2 ^a	2,5 ± 0,3 ^a

Fonte: Autor da tese.

Notas: Resultados expressos como média ± desvio padrão (n=3); letras iguais na mesma linha não indicam diferenças estatisticamente significativas (p<0,05) pelo teste ANOVA.

Figura 38 – Atividade antioxidante medido pelos métodos de ORAC e DPPH• do abacaxi minimamente processado segundo doses de radiação aplicadas

Fonte: Autor da tese.

Notas: Barras de variação representam o desvio padrão das amostras; letras diferentes em cada barra/linha indicam diferenças estatisticamente significativas ($p < 0,05$) pelo teste ANOVA seguida de Tukey ou seu equivalente não paramétrico; valores expressos em base seca.

Figura 39 – Atividade antioxidante medido pelos métodos de ORAC e DPPH• da salada de frutas minimamente processada segundo doses de radiação aplicadas

Fonte: Autor da tese.

Notas: Barras de variação representam o desvio padrão das amostras; letras diferentes em cada barra/linha indicam diferenças estatisticamente significativas ($p < 0,05$) pelo teste ANOVA seguida de Tukey ou seu equivalente não paramétrico; valores expressos em base seca.

Figura 40 – Atividade antioxidante medido pelos métodos de ORAC e DPPH• das mini cenouras minimamente processada segundo doses de radiação aplicadas

Fonte: Autor da tese.

Notas: Barras de variação representam o desvio padrão das amostras; letras diferentes em cada barra/linha indicam diferenças estatisticamente significativas ($p < 0,05$) pelo teste ANOVA seguida de Tukey ou seu equivalente não paramétrico; valores expressos em base seca.

Figura 41 – Atividade antioxidante medido pelos métodos de ORAC e DPPH• da salada Mix Primavera minimamente processada segundo doses de radiação aplicadas

Fonte: Autor da tese.

Notas: Barras de variação representam o desvio padrão das amostras; letras diferentes em cada barra/linha indicam diferenças estatisticamente significativas ($p < 0,05$) pelo teste ANOVA seguida de Tukey ou seu equivalente não paramétrico; valores expressos em base seca.

Apesar de apresentarem valores distintos de capacidade antioxidante, as metodologias de DPPH• e ORAC mostraram que a atividade não foi afetada, independente do mecanismo de ação entre radical livre e antioxidante. Cada método possui sua especificidade e os resultados não podem ser comparados entre si. Na avaliação da atividade antioxidante, os métodos mais comumente usados são: sequestro do radical ABTS+; sequestro do radical estável DPPH•, a redução do ferro no método denominado FRAP (*Ferric reducing ability of plasma*), bem como avaliação da capacidade de absorção do radical de oxigênio - ORAC (CHUN et al., 2005; PRIOR et al., 2005).

Para a pesquisa sobre a atividade antioxidante, o método do radical 1,1,-difetil-2-picrilhidrazil (DPPH•) foi escolhido por ser uma reação que utiliza meio metanólico, o mesmo solvente utilizado neste trabalho para obtenção do extrato, além de ser um método simples, rápido para análise de elevado número de amostras e com boa reprodutibilidade de resultados. A escolha de um segundo método, o ORAC, teve como objetivo complementar as informações obtidas pelo método de DPPH•. Tabart e colaboradores (2009) salientam que a utilização de diversas metodologias pode compor informações exclusivas sobre as múltiplas habilidades de captura de diferentes radicais livres.

Fan (2005) avaliou a capacidade antioxidante de alface e endívia minimamente processadas submetidas à irradiação com doses de 0,5 a 2 kGy e não verificou alteração após a irradiação. Khattak (2013) não teve a mesma observação na capacidade antioxidante medida por DPPH na planta *Emblica Officinalis*. Houve uma redução capacidade antioxidante com o aumento da dose de radiação gama aplicada. A faixa de trabalho do autor foi de 3 a 12 kGy. Mesmo a menor dose, quando comparada ao controle, apresentou redução significativa na capacidade antioxidante. As diferenças no efeito da radiação gama sobre a atividade antioxidante em plantas diferentes podem ser devido a diferença na composição química e outras características do vegetal estudado.

Comparando os valores de fenólicos e atividade antioxidante, a salada Mix Primavera apresentou os maiores valores de fenólicos dentre as amostras estudadas, com média de aproximadamente 2500 µg eq. AG/g. Ao observar os valores de atividade antioxidante, a salada Mix também apresentou os maiores valores medidos pelo método de ORAC (média de 116 µmol eq. Trolox/g). Este fato contém fortes indícios e pode corroborar estudos que afirmam que os compostos fenólicos possuem forte atividade antioxidante, uma vez que a atividade medida foi analisada no mesmo extrato onde foram analisados os teores de fenólicos. Para comprovar esta afirmação, geralmente são aplicadas análises estatísticas, como a correlação.

6.4 Vitamina C

Nas Figuras 42 e 43 são mostrados os cromatogramas do ácido ascórbico antes e após a redução, em concentrações conhecidas, do abacaxi e da salada Mix Primavera minimamente processados.

A vitamina C é sensível ao aquecimento e degradada por processos oxidativos estimulados pela presença de luz, oxigênio e enzimas como ascorbato oxidase e peroxidase (ALOTHMAN et al., 2009^a). Apesar de não haver diferença estatística entre os valores de ácido ascórbico do abacaxi minimamente processado, observou-se que os valores foram diminuindo gradativamente com o aumento da radiação gama, como mostra a Tabela 10. Como produto de reação da oxidação do ácido ascórbico, era esperado que os teores de ácido deidroascórbico aumentassem nas amostras irradiadas. Estatisticamente os teores de ácido deidroascórbico foram semelhantes, mas observou-se aumento dos teores com o aumento das doses de radiação gama. Somente houve diferença estatística na dose de 3,0 kGy, quando comparado com a amostra não irradiada, com um aumento de 1,8 para 5,8 mg/100g (aumento de quase 3 vezes o valor inicial). Isto demonstra que houve oxidação de uma parte do ácido ascórbico em deidroascórbico, muito provavelmente derivado da aplicação de radiação gama. Uma hipótese é que a irradiação pode causar estresses teciduais que necessitariam de ação antioxidante, principalmente do ácido ascórbico, para prevenção do dano celular, bem como a neutralização de produtos radiolíticos por meio da atividade antioxidante da vitamina C (NUNES et al., 2013).

Ao calcular o teor de vitamina C total do abacaxi, não se observou diferença estatisticamente significativa entre os teores obtidos de acordo com cada dose aplicada, onde a média se manteve em torno de 25 mg/100g. Assim, é possível dizer que a diminuição verificada no teor de ácido ascórbico foi compensada pelo aumento de ácido deidroascórbico em razão do aumento da dose de irradiação aplicada.

Já na salada de frutas e nas mini cenouras não foi detectada a vitamina C pelo método empregado. Por serem alimentos previamente manipulados (cortados, tratados e higienizados), provavelmente a reduzida quantidade de vitamina C pode ter sido degradada neste processo e estar abaixo do limite de detecção e quantificação da metodologia utilizada.

Figura 42 – Cromatograma obtido por CLAE do ácido ascórbico extraído antes (A) e após (B) redução do ácido deidroascórbico no abacaxi minimamente processado

Fonte: Autor da tese.

Figura 43 – Cromatograma obtido por CLAE do ácido ascórbico extraído antes (A) e após (B) redução do ácido deidroascórbico na salada Mix Primavera minimamente

Fonte: Autor da tese.

Tabela 10 – Teores de vitamina C total, ácido ascórbico e ácido deidroascórbico em abacaxi, salada de frutas, mini cenouras e salada Mix Primavera minimamente processados submetidos a diferentes doses de radiação gama, expressos em miligramas de ácido ascórbico / 100 gramas em base úmida.

Amostras	Parâmetros	Doses (kGy)				
		Controle	0,5	1,0	2,0	3,0
Abacaxi	Ácido ascórbico	24,6 ± 4,3 ^a	26,0 ± 6,3 ^a	24,1 ± 3,7 ^a	18,6 ± 3,1 ^a	14,9 ± 2,6 ^a
	Ácido deidroascórbico	1,8 ± 0,7 ^a	2,1 ± 1,4 ^a	3,1 ± 0,6 ^a	3,7 ± 0,4 ^a	5,8 ± 0,4 ^b
	Vitamina C total	26,3 ± 5,0 ^a	28,1 ± 6,2 ^a	27,2 ± 4,3 ^a	22,3 ± 2,8 ^a	20,7 ± 3,0 ^a
Salada de Frutas	Ácido ascórbico	ND	ND	ND	ND	ND
	Ácido deidroascórbico	ND	ND	ND	ND	ND
	Vitamina C total	ND	ND	ND	ND	ND
Mini Cenouras	Ácido ascórbico	ND	ND	ND	ND	ND
	Ácido deidroascórbico	ND	ND	ND	ND	ND
	Vitamina C total	ND	ND	ND	ND	ND
Salada Mix Primavera	Ácido ascórbico	19,7 ± 5,0 ^a	20,4 ± 3,6 ^a	14,7 ± 4,6 ^a	13,2 ± 3,9 ^a	10,9 ± 1,4 ^a
	Ácido deidroascórbico	7,1 ± 1,1 ^a	6,1 ± 0,7 ^a	7,4 ± 3,3 ^a	9,3 ± 1,3 ^a	12,1 ± 5,9 ^a
	Vitamina C total	26,8 ± 4,1 ^a	26,5 ± 3,0 ^a	22,1 ± 1,5 ^a	22,5 ± 4,4 ^a	23,0 ± 5,8 ^a

Fonte: Autor da tese.

Notas: ND = não detectado; resultados expressos como média ± desvio padrão (n=3); letras iguais na mesma linha não indicam diferenças estatisticamente significativas (p<0,05) pelo teste ANOVA.

Nas Figuras 44 e 45 são mostrados, de forma ilustrativa, os dados obtidos de vitamina C e suas frações analisadas em cada uma das amostras estudadas (do abacaxi e da salada Mix Primavera minimamente processados).

Figura 44 – Teores de vitamina C total e suas frações (ácido ascórbico e ácido deidroascórbico) do abacaxi minimamente processado segundo doses de radiação aplicadas

Fonte: Autor da tese.

Notas: Barras de variação representam o desvio padrão das amostras; letras diferentes em cada barra indicam diferenças estatisticamente significativas ($p < 0,05$) pelo teste ANOVA seguida de Tukey ou seu equivalente não paramétrico; valores expressos em base úmida.

Figura 45 – Teores de vitamina C total e suas frações (ácido ascórbico e ácido deidroascórbico) da salada Mix Primavera minimamente processada segundo doses de radiação aplicadas

Fonte: Autor da tese.

Notas: Barras de variação representam o desvio padrão das amostras; letras diferentes em cada barra indicam diferenças estatisticamente significativas ($p < 0,05$) pelo teste ANOVA seguida de Tukey ou seu equivalente não paramétrico; valores expressos em base úmida.

O mesmo comportamento observado na amostra de abacaxi ocorreu na salada Mix Primavera, onde, do ponto de vista estatístico, os teores de ácido ascórbico não apresentaram diferença significativa. Porém, ao observar os valores em si, é possível perceber uma redução no teor de ácido ascórbico com o aumento da dose de radiação gama aplicada. Em relação ao teor de ácido deidroascórbico, houve uma relação proporcional, onde o aumento do teor foi acompanhado do aumento da dose aplicada. Entretanto, estatisticamente, não foram encontradas diferenças significativas entre os valores. Já o valor de vitamina C na salada Mix Primavera foi em média de 24 mg de ácido ascórbico/100g, sem diferenças estatisticamente significativas entre a amostra controle e os teores encontrados em cada dose aplicada, o que mostra que, novamente, houve oxidação do ácido ascórbico, muito provavelmente devido à radiação gama, porém, ao calcular o teor de vitamina C total, o aumento do teor de ácido deidroascórbico compensou a perda ocorrida nos teores de ácido ascórbico, e, por isso, os teores totais de vitamina C foram semelhantes.

Pode-se observar também que a quantidade de ácido deidroascórbico detectado nas amostras foi baixo, em relação ao de ácido ascórbico. Isto demonstra que a oxidação do ácido ascórbico foi pequena, visto que os produtos sofreram processamento e irradiação.

O mesmo resultado foi obtido por Fan e Sokorai (2008) em um estudo sobre os componentes nutricionais de 13 vegetais minimamente processados. Os autores observaram que a dose de 1 kGy não afetou os teores de vitamina C na maioria dos vegetais, mesmo após o processamento e a aplicação de baixa dose de radiação gama. Os únicos vegetais afetados foram a alface verde e roxa, que apresentaram redução de 24 e 53% nos teores de vitamina C. Talvez por esses dois vegetais serem hortaliças folhosas, a radiação tenha mais facilidade de penetração e, conseqüentemente, causa degradação de compostos.

No mesmo estudo sobre a raiz de lótus citado anteriormente, foi realizada a determinação da vitamina C na amostra, com o intuito de avaliar o efeito da radiação gama nos teores de ácido ascórbico. O mesmo efeito foi observado no presente estudo, considerando os teores de ácido ascórbico sem a adição do ácido deidroascórbico reduzido, onde os teores de vitamina diminuía quando a dose de radiação gama era aumentada.

6.5 Carotenóides

Nas Figuras 46 e 47 são mostrados os cromatogramas dos carotenóides, em concentrações conhecidas, das mini cenouras e da salada Mix Primavera minimamente processados.

Figura 46 – Cromatograma obtido por CLAE das mini cenouras minimamente processadas com a identificação do α -caroteno (454 nm) e β -caroteno (454 nm)

Fonte: Autor da tese.

Figura 47 – Cromatograma obtido por CLAE da salada Mix Primavera minimamente processada com a identificação da luteína (448 nm), α -caroteno (454 nm) e β -caroteno (454 nm)

Fonte: Autor da tese.

No abacaxi e na salada de frutas não foram encontrados teores de α -caroteno, β -caroteno e luteína, conforme observado na Tabela 11. Yano et al. (2005) em seu estudo sobre compostos em frutas descreve que algumas delas são pobres em carotenóides, dentre eles estão maçã, uva, limão, pera, morango, kiwi, cereja, abacaxi e banana. Tipicamente, as frutas contêm alguns dos principais carotenóides, juntamente com uma série de carotenóides

menores em traço ou níveis muito baixos. Além disso, a maioria das frutas e hortaliças não-folhosas têm níveis de carotenóides mais elevadas na casca do que na polpa. Carotenóides predominam em poucos tubérculos (tal como, cenoura) e xantofilas são preponderantes na cultura do milho (semente) (RODRIGUEZ-AMAYA et al., 2008).

Tabela 11 – Teores de α -caroteno, β -caroteno e luteína em abacaxi, salada de frutas, mini cenouras e salada Mix Primavera minimamente processados submetidos a diferentes doses de radiação gama, expressos em microgramas/grama em base seca.

Amostras	Parâmetros	Doses (kGy)				
		Controle	0,5	1,0	2,0	3,0
Abacaxi	α -caroteno	ND	ND	ND	ND	ND
	β -caroteno	ND	ND	ND	ND	ND
	Luteína	ND	ND	ND	ND	ND
Salada de Frutas	α -caroteno	ND	ND	ND	ND	ND
	β -caroteno	ND	ND	ND	ND	ND
	Luteína	ND	ND	ND	ND	ND
Mini Cenouras	α -caroteno	3523 $\pm$ 390 ^a	6984 $\pm$ 395 ^b	6628 $\pm$ 747 ^b	6287 $\pm$ 741 ^b	5432 $\pm$ 1012 ^b
	β -caroteno	4394 $\pm$ 388 ^a	5335 $\pm$ 320 ^a	4390 $\pm$ 1149 ^a	5313 $\pm$ 669 ^a	4450 $\pm$ 1106 ^a
	Luteína	ND	ND	ND	ND	ND
Salada Mix Primavera	α -caroteno	677 $\pm$ 75 ^a	687 $\pm$ 33 ^a	629 $\pm$ 67 ^a	657 $\pm$ 80 ^a	1012 $\pm$ 44 ^b
	β -caroteno	1433 $\pm$ 90 ^a	1713 $\pm$ 112 ^{a,b}	1559 $\pm$ 182 ^{a,b}	1847 $\pm$ 24 ^b	2284 $\pm$ 84 ^c
	Luteína	26 $\pm$ 0 ^a	26 $\pm$ 1 ^a	26 $\pm$ 2 ^a	26 $\pm$ 1 ^a	27 $\pm$ 2 ^a

Fonte: Autor da tese.

Notas: ND = não detectado; resultados expressos como média $\pm$ desvio padrão (n=3); letras iguais na mesma linha não indicam diferenças estatisticamente significativas (p<0,05) pelo teste ANOVA.

No caso da salada de frutas, composto por maçã, uva, melão e manga, o melão e a manga são reportados pela literatura como frutas que possuem quantidade pequenas de

β -caroteno (RODRIGUEZ-AMAYA et al., 2008; YANO et al., 2005). Sendo assim, quando homogeneizados com outras frutas que não apresentam quantidade significativa desse composto, torna-se difícil a quantificação. Outra hipótese que complementa a não identificação dos compostos em questão é sensibilidade do método, que podem estar abaixo do limite de quantificação inerente à metodologia empregada.

Nas mini cenouras minimamente processadas, os teores de α -caroteno na amostra não irradiada foi estatisticamente menor em relação aos teores após a irradiação, conforme pode ser observado na Figura 48. Porém não houve aumento do teor em relação ao aumento da dose aplicada. Após 0,5 kGy, os valores se mantiveram por volta de 6000 μg de α -caroteno/g. Diferentemente do α -caroteno, os teores de β -caroteno não foram alterados significativamente após a radiação gama. Verificou-se uma média de aproximadamente 4700 μg de β -caroteno/g.

A biossíntese de carotenóides nos frutos pode continuar após a colheita, pois as enzimas responsáveis pela carotenogênese ainda estão ativas (FREITAS et al., 2015). Mesmo com a inativação de enzimas pelo processo de branqueamento, a radiação gama pode ocasionar ativação dos genes responsáveis pela biossíntese dessas enzimas, o que poderia explicar o aumento do teor de α -caroteno após o tratamento. A irradiação, que também é um processo de estresse pós-colheita, pode ativar alguns sistemas antioxidantes enzimáticos e/ou não enzimáticos, contribuindo para um processo de adaptação a condições estressantes e, posteriormente, a manutenção da qualidade dos frutos e melhor potencial antioxidante (ALOTHMAN et al., 2009^b).

Outra explicação para o aumento expressivo do teor de α -caroteno observado após a irradiação pode ser devido à quebra de ligações covalentes entre carotenóides e outros componentes do alimento induzidos pela radiação gama, liberando os carotenóides e facilitando sua extração e quantificação (KAMAT et al., 2003). Porém, o aumento das doses parece não interferir na quantidade de quebra de ligações, ou seja, o aumento das doses não aumenta a extractabilidade do α -caroteno, e, consequentemente, não eleva seus teores.

Quanto à salada Mix Primavera, os teores de α -caroteno não foram afetados após a aplicação de doses de radiação gama de 0,5, 1 e 2 kGy quando comparados com a amostra não irradiada (Figura 49).

Figura 48 – Teores de α e β -caroteno das mini cenouras minimamente processada segundo doses de radiação aplicadas

Fonte: Autor da tese.

Notas: Barras de variação representam o desvio padrão das amostras; letras diferentes em cada grupo de barras indicam diferenças estatisticamente significativas ($p < 0,05$) pelo teste ANOVA seguida de Tukey ou seu equivalente não paramétrico; valores expressos em base seca.

Figura 49 – Teores de α e β -caroteno e luteína da salada Mix Primavera minimamente processada segundo doses de radiação aplicadas

Fonte: Autor da tese.

Notas: Barras de variação representam o desvio padrão das amostras; letras diferentes em cada grupo de barras indicam diferenças estatisticamente significativas ($p < 0,05$) pelo teste ANOVA seguida de Tukey ou seu equivalente não paramétrico; valores expressos em base seca.

A média se manteve em 662 μg de α -caroteno/g. Entretanto, quando aplicada uma dose de 3,0 kGy, o teor aumentou aproximadamente 50% em relação ao controle (de 677 para 1012 μg de α -caroteno/g). Em relação ao β -caroteno, foi observado um aumento gradativo dos teores relacionado ao aumento das doses de radiação gama. O controle, que inicialmente apresentou teor de 1443 μg de β -caroteno/g apresentou valor estatisticamente similar ao teor encontrado nas doses de 0,5 e 1 kGy, com valores de 1713 e 1559 μg de β -caroteno/g, respectivamente. Já na dose de 2 kGy, o teor foi 28% maior que a da amostra não irradiada e na dose de 3 kGy, o aumento foi de aproximadamente 59%. Já a luteína encontrada na salada Mix Primavera não foi afetada pela irradiação, permanecendo com valores próximos a 26 μg de luteína/g.

Nunes et al. (2013) e Bhushan e Kumta (1997) remetem à tendência de estabilidade dos carotenóides à provável presença de outros compostos que ofereçam proteção a isoprenóides contra danos da irradiação. Como a salada Mix Primavera é composta por uma mistura de vegetais, talvez compostos presentes no repolho poderiam oferecer essa proteção, podendo ser mais susceptível à oxidação ou a outras alterações diante da irradiação do que os carotenóides. Como resultado disso, doses de até 1 kGy não foram suficientes para alterar o teor de carotenóides na amostra de salada de folhas. Entretanto, o aumento observado em doses acima de 2 kGy para β -caroteno e 3 kGy para α -caroteno pode ser atribuído à ruptura de ligações covalentes entre carotenóides e outros componentes do alimento induzidos pela radiação gama, resultando em fácil extractabilidade desses compostos (KAMAT et al., 2003).

Em brotos de *dew gram*, uma espécie de leguminosa comumente encontrada e consumida na Índia, pesquisadores avaliaram o efeito da radiação gama nos carotenóides totais (NAGAR et al., 2012). Não foram observadas alterações nos teores após aplicação de doses de 1 e 2 kGy. Em contrapartida, Kamat e outros analisaram folhas de coentro e observaram que a irradiação aumentou os teores de carotenóides, ou seja, quanto maior a dose, maior o teor encontrado. As doses de trabalho foram de 1, 2 e 3 kGy.

6.6 Análise Multivariada

6.6.1 Abacaxi minimamente processado

A análise de componentes principais referente à Figura 50 revelou que o componente principal 1 (PC1) concentra 49,1% da variância total dos dados. Na Figura 50A, o PC1 separou claramente as amostras de abacaxi irradiadas com 3,0 kGy na região positiva

das demais amostras, que estão próximos ao eixo central. A Figura 50B mostra que estas amostras destacadas e separadas (com dose de 3,0 kGy) apresentam maior teor de ácido deidroascórbico, seguido de proteína, atividade antioxidante por ORAC e carboidratos. Em contrapartida, as demais variáveis estão em menor teor nesta amostra, projetados na extremidade negativa do PC1. O componente principal 2 (PC2), que explica 19,3% do total da variabilidade dos dados, separou as variáveis que apresentam os maiores teores no quadrante superior, como carboidratos, atividade antioxidante por DPPH•, compostos fenólicos e cinzas. De forma geral, a amostra de abacaxi minimamente processado não irradiado apresenta os menores teores de lipídeos em relação as demais amostras.

Figura 50 - Análise por componentes principais (PC1 x PC2) dos componentes do abacaxi minimamente processado. A) Gráfico de dispersão das amostras com diferentes doses de radiação gama e B) gráfico das variáveis que influenciam o modelo

Fonte: Autor da tese.

Legenda: A=cinzas, B=lipídeos, C=proteínas, D=carboidratos, E=compostos fenólicos, H=antioxidante por DPPH•, I=antioxidante por ORAC, J=ácido ascórbico, K=ácido deidroascórbico e L=vitamina C total.

Em relação à análise de função discriminante, que separa os grupos de amostras com significância estatística, é possível utilizar um dendrograma como ferramenta de ilustração para ilustrar alta ou baixa similaridade entre as amostras. Na Figura 51 observa-se que existe uma alta similaridade entre amostras não irradiadas e irradiadas com 0,5 e 1,0 kGy, ou seja, não diferença estatística entre estas amostras. Já as amostras irradiadas de 2,0 e 3,0 kGy são mais semelhantes, porém se diferenciam das demais amostras devido ao distanciamento observado. Basicamente, há dois grupos distintos entre as amostras de

abacaxi minimamente processado, sendo um deles composto pelas amostras não irradiadas (controle) e amostras irradiadas com 0,5 e 1,0 kGy, e o outro composto pelas amostras irradiadas com 2,0 e 3,0 kGy.

Figura 51 - Dendograma de análise hierárquica de agrupamento do abacaxi minimamente processado segundo doses de radiação aplicadas

Fonte: Autor da tese.

Já a Figura 52 confirma que as amostras submetidas a radiação gama de 3,0 kGy são estatisticamente diferentes das demais, principalmente pelo maior teor de ácido deidroascórbico e menor teor de ácido ascórbico (observado anteriormente pela análise estatística univariada). Isso confirma que quanto maior a dose de radiação gama, maior teor de ácido deidroascórbico é formado no abacaxi minimamente processado. As demais amostras não demonstraram diferenciação evidente.

Figura 52 - Análise de função discriminante do abacaxi minimamente processado. A) Gráfico de dispersão das amostras com diferentes doses de radiação gama e B) gráfico das variáveis que influenciam o modelo

Fonte: Autor da tese.

Legenda: A=cinzas, B=lipídeos, C=proteínas, D=carboidratos, E=compostos fenólicos, H=antioxidante por DPPH, I=antioxidante por ORAC, J=ácido ascórbico, K=ácido deidroascórbico e L=vitamina C total.

6.6.2 Salada de frutas minimamente processada

A análise de componentes principais referente à Figura 53 revelou que o componente principal 1 (PC1) concentra 49,9% da variância total dos dados. Na Figura 53A, o PC1 separou claramente as amostras de abacaxi controle (não irradiado) na região positiva das demais amostras. E as amostras de 0,5 e 1,0 kGy na região negativa (esquerda) do gráfico. Além disso, é possível observar uma separação entre as doses, o que sugere que há diferença entre as doses aplicadas, exceto entre as doses de 1,0 e 3,0 kGy. A Figura 53B mostra que estas amostras destacadas e separadas apresentam teor destacado de proantocianidinas, seguido de compostos fenólicos, sendo que as amostras não irradiadas apresentaram os maiores teores destes compostos e as amostras irradiadas com 0,5 e 1,0 kGy apresentam teor menor. Em contrapartida, os teores de proteínas e flavonóides estão em menor teor na amostra controle, variáveis estas projetados na extremidade negativa do PC1 (Figura 53B).

O componente principal 2 (PC2), que explica 21,3% do total da variabilidade dos dados, separou a variável que apresenta o maior teor no quadrante superior, sendo ele a atividade antioxidante por ORAC e o menor teor, no quadrante inferior, de flavonóides. De forma geral, a amostra de salada de frutas minimamente processada irradiada com 0,5 kGy

apresenta os menores teores de flavonóides em relação as demais amostras e as amostras controle apresentam maior teor de proantocianidinas. Em relação à análise de função discriminante, observa-se no dendograma da Figura 54 que existe uma alta similaridade entre amostras irradiadas com 1,0 e 3,0 kGy. Já as amostras irradiadas com 2,0 kGy são distintas das amostras irradiadas com 0,5 kGy. Basicamente, há dois grupos distintos entre as amostras de salada de frutas minimamente processadas, sendo um deles composto pelas amostras não irradiadas (controle) e as amostras irradiadas.

Figura 53 - Análise por componentes principais (PC1 x PC2) da salada de frutas minimamente processada. A) Gráfico de dispersão das amostras com diferentes doses de radiação gama e B) gráfico das variáveis que influenciam o modelo

Fonte: Autor da tese.

Legenda: A=cinzas, C=proteínas, D=carboidratos, E=compostos fenólicos, F=flavonóides, G=proantocianidinas, H=antioxidante por DPPH• e I=antioxidante por ORAC.

Já a Figura 55 confirma que há diferenças estatísticas entre as amostras não irradiadas, entre as submetidas a radiação gama de 0,5 kGy, de 1,0, 2,0 e 3,0 kGy. Porém as amostras irradiadas de 2,0 e 3,0 kGy são semelhantes. Também é possível observar que as amostras não irradiadas são diferentes das demais, principalmente pelo maior teor de proantocianidinas (observado anteriormente pela análise estatística univariada) e menor teor de proteínas. Outro ponto destacado também são as amostras de 0,5 kGy, diferenciadas pelo menor teor de flavonóides que os demais.

Figura 54 - Dendograma de análise hierárquica de agrupamento da salada de frutas minimamente processada segundo doses de radiação aplicadas

Fonte: Autor da tese.

Figura 55 - Análise de função discriminante da salada de frutas minimamente processada.
A) Gráfico de dispersão das amostras com diferentes doses de radiação gama e
B) gráfico das variáveis que influenciam o modelo

Fonte: Autor da tese.

Legenda: A=cinzas, B=proteínas, C=carboidratos, D=compostos fenólicos, E=flavonóides, F=proantocianidinas, G=antioxidante por DPPH•, H=antioxidante por ORAC, I=antioxidante por ORAC.

6.6.3 Mini Cenoura minimamente processada

A análise de componentes principais referente à Figura 56 revelou que o componente principal 1 (PC1) concentra 35,5% da variância total dos dados. Na Figura 56A, o PC1 separou as amostras de mini cenoura irradiadas com 0,5 e 2,0 kGy na região positiva e as amostras irradiadas com 1,0 e 3,0 kGy, além das amostras não irradiadas, na região negativa do gráfico (lado esquerdo). A Figura 56B mostra que estas amostras irradiadas com 0,5 e 2,0 kGy apresentam maior teor de α e β -caroteno, seguido de flavonóides. Em contrapartida, as demais variáveis estão em menor teor nesta amostra, projetados na extremidade negativa do PC1. O componente principal 2 (PC2), que explica 29,7% do total da variabilidade dos dados, separou as variáveis que apresentam os maiores teores no quadrante superior, como flavonóides e carboidratos. De forma geral, a amostra de mini cenoura minimamente processada não irradiado apresenta os maiores teores de flavonóides e, ao mesmo tempo, os menores teores de α -caroteno em relação as demais amostras.

Em relação à análise de função discriminante, no dendograma mostrado na Figura 57 mostra que existe basicamente dois grupos distintos formado pelas amostras não irradiadas, irradiadas com 1,0 e 3,0 kGy e o grupo formado pelas amostras de 0,5 e 2,0 kGy, devido ao distanciamento observado. Já as amostras controle possuem baixa similaridade com as amostras de 1,0 e 3,0 kGy. De uma forma geral, não é possível observar uma separação entre as diferentes doses aplicadas.

Já a Figura 58 confirma que as amostras não irradiadas são estatisticamente diferentes das demais, principalmente pelo menor teor de α e β -caroteno (observado anteriormente pela análise estatística univariada). Isso confirma que quanto maior a dose de radiação gama, maior o teor de α e β -caroteno na mini cenoura minimamente processada.

Figura 56 - Análise por componentes principais (PC1 x PC2) da mini cenoura minimamente processada. A) Gráfico de dispersão das amostras com diferentes doses de radiação gama e B) gráfico das variáveis que influenciam o modelo

Fonte: Autor da tese.

Legenda: A=cinzas, C=proteínas, D=carboidratos, E=compostos fenólicos, F=flavonóides, H=antioxidante por DPPH•, I=antioxidante por ORAC, M=α-caroteno e N=β-caroteno.

Figura 57 - Dendograma de análise hierárquica de agrupamento da mini cenoura minimamente processada segundo doses de radiação aplicadas

Fonte: Autor da tese.

Figura 58 - Análise de função discriminante da mini cenoura minimamente processada. A) Gráfico de dispersão das amostras com diferentes doses de radiação gama e B) gráfico das variáveis que influenciam o modelo

Fonte: Autor da tese.

Legenda: A=cinzas, C=proteínas, D=carboidratos, E=compostos fenólicos, F=flavonóides, H=antioxidante por DPPH•, I=antioxidante por ORAC, M=α-caroteno e N=β-caroteno.

6.6.4 Salada Mix Primavera

A análise de componentes principais referente à Figura 59 revelou que o componente principal 1 (PC1) concentra 35% da variância total dos dados. Na Figura 59A, o PC1 separou as amostras de salada Mix Primavera não irradiada na região positiva (quadrante direito) e amostra irradiada com 3,0 kGy na região negativa (quadrante esquerdo). As demais amostras estão situadas próximas ao eixo central. A Figura 59B mostra que a amostra controle possui maior teor de ácido ascórbico, seguido de proantocianidinas, lipídeos, atividade antioxidante por DPPH• e carboidratos. Em contrapartida, o ácido deidroascórbico, α e β-caroteno estão projetados na extremidade negativa do PC1, o que significa que a amostra não irradiada apresenta os menores teores destes compostos. O componente principal 2 (PC2), que explica 27,2% do total da variabilidade dos dados, separou as variáveis que apresentam os maiores teores no quadrante superior, como proantocianidinas, proteínas, cinzas e atividade antioxidante por DPPH•. De forma geral, a amostra de salada Mix Primavera minimamente processada não irradiada apresenta o maior teor de ácido ascórbico e o menor teor de ácido deidroascórbico em relação às demais amostras.

Figura 59 - Análise por componentes principais (PC1 x PC2) da salada Mix Primavera minimamente processada. A) Gráfico de dispersão das amostras com diferentes doses de radiação gama e B) gráfico das variáveis que influenciam o modelo

Fonte: Autor da tese.

Legenda: A=cinzas, B=lipídeos, C=proteínas, D=carboidratos, E=compostos fenólicos, F=flavonóides, G=proantocianidinas, H=antioxidante por DPPH•, I=antioxidante por ORAC, J=ácido ascórbico, K=ácido deidroascórbico, L=vitamina C total, M=α-caroteno, N=β-caroteno, O=luteína.

Em relação à análise de função discriminante, no dendograma da Figura 60 observa-se que existe basicamente dois grupos distintos, sendo um deles entre as amostras de salada Mix Primavera minimamente processada não irradiada e o outro com as demais amostras.

Já a Figura 61 confirma que as amostras submetidas a radiação gama de 3,0 kGy são estatisticamente diferentes das demais, principalmente pelo maior teor de ácido deidroascórbico e menor teor de ácido deidroascórbico (observado anteriormente pela análise estatística univariada). Isso confirma que quanto maior a dose de radiação gama, maior teor de ácido deidroascórbico é formado na salada Mix Primavera. Também é possível observar que a amostra não irradiada apresenta maior teor de ácido ascórbico e menor teor de ácido deidroascórbico. As demais amostras não demonstraram diferenciação evidente.

Figura 60 - Dendograma de análise hierárquica de agrupamento da salada Mix Primavera minimamente processada segundo doses de radiação aplicadas

Fonte: Autor da tese.

Figura 61 - Análise de função discriminante salada Mix Primavera minimamente processada. A) Gráfico de dispersão das amostras com diferentes doses de radiação gama e B) gráfico das variáveis que influenciam o modelo

Fonte: Autor da tese.

Legenda: A=cinzas, B=lipídeos, C=proteínas, D=carboidratos, E=compostos fenólicos, F=flavonóides, G=proantocianidinas, H=antioxidante por DPPH•, I=antioxidante por ORAC, J=ácido ascórbico, K=ácido deidroascórbico, L=vitamina C total, M= α -caroteno, N= β -caroteno, O=luteína.

7 CONCLUSÕES

- Diante destes dados obtidos, é possível dizer que a radiação gama, quando utilizada em baixas doses (de 0,5 a 3,0 kGy), além de trazer segurança microbiológica, não altera de forma significativa os valores nutricionais dos alimentos estudados;
- A irradiação, utilizando as doses estudadas no presente trabalho e em alimentos minimamente processados, promove a manutenção do valor nutricional do alimento, trazendo benefícios aos indivíduos que necessitam de alimentos seguros e de suficiente aporte nutricional que garanta a promoção e recuperação da saúde, tais como os imunocomprometidos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALEGRE, I.; ABADIAS, M.; ANGUERA, M.; OLIVEIRA, M.; VINAS, I. Factors affecting growth of foodborne pathogens on minimally processed apples. **Food Microbiology**, v. 27, p. 70–76, 2010.
- ALOTHMAN, M.; BHAT, R.; KARIM, A.A. Antioxidant capacity and phenolic content of selected tropical fruits from Malaysia, extracted with different solvents. **Food Chemistry**, v. 115, p. 785-788, 2009^a.
- ALOTHMAN, M.; BHAT, R.; KARIM, A.A. Effects of radiation processing on phytochemicals and antioxidants in plant produce. **Trends in Food Science & Technology**, v. 20, p. 201-212, 2009^b.
- ANDRESS, E.L. **Food Irradiation: Historical Milestones**. 2001. Disponível em: <<http://facsmail.org/ext/pubs/fdns/FDNS-E-6.pdf>>. Acesso em: 26 jul. 2016.
- ANTUNES, A.M.; MANOEL, L.; EVANGELISTA, R.M.; ONO, E.O.; VIEITES, R.L. Qualidade de cebola minimamente processada em diferentes tipos de cortes. **Horticultura Brasileira**, v. 32, p. 254-258, 2014.
- AOAC. **Official methods of analysis of AOAC**. 16. ed. Arlington, VA: AOAC International, 1995.
- ARVANITOYANNIS, I.S. **Irradiation of Food Commodities**. Techniques, Applications, Detection, Legislation, Safety and Consumer Opinion. 1. ed. London: Academic Press/Elsevier, 2010.
- BALASUNDRAM, N.; SUNDRAM, K.; SAMMAN, S. Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. **Food Chemistry**, v. 99, n. 1, p. 191–203, 2006.
- BARREIROS, A.L.B.S.; DAVID, M. Estresse oxidativo: relação entre geração de espécies reativas e defesa do organismo. **Química Nova**, v. 29, n. 1, p. 113-123, 2006.
- BARRIGA, M.L.; TRACHY, G.; WILLOMOT, C.; SIMARD, R.E. Microbial changes in shredded iceberg lettuce stored under controlled atmosphere. **Journal of Food Science**, v. 56, n. 6, p. 1586–1588, 1991.
- BEHRENS, J.H.; BARCELLOS, M.N.; FREWER, L.J.; NUNES, T.P.; LANDGRAF, M. Brazilian consumer views on food irradiation. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 10, p. 383–389, 2009.
- BEREJKA, A.J.; CLELAND, M.R.; WALO, M. The evolution of and challenges for industrial radiation processing—2012. **Radiation Physics and Chemistry**, v. 94, p. 141–146, 2014.

BHUSHAN, B.; KUMTA, U.S. Radiation response of vitamin A in aqueous dispersion. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 25, p. 131–135, 1997.

BIJL, M.; KALLENBERG, C.G.M.; VAN ASSEN, S. Vaccination of immunocompromised patients with autoimmune-inflammatory diseases. **The Netherlands Journal of Medicine**, v. 69, n. 1, p. 5-13, 2011.

BONDET, V.; BRAND-WILLIAMS, W.; BERSET, C. Kinetics and mechanisms of antioxidant activity using the DDPH* free radical method. **LWT - Food Science and Technology**, v. 30, p. 609-615, 1997.

BOUDET, A. Evolution and current status of research in phenolic compounds. **Phytochemistry**, v. 68, n. 22–24, p. 2722–2735, 2007.

BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M.E.; BERSET, C. Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. **LWT - Food Science and Technology**, v. 28, p. 25-30, 1995.

BRASIL. Instrução Normativa nº 9, de 24 de fevereiro de 2011. Dispõe em adotar as diretrizes da Norma Internacional para Medidas Fitossanitárias - NIMF nº 18 como orientação técnica para o uso da irradiação como medida fitossanitária. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento – MAPA. Disponível em: <http://sistemasweb.agricultura.gov.br/sislegis/action/detalhaAto.do?method=detalharAto&sArvore&tipo=INM&numeroAto=00000009&seqAto=000&valorAno=2011&orgao=MAPA&codTipo=&desItem=&desItemFim=>>. Acesso em: 28 jul 2016.

BRASIL^a. Resolução RDC nº 12, de 02 de janeiro de 2001. Dispõe em aprovar o Regulamento Técnico sobre Padrões Microbiológicos para Alimentos. Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA. Disponível em: http://portal.anvisa.gov.br/documents/33880/2568070/RDC_12_2001.pdf/15ffddf6-3767-4527-bfac-740a0400829b. Acesso em: 28 jul 2016.

BRASIL^b. Resolução RDC nº 21, de 26 de janeiro de 2001. Dispõe em aprovar o Regulamento Técnico para Irradiação de Alimentos. Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA. Disponível em: http://www.anvisa.gov.br/legis/resol/21_01rdc.htm. Acesso em: 28 jul 2016.

BRASIL. Resolução RDC nº 360, de 23 de dezembro de 2003. Dispõe em aprovar o Regulamento Técnico sobre Rotulagem Nutricional de Alimentos Embalados, tornando obrigatória a Rotulagem Nutricional. Ministério da Saúde - MS. Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA. Disponível em: http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/ec3966804ac02cf1962abfa337abae9d/Resolucao_RDC_n_360de_23_de_dezembro_de_2003.pdf?MOD=AJPERES. Acesso em: 28 jul 2016.

BUZBY, J.C. Older adults at risk of complications from microbial foodborne illness. **Food Review: The Magazine of Food Economics**, v. 25, n. 2, p. 30-35, 2002.

- CALVO, W.A.P. **Desenvolvimento do sistema de irradiação em um irradiador multipropósito de cobalto-60 tipo compacto**. 2005. Tese (Doutorado) – Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares - IPEN-CNEN/SP, Universidade de São Paulo, São Paulo. 159 p.
- CAMARGO, A.C.; REGITANO-D'ARCE, M.A.B; GALLO, C.R.; SHAHIDI, F. Gamma-irradiation induced changes in microbiological status, phenolic profile and antioxidant activity of peanut skin. **Journal of Functional Foods**, v. 12, p. 129-143, 2015.
- CAO, G.; PRIOR, R.L. Measurement of oxygen radical absorbance capacity in biological samples. **Methods in Enzymology**, v. 299, p. 50-62, 1999.
- CCR – Center for Consumer Research. **Is This Technology Being Used in Other Countries?** Center for Consumer Research. University of California, Davis. 2006. Disponível em: < http://ccr.ucdavis.edu/irr/tech_other.shtml>. Acesso em: 01 ago 2016.
- CENCI, S.A. **Processamento mínimo de frutas e hortaliças: tecnologia, qualidade e sistemas de embalagem**. Rio de Janeiro: Embrapa Agroindústria de Alimentos, 2011.
- CGEE - Centro de Gestão e Estudos Estratégicos. **Irradiadores e Aplicações**. Centro de Gestão e Estudos Estratégicos. [s.d.]. Disponível em: <<http://appasp.cnen.gov.br/acnen/pnb/Palestra5-2-Processamento-Irradia%C3%A7%C3%A3o-Agroneg%C3%B3cio.pdf>>. Acesso em: 01 ago 2016.
- CHANG, S.K.; ALASALVAR, C.; SHAHIDI, F. Review of dried fruits: Phytochemicals, antioxidant efficacies, and health benefits. **Journal of Functional Foods**, v. 21, p. 113–132, 2016.
- CHEN, G.; CHEN, H. Extraction and deglycosylation of flavonoids from sumac fruits using steam explosion. **Food Chemistry**, v. 126, p. 1934-1938, 2011.
- CHUN, O.K.; KIM, D.O.; SMITH, N.; SCHROEDER, D.; HAN, J.T.; LEE, C.Y. Daily consumption of phenolics and total antioxidant capacity from fruit and vegetables in the American diet. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 85, p. 1715-1724, 2005.
- DANGLES, O.; DUFOUR, C.; BRET, S. Flavonol–serum albumin complexation: two-electron oxidation of flavonols and their complexes with serum albumin. **Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions 1**, v. 2, p. 737–744, 1999.
- DAUD, Z.; ISMAIL, A.; SARMADI, B. Ascorbic Acid: Physiology and Health Effects. In: CABBALERO, B.; FINGLAS, M.; TOLDRA, F. **Encyclopedia of Food and Health**. Oxford: Elsevier, 2016. p. 266-274.
- DEL MASTRO, N. A radiação ionizante na promoção da alimentação adequada e saudável. **Vigilância Sanitária em Debate: Sociedade, Ciência & Tecnologia**, v. 3, n. 2, p. 114-121, 2015.
- DIEHL, J.F. Food irradiation - past, present and future. **Radiation Physics and Chemistry**, v. 63, p. 211–215, 2002.

- EHLERMANN, D.A.E. The early history of food irradiation. **Radiation Physics and Chemistry**, 2016. In press. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0969806X16302328>>. Acesso em: 26 jul. 2016.
- ELLISON, S.L. Carotenoids: Physiology. In: CABBALERO, B.; FINGLAS, M.; TOLDRA, F. **Encyclopedia of Food and Health**. Oxford: Elsevier, 2016. p.670-675.
- FABBRI, A.T.D. **Avaliação microbiológica, físico-química e sensorial de salada de frutas irradiada pronta para o consumo de imunocomprometidos**. 2014. Tese (Doutorado) – Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares - IPEN-CNEN/SP, Universidade de São Paulo, São Paulo. 114 p.
- FAN, X. Antioxidant capacity of fresh-cut vegetables exposed to ionizing radiation. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 85, p. 995–1000, 2005.
- FAN, X.; SOKORAI, K.J.B. Retention of quality and nutritional value of 13 fresh-cut vegetables treated with low-dose radiation. **Journal of Food Science**, v. 73, p. S367–S372, 2008.
- FAO – Food and Agriculture Organization of The United Nations. **FAOSTAT**. 2013. Disponível em: <http://faostat3.fao.org/browse/Q/*/E>. Acesso em: 01 ago 2016.
- FARKAS, J. Irradiation for better foods. **Trends Food Sci. Technol.**, v. 17, p. 148–152, 2006.
- FARKAS, J.; FARKAS-MOHÁCSI, C. History and future of food irradiation. **Trends in Food Science & Technology**, v. 22, p. 121-126, 2011.
- FELICIANO, C.P.; DE GUZMAN, Z.M.; TOLENTINO, L.M.M.; COBAR, M.L.C.; ABRERA, G.B. Radiation-treated ready-to-eat (RTE) chicken breast Adobo for immunocompromised patients. **Food Chemistry**, v. 163, p. 142–146, 2014.
- FELLOWS, P.J. **Tecnologia do processamento de alimentos: princípios e prática**. 2.ed. Porto Alegre: Artmed, 2006.
- FERREIRA, A.L.A.; MATSUBARA, L.S. Radicais livres: conceitos, doenças relacionadas, sistema de defesa e estresse oxidativo. **Revista da Associação Médica Brasileira**, v. 43, n. 1, p. 61-68, 1997.
- FISCHER, D. **History of the International Atomic Energy Agency: the first forty years**. Vienna: International Atomic Energy Agency. 1997. Disponível em: <http://www-pub.iaea.org/MTCD/publications/PDF/Pub1032_web.pdf>. Acesso em: 01 ago 2016.
- FRANCO, B.D.G.M.; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos Alimentos**. São Paulo: Atheneu, 2008.

- FREITAS, A.; MOLDÃO-MARTINS, M.; COSTA, H.S.; ALBUQUERQUE, T.G.; VALENTE, A.; SANCHES-SILVA, A. Effect of UV-C radiation on bioactive compounds of pineapple (*Ananas comosus* L. Merr.) by-products. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 95, p. 44-52, 2015.
- GARCIA, R.W.D. A dieta hospitalar na perspectiva dos sujeitos envolvidos em sua produção e em seu planejamento. **Revista de Nutrição**, v. 19, n. 2, p. 129-144, 2006.
- GIBBONS, K. **Partnering for Success. Produce Processing**. 2013. Disponível em: <<http://produceprocessing.net/article/partnering-for-success>>. Acesso em: 01 ago 2016.
- GLAZER, A.N. Phycoerythrin fluorescence-based assay for reactive oxygen species. **Methods in Enzymology**, v. 186, p. 161-168, 1990.
- GHOBRIL, C.N. **Gestão tecnológica para instalação de um irradiador de alimentos no Vale do Ribeira**. 2008. Tese (Doutorado) – Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares - IPEN-CNEN/SP, Universidade de São Paulo, São Paulo. 271 p.
- GOODBURN, C.; WALLACE, C.A. The microbiological efficacy of decontamination methodologies for fresh produce: a review. **Food Control**, v. 32, p. 418–427, 2013.
- GRIFFITHS, H.R. Antioxidants: Characterization and Analysis. In: CABBALERO, B.; FINGLAS, M.; TOLDRA, F. **Encyclopedia of Food and Health**. Oxford: Elsevier, 2016. p. 221-226.
- GUNDUC, N.; EL, S.N. Assessing antioxidant activities of phenolic compounds of common Turkish food and drinks on in vitro low-density lipoprotein oxidation. **Journal of Food Science**, v. 68, n. 8, p. 2591-2595, 2003.
- HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J.M.C. **Free Radicals in Biology and Medicine**. 4 ed., Oxford: University Press, 2007. p. 268–340.
- HALLIWELL, B.; RAFTER, J.; JENNER, A. Health promotion by flavonoids, tocopherols, tocotrienols and other phenols: direct or indirect effects? Antioxidant or not? **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 81, n. 1, p. 268S-276S, 2005.
- HALLMAN, G.J. Process control in phytosanitary irradiation of fresh fruits and vegetables as a model for other phytosanitary treatment processes. **Food Control**, 2016. In press. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0956713516300561>>. Acesso em: 26 jul. 2016.
- HAN, K.H.; KITANO-OKADA, T.; SEO, J.M.; KIM, S.; SASAKI, K.; SHIMADA, K.; FUKUSHIMA, M. Characterisation of anthocyanins and proanthocyanidins of adzuki bean extracts and their antioxidant activity. **Journal of Functional Foods**, v. 14, p. 692–701, 2015.
- HANEKOM, S.M.; VERMEULEN, E.E.; OLDEWAGE-THERON, W. Food safety risk factors in a hospital food service unit serving low microbial diets to immune-compromised patients. **African Journal of Food, Agriculture, Nutrition and Development**, v. 10, n. 9, p. 4000-4015, 2010.

- HARWELL. **Dosimeters**. 2014. Disponível em: <<http://www.harwell-dosimeters.co.uk/>>. Acesso em: 01 ago 2016
- HOLLMAN, P.C.H.; KATAN, M.B. Dietary flavonoids: intake, health effects and bioavailability. **Food and Chemical Toxicology**, v. 37, n. 9, p. 937-942, 1999.
- HUANG, D.; OU, B.; HAMPSCH-WOODILL, M.; FLANAGAN, J.; PRIOR, R. High-throughput assay of oxygen radical absorbance capacity (ORAC) using a multichannel liquid handling system coupled with microplate fluorescence reader in 96-well format. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 50, p. 4437-4444, 2002.
- HUANG, D.; OU, B.; PRIOR, R.L. The chemistry behind antioxidant capacity assays. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, n. 6, p. 1841-1856, 2005.
- HUSSAIN, P.R.; CHATTERJEE, S.; VARIYAR, P.S.; SHARMA, A.; DAR, MA.; WANI, A.M. Bioactive compounds and antioxidant activity of gamma irradiated sun dried apricots (*Prunus armeniaca* L.). **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 30, p. 59-66, 2013.
- IAEA - International Atomic Energy Agency. **Atoms for Peace Speech**. International Atomic Energy Agency. 2014. Disponível em: <<https://www.iaea.org/about/history/atoms-for-peace-speech>>. Acesso em: 01 ago 2016.
- IAEA - International Atomic Energy Agency. **Irradiation to Ensure the Safety and Quality of Prepared Meals**. International Atomic Energy Agency, Vienna, 2009.
- IAEA - International Atomic Energy Agency. **The Development of Irradiated Foods for Immunocompromised Patients and other Potential Target Groups**. Coordinated Research Project D 62009. Report of the Fourth and Final Coordination Meeting International Atomic Energy Agency. 2015. Disponível em: <<http://www-naweb.iaea.org/nafa/fep/crp/CRP62009-Report-FinalRCM-Vienna-Austria-Jun15.pdf>>. Acesso em: 01 ago 2016.
- IGNAT, I.; VOLF, I.; POPA, V.I. A critical review of methods for characterisation of polyphenolic compounds in fruits and vegetables. **Food Chemistry**, v. 126, n. 4, p. 1821-1835, 2011.
- IPEN - Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares. **Irradiador Multipropósito**. Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares. 2016. Disponível em: <<https://www.ipen.br>>. Acesso em: 01 ago 2016.
- ISMAIL, Y.; UMIT, G. Effect of gamma irradiation on trans fatty acid composition in ground beef. **Food Control**, v. 18, n. 6, p. 635-638, 2007.
- ISSA, A.Y.; VOLATE, S.R.; WARGOVICH, M.J. The role of phytochemicals in inhibition of cancer and inflammation: New directions and perspectives. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 19, n. 5, p. 405-419, 2006.

- JEFFERS, L.A. **Radura symbol**. APHIS PPQ Phytosanitary Irradiation Program. USDA/IAEA. 2015. Disponível em: <https://www.iaea.org/technicalcooperation/documents/Presentations/RLA5066/Laura_JEFFERS.pdf>. Acesso em: 01 ago 2016.
- KALINOWSKA, M.; BIELAWSKA, A.; LEWANDOWSKA-SIWKIEWICZ, H.; PRIEBED, W.; LEWANDOWSKI, W. Apples: Content of phenolic compounds vs. variety, part of apple and cultivation model, extraction of phenolic compounds, biological properties. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 84, p. 169–188, 2014.
- KAMAT, A.; PINGULKAR, K.; BHUSHAN, B.; GHOLAP, A.; THOMAS, P. Potential application of low dose gamma irradiation to improve the microbiological safety of fresh coriander leaves. **Food Control**, v. 14, n. 8, p. 529–537, 2003.
- KARAKAYA, S. Bioavailability of phenolic compounds. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 44, p. 453-464, 2004.
- KHATTAK, K.F. Proximate composition, phytochemical profile and free radical scavenging activity of radiation processed *Emblica officinalis*. **International Food Research Journal**, v. 20, p. 1125-1131, 2013.
- KHATTAK, K.F.; SIMPSON, T.J.; IHASNULLAH. Effect of gamma radiation on the microbial load, nutrient composition and free radical scavenging activity of *Nelumbo nucifera* rhizome. **Radiation Physics and Chemistry**, v. 78, p. 206–212, 2009.
- KHATUN, A.; HOSSAIN, A.; ISLAM, M.; HOSSAIN, A.; MUNSHI, K.; HUQUE, R. Effect of gamma radiation on antioxidant marker and microbial safety of fresh bitter gourd (*Momordica charantia* L.). **International Journal of Biosciences**, v. 2, n. 11, p. 43-49, 2012.
- KOMOLPRASERT, V.; MOREHOUSE, K.M. **Irradiation of Food and Packaging**. 1. ed. Silver Spring, MD: American Chemical Society, 2004. (ACS Symposium Series, Book 875)
- KOVÁCS, A. **Ideal dosimetry system - Dosimetry systems in current use**. Institute of Isotopes. Hungarian Academy of Sciences/IAEA. [s.d.]. Disponível em: <http://www.iaea.org/inis/collection/NCLCollectionStore/_Public/39/066/39066538.pdf>. Acesso em: 01 ago 2016.
- LEE, J.H.; KIM, J.K.; PARK, J.N.; YOON, Y.M.; SUNG, N.Y.; KIM, J.H.; SONG, B.S.; YOON, H.S.; KIM, B.K.; LEE, J.W. Evaluation of instant cup noodle, irradiated for immuno-compromised patients. **Radiation Physics and Chemistry**, v. 81, n. 8, p. 1115–1117, 2012.
- LERFALL, J. Carotenoids: Occurrence, Properties and Determination. In: CABBALERO, B.; FINGLAS, M.; TOLDRA, F. **Encyclopedia of Food and Health**. Oxford: Elsevier, 2016. p.663-669.

- LEONEL, F.R. **Irradiação e qualidade da carne de frango congelada e embalada a vácuo**. 2008. Tese (Doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal. 88 p.
- LEONG, S.Y; OEY, I. Effect of endogenous ascorbic acid oxidase activity and stability on vitamin C in carrots (*Daucus carota* subsp. *sativus*) during thermal treatment. **Food Chemistry**, v. 134, n. 4, p. 2075–2085, 2012.
- LIYANA-PATHIRANA, C.; SHAHIDI, F. Optimization of extraction of phenolic compounds from wheat using response surface methodology. **Food Chemistry**, v. 93, n. 1, p. 43-56, 2005.
- LIMA, K.S.C.; LIMA, A.L.S.; LUCHESE, R.H.; GODOY, R.L.O.; SABAA-SRUR, A.U.O. Cenouras minimamente processadas em embalagens com atmosferas modificadas e tratadas com radiação gama: avaliação microbiológica, físico-química e química. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 23, n. 2, p. 240-250, 2003.
- LIMA FILHO, T.; TEIXEIRA, L.J.Q.; ROCHA, C.T.; FERREIRA, G.A.M.F.; SOUZA, M.C.S. Energia ionizante na conservação de alimentos: revisão. **Boletim do CEPPA**, v. 30, n. 2, p. 243-254, 2012.
- LIMA, R.S.; AFONSO, J.C.; PIMENTEL, L.C.F. Raios-x: fascinação, medo e ciência. **Química Nova**, v. 32, n. 1, p. 263-270, 2009.
- LIU, R.H. Potencial synergy of phytochemicals in câncer prevention: mechanism of action. **The Journal of Nutrition**, v. 134, n. 12, p. 3479S-3485S, 2004.
- LIU, R.H. Whole grain phytochemicals and health. **Journal of Cereal Science**, v. 46, n. 3, p. 207-219, 2007.
- LUND, B.M. Microbiological food safety and a low-microbial diet to protect vulnerable people. **Foodborne Pathogens and Disease**, v. 11, n. 6, p. 413-424, 2014.
- LUND, B.M.; O'BRIEN, S.J. Microbiological safety of food in hospitals and other healthcare settings. **Journal of Hospital Infection**, v. 73, n. 2, p. 109-120, 2009.
- MADHUJITH, T.; SHAHIDI, F. Antioxidant potencial of pea beans (*Phaseolus vulgaris* L.). **Journal of Food Science**, v. 70, n. 1, p. s85-s90, 2005.
- MAISTRO, L.C.; MIYA, N.T.N.; SANT'ANA, A.S.; PEREIRA, J.L. Microbiological quality and safety of minimally processed vegetables marketed in Campinas, SP – Brazil, as assessed by traditional and alternative methods. **Food Control**, v. 28, n. 2, p. 258–264, 2012.
- MANACH, C.; SCALBERT, A.; MORAND, C.; RÉMÉSY, C.; JIMENEZ, L. Polyphenols: food sources and bioavailability. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 79, p. 727-747, 2004.

- MATTHÄUS, B. Antioxidant activity of extracts obtained from residues of different oilseeds. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 50, n. 12, p. 3444-3452, 2002.
- MENDIS, E.; RAJAPAKSE, N.; KIM, S.K. Antioxidant properties of a radicalscavenging peptide purified from enzymatically prepared fish skin gelatin hydrolysate. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, n. 3, p. 581-587, 2005.
- MODANEZ, L. **Aceitação de alimentos irradiados: uma questão de educação**. 2012. Tese (Doutorado) – Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares - IPEN-CNEN/SP, Universidade de São Paulo, São Paulo. 104 p.
- MOLYNEUX, P. The use of the stable free radical diphenylpicryl-hydrazil (DPPH[•]) for estimating antioxidant activity. **Songklanakarin Journal of Science and Technology**, v. 26, n. 2, p. 211-219, 2004.
- MOHÁCSI-FARKAS, C. Food irradiation: Special solutions for the immuno-compromised. **Radiation Physics and Chemistry**, 2016. In press. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0969806X16302092>>. Acesso em: 01 ago. 2016.
- MOHÁCSI-FARKAS, C.; NIYRŐ-FEKETE, B.; DAOOD, H.; DALMADI, I.; KISKÓ, G. Improving microbiological safety and maintaining sensory and nutritional quality of pre-cut tomato and carrot by gamma irradiation. **Radiation Physics and Chemistry**, n. 99, p. 79-85, 2014.
- MONEGO, D.L.; ROSA, M.B.; NASCIMENTO, P.C. Applications of computational chemistry to the study of the antiradical activity of carotenoids: A review. **Food Chemistry**, v. 217, p. 37–44, 2017.
- MOODY, K.; CHARLSON, M.E.; FINLAY, J. The Neutropenic Diet: What's the Evidence? **Journal of Pediatric Hematology/Oncology**, v. 24, n. 9, 2002.
- MOREHOUSE, K.M.; KOMOLPRASERT, V. Irradiation of Food and Packaging: An Overview. In: KOMOLPRASERT, V.; MOREHOUSE, K.M. (Ed.). **Irradiation of Food and Packaging**. 1. ed. Silver Spring, MD: American Chemical Society, 2004. (ACS Symposium Series, Book 875) p. 1-11.
- NACZK, M.; SHAHIDI, F. Extraction and analysis of phenolics in food. **Journal of Chromatography A**, v. 1054, p. 95-111, 2004.
- NAGAR, V.; HAJARE, S.N.; SAROJ, S.; BANDEKARL, J.R. Radiation processing of minimally processed sprouts (dew gram and chick pea): effect on sensory, nutritional and microbiological quality. **International Journal of Food Science & Technology**, v. 47, p. 620–626, 2012.

- NALDER, K. **Point of sale irradiated tomatoes & capsicums**. Importing Irradiated Fresh Produce into New Zealand. New Zealand Fresh Produce Importers Association/IAEA. 2015. Disponível em: <https://www.iaea.org/technicalcooperation/documents/Presentations/RLA5066/Kevin_NALDER.pdf>. Acesso em: 01 ago 2016.
- NAM, S.H; CHOI, S.P.; KANG, M.Y.; KOZUKUE, N.; FRIEDMAN, M. Antioxidative, antimutagenic and anticarcinogenic activities of rice bran extracts in chemical and cell assays. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, p. 816-822, 2005.
- NATHAWAT, N.S.; JOSHI, P.; CHHIPA, B.G.; HAJARE, S.; GOTAL, M.; SAHU, M.P.; SINGH, G. Effect of gamma radiation on microbial safety and nutritional quality of kachri (*Cucumis callosus*). **Journal of Food Science and Technology**, v. 50, p. 723-730, 2013.
- NAYAK, B.; LIU, R.H. TANG, J. Effect of processing on phenolic antioxidants of fruits, vegetables, and grains—A Review. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 55, p. 887-918, 2015.
- NOJAVAN, S.; KHALILIAN, F.; KIAIE, F.M.; RAHIMI, A.; ARABANIAN, A.; CHALAVI, S. Extraction and quantitative determination of ascorbic acid during different maturity stages of *Rosa canina* L. fruit. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 21, p. 300–305, 2008.
- NORDION. **The history of food irradiation**. 2011. Disponível em: <http://www.nordion.com/wp-content/uploads/2014/10/GT_History-of-Food-Irradiation.pdf>. Acesso em: 01 ago 2016.
- NUNES, T.C.F. **Avaliação microbiológica, físico-química e sensorial de salada de repolho com cenoura minimamente processada após o tratamento por radiação gama destinado a pacientes imunocomprometidos ou com dietas especiais**. 2015. Tese (doutorado) – Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares - IPEN-CNEN/SP, Universidade de São Paulo, São Paulo. 79 p.
- NUNES, T.P.; MARTINS, C.G.; FARIA, A.F.; BÍSCOLA, V.; SOUZA, K.L.O.; MERCADANTE, A.Z.; CORDENUNSI, B.R.; LANDGRAF, M. Changes in total ascorbic acid and carotenoids in minimally processed irradiated Arugula (*Eruca sativa* Mill) stored under refrigeration. **Radiation Physics and Chemistry**, v. 90, p. 125–130, 2013.
- OLIVEIRA, M.A.; SOUZA, V.M.; BERGAMINI, A.M.M.; MARTINIS, E.C.P. Microbiological quality of ready-to-eat minimally processed vegetables consumed in Brazil. **Food Control**, v. 22, n. 8, p. 1400–1403, 2011.
- OMS – Organização Mundial da Saúde. **Foodborne disease**. Disponível em: <http://www.who.int/foodsafety/foodborne_disease/en/>. Acesso em 10 jun. 2012.
- OU, B.; HAMPSCH-WOODILL, M.; PRIOR, R. Development and validation of an improved oxygen radical absorbance capacity assay using fluorescein as the fluorescent probe. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 49, p. 4619-4626, 2001.

- PATIL, B.S. Irradiation applications to improve functional components of fruits and vegetables. In: KOMOLPRASERT, V.; MOREHOUSE, K.M. (Ed.). **Irradiation of Food and Packaging**. 1. ed. Silver Spring, MD: American Chemical Society, 2004. (ACS Symposium Series, Book 875) p. 117–137.
- PATRIGNANI, F.; SIROLI, L.; SERRAZANETTI, D.I.; GARDINI, F.; LANCIOTTI, R. Innovative strategies based on the use of essential oils and their components to improve safety, shelf-life and quality of minimally processed fruits and vegetables. **Trends in Food Science & Technology**, v. 46, n. 2, p. 311–319, Part B, 2015.
- PÉREZ-JIMÉNEZ, J.; SAURA-CALIXTO, F. Effect of solvent and certain food constituents on different antioxidant capacity assays. **Food Research International**, v. 39, n. 7, p. 791–800, 2006.
- PEROZZI, M. Irradiação: tecnologia boa para aumentar exportações de frutas. **Inovação Uniemp**, v. 3, n. 5, p. 42–44, 2007.
- PLAZA, L.; CRESPO, I.; PASCUAL-TERESA, S.; ANCOS, B.; SÁNCHEZ-MORENO, C.; MUÑOZ, M.; CANO, M.P. Impact of minimal processing on orange bioactive compounds during refrigerated storage. **Food Chemistry**, v. 124, p. 646–651, 2011.
- PRAKASH, A. Particular applications of food irradiation Fresh produce. **Radiation Physics and Chemistry**, 2016. In press. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0969806X16302286>>. Acesso em: 26 jul. 2016.
- PRIOR, R.L.; WU, X.; SCHAICH, K. Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, n. 10, p. 4290–4302, 2005.
- PRYKE, D.C.; TAYLOR, R.R. The use of irradiated food for immunosuppressed patients in the United Kingdom. **Journal of Human Nutrition and Dietetics**, v. 8, n. 6, p. 411–416, 1995.
- RICO, D.; MARTÍN-DIANA, A.B.; BARAT, J.M.; BARRY-RYAN, C. Extending and measuring the quality of fresh-cut fruit and vegetables: a review. **Trends in Food Science & Technology**, v. 18, n. 7, p. 373–386, 2007.
- RIQUE, A.B.R.; SOARES, E.A.; MEIRELLES, C.M. Nutrição e exercício na prevenção e controle das doenças cardiovasculares. **Revista Brasileira de Medicina do Esporte**, v. 8, n. 6, p. 244–254, 2002.
- ROBERTS, P.B. Food irradiation: Standards, regulations and world-wide trade. **Radiation Physics and Chemistry**, 2016. In press. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0969806X16301815>>. Acesso em: 01 ago. 2016.

- RODRIGUEZ-AMAYA, D.B.; KIMURA, M.; GODOY, H.T.; AMAYA-FARFAN, J. Updated Brazilian database on food carotenoids: Factors affecting carotenoid composition. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 21, n. 6, p. 445–463, 2008.
- ROSS, J.A.; KASUM, C.M. Dietary flavonoids: bioavailability, metabolic effects, and safety. **Annual Review of Nutrition**, v. 22, p. 19-34, 2002.
- RUIZ, B.G.; ROUX, S.; COURTOIS, F.; BONAZZI, C. Spectrophotometric method for fast quantification of ascorbic acid and dehydroascorbic acid in simple matrix for kinetics measurements. **Food Chemistry**, v. 211, p. 583–589, 2016.
- SAINI, R.K.; NILE, S.H.; PARK, S.W. Carotenoids from fruits and vegetables: Chemistry, analysis, occurrence, bioavailability and biological activities. **Food Research International**, v. 76, p. 735–750, 2015.
- SANTOS, M.I.; CAVACO, A.; GOUVEIA, J.; NOVAIS, M.R.; NOGUEIRA, P.J.; PEDROSO, L.; FERREIRA, M.A.S.S. Evaluation of minimally processed salads commercialized in Portugal. **Food Control**, v. 23, n. 1, p. 275-281, 2012.
- SCALBERT, A.; WILLIAMSON, G. Dietary intake and bioavailability of polyphenols. **The Journal of Nutrition**, v. 130 (suppl.), p. 2073S-2085S, 2000.
- SCHÖNFELDT, H.C.; PRETORIUS, B.; HALL, N. Bioavailability of Nutrients. In: CABBALERO, B.; FINGLAS, M.; TOLDRA, F. **Encyclopedia of Food and Health**. Oxford: Elsevier, 2016. p.401-406.
- SEBRAE. **Hortalicas minimamente processadas**. Estudo de Mercado SEBRAE/ESPM. 2008. Disponível em: <http://www.anapa.com.br/principal/images/stories/Sebrae/hortalicas_relatorio.pdf>. Acesso em: 01 ago 2016.
- SEBRAE. **Mercado de fruticultura**. Agronegócio Fruticultura. Boletim de Inteligência. 2015. Disponível em: <<http://www.sebraemercados.com.br/wp-content/uploads/2015/11/Panorama-do-mercado-de-fruticultura-no-Brasil.pdf>>. Acesso em: 01 ago 2016.
- SÉRINO, S.; GOMEZ, L.; COSTAGLIOLA, G.; GAUTIER, H. HPLC Assay of tomato carotenoids: validation of a rapid microextraction technique. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 57, p. 8753-8760, 2009.
- SILLANI, S.; NASSIVERA, F. Consumer behavior in choice of minimally processed vegetables and implications for marketing strategies. **Trends in Food Science & Technology**, v. 46, p. 339–345, Part B, 2015.
- SILVA, E.O.; PINTO, P.M.; JACOMINO, A.P.; SILVA, L.T. **Processamento mínimo de produtos hortifrutícolas**. Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, 2011. Disponível em: <<http://www.cnpat.embrapa.br/cnpat/down/index.php?pub/Doc139.pdf>>. Acesso em: 26 jul. 2016.

- SILVA, K.D.; BRAGA, V.O.; QUINTAES, K.D.; HAJ-ISA, N.M.A.; NASCIMENTO, E.S. Conhecimento e atitudes sobre alimentos irradiados de nutricionistas que atuam na docência. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 30, n. 3, p. 645-651, 2010.
- SILVA, M.A. **Efeitos da irradiação gama na descontaminação do Jerked Beef comercializado em Recife-PE**. 2011. Tese (Doutorado) – Universidade Federal do Pernambuco, Recife. 103 p.
- SILVA, M.V.; ROSA, C.I.L.F.; BOAS, E.V.B.V. Conceitos e métodos de controle do escurecimento enzimático no processamento mínimo de frutas e hortaliças. **Boletim do CEPPA**, v. 27, n. 1, p. 83-96, 2009.
- SINGH, B.; SINGH, J.P.; KAUR, A.; SINGH, N. Bioactive compounds in banana and their associated health benefits – A review. **Food Chemistry**, v. 206, p. 1–11, 2016.
- SINGLETON, V.L.; ORTHOFER, R.; LAMMELA-RAVENSON, R.M. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. **Methods in Enzymology**, v. 299, p. 152-178, 1999.
- SIROLI, L.; PATRIGNANI, F.; SERRAZANETTI, D.I.; TAPPI, S.; ROCCULI, P.; GARDINI, F.; LANCIOTTI, R. Natural antimicrobials to prolong the shelf-life of minimally processed lamb's lettuce. **Postharvest Biol. Technol.**, v. 103, p. 35–44, 2015.
- SOARES, S.E. Ácidos Fenólicos como antioxidantes. **Revista de Nutrição**, v. 15, n. 1, p. 71-81, 2002.
- SOBRATTEE, M.A.; NEERGHEEN, V.S.; LUXIMON-RAMMA, A.; ARUOMA, O. I.; BAHORUN, T. Phenolics as potential antioxidant therapeutic agents: Mechanism and actions. **Mutation Research**, v. 579, p. 200-213, 2005.
- SPÍNOLA, V.; LLORENT-MARTÍNEZ, E.J.; CASTILHO, P.C. Determination of vitamin C in foods: Current state of method validation. **Journal of Chromatography A**, v. 1369, p. 2-17, 2014.
- SPOTO, M.H.F. **Uso da energia nuclear na preservação de alimentos**. ESALQ/USP. [s.d.] Disponível em: http://disciplinas.stoa.usp.br/pluginfile.php/128427/mod_resource/content/1/Aula%20%20Irradia%C3%A7%C3%A3o%20de%20Alimentos%202013%20-%20Introdu%C3%A7%C3%A3o.pdf. Acesso em: 01 ago 2016.
- SVILAAS, A.; SAKHI, A.K.; ANDERSEN, L.F.; SVILLAS, T.; STROM, E.C.; JACOBS Jr., D.R.; OSE, L.; BLOMHOFF, R. Intakes of antioxidants in coffee, and vegetables are correlated with plasma carotenoid in humans. **The Journal of Nutrition**, v. 3, n. 134, p. 562-567, 2004.
- TABART, J.; KEVERS, C.; PINCEMAIL, J.; DEFRAIGNE, J.O.; DOMMES, J. Comparative antioxidant capacities of phenolic compounds measured by various tests. **Food Chemistry**, v. 113, p. 1226–1233, 2009.

- TACO. **Tabela Brasileira de Composição de Alimentos**. NEPA/UNICAMP. 2011.
Disponível em: <
http://www.unicamp.br/nepa/taco/contar/taco_4_edicao_ampliada_e_revisada>. Acesso em: 01 ago 2016.
- TARRAGO-TRANI, M.T.; PHILLIPS, K.M.; COTTY, M. Matrix-specific method validation for quantitative analysis of vitamin C in diverse foods. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 26, p. 12-25, 2012.
- THOMAS, A.E. Investigating neutropenia. **Paediatrics and Child Health**, v. 17, n. 8, p. 328-332, 2007.
- THOMAS, M.J. The role of free radicals and antioxidants. **Nutrition Journal**, n. 16, v. 7/8, p. 16-18, 2000.
- TORALLES, R.P.; VENDRUSCOLO, J.L.; VENDRUSCOLO, C.T.; DEL PINTO, F.A.B.; ANTUNES, P.L. Determinação das constantes cinéticas de degradação do ácido ascórbico em purê de pêsego: efeito da temperatura e concentração. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 28, n. 1, 2008.
- TORRANCE, C. Preoperative nutrition, fasting and the surgical patient. **Surgical Nurse**, v. 4, p. 4-8, 1991.
- TULIPANI, S.; MEZZETTI, B.; CAPOCASA, F.; BOMPADRE, S.; BEEKWILDER, J.; VOS, C.H.R.; CAPANOGLU, E.; ARNAUD, B.; BATTINO, M. Antioxidants, phenolic compounds, and nutritional quality of different strawberry genotypes. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 56, p. 696–704, 2008.
- VAISHNAV, J.; ADIANI, V.; VARIYAR, P. Radiation processing for enhancing shelf life and quality characteristics of minimally processed ready-to-cook (RTC) cauliflower (*Brassica oleracea*). **Food Packaging and Shelf Life**, v. 5, p. 50–55, 2015.
- VALKO, M.; LEIBFRITZ, D.; MONCOL, J.; CRONIC, M.T.D.; MILAN, M.; TELSER, J. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. **The International Journal of Biochemistry & Cell Biology**, v. 32, n. 3, p. 3-41, 2006.
- VAN DALEN, E.C.; MANK, A.; LECLERCQ, E.; MULDER, R.L.; DAVIES, M.; KERSTEN, M.J.; VAN DE WETERING, M.D. Low bacterial diet versus control diet to prevent infection in cancer patients treated with chemotherapy causing episodes of neutropenia (Review). **The Cochrane Database of Systematic Reviews**, n. 4, 2016.
- VANDENBROUCKE, I.D.; VERICEL, E.; JANIEL, C.; CARRERAS, M.; LECOMTE, M.; LAGARDE, M. Dual regulation of glutathione peroxidase by docosahexaenoic acid in endothelial cells depending on concentration and vascular bed origin. **Free Radical Biology & Medicine**, v. 30, n. 8, p. 895-904, 2001.
- XU, B.J.; CHANG, S.K.C. A comparative study on phenolic profiles and antioxidant activities of legumes as affected by extraction solvents. **Journal of Food Science**, v. 74 p. S159-S166, 2007.

- YANG, C.S.; LANDAU, J.M.; HUANG, M.-T. NEWMARK, H.L. Inhibition of carcinogenesis by dietary polyphenolic compounds. **Annual Review of Nutrition**, v. 21, p. 381–406, 2001.
- YANO, M.; KATO, M.; IKOMA, Y.; KAWASAKI, A.; FUKAZAWA, Y.; SUGIURA, M.; MATSUMOTO, H.; OOHARA, Y.; NAGAO, A.; OGAWA, K. Quantitation of Carotenoids in Raw and Processed Fruits in Japan. **Food Science and Technology Research**, v. 11, p. 13-18, 2005.
- ZHAO, Z.; EGASHIRA, Y.; SANADA, H. Ferulic acid is quickly absorbed from rat stomach as the free form and then conjugated mainly in liver. **The Journal of Nutrition**, v. 134, p. 3083-3088, 2004.
- ZHOU, Z. ROBARDS, K., HELLIWELL, S., BLANCHARD, C. Composition and functional properties of rice. **International Journal of Food Science & Technology**, v. 37, p. 849-868, 2002.

INSTITUTO DE PESQUISAS ENERGÉTICAS E NUCLEARES
Diretoria de Pesquisa, Desenvolvimento e Ensino
Av. Prof. Lineu Prestes, 2242 – Cidade Universitária CEP: 05508-000
Fone/Fax(0XX11) 3133-8908
SÃO PAULO – São Paulo – Brasil
<http://www.ipen.br>

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