

AVALIAÇÃO DA INFLUÊNCIA DO PROCESSO DE IRRADIAÇÃO EM  
ESPECIARIAS UTILIZANDO A TÉCNICA DE DIFRAÇÃO DE RAIOS X

Ana Paula Gonçalves Almeida

DISSERTAÇÃO SUBMETIDA AO CORPO DOCENTE DA COORDENAÇÃO DOS  
PROGRAMAS DE PÓS-GRADUAÇÃO DE ENGENHARIA DA UNIVERSIDADE  
FEDERAL DO RIO DE JANEIRO COMO PARTE DOS REQUISITOS  
NECESSÁRIOS PARA A OBTENÇÃO DO GRAU DE MESTRE EM CIÊNCIAS EM  
ENGENHARIA NUCLEAR.

Aprovada por:

---

Prof. Delson Braz, D.Sc.

---

Prof<sup>a</sup>. Regina Cely Barroso, D.Sc.

---

Prof. Edgar Francisco Oliveira de Jesus, D.Sc.

---

Prof. Luis Fernando de Oliveira, D.Sc.

RIO DE JANEIRO, RJ - BRASIL

SETEMBRO DE 2006

ALMEIDA, ANA PAULA GONÇALVES

Avaliação da Influência do Processo de Irradiação em Especiarias Utilizando a Técnica de Difração de Raios X [Rio de Janeiro] 2006

VIII, 94p. 29,7 cm (COPPE/UFRJ, M.Sc., Engenharia Nuclear, 2006).

Dissertação – Universidade Federal do Rio de Janeiro, COPPE.

1. Irradiação de alimentos.

2. Difração de Raios X.

I. COPPE/UFRJ    II. Título (série)

*A Deus pela força e proteção por toda a minha vida  
e a oportunidade de crescer.*

*A minha mãe Ana Maria e aos meus irmãos  
José Geraldo e Renato, meus melhores  
amigos, pelo amor, incentivo e pela  
constante presença em minha vida.*

## AGRADECIMENTOS

*Ao meu orientador, Professor Delson Braz, pela oportunidade, ajuda, compreensão, paciência, incentivo e amizade.*

*A Professora Regina Cely Barrosa pela amizade, apoio, paciência, prontidão em ajudar, incentivo e por permitir-me compartilhar de seus conhecimentos e excepcional capacidade de trabalho.*

*A todos os colegas, funcionários e professores do PEN/COPPE/UFRJ, em particular ao pessoal do LIN, especialmente os amigos Davi, Nivia e Christiano, pela amizade e pelos momentos de alegria e dificuldades compartilhadas.*

*Às minhas amigas: Patrícia e Sheila, pela amizade e estímulo à conclusão do trabalho.*

*Aos meus avós José (in memoriam) e Therezinha, pelo exemplo de vida, amor, incentivo e amizade.*

Resumo da Dissertação apresentada à COPPE/UFRJ como parte dos requisitos necessários para a obtenção do grau de Mestre em Ciências (M.Sc.)

## AVALIAÇÃO DA INFLUÊNCIA DO PROCESSO DE IRRADIAÇÃO EM ESPECIARIAS UTILIZANDO A TÉCNICA DE DIFRAÇÃO DE RAIOS X

Ana Paula Gonçalves Almeida

Setembro/2006

Orientador: Delson Braz

Programa: Engenharia Nuclear

A irradiação comercial de alimentos foi autorizada no Brasil desde 1973 e agora não há restrição dos alimentos que podem ser irradiados. O tratamento de alimentos com radiação ionizante resulta em uma grande redução na contaminação microbial e insetos. Entretanto, a detecção do tratamento e as investigações das mudanças induzidas no alimento são de extrema importância no controle da segurança dos produtos alimentícios. O método de espalhamento de raios X a baixos ângulos (LAXS) é denominado através do processo de espalhamento elástico (coerente), onde o fóton espalhado tem a mesma energia do fóton incidente. Uma característica observada do “baixo ângulo” de espalhamento coerente é o assim chamado “efeito de interferência molecular”, sendo caracterizado pela presença de um ou mais picos na direção do espalhamento. Portanto, os raios X espalhados coerentemente pelas moléculas fornecem a informação sobre as características internas dos materiais tais como a estrutura molecular, a densidade e o número atômico. Neste estudo, os perfis LAXS proveniente de 5 especiarias diferentes: canela, cominho, noz moscada, páprica e pimenta do reino foram medidos cuidadosamente para estabelecer as assinaturas características das amostras de controle e irradiadas. Os perfis LAXS foram obtidos usando um difratômetro XRD-6000 da Shimadzu na geometria de reflexão no Laboratório de Instrumentação Nuclear, COPPE/UFRJ. As amostras das especiarias em pó foram obtidas em dois mercados diferentes no Rio de Janeiro. Um lote foi usado como controle (não irradiado). O outro lote foi subdividido em 7 lotes iguais e expostos a radiação- $\gamma$  com doses médias de 3, 5, 7, 10, 20, 30 e 40 kGy usando um irradiador de Co-60 Gammacell com taxa de dose de 58 Gy/min também no Laboratório de Instrumentação Nuclear. As amostras irradiadas e não irradiadas foram armazenadas sob condições ambientes. A fim de examinar o efeito da irradiação na estabilidade estrutural durante o armazenamento a temperatura ambiente, as medidas de espalhamento foram repetidas após um período de armazenamento de 30, 60, 90 e 120 dias. Baseado nas observações feitas para todas as variedades de amostras irradiadas e não irradiadas é possível concluir que a irradiação até as doses usadas neste estudo não tem efeito significativo na estrutura molecular. A estrutura molecular encontrada permanece estável durante a armazenagem a temperatura ambiente por 4 meses.

Abstract of Dissertation presented to COPPE/UFRJ as a partial fulfillment of the requirements for the degree of Master of Science (M.Sc.)

EVALUATION OF THE EFFECT OF IRRADIATION TREATMENT  
IN SPICES USING X RAY DIFFRACTION

Ana Paula Gonçalves Almeida

September/2006

Advisor: Delson Braz

Department: Nuclear Engineering

Commercial irradiation of foods has been allowed in Brazil since 1973 and now don't have restriction of the foods can be irradiated. Foods treated with ionizing radiation results in a large reduction in microbial contamination and insect pests. Therefore, the detection of treatment and the investigation of changes induced in food are of key importance in controlling the safety of food products. The method of measuring the scattering of X-rays at low angles (LAXS) is dominated by the coherent scattering process, where the scattered photon has the same energy as the incident photon. One characteristic observation of low-angle coherent scattering is the so-called molecular interference effect, being characterized by the presence of one or more peaks in the forward direction of scattering. Therefore, this X-rays coherently scattered from the molecules provide valuable information about the internal characteristics of a sample such as the molecular structure, density and atomic number. In the present study, LAXS profiles from five different spices: cinnamon, cumin, nutmeg, paprika and black pepper are carefully measured in order to establish characteristics signatures of control and irradiated samples. The LAXS patterns were obtained using a Shimadzu DRX 6000 diffractometer in reflection geometry at the Nuclear Instrumentation Laboratory, COPPE/UFRJ. Commercial samples of dry spices were obtained from two different local markets of Rio de Janeiro. One lot was used as non-irradiated control. The other lot was further subdivided into seven equal lots and then exposed to  $\gamma$ -radiation to overall average doses of 3, 5, 7, 10, 20, 30 and 40 kGy at a dose rate of 58 Gy/min using a  $^{60}\text{Co}$  Gammacell irradiator also at the Nuclear Instrumentation Laboratory. These doses were selected to cover the dose range used in commercial food irradiation. Irradiated and corresponding non-irradiated samples were stored under ambient conditions. In order to examine the effect of irradiation on the structure stability during ambient temperature storage, the scattering measurements were repeated after storage period of 30, 60, 90 and 120 days. Based on the observations made in both irradiated and non-irradiated samples of all varieties it is possible to conclude that irradiation at the doses used in this study had no significant effect on the molecular structure. The molecular structure was found to be stable during storage at the ambient temperature for up to 4 months.

# ÍNDICE GERAL

	<b>Página</b>
<b>CAPÍTULO I: INTRODUÇÃO</b>	
<b>I.1 - Especiarias</b>	<b>1</b>
<b>I.2 – Produção e Comercialização</b>	<b>1</b>
<b>I.3 - Motivação</b>	<b>5</b>
<b>I.4 – Objetivo e Estrutura</b>	<b>6</b>
<b>CAPÍTULO II: REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b>	
<b>II.1 – Histórico da Irradiação de Alimentos</b>	<b>7</b>
<b>II.2 – Métodos de Conservação e de Descontaminação</b>	<b>11</b>
<b>II.2.1 – Fumigação</b>	<b>12</b>
<b>II.2.2 – Radiações ionizantes</b>	<b>13</b>
<b>II.2.2.1 – Fontes de irradiação</b>	<b>14</b>
<b>II.2.2.2 – Interação da Radiação com a Matéria</b>	<b>17</b>
<b>II.3 – Benefícios e Aplicações da Irradiação</b>	<b>20</b>
<b>II.4 – Segurança do Processo de Irradiação</b>	<b>23</b>
<b>II.5 – Métodos de Detecção para Alimentos Irrradiados</b>	<b>24</b>
<b>II.5.1 – Métodos Químicos</b>	<b>25</b>
<b>II.5.2 – Métodos Biológicos</b>	<b>27</b>
<b>II.5.3 – Métodos Físicos</b>	<b>28</b>
<b>CAPÍTULO III: MATERIAIS E MÉTODOS</b>	
<b>III.1 – Preparação das Amostras</b>	<b>35</b>
<b>III.2 – Irradiação das Especiarias</b>	<b>37</b>
<b>III.3 – Análise por Difração de raios X</b>	<b>38</b>

## **CAPÍTULO IV: APRESENTAÇÃO DOS RESULTADOS**

<b>IV.1 – Canela</b>	<b>41</b>
<b>IV.1.1 – Grupo 1</b>	<b>41</b>
<b>IV.1.2 – Grupo 2</b>	<b>45</b>
<b>IV.2 - Cominho</b>	<b>49</b>
<b>IV.2.1 – Grupo 1</b>	<b>49</b>
<b>IV.2.2 – Grupo 2</b>	<b>53</b>
<b>IV.3 – Noz Moscada</b>	<b>57</b>
<b>IV.3.1 – Grupo 1</b>	<b>57</b>
<b>IV.3.2 – Grupo 2</b>	<b>61</b>
<b>IV.4 – Páprica</b>	<b>65</b>
<b>IV.4.1 – Grupo 1</b>	<b>65</b>
<b>IV.4.2 – Grupo 2</b>	<b>69</b>
<b>IV.5 – Pimenta</b>	<b>73</b>
<b>IV.5.1 – Grupo 1</b>	<b>73</b>
<b>IV.5.2 – Grupo 2</b>	<b>77</b>

## **CAPÍTULO V: CONCLUSÕES E SUGESTÕES**

<b>V.1 – Conclusões</b>	<b>85</b>
<b>V.1.1 - Comparação dos perfis de difração – Grupo 1</b>	<b>85</b>
<b>V.1.2 - Comparação dos perfis de difração – Grupo 2</b>	<b>86</b>
<b>V.2 – Sugestões</b>	<b>87</b>

<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b>	<b>88</b>
-----------------------------------	-----------



# CAPÍTULO I

## INTRODUÇÃO

---

### **I.1 – Especiarias**

As especiarias e as ervas aromáticas consistem em folhas, flores, gomos, sementes, cascas ou rizomas secos de diferentes plantas. Podem definir-se como sendo produtos de origem vegetal altamente aromatizados que se volatilizam com facilidade que, quando incorporados em pequena quantidade nos produtos alimentares, contribuem para o seu aroma e cor ou para a sua conservação (Esteves, 1997; Peter, 2001).

A colheita é efetuada no correto estado de maturação, que varia de especiaria para especiaria. Após a colheita, as especiarias são sujeitas a uma série de tratamentos, tais como lavagem, descascamento, cura, secagem, etc., antes de chegarem ao consumidor. Este conjunto de tratamentos pós-colheita é específico de cada especiaria, mas tem como finalidade reduzir o teor de umidade para valores de 8-12% (Pruthi, 1980), para evitar alterações e manter as suas qualidades durante o armazenamento.

### **I.2 – Produção e Comercialização**

Desde tempos imemoriais que as especiarias representam uma fonte criadora de comércio e de acumulação de riqueza que abrangia, em extensão, quase todo o mundo e, em importância, uma tão grande dimensão que pode dizer-se que as especiarias moldaram o curso da história.

As civilizações que prosperaram em torno do Mediterrâneo eram as grandes consumidoras destes produtos que, sendo usados em pequenas quantidades, permitiam que os preços praticados pagassem o transporte dos mais longínquos lugares de produção, gerando um negócio lucrativo para todos os seus intervenientes. São conhecidos traços de uma primeira rede de comércio existente há mais de 4 mil anos. No Extremo-Oriente os chineses navegavam entre as ilhas da Polinésia e criaram no Ceilão um grande entreposto onde os árabes, por navegação costeira, traziam para a península arábica todas as especiarias do Oriente. Por terra, através da Arábia, Palestina e Egito eram, então, transportadas para as margens do Mediterrâneo e, daí, para os mercados da Europa e do Norte da África, por navegantes italianos, especialmente os de Gênova e Veneza (Esteves, 1997). Junto com cravo, canela, gengibre, pimenta e açúcar, usados na farmácia e culinária, misturavam-se o incenso, a mirra, tecidos e tapetes, pérolas e pedras preciosas. Existia assim, uma ligação comercial com este conjunto de regiões, na época conhecida com o nome genérico de Índias.

O domínio exclusivo do comércio de especiarias pelos italianos prejudicava os interesses econômicos de outros povos europeus, como franceses, ingleses, holandeses, espanhóis e portugueses, que pagavam muito caro por estes produtos. Por isso, era necessário ir buscar as especiarias diretamente na fonte produtora, isto é, nas Índias (Ravindran *et al.*, 2004). Para tanto, era preciso descobrir um caminho marítimo para as Índias pelo Atlântico. Essa necessidade intensificou-se a partir de 1453, ano em que os turcos conquistaram Constantinopla (atual Istambul) e fecharam o comércio desta região com a Europa, impedindo a navegação de navios italianos. Como Portugal estava na vanguarda dos descobrimentos marítimos e motivados pela perspectiva de enormes lucros que essa conquista iria proporcionar, foram os primeiros a descobrir o novo caminho. A aventura ultramarina portuguesa é denominada ciclo oriental das

navegações, porque procurou chegar às Índias contornando o continente africano, fazendo o chamado périplo africano. Pedro Álvares Cabral, 1500 antes de chegar às Índias, descobriu o Brasil, onde os portugueses procuraram por fontes de lucro imediatos, e não encontraram. As especiarias tiveram papel importante na expansão marítima portuguesa e, conseqüentemente, na descoberta do Brasil.

Em 1501 Pedro Álvares Cabral chegou à Lisboa com suas mãos carregadas de especiarias diretamente da Índia. A partir do sucesso dos portugueses, as outras potências européias lançaram-se na competição, não conseguindo Portugal manter o monopólio para além dos primeiros cem anos. A Inglaterra e a Holanda acabaram por estabelecer fortes implantações nas áreas de produção, de modo a controlarem a maior parte deste comércio (Esteves, 1997).

Muitas especiarias crescem espontaneamente nos países tropicais, mas, atualmente, a maior parte é produzida em escala industrial com a finalidade de exportação. Os principais países produtores são a Índia, Indonésia, Brasil, Madagascar, Sri Lanka, México, Jamaica, Tanzânia e Malásia. A classificação das especiarias em grupos não é fácil, podendo ser feita em função das suas propriedades organolépticas, em função da parte da planta que é utilizada (Egan *et al.*, 1987; ICMSF, 1985), com base nas características botânicas da planta de que provêm ou, ainda, numa classificação mista (Heath, 1981; FAO, 1990). A Tabela I.1 apresenta esta classificação que acaba por ser a mais comum.

Tabela I.1 – Classificação das especiarias.

<b>Classificação</b>	<b>Nome científico</b>	<b>Parte da planta utilizada</b>	<b>Principais países produtores</b>
<b>ESPECIARIAS FORTES</b>			
Pimenta	<i>Piper nigrum</i>	Fruto	Índia, Indonésia, Malásia, Madagascar, Sri Lanka e Brasil
Páprica	<i>Capsicum annuum</i>	Fruto	Índia, América do Sul e México
Cravo	<i>Eugenia caryophyllata</i>	Flor	Indonésia, Madagascar e Sri Lanka
Gengibre	<i>Zingiber officinale</i>	Rizoma	Índia e Jamaica
<b>FRUTOS E SEMENTES AROMÁTICOS</b>			
Noz Moscada	<i>Myristica fragans</i>	Semente	Indonésia e Sri Lanka
Cardamomo	<i>Elletaria cardamomum</i>	Semente	Índia e Sri Lanka
Baunilha	<i>Vanilla planifolia</i>	Fruto	Indonésia, Madagascar e México
Anis	<i>Pimpinella anisum</i>	Fruto	México
Coentro	<i>Coriandrum sativum</i>	Fruto	Índia
Cominho	<i>Cuminum cyminum</i>	Fruto	Índia, Indonésia e México
<b>CASCAS AROMÁTICAS</b>			
Canela	<i>Cinnamomum zeylanicum</i>	Casca	Sri Lanka, Madagascar e Brasil
Canela da China	<i>Cinnamomum cássia</i>	Casca	China e Indonésia
<b>ESPECIARIAS CORANTES</b>			
Páprica	<i>Capsicum annuum</i>	Fruto	Índia, América do Sul e México
Açafrão	<i>Crocus sativus</i>	Rizoma	Índia, Sri Lanka e Jamaica

### **I.3 – Motivação**

O número de produtos sendo processados por irradiação no mundo inteiro está constantemente aumentando, e hoje em dia inclui diversos itens, como despojos médicos, frutas e vegetais, carnes, frutos do mar e especiarias (Kunstadt *et al.*, 1993). Especiarias, ervas aromáticas e carne de frango são os alimentos mais freqüentemente submetidos à irradiação, uma vez que são usados primariamente como ingredientes na indústria de processamento de alimentos (Marchioni *et al.*, 2005).

As especiarias são produtos de enorme importância no mercado internacional, caracterizadas por serem ingredientes alimentares valorizados. A falta de higiene com que são produzidos e as técnicas artesanais geralmente utilizadas na preparação pós-colheita fazem das especiarias ingredientes alimentares com excessivo número de microorganismos. Tanto os países produtores quanto as indústrias alimentares que utilizam especiarias nas suas formulações se deparam com o problema e surge a necessidade de reduzir a carga microbiana por processos de descontaminação inócuos e que não alteram as suas propriedades organolépticas (Esteves, 1997).

Através dos séculos, as técnicas de preservação de alimentos foram se desenvolvendo com o aumento do conhecimento científico. Os métodos atuais incluem o congelamento, a secagem, o enlatamento, a preparação de conservas, a pasteurização, a fermentação, o resfriamento, o armazenamento em atmosfera controlada, a fumigação química e a aplicação de aditivos preservantes (Rodríguez, *et al.*, 2003).

Hoje em dia, a irradiação promete melhorar a habilidade de conservar os alimentos e, ao mesmo tempo, controlar a incidência de algumas doenças de etiologia microbiológica através da inativação de protozoários ou parasitas que causam vermes intestinais. Um fator que influencia o ritmo de crescimento da irradiação de alimentos é

a compreensão e aceitação do processo pelo público, que ainda é dificultada em virtude dos freqüentes mal-entendidos e temores existentes a respeito das tecnologias relacionadas à energia nuclear e ao uso das radiações (Omaye, 2004).

#### **I.4 – Objetivo e Estrutura**

# CAPÍTULO II

## REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

---

### II.1 – Histórico da Irradiação de Alimentos

A idéia da utilização da radiação ionizante na preservação de alimentos veio depois da descoberta dos raios X por Röntgen e da radioatividade por Becquerel em, aproximadamente, 1895. Em 1900, documentos foram emitidos para os Estados Unidos e Reino Unido descrevendo o uso da radiação ionizante para destruir microorganismos nos alimentos (Del Mastro, 1999, Esteves, 1997). Desde 1905, quando apareceu a primeira aplicação real destes conhecimentos, a patente inglesa foi concedida para J. Appleby e A.J. Banks por proporem o tratamento de alimentos, especialmente cereais, com raios alfa, beta ou gama, potencializando a redução da incidência de doenças e a eliminação de pestes nos alimentos primeiramente estudados sobre os benefícios da radiação ionizante. B. Schwartz, do Departamento de Agricultura dos Estados Unidos, publicou os resultados do uso dos raios X na carne de porco, inativando *Trichinella spirallis* em 1921. Porém, nenhum destes propósitos levou a uma aplicação prática, simplesmente porque as fontes de irradiação (tubos de raios X ou isótopos radioativos) não eram bastante intensas naquela época para tratar alimentos em quantidades comerciais (Diehl, 2002).

A intervenção de figuras públicas do cinema e entretenimento, convenceu o congresso americano a manter sob rigoroso controle a irradiação de alimento, isto é, o tratamento por radiação ionizante deve ser considerado como um “tratamento adicional”. Esta parte da lei de 1958, conhecida como a cláusula de Delaney, assegurou

que nenhum alimento irradiado poderia ser aprovado para o consumo sem passar por um longo procedimento. Desse modo, os alimentos assim tratados requeriam um longo período para serem pesquisados e requeridos pela Food and Drug Administration (FDA) e pelo Departamento de Agricultura dos Estados Unidos (USDA) e somente depois de muitos meses ou anos seriam avaliados. Após 1961, o programa de pesquisa e de desenvolvimento da radiação de alimento do Departamento Norte-americano do Exército, teve como prioridade classificar os prós e contras dos alimentos irradiados. Em junho de 1965, em uma audiência do comitê de energia atômica, foi estabelecido que todos os alimentos irradiados com doses até 5,6 Mrad (56 kGy) usando fonte de cobalto-60 ou elétrons com energias de até 10 MeV eram seguros e adequados nutricionalmente para o consumo. Cada possibilidade de dano foi considerada com cuidado, mas nenhuma foi encontrada (Omaye, 2004; Esteves, 1997). Os alimentos irradiados foram aprovados pelas autoridades de saúde em 40 países, entre eles o Brasil.

Entre 1965 e 1970, foi criada uma comissão conjunta de peritos em irradiação de alimentos. A Organização Mundial de Saúde (WHO) em acordo com a *Food and Agricultural Organization* (FAO) e a Agência Internacional de Energia Atômica (IAEA), formaram o *Joint FAO/IAEA/WHO Expert Committee on Wholesomeness of Irradiated Food* (JECFI) destinada a avaliar a qualidade e segurança dos alimentos irradiados. A utilização da técnica de irradiação de alimentos foi aprovada sem limites de doses, isto é, até uma dose compatível com as propriedades organolépticas dos alimentos. As autoridades de saúde internacionais concluíram que todos os alimentos irradiados eram seguros sem a necessidade de testar o nível toxicológico dos mesmos. Os cientistas pensaram durante três décadas na irradiação de alimentos como um aditivo alimentar ao invés de um processamento de alimento, o que por acabou por penalizar o andamento das pesquisas atrasando-as por mais de 30 anos. Por outro lado, durante este



tempo, cientistas tentavam convencer a comunidade científica de todo o mundo que a irradiação de alimentos possuía um papel importante no combate à fome e às doenças (Crawford & Ruff, 1996; Henry & Chapman, 2002).

Em 1980, o JECFI alcançou seus objetivos ao documentar, com base em estudos toxicológicos e químicos, que a irradiação de qualquer alimento até uma dose total de 10 kGy não representa qualquer problema toxicológico e que esta não induz a problemas nutricionais ou microbiológicos (Del Mastro, 1999; Diehl, 2002). Estas recomendações foram adotadas pela comissão do *Codex Alimentarius* com a edição do “Codex General Standard for Irradiated Foods” (FAO, 1984a) e de um “Recommended International Code of Practice for the Treatment of Food” (FAO, 1984b). Desde então tem aumentado o número de países e de instalações onde se tratam alimentos com radiação ionizante. Na Argentina, China, Estados Unidos e Croácia é permitida uma dose máxima de 30 kGy. A proibição da utilização de produtos químicos esterilizantes, desinfetantes ou fumigantes deixa poucas alternativas, e a importância deste método deverá aumentar com a diminuição entre a real capacidade produtiva e as necessidades mundiais de alimentos (Ehlermann, 2005; Suhaj et al., 2006).

No Brasil, as primeiras pesquisas com irradiação de alimentos foram feitas da década de 50, pelo Centro de Energia Nuclear na Agricultura (CENA), em Piracicaba (SP). Mesmo com a permissão, em 1985, do uso da irradiação para conservação de alimentos, os estudos se restringiram quase que exclusivamente às instituições de pesquisas, uma vez que o País contava com um número restrito de especialistas (Ornellas *et al.*, 2006). A Tabela II.1 apresenta a evolução histórica da irradiação de alimentos no mundo.

Tabela II.1 – História da irradiação de alimentos (Omaye, 2004)

Ano	Evento
1905	Primeira patente para o uso de radiação ionizante em alimentos com pestes
1920	Uso da irradiação por cientistas franceses para preservar os alimentos
1921	Patente para o uso de raios X para matar <i>Trichinella spiralis</i> em carne
1940	Testes para o uso da irradiação em alimentos comuns pelo Departamento Norte-americano do Exército
1958	Definição da fonte de irradiação para o uso em processamento de alimentos
1963	Uso da irradiação aprovada para o controle de insetos em trigo
1964	Aprovação do uso da irradiação para estender a vida de prateleira de batatas
1966	Departamento Norte-americano do Exército e o Departamento Norte-americano de Agricultura fizeram uma petição para aprovar a irradiação em presunto.
1970	Irradiação é adotada pela NASA para esterilizar alimentos para o programa espacial
1980	Transferências do programa de irradiação de alimento do Departamento Norte-americano do Exército para o Departamento Norte-americano de Agricultura
1983	Aprovado o uso da irradiação em especiarias e legumes secos para matar insetos e bactérias
1985	Irradiação, em baixas doses, foi aprovada para controlar a <i>Trichinella</i> na carne de porco.
1986	Irradiação em frutas e legumes foi aprovada para controlar insetos e promover a maturação
1990, 1992	Irradiação para o uso avícola no controle da <i>Salmonella</i> e outras bactérias foram aprovadas pela FDA e USDA, respectivamente.
1997	Irradiação foi aprovada para o uso em carne de boi e outras carnes
2000	Permissão do uso da irradiação em carne crua e seus subprodutos refrigerados e congelados e em ovos para controlar a <i>Salmonella</i> .

Existe regulamentação sobre irradiação de alimentos desde 1973 e portarias complementares foram editadas em 1985 e 1989. A Portaria nº 09 de 08 de março de 1985, determinava as normas gerais sobre irradiação de alimentos. Ela prevê o limite superior de irradiação de 10 kGy, a lista dos produtos aprovados para irradiação e suas respectivas doses (Leal *et al.*, 2004). Atualmente, todas as normas para o emprego desta tecnologia estão descritas na Resolução nº 21 de 26 de janeiro de 2001, aprovada pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) que não restringe quais alimentos podem ser irradiados desde que a dose máxima absorvida seja inferior àquela que comprometa as qualidades funcionais e sensoriais do alimento e que a dose mínima seja suficiente para alcançar o objetivo pretendido (Brasil, 2001). Também por intermédio da Resolução RDC nº 21, ficou estabelecido que todo produto tratado por energia ionizante deve ser rotulado, e em seu rótulo deve constar a frase: “alimento tratado por processo de irradiação” assim como o símbolo internacional do uso da radiação ionizante, a radura, ilustrada na Figura II.1 (Moura *et al.*, 2005).



Figura II.1 – Radura: símbolo utilizado em produtos irradiados.

## **II.2 – Métodos de Conservação e de Descontaminação**

Tem-se observado nos últimos tempos uma crescente preocupação com a qualidade microbiológica das matérias primas e dos ingredientes alimentares, com a

finalidade de impedir doenças de origem alimentar e de minimizar problemas relacionados com os tempos de armazenamento (Esteves, 1997).

Por serem produzidas em países de clima quente e sob deficientes condições higiênicas, as especiarias são aditivos alimentares que contêm elevadas cargas microbianas. As condições em que se encontram na colheita e o seu posterior processamento determinam não só a sua capacidade de conservação, mas também a carga microbiana que possuem. A secagem é efetuada após colheita para preservar as suas qualidades organolépticas, provoca a diminuição das células vegetativas de microorganismos dando origem a uma flora dominante constituída por bactérias e bolores, que apresentam capacidade de sobreviver longos períodos de tempo em alimentos secos (ICMSF, 1985).

### **II.2.1 – Fumigação**

Um método muito usado há pouco tempo atrás para a descontaminação e desinfestação microbiológica de especiarias foi à fumigação com óxido de etileno. No entanto, ela não destruía completamente os esporos microbianos e conduzia a ligeiras alterações na cor e no sabor dos alimentos (Henon, 1995; Farkas, 1992).

Os gases fumigantes permanecem no ar podendo espalhar-se com facilidade. Em geral, os fumigantes e outros pesticidas podem causar problemas para a pessoa que aplica e que se expõe por um longo tempo ao produto. Atualmente, o uso de fumigantes é banido em vários países por possuir resíduos tóxicos e por danificar a saúde (Chatterjee *et al.*, 1999; Calenberg *et al.*, 1998).

## II.2.2 – Radiações ionizantes

O tratamento de alimentos com radiação ionizante (raios X, raios gama e elétrons acelerados) não é um estudo recente, carnes, peixes e vegetais têm sido preservados por séculos pela energia solar. Mais tarde foram utilizadas irradiações por infravermelho e as microondas como energias possíveis para o processamento de alimentos (Silva, 2003).

A irradiação de alimentos é um tratamento físico que consiste na exposição dos alimentos, já embalados ou a granel, a uma fonte de radiação ionizante, durante o tempo necessário para se obterem as alterações desejáveis (IAEA, 1992; Diehl, 1995). Este tipo de tratamento foi autorizado em muitos países depois de testes toxicológicos e nutricionais que confirmaram a segurança de alimentos irradiados com doses de até 10 kGy (Bendini *et al.*, 1998) e por possuírem benefícios que incluem: melhora na higiene do alimento, redução de desperdícios e extensão da vida de prateleira (Oh *et al.*, 2003).

Este processo é similar à pasteurização líquida, eliminando organismos causadores de doenças através das mudanças microbiológicas associadas à irradiação. A irradiação de frutas e vegetais são usadas por tratamento de quarentena em vez de fumigantes químicos para excluir pestes e insetos. Um número sempre crescente de países tem aprovado a irradiação de uma longa e crescente lista de diferentes tipos de alimentos alcançando desde especiarias e grãos até frutas, vegetais, carnes, frangos e mariscos (Delincée, 1998).

### II.2.2.1 – Fontes de irradiação

De acordo com o padrão geral do codex para alimentos irradiados (CAC, 2003), as fontes de radiação ionizante previstas para o processamento de alimentos são limitadas aos fótons de energia mais elevada, provenientes de isótopos radioativos emissores de radiação gama (como o cobalto-60 e césio-137), os raios X com energias de até 5MeV ou elétrons acelerados com energias de até 10 MeV (Santos *et al.*, 2003). Nos EUA, a FDA recentemente estabeleceu um novo nível máximo de energia permitindo o tratamento de alimentos com raios X de até 7,5 MeV contanto que os raios X gerados sejam provenientes de uma fonte de tântalo ou o ouro como material do alvo (FDA, 2004).

O radionuclídeo mais utilizado para a irradiação de alimentos por raios gama é o cobalto-60. Ele é produzido pelo bombardeamento, com nêutrons, do metal cobalto-59 em um reator nuclear. O cobalto-60, logo após a sua produção, é duplamente encapsulado, em tubos de aço inoxidável, para impedir qualquer fuga durante a sua utilização em uma instalação de irradiação. O césio-137 é outro radionuclídeo que emite raios gama adequados para o tratamento industrial de materiais. Ele pode ser obtido através do reprocessamento de elementos combustíveis queimados. Pelo fato de não existirem muitas instalações de reprocessamento no mundo e de possuir rápida solubilidade, existe uma incerteza na oferta de quantidades comerciais deste radionuclídeo para o mercado, o que justifica a sua pequena escala de utilização em instalações de irradiação (Santos *et al.*, 2003).

Segundo Esteves (1997), os principais critérios de seleção dos radionuclídeos utilizados como fontes de radiação gama são: as suas características físicas, as

características da radiação emitida, disponibilidade, segurança e preço. Estas características são apresentadas resumidamente na Tabela II.2.

Tabela II.2 – Principais características das fontes emissoras de  $^{60}\text{Co}$  e  $^{137}\text{Cs}$ .

<b>Características</b>	<b><math>^{60}\text{Co}</math></b>	<b><math>^{137}\text{Cs}</math></b>
<b>Forma da fonte</b>	Metal	Cloreto de Césio
<b>Origem</b>	Cobalto natural	Produto da fissão nuclear do urânio
<b>Meia-vida</b>	5,3 anos	30 anos
<b>Decaimento</b>	12,39% ao ano	2,28% ao ano
<b>Produção</b>	Por ativação com nêutrons do $^{60}\text{Co}$ num reator nuclear	Separação por métodos químicos dos outros subprodutos do combustível nuclear
<b>Energia dos fótons</b>	1,17 MeV + 1,33 MeV	0,66 MeV
<b>Produto final</b>	$^{60}_{28}\text{Ni}$	$^{137}_{56}\text{Ba}$
<b>Solubilidade em água</b>	Nula	Rápida
<b>Atividade específica</b>	Até 400 Ci/g	25 Ci/g

Os feixes de elétrons de altas energias podem ser produzidos por instrumentos capazes de acelerá-los. Estes são gerados por emissão termoiônica nos filamentos aquecidos que são injetados num tubo e carregados por uma onda estacionária. A onda portadora é gerada por válvulas e introduzida na máquina por meio de guias de ondas. Os elétrons não podem penetrar muito nos alimentos como a radiação gama ou os raios X (Tahuata *et al.*, 2003). A Figura II.2 mostra um esquema de um acelerador de elétrons.

Os raios X de energias variadas são obtidos a partir da emissão de elétrons de um dispositivo que os acelera por uma diferença de potencial. Estes elétrons são então freados bruscamente através de um anteparo chamado alvo. Quando os elétrons são

freados bruscamente, os raios X são formados. Na prática, os raios X são produzidos em tubos catódicos contendo gás a baixa pressão, nos quais um anodo de metal é colocado oposto ao catodo. O anodo serve como alvo para os elétrons emitidos do catodo e como fonte de raios X. A intensidade dos raios é regulada pela corrente de elétrons. Quanto maior a tensão aplicada ao tubo maior será a energia dos raios X gerados e, conseqüentemente, maior será o poder de penetração (Willard *et al.*, 1974). A Figura II.3 mostra o esquema de funcionamento de um tubo de raios X.

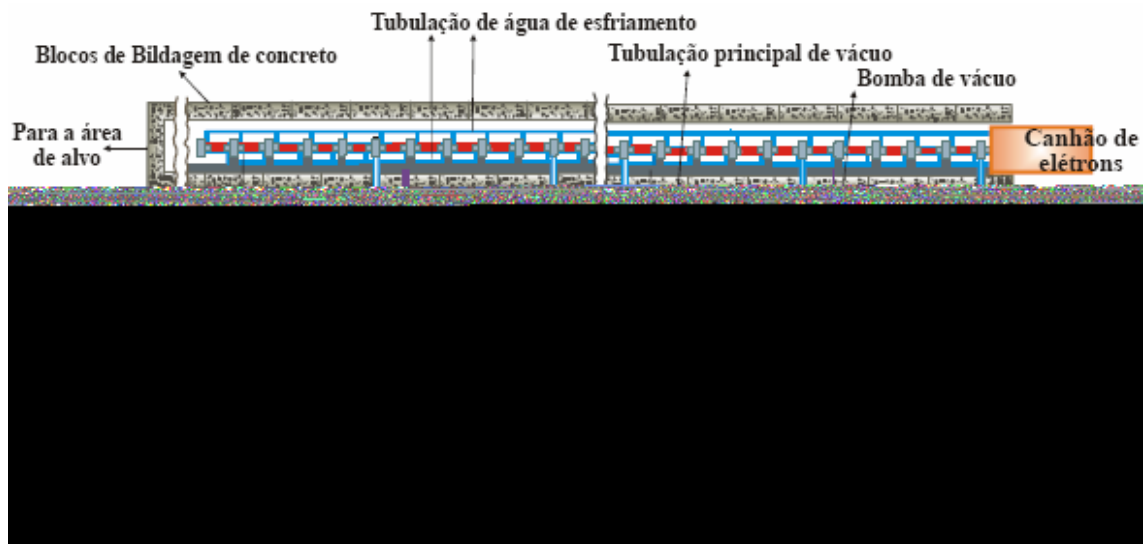


Figura II.2 – Esquema de um acelerador de elétrons.

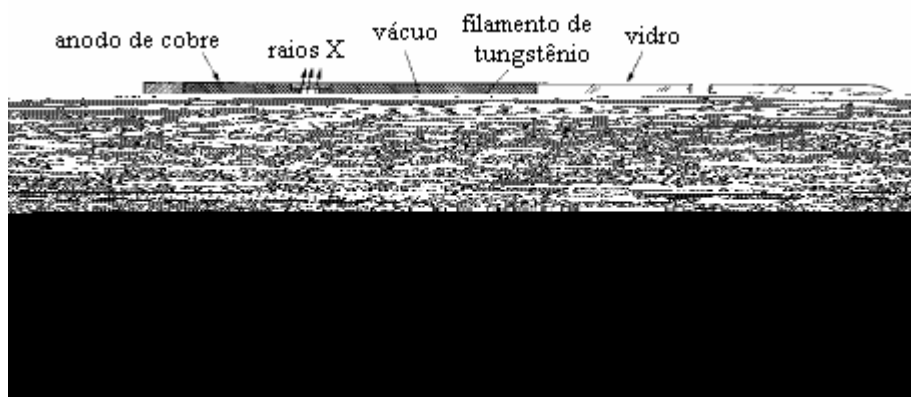


Figura II.3 – Esquema de um tubo de raios X.



A principal vantagem destes métodos em relação às fontes de radiação gama é que estas podem ser desligadas quando não estão sendo utilizadas e não necessitam de reposição. Embora o poder de penetração dos raios X seja mais elevado que o dos elétrons, a eficiência da conversão de elétrons em raios X é geralmente inferior a 10% (Farkas, 2006).

### II.2.2.2 – Interação da Radiação com a Matéria

A interação das radiações ionizantes com a matéria é um processo que se passa em nível atômico. Ao atravessarem um material, estas radiações transferem energia para as partículas que forem encontradas em sua trajetória. Esta energia transferida é denominada dose absorvida e definida como sendo a quantidade de energia cedida a matéria pelos fótons ou partículas ionizantes, por unidade de massa:

$$D = \frac{d_e}{dm} \quad (1)$$

A unidade de dose absorvida no Sistema Internacional desde 1986 é o Gray (Gy), que representa a quantidade de radiação correspondente a absorção de 1 Joule de energia por quilograma. O Gray substitui a unidade anterior, o rad (*radiation absorbed dose*), que correspondia a absorção de 1 erg de energia por grama de material. Esta unidade ainda figura na literatura mais antiga, podendo ser convertida para a unidade atual através da equação 2 (Tahuata *et al.*, 2003).

$$1 \text{ Gy} = 1 \text{ J.Kg}^{-1} = 100 \text{ rad} \quad (2)$$

A radiação gama e os raios X são semelhantes às ondas de rádio, às microondas e aos raios de luz visível. Eles formam parte do espectro eletromagnético, ilustrado na Figura II.4, na faixa de curto comprimento de onda e alta energia (Andreucci, 2001). Quando estes raios são absorvidos pela matéria, podem ocorrer, principalmente, três tipos de interações: o efeito fotoelétrico, o efeito Compton e a produção de pares.

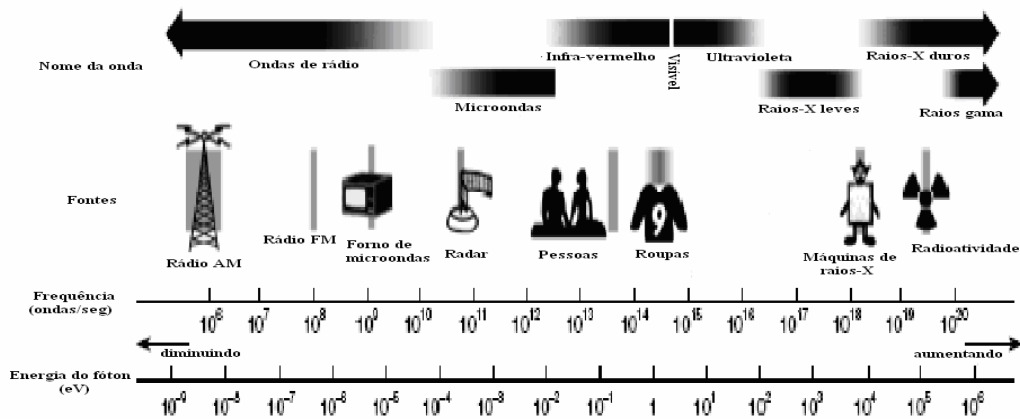


Figura II.4 – Espectro eletromagnético.

O efeito fotoelétrico, representado na Figura II.5, ocorre quando um raio X ou gama incide em um elétron orbital, transferindo-lhe toda a sua energia e desse modo, expelido-o do átomo com energia igual a diferença entre a energia do fóton incidente e a energia de ligação do elétron ao átomo, de acordo com a equação 3:

$$E_c = h\nu - E_0 \quad (3)$$

onde  $h$  é a constante de Planck,  $\nu$  é a frequência da radiação e  $E_0$  é a energia potencial.

Este efeito é predominante para energias abaixo de 100 KeV e para elementos químicos de elevado número atômico ( $Z$ ).

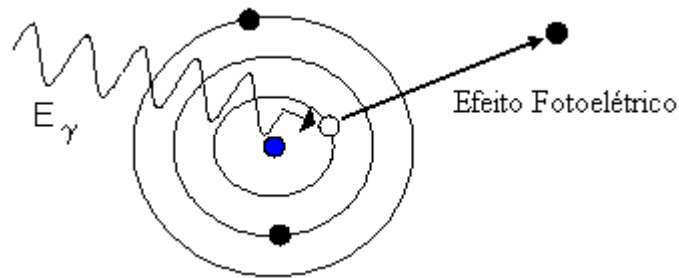


Figura II.5 – Representação do Efeito Fotoelétrico

No efeito Compton, ilustrado na Figura II.6, o fóton é espalhado por elétron de baixa energia de ligação, que recebe somente parte de sua energia, continuando sua trajetória dentro do material em outra direção. Como a transferência de energia depende da direção do elétron emergente e esta é aleatória, de um fóton de energia fixa podem resultar elétrons com energia variável, com valores de zero até um valor máximo. Quando a energia de ligação dos elétrons orbitais se torna desprezível face a energia do fóton incidente, a probabilidade de ocorrência do espalhamento Compton aumenta consideravelmente.

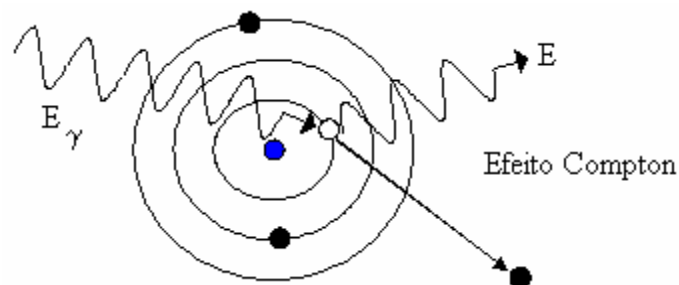


Figura II.6 – Representação do Efeito Compton

Uma das formas predominantes de absorção da radiação eletromagnética de alta energia é a formação de par elétron-pósitron, demonstrada na Figura II.7. Este efeito ocorre quando o raio incidente possui uma energia maior que 1,02 MeV. Neste caso, ao passar perto de núcleos de número atômico alto o raio produz um par de partículas: um

eletron e um pósitron, ambos dotados de uma certa velocidade. As duas partículas transferem sua energia cinética para o meio material, sendo que o pósitron volta a se com

O tratamento do alimento com radiação ionizante está sendo cada vez mais reconhecido como um meio de reduzir enfermidades e custos médicos associados através da inativação de protozoários causadores de doenças em peixes, aves domésticas, mariscos e carne vermelha (Diehl, 2002). Além de reduzir perdas pós-colheita de frutas, grãos e especiarias e estender sua “vida de prateleira”, porém assim como outros métodos não pode inverter o processo de decomposição e fazer com que o alimento deteriorado se torne próprio para o consumo (Del Mastro, 1999). Portanto, a irradiação de alimento tem como finalidade:

- inibir o brotamento de raízes;
- retardar o amadurecimento de frutas e vegetais;
- reduzir microorganismos patogênicos;
- aumentar a vida de prateleira do alimento; e
- suprir o abastecimento nos períodos de entressafra (Crawford e Ruff, 1996).

Dependendo da dose de irradiação utilizada tem-se um efeito de pasteurização ou esterilização e sua aplicação geralmente é dividida em tratamentos de radurização, radicação e radapertização, de acordo com a Tabela II.3 (Pereira, 2004).

Tabela II.3 – Efeito da irradiação nos alimentos

<b>Tipo de Tratamento</b>	<b>Aplicação</b>	<b>Dose (kGy)</b>	<b>Alimentos</b>
<b>Radurização</b>	Inibição da germinação;  Retardo da maturação;  Morte ou esterilização sexual de insetos e parasitas para substituição do período de quarentena;  Prevenção da disseminação de pestes e insetos transmissores de doenças.  Redução da população de bactérias e fungos;	Até 1 kGy	Batata, cebola, alho, cereais, farinha e frutas.
<b>Radicidação ou Radiopasteurização</b>	Destruição de microorganismos e patógenos;  Aumento do tempo de armazenamento.  Esterilização industrial;	1 – 10 kGy	Carne, peixe, mariscos, vegetais, frutas e especiarias.
<b>Radapertização ou Esterilização Comercial</b>	Descontaminação de microorganismos incluindo patógenos.	10 – 50 kGy	Carnes, dietas hospitalares e outros produtos processados.

No caso das especiarias, que são avaliadas pelos seus sabores, cores e aromas distintos, a irradiação é o processo mais indicado para sua descontaminação em virtude da redução do número de microorganismos patogênicos, da população de bactérias, bolores e leveduras e a destruição de insetos. Já que o tratamento com calor pode causar a perda significativa do sabor e aroma (ICGFI, 1991).

## II.4 – Segurança do Processo de Irradiação

O processo de irradiação não pode aumentar o nível de radioatividade natural dos alimentos e deve impedir a divisão de microorganismos que causam a sua decomposição, tal como as bactérias mudando sua estrutura molecular (ICGFI, 1999). A irradiação em condições controladas não faz com que os alimentos se tornem radioativos. Tudo em nosso ambiente contém quantidades típicas (cerca de 150 a 200 Bq) de radioatividade natural que é inevitável em nossa dieta diária. Mesmo se os alimentos fossem expostos a doses muito elevadas, o nível máximo de radioatividade induzida seria tão somente um milésimo de Bequerel por quilograma de alimento. Este valor é duzentos mil vezes menores que o nível de radioatividade natural existente nos alimentos (ICGFI, 1997).

Em geral, o processo de irradiação acarreta poucas alterações químicas nos alimentos. Nenhuma das alterações conhecidas são nocivas ou perigosas. Algumas delas formam produtos radiolíticos tais como glicose, ácido fórmico, aldeído acético e dióxido de carbono. Esses são encontrados normalmente nos alimentos e se formam como resultado do tratamento térmico. A inocuidade destes produtos radiolíticos tem sido investigada exaustivamente, e não se tem encontrado nenhuma prova de sua nocividade (ICGFI, 1997).

A influência da irradiação na qualidade nutritiva dos alimentos não é maior do que a de outros métodos convencionais utilizados para o tratamento e conservação como por exemplo, o método de aquecimento. Os macronutrientes tais como as proteínas, os carboidratos e gorduras são relativamente estáveis quando os alimentos são expostos a dose máxima de radiação de 10 kGy. Os micronutrientes, especialmente as vitaminas, podem ser sensíveis a qualquer método de tratamento de alimentos. A sensibilidade dos

diferentes tipos de vitaminas ao método da irradiação e a outros métodos de tratamento é variada. As vitaminas A, E, C, K e B1 (tiamina) são as mais sensíveis à radiação, enquanto outras vitaminas do complexo B, como por exemplo a vitamina D, são muito mais estáveis. Já a vitamina C (ácido ascórbico), sob efeito da irradiação, é reduzida de ácido ascórbico para ácido dehidroascórbico, uma mudança insignificante sob o ponto de vista nutritivo (Henry & Chapman, 2002).

As perdas são geralmente menores se exclui o oxigênio e se a temperatura durante a irradiação for baixa. Com doses elevadas o efeito da irradiação depende do tipo de vitamina, da temperatura, da dose, do alimento e da sua embalagem (Henry & Chapman, 2002).

## **II.5 – Métodos de Detecção para Alimentos Irradiados**

A necessidade de métodos confiáveis e de rotina para determinar se o alimento foi irradiado ou não e, em caso afirmativo, qual foi a dose absorvida, surgiu como resultado das exigências do mercado consumidor no correto cumprimento da lei e pela rotulagem dos alimentos tratados. As disponibilidades de tais métodos iriam ajudar a fortalecer os regulamentos nacionais de irradiação de alimentos e aumentar a confiança do consumidor (Delincee, 1998).

Segundo Bögl (1989), o desenvolvimento de métodos de identificação de alimentos irradiados permite evitar a re-irradiação, controlar a dose absorvida, verificar o cumprimento dos níveis mínimos de exigência microbiológica, além de contribuir para o controle do mercado internacional de alimentos irradiados.

Desde meados dos anos 80, várias pesquisas resultaram no desenvolvimento de métodos que podem ser usados para detectar o alimento irradiado. Estes foram



avaliados com sucesso e em 1996, cinco deles foram adotados pelo Comitê Europeu de Padronização (CEN). Hoje em dia, na Europa, devido às atividades do CEN, vários métodos de detecção validados e padronizados (usualmente divididos em métodos físicos, químicos e biológicos) são disponíveis para um grande número de produtos. Na tabela II.4 estão listados os padrões europeus (Delincee, 2002).

Tabela II.4 – Padrões europeus para detecção do alimento irradiado

<b>Padrão</b>	<b>Método</b>	<b>Produtos</b>
<b>EN 1784</b>	Análise por cromatografia de gás (GC) de hidrocarbonetos	Galinha, carne de porco e carne de boi, abacate, mangas e mamões.
<b>EN 1785</b>	Análise por cromatografia de gás (GC)/espectrometria de massa (MS) de 2-alquiciclobunatos.	Galinha, carne de porco e ovo.
<b>EN 1786</b>	Espectrometria de ESR para ossos	Galinha, peixe e pernas de rã.
<b>EN 1787</b>	Espectroscopia de ESR para celulose	Páprica e morangos.
<b>EN 1788</b>	Termoluminescência para minerais de silicatos	Ervas e especiarias, camarões, vegetais e batatas.
<b>EN 13708</b>	Espectroscopia de ESR para açúcar cristalino	Mamão, manga e figo secos, passas.
<b>EN 13751</b>	Luminescência fotoestimulada	Ervas e especiarias, molusco.
<b>EN 13783</b>	DEFT/APC	Ervas e especiarias.
<b>EN 13784</b>	Eletrofore da célula (DNA comet assay)	Galinha, carne de porco.

### II.5.1 – Métodos Químicos

Os métodos químicos de identificação mais avançados detectam mudanças na parte lipídica do alimento. O padrão europeu EN 1784 foi planejado baseado na

formação de hidrocarbonetos radiolíticos, que são analisados pela cromatografia a gás. O método envolve o isolamento da gordura, separação da fração hidrocarboneto pela absorção cromatografia (Florisil) e caracterização de hidrocarbonetos usando cromatografia a gás. Embora os hidrocarbonetos sejam formados por outros tratamentos, sua distribuição quantitativa nos alimentos é a característica padrão depois da irradiação. A presença de vários marcadores em um único cromatograma aumenta a confiabilidade do teste. O método foi validado com sucesso em experimentos interlaboratoriais em carne de galinha, carne de porco, queijo, abacate, mamão e manga. O método é aplicável em todos os alimentos que contém lipídeos, incluindo aqueles com baixa taxa de gordura.(Lianzhong *et al.*, 1998).

O uso de métodos de cromatografia , tais como cromatografia líquida (LC) – cromatografia a gás (GC), têm tido muito progresso. As características principais são a necessidade de um pequena quantidade de material para análise e o reduzido tempo para análise. Uma vantagem adicional é a separação de hidrocarbonetos em classes; por exemplo, a separação dos alcadeinos não saturados antes da transferência na GC evita interferência com muitos outros componentes voláteis co-extraídos (como presente em mariscos e especiarias) (Bendini *et al.*, 1998).

Segundo Bendini *et al.*(1998), as análises de LC/GC realizadas na erva-doce, manjeriço, canela, pimentão, orégano, páprica, pimenta preta, alecrim e salva irradiados com radiação gama de até 10 kGy, deram origem a uma série de hidrocarbonetos não saturados, os quais podem ser usados como “marcadores” do tratamento.

A fragmentação do DNA pode ser causada por vários tratamentos químicos ou físico incluindo a radiação ionizante. Esta fragmentação pode ser estudada como um método de detecção da radiação através da eletroforese de célula única (*microgel*

*electrophoreses of single cell*), também chamado de *comet assay*. O DNA submetido a um processo eletroforético migra pela ação da corrente elétrica e sofre deformação em sua integridade. O DNA que sofreu a ação da radiação é então fragmentado e depois de submetido a eletroforese, os fragmentos são mais leves ou mais polarizados e aparecem com o formato de um cometa. A intensidade desse efeito indica a intensidade da irradiação. Uma recente experimentação interlaboratorial com quatro participantes rendeu bons resultados para sementes de plantas, frutas e especiarias secas irradiadas com doses de radiação menor que 0,2 kGy. Entretanto, o teste é restrito para alimentos que não foram submetidos ao calor ou outros tratamentos que também induzem a fragmentação do DNA (Cerdeira *et al.*, 1997).

Este método tem sido usado para o controle de carne importada. Suas principais vantagens são simplicidade, baixo custo e velocidade de medida.

## **II.5.2 – Métodos Biológicos**

As características da população microbiana de alimentos irradiados têm sido usadas para desenvolver métodos de detecção. Os métodos microbiológicos utilizados para detectar especiarias irradiadas e carnes de aves domésticas é o DEFT (*direct epifluorescent filter technique*) e o APC (*aerobic plate count*). (Wirtanen *et al.*, 1993). O DEFT enumera o número total de microorganismos contaminantes e o APC indica o número de microorganismos viáveis capazes de formar colônias antes de depois do tratamento de irradiação. Estas técnicas combinadas determinam a condição higiênica do alimento. O método se torna limitado quando há poucos micróbios na amostra ( $< 10^3$  cfu/g). Se o tratamento de fumigação ou de calor forem usados para a descontaminação

da amostra, o DEFT/APC antes do tratamento pode fornecer contagens de micóbios similares após a irradiação. Entretanto, o uso da fumigação pode ser detectado. Algumas especiarias como a canela, cravo e mostarda por conter componentes que podem inibir a atividade microbiana, podem diminuir as contagens da APC (Oh *et al.*, 2003).

O teste da germinação é outro método de detecção da radiação que apresenta vantagens: baixo custo, exequível a qualquer laboratório e muito fácil de ser realizado. Ao se irradiar o alimento, o sistema germinativo é destruído e deixa de apresentar o brotamento ou algum sinal vital. Esta técnica tem a característica de ser uma prova qualitativa. Só se aplica a vegetais frescos e *in natura*, pois a maioria dos processos de tratamento de alimentos, como o congelamento e o aquecimento, pode esterilizar o vegetal.

Cutrubinis *et al* (2004) investigaram a utilização do teste de germinação para detectar alho irradiado. Os resultados mostraram que a detecção é confiável para amostras tratadas com doses de 25 Gy.

### **II.5.3 – Métodos Físicos**

A absorção da radiação ionizante pelos alimentos leva à formação de radicais livres, espécies que possuem elétrons desemparelhados que, de acordo com seu tempo de vida, podem ser detectados pela ressonância paramagnética eletrônica (RPE) (Leal *et al.*, 2004). Os elétrons possuem um momento angular de rotação responsável pelo seu momento magnético de modo que pode ser interpretado como um pequeno “ímã” girando. Na presença do campo magnético, a rotação eletrônica alinha-se com este campo de forma quantizada em dois estados energético diferente. A RPE é usada para

mapear a distribuição de um elétron desemparelhado em uma molécula, fornecendo várias informações sobre os níveis de energia de complexos moleculares, podendo comprovar a estrutura estática de sistemas sólidos e líquidos.

Através da aplicação da RPE no estudo de radicais livres na pimenta preta irradiada, Franco *et al.* (2004) detectaram um sinal duplo estável da celulose irradiada que pode ser usado para identificar o tratamento recente de alimentos irradiados. Entretanto, o sinal da celulose como um “marcador” do tratamento de irradiação é limitado pela estabilidade do sinal. Já Raffi *et al.* (2000) concluíram que a RPE pode ser usada como um “marcador” do tratamento de irradiação em ervas e especiarias, mas somente por um período de tempo limitado (70 a 90 dias) já que a irradiação induz ao desaparecimento de radicais em função do tempo de armazenagem. Segundo Delincee (1998), a identificação positiva dos radicais de celulose é evidenciada pela irradiação, mas a ausência do sinal não constitui evidências de amostra não irradiada. Por exemplo, na páprica em pó a umidade conduzirá ao decaimento do sinal e sua estabilidade pode ser mais curta do que sua vida útil.

Stachowicz *et al.* (1998) demonstraram que os sinais de RPE após a irradiação de algumas especiarias e cogumelos são estáveis e intensos comparados com as amostras de controle, podendo assim ser usado como método de detecção da radiação. Entretanto, a estabilidade da radiação induzida depende das condições de armazenamento.

A técnica termoluminescente (TL) é amplamente usada na detecção de muitos gêneros alimentícios irradiados (Kitis *et al.*, 2005). Frequentemente, o alimento não contém em si o material termoluminescente (sílica, hepatita e outros cristais) entretanto, pode ser contaminado com esses materiais através do contato com o solo. Assim, quando absorvem a energia da radiação, certos spins eletrônicos são elevados a níveis

excitados e lá permanecem. Mas quando são aquecidos retornam ao seu estado fundamental emitindo fótons de luz (Raffi *et al.*,2000).

Em princípio, todos os tipos de produtos alimentícios que são contaminados com restos de minerais podem ser analisados usando TL. A técnica é completamente laboratorial desde que os minerais sejam separados do material orgânico de modo a possibilitar a identificação fácil e precisa de minerais irradiados e não irradiados (Sharifzadeh & Sohrabpour, 1993).

## **II.6 – Difração de Raios X**

A difração de raios X corresponde a uma das principais técnicas de caracterização microestrutural de materiais cristalinos, encontrando aplicações em diversos campos do conhecimento (Cullity, 1967).

Ao incidir em um material, os raios X podem ser espalhados ou absorvidos pelos elétrons dos átomos. Há dois tipos de espalhamento que podem ocorrer: o espalhamento Rayleigh (também chamado de espalhamento elástico ou coerente) e o espalhamento Compton (também chamado de espalhamento inelástico ou incoerente) (Bull *et al.*, 1997).

O método utilizado neste estudo é o de espalhamento coerente a baixos ângulos (LAXS), onde o fóton espalhado muda sua direção de incidência mantendo a mesma energia. Para obtermos padrões de difração acentuados em cristais, as ondas espalhadas devem interagir entre si de forma construtiva. Esse fenômeno é conhecido como interferência e ocorre quando as ondas espalhadas, por planos sucessivos de átomos em

um cristal, estão em fase, ou seja, a diferença de caminho, entre os planos do cristal deve ser igual a um múltiplo inteiro do comprimento de onda (Figura II.8).

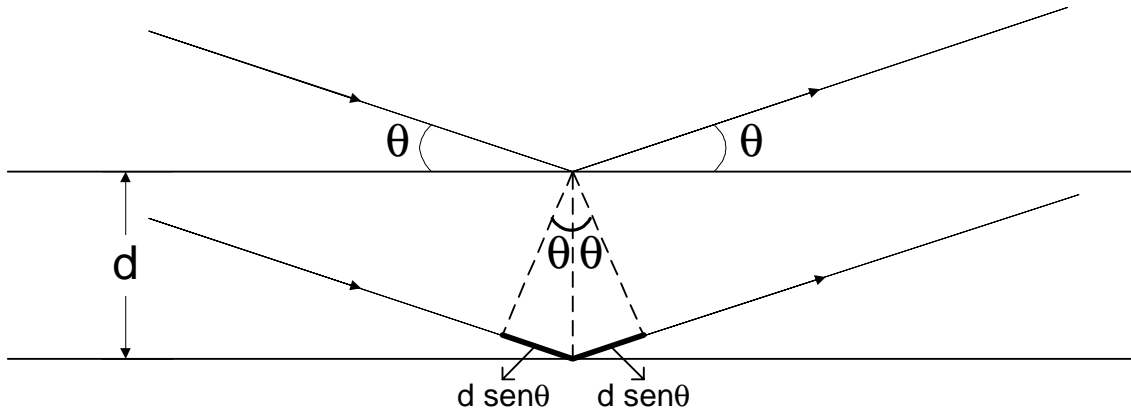


Figura II.8 – Fenômeno da difração de raios X.

Essa condição é atendida, quando um conjunto de planos desse cristal satisfaz a equação de Bragg:

$$n \lambda = 2 d \operatorname{sen} \theta ; \quad n = 1, 2, 3, \dots \quad (3)$$

onde: os valores de n são limitados pela condição:  $\operatorname{sen} \theta < 1 \Rightarrow \frac{n\lambda}{2d} < 1$  ;

$\lambda$  é o comprimento de onda da onda difratada;

d é a distância entre os planos de uma rede cristalina; e

$\theta$  é o ângulo de espalhamento.

A equação de Bragg é deduzida considerando-se o espaçamento interplanar uniforme. Se os arranjos de átomos planos ou o espaçamento entre os planos paralelos, torna-se irregular, os padrões de difração não são bem definidos. É o que ocorre nos líquidos e materiais amorfos (vidro, borracha, polietileno e etc).

Um feixe de raios X monocromático incidindo em um cristal, em ângulos variáveis, produz um gráfico chamado de difratograma. As intensidades são colocadas em função do ângulo de espalhamento  $2\theta$  (ângulo entre a onda incidente e a onda espalhada). Esse padrão de difração é único para cada tipo de cristal, possibilitando-se descobrir a composição de materiais através da difração de raios X. Esse processo é chamado de caracterização (Bleicher & Sasaki, 2000).

As quantidades físicas relevantes no estudo do espalhamento de fótons por elétrons dos orbitais atômicos, são a amplitude e a seção de choque diferencial  $\frac{d\sigma}{d\Omega}$ , que é definida como a razão entre o número de partículas espalhadas (isto é, desviadas do feixe incidente) em um ângulo sólido  $d\Omega$  por unidade de tempo, dividido pelo número de partículas incidentes atravessando uma área unitária normal à direção do feixe incidente, na unidade de tempo. Fisicamente,  $\frac{d\sigma}{d\Omega}$  representa a probabilidade, por unidade de ângulo sólido, de que uma partícula incidente seja espalhada em um ângulo sólido  $d\Omega$ .

Para o caso do espalhamento elástico, quando um feixe de fótons interage com o átomo, pode ocorrer interferência entre os fótons espalhados pelos diferentes elementos de volume  $d^3r$ . Considerando que cada parte da nuvem eletrônica interage com o fóton como se fosse um elétron livre, a seção de choque Rayleigh será a seção de choque Thomson multiplicada pelo termo de interferência (Cesareo *et al*, 1992):

$$\frac{d\sigma}{d\Omega}_{\text{Rayleigh}} = \frac{d\sigma}{d\Omega}_{\text{Th}} \left| \int \rho(\vec{r}) e^{i\vec{k} \cdot \vec{r}} d^3r \right|^2 \quad (4)$$



onde:  $\frac{d\sigma}{d\Omega}_{Th} = \frac{r_0^2}{2} (1 + \cos^2\theta)$  é a seção de choque diferencial (não-polarizada) para o

espalhamento Thomson por um elétron livre;

$r_0$  é o raio clássico do elétron ( $r_0 = 2,82 \times 10^{-13}$  cm);

o termo entre colchetes é a transformada de Fourier da densidade de carga,  $\rho(r)$ , conhecido como fator de forma,  $F(q)$ , do átomo; e

$q = |\vec{K}|$  é o módulo do momento transferido para o elétron. Usualmente, o fator de forma é tabelado em função da variável  $x$ , em unidades de  $\text{Å}^{-1}$ . A relação entre  $x$  e  $q$  é dada por:  $x = 20,607 q$  e  $x = \frac{\text{sen}(\theta/2)}{\lambda}$  é a variável proporcional ao momento transferido.

Reescrevendo a equação 4, obtemos a seção de choque de espalhamento (Rayleigh) de fótons não-polarizados:

$$\frac{d\sigma}{d\Omega}_{Rayleigh} = \frac{d\sigma}{d\Omega}_{Th} F^2(q) \quad (5)$$

Portanto, os raios X espalhados coerentemente pelas moléculas fornecem a informação sobre as características internas dos materiais tais como, a estrutura molecular, a densidade e o número atômico (Bull *et al.*, 1997; Desouky *et al.*, 2002).

Os difratômetros de raios X disponíveis no mercado são denominados pela geometria Bragg-Brentano, onde o goniômetro acoplado aos acessórios de recepção do feixe difratado move-se com velocidade ( $2^\circ$  /passo) sobre o eixo P e rotaciona a amostra (P) com metade desta velocidade angular ( $1^\circ$  /passo). O raio do círculo do goniômetro é fixo, apresenta distâncias iguais para o tubo de raios X à amostra e para a amostra a fenda de recepção. A partir da fonte, os raios X atravessam a fenda de divergência e irradiam a amostra. Os raios difratados em determinado ângulo  $2\theta$  convergem para a fenda de recepção (Willard *et al.*, 1974).

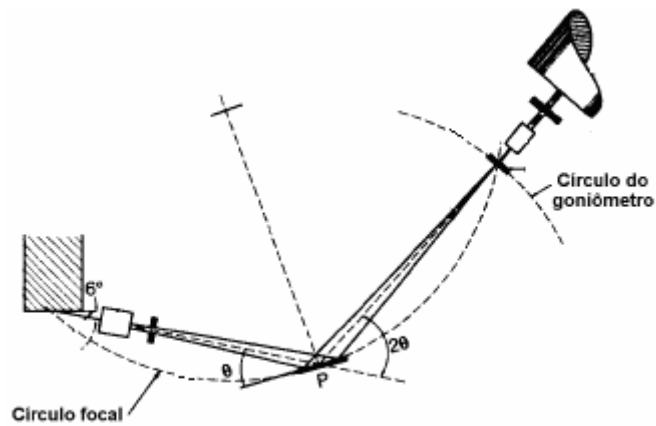


Figura II.9 – Geometria Bragg-Bretano

Desouky *et al.* (2002) aplicaram satisfatoriamente a técnica LAXS na avaliação de especiarias irradiadas. Os resultados mostraram que para doses de 10 a 30 kGy não houve desvio detectável em relação às amostras não irradiadas, exceto para irradiação com doses de 40 kGy, o que está de acordo com as recomendações da FDA que define como dose máxima para irradiação de especiarias 30 kGy. Entretanto, esta técnica pode ser útil na detecção de especiarias expostas a doses acima do limite máximo, por parecer induzir danos a nível molecular.

# CAPÍTULO III

## MATERIAIS E MÉTODOS

---

### III.1 – Preparação das amostras

Para este trabalho, foram escolhidas as especiarias que são mais citadas na literatura (Calenberg et al., 1998, Desouky et al., 2002, Farkas, 1992, Franco et al., 2004, Kitis et al., 2005, Leal et al., 2004): canela (*cinnamomum zeylanicum*), cominho (*cuminum cyminum*), noz moscada (*myristica fragans*), páprica (*capsicum annum*) e pimenta do reino (*piper nigrum*). As especiarias foram compradas no mercado local na cidade do Rio de Janeiro. O primeiro grupo foi comprado a granel em um mercado atacadista. O segundo, foi comprado já empacotado comercialmente em um supermercado. Todas as amostras foram compradas em forma de pó.

Foram separados 10 g de massa de cada uma das amostras que foram irradiados com doses iguais a 3 kGy, 5 kGy, 7 kGy, 10 kGy, 20 kGy, 30 kGy e 40 kGy. Deste modo, foram geradas 40 amostras em cada grupo analisado. As amostras foram acondicionadas individualmente em recipiente plástico mantidos a temperatura ambiente (Figura III.1).

Os dois grupos de amostras foram analisados por difração de raios X de trinta a trinta dias durante quatro meses. Assim, cada uma das 80 amostras foram analisadas, em função do tempo de armazenamento, com o objetivo de examinar o efeito da irradiação na estabilidade estrutural e de detectar possíveis modificações na estrutura molecular causadas pelo processo de irradiação comparando os resultados obtidos para cada grupo. A Figura III.2 mostra um esquema representativo do processo de análise utilizado.



Figura III.1 – Amostras separadas em recipientes plásticos para armazenamento.

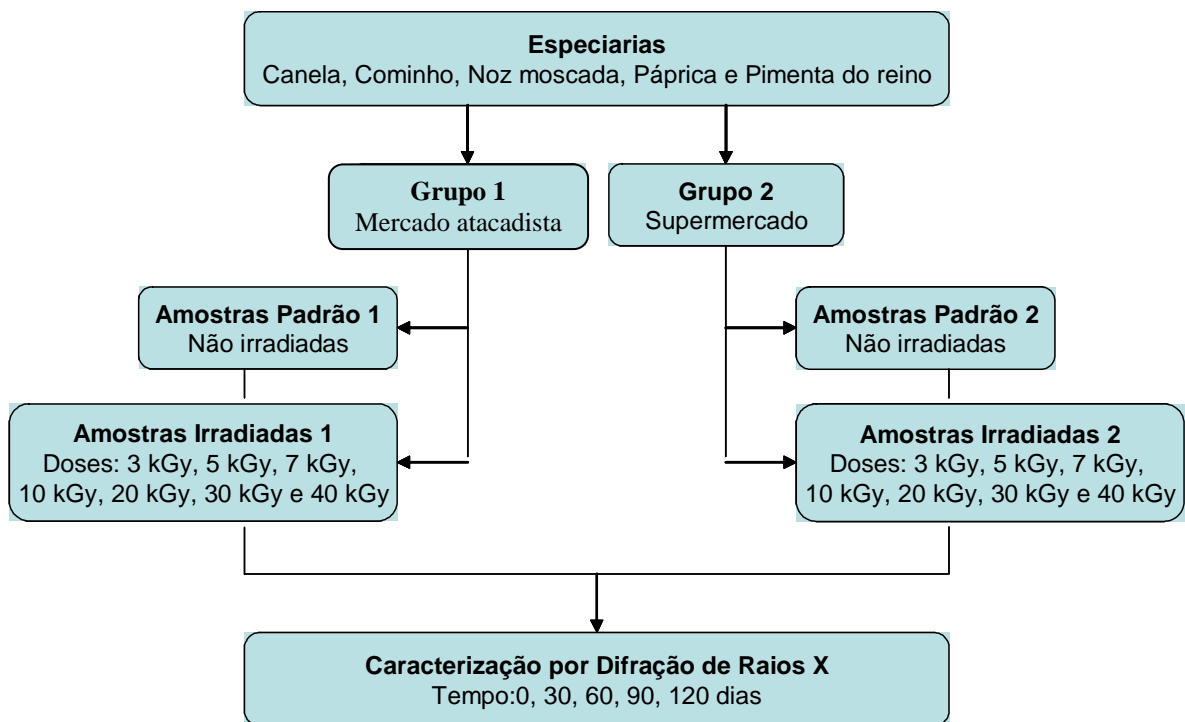


Figura III.2 – Esquema utilizado para realização das medidas.

## III.2 – Processo de Irradiação

As amostras foram irradiadas com Cobalto 60 ( $E = 1,25 \text{ MeV}$ ) em um irradiador Gammacell 220 (Figura III.3) com atividade de 12000 Ci, estimada em dezembro de 1999 (Silva, 2005; Marins, 2003), no Laboratório de Instrumentação Nuclear LIN/COPPE/UFRJ.



Figura III.3 – Irradiador Gammacell 220 da Nordion.

A taxa de dose utilizada foi de aproximadamente 58 Gy/min. O tempo de exposição para se obter cada uma das doses médias absorvidas foi calculado levando-se em consideração o decaimento da fonte. O tempo de exposição variou entre 1 e 12 horas, aproximadamente, sendo todo o controle realizado automaticamente pelo próprio irradiador.

### III.3 – Levantamento dos Perfis de Difração

Os porta-amostras consistem de placas retangulares de alumínio com um círculo de 2,5 cm de diâmetro e 0,1 cm de profundidade, totalizando um volume de amostra fixo de aproximadamente 0,5 cm<sup>3</sup> (Figura III.4).

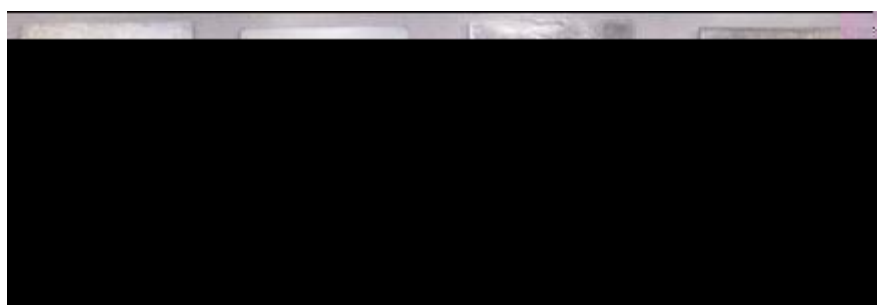


Figura III.4 – Amostras de especiarias nos porta-amostras.

De modo a manter constante a densidade das amostras analisadas a cada mês e conseqüentemente, o número de alvos espalhadores no volume de inspeção determinado pelas fendas do difratômetro, determinou-se a massa necessária para encher o porta-amostra (Tabela III.1). Deste modo, a amostra foi depositada de forma homogênea sem regiões preferenciais e com a superfície plana, condições essenciais para medidas de difração em pó.

Tabela III.1–Massa das amostras.

<b>Especiaria</b>	<b>Massa (g)</b>
Canela	0,302 g
Cominho	0,401 g
Noz Moscada	0,510 g
Páprica	0,698 g
Pimenta do Reino	0,334 g

As amostras foram analisadas utilizando-se o difratômetro comercial XRD-6000 da Shimadzu no LIN/COPPE/UFRJ. A Figura III.5 mostra o arranjo experimental utilizado e seus principais componentes.

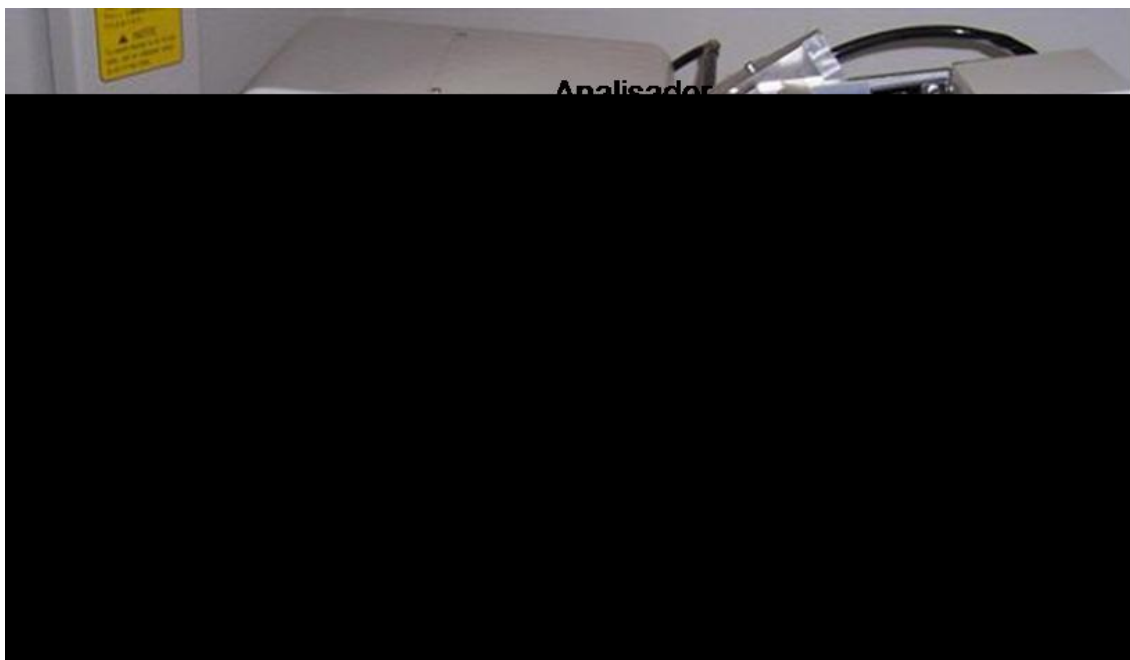


Figura III.5 – Geometria experimental no difratômetro. F1 – fenda de divergência, F2 – fenda de recepção e F3 – fenda de espalhamento.

As medidas foram realizadas em geometria  $\theta$ - $2\theta$  utilizando um feixe de raios X altamente colimado de 8,047 keV ( $K_{\alpha}$  Cu) com tensão de 40,0 kV e corrente de 30,0 mA. Os perfis de difração foram obtidos no intervalo de  $5^{\circ}$  a  $35^{\circ}$  com passo angular de  $0,05^{\circ}$  a cada 3 segundos. A intensidade da radiação espalhada foi coletada por um detector cintilador de iodeto de sódio (NaI) com um monocromador analisador de grafite antes do detector. Todas as condições experimentais são apresentadas na Tabela III.2.

Tabela III.2 – Condições experimentais para obtenção dos difratogramas.

<b>Condições instrumentais</b>	<b>Valores</b>
Alvo	Cu ( $\lambda = 1,54186 \text{ \AA}$ )
Tensão (kV)	40,0
Corrente (mA)	30,0
Fenda de divergência (graus)	1,0000
Fenda de recepção (mm)	0,3
Fenda de espalhamento (graus)	1,0000
Ângulo inicial (graus)	5
Ângulo final (graus)	35
Passo angular (graus)	0,05
Tempo (s)	3,0



# CAPÍTULO IV

## APRESENTAÇÃO DOS RESULTADOS

---

Neste capítulo serão apresentados os resultados obtidos para cada uma das especiarias analisadas. Todos os perfis de difração apresentados foram corrigidos subtraindo-se o *background*. As intensidades medidas em função do ângulo de espalhamento para cada uma das doses de irradiação foram comparadas com as intensidades medidas para as amostras padrão não irradiadas. Para todas as amostras, pode-se verificar que as intensidades dos picos de difração variam com a dose para cada mês analisado.

### IV.1 – Canela

#### IV.1.1 – Grupo 1

Para as amostras de canela do grupo 1, pode-se notar a presença de 5 picos principais:  $\theta_1=8,30^\circ$ ;  $\theta_2=14,80^\circ$ ;  $\theta_3=16,55^\circ$ ;  $\theta_4=19,35^\circ$  e  $\theta_5=25,10^\circ$ . Como exemplos, as Figura IV.1 e IV.2 mostram os perfis de difração para a amostra padrão, não irradiada, no mês de referência e para a amostra irradiada com 20 kGy sessenta dias após a irradiação, respectivamente.

As Figuras IV.3 a IV.7 mostram a variação das intensidades relativas ( $I/I_{\text{máximo}}$ ) dos principais picos de difração encontrados em função da dose de irradiação para cada mês de análise.

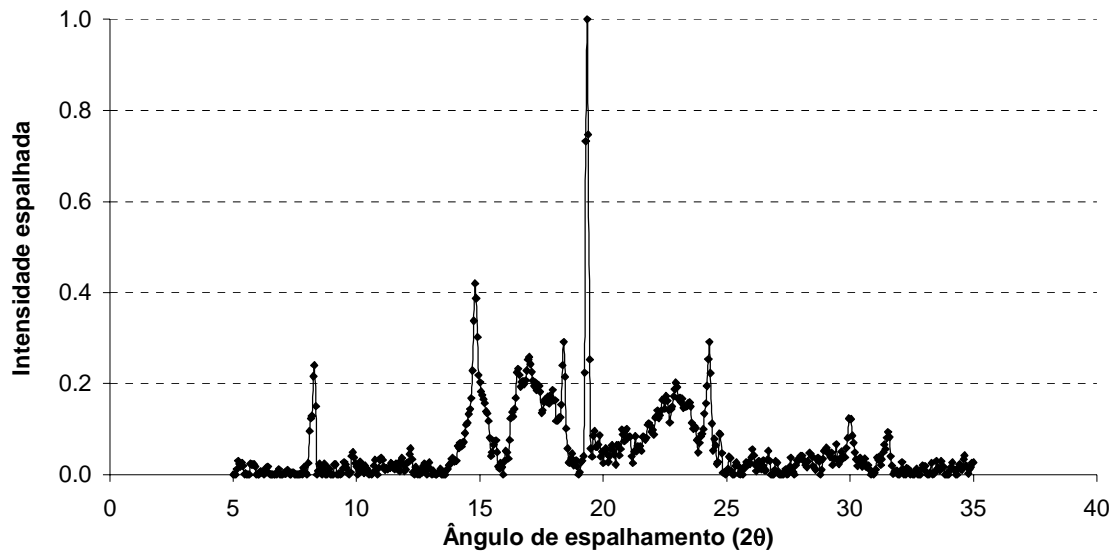


Figura IV.1. Perfil de difração para a amostra de canela do grupo 1 não irradiada no mês de referência.

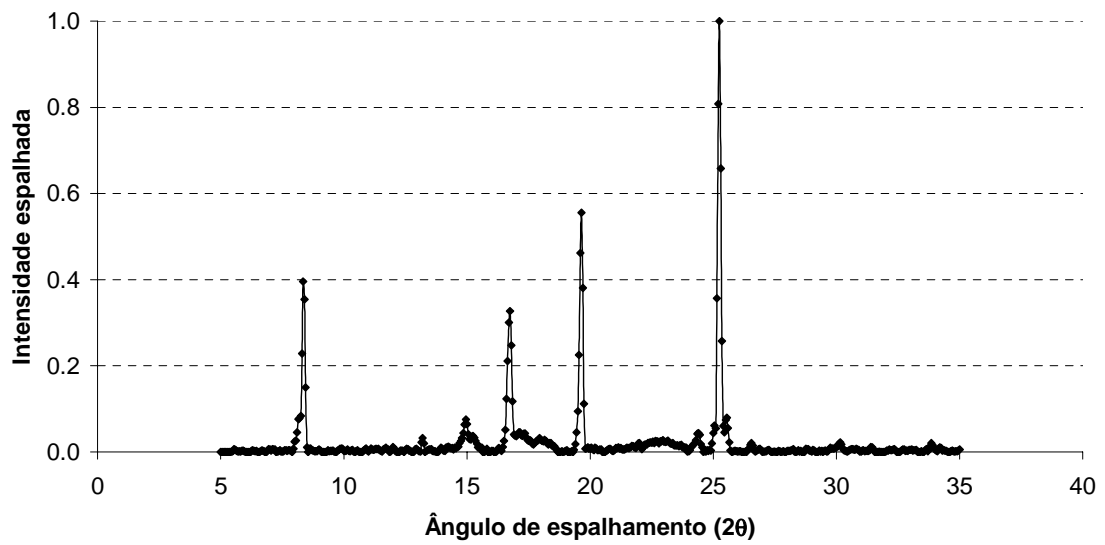


Figura IV.2. Perfil de difração para a amostra de canela do grupo 1 irradiada com 20 kGy sessenta dias após o mês de referência.

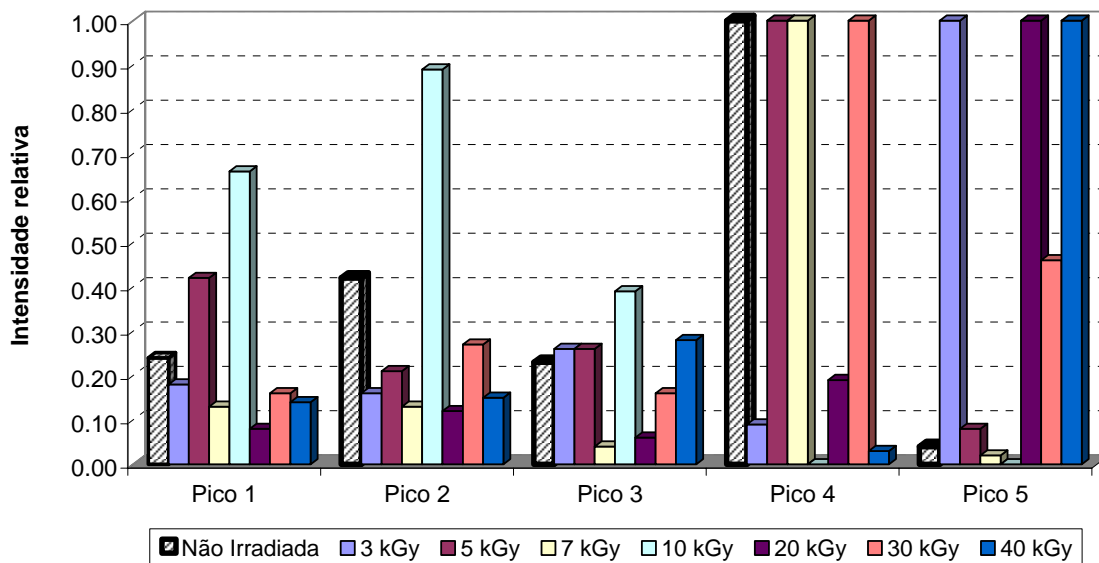


Figura IV.3. Intensidades relativas dos picos de difração encontrados em função da dose no mês de referência.

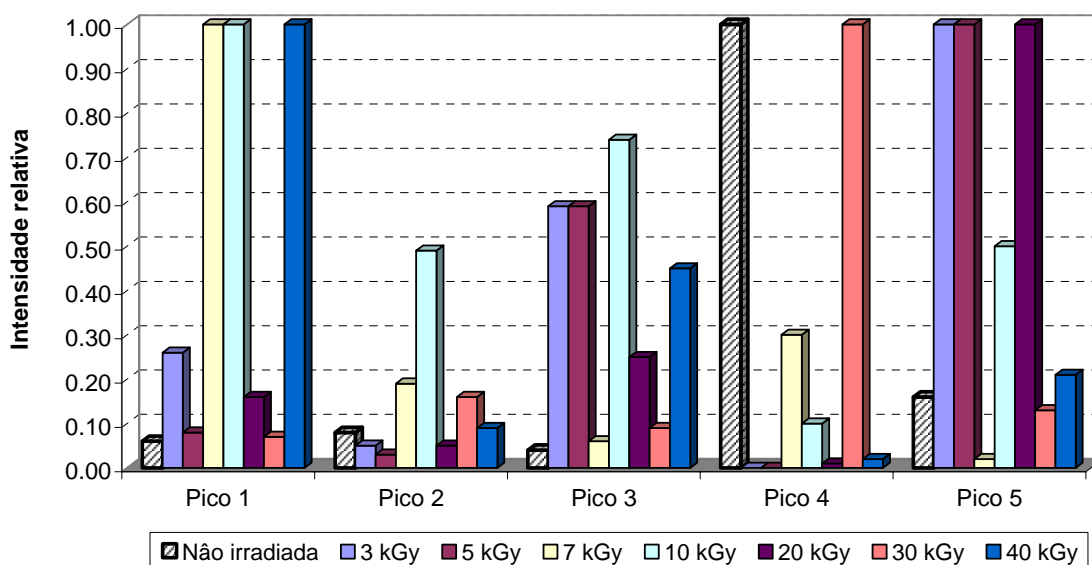


Figura IV.4. Intensidades relativas dos picos de difração encontrados em função da dose depois de 30 dias da irradiação.

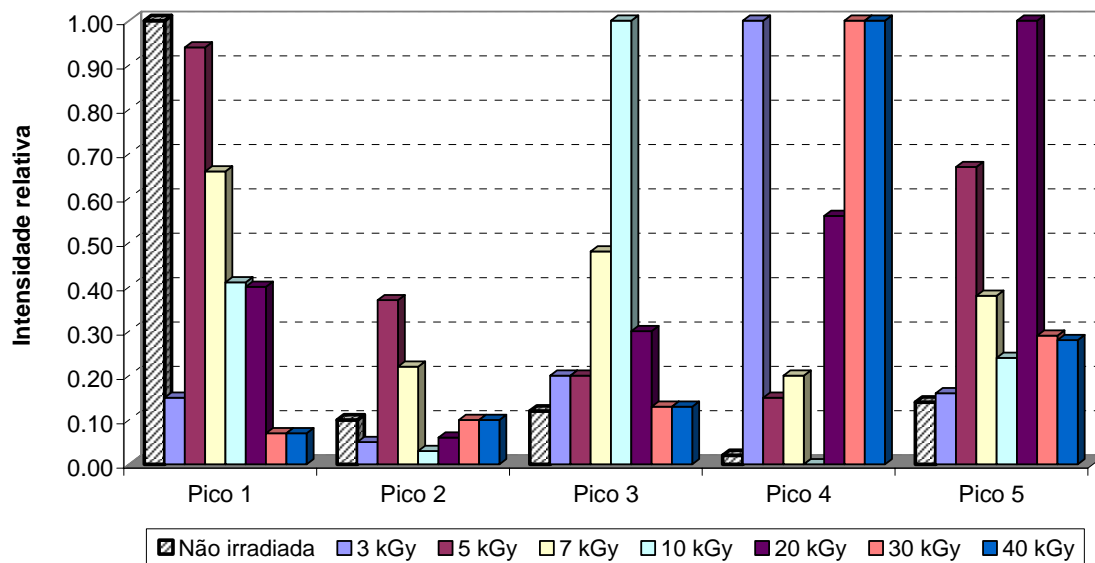


Figura IV.5. Intensidades relativas dos picos de difração encontrados em função da dose depois de 60 dias da irradiação.

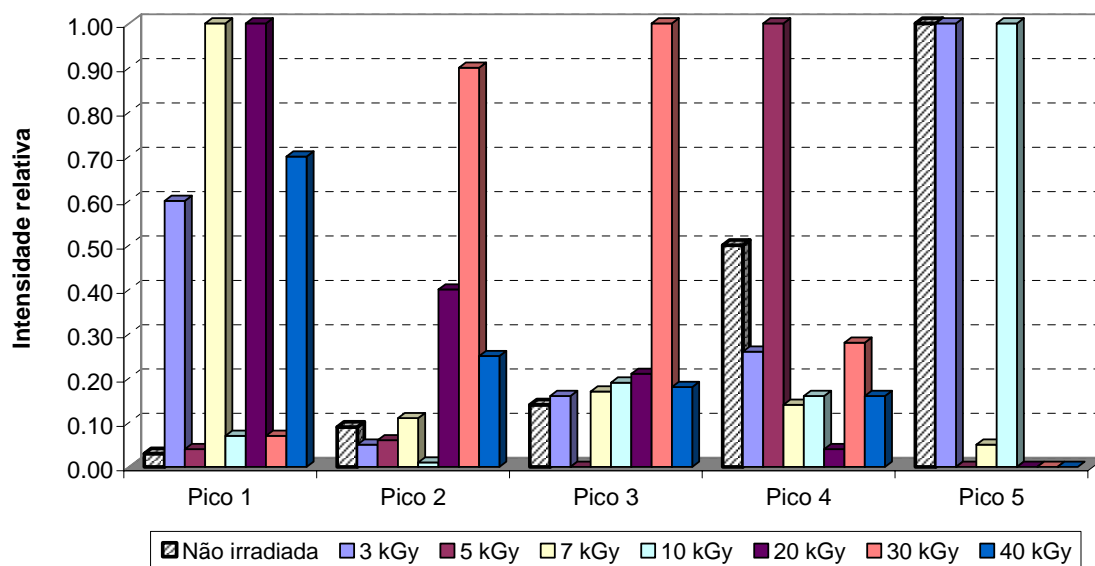


Figura IV.6. Intensidades relativas dos picos de difração encontrados em função da dose depois de 90 dias da irradiação.

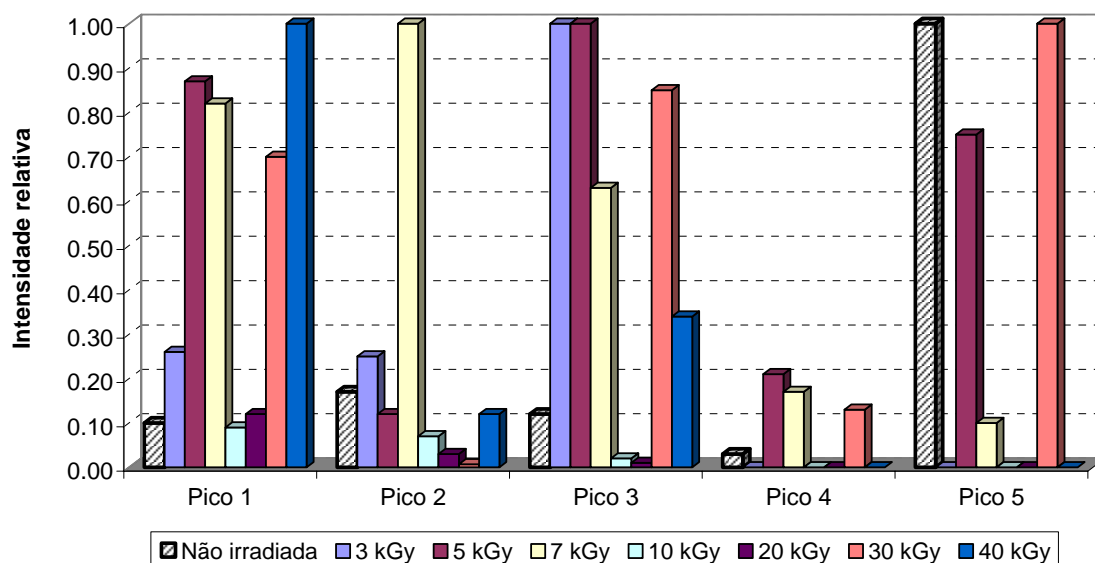
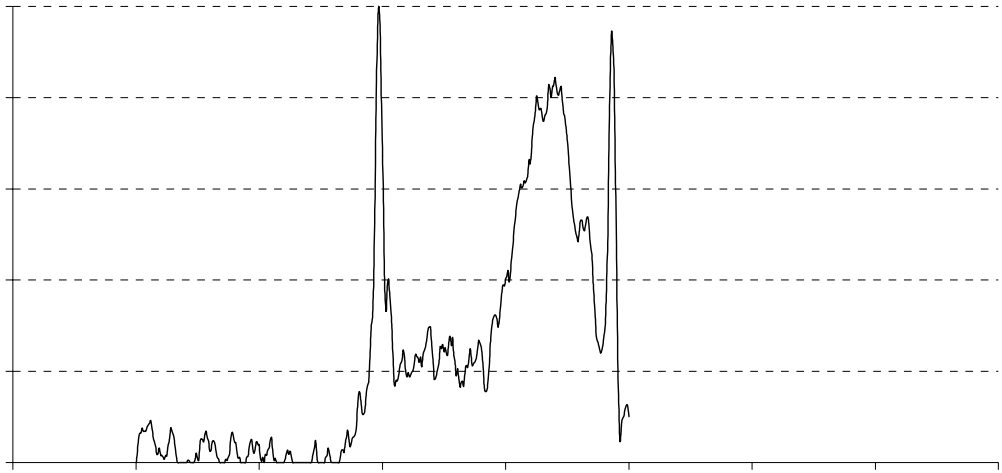


Figura IV.7. Intensidades relativas dos picos de difração encontrados em função da dose depois de 120 dias da irradiação.

#### IV.1.2 – Grupo 2

Para as amostras de canela do grupo 2, pode-se notar a presença de três picos principais estreitos:  $\theta_1=14,85^\circ$ ;  $\theta_3=24,30^\circ$ ;  $\theta_4=30,05^\circ$  e um pico mais largo em  $\theta_2=22,00^\circ$ . Como exemplos, as Figura IV.8 e IV.9 mostram o perfis de difração para a amostra padrão, não irradiada, no mês de referência e para a amostra irradiada com 30 kGy noventa dias após a irradiação, respectivamente.

As Figuras IV.10 a IV.14 mostram a variação das intensidades relativas ( $I/I_{\text{máximo}}$ ) dos principais picos de difração em função da dose de irradiação para cada mês de análise.



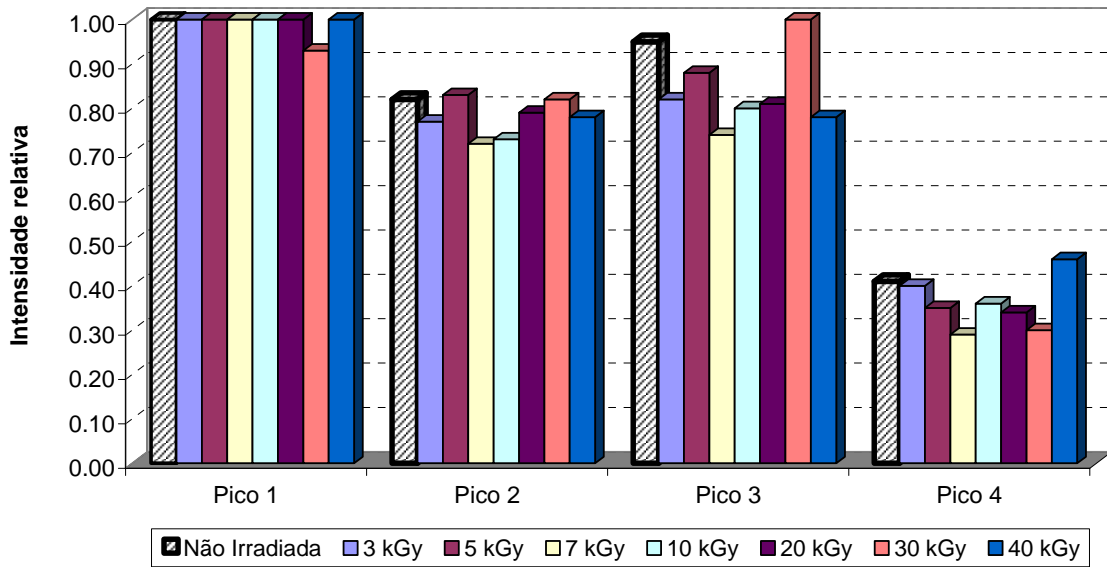


Figura IV.10. Intensidades relativas dos picos de difração encontrados em função da dose no mês de referência.

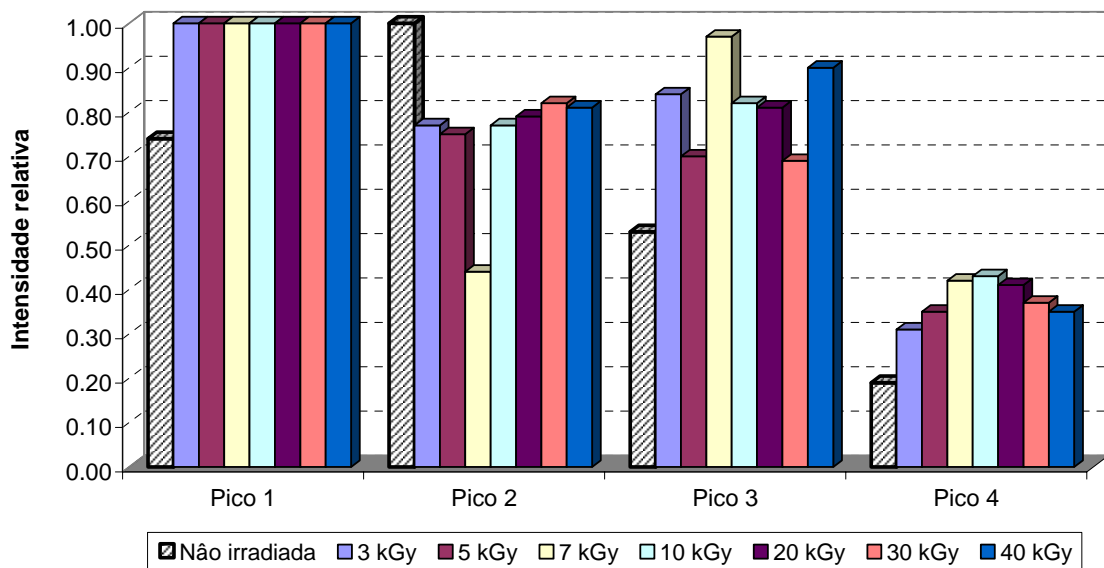
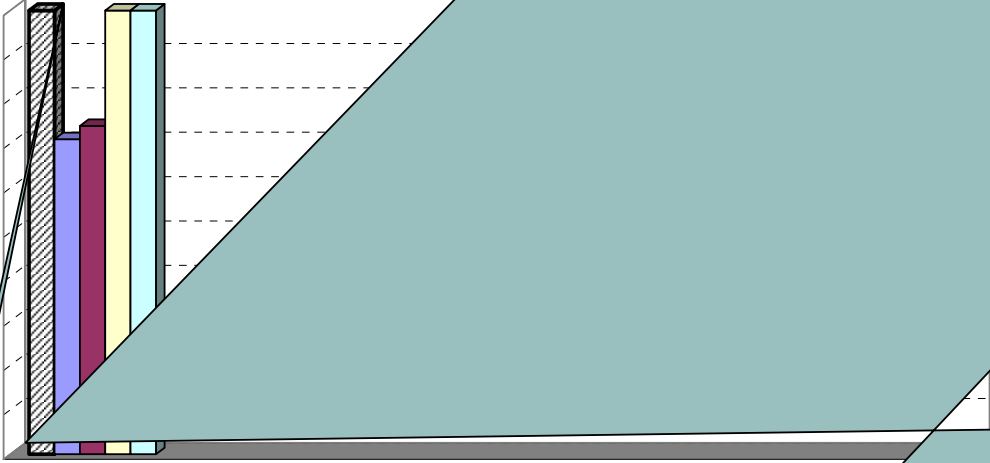
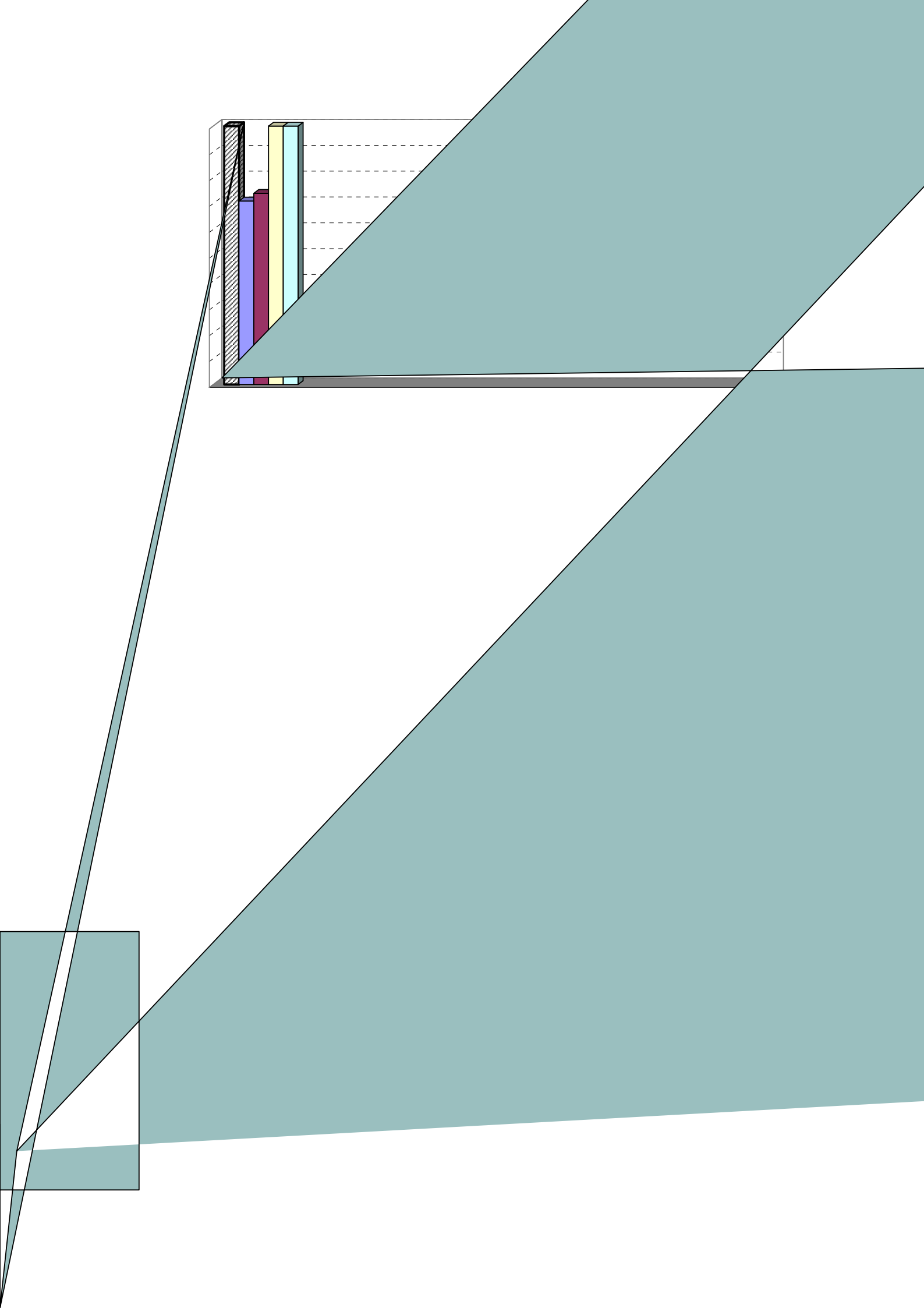


Figura IV.11. Intensidades relativas dos picos de difração encontrados em função da dose depois de 30 dias da irradiação.





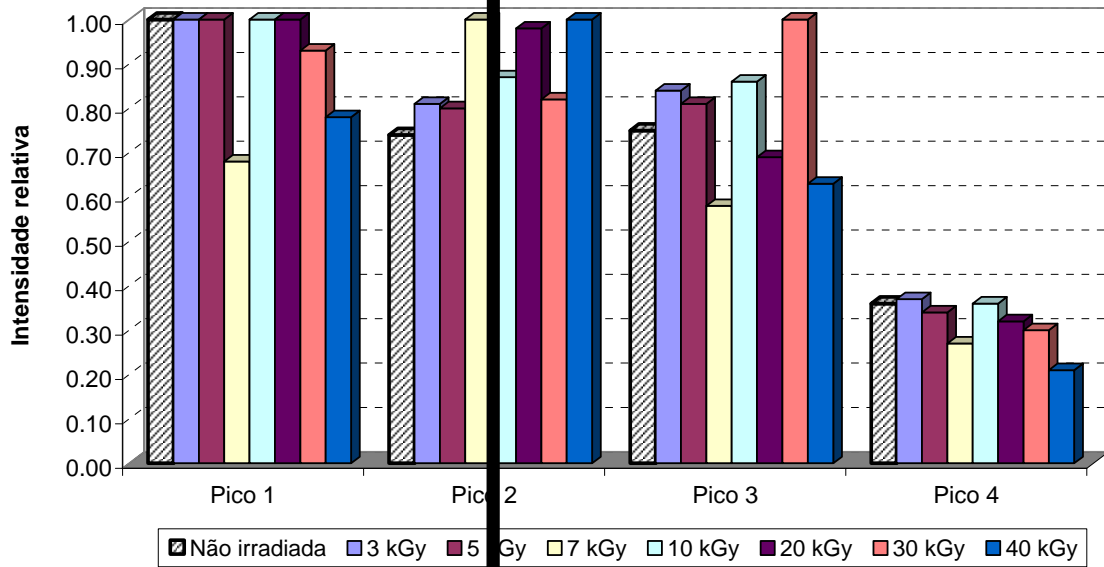
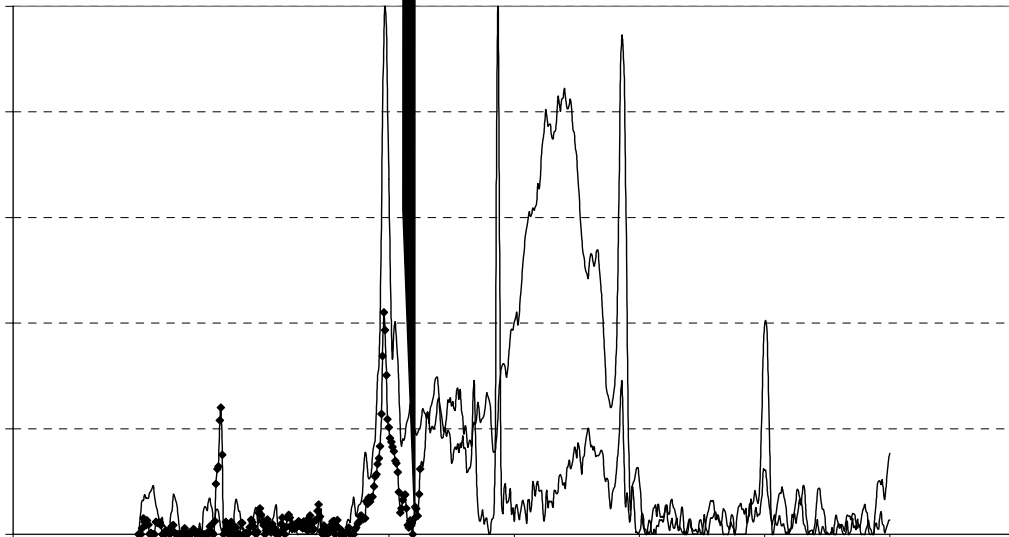


Figura IV.14. Intensidades relativas dos picos de difração encontrados em função da dose depois de 20 dias da irradiação.

A Figura IV.15 mostra a comparação entre os perfis de difração obtidos para as amostras de canela não irradiadas do grupo 1 e 2 no mês de referência.



## IV.2 – Cominho

### IV.2.1 – Grupo 1

Para as amostras de cominho do grupo 1, pode-se notar a presença de 5 picos principais:  $\theta_1=15,10^\circ$ ;  $\theta_2=18,00^\circ$ ;  $\theta_3=23,05^\circ$ ;  $\theta_4=27,35^\circ$  e  $\theta_5=31,70^\circ$ . Como exemplos, as Figuras IV.16 e IV.17 mostram os perfis de difração para a amostra padrão, não irradiada, no mês de referência e para a amostra irradiada com 10 kGy trinta dias após a irradiação, respectivamente.

As Figuras IV.18 a IV.22 mostram a variação das intensidades relativas ( $I/I_{\text{máximo}}$ ) dos principais picos de difração encontrados em função da dose de irradiação para cada mês de análise.

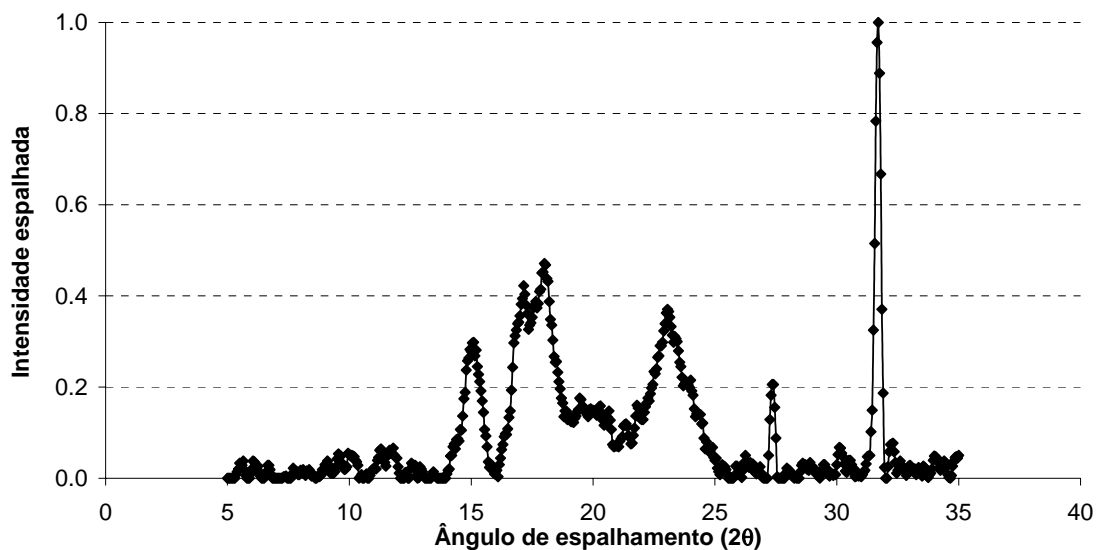
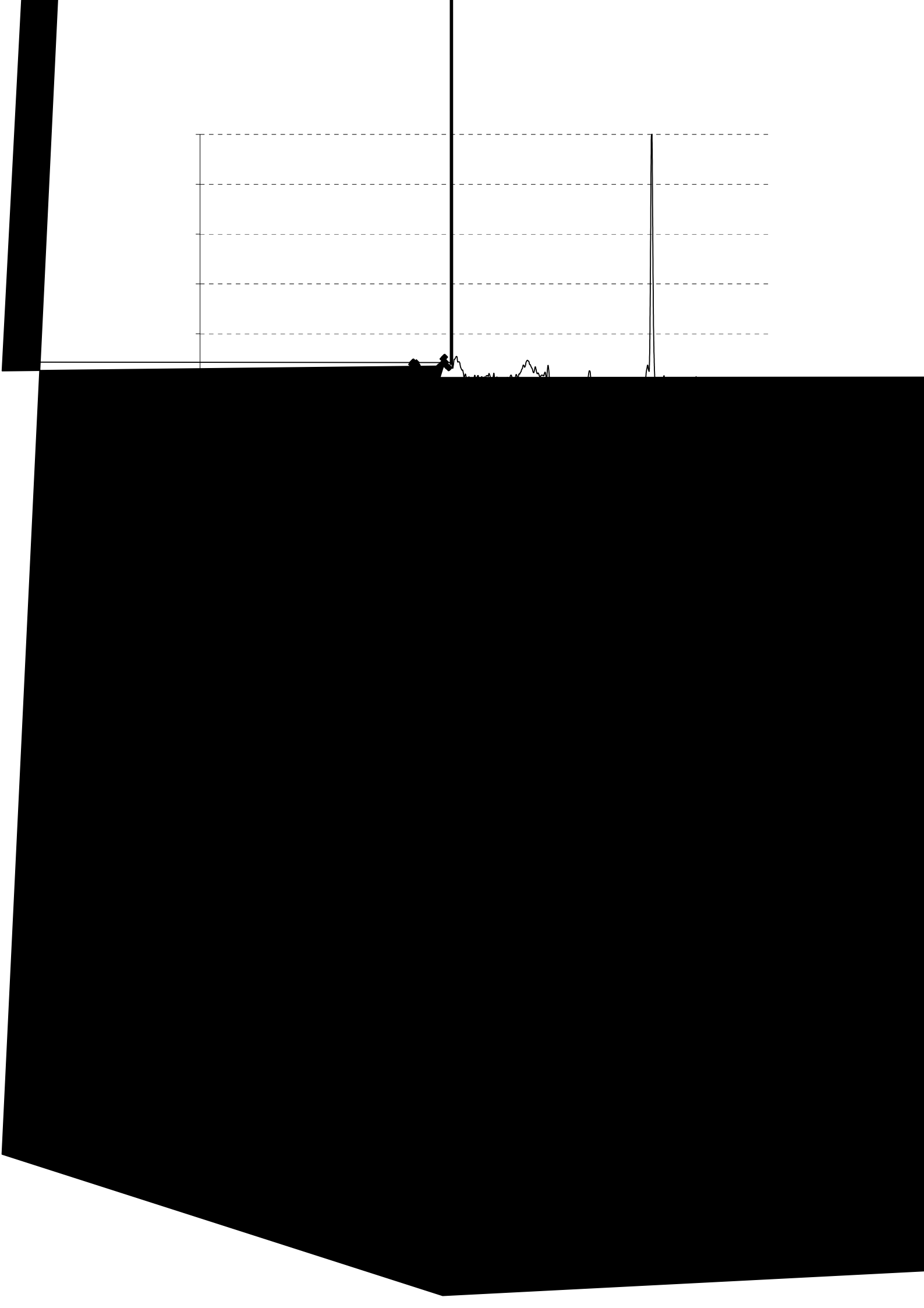


Figura IV.16. Perfil de difração para a amostra de cominho do grupo 1 não irradiada no mês de referência.



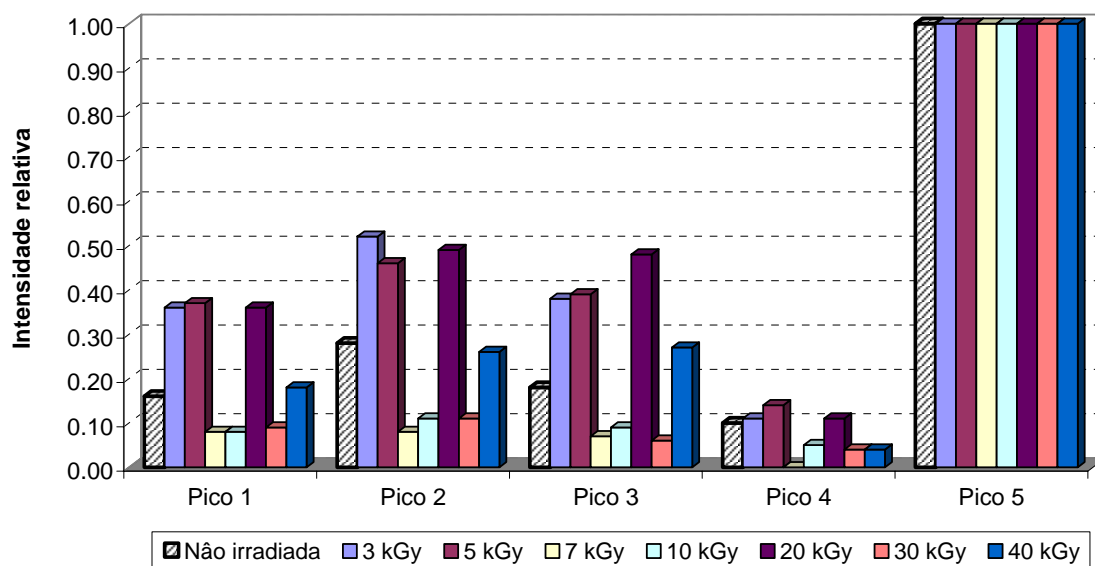


Figura IV.19. Intensidades relativas dos picos de difração encontrados em função da dose depois de 30 dias da irradiação.

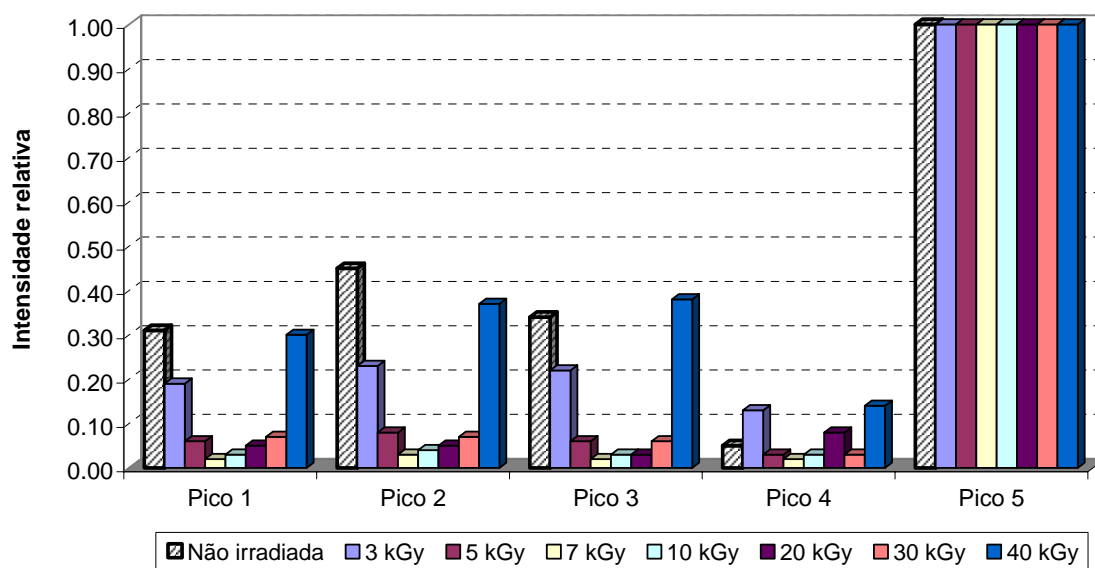


Figura IV.20. Intensidades relativas dos picos de difração encontrados em função da dose depois de 60 dias da irradiação.

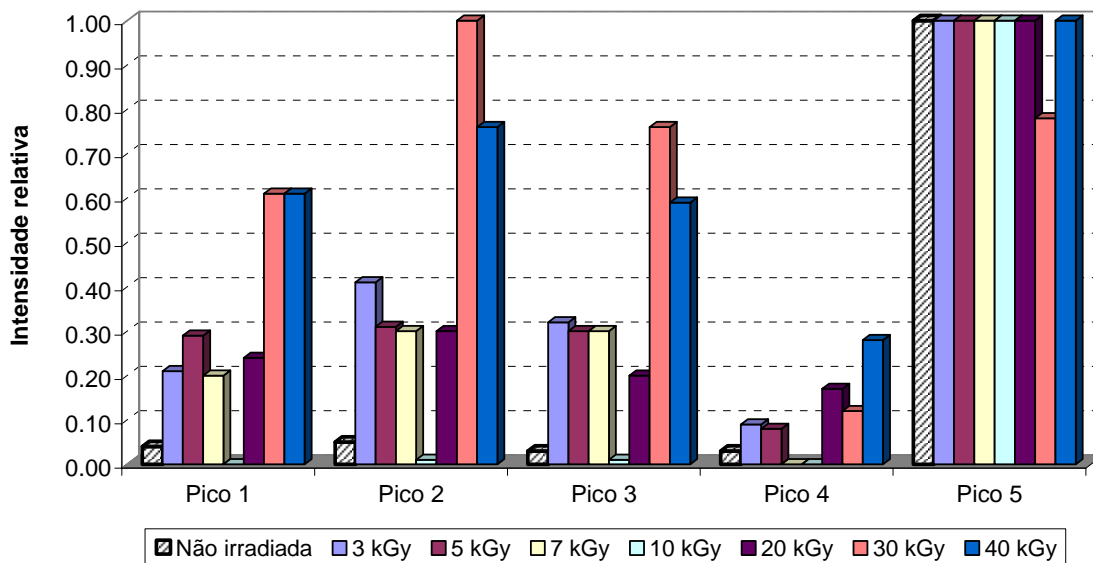


Figura IV.21. Intensidades relativas dos picos de difração encontrados em função da dose depois de 90 dias da irradiação.

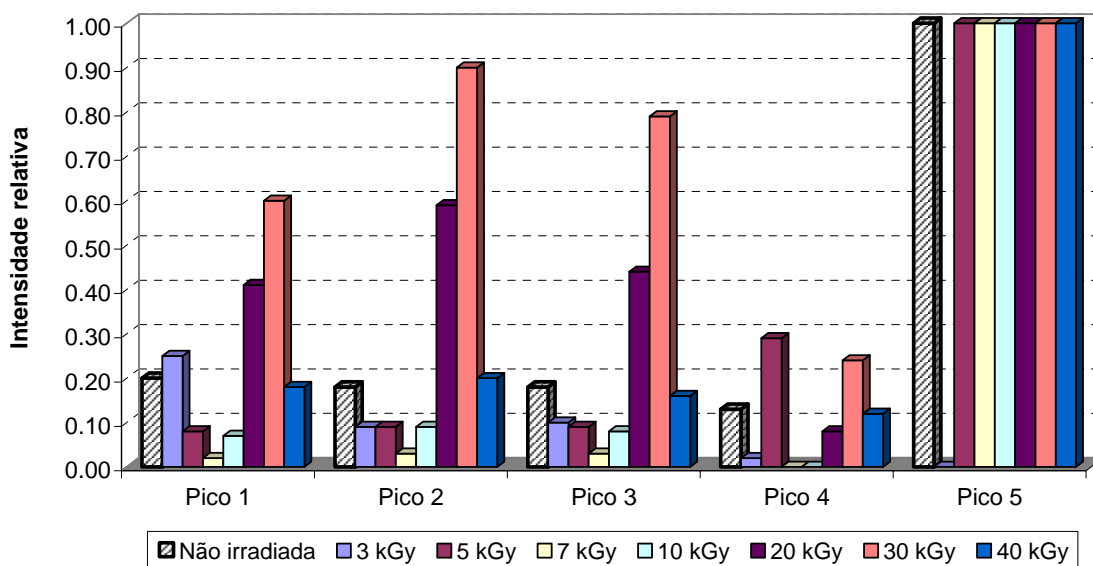


Figura IV.22. Intensidades relativas dos picos de difração encontrados em função da dose depois de 120 dias da irradiação.

## IV.2.2 – Grupo 2

Para as amostras de cominho do grupo 2, pode-se notar a presença de 3 picos principais:  $\theta_1=14,95^\circ$ ;  $\theta_2=19,95^\circ$  e  $\theta_3=24,30^\circ$ . Como exemplos, as Figura IV.23 e IV.24 mostram os perfis de difração para a amostra padrão, não irradiada, no mês de referência e para a amostra irradiada com 10 kGy cento e vinte dias após a irradiação, respectivamente.

As Figuras IV.25 a IV.29 mostram a variação das intensidades relativas ( $I/I_{\text{máximo}}$ ) dos principais picos de difração encontrados em função da dose de irradiação para cada mês de análise.

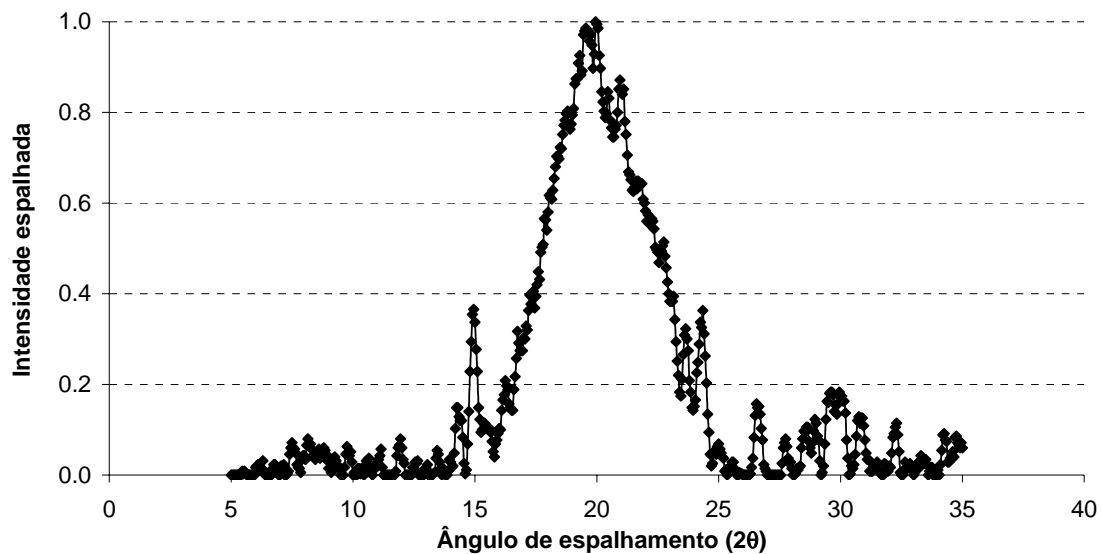


Figura IV.23. Perfil de difração para a amostra de cominho do grupo 2 não irradiada no mês de referência.

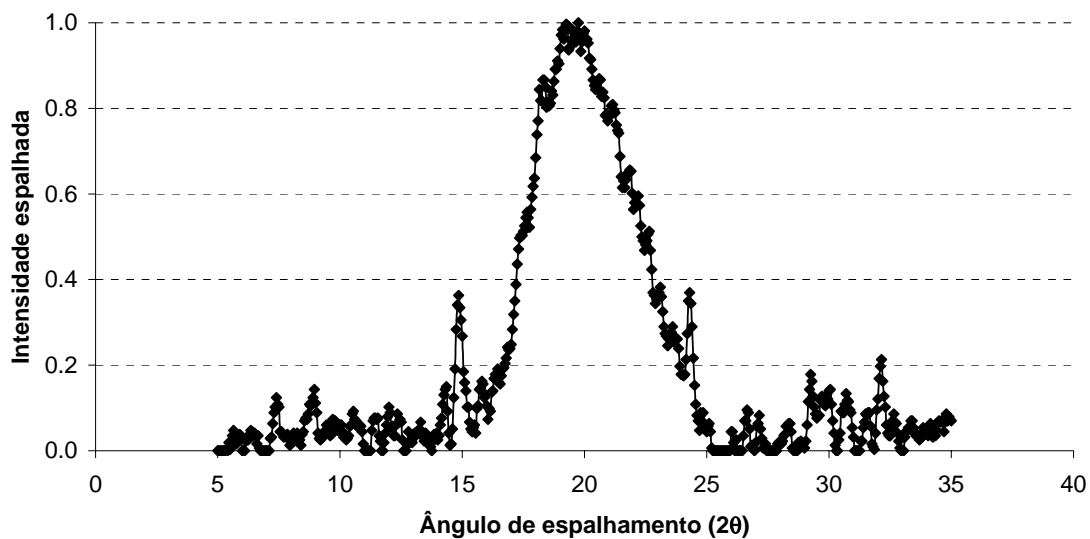


Figura IV.24. Perfil de difração para a amostra de cominho do grupo 2 irradiada com 10 kGy cento e vinte dias após o mês de referência.

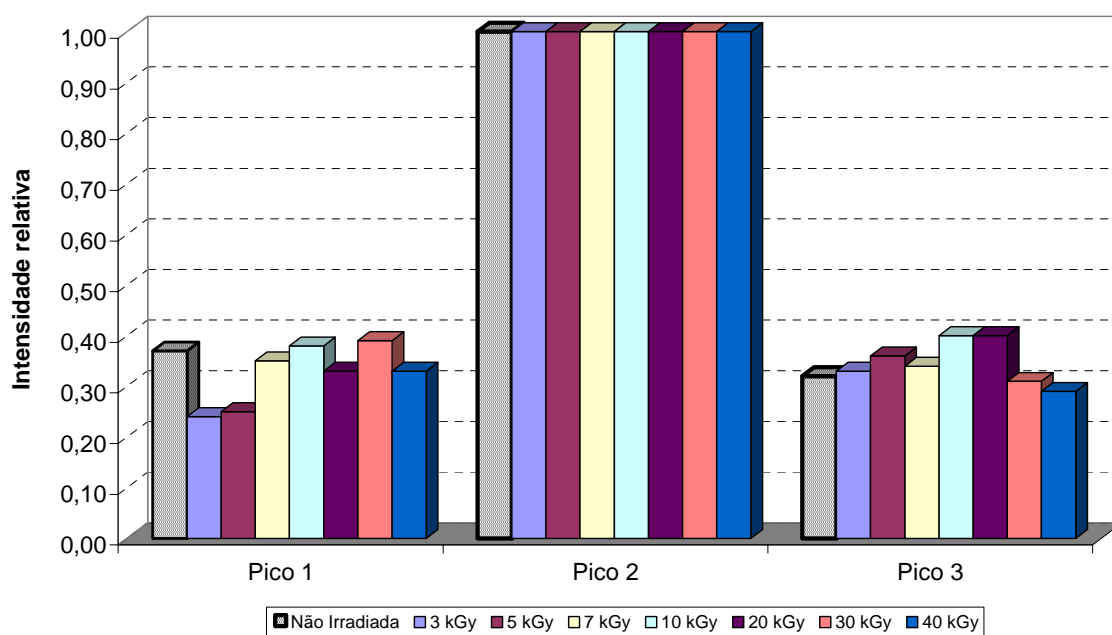
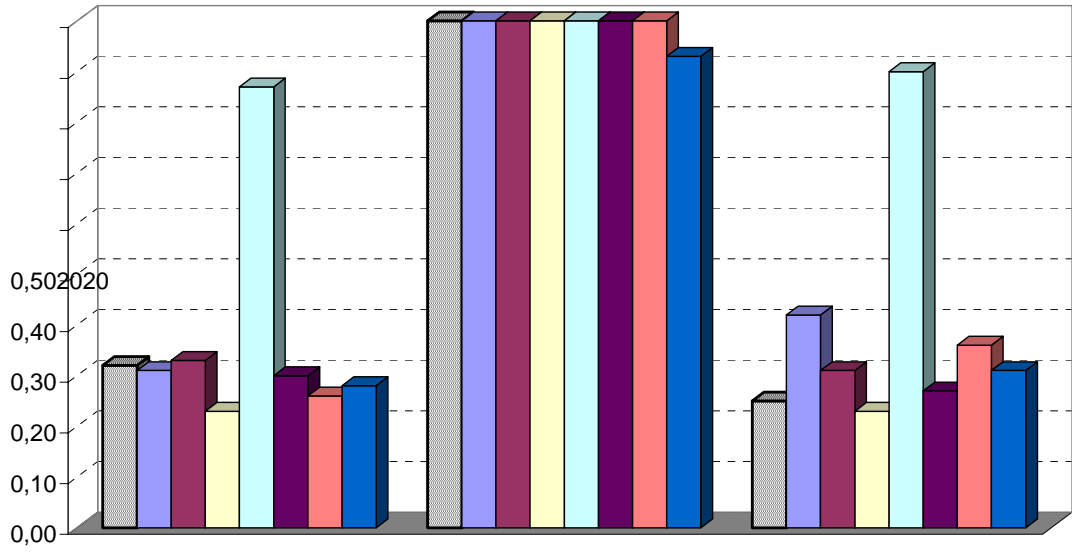


Figura IV.25. Intensidades relativas dos picos de difração encontrados em função da dose no mês de referência.





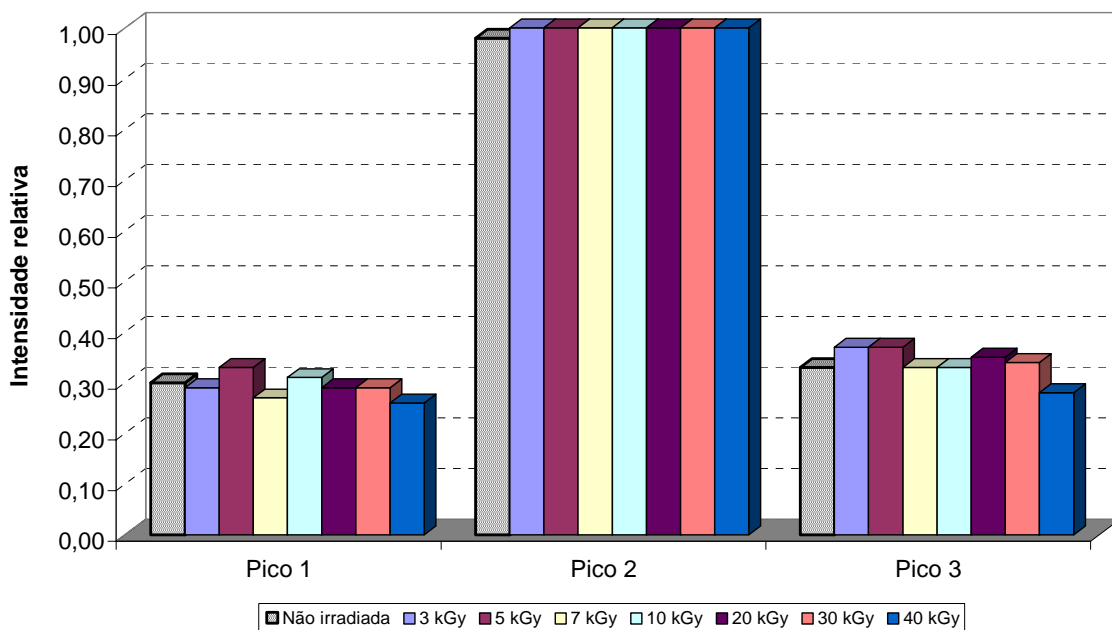


Figura IV.28. Intensidades relativas dos picos de difração encontrados em função da dose depois de 90 dias da irradiação.

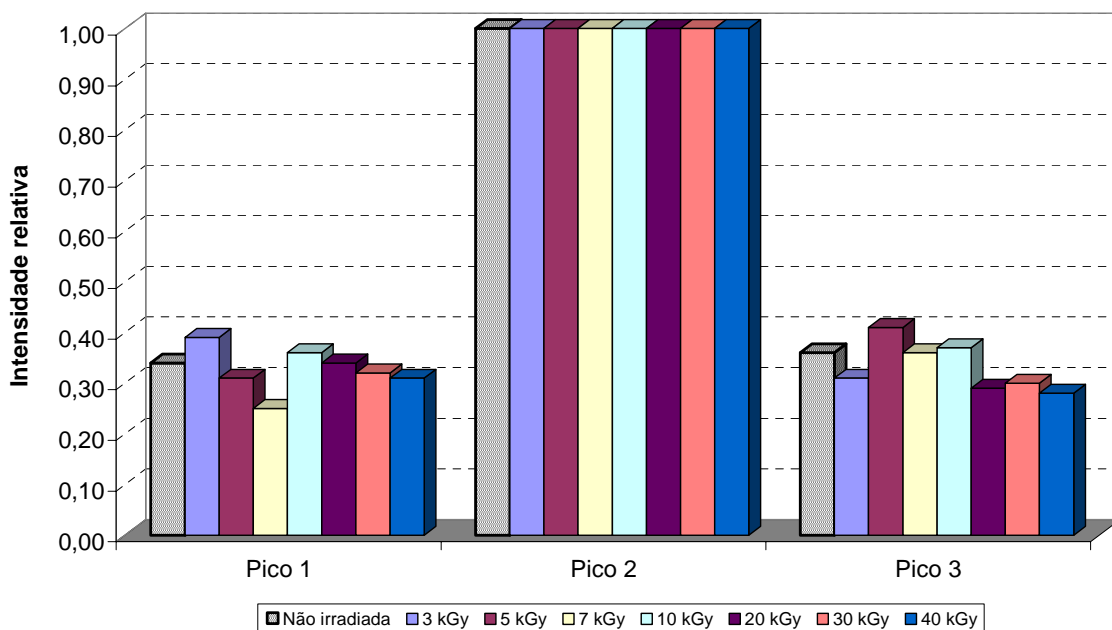
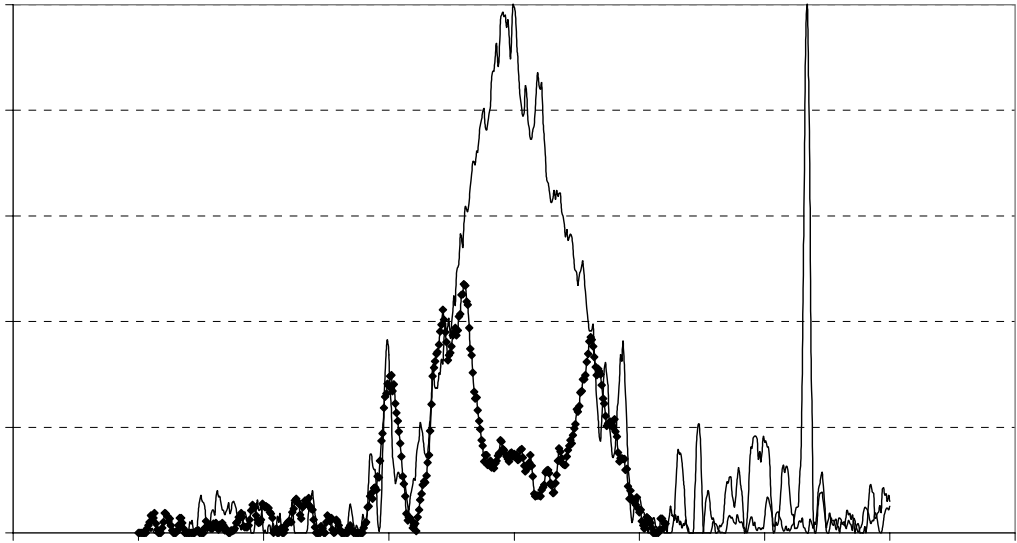
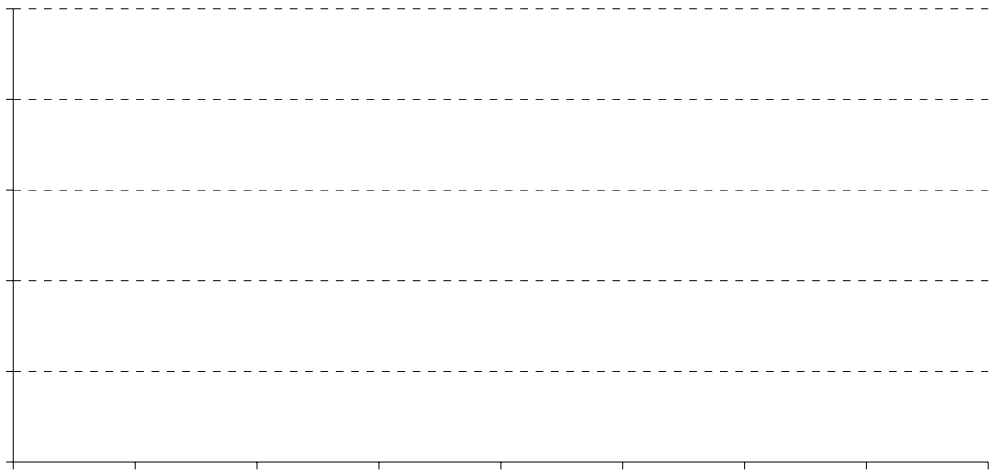


Figura IV.29. Intensidades relativas dos picos de difração encontrados em função da dose depois de 120 dias da irradiação.

A Figura IV.30 mostra a comparação entre os perfis de difração obtidos para as amostras de cominho não irradiadas do grupo 1 e 2 no mês de referência.





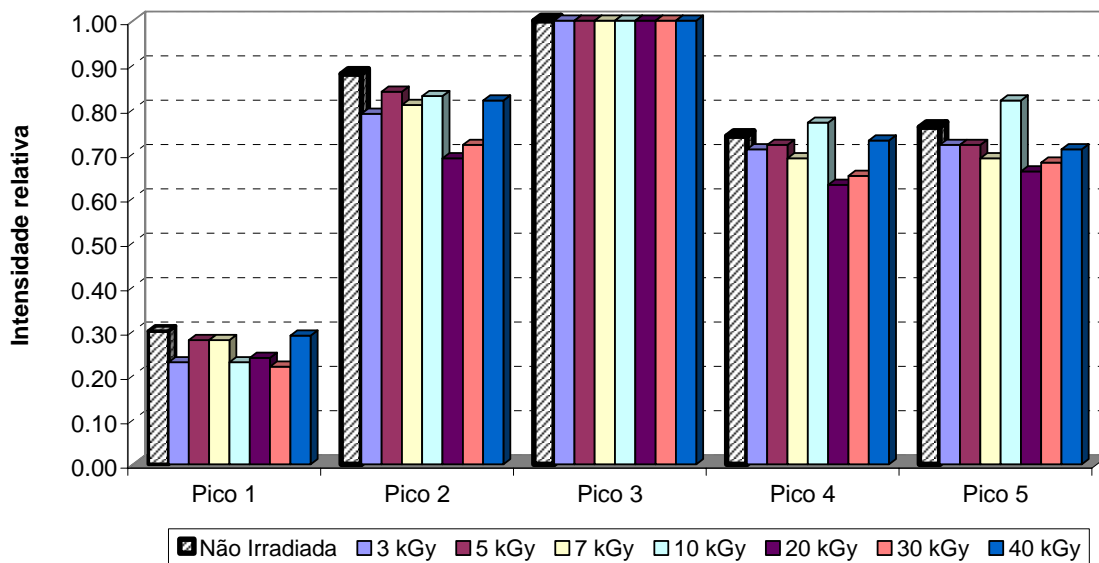


Figura IV.33. Intensidades relativas dos picos de difração encontrados em função da dose no mês de referência.

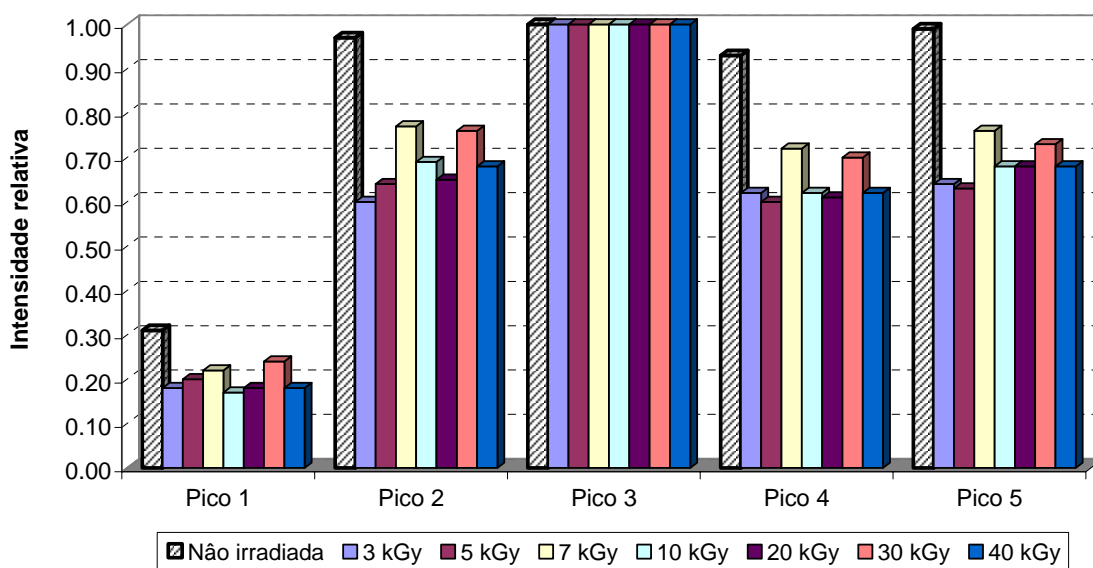


Figura IV.34. Intensidades relativas dos picos de difração encontrados em função da dose depois de 30 dias da irradiação.

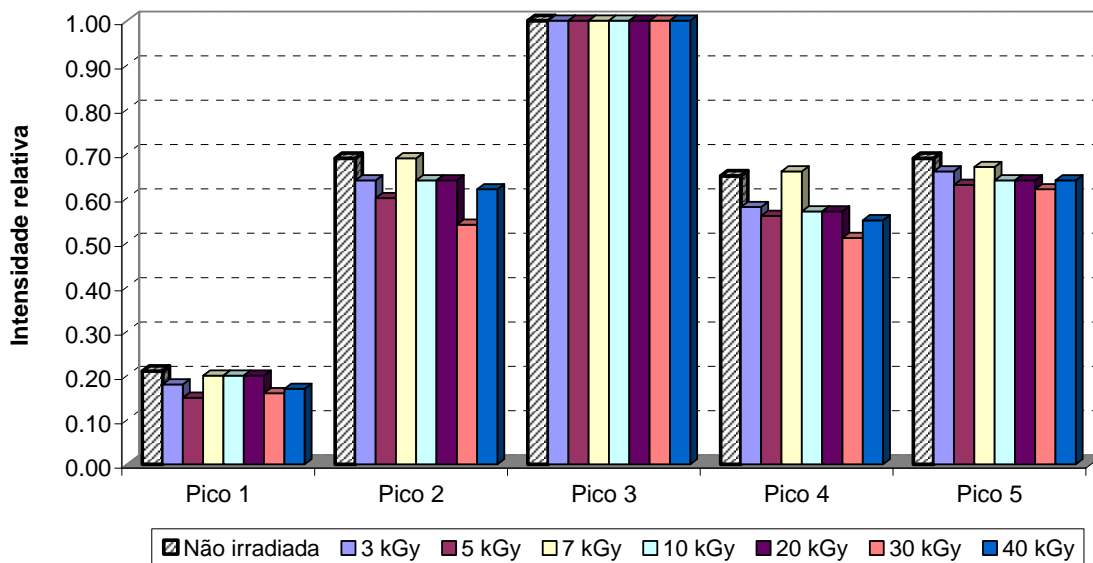


Figura IV.35. Intensidades relativas dos picos de difração encontrados em função da dose depois de 60 dias da irradiação.

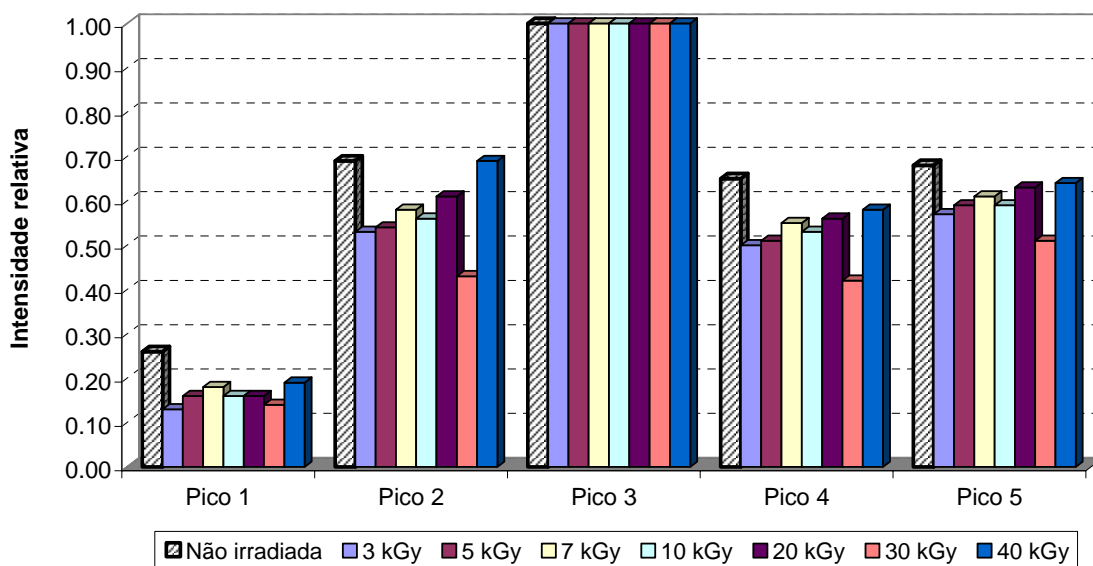


Figura IV.36. Intensidades relativas dos picos de difração encontrados em função da dose depois de 90 dias da irradiação.

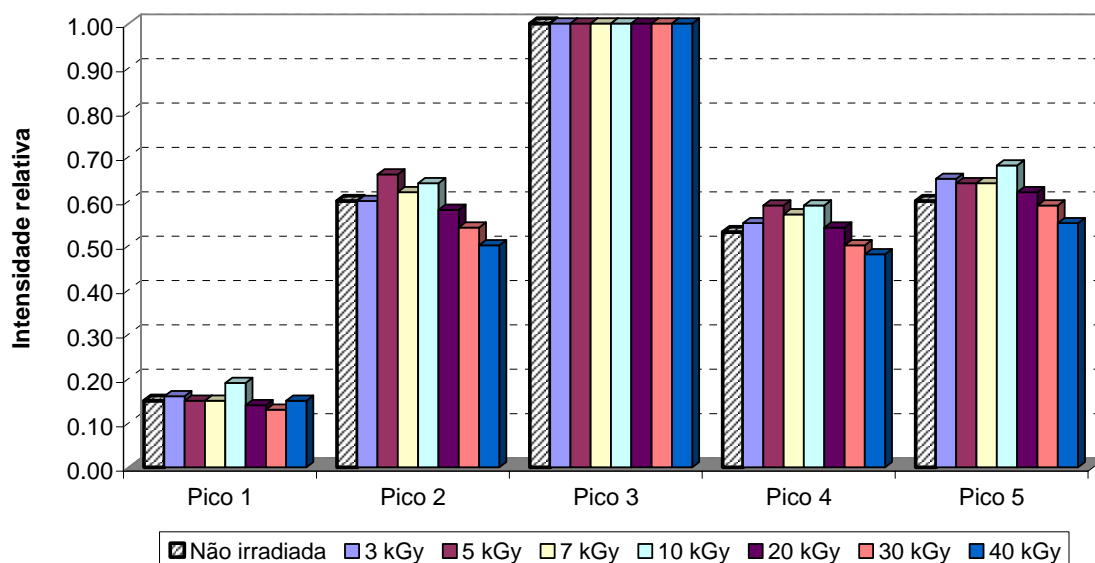


Figura IV.37. Intensidades relativas dos picos de difração encontrados em função da dose depois de 120 dias da irradiação.

### IV.3.2 – Grupo 2

Para as amostras de noz moscada do grupo 2, pode-se notar a presença de 5 picos principais:  $\theta_1=15,1^\circ$ ;  $\theta_2=16,95^\circ$ ;  $\theta_3=19,35^\circ$ ;  $\theta_4=23,05^\circ$  e  $\theta_5=23,85^\circ$ . A intensidade desses picos variam com a dose para cada mês analisado. Como exemplos, as Figura IV.38 e IV.39 mostram os perfis de difração para a amostra padrão, não irradiada, no mês de referência e para a amostra irradiada com 30 kGy trinta dias após a irradiação, respectivamente.

As Figuras IV.40 a IV.44 mostram a variação das intensidades relativas ( $I/I_{\text{máximo}}$ ) dos principais picos de difração encontrados em função da dose de irradiação para cada mês de análise.

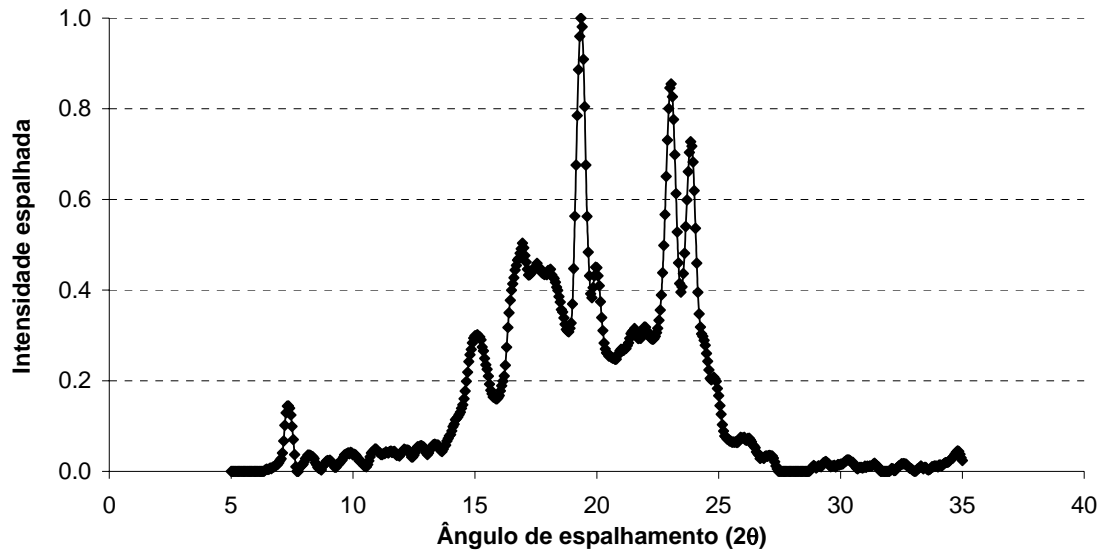
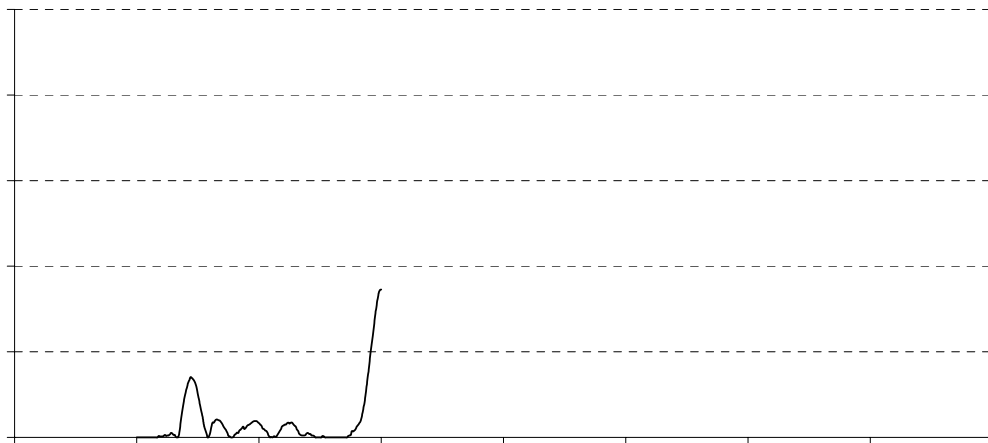


Figura IV.38. Perfil de difração para a amostra de noz moscada do grupo 2 não irradiada no mês de referência.



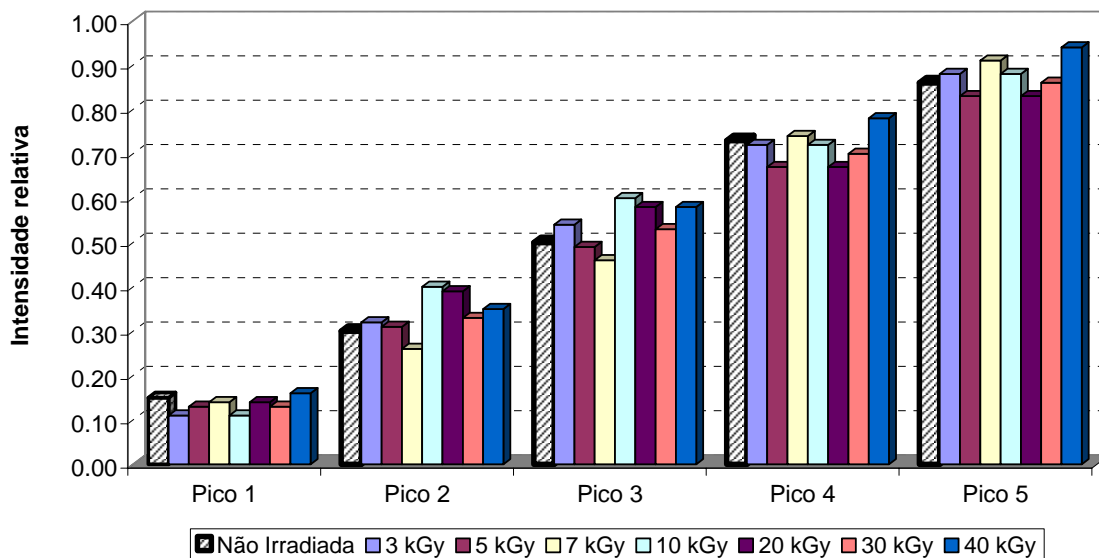


Figura IV.40. Intensidades relativas dos picos de difração encontrados em função da dose no mês de referência.

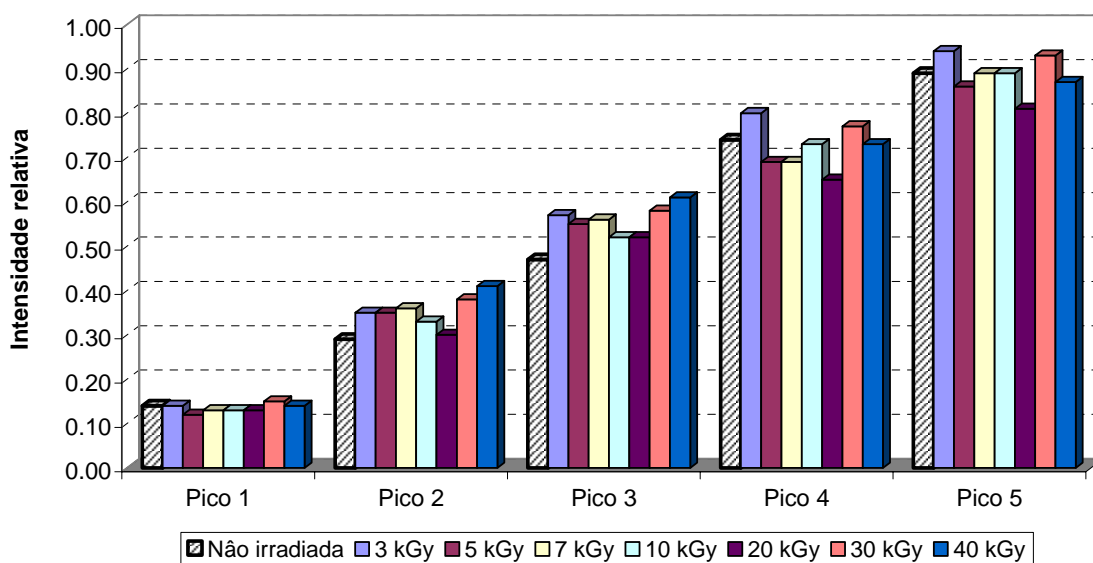


Figura IV.41. Intensidades relativas dos picos de difração encontrados em função da dose depois de 30 dias da irradiação.



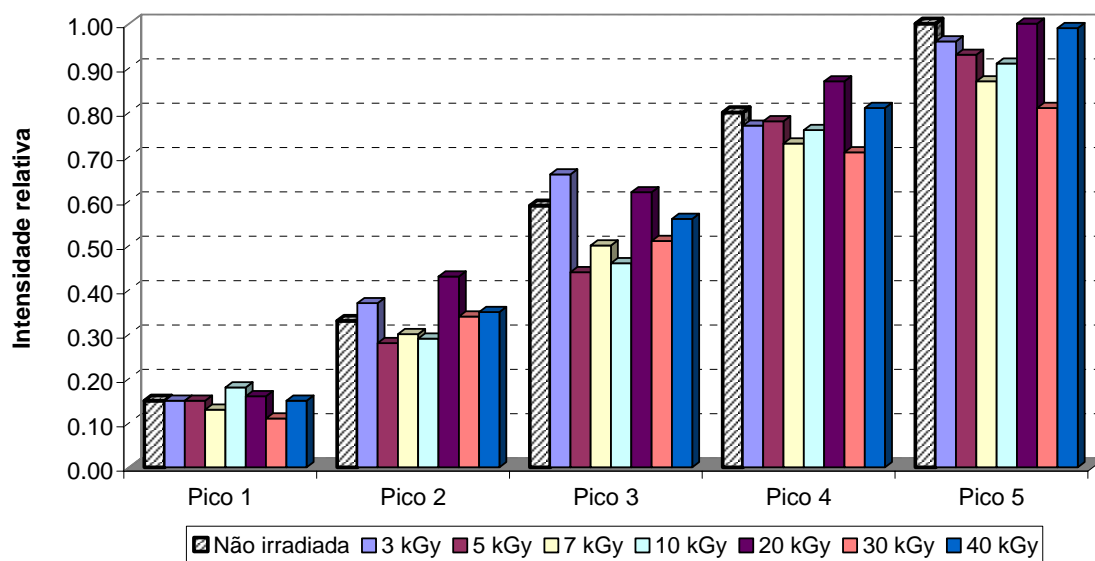


Figura IV.42. Intensidades relativas dos picos de difração encontrados em função da dose depois de 60 dias da irradiação.

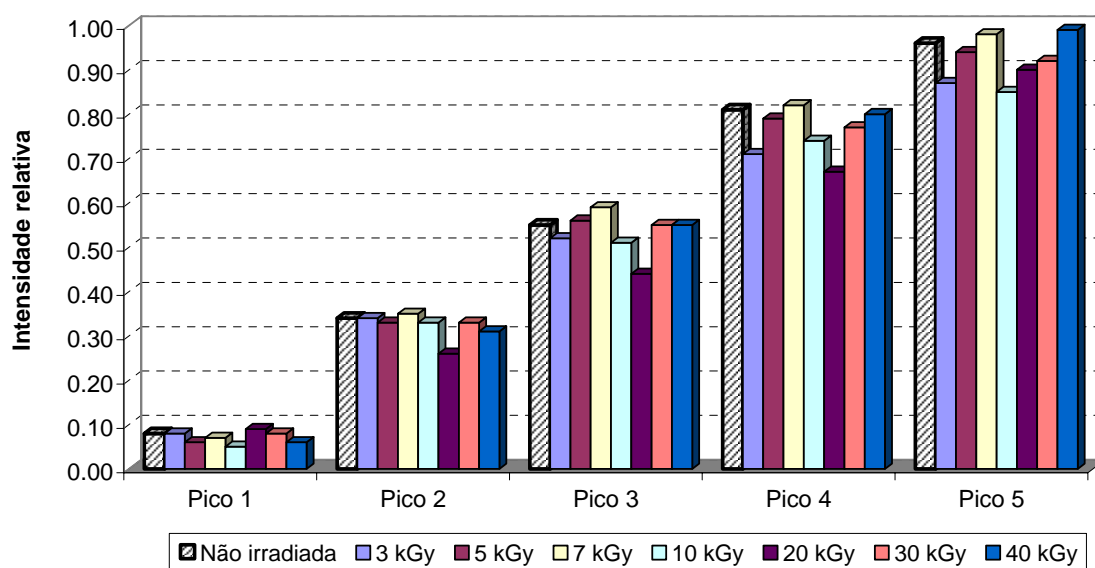


Figura IV.43. Intensidades relativas dos picos de difração encontrados em função da dose depois de 90 dias da irradiação.

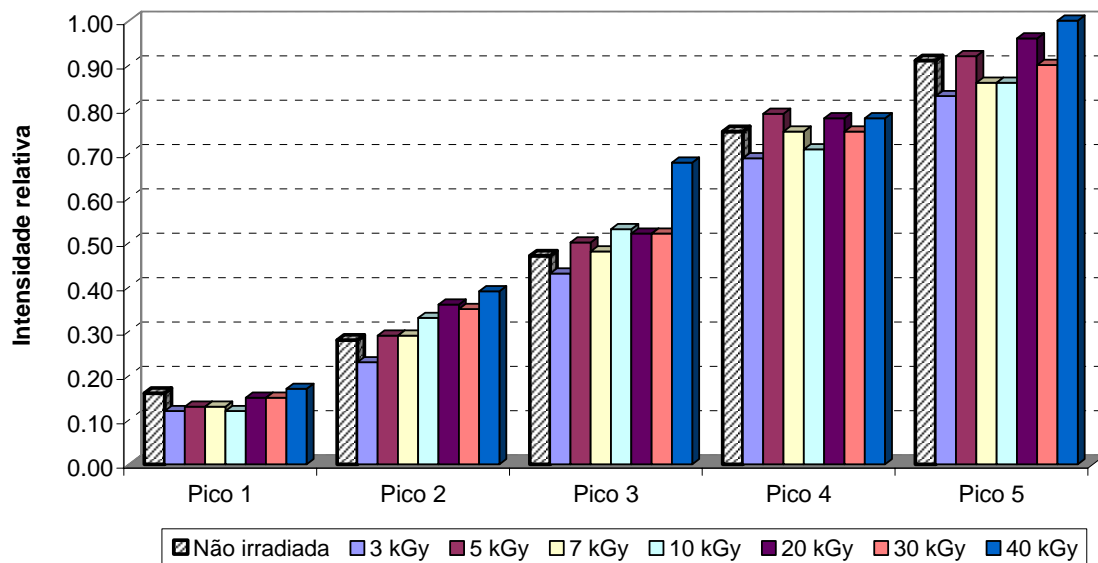
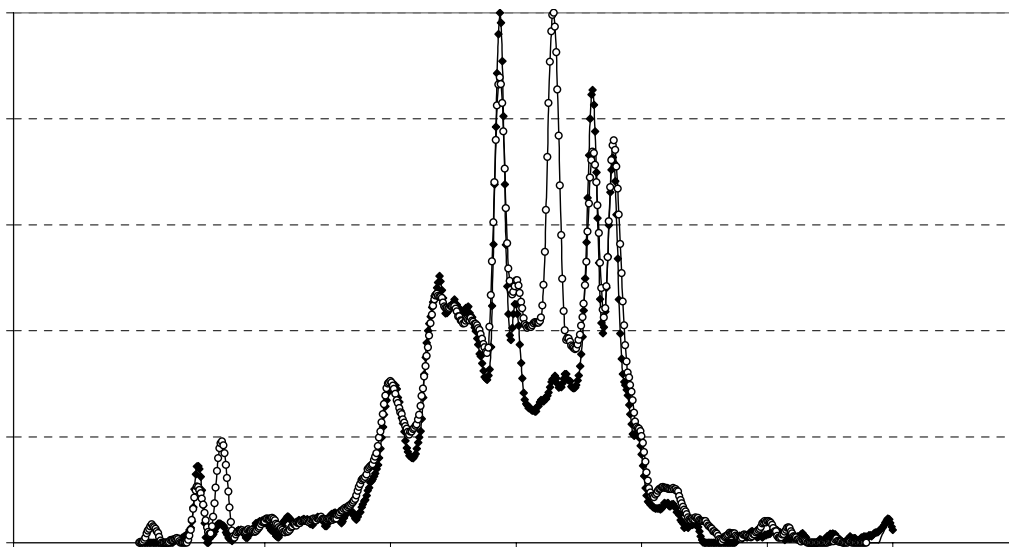


Figura IV.44. Intensidades relativas dos picos de difração encontrados em função da dose depois de 120 dias da irradiação.

A Figura IV.45 mostra a comparação entre os perfis de difração obtidos para as amostras de noz moscada não irradiadas do grupo 1 e 2 no mês de referência.

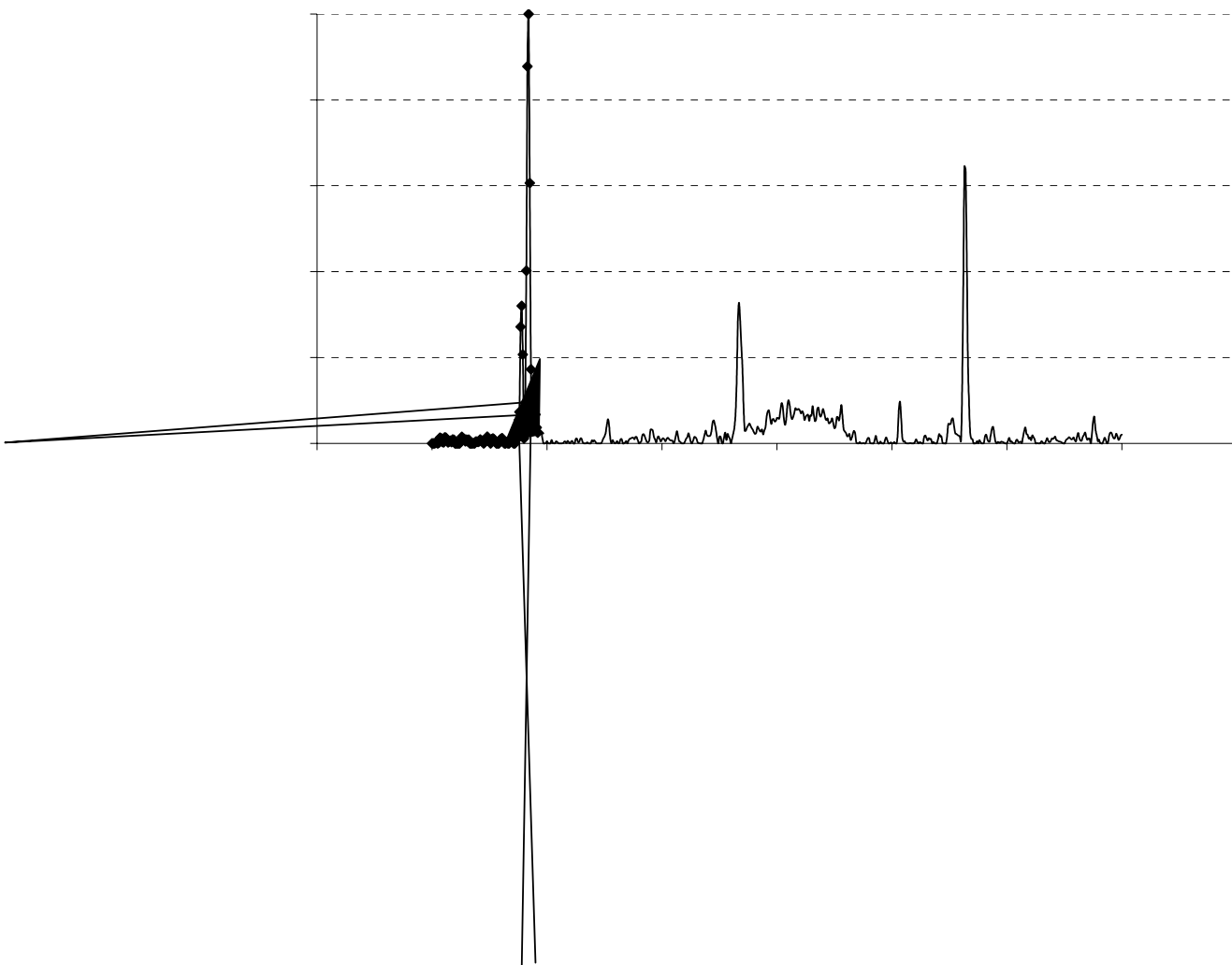


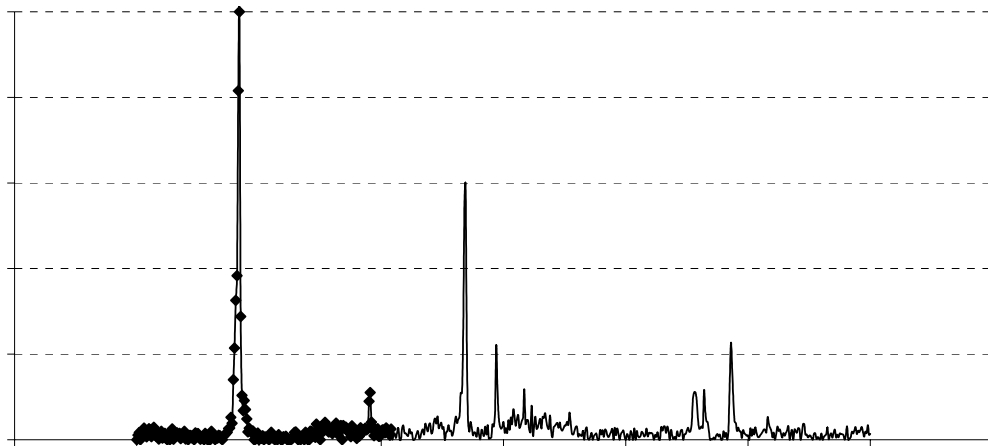
## IV.4 – Páprica

### IV.4.1 – Grupo 1

Para as amostras de páprica do grupo 1, pode-se notar a presença de 4 picos principais:  $\theta_1=8,90^\circ$ ;  $\theta_2=9,20^\circ$ ;  $\theta_3=18,35^\circ$  e  $\theta_4=28,20^\circ$ . Como exemplos, as Figura IV.46 e IV.47 mostram os perfis de difração para a amostra padrão, não irradiada, no mês de referência e para a amostra irradiada com 5 kGy sessenta dias após a irradiação, respectivamente.

As Figuras IV.48 a IV.52 mostram a variação das intensidades relativas ( $I/I_{\text{máximo}}$ ) dos principais picos de difração encontrados em função da dose de irradiação para cada mês de análise.





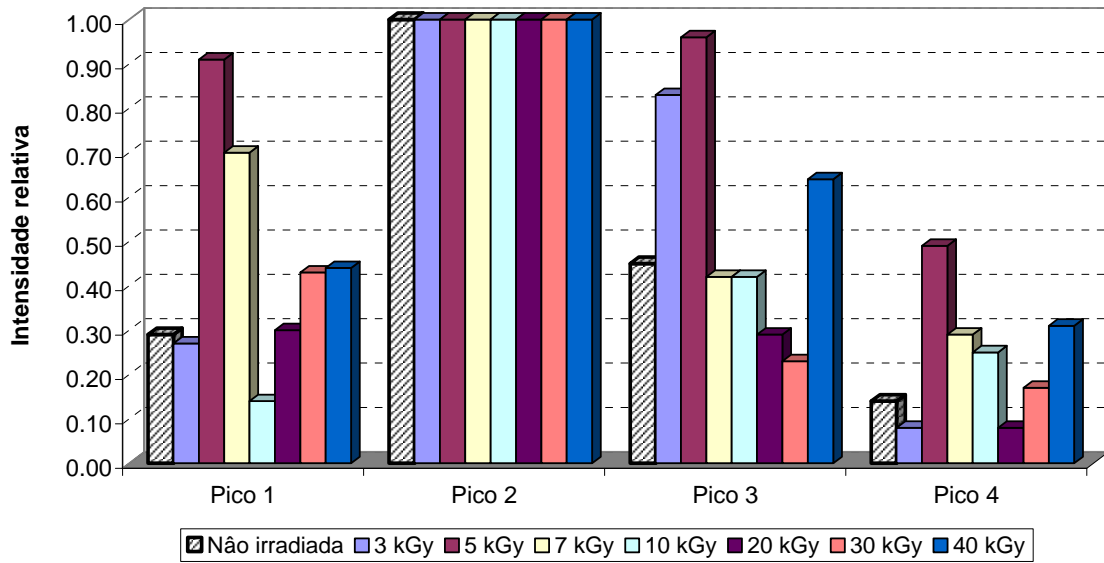


Figura IV.49. Intensidades relativas dos picos de difração encontrados em função da dose depois de 30 dias da irradiação.

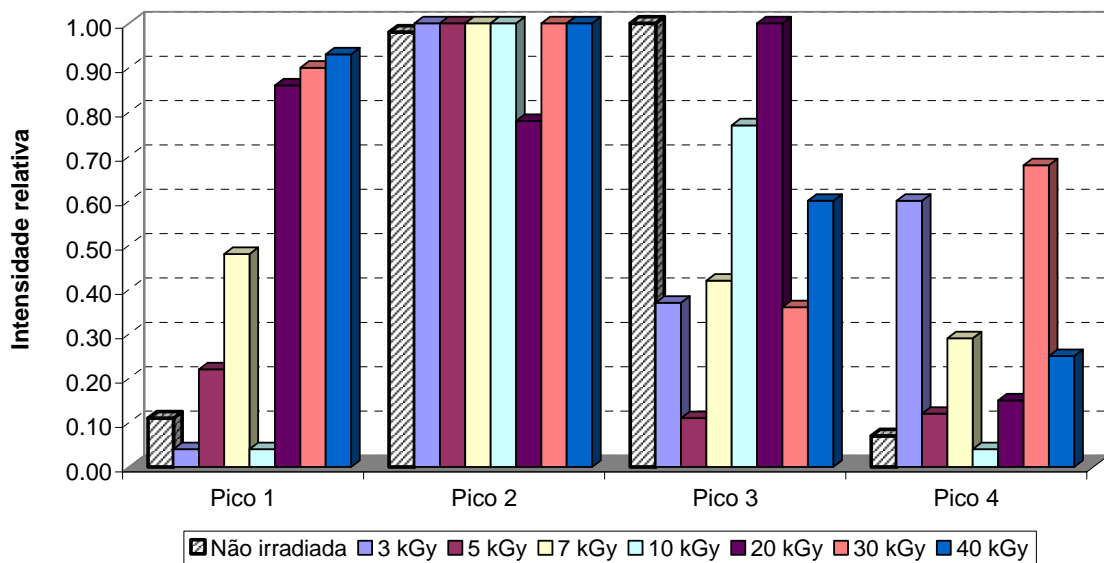


Figura IV.50. Intensidades relativas dos picos de difração encontrados em função da dose depois de 60 dias da irradiação.

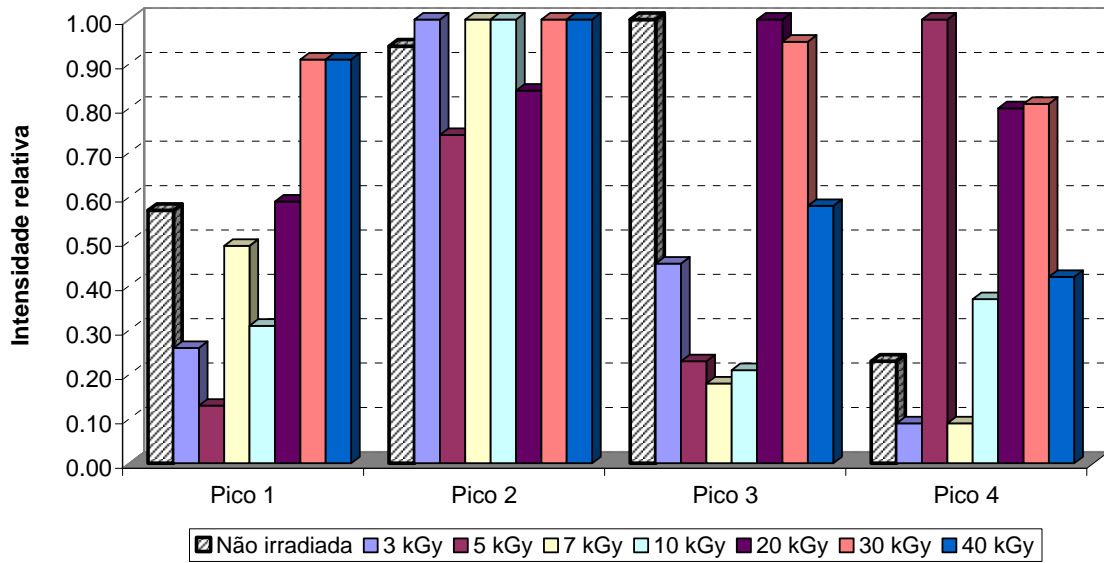


Figura IV.51. Intensidades relativas dos picos de difração encontrados em função da dose depois de 90 dias da irradiação.

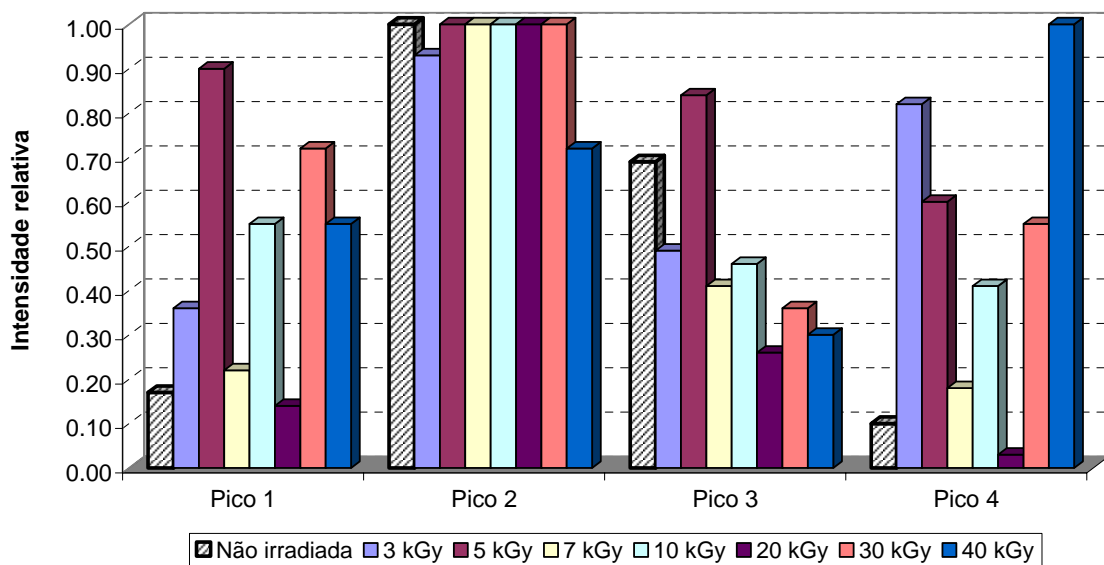


Figura IV.52. Intensidades relativas dos picos de difração encontrados em função da dose depois de 120 dias da irradiação.

#### IV.4.2 – Grupo 2

Para as amostras de páprica do grupo 2, pode-se notar a presença de 2 picos principais:  $\theta_1=20,90^\circ$  e  $\theta_2=26,65$ . Como exemplos, as Figura IV.53 e IV.54 mostram os perfis de difração para a amostra padrão, não irradiada, no mês de referência e para a amostra irradiada com 30 kGy noventa dias após a irradiação, respectivamente.

As Figuras IV.55 a IV.59 mostram a variação das intensidades relativas ( $I/I_{\text{máximo}}$ ) dos principais picos de difração encontrados em função da dose de irradiação para cada mês de análise.

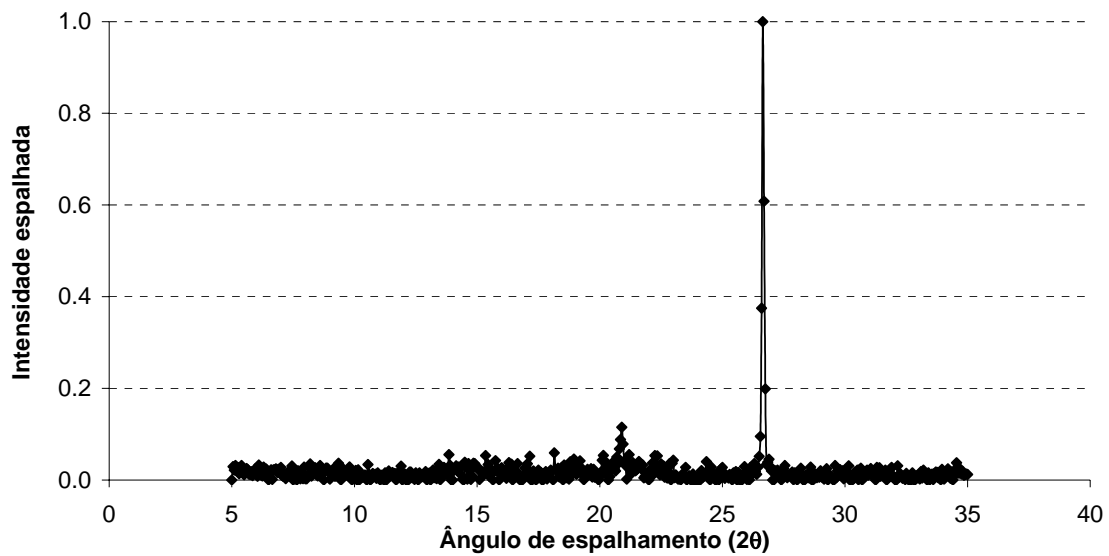
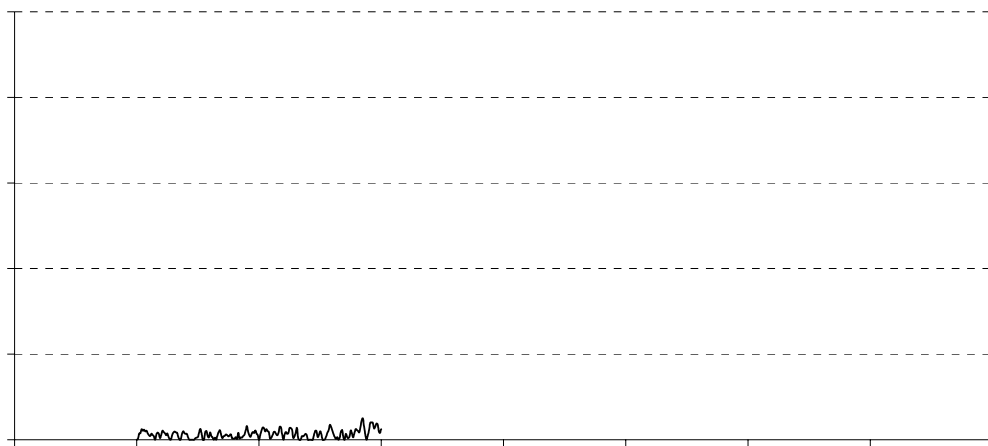


Figura IV.53. Perfil de difração para a amostra de páprica do grupo 2 não irradiada no mês de referência.





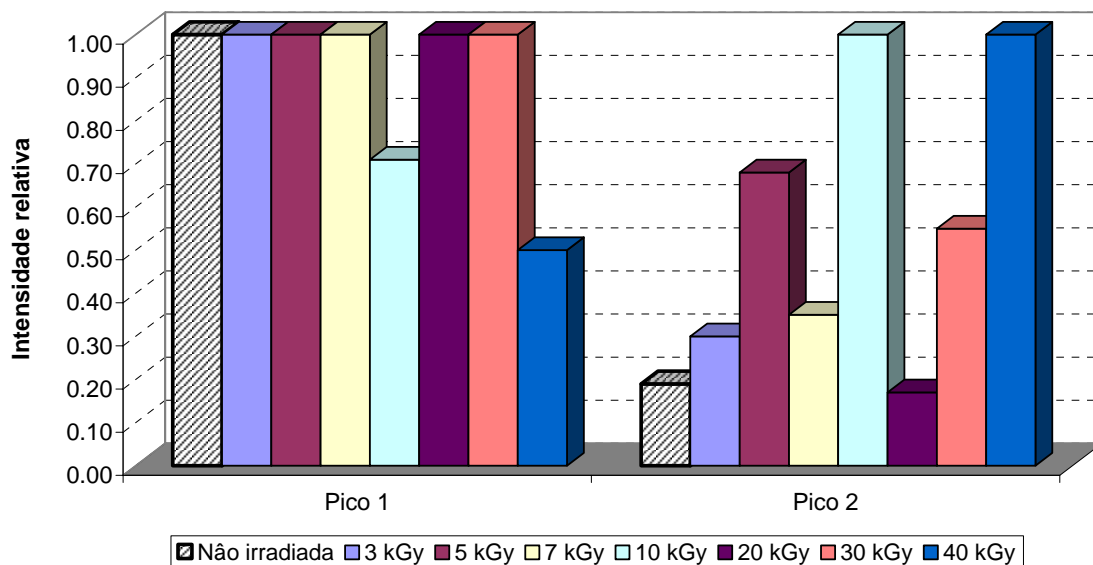


Figura IV.56. Intensidades relativas dos picos de difração encontrados em função da dose depois de 30 dias da irradiação.

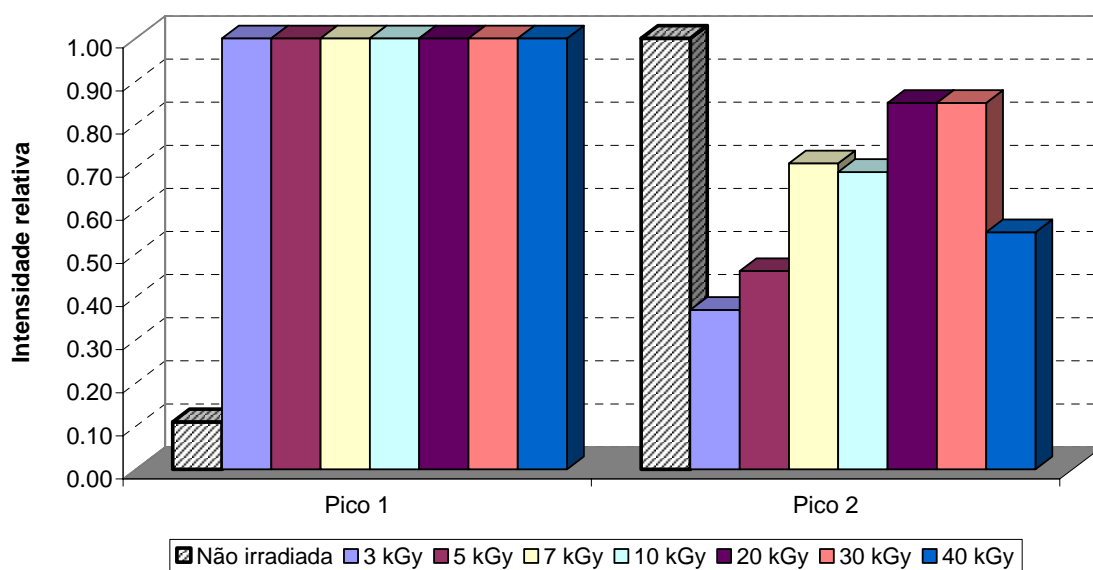


Figura IV.57. Intensidades relativas dos picos de difração encontrados em função da dose depois de 60 dias da irradiação.

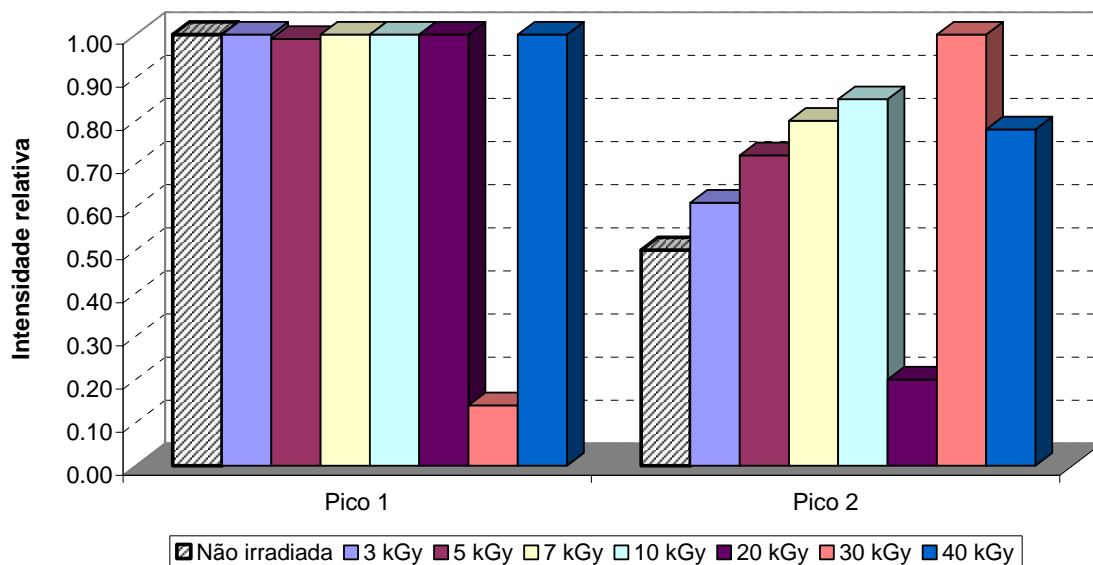


Figura IV.58. Intensidades relativas dos picos de difração encontrados em função da dose depois de 90 dias da irradiação.

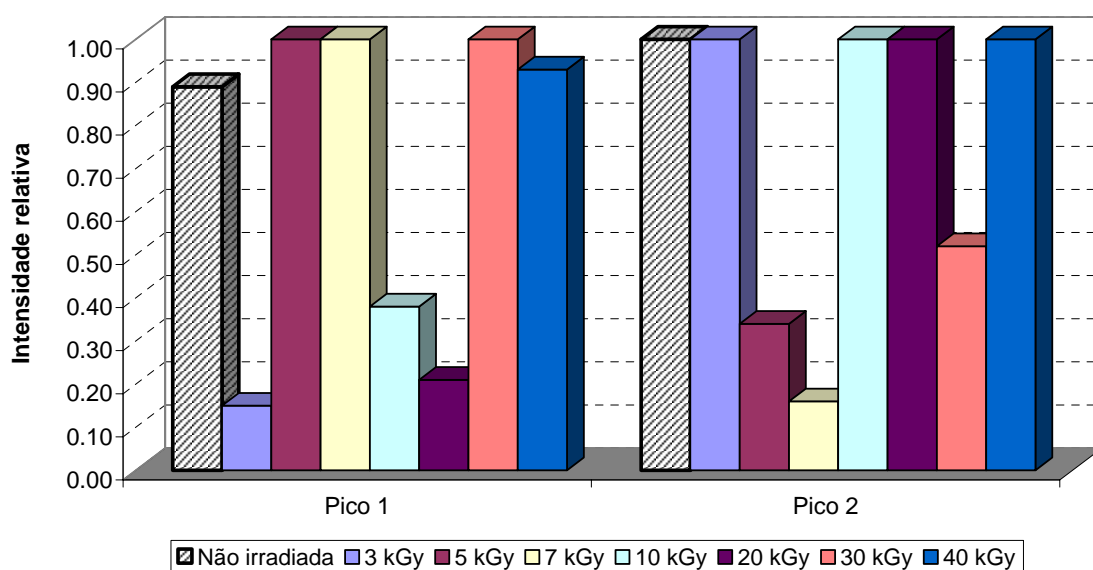
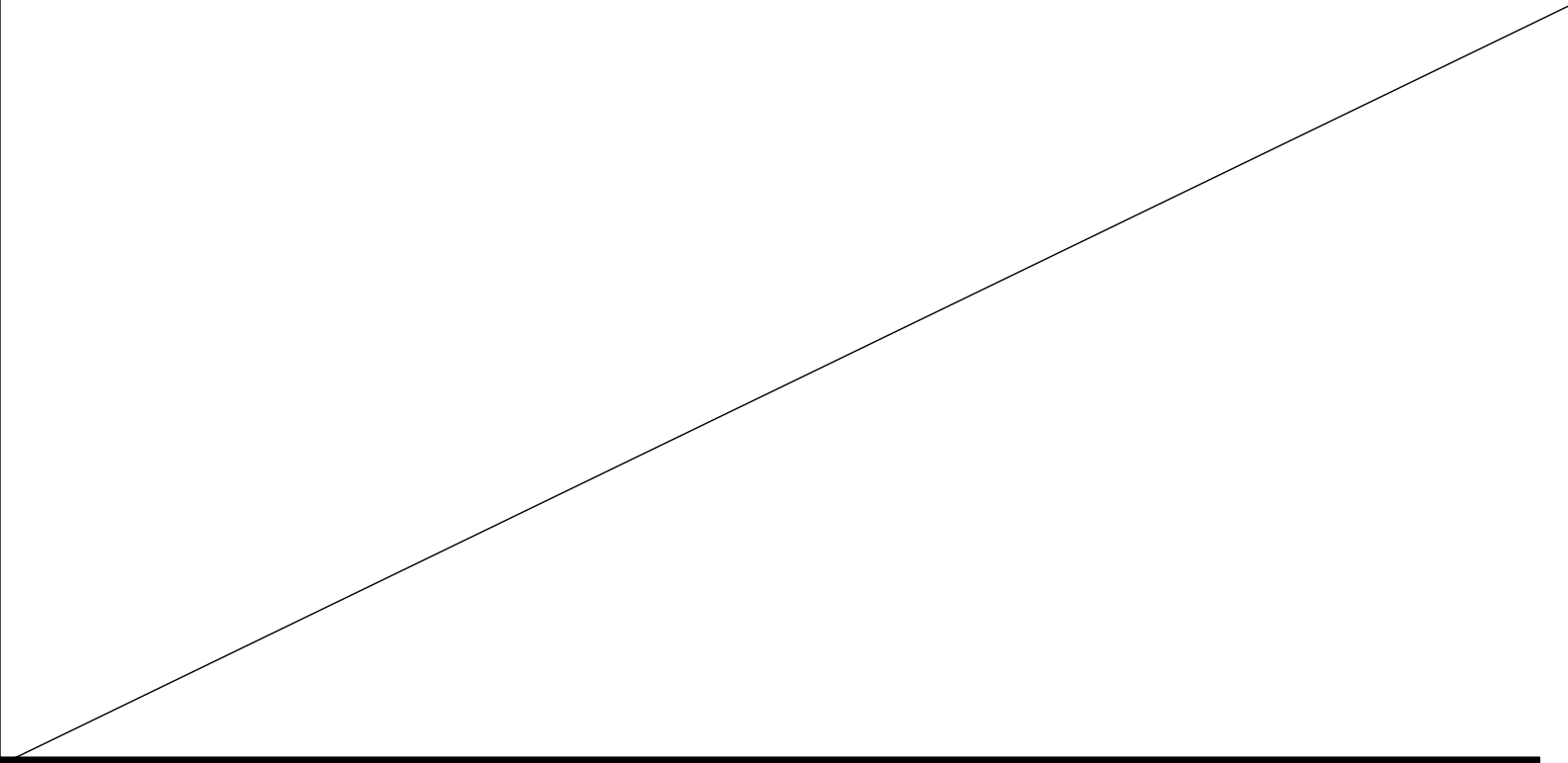
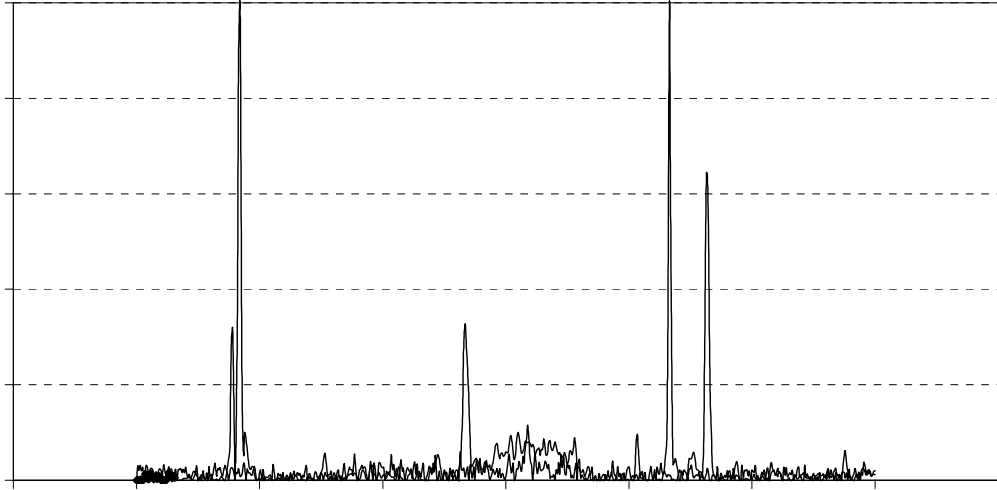
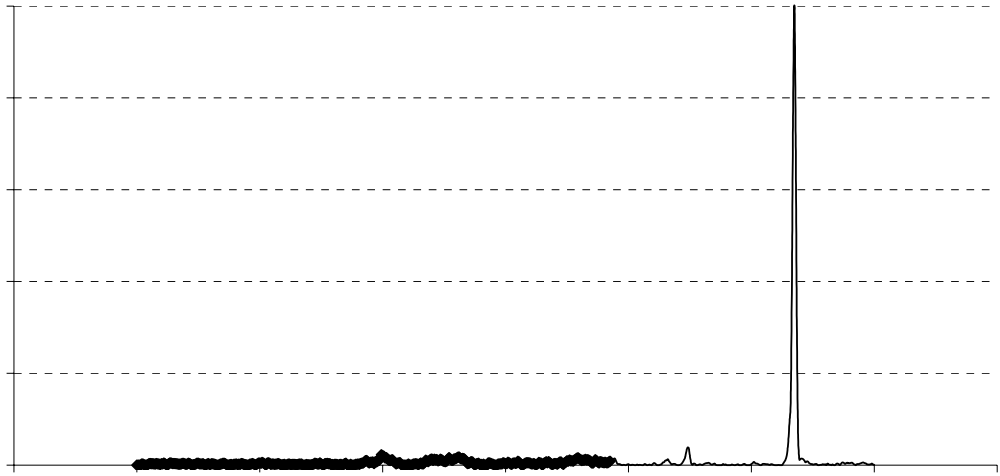


Figura IV.59. Intensidades relativas dos picos de difração encontrados em função da dose depois de 120 dias da irradiação.

A Figura IV.60 mostra a comparação entre os perfis de difração obtidos para as amostras de páprica não irradiadas do grupo 1 e 2 no mês de referência.





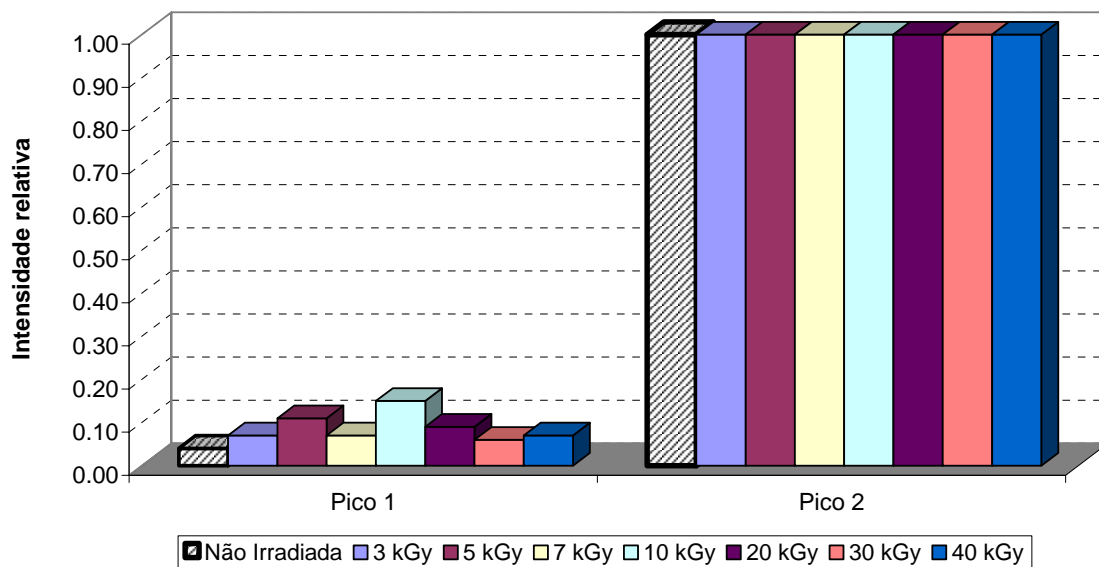


Figura IV.63. Intensidades relativas dos picos de difração encontrados em função da dose no mês de referência.

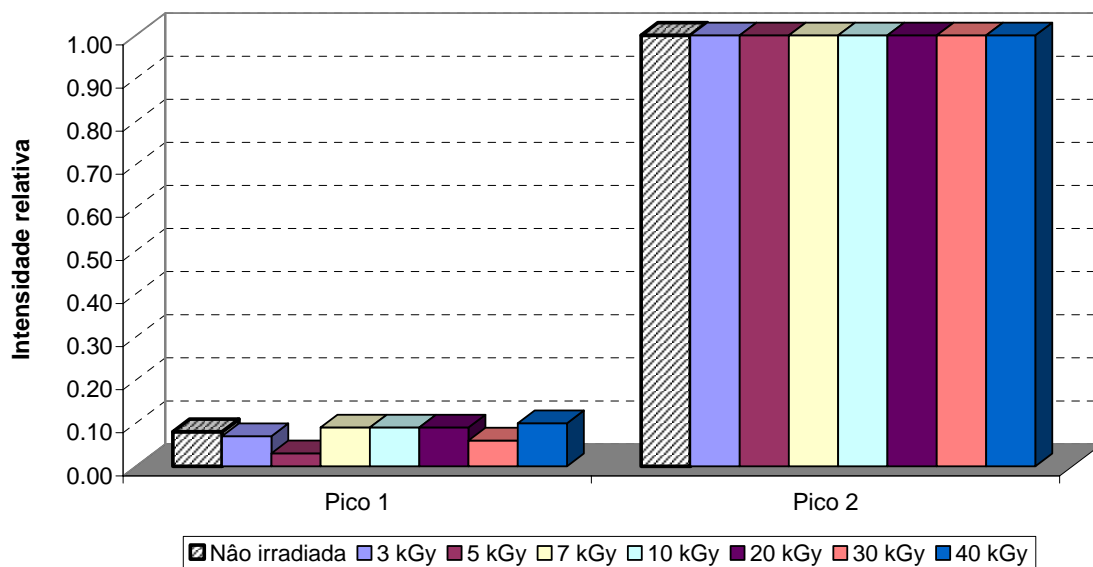


Figura IV.64. Intensidades relativas dos picos de difração encontrados em função da dose depois de 30 dias da irradiação.

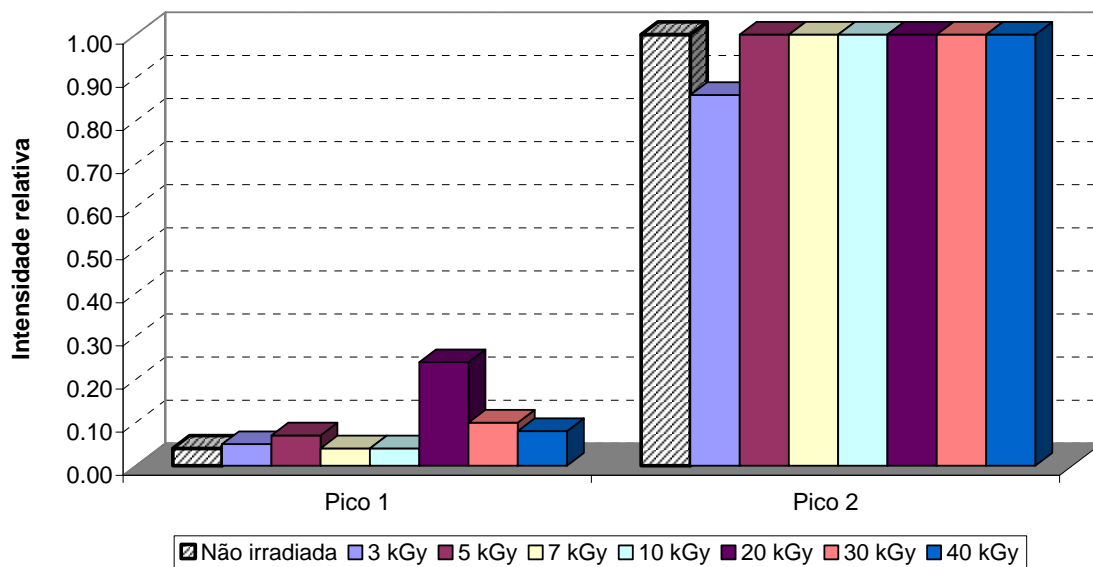


Figura IV.65. Intensidades relativas dos picos de difração encontrados em função da dose depois de 60 dias da irradiação.

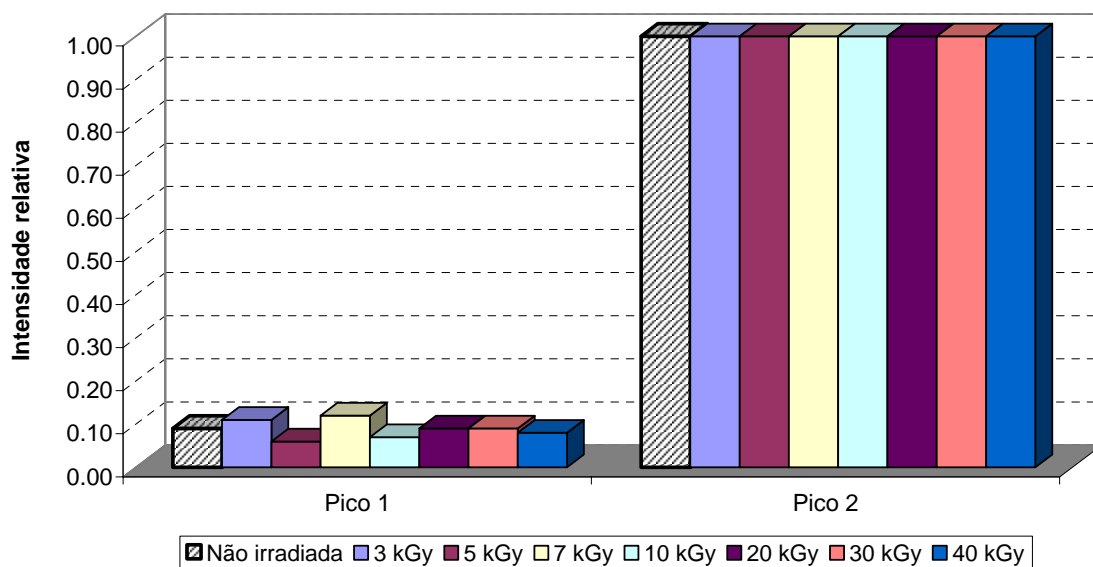


Figura IV.66. Intensidades relativas dos picos de difração encontrados em função da dose depois de 90 dias da irradiação.

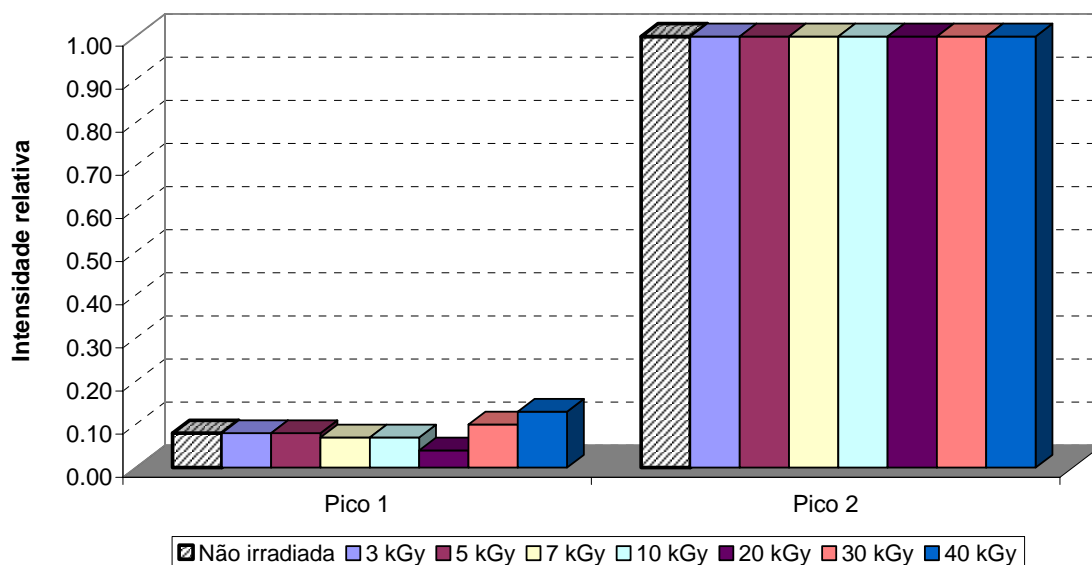
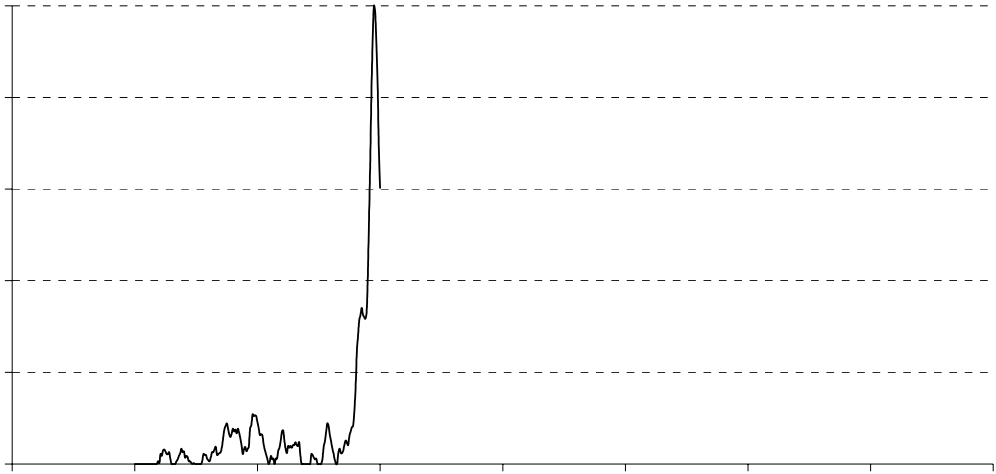


Figura IV.67. Intensidades relativas dos picos de difração encontrados em função da dose depois de 120 dias da irradiação.

#### IV.5.2 – Grupo 2

Para as amostras de pimenta do grupo 2, pode-se notar a presença de 5 picos principais:  $\theta_1=14,75^\circ$ ;  $\theta_2=17,20^\circ$ ;  $\theta_3=19,70^\circ$ ;  $\theta_4=22,50^\circ$  e  $\theta_5=25,80^\circ$ . Como exemplos, as Figura IV.68 e IV.69 mostram os perfis de difração para a amostra padrão, não irradiada, no mês de referência e para a amostra irradiada com 10 kGy trinta dias após a irradiação, respectivamente.

As Figuras IV.70 a IV.74 mostram a variação das intensidades relativas ( $I/I_{\text{máximo}}$ ) dos principais picos de difração encontrados em função da dose de irradiação para cada mês de análise.





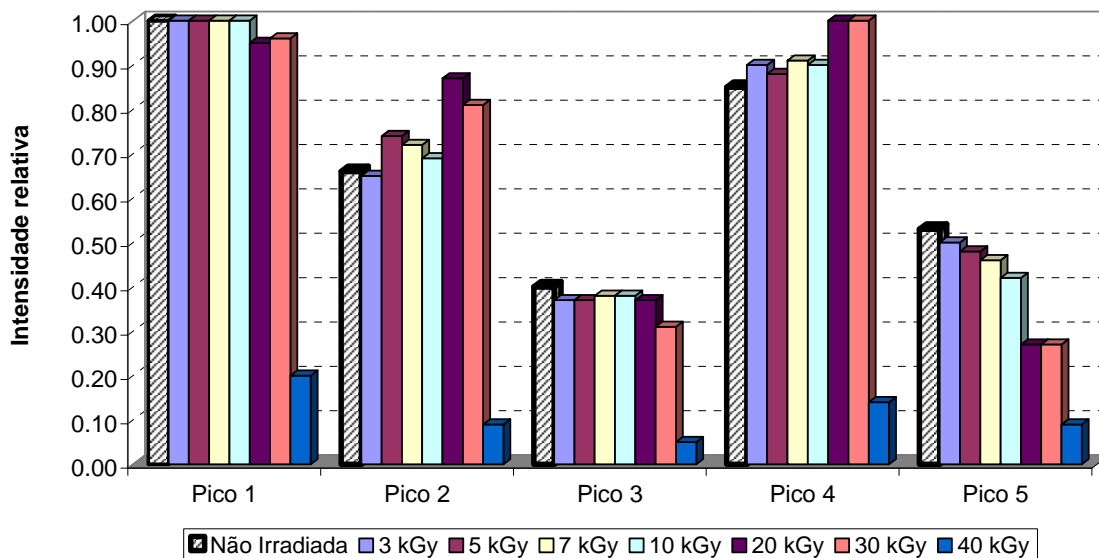


Figura IV.70. Intensidades relativas dos picos de difração encontrados em função da dose no mês de referência.

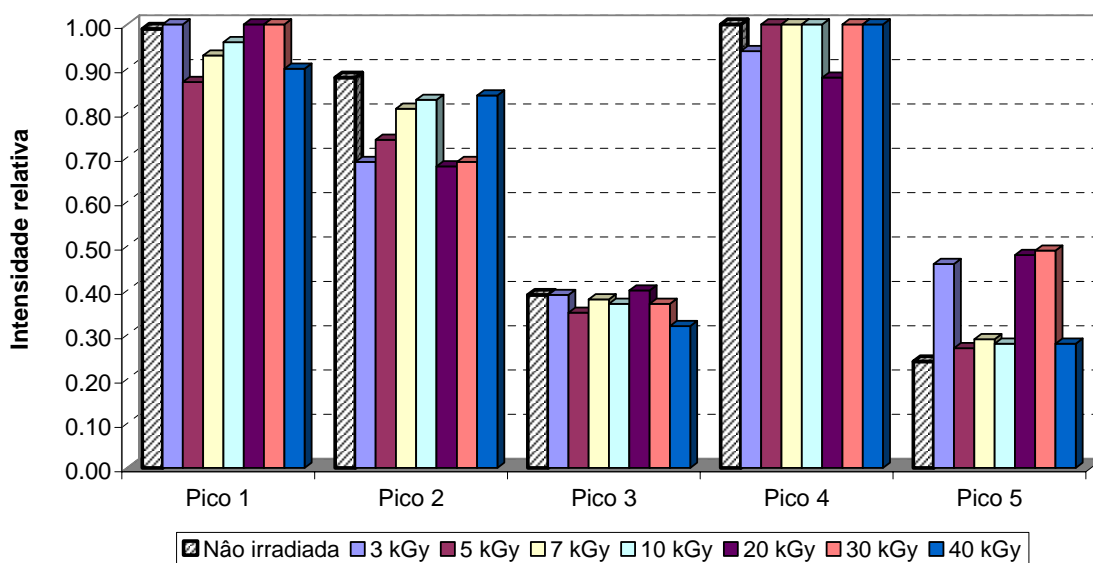


Figura IV.71. Intensidades relativas dos picos de difração encontrados em função da dose depois de 30 dias da irradiação.

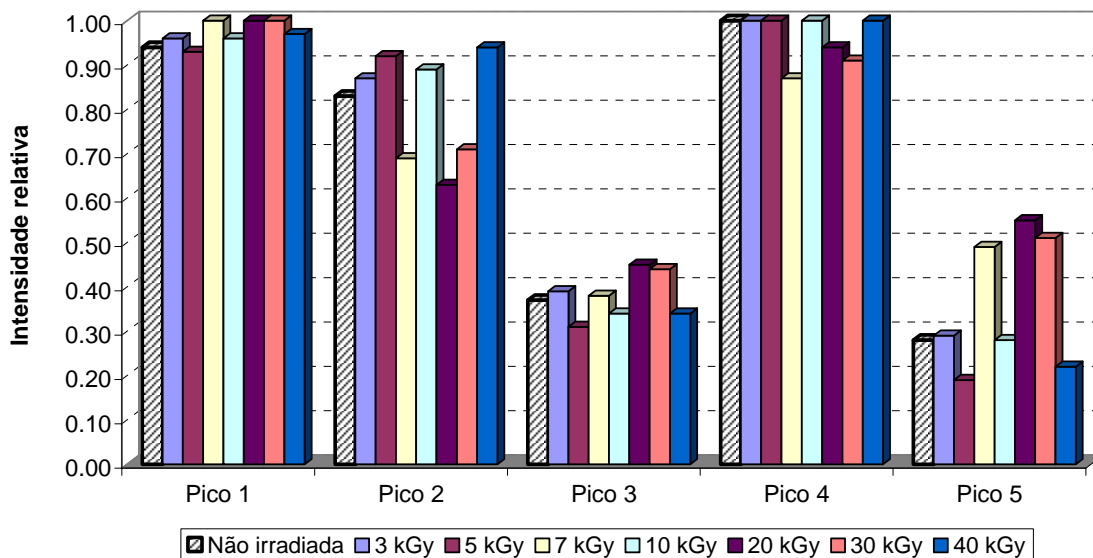


Figura IV.72. Intensidades relativas dos picos de difração encontrados em função da dose depois de 60 dias da irradiação.

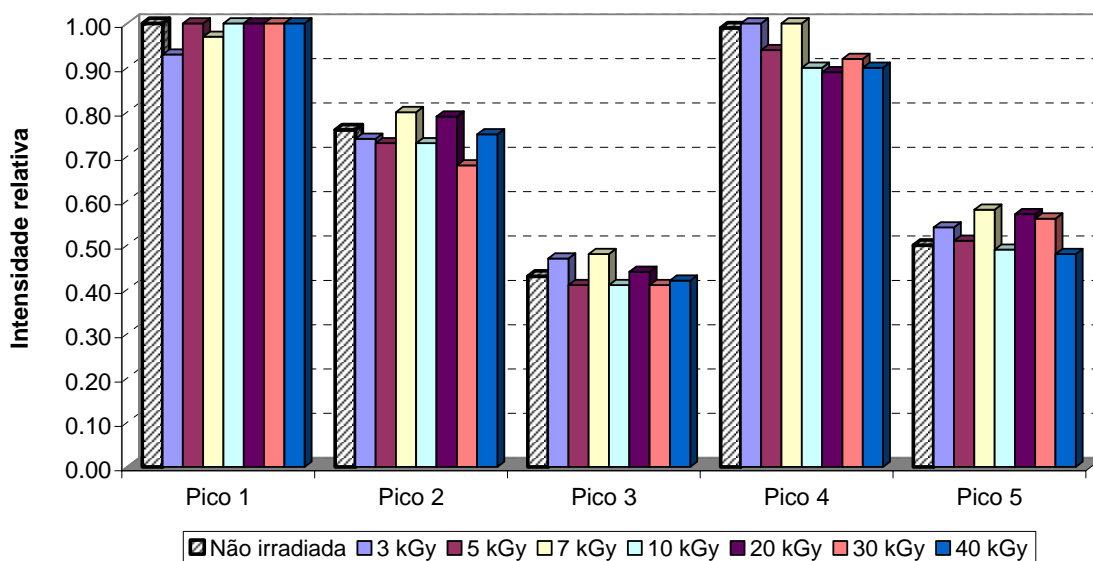


Figura IV.73. Intensidades relativas dos picos de difração encontrados em função da dose depois de 90 dias da irradiação.

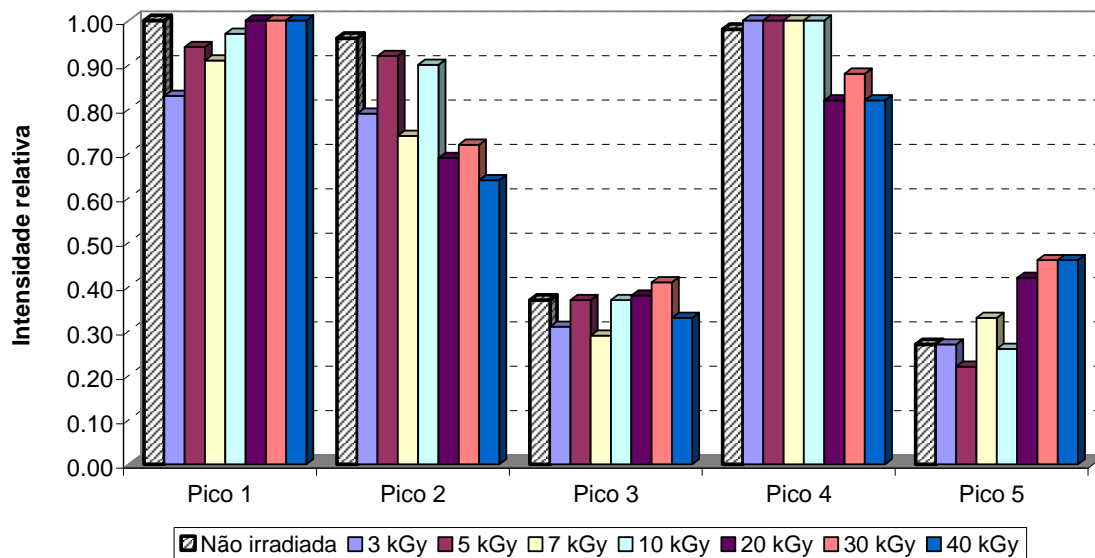
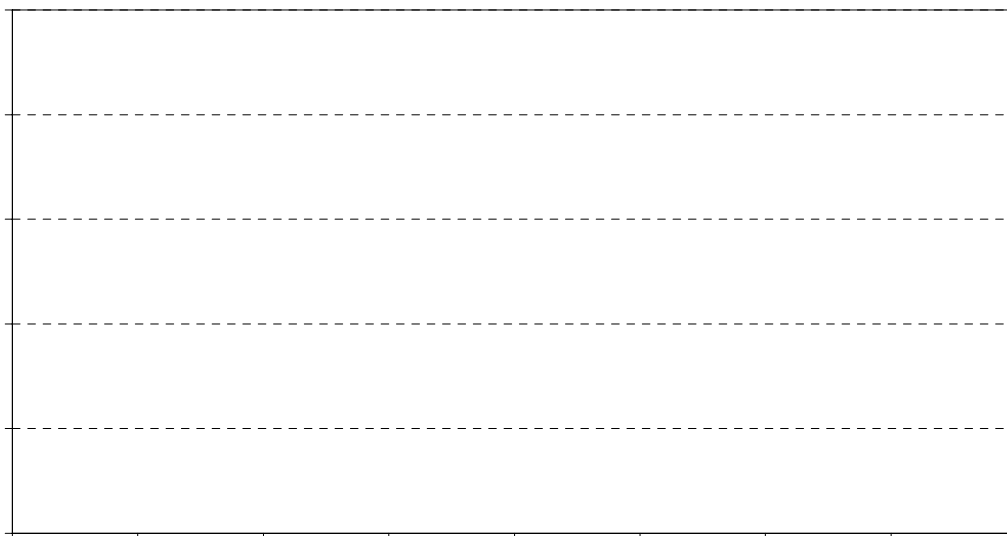
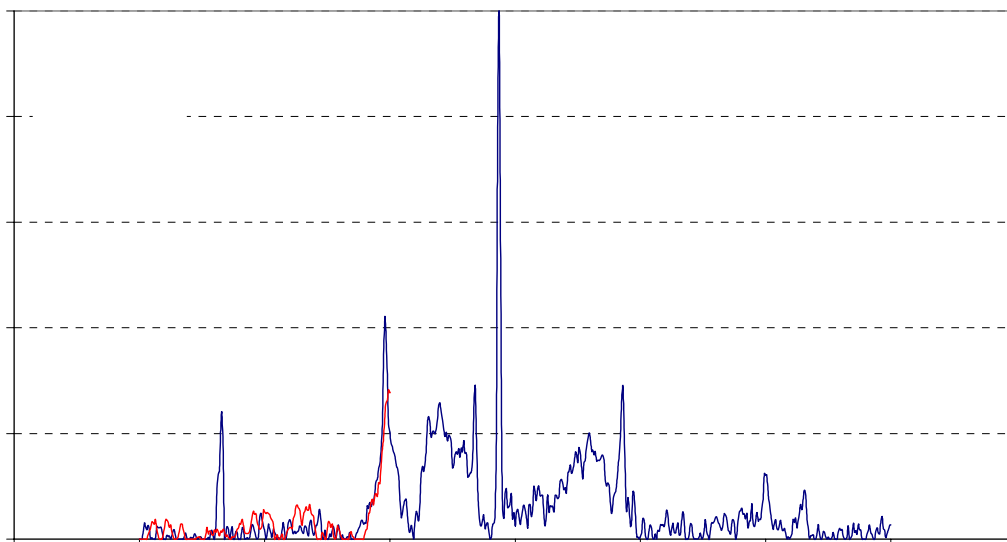


Figura IV.74. Intensidades relativas dos picos de difração encontrados em função da dose depois de 120 dias da irradiação.

A Figura IV.75 mostra a comparação entre os perfis de difração obtidos para as amostras de pimenta não irradiadas do grupo 1 e 2 no mês de referência.



As Figuras IV.76 e IV.77 mostram a comparação entre os perfis de difração obtidos para as amostras não irradiadas no mês de referência para cada uma das especiarias analisadas do Grupo 1 e do Grupo 2, respectivamente.



# CAPÍTULO V

## CONCLUSÕES E SUGESTÕES

---

### V.1 – Conclusões

#### V.1.1 – Comparação dos perfis de difração – Grupo 1

Para todas as especiarias do grupo 1 analisadas pode-se verificar a presença de um pico em  $\theta=14,95^\circ$  com variação da sua intensidade relativa.

O cominho e a pimenta do grupo 1 apresentam um pico estreito em  $\theta=31,70^\circ$  muito intenso, o qual não é observado para estas mesmas especiarias do grupo 2.

O cominho e a noz moscada do grupo 1 apresentam perfis similares (Figura IV.71).

As especiarias pertencentes ao grupo 1 apresentam perfis característicos distintos. No entanto, com exceção da noz moscada, os perfis obtidos para as amostras dos grupos 1 comparados com aqueles obtidos para o grupo 2 não apresentam semelhança (Figura IV.45). Isto indica que a estrutura molecular das especiarias compradas no atacado pode ser diferenciada possibilitando assim, a sua caracterização.

Para as amostras do grupo 1, não se verificou um padrão de comportamento de variação dos picos característicos obtidos em função da dose de irradiação. Pode-se observar uma variação das intensidades relativas dos picos característicos o que indica a influência do método de preparação da amostra. Os perfis de difração não mudam em função da dose indicando que a estrutura molecular de cada uma das especiarias analisadas é preservada dentro do intervalo de dose estudado.

A influência do tempo de armazenamento estudado não altera a estrutura molecular das especiarias irradiadas e não irradiadas. Porém suas intensidades relativas variam com a dose de irradiação sem um comportamento padrão.

#### **V.1.2.2 – Comparação dos perfis de difração – Grupo 2**

A noz moscada do grupo 2 e a canela do grupo 1 têm perfis semelhantes apresentando ambos um pico estreito em  $\theta=19,35^\circ$ .

O perfil encontrado para a pimenta do grupo 2 é uma composição daqueles encontrados para a canela e a noz moscada do mesmo grupo.

As amostras do grupo 2 apresentam um perfil de difração semelhante para todas as especiarias com exceção do perfil da pimenta (Figura IV.72). Pode-se notar a presença de uma região de comportamento amorfo entre  $16^\circ$  e  $25^\circ$ , aproximadamente. Esse comportamento indica que não se pode diferenciar a estrutura molecular das especiarias comercialmente industrializadas e empacotadas. Pode-se concluir que as especiarias do grupo 2 são composições umas das outras o que impede uma caracterização precisa.

Para as amostras do grupo 2, o comportamento das intensidades relativas dos picos é constante independente da dose de irradiação. Este comportamento é devido à invariância dos perfis de difração obtidos para todas as amostras deste grupo.

Para as amostras do grupo 2, a influência do tempo de armazenamento faz com que os picos se tornem mais largos comparados com o mês de referência, o que indica que as amostras absorvem mais umidade que as do grupo 1.

Baseado nas observações feitas para todas as variedades de amostras irradiadas e não irradiadas é possível concluir que a irradiação até as doses usadas neste estudo não

tem efeito significativo na estrutura molecular. A estrutura molecular encontrada permanece estável durante a armazenagem a temperatura ambiente por quatro meses.

## **V.2 – Sugestões**

Através da técnica utilizada não se observou mudanças significativas com relação ao tempo de armazenamento e dose absorvida das amostras irradiadas e não irradiadas.

Portanto, sugere-se expandir o tempo de armazenamento das amostras estudadas para confirmar se há mudanças significativas em suas estruturas de modo a identificar com as amostras irradiadas.

Os resultados obtidos neste estudo devem ser comparados com outros métodos de detecção tais como: EPR e a termoluminescência (TL).

Avaliar especiarias *in natura* para a obtenção de uma caracterização padrão para os perfis de difração das amostras irradiadas e não irradiadas de modo a avaliar estatisticamente a influência das técnicas utilizadas para sua comercialização.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

---

- ANDREUCCI, R., 2001, *Curso Básico de Proteção Radiológica*. 3ed., abende, São Paulo, Brasil.
- BENDINI, A., GALLINA TOSCHI, T., LERCKER, G., 1998, “Influence of  $\gamma$  irradiation and microwaves on the linear unsaturated hydrocarbon fraction in spices”, *Z Lebensm Unters Forsch A*. v.207, pp. 214-218.
- BLEICHER, L., SASAKI, J.M., “Introdução à Difração de Raios X em Cristais”, disponível na Internet via <http://www.fisica.ufc.br/raiosx>. Arquivo consultado em 2005.
- BÖGL, K.W., 1989, “Identification of Irradiated Foods – Methods, Development and Concepts”, *Appl. Radiat. Isot.* v.40, pp.1203-1210.
- BRASIL. *Resolução RDC n.21, de 26 de Janeiro de 2001*. Seção 1, p.35. [Agência Nacional de Vigilância Sanitária aprova o Regulamento Técnico para Irradiação de Alimentos].
- BULL, C.R., ZWIGGELAAR, R., SPELLER, R.D., 1997, “Review of inspection techniques based on the elastic and inelastic scattering of X-rays and their potential in the food and agricultural industry”, *Journal of Food Engineering*. v.33, pp.167-179.
- CAC (Codex Alimentarius Commission), 2003, *Codex general Standard for irradiated foods*. CODEX STAN 106-1983.
- CALENBERG, S.V., VANHAELEWYN, G., CLEEMPUT, O.V., CALLENS, F., MONDELAERS, W., HUYGHEBAERT, A., 1998, “Comparison of the Effect of X-ray and Electron Beam Irradiation on Some Selected Spices”, *Lebensm.-Wiss. u.-Technol.* v.31, pp. 252-258.



- CERDA, H., DELINCÉE, H., HAINE, H., RUPP, H., 1997, "The DNA 'comet assay' as a rapid screening technique to control irradiated food", *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*. v.375, pp.167-181.
- CHATTERJEE, S., PADWAL-DESAI, S.R., THOMAS, P., 1999, "Effect of  $\gamma$  irradiation on the colour power of turmeric (*Curcuma longa*) and red chillies (*Capsicum annum*) during storage", *Food Research International*. v.31, pp.625-628.
- CRAWFORD, L.M., RUFF, E.H., 1996, "A review of the safety of cold pasteurization through irradiation", *Food Control*. v.7, pp.87-97.
- CULLITY, B.D., 1967, *Elements of X-ray diffraction*, 2 ed, New York, USA, Addison-Wesley Publishing Company Co., Inc., 555p.
- CUTRUBINIS, M., DELINCÉE, H., BAYRAM, G., VILLAVICENCIO, A.L.C.H., 2004, "Germination test for identification of irradiated garlic", *European Food Research and Technology*. v.219, pp. 178-183.
- DEL MASTRO, N.L., 1999, "Development of Food Irradiation in Brazil", *Progress in Nuclear Energy*. v.35, pp.229-248.
- DELINCÉE, H., 2002, "Analytical methods to identify irradiated food – a review", *Radiation Physics and Chemistry*. v.63, pp.455-458.
- DELINCÉE, H., 1998, "Detection of food treated with ionizing radiation", *Trends in Food Science & Technology*. v.9, pp. 73-82.
- DESOUKY, O.S., ASHOUR, A.H., ABDULLAH, M.I., ELSHEMEY, W., 2002, "Low-angle X-ray scattering from spices", *Radiation Physics and Chemistry*. v.64, pp.267-271.
- DIEHL, J.F., 2002, "Food irradiation past, present and future", *Radiation Physics and Chemistry*. v.63, pp.211-215.
- DIEHL, J.F., JOSEPHSON, E.S., 1994, "Assessment of Wholesomeness of Irradiated Foods. A Review", *Acta Alimentaria*. v.23, pp.195-214.

- EGAN, H., KIRK, R.S., SAWYER, R., 1987, “Análisis químico de alimentos de Pearson”, Compañia Editorial Continental, S.A. de C.V., México.
- EHLERMANN, D.A.E., 2005, “Four decades in food irradiation”, *Radiation Physics and Chemistry*. v.73, pp. 346-347.
- ESTEVES, M.P.G.C.S., 1997, *Irradiação de Especiarias. Métodos de Detecção do tratamento e Estudo das Alterações em que se baseiam*. Tese de D.Sc., Universidade Técnica de Lisboa, Lisboa, Portugal.
- FAO, 1990, “Utilisation des aliments tropicaux: surces, épices et stimulants”, Organisation des Nations Unies pour l’Agriculture, Rome.
- FAO, 1984a, *Codex General Standards for Irradiated Foods*. Codex Alimentarius, vol. XV, 1ed., FAO/WHO, Rome.
- FAO, 1984b, *Recommended International Code of Practice for the Operation of Irradiation Facilities used for the Treatment of Foods*. Codex Alimentarius, vol. XV, 1ed., FAO/WHO, Rome.
- FARKAS, J., 2006, “Irradiation for better foods”, *Trends in Food Science & Technology*. v.17, pp.148-152.
- FARKAS, J., 1992, “Radiation treatment of spices”, *Prehrambeno-technol. biotehnol.* v.30, pp.159-163.
- FDA, 2004, “Irradiation in the production, processing and handling of food”, *Federal Register*. v.69, pp.76844-76847.
- FRANCO, R.W.A., MARTIN-NETO, L., KATO, S.A., FURLAN, G.R., WALDER, J.M.M., COLNAGO, L.A., 2004, “Identification of irradiation treatment in black pepper by electron paramagnetic resonance”, *International Journal of Food Science and Technology*. v.39, pp.395-401.
- GOBBO, L.A., 2003, *Os compostos do clínquer portland: sua caracterização por difração de raios X e quantificação por refinamento de Rietveld*. Dissertação de M.Sc., IG/USP, São Paulo, S.P., Brasil.

- HEATH, H.B., 1981, "Sources Book of Flavors", AVI Publishing Company, Inc., Westport (Connecticut), USA.
- HENNON, Y.M., 1995, "Food Irradiation in Perspective", *Radiation Physics and Chemistry*. v. 46, pp. 647-651.
- HENRY, C.J.K, CHAPMAN, C., 2002, "*The Nutrition Handbook for Food Processors*". In: EHLERMANN, D.A.E. (ed), *Irradiation*, 1 ed., chapter 17, New York, USA, CRC Press LLC.
- IAEA, 1992, "Irradiation of spices, herbs and other vegetable seasonings. A compilation of technical data for its authorization and control", IAEA-TecDoc-639.
- ICGFI, 1999, "*Facts about food irradiation*", disponível na INTERNET em <http://www.iaea.org/icgfi/>. Arquivo consultado em 21 de dezembro de 2005.
- ICGFI, 1997, "A irradiação de alimentos: ficção e realidade", disponível na Internet em <http://www.iaea.org/icgfi/>. Arquivo consultado em 05 de janeiro de 2006.
- ICGFI, 1991, "*Code of good irradiation practice for the control of pathogens and other microflora in spices, herbs and other vegetable seasonings*", disponível na Internet em <http://www.iaea.org/icgfi/>. Arquivo consultado em 03 de março de 2006.
- ICMSF, 1985, "Ecologia microbiana de los alimentos 2", International Commission on Microbiological Specifications for Foods. Editorial Acribia, Zaragoza, Espanha.
- KITIS, G., CRUZ ZARAGOZA, E., FURETTA, C., 2005, "Thermoluminescence properties of Chile Guajillo (paprika) Mexicano", *Applied Radiation and Isotopes*. v.63, pp.247-254.
- KUNSTADT, P., COLYN, S., BEAULIEU, D., 1993, "Economics of food irradiation", *Radiation Physics and Chemistry*. v.42, pp.259-268.
- LEAL, A.S., KRAMBROCK, K., GUEDES, K., RODRIGUES, R.R., 2004, "Ressonância Paramagnética Eletrônica – Rpe Aplicada à Análise de Especiarias Irradiadas (Com Radiação Gama)", *Ciência e tecnologia de Alimentos*. v.24, pp.427-430.

- LIANZHONG, D., SHIYUE, D., YAN, Z., YIXU, L., SONGMEI, Z., 1998, “A study chemical composition of spices irradiated by electron beam”, *Radiation Physics and Chemistry*. v.52, pp.49-52.
- MARCHIONI, E., HORVATOVICH, P., CHARON, H., KUNTZ, F., 2005, “Detection of Irradiated Ingredients Included in Low Quantity in Non-irradiated Food Matrix. 2. ESR Analysis of Mechanically Recovered Poultry Meat and TL Analysis of Spices”, *J. Agric. Food Chem.* v.53, pp. 3774-3778.
- MARINS, L.A., 2003, *Utilização da Radiação Gama na Conservação da Carne de Rã Touro Americana (Rana Catesbeiana)*. Dissertação de M.Sc., COPPE/UFRJ, Rio de Janeiro, RJ, Brasil.
- MEAD, G.C., 2004, “Poultry meat processing and quality”. In: BARBUT, S., *Other poultry preservation techniques*, 1 ed., chapter 9, England, Woodhead Publishing Limited.
- MOURA, N.C., CANNIATTI-BRAZACA, S.G., SPOTO, M.H.F., ARTHUR, V., 2005, “Avaliação Sensorial do Feijão Preto Submetido à Radiação de Cobalto-60”, *Ciência e Tecnologia de Alimentos*. v.25, pp.370-374.
- OH, K.N., LEE, S.Y., LEE, H.J., KIM, K.E., YANG, J.S., 2003, “Screening of gamma irradiated spices in Korea by using a microbiological method (DEFT/APC)”, *Food Control*. V.14, pp. 489-494.
- OMAYE, S.T., 2004, *Food and Nutritional Toxicology*. 1 ed. New York, CRC Press LLC.
- ORNELLAS, C.B.D., GONÇALVES, M.P.J., SILVA, P.R., MARTINS, R.T., 2006, “Atitude do consumidor frente à irradiação de alimentos”, *Ciência e Tecnologia de Alimentos*. V.26, pp.211-213.
- PEREIRA, A.S.C., 2004, “Irradiação em alimentos”, disponível na Internet em [www.depemar.com.br/revistadacarne/irradiacaoemalimentos.htm](http://www.depemar.com.br/revistadacarne/irradiacaoemalimentos.htm). Arquivo consultado em 31 de maio de 2006.

- PETER, K.V., 2001, *Handbook of herbs and spices*. 1 ed. England, Woodhead Publishing Limited.
- PRUTHI, J.S., 1980, “Spices and condiments: chemistry, microbiology, technology”, *Advances in Food Research, Supplement N<sub>o</sub> 4, New York*.
- RAFFI, J., YORDANOV, N.D., CHABANE, S., DOUIFI, L., GANCHEVA, V., IVANOVA, S., 2000, “Identification of irradiation treatment of aromatic herbs, spices and fruits by electron paramagnetic resonance and thermoluminescence”, *Spectrochimica Acta Part A*. v.56, pp. 409-416.
- RAVINDRAN, P.N., NIRMAL BABU, K., SHYLAJA, M., 2004, *Cinnamon na Cássia – The genus Cinnamomum*. 1 ed. New York, CRC Press LLC.
- RODRIGUES, A.A.J., 2000, *Vidro Comercial como Detector e Medidor de Radiação num Irradiador de Grande Porte*. Dissertação de M.Sc., IPEN, São Paulo, SP, Brasil.
- RODRÍGUEZ, J.J., BARBOSA-CÁNOVAS, G.V., GUTIÉRREZ-LÓPEZ, G.F., DORANTES-ALVÁREZ, L., YEOM, H.W., ZHANG, Q.H., 2003, *An Update on Some Key Alternative Food Processing Technologies: Microwave, Pulsed Electric Field, High Hydrostatic Pressure, Irradiation and Ultrasound*. 1 ed. New York, CRC Press LLC.
- SANTOS, A.F., VIZEU, D.M., DESTRO, M.T., FRANCO, B.D.G.M., LANDGRAF, M., 2003, “Determinação da Dose de Radiação Gama para Reduzir a População de *Salmonella* spp em Carne de Frango”, *Ciência e Tecnologia de Alimentos*. v.23, pp.200-205.
- SHARIFZADEH, M., SOHRABPOUR, M., 1993, “Identification of irradiated spices by the use of thermoluminescence method (TL)”, *Radiation Physics and Chemistry*. v.42, pp.401-405.
- SILVA, A.O.M., 2005, *Efeitos de Baixas Doses de Radiação gama e do Uso de Alginato de Sódio Irradiado e Não Irradiado na Germinação e Crescimento de Sementes de Feijão (*Phaseolus Vulgaris* L.)*. Dissertação de M.Sc., COPPE/UFRJ, Rio de Janeiro, RJ, Brasil.

- SILVA, R.C., 2003, *Qualidade tecnológica e estabilidade oxidativa de farinha de trigo e fubá irradiados*. Dissertação de M.Sc., ESALQ/USP, Piracicaba, São Paulo, Brasil.
- STACHOWICZ, W., BURLINSKA, G., MICHALIK, J., 1998, “EPR detection of foods preserved with ionizing radiation”, *Radiation Physics and Chemistry*. v.52, pp.157-160.
- SUHAJ, M., RÁCOVÁ, J., POLOVKA, M., BREZOVÁ, V., 2005, “Effect of  $\gamma$  irradiation on antioxidant activity of black pepper (*Piper nigrum* L.)”, *Food Chemistry*. v.97, pp.696-704.
- TAHUATA, L., SALARI, I.P.A., PRINZIO, R. Di., PRINZIO, M.A.R.R.Di., 2003, *Radioproteção e Dosimetria: Fundamentos*. 5ª revisão, IRD/CNEN, Rio de Janeiro, RJ, Brasil.
- WILLARD, H.H., MERRITT, L.L., DEAN, J.A., 1974, “*Instrumental Methods of Analysis*”, 2 ed, Lisboa, Portugal, Fundação Calouste Gulbenkian.
- WIRTANEN, G., SJÖBERG, A.M., BOISEN, F., ALNKO, T., 1993, “Microbiological screening method for indication of irradiation of spices and herbs: A BCR collaborative study”, *Journal of AOAC International*. v.70, pp.674-681.