

**MINISTÉRIO DA DEFESA  
EXÉRCITO BRASILEIRO  
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA  
INSTITUTO MILITAR DE ENGENHARIA  
CURSO DE MESTRADO EM ENGENHARIA NUCLEAR**

**LUCIANA BOHER E SOUZA**

**EFEITO DA IRRADIAÇÃO GAMA SOBRE AS  
CARACTERÍSTICAS QUÍMICAS, SENSORIAIS E  
MICROBIOLÓGICAS DO FEIJÃO-FRADINHO  
(*Vigna unguiculata* (L.) Walp)**

**Rio de Janeiro**

**2008**

# **Livros Grátis**

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

**INSTITUTO MILITAR DE ENGENHARIA**

**LUCIANA BOHER E SOUZA**

**EFEITO DA IRRADIAÇÃO GAMA SOBRE AS  
CARACTERÍSTICAS QUÍMICAS, SENSORIAIS E  
MICROBIOLÓGICAS DO FEIJÃO-FRADINHO  
(*Vigna unguiculata* (L.) Walp)**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Curso de Mestrado em Engenharia Nuclear do Instituto Militar de Engenharia, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Ciências em Engenharia Nuclear.

Orientadora: Prof. Keila dos Santos Cople Lima – D. C.  
Co-orientadora: Prof. Maysa Joppert Coelho – Ph. D.

Rio de Janeiro

2008

c2008

INSTITUTO MILITAR DE ENGENHARIA

Praça General Tibúrcio, 80 – Praia Vermelha

Rio de Janeiro – RJ CEP: 22290.270

Este exemplar é de propriedade do Instituto Militar de Engenharia, que poderá incluí-lo em base de dados, armazenar em computador, microfilmар ou adotar qualquer outra forma de arquivamento.

É permitida a menção, reprodução parcial ou integral e a transmissão entre bibliotecas deste trabalho, sem modificação de seu texto, em qualquer meio que esteja ou venha a ser fixado, para pesquisa acadêmica, comentários e citações, desde que sem finalidade comercial e que seja feita referência bibliográfica completa.

Os conceitos expressos neste trabalho são de responsabilidade do(s) autor(es) e dos orientador(es).

539.7222 Souza, Luciana Boher e  
S729 Efeito da Irradiação Gama sobre as Características Químicas, Sensoriais e Microbiológicas do Feijão-Fradinho (*Vigna unguiculata* (L.) Walp) / Luciana Boher e Souza. - Rio de Janeiro: Instituto Militar de Engenharia, 2008.

124 p.: il.

Dissertação (mestrado) - Instituto Militar de Engenharia – Rio de Janeiro, 2008.

1. Radiação Gama. 2. Feijão-fradinho. 3. Aminoácidos. 4. Oligossacarídeos. 5. Sensorial. 6. Tiamina. I. Instituto Militar de Engenharia. II. Título.

CDD 539.7222

**INSTITUTO MILITAR DE ENGENHARIA**

**LUCIANA BOHER E SOUZA**

**EFEITO DA IRRADIAÇÃO GAMA SOBRE AS CARACTERÍSTICAS  
QUÍMICAS, SENSORIAIS E MICROBIOLÓGICAS DO  
FEIJÃO-FRADINHO (*Vigna unguiculata* (L.) Walp)**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Curso de Mestrado em Engenharia Nuclear do Instituto Militar de Engenharia, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Ciências em Engenharia Nuclear.

Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Keila dos Santos Cople Lima – D. C.

Co-orientadora: Prof<sup>a</sup>. Maysa Joppert Coelho – Ph. D.

Aprovada em 11 de fevereiro de 2008 pela seguinte Banca Examinadora:

---

Prof<sup>a</sup>. Keila dos Santos Cople Lima – D. C. do IME - Presidente

---

Prof<sup>a</sup>. Maysa Joppert Coelho – Ph. D. do IME

---

Ronoel Luiz de Oliveira Godoy – D. C. da Embrapa / CTAA

---

Prof. Antonio Luís dos Santos Lima – D. C. do IME

---

Prof. Jorge Jacob Neto – Ph. D. da UFRRJ

Rio de Janeiro

2008

Ao Hugo, meu filho.

## AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, pelo dom da Vida.

À todas as pessoas que me incentivaram e me apoiaram a prosseguir meus estudos e trabalho de pesquisa.

À meus pais, Walter e Maria Helena, e aos meus familiares.

Às minhas Orientadoras Professoras Dra. Keila dos Santos Cople Lima e Dra. Maysa Joppert Coelho, por suas atenções e esforços em nossos trabalhos em equipe, e ao Professor Dr. Antonio Luís dos Santos Lima, por acompanhar o trabalho, assistir aos seminários e pelas críticas construtivas sempre oportunas.

À todo o pessoal do IME: meus professores (Dr. Rex Nazare Alves, Dra. Nadya Maria Prado Damasceno Ferreira, Dr. Ronaldo Glicério Cabral, Dr. Cláudio Luiz de Oliveira, Dr. Sérgio Gavazza, Ms. Rudnei Karam Morales, Dr. Domingos D'Oliveira Cardoso, Dra. Maysa Joppert Coelho e Dra. Keila dos Santos Cople Lima), corpo de funcionários (Jaci, Cléber, Conceições, Neriete, Davi e Cristóvão) e meus colegas de turma, pela amizade e paciência nos trabalhos em grupo, em especial à amiga Jaqueline Michele da Silva.

Agradeço ao pessoal do Centro Tecnológico do Exército (CTEx): Hélio C. Vital, Nilber K. Hernandez e Corga, por possibilitarem e por executarem a irradiação do material para o trabalho.

À todo o pessoal da Embrapa Agroindústria de Alimentos (CTAA): Rafael, Cintia, Aline, Manuela, Jeane, Sidney, Otniel, Flávio, Marcelo, Alessandra, Alexandre e, em especial, ao Dr. Ronnel Luiz de Oliveira Godoy, pela assistência ao trabalho e por disponibilizar as instalações laboratoriais indispensáveis à execução deste trabalho.

À Norma e ao Cláudio por todos os dias que me fizeram companhia e ajudaram com meu filho, para que eu pudesse trabalhar. À Zineid, minha gratidão pelo “socorro” no final do trabalho como babá.

Em especial, ao meu cônjuge, Carlos Frederico Estrada Alves, por, primeiramente, ampliar meus horizontes, incentivando e possibilitando a realização deste curso de Mestrado, desde o início. O seu apoio foi tão importante quanto a minha dedicação em estudar e em executar as tarefas. Depois, agradeço pela

paciência e compreensão despendidas em quase todos os momentos difíceis do dia-a-dia, e por seu auxílio e suas críticas ao trabalho, valendo-se de suas brilhantes visões científicas. Deixo aqui registrado todo o meu reconhecimento, admiração e carinho.

Luciana



“A alma da fome é política”.  
HERBERT DE SOUZA - BETINHO

"Mais grave ainda que a fome aguda e total, devido às suas repercussões sociais e econômicas, é o fenômeno da fome crônica ou parcial, que corrói silenciosamente inúmeras populações do mundo".

JOSUÉ DE CASTRO

## SUMÁRIO

LISTA DE ILUSTRAÇÕES .....	11
LISTA DE TABELAS .....	14
<b>1</b> <b>INTRODUÇÃO</b> .....	<b>18</b>
<b>2</b> <b>REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b> .....	<b>22</b>
2.1      Tecnologia de Alimentos .....	22
2.1.1    Deterioração e Conservação de Alimentos .....	23
2.2      Irradiação de Alimentos .....	24
2.2.1    A Radioatividade .....	24
2.2.2    Interação da Radiação Gama com a Matéria .....	26
2.2.3    Histórico do Processo .....	26
2.2.4    O Processo de Irradiação de Alimentos .....	27
2.2.5    Vantagens da Irradiação de Alimentos .....	28
2.2.6    Segurança e Efeitos da Irradiação nos Alimentos .....	29
2.2.7    Atitudes do Consumidor .....	32
2.2.8    Legislação .....	33
2.2.9    O Processo Industrial de Irradiação de Alimentos.....	34
2.3      Feijão-Fradinho .....	36
2.3.1    Origem e História .....	38
2.3.2    Importância Econômica .....	39
2.3.3    Cultivo do Feijão-Fradinho .....	40
2.3.3.1   Cultivares .....	43
2.3.3.2   Doenças, Pragas e Métodos de Controle Convencionais .....	44
2.3.3.2.1 Caruncho-do-Feijão ( <i>Callosobruchus maculatus</i> ) .....	45
2.3.3.2.2 Controle das Pragas dos Grãos Armazenados .....	47
2.3.3.3   Colheita, Beneficiamento e Acondicionamento .....	50
2.3.4    Feijão-Fradinho Pós-Colheita .....	50
2.3.5    Consumo de Feijão no Brasil .....	51

2.3.5.1	Dados sobre o Consumo de Feijão no Brasil .....	52
2.4	Composição do Feijão-Fradinho .....	54
2.4.1	Aminoácidos e Proteínas .....	57
2.4.2	Oligossacarídeos .....	60
2.4.2.1	Sacarose .....	61
2.4.2.2	Rafinose e Estaquiase .....	62
2.4.3	Tiamina .....	63
2.5	Toxicologia Alimentar .....	64
2.5.1	Fungos e Micotoxinas .....	65
2.6	Cocção e Avaliação de Aceitação do Feijão-Fradinho .....	66
<b>3</b>	<b>MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	<b>68</b>
3.1	Material .....	68
3.2	Métodos .....	68
3.2.1	Processo de Irradiação .....	68
3.2.2	Análises .....	70
3.2.2.1	Determinação dos Teores de Aminoácidos .....	72
3.2.2.1.1	Hidrólise .....	72
3.2.2.1.2	Análise de Aminoácidos .....	73
3.2.2.2	Determinação dos Teores de Oligossacarídeos .....	75
3.2.2.2.1	Método de Extração .....	76
3.2.2.2.2	Análise de Oligossacarídeos .....	76
3.2.2.3	Determinação dos Teores de Tiamina .....	77
3.2.2.3.1	Derivatização Pós-Coluna .....	77
3.2.2.3.2	Análise de Tiamina .....	78
3.2.2.4	Análise Sensorial .....	78
3.2.2.4.1	Cocção e Preparação da Salada de Feijão-Fradinho .....	79
3.2.2.4.2	Testes Sensoriais .....	81
3.2.2.5	Determinação da Porcentagem Fúngica .....	82
3.2.2.5.1	Análise de Porcentagem Fúngica .....	82
3.2.2.6	Potencial de Toxidez de Fungos Isolados .....	83
3.2.2.6.1	Análise de Potencial de Toxidez de Fungos Isolados .....	83
3.2.2.7	Determinação de Aflatoxinas B <sub>1</sub> , B <sub>2</sub> , G <sub>1</sub> e G <sub>2</sub> .....	84

3.2.2.7.1	Extração de Aflatoxinas .....	84
3.2.2.7.2	Purificação de Aflatoxinas .....	85
3.2.2.7.3	Análise de Aflatoxinas .....	85
3.2.3	Análise Estatística .....	87
<b>4</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	<b>88</b>
4.1	Determinação dos Teores de Aminoácidos .....	88
4.2	Determinação dos Teores de Oligossacarídeos .....	92
4.3	Determinação dos Teores de Tiamina .....	95
4.4	Análise Sensorial .....	98
4.5	Determinação da Porcentagem Fúngica .....	100
4.6	Potencial de Toxidez de Fungos Isolados .....	103
4.7	Determinação de Aflatoxinas B <sub>1</sub> , B <sub>2</sub> , G <sub>1</sub> e G <sub>2</sub> .....	105
<b>5</b>	<b>CONCLUSÕES</b> .....	<b>106</b>
<b>6</b>	<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	<b>108</b>
<b>7</b>	<b>APÊNDICES</b> .....	<b>115</b>
7.1	APÊNDICE 1: Escala Hedônica .....	116
7.2	APÊNDICE 2: Escala do Ideal .....	117
7.3	APÊNDICE 3: Exemplo de tratamento estatístico .....	118
7.4	APÊNDICE 4: Fungos identificados no tempo zero .....	119
7.5	APÊNDICE 5: Fungos identificados no tempo um .....	120
7.6	APÊNDICE 6: Fungos identificados no tempo dois .....	121
<b>8</b>	<b>ANEXOS</b> .....	<b>122</b>
8.1	ANEXO 1 .....	123
8.2	ANEXO 2 .....	124

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

FIG.2.1	O símbolo internacional “Radura” .....	34
FIG.2.2	Exemplo de irradiador gama .....	35
FIG.2.3	Aspecto da planta do feijão-fradinho .....	37
FIG.2.4	Aspecto das sementes comestíveis feijão-fradinho.....	38
FIG.2.5	Doença Murcha-de-fusarium no feijão-fradinho .....	44
FIG.2.6	Adultos e dano do Caruncho em grãos de feijão-fradinho .....	46
FIG.2.7	Pastilhas de fosfina para expurgo de grãos armazenados .....	48
FIG.2.8	Sacos de feijão empilhados para serem expurgados .....	49
FIG.2.9	Lençol impermeável cobrindo a sacaria em expurgo .....	49
FIG.2.10	Fórmulas estruturais dos alfa-aminoácidos .....	59
FIG.2.11	Fórmula estrutural da sacarose .....	61
FIG.2.12	Fórmulas estruturais da rafinose e da estaquiose .....	62
FIG.2.13	Fórmula estrutural da tiamina .....	64
FIG.3.1	Irradiador de pesquisa utilizado .....	69
FIG.3.2	Fluxograma de processo .....	71
FIG.3.3	Recipiente devidamente identificado para análises .....	72
FIG.3.4	Sistema cromatográfico utilizado na análise de aminoácidos .....	75

FIG.3.5	Cocção do feijão-fradinho. Na panela da esquerda, feijão irradiado com 5,0kGy; na panela da direita, feijão controle (sem irradiação)...	80
FIG.3.6	Ficha de preparação (cocção) dos grãos de feijão-fradinho .....	80
FIG.3.7	Boas Práticas de Fabricação (BPF's) .....	81
FIG.3.8	Bandeja de teste da análise sensorial .....	82
FIG.3.9	Esquema da placa de sílica gel, com as marcações .....	86
FIG.4.1	Cromatograma da amostra controle de feijão-fradinho mostrando os teores de aminoácidos (após a irradiação) .....	89
FIG.4.2	Cromatograma da amostra irradiada com 1kGy mostrando os teores de aminoácidos (após a irradiação) .....	90
FIG.4.3	Cromatograma da amostra irradiada com 10,0kGy mostrando os teores de aminoácidos (após a irradiação) .....	90
FIG.4.4	Cromatograma da amostra controle de feijão-fradinho mostrando os teores de aminoácidos (após 6 meses de armazenamento) .....	91
FIG.4.5	Cromatograma da amostra irradiada com 2,5kGy mostrando os teores de aminoácidos (após 6 meses de armazenamento) .....	92
FIG.4.6	Cromatograma de padrão de rafinose e estaquiose .....	93
FIG.4.7	Cromatograma de amostra controle de feijão-fradinho cru mostrando os teores de rafinose e estaquiose .....	93
FIG.4.8	Cromatograma de amostra de feijão-fradinho cozido e irradiado com 1,0kGy mostrando os teores de rafinose e estaquiose .....	95
FIG.4.9	Cromatograma de amostra de feijão-fradinho cru e irradiado com 5,0kGy mostrando o teor de tiamina .....	97

FIG.4.10	Gráfico dos teores de tiamina das amostras cruas e cozidas .....	97
FIG.4.11	Resultados médios obtidos para os atributos sabor e aparência das saladas de feijão-fradinho .....	98
FIG.4.12	Resultados médios obtidos para o atributo textura das saladas de feijão-fradinho .....	99
FIG.4.13	Crescimento de fungos em grãos de feijão-fradinho submetidos a diferentes doses de radiação gama (após a irradiação) isolados em meio: (a) AFPA; (b) DG 18 .....	100
FIG.4.14	Crescimento de fungos em grãos de feijão-fradinho submetidos a diferentes doses de radiação gama (30 dias após a irradiação) isolados em meio: (a) AFPA; (b) DG 18 .....	101
FIG.4.15	Crescimento de fungos em grãos de feijão-fradinho submetidos a diferentes doses de radiação gama (60 dias após a irradiação) isolados em meio: (a) AFPA; (b) DG 18 .....	101
FIG.4.16	Placas mostrando colônias de fungos em feijão-fradinho controle e irradiado com 2,5kGy .....	102
FIG.4.17	Placas mostrando colônias de fungos em feijão-fradinho controle e irradiado com 0,5; 1,0 e 2,5kGy .....	102
FIG.4.18	Placa com três colônias do fungo isolado <i>Aspergillus flavus</i> .....	104

## LISTA DE TABELAS

TAB.2.1	Funções da irradiação nos alimentos .....	31
TAB.2.2	Classificação botânica do feijão-fradinho .....	36
TAB.2.3	Pragas do feijão-fradinho de acordo com a fenologia da planta .....	46
TAB.2.4	Composição centesimal (g/100g de material integral) e valor energético (kcal/100g) do feijão-fradinho cru e cozido (30min).....	55
TAB.2.5	Quantidades (g/100g de material integral) de fibra da dieta insolúvel e solúvel do feijão-fradinho cru e cozido (30min) .....	56
TAB.2.6	Composição do feijão-fradinho por 100g de parte comestível: ácidos graxos .....	57
TAB.3.1	Gradientes da fase móvel da análise de aminoácidos .....	75
TAB.3.2	Quantidades dos ingredientes da salada de feijão-fradinho .....	81
TAB.4.1	Valores médios obtidos de teores de aminoácidos (g/100g) em grãos de feijão-fradinho após aplicações de diferentes doses (kGy) de radiação ( $t_0$ ) .....	89
TAB.4.2	Valores médios obtidos de teores de aminoácidos (g/100g) em grãos de feijão-fradinho após aplicações de diferentes doses (kGy) de radiação ( $t_6$ ) .....	91
TAB.4.3	Valores médios obtidos de teores de oligossacarídeos (g/100g) em grãos de feijão-fradinho crus após aplicações de diferentes doses (kGy) de radiação .....	93



TAB.4.4	Valores médios obtidos de teores de oligossacarídeos (g/100g) em grãos de feijão-fradinho cozidos após aplicações de diferentes doses (kGy) de radiação .....	94
TAB.4.5	Teores médios de tiamina (mg/100g) em grãos de feijão-fradinho crus e coccionados após aplicação de diferentes doses de radiação (kGy) .....	96
TAB.4.6	Percentagens de redução dos teores de tiamina causados pela cocção .....	96
TAB.4.7	Resultado do potencial de toxidez de fungos isolados .....	104

## RESUMO

O feijão-fradinho (*Vigna unguiculata* (L.) Walp), cultivado predominantemente no Norte e no Nordeste, constitui-se em um dos principais componentes da dieta alimentar destas regiões, pelo elevado conteúdo de proteínas, carboidratos, vitaminas, minerais e fibras. No armazenamento o ataque de pragas pode reduzir em até 100% seu valor comercial. O processo de irradiação é indicado como alternativa no controle de pragas e aumenta a vida útil do produto, sem alterar as características químicas e sensoriais. Estudou-se o efeito da radiação gama (0,5; 1,0; 2,5; 5,0 e 10,0kGy) de um irradiador de pesquisa com fonte de césio-137 nas características químicas, sensoriais e microbiológicas em grãos de feijão-fradinho crus e prontos para o consumo (coccionados) após a irradiação e durante o armazenamento de 30, 60 ou 180 dias. Análises de aminoácidos, oligossacarídeos, tiamina (vitamina B<sub>1</sub>), sensoriais, porcentagem fúngica, potencial toxicológico de fungos prováveis produtores de micotoxinas e de micotoxinas foram realizadas nos grãos controle (sem irradiação) e nos irradiados.

As análises químicas foram realizadas por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência. Nas análises sensoriais empregaram-se as escalas hedônica e do ideal para avaliação dos atributos aparência e sabor e textura, respectivamente. Análises microbiológicas foram realizadas por plaqueamento direto. Micotoxinas foram quantificadas por Cromatografia de Camada Delgada. Os resultados foram submetidos à Análise de Variância ou teste t-Student, com nível de significância de 5%.

Para as doses de irradiação empregadas não ocorreram alterações significativas nos teores de aminoácidos e no valor nutricional, mesmo após 6 meses de armazenamento. A combinação dos processos de cocção e irradiação ocasionou redução dos teores dos oligossacarídeos causadores de flatulência, dor e desconforto abdominal. Houve redução significativa de rafinose e estaquiose nas doses de 5,0 e 10,0kGy. Os teores de tiamina não apresentaram diferenças significativas entre os diferentes tratamentos e a amostra controle. Sensorialmente, o feijão-fradinho, na forma de salada, foi considerado aceito não tendo sido percebida diferença significativa entre os produtos controle e os irradiados. A radiação gama reduziu significativamente a presença de fungos do gênero *Aspergillus* a partir da dose de 2,5kGy e dos gêneros *Penicilium*, *Fusarium* e *Rhizopus* a partir da dose de 5,0kGy. Não foram detectadas aflatoxinas nas amostras controle e irradiadas.

A irradiação do feijão-fradinho é uma alternativa eficaz e segura no combate a perdas provocadas pela presença de pragas e fungos, auxilia na redução de substâncias antinutricionais, não alterando significativamente os teores de aminoácidos e de tiamina e as características sensoriais exigidas pelo consumidor.

## ABSTRACT

Fradinho-bean (*Vigna unguiculata* (L.) Walp) is grown predominantly in North and Northeast Brazil. Its being one of the most important components of people's diet in those regions due to the high contents of proteins, carbohydrates, vitamins, minerals and fibers. The plague attack in storage bean can reduce by up to 100% its commercial value. The process of irradiation is indicated as an alternative in the control of plagues and it increases the shelf life of the products, keeping their chemical and sensory characteristics. The study of the effect of gamma radiation (0.5, 1.0, 2.5, 5.0 and 10.0kGy), from a facility research with cesium-137 source, in chemical, sensory and microbiological characteristics in grains of fradinho-bean raw and ready for consumption (cooked) were done just after irradiation and during storage times of 30, 60 and 180 days. Analysis of aminoacids, oligosaccharides, thiamine (vitamin B<sub>1</sub>), sensories, fungal percentage, fungi toxicological potential which could produce micotoxins and micotoxins themselves were held in control (without irradiation) and irradiated grains.

Chemical analyses were performed by High Performance Liquid Chromatography. In sensory analysis hedonic and ideal scales were employed for evaluation of appearance and flavor and texture, respectively. Microbiological analyses were performed by direct plating. Micotoxins were quantified by Delgada Layer Chromatography. The results were submitted to analysis of variance and t-Student test with a significance level of 5%.

For doses of irradiation employed there were no significant changes in aminoacid levels and nutritional values, even after 6 months of storage. The combination of cooking and irradiation processes caused reduction of oligosaccharide levels which may cause flatulence, abdominal pain and discomfort. There was a significant reduction of raffinose and estaquiose at the doses of 5.0 and 10.0kGy. The levels of thiamine did not show significant differences between sample control and different dose treatments. Fradinho-bean, in the form of salad, was considered accept and the difference between irradiated and control products was not perceived. Gamma radiation significantly reduced the presence of fungi of *Aspergillus* genus as from the dose of 2.5kGy and *Penicilium*, *Rhizopus* and *Fusarium* genus as from the dose of 5.0kGy. Aflatoxins were not detected in irradiated and control samples.

The irradiation of fradinho-bean is a safe and effective alternative to combat losses caused by the presence of pests and fungus, helps in the reduction of antinutritional substances, not changing significantly the levels of aminoacids and thiamin and sensory characteristics required by consumers.

## 1 INTRODUÇÃO

O início do desenvolvimento das técnicas de conservação de alimentos coincide com o momento em que o homem se fixa e começa a produzir seu próprio sustento abandonando o nomadismo que impunha a busca de alimentação. Com o tempo, sobreveio à formação de excedentes, o que levou ao estabelecimento do comércio de alimentos. Os primeiros processos racionais de obtenção, beneficiamento e conservação de produtos vieram com a necessidade de manter e incrementar este comércio (GOULD, 1996).

Através dos séculos, com o aumento do conhecimento científico, os métodos de conservação foram se desenvolvendo procurando proporcionar estabilidade aos alimentos. Atualmente, a irradiação de alimentos pode auxiliar na conservação e, ao mesmo tempo, reduzir a incidência de algumas doenças provenientes da contaminação microbiana, como a salmonelose (TAUXE, 2001). As doenças de origem alimentar matam, aproximadamente, 1,8 milhões de pessoas por ano, no mundo. Em 2005, o consumo de alimentos contaminados acarretou 325 mil hospitalizações e 5 mil mortes nos EUA (CDC, 2004). Os patógenos *Salmonella*, *Escherichia coli* O157, *Campylobacter*, *Listeria* e *Toxoplasma* são os principais causadores de doenças (WHO, 1990; TAUXE, 2001).

O feijão-fradinho (*Vigna unguiculata* (L.) Walp), também conhecido como feijão-caupi, feijão-de-corda, feijão-macassar entre outros, é uma classe de feijão originária da África. No Brasil é cultivado predominantemente no sertão semi-árido da região Nordeste e em algumas áreas do Norte, constituindo-se em um dos principais componentes da dieta alimentar nestas regiões, especialmente na zona rural (RIBEIRO *et al.*, 2007). O feijão-fradinho representa de 95% a 100% do total das áreas ocupadas com o cultivo de feijões nestas regiões (MARINHO *et al.*, 2001), apresentando baixa exigência hídrica. O Nordeste produz 429.375t por ano, sendo os estados do Ceará (159.471t) e do Piauí (58.786t) os maiores produtores (ANDRADE JÚNIOR *et al.*, 2002).

O feijão-fradinho é uma excelente fonte de proteínas possuindo em média 23-25% em sua composição, sendo superior aos feijões comuns (*Phaseolus vulgaris*)

que possuem em média 20% (MARINHO *et al.*, 2001). Apresenta também aminoácidos essenciais, carboidratos, minerais, vitaminas, fibras dietéticas e baixo teor de gordura (MENDEZ *et al.*, 1992; RODRIGUEZ-AMAYA *et al.*, 2006). Pelo seu valor nutritivo é cultivado, principalmente, para a produção de grãos visando o consumo humano.

Apesar do alto valor nutricional substâncias não-nutritivas, de origem natural, são encontradas nos grãos de feijão, como os oligossacarídeos rafinose e estaquiose, agentes produtores de flatulência, dor e desconforto abdominal nas pessoas. A presença de fungos potencialmente produtores de micotoxinas também merece atenção. Pragas como paquinha, vaquinhas e percevejo-vermelho-do-caupi limitam a produção do feijão-fradinho, causando murcha-de-fusarium e podridão das raízes e do caule, entre outras doenças (RIBEIRO *et al.*, 2007). Nos grãos armazenados também ocorrem ataques de pragas, como a Traça e o Caruncho-do-feijão (*Callosobruchus maculatus*), o que afeta a qualidade dos mesmos (QUINTELA *et al.*, 1991). O processo de irradiação é uma alternativa no combate a estas perdas e auxilia na redução de oligossacarídeos e de fungos, além de aumentar a vida útil do produto.

A utilização da radiação ionizante em alimentos vem sendo estudada há vários anos e é necessário que as matérias-primas destinadas ao processo sejam de boa qualidade e manipuladas de acordo com as Boas Práticas de Fabricação (BPF's). Os emissores de raios gama (cobalto-60 e césio-137), os raios X (energias de até 5MeV) e os elétrons acelerados (energias de até 10MeV) são as fontes de radiações ionizantes autorizadas pela Comissão Nacional de Energia Nuclear (CNEN) para utilização nos estudos de irradiação de alimentos. No Brasil, a Resolução da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) RDC nº 21, de 26 de janeiro de 2001, aprovou o Regulamento Técnico para Irradiação de Alimentos, estabelecendo como dose mínima àquela suficiente para alcançar a finalidade pretendida e como dose máxima àquela inferior a dose que comprometeria as propriedades funcionais e ou os atributos sensoriais do alimento (BRASIL, 2001).

A cada dia aumentam as exigências mundiais em relação à qualidade dos alimentos além da preocupação com possíveis contaminações microbianas. Conseqüentemente os problemas com armazenamento, transporte e processamento exigem a busca de técnicas de preservação cada vez mais eficientes.

Um dos grandes problemas que o Brasil enfrenta é a fome, o que se constitui em um grande paradoxo já que cerca de 140 milhões de toneladas de alimentos são produzidos e o país é um dos maiores exportadores de produtos agrícolas do mundo. Segundo dados do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística – IBGE – a fome atinge 14 milhões de brasileiros, que corresponde a 7,7% da população (IBGE, 2004). Este fato não pode ser justificado pela falta de alimentos. O desperdício constitui-se em um dos grandes desafios, além do desencontro geográfico entre o local de produção e a localização das famílias mais necessitadas, já que 90% da produção agrícola localizam-se no Sul, Sudeste e Centro-Oeste, enquanto 60% dos famintos habitam no Norte e no Nordeste brasileiros.

A *Food and Agriculture Organization* (FAO) estima que de um quarto a um terço da produção mundial de alimentos é perdida devido a pragas, insetos, bactérias, fungos e enzimas. No Brasil, cerca de 30% do que se planta é perdido ao longo da cadeia produtiva, número grave para um país onde 3 milhões de crianças com até 6 anos têm uma alimentação inadequada. As perdas na cadeia produtiva de alimentos poderiam alimentar uma parcela significativa dos famintos brasileiros, sem gasto adicional com produção (LOPES, 2007; QUINTÃO, 2007).

O feijão-fradinho alcança grande importância social pelo seu elevado teor protéico, principalmente nas regiões Nordeste e Norte, por tratar-se de uma cultura que se adapta bem em todas as regiões e solos do Brasil. Pela sua produção são gerados, aproximadamente, 1.451.578 empregos/ano no país (QUIN, 1997).

Entretanto, a qualidade do feijão-fradinho pode ser alterada durante o armazenamento devido à perda de umidade, reações enzimáticas (mudanças no sabor e na cor), presença de insetos e fungos e ataques de pragas, como o caruncho-do-feijão, o qual reduz em até 100% seu valor comercial (FONTES *et al.*, 2003; QUINTELA *et al.*, 1991).

Os métodos convencionais empregados para o controle de pragas como o Caruncho envolvem a prática chamada expurgo do material estocado. Em tal procedimento, utilizam-se defensivos conhecidos como fumigantes. A fosfina (gás inodoro e venenoso) é o mais utilizado atualmente. A pastilha do inseticida começa a liberar o gás venenoso uma hora após entrar em contato com o ar. No entanto, dependendo das condições de temperatura e umidade, este tempo pode ser menor (ANDRADE JÚNIOR *et al.*, 2002). Esta metodologia é pouco prática e apresenta

riscos significativos para os trabalhadores e para o público próximo aos armazéns onde o expurgo é realizado.

A irradiação de alimentos consiste em uma alternativa eficaz e segura na prevenção das perdas, auxilia na redução de substâncias antinutricionais presentes no feijão-fradinho e não altera significativamente os teores de nutrientes e as características sensoriais exigidas pelo consumidor.

O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito da radiação gama (doses de 0,5; 1,0; 2,5; 5,0 e 10,0kGy) sobre as características químicas, sensoriais e microbiológicas em grãos de feijão-fradinho crus e prontos para o consumo (coccionados) após o processo de irradiação e durante o armazenamento de 30, 60 e 180 dias. Para tanto, foram realizadas análises de aminoácidos, oligossacarídeos, tiamina (vitamina B<sub>1</sub>), sensoriais, porcentagem fúngica, potencial toxicológico de fungos suspeitos produtores de micotoxinas e de micotoxinas, nos grãos controle (sem irradiação) e nos irradiados em um irradiador de pesquisa que utiliza césio-137 como fonte.

## 2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 TECNOLOGIA DE ALIMENTOS

Os primeiros processos racionais de obtenção, beneficiamento e conservação de produtos vieram com a necessidade de manter e incrementar o comércio de alimentos estabelecido a partir do momento em que o homem começou a produzir seu próprio sustento. Hoje, a Indústria de Alimentos se ocupa da aplicação de processos químicos, físicos e biológicos às matérias-primas alimentares, no sentido de conferir-lhes condições adequadas de utilização, aumentar-lhes o tempo de vida útil e transformá-las em produtos alimentícios (GOULD, 1996).

A Tecnologia de Alimentos foi criada dentro da Nutrologia pela necessidade que sentiram os profissionais que atuam nesta área de pesquisar processos mais adequados tecnicamente. Seu principal objetivo é a mudança do alimento no tempo e no espaço, ou seja, permitir que se consumam alimentos sazonais em épocas diferentes da safra e o consumo de determinados alimentos em locais onde não são produzidos (BARUFFALDI e OLIVEIRA, 1998).

Na Indústria de Alimentos são utilizados vários processos, isolados ou combinados, os quais podem ser classificados em físicos, químicos ou biológicos. Falamos em processos físicos quando são utilizadas apenas operações mecânicas de subdivisão (como exemplo de produto tem-se o polvilho, obtido da mandioca), em químicos quando se recorre ao emprego de substâncias químicas e em processos biológicos quando se recorre à atuação de microorganismos e enzimas (como as bebidas alcoólicas e o vinagre).

A Indústria de Alimentos se desenvolve basicamente em três setores: beneficiamento, conservação e transformação. No setor de beneficiamento se processam o manuseio, a higienização e a separação de partes não comestíveis das matérias-primas alimentares. No setor de conservação é empregada tecnologia bastante diversificada, visando o aumento de vida útil dos alimentos, o que permite ao Abastecimento Alimentar fazer face aos períodos de entressafra, promover



equilíbrio entre a oferta e a procura – por ocasião de safras deficitárias ou nulas – e regularizar o fluxo das demandas exigidas pelo setor de transformação (BARUFFALDI e OLIVEIRA, 1998).

Deste modo, a obtenção de produtos alimentícios engloba, como etapas inicial e complementar, o beneficiamento e a conservação, respectivamente. No setor de transformação, as combinações de processos, acrescidas de operações físico-químicas (como cristalização e emulsificação), resultam em diversas vantagens, destacando-se:

- (i) obtenção de enorme variedade de produtos alimentícios, a partir de leite, carnes, vegetais em geral, entre outras matérias-primas básicas da alimentação humana;
- (ii) eliminação ou diminuição apreciável de microorganismos patogênicos, e;
- (iii) elaboração de alimentos solicitados pelas dietéticas, como farinha láctea e produtos vitaminados para o público infantil (GOULD, 1996).

Para o Brasil, devido a sua enorme área e ao grande número de habitantes, o estudo da tecnologia de alimentos é de suma importância. Nas grandes cidades concentram-se a população urbana, havendo necessidade de grandes quantidades de alimentos frescos vindos de campos nem sempre próximos. Neste sentido, o país enfrenta uma série de problemas com transporte, dada às rodovias precárias e a agravante de linhas férreas inexistentes.

Este problema, aliado a outros como produção mal localizada, acarreta perdas durante a distribuição. Hoje, a verdadeira inovação tecnológica, que poderá equacionar o problema, não se baseia mais em aumento da produção. A diminuição das perdas e a melhoria das condições industriais são as únicas formas de se ter o desafio superado (BARUFFALDI e OLIVEIRA, 1998).

### 2.1.1 DETERIORAÇÃO E CONSERVAÇÃO DE ALIMENTOS

A conservação de alimentos se utiliza de meios para prevenir e retardar a ação dos agentes responsáveis pela deterioração dos mesmos, que são as enzimas e os microorganismos. As enzimas, sejam as existentes nas células, sejam as produzidas

por microorganismos, são as causadoras da deterioração dos gêneros perecíveis. Deste modo, a ação enzimática deve ser retardada por algum mecanismo, para que os alimentos possam ser armazenados por longos períodos de tempo.

Existem vários métodos para a conservação de gêneros alimentícios, como refrigeração e congelamento (emprego do frio), branqueamento, pasteurização, esterilização e cozimento (emprego do calor), radurização, radicação e radapertização (emprego de radiação), secagem e desidratação (emprego do controle da umidade) e processos de estabilização como defumação, salga e conservas (BARUFFALDI e OLIVEIRA, 1998). Através dos séculos, com o aumento do conhecimento científico, os métodos de conservação foram sendo desenvolvidos procurando proporcionar estabilidade aos alimentos. Atualmente, a irradiação de alimentos pode auxiliar na conservação e, ao mesmo tempo, reduzir a incidência de algumas doenças provenientes da contaminação microbiana, como a salmonelose (TAUXE, 2001).

## 2.2 IRRADIAÇÃO DE ALIMENTOS

### 2.2.1 A RADIOATIVIDADE

O fenômeno da radioatividade foi descoberto quando uma rocha de urânio foi esquecida sobre um filme fotográfico virgem, deixando este marcado por “algo” que saía da rocha: as radiações. Descobriu-se que outros elementos pesados denominados de elementos radioativos, como o rádio e o polônio, tinham a mesma propriedade.

Comprovou-se que núcleos com excesso de partículas ou de cargas, muito energéticos, tendem a estabilizar-se emitindo partículas ou ondas eletromagnéticas. Um dos processos de estabilização é a emissão de partículas alfa ( $\alpha$ ), constituídas por dois prótons e dois nêutrons. Estas partículas possuem carga +2. Quando existe um núcleo com excesso de nêutrons em relação a prótons, a estabilização ocorre através da emissão de uma partícula beta negativa ( $\beta^-$ ), com carga -1. No caso de

existir excesso de prótons, é emitida uma partícula beta positiva ( $\beta^+$ ), com carga +1, chamada pósitron. Neste último caso, também pode ocorrer Captura Eletrônica (CE). Um elétron da camada K é capturado, convertendo-se um próton e um elétron em um nêutron (TAUHATA *et al.*, 2003).

Geralmente, após a emissão de partículas  $\alpha$  ou  $\beta$ , o núcleo resultante do processo (núcleo filho) ainda possui excesso de energia, estabilizando-se pela emissão de energia em forma de ondas eletromagnéticas, sem carga elétrica, denominada radiação gama. Portanto, a radiação gama é uma forma de energia constituída por campos elétricos e campos magnéticos, capazes de propagar-se no espaço. No vácuo, sua velocidade de propagação é de 300.000 Km/s.

Qualquer partícula ou radiação eletromagnética que ao interagir com a matéria “arranca” elétrons de seus átomos e moléculas, direta ou indiretamente, transformando-as em íons, são consideradas radiações ionizantes. Desta forma, as partículas  $\alpha$  e  $\beta$  e a radiação gama, assim como os raios X emitidos pelos respectivos aparelhos, são radiações ionizantes (PRICE, 1958).

Quando um núcleo emite partículas, há variação do número de prótons, ou seja, o elemento se transforma em outro, de comportamento químico diferente. Esta transmutação também é conhecida como desintegração radioativa, porém não ocorre desagregação total do átomo, apenas perda de sua integridade. O termo decaimento radioativo é mais apropriado, pois sugere a diminuição gradual de massa e atividade.

Os radioisótopos, núcleos instáveis de um mesmo elemento químico e de massas diferentes, não realizam todas as mudanças ao mesmo tempo. Não se pode prever o momento em que um determinado núcleo irá emitir radiação. Entretanto, é esperado certo número de emissões ou transformações em cada segundo. Essa taxa de transformações é denominada atividade da amostra. A atividade de uma fonte radioativa é medida em Bq (Becquerel), equivalente a uma desintegração por segundo, ou em Ci (Curie), sendo  $1\text{Ci} = 3,7 \times 10^7 \text{Bq}$  (TAUHATA *et al.*, 2003).

Cada radionuclídeo, natural ou obtido artificialmente, decai a uma velocidade que lhe é característica. O tempo que o elemento leva para ter sua atividade reduzida à metade da atividade inicial é denominado meia-vida do elemento.

## 2.2.2 INTERAÇÃO DA RADIAÇÃO GAMA COM A MATÉRIA

A radiação gama transfere sua energia para o meio por três processos principais: Efeito Fotoelétrico (até 100keV e número atômico, Z, alto), Efeito Compton (100 – 2.000keV e Z baixo) e Formação de Pares (>1.020keV e Z alto) (TAUHATA *et al.*, 2003).

O efeito fotoelétrico acontece quando um fóton incide em um átomo transferindo sua energia a um único elétron orbital, fazendo com que este seja ejetado. A probabilidade deste efeito aumenta com Z. Os alimentos geralmente não apresentam em sua constituição elementos pesados. As fontes de cobalto-60 e césio-137 têm radiações com energias superiores a 100KeV. Portanto, este efeito pode ser considerado irrelevante na irradiação de alimentos.

O Efeito Compton ocorre quando um fóton incide sobre um elétron periférico dos átomos do absorvedor. O fóton e o elétron são espalhados. Observando-se o Z na composição alimentar e a energia das fontes emissoras, percebe-se que este é o efeito dominante como processo de interação na irradiação de alimentos.

A produção de pares ocorre quando fótons com energia maior ou igual a 1,02MeV passam próximos a núcleos de Z elevado. Assim, este efeito também pode ser considerado irrelevante no processo de irradiação de alimentos.

## 2.2.3 HISTÓRICO DO PROCESSO

Nos Estados Unidos, institutos de tecnologia vêm realizando pesquisas na área de irradiação de alimentos a mais de cem anos. Na Europa, cientistas alemães e franceses mostraram interesse pelo assunto a partir de 1914. Entretanto, os resultados dessas pesquisas iniciais não foram animadores, pois o processo de irradiação provocava alterações que comprometiam a aceitação do produto pelos consumidores. A partir de 1950, novos estudos começaram a mostrar os benefícios. Além do potencial para diminuir a incidência de intoxicações alimentares, a irradiação inibe o brotamento de raízes e tubérculos, desinfeta frutos, vegetais e

grãos, atrasa a decomposição, elimina organismos patogênicos e aumenta o tempo de prateleira de vários produtos (DIEHL, 1990; MELLO, 2001).

A utilização da irradiação de alimentos vem sendo estudada mais cientificamente nas últimas décadas. Em 1963, o governo norte-americano aprovou a irradiação de trigo e farinha de trigo para consumo humano; em seguida, a de batata, cebola, alho e outros produtos cujo brotamento torna-se uma barreira ao comércio. Durante os anos 80 e 90, houve uma verdadeira explosão de regulamentações pelo mundo, inclusive no Brasil, no sentido de aprovar a utilização da irradiação de alimentos para consumo humano, especialmente após a sua recomendação pela FAO e pela *International Atomic Energy Agency* – IAEA. Além da FAO e da IAEA, a irradiação de alimentos é defendida por outras entidades, como o Departamento de Agricultura dos EUA, União Européia e a brasileira ANVISA (DIEHL, 1990; LIMA, 2002).

#### 2.2.4 O PROCESSO DE IRRADIAÇÃO DE ALIMENTOS

A Irradiação de alimentos é definida como um “processo físico de tratamento que consiste em submeter o alimento, já embalado ou a granel, a doses controladas de radiação ionizante, com finalidades sanitária, fitossanitária e/ou tecnológica” (BRASIL, 2001). O processo envolve a exposição do alimento a energia ionizante de raios gama, raios X ou feixe de elétrons e é realizado em uma sala ou em uma câmara especial de processamento por um tempo determinado.

As fontes mais comuns de raios gama, para processamento de alimentos, são os radioisótopos cobalto-60 e cézio-137. O alimento é tratado pelos raios gama originados do radioisótopo em uma instalação conhecida como irradiador. A energia gama penetra no alimento causando pequenas mudanças moleculares que também ocorrem no ato de cozinhar ou congelar. A energia simplesmente passa através do alimento que está sendo tratado e, diferentemente dos tratamentos químicos, não deixa resíduos (MELLO, 2001).

O processo de irradiação é chamado de “esterilização a frio”, pois a variação de temperatura dos alimentos processados é insignificante. Os produtos que foram

irradiados podem ser transportados, armazenados ou consumidos imediatamente após o tratamento.

A irradiação funciona pela interrupção dos processos orgânicos que levam o alimento à senescência ou deteriorização. Raios gama, raios X ou elétrons são absorvidos pela água ou outras moléculas constituintes dos alimentos, com as quais entram em contato. No processo, dependendo da dose de radiação, são rompidas células microbianas, tais como bactérias, leveduras e fungos. Além disso, parasitas, insetos e seus ovos e larvas podem ser mortos ou se tornarem estéreis (TAUXE, 2001).

Em instalações comerciais os produtos a serem irradiados, embalados ou a granel, passam pela câmara de irradiação através de um sistema transportador composto por esteiras, onde são submetidos a um campo de radiação em um tempo controlado e preciso, de forma a receber a quantidade exata de energia para o tratamento. Os níveis de energia utilizados não são suficientes para induzir radioatividade nos alimentos. O alimento não entra em contato com a fonte de radiação (DIEHL, 1990; MELLO, 2001).

Ressalta-se que o processo de irradiação não melhora a qualidade da matéria-prima. Um produto ruim não poderá ser processado. Com isto, não se elimina a necessidade de manter as Boas Práticas de Fabricação. Além de mantidas, deverão ser mais exigentes, pois um produto danificado não pode ser tratado (LADOMERY, 1993; POTHISIRI, 1993; TAPE, 1992). A legislação brasileira exige o cumprimento do Manual de Boas Práticas de Fabricação para que o produto seja irradiado (BRASIL, 2001).

## 2.2.5 VANTAGENS DA IRRADIAÇÃO DE ALIMENTOS

Dentro do abastecimento alimentar, a irradiação pode ser utilizada para aumentar a quantidade e a qualidade das colheitas, por irradiação das sementes, destruir insetos comprometedores das colheitas, combater fungos, pasteurizar ou esterilizar produtos alimentícios, garantir um bom armazenamento, retardar o amadurecimento de frutas e a germinação de alimentos, como batata e cebola, prolongar o tempo de

vida útil e melhorar caracteres organoléticos de alguns alimentos, como a branqueamento da farinha de trigo. Sendo assim, o processo de irradiação acarreta vantagens de ordem econômica com maiores e melhores colheitas, menor incidência de doenças sobre os alimentos, mais ampla variedade de produtos durante todo o ano e possibilidade de incremento das exportações. Os consumidores também são favorecidos com melhor qualidade e variedade de produtos seguros. Para a sociedade isto significa mais saúde pública e aumento das rendas *per capita* e nacional (WHO, 1995).

## 2.2.6 SEGURANÇA E EFEITOS DA IRRADIAÇÃO NOS ALIMENTOS

Em 1983, a Comissão do *Codex Alimentarius*, um grupo das Nações Unidas que desenvolve normas internacionais para alimentos, concluiu que alimentos irradiados abaixo de 10kGy não apresentavam risco toxicológico (CODEX, 2007). Em 1999, a Organização Mundial de Saúde (OMS/WHO) liberou doses de radiação superiores a 10kGy (WHO, 1999). No Brasil, em 2001, o Regulamento Técnico para Irradiação de Alimentos estabeleceu novos limites de doses, como será visto mais adiante.

A dose de radiação é medida em Grays (Gy) ou quilograys (kGy), onde  $1\text{Gy} = 0,001\text{kGy} = 1 \text{ Joule (J) de energia absorvida por quilograma de alimento irradiado}$ . Anteriormente, a unidade de medida era o rad, correspondente à absorção de 100 ergs por grama de substância absorvente (TAUHATA *et al.*, 2003).

Nem a energia gama, nem os níveis internacionais estabelecidos para aceleradores de elétrons e máquinas de raios X, podem fazer com que o alimento se torne radioativo (WHO, 1995). O processamento por radiação não torna o alimento radioativo, da mesma forma que os raios X usados para a segurança em aeroportos não tornam as bagagens radioativas. Convém lembrar, a este respeito, que todo alimento contém elementos radioativos, como o potássio-40, o carbono-14, o hidrogênio-3 e até traços de rádio-226, o que leva a uma ingestão diária de cerca de 3nCi, equivalente a 2% da radioatividade total do corpo humano (BARBOSA, 1976).

Existe uma terminologia própria relativa à aplicação da irradiação e às doses empregadas. Os níveis de tratamento por irradiação são assim divididos em três

grupos. Na radurização, são aplicadas doses baixas (< 1kGy), com o objetivo de inibir brotamentos, retardar o período de maturação de frutas e de deterioração fúngica de frutas e hortaliças, como morango e tomate, e controlar a infestação por insetos e ácaros em cereais, farinhas, frutas, etc. Com isto, proporciona estocagem de longo prazo, sem o uso de produtos químicos. Já na radicidação ou radiopasteurização as aplicações são realizadas com dose média (de 1 a 10kGy). É ideal para pasteurizar sucos, retardar a deterioração de carnes frescas, controlar a *Salmonella* em produtos avícolas, entre outros, aumentando a qualidade da conservação e prevenindo a intoxicação alimentar. Por fim, a radapertização, a qual utiliza altas doses (de 10 a 45kGy), é utilizada na esterilização de carnes e outros produtos processados, destruindo populações de microorganismos e de patógenos, incluindo formadores de esporos, tais como *Clostridium botulinum*. Portanto, os efeitos são, respectivamente, de pasteurização, de ação bactericida e de esterilização (CODEX, 2007; DIEHL, 1990).

A TAB. 2.1 apresenta algumas funções da irradiação nos alimentos de acordo com a dose empregada. Para a desinfestação de grãos, doses baixas (0,1 kGy - 1,0kGy) normalmente são efetivas, gerando resultados positivos. Neste estudo, realizaram-se doses mais elevadas que as necessárias para desinfestação de grãos com o objetivo de avaliar os efeitos nos teores de macronutrientes e de micronutrientes e nas características sensoriais do feijão-fradinho.

A energia dos raios gama é suficiente para expulsar alguns elétrons de suas órbitas atômicas e gerar radicais livres. Em irradiação, a energia absorvida pelos alimentos é muito baixa. Por exemplo, se toda a energia recebida por um alimento irradiado com 10kGy se transformasse em energia calorífica, sua temperatura aumentaria apenas 2,4°C (WHO, 1995). Assim, em relação aos nutrientes, a irradiação promove poucas mudanças. Outros processos de conservação, como o aquecimento, podem causar alterações muito maiores.



TAB. 2.1: Funções da irradiação nos alimentos.

Funções	Doses (kGy)	Produtos irradiados
<b>Doses reduzidas (até 1kGy)</b>		
a) inibir a germinação	0,05 – 0,15	Batata, cebola, alho, gengibre
b) eliminar insetos e parasitas	0,15 – 0,50	Cereais e legumes, frutas, pescado e carnes frescas e secas
c) retardar processos fisiológicos (maturação)	0,50 – 1,00	Frutas e hortaliças frescas
<b>Doses médias (1 - 10kGy)</b>		
a) prolongar o tempo de conservação	1,00 – 3,00	Pescado fresco
b) eliminar microorganismos de decomposição e patógenos	1,00 – 7,00	Marisco fresco e congelado, aves, carnes cruas e congeladas
c) melhorar propriedades tecnológicas dos alimentos	2,00 – 7,00	Uvas (produção de sucos), verduras desidratadas
<b>Doses elevadas (10 - 50kGy)</b>		
a) esterilização comercial (combinada com calor)	1,00 – 3,00	Carne, aves, mariscos, alimentos preparados, dietas especiais estéreis
b) descontaminar certos aditivos alimentares e ingredientes	1,00 – 7,00	Especiais, preparações enzimáticas, gomas

Fonte: WHO, 1995.

Sabe-se que os carboidratos nos alimentos são menos susceptíveis à degradação do que aqueles irradiados em estado puro. A composição de aminoácidos quase não se altera com doses inferiores a 50kGy. Já as vitaminas são mais sensíveis a qualquer tipo de processamento. No caso da irradiação, as perdas que se produzem em soluções puras são muito maiores que em matrizes de alimentos, devido à ação protetora dos outros componentes alimentares presentes. Sabe-se que a vitamina B<sub>1</sub> (tiamina) é das mais susceptíveis, mas mesmo assim as perdas são mínimas. Por exemplo, observa-se perdas de 50% em soluções aquosas de B<sub>1</sub> com dose de 0,5kGy e de menos de 5% em um ovo inteiro, para a mesma dose (WHO, 1995). A vitamina C (ácido ascórbico), sob efeito da irradiação, é convertida em ácido dehidroascórbico, que é outra forma ativa desta vitamina (MELLO, 2001).

As investigações realizadas sobre a química e a bioquímica da irradiação de alimentos centram-se na natureza e medida dos produtos radiolíticos gerados. Mas

as pesquisas mostram que tais produtos são idênticos aos encontrados em alimentos submetidos aos métodos convencionais de elaboração (WHO, 1995).

## 2.2.7 ATITUDES DO CONSUMIDOR

A aprovação governamental da irradiação de carne de frango, juntamente com a instalação na Flórida do primeiro irradiador norte americano totalmente dedicado à irradiação de alimentos, fez com que a tecnologia de irradiação de alimentos recebesse, durante os anos noventa, um grande interesse do público. Estudos relacionados com o consumo, nos Estados Unidos, indicam que 45% a 55% dos consumidores desejariam comprar carne vermelha ou de frango irradiadas. Produtos irradiados da Flórida estão à disposição dos consumidores em certos mercados do país desde 1992. Carne de frango tem sido irradiada para controlar a *Salmonella* e colocada à disposição em mercados dos Estados Unidos desde 1993 (TAUXE, 2001).

Mas existe uma preocupação por parte da população, no que se refere à dose segura para irradiar alimentos. No entanto, após 30 anos de estudos ainda não se encontrou qualquer risco diretamente associado à ingestão de alimentos irradiados (MELLO, 2001).

Outra preocupação da população se refere à qualidade dos alimentos irradiados. Segundo KADER *et al.* (1989), qualidade é definida como “combinação de atributos que incluem a aparência, a textura, o sabor, o aroma e o valor nutricional na alimentação humana”. A preocupação dos consumidores está relacionada às possíveis alterações que a irradiação poderia causar nos alimentos como, por exemplo, cor, textura e sabor. Nem todos os alimentos podem ser irradiados. Um exemplo é o leite, que adquire um sabor impalatável. Para se adotar a irradiação como um processo de conservação de alimentos, é preciso realizar um estudo das características sensoriais pós-tratamento. Na maioria dos casos, essas alterações são mínimas ou inexistem.

## 2.2.8 LEGISLAÇÃO

No Brasil, a legislação sobre irradiação de alimentos existe desde 1985, através da Portaria DINAL nº 09 (BRASIL, 1985). Esta portaria foi revogada pela Resolução ANVISA RDC nº 21, de 26 de janeiro de 2001, que aprovou o Regulamento Técnico para Irradiação de Alimentos. Tal resolução estabelece como dose mínima àquela suficiente para alcançar a finalidade pretendida e como dose máxima àquela inferior à dose que comprometeria as propriedades funcionais e ou os atributos sensoriais do alimento (BRASIL, 2001). As fontes de radiações ionizantes autorizadas pela Comissão Nacional de Energia Nuclear para utilização nos estudos de irradiação de alimentos são os emissores de raios gama, cobalto-60 e cézio-137, os raios X, gerados por máquinas que trabalham com energias de até 5MeV, e elétrons acelerados, gerados por máquinas que trabalham com energias de até 10MeV.

O anexo I da Portaria SVS/MS nº 326, de 30 de julho de 1997, descreve o regulamento técnico sobre as condições higiênico-sanitárias e de boas práticas de fabricação para estabelecimentos produtores/industrializadores de alimentos, o qual tem como objetivo estabelecer os requisitos gerais de higiene e de Boas Práticas para alimentos produzidos/fabricados para o consumo humano (BRASIL, 1997). A legislação brasileira exige o cumprimento do Manual de Boas Práticas de Fabricação para que o produto seja irradiado. “A irradiação, assim como qualquer outro processo de tratamento de alimentos, não deve ser utilizada em substituição as boas práticas de fabricação e ou agrícolas” (BRASIL, 2001; LADOMERY, 1993; POTHISIRI, 1993; TAPE, 1992).

Alimentos irradiados para o consumo devem ser rotulados com o símbolo internacional denominado "Radura", mostrado na FIG. 2.1, além de apresentarem os dizeres exigidos para os alimentos em geral. O símbolo deve ser acompanhado pelas palavras "tratado por irradiação" ou "tratado com radiação". Esta rotulagem é exigida por lei para informar aos consumidores que eles estão comprando um alimento que foi processado. Este aviso é necessário pelo fato da radiação não deixar vestígio indicando que o alimento foi irradiado, seja pela aparência, cheiro ou toque. Isto contrasta com outras técnicas de processamento, tais como cozinhar, enlatar ou congelar, processos em que se percebe o tratamento (LIMA, 2002).



FIG. 2.1: O símbolo internacional “Radura”. (HENKEL, 1998)

### 2.2.9 O PROCESSO INDUSTRIAL DE IRRADIAÇÃO DE ALIMENTOS

Um exemplo de irradiador gama industrial típico com fonte de cobalto-60 usado para irradiar alimentos consiste em uma sala de paredes de concreto, a qual contém a fonte de radiação (esquema na FIG. 2.2). Neste sistema, o produto é transportado automaticamente para a sala de irradiação. Enquanto trabalhadores permanecem na sala, a fonte está abaixada ao fundo de um tanque, onde água absorve a energia da radiação (MDS, 2007).

Nesta configuração, a fonte gama consiste de hastes de cobalto-60 em tubos de aço inoxidável. Os tubos são armazenados na água e levantados para dentro da câmara de irradiação de concreto, no momento de tratar o alimento. No caso de um irradiador com fonte de cézio-137, as hastes contêm cloreto de cézio-137 (não metálico) e por isto não ficam em piscinas como a fonte de cobalto-60 (ROBERTS, 1998).

Os raios gama emitidos são mais energéticos do que os raios de um forno de microondas. Os raios de um forno de microondas aquecem os alimentos, enquanto que os raios gama, com comprimentos de onda muito mais curtos e frequências mais elevadas, penetram o alimento tão rapidamente que quase nenhum calor é produzido. Por esta razão, a irradiação de alimento é freqüentemente chamada de pasteurização a frio. Nenhuma contaminação radioativa é produzida no alimento. O alimento é exposto somente à fonte decaindo. Como em outros métodos de preservação, a irradiação elimina somente os microorganismos freqüentemente

presentes dentro do alimento. Conseqüentemente, o produto irradiado deve ser apropriadamente manipulado para impedir recontaminação.

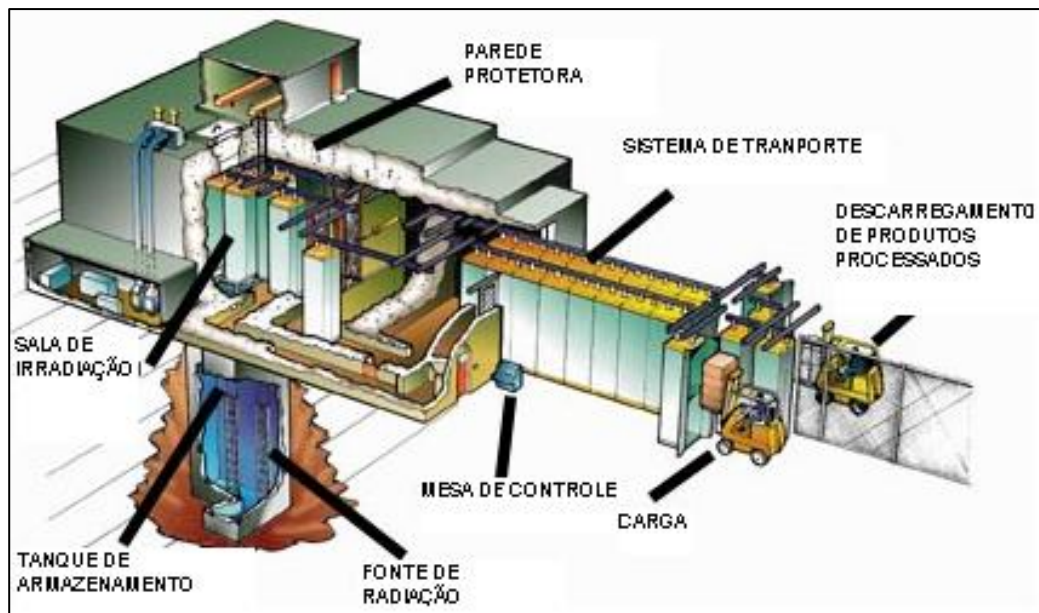


FIG. 2.2: Exemplo de irradiador gama. (MDS, 2007)

Determinados alimentos podem também ser irradiados com feixes de elétrons emitidos de aceleradores lineares. Neste método, o alimento é exposto a um feixe de elétrons que mata ou reduz a população de bactérias, parasitas ou insetos. Esta técnica de irradiação é utilizada somente em alimentos com menos de 2 polegadas de espessura, devido à capacidade penetrante limitada dos feixes (ROBERTS, 1998).

## 2.3 FEIJÃO-FRADINHO

O feijão-fradinho (*Vigna unguiculata* (L.) Walp), designado também por outros nomes, é uma planta pertencente à família *Fabaceae*, das leguminosas (veja TAB. 2.2).

TAB. 2.2: Classificação botânica do feijão-fradinho.

<b>Classificação</b>	<b>Nome</b>
Reino	<i>Plantae</i>
Divisão	<i>Magnoliophyta</i>
Classe	<i>Magnoliopsida</i>
Ordem	<i>Fabales</i>
Família	<i>Fabaceae</i>
Subfamília	<i>Faboideae</i>
Gênero	<i>Vigna</i>
Espécie	<i>Vigna unguiculata</i>

Fonte: PIRANI, 2007

A *Fabaceae*, também conhecida como *Leguminosae*, é de ampla distribuição geográfica, sendo uma das maiores famílias botânicas. Existem aproximadamente 650 gêneros e 18.000 espécies. Uma característica marcante da família é o fruto, que, geralmente, é do tipo legume ou vagem. Apresenta-se em três subfamílias muito distintas: *Faboideae*, *Caesalpinioideae* e *Mimosoideae*. Uma característica ecológica de grande importância, apresentada por quase todas as suas espécies, é a simbiose das raízes com bactérias do gênero *Rhizobium*, as quais fixam nitrogênio da atmosfera. Esta família apresenta grande valor econômico pela produção de alimentos como soja, ervilha e feijão (RIBEIRO *et al.*, 2007).

O feijão-fradinho é uma planta geralmente anual, erecta ou trepadora (FIG. 2.3). Há uma raiz principal, com ramificações laterais, que pode atingir 2m de

profundidade, razão de sua notável resistência à seca (FILGUEIRA, 2005). As suas folhas são trifoliadas. As flores dispõem-se em pequenos grupos semelhantes a cachos que partem da base do pecíolo das folhas. Existe uma variedade de flores lilacíneas e outra de flores violáceas com vexilo amarelo. As flores abrem-se apenas nas primeiras horas da manhã, não permitindo que a polinização por parte de insetos ocorra freqüentemente. A autopolinização é a regra nesta espécie. As vagens são lisas, lineares e cilíndricas, com sementes numerosas, as quais podem ser vistas na FIG. 2.4. Estas se apresentam na cor branca ou amarela com o hilo (o "olho" do feijão) castanho ou negro (RIBEIRO *et al.*, 2007).



FIG. 2.3: Aspecto da planta do feijão-fradinho. (ANDRADE JÚNIOR *et al.*, 2002)

Além de feijão-fradinho, a espécie de feijão *Vigna unguiculata* é ainda conhecida por boca-preta, ervilha-de-vaca, favalinha, feijão-alfanje, feijão-besugo, feijão-careta, feijão-caupi (aportuguesamento do nome em inglês), feijão-chicote, feijão-chinês, feijão-congo, feijão-de-corda, feijão-da-china, feijão-de-boi, feijão-de-frade, feijão-de-olho-preto, feijão-de-vaca, feijão-de-vara, feijão-gurutuba, feijão-lagartixa, feijão-macáçar, feijão-mancanha, feijão-mineiro, feijão-miúdo, feijãozinho-da-índia, mebauene e mucunha. Em Angola, é também designado por feijão-macúndi, maconde, macunde e macúndi. Em Moçambique é conhecido como namerrua (ANDRADE JÚNIOR *et al.*, 2002).



FIG. 2.4: Aspecto das sementes comestíveis feijão-fradinho. (RIBEIRO *et al.*, 2007)

Em reunião internacional, o termo caupi foi convencionado em substituição aos demais nomes (OLIVEIRA, 1993). Muitas revistas e autores acolheram esta determinação. O termo feijão-fradinho é conhecido no estado do Rio de Janeiro. O fradinho é uma subclasse, cultivada principalmente nos Estados da Bahia e do Rio de Janeiro, segundo classificação do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento – MAPA (BRASIL, 2002).

### 2.3.1 ORIGEM E HISTÓRIA

Acredita-se que a espécie feijão-fradinho seja originária da África Tropical, de onde se dispersou para outras regiões como a Índia, de clima similar. Deste modo, teria sido introduzida no Brasil pelos colonizadores portugueses no século XVI (ANDRADE JÚNIOR *et al.*, 2002). Segundo FILGUEIRA (2005), entretanto, foi introduzida por escravos africanos.

Os feijões estão entre os alimentos mais antigos, remontando aos primeiros registros da história da humanidade. No antigo Egito e na Grécia eram cultivados e também cultuados como símbolo da vida. Os antigos romanos usavam feijões freqüentemente nas suas festas gastronômicas e até mesmo como pagamento de apostas. As ruínas da antiga Tróia revelam evidências de que os feijões eram o



prato favorito de guerreiros troianos. A maioria dos historiadores atribui a disseminação dos feijões no mundo em decorrência das guerras, já que esse alimento fazia parte da alimentação dos guerreiros em marcha. Os grandes exploradores auxiliaram a difundir o uso e o cultivo de feijão para as mais distantes regiões do planeta (FILGUEIRA, 2005).

### 2.3.2 IMPORTÂNCIA ECONÔMICA

Um dos componentes mais importantes da dieta alimentar do brasileiro é o feijão. No Brasil, o feijão-fradinho é cultivado predominantemente no sertão semi-árido da região Nordeste e em algumas áreas do Norte, notadamente onde se instalaram imigrantes nordestinos, constituindo-se em um dos principais componentes da dieta alimentar nestes locais, especialmente na zona rural, onde se concentra a população de baixo poder aquisitivo (RIBEIRO *et al.*, 2007). O feijão-fradinho representa de 95% a 100% do total das áreas ocupadas com o cultivo de feijões nestas regiões (MARINHO *et al.*, 2001), apresentando baixa exigência hídrica, rusticidade para se desenvolver em solos de baixa fertilidade e facilidade para fixar nitrogênio do ar, por meio da simbiose com bactérias do gênero *Rhizobium*.

A área total ocupada com feijão-fradinho no mundo é cerca de 12,5 milhões de hectare, sendo os principais produtores Nigéria e Brasil. O Nordeste produz, aproximadamente, 429.375t por ano, sendo os estados do Ceará e do Piauí os maiores produtores (ANDRADE JÚNIOR *et al.*, 2002). Segundo QUIN (1997), a produção de feijão-fradinho é responsável pela geração de, aproximadamente, 1.451.578 empregos/ano no país, enfatizando sua importância com relação aos aspectos socioeconômicos. O feijão-fradinho é a principal cultivar deste feijão produzida nos EUA, sendo aquela de maiores chances de exportação pelo Brasil (FEIJÃO-CAUPI, 2003).

O feijão-fradinho é uma excelente fonte de proteínas, apresenta também aminoácidos essenciais, carboidratos, minerais, vitaminas, grande quantidade de fibras e baixo teor de gordura. Pelo seu valor nutritivo, é cultivado, principalmente,

para a produção de grãos, visando o consumo humano. Além disso, também é utilizado como forragem verde, feno, ensilagem, farinha para alimentação animal, adubação verde e proteção do solo (RIBEIRO *et al.*, 2007).

### 2.3.3 CULTIVO DO FEIJÃO-FRADINHO

No Brasil, a maioria das informações sobre a resposta da cultura de feijão-fradinho aos fatores climáticos é obtida por meio de trabalhos realizados em outros países. Os elementos do clima que exercem influência no crescimento e no desenvolvimento dessa cultura são precipitação, temperatura do ar, fotoperíodo, vento e radiação solar. Estes fatores permitem verificar a viabilidade e a época adequada para a implantação da cultura do feijão-fradinho (ANDRADE JÚNIOR *et al.*, 2002).

Para que a cultura produza a contento (sem a necessidade de irrigação), é necessário um mínimo de 300mm de precipitação. A limitação em termos hídricos no Brasil encontra-se mais diretamente condicionada à distribuição do que à quantidade total de chuvas ocorridas em um período (no país ocorre distribuição irregular das chuvas). Déficit hídricos no início do desenvolvimento da cultura podem estimular um maior desenvolvimento radicular das plantas. Porém, estresse hídrico próximo ou anterior ao florescimento pode ocasionar severa retração do crescimento vegetativo, limitando a produção (ANDRADE JÚNIOR *et al.*, 2002).

O feijão-fradinho pode ser cultivado em quase todos os tipos de solos. Desenvolve-se em solos com regular teor de matéria orgânica arejados e dotados de média a alta fertilidade. No entanto, solos com baixa fertilidade podem ser utilizados, realizando-se aplicações de fertilizantes, quando necessário.

Recomenda-se a calagem (correção de acidez do solo com calcário) para a cultura de feijão-fradinho quando a percentagem de saturação de alumínio for igual ou maior do que 20%. A calagem deve ser realizada com base em resultados de análise química do solo. A faixa de pH 5,5 a 6,5 é a mais favorável (FILGUEIRA, 2005).

Para seu desenvolvimento completo, o feijão-fradinho absorve uma quantidade superior a 100kg/ha de nitrogênio, elemento altamente móvel na planta. Considerada uma planta com eficiente sistema de fixação, normalmente o feijão-fradinho dispensa adubação nitrogenada. Em áreas com teor de matéria orgânica menor que 10g/kg, as quais geralmente apresentam deficiência de nitrogênio, recomenda-se a aplicação de 20kg de N/ha. Os primeiros sintomas de deficiência de nitrogênio surgem nas folhas mais velhas, em forma de clorose uniforme homogênea amarelo-esverdeada, passando às folhas novas com a intensificação dos sintomas, ocorrendo um desfolhamento prematuro (RIBEIRO *et al.*, 2007).

Um cultivo destinado à produção de sementes deve obedecer às normas de produção de cada cultura. A semente é o ponto de partida para se ter uma boa lavoura e, desta forma, uma boa matéria-prima. No caso da produção de sementes ser feita em cultivo de sequeiro, é importante que o plantio seja feito em uma época que possibilite a colheita no final do período chuvoso. A lavoura também deve ter acompanhamento quanto à ocorrência de pragas e doenças, para que sejam tomadas medidas necessárias ao controle das mesmas (ANDRADE JÚNIOR *et al.*, 2002).

Um bom plantio é aquele em que a quantidade de sementes recomendada é bem distribuída em número, espaço, tempo e profundidade. Isto garante o número e a distribuição ideal de plantas até o momento da colheita, o que permite obter produtividade e lucros elevados.

A escolha da melhor época de plantio depende da variedade de feijão-fradinho. O importante é evitar que a colheita seja feita em períodos com maior probabilidade de chuvas. Para reduzir este risco no caso da agricultura de sequeiro, utiliza-se o plantio escalonado ou o sistema policultivar. No plantio escalonado são distribuídas variedades com diferentes características de ciclo de desenvolvimento, em diferentes épocas, dentro do intervalo de tempo mais indicado para plantio da cultura em cada região. No sistema policultivar, a única diferença é que as variedades de ciclos diferentes são plantadas no mesmo dia.

O feijão-fradinho é cultivado em todo o território brasileiro, sobretudo no Nordeste e Norte, com vários métodos de plantio, desde o mais rudimentar até a motomecanização com plantadeiras adubadeiras.

O número de plantas por área (densidade de plantas) é função do espaçamento entre linhas de plantio e densidade de sementes na linha. O espaçamento de 0,8m a 1,0m entre linhas é bastante utilizado. A densidade de sementes na linha de plantio é de 6 a 8 sementes por metro. Plantando-se desta maneira, há um melhor aproveitamento da energia solar interceptada pelas plantas (RIBEIRO *et al.*, 2007).

Para a obtenção de elevadas produtividades de grãos de feijão-fradinho é preciso identificar quando, quanto e como irrigar, conhecendo as fases mais críticas ao estresse hídrico, os sistemas de irrigação mais adequados e os métodos de manejo de irrigação. O consumo de água do feijão-fradinho pode variar de 300 mm/ciclo a 450 mm/ciclo, dependendo da cultivar, do solo e das condições climáticas locais. Não existe um sistema de irrigação ideal para determinada agricultura, mas sim um sistema mais adequado a certa situação. O sistema de aspersão convencional é bastante utilizado, por ser adaptável a qualquer taxa de infiltração de água no solo. A suspensão da irrigação depende da cultivar do feijão. Por exemplo, aquelas de porte ereto ou semi-ereto devem ter a irrigação suspensa quando 50% das vagens estiverem amarelas (ANDRADE JÚNIOR *et al.*, 2002).

Em uma lavoura podem aparecer várias plantas estranhas à espécie explorada. Estas são chamadas de plantas ou ervas daninhas ou mato. Existem diversos métodos de controle. Na maioria dos casos, a fusão de alguns deles proporciona bons resultados. No controle preventivo, o principal objetivo é prevenir a introdução, o estabelecimento e/ou a disseminação de determinadas espécies de plantas daninhas em áreas não infestadas. Para evitar a contaminação de uma área, utilizam-se sementes e adubos de natureza orgânica livres de propágulos de plantas daninhas proibidas, realiza-se limpeza de máquinas antes de iniciar as práticas agrícolas, entre outros cuidados.

O monocultivo de uma dada espécie por muitos anos e a utilização contínua de um mesmo herbicida, em uma mesma área, facilitam o estabelecimento de certas plantas daninhas. Desta forma, no chamado controle cultural, a rotação previne o surgimento de espécies de plantas daninhas mais adaptáveis às culturas.

O controle mecânico consiste de práticas como a capina manual. Já o controle químico é recomendado para grandes áreas, quando justificado, ou em áreas com mão-de-obra escassa. Neste método, são utilizados os herbicidas. O produtor deve estar ciente de que este método é um complemento de outras práticas de manejo e

deve ser utilizado com o intuito maior de reduzir do que de eliminar as necessidades dos outros métodos de controle (RIBEIRO *et al.*, 2007).

### 2.3.3.1 CULTIVARES

Para a obtenção de uma boa produtividade é muito importante a escolha correta da cultivar, para um determinado ambiente e sistema de produção. Além disto, é necessário que a cultivar tenha características de grão que atendam às exigências dos comerciantes e consumidores locais.

Os principais aspectos a serem considerados na escolha de uma cultivar de feijão-fradinho são: ciclo (superprecoce, precoce, médio, médio-precoce, médio-tardio e tardio), arquitetura da planta (porte ereto, semi-ereto, semi-prostrado e prostrado), reação a doenças (virose, fungos e bactérias) e pragas (pulgões, cigarrinha verde, vaquinhas, mosca branca, percevejos, lagartas, carunchos entre outros) e tipo de produção (grãos secos ou feijão verde).

Para o cultivo de grandes áreas é importante que sejam utilizadas duas ou mais cultivares de ciclos distintos. Isso reduz o risco de perda por qualquer fator adverso, como veranico, e facilita a colheita, uma vez que a maturidade é alcançada de forma escalonada.

São comercializados vários tipos de grãos de feijão-fradinho, em relação a tamanho, forma e cor. Há sempre uma preferência por determinados grãos em certas regiões. De todas as características, a cor parece ser o fator mais importante na formação do preço do produto. Portanto, é importante que o produtor procure usar cultivares que tenham grãos bem aceitos pelos comerciantes e consumidores locais (ANDRADE JÚNIOR *et al.*, 2002).

Os nomes das cultivares locais são dados geralmente em função de alguma característica que se destaca na cultivar, como cor ou forma dos grãos. Com base na portaria nº 85, de 06 de março de 2002, anexo XII, do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, o feijão-fradinho pertence ao Grupo II (feijão-de-corda, feijão-caupi ou feijão-macassar, espécie *Vigna unguiculata* (L.) Walp) que possui as seguintes classes: Branco, Preto, Cores e Misturado (BRASIL, 2002).

Dada a enorme diversidade de grãos, FREIRE FILHO *et al.* (2000) propuseram a inclusão de subclasses nas classes Branco e Cores, para facilitar o entendimento dessa classificação. Dentro desta lógica, o feijão-fradinho é classificado como uma subclasse da classe Branco. “Subclasse Fradinho: cultivares com grãos brancos e com um grande halo preto, cultivadas principalmente nos Estados da Bahia e do Rio de Janeiro, e atualmente em expansão na região Sudeste”.

### 2.3.3.2 DOENÇAS, PRAGAS E MÉTODOS DE CONTROLE CONVENCIONAIS

Dentre os fatores que limitam a produção do feijão-fradinho encontram-se as doenças causadas por agentes patogênicos. Alguns exemplos são Podridão das raízes e Murcha-de-fusarium (FIG. 2.5). Estas doenças levam à morte das plantas. Para o controle da Podridão das raízes, removem-se e queimam-se as plantas doentes, eliminando-se os restos culturais. Realiza-se, então, a rotação de cultura com algodão e/ou gramíneas. A aplicação de calcário, na ordem de 1t/ha, tem sido destacada por SANTOS *et al.* (1996) como eficiente para o controle da enfermidade.



FIG. 2.5: Doença Murcha-de-fusarium no feijão-fradinho. (RIBEIRO *et al.*, 2007)

Para o controle da Murcha-de-fusarium, deve-se considerar um conjunto de medidas, como escolha de área isenta do patógeno, evitar o plantio sob condição de encharcamento, plano de rotação cultural e tratamento de sementes com fungicidas (RIBEIRO *et al.*, 2007).

Os insetos ocorrem em uma planta em uma época em que o seu estágio fenológico está produzindo seu alimento ideal. A TAB. 2.3 mostra a distribuição das pragas do feijão-fradinho de acordo com a fenologia da planta.

As pragas do feijão-fradinho podem ser classificadas em subterrâneas, que atacam sementes, raízes e colo da planta, como as pragas Paquinha e Lagarta-rosca, e em pragas da parte aérea, que atacam as partes acima do colo como folhas e flores, vagens e grãos. Estas últimas se subdividem em:

- (i) Pragas das folhas, como Vaquinhas, Lagarta-militar, Lagarta-dos-capinzais, Cigarrinha verde, Pulgões. O feijão-fradinho é uma leguminosa sensível ao desfolhamento;
- (ii) Pragas dos órgãos reprodutivos, que atacam as flores, vagens e grãos. Destacam-se Percevejo-vermelho-do-caupi e Percevejo pequeno da soja.
- (iii) Pragas dos grãos armazenados. A infestação é feita por meio de ovos, larvas ou adultos, que juntamente com as vagens, grãos ou sacarias, chegam aos armazéns, infestando também os grãos já existentes. Por outro lado, grãos sadios que chegam podem ser infestados nos armazéns quando medidas preventivas não são tomadas. Portanto, a contaminação inicial pode ocorrer tanto no campo como nos armazéns. As principais pragas que atacam o feijão-fradinho em condições de armazenamento são a Traça e o Caruncho-do-feijão, o qual será visto agora com maiores detalhes.

#### 2.3.3.2.1 CARUNCHO-DO-FEIJÃO (*Callosobruchus maculatus*)

São besouros de aproximadamente 3mm de comprimento (veja FIG. 2.6) que vivem cerca de 5 a 8 dias. As fêmeas põem em média 80 ovos nas superfícies dos grãos. Ao eclodirem, as larvas penetram nos mesmos alimentando-se do conteúdo

interno. Dentro dos grãos, transformam-se em pupas e, após a emergência, os adultos perfuram o orifício de saída. Fora dos grãos, reiniciam o ciclo biológico (GALLO *et al.*, 2002). O caruncho-do-feijão causa grandes perdas físicas e de qualidade em feijão-fradinho, provocando redução de até 100% no seu valor comercial (FONTES *et al.*, 2003; QUINTELA *et al.*, 1991).

TAB. 2.3: Pragas do feijão-fradinho de acordo com a fenologia da planta.

Período (dias)	0 - 5	6 - 54		55 - 80
Fase	Geminação	Florescimento		Maturação/Colheita
		Vegetativo	Reprodutivo	
Praga	Paquinha	Paquinha, Lagarto elasmó, Lagarta-rosca, Larvas de vaquinhas, Vaquinhas, Lagartas desfolhadoras, Cigarrinha, Pulgão, Mosca-branca, Minador-das-folhas	Vaquinhas, Pulgão, Lagartas desfolhadoras, Lagartas das vagens, Mosca-branca, Minador-das-folhas, Percevejo, Manhoso	Percevejo, Manhoso, Pragas dos grãos armazenados

Fonte: ANDRADE JÚNIOR *et al.*, 2002



FIG. 2.6: Adultos e dano do Caruncho em grãos de feijão-fradinho. (QUINTELA *et al.*, 1991)



Para o controle do caruncho, o método convencional empregado é o expurgo, realizado no material estocado. Tal método é pouco prático e apresenta riscos, como será visto mais adiante. O processo de irradiação é uma alternativa eficaz e segura no combate a estas pragas. FONTES e ARTHUR (2001) encontraram a dose de 0,05kGy como suficiente para inibir a reprodução de adultos de *Callosobruchus maculatus* em feijão-fradinho.

#### 2.3.3.2.2 CONTROLE DAS PRAGAS DOS GRÃOS ARMAZENADOS

O controle da Traça e do Caruncho-do-feijão deve obedecer as seguintes condições para os grãos armazenados em sacarias:

- (i) no período da entressafra, os armazéns devem ser limpos e desinfestados, com aplicação de inseticidas, procurando pulverizar principalmente cantos de paredes e rachaduras de pisos e paredes, locais de esconderijo dos insetos;
- (ii) realizar expurgo em todo o material a ser estocado e, posteriormente, pulverizar as superfícies do material expurgado, e;
- (iii) fazer monitoramento dos grãos armazenados, expurgando novamente aqueles infestados.

Expurgo pode ser definido como a operação que visa a eliminação dos insetos que se encontram nos produtos armazenados em suas diversas fases de desenvolvimento, procurando atingir uma eficiência de 100% no controle (GALLO *et al.*, 2002). São empregados defensivos conhecidos como fumigantes. O fosfato de alumínio (fosfina) é o mais utilizado atualmente (FIG. 2.7).



FIG. 2.7: Pastilhas de fosfina para expurgo de grãos armazenados. (ANDRADE JÚNIOR *et al.*, 2002)

A operação pode ser realizada com os grãos a granel ou ensacados. A granel, os grãos são depositados em silos verticais ou horizontais, sendo as pastilhas de fosfina adicionadas aos grãos na esteira de carregamento em doses recomendadas.

Na operação de expurgo em grãos acondicionados em sacos, realiza-se o empilhamento da sacaria sobre estrados de madeira (FIG. 2.8), cobre-se com um lençol impermeável, de maneira que o lençol se estenda sobre o piso cerca de 1,0m, e colocam-se as "cobras de areia" sobre as laterais do lençol, de forma que este fique em contato com o piso e evite a saída dos gases do inseticida (FIG. 2.9). Deixa-se um dos lados da pilha sem as "cobras de areia", sendo este o acesso para a pessoa que vai colocar as pastilhas de fosfina. Em seguida, distribuem-se as pastilhas na quantidade recomendada pelo fabricante em diferentes locais da pilha de sacos e veda-se o acesso colocando as "cobras de areia" no local. Deve-se obedecer o período de exposição dos grãos e de carência (RIBEIRO *et al.*, 2007).



FIG. 2.8: Sacos de feijão empilhados para serem expurgados. (ANDRADE JÚNIOR *et al.*, 2002)



FIG. 2.9: Lençol impermeável cobrindo a sacaria em expurgo. (ANDRADE JÚNIOR *et al.*, 2002)

A fosfina é um gás inodoro. Sendo assim, é necessário utilizar um gás de alerta. O etileno “carbureto” é comumente empregado com esta finalidade. A pastilha do inseticida começa a liberar o gás venenoso uma hora após entrar em contato com o ar. No entanto, dependendo das condições de temperatura e umidade, este tempo pode ser menor. Neste sentido, aconselha-se realizar a distribuição do produto pelas

sacarias o mais breve possível e, após a aplicação, evitar a presença de pessoas e animais no local (ANDRADE JÚNIOR *et al.*, 2002).

### 2.3.3.3 COLHEITA, BENEFICIAMENTO E ACONDICIONAMENTO

Uma das etapas mais importantes no processo produtivo do feijão-fradinho é a colheita. A qualidade final da semente ou do grão depende de uma colheita bem feita, na época correta, isto é, após as vagens completarem a secagem. O atraso na colheita causa perda de qualidade do produto (RIBEIRO *et al.*, 2007).

Tradicionalmente, o feijão-fradinho é colhido manualmente. Nas grandes propriedades há uma combinação de práticas que oferecem maior rapidez à colheita e ao beneficiamento, como debulha mecânica através de máquina acoplada a trator. As sementes são armazenadas de diferentes formas. O acondicionamento para comercialização é feito em sacos de fibra de polietileno e em sacos de papel multifoliados, na maioria das vezes com 60kg (RIBEIRO *et al.*, 2007).

### 2.3.4 FEIJÃO-FRADINHO PÓS-COLHEITA

Pelo fato de o feijão ser consumido por todas as classes sociais, sendo para as de menor poder aquisitivo a principal fonte de proteínas, minerais, vitaminas e fibras, a qualidade tecnológica dos grãos de feijoeiro é de grande importância. Seu valor alimentar deve-se ao menor custo de sua proteína em relação à de origem animal. Em média, os feijões fornecem de 10% a 20% das necessidades de adultos para vários nutrientes.

As principais características físicas e químicas relacionadas com a qualidade tecnológica dos grãos são absorção de água, antes e após o cozimento, tempo de cozimento, percentagem de sólidos solúveis no caldo, cor do tegumento e do caldo e teor de fibra dietética, minerais, proteínas e vitaminas. A qualidade nutricional do feijão depende de fatores genético-agronômicos que são alterados devido ao

armazenamento inadequado (FILGUEIRA, 2005).

O mercado de feijão-fradinho se restringe aos grãos secos e verdes hidratados e sementes. Porém, já existem iniciativas para o processamento industrial visando a produção de farinha e produtos pré-cozidos e congelados. A cultura ainda concentra-se nas regiões Norte e Nordeste. No entanto, há sinais de expansão na região Sudeste, principalmente em Minas Gerais e no Rio de Janeiro (ANDRADE JÚNIOR *et al.*, 2002).

Pelo seu valor nutritivo, o feijão-fradinho é principalmente cultivado para a produção de grãos, visando o consumo humano (RIBEIRO *et al.*, 2007). Em alguns lugares, como em países da África, o feijão-fradinho já é utilizado para a produção de farinha, a qual pode ser utilizada na preparação de pães, biscoitos, pizzas entre outros (FEIJÃO-CAUPI, 2003). A industrialização, em forma semelhante à da ervilha enlatada, ainda não é praticada no Brasil (FILGUEIRA, 2005).

As principais refeições preparadas com feijão-fradinho na região do estado do Rio de Janeiro são a salada de feijão-fradinho, feijão com lingüiça e sopa com legumes, além do feijão cozido tradicional.

### 2.3.5 CONSUMO DE FEIJÃO NO BRASIL

Há muitos questionamentos na análise do consumo de feijão no Brasil, porém alguns pontos são de consenso. Sabe-se que o consumo de feijão varia conforme a região, local de moradia e condição financeira do consumidor, com o tipo e cor de grãos entre outros aspectos. Na década de 1960, o consumo médio *per capita* de feijão foi de 23kg/habitante/ano, caindo para 20, 16 e 17kg/habitante/ano nas décadas de 1970, 1980 e 1990, respectivamente. No período de 1974 a 1975, o consumo metropolitano *per capita* foi de 16,5kg/ano, enquanto o rural foi 32kg/ano, quase o dobro (ANDRADE JÚNIOR *et al.*, 2002).

Os dados conjunturais não permitem separar o consumo *per capita* de feijão-caupi e de feijão comum. Entretanto levantamentos feitos nos períodos de 1987 a 1988 e de 1995 a 1996 apontam que ocorreu um aumento de consumo de feijão-caupi em Belém (820%) e Recife (338%). No mesmo estudo, considerando mais

sete metrópoles de outras regiões, o consumo de feijão-caupi aumentou 10%.

Em relação ao feijão comum, os trabalhos são todos unânimes em comprovar a queda do consumo no Brasil, não havendo consenso sobre as causas. Os economistas afirmam que o produto tem elasticidade de renda negativa, isto é, à medida que a renda do consumidor aumenta o consumo do produto diminui. Alguns afirmam que ocorreu um crescimento do preço real do feijão em comparação a outros alimentos. Outros ainda apontam a dificuldade de preparo caseiro e o alto tempo de cozimento, o qual se contrapõe à necessidade de redução do tempo de trabalho doméstico. Além disso, há maior número de pessoas fazendo suas refeições fora do lar e a substituição do feijão por outras fontes de proteína.

Uma parcela de consumidores tem optado pela modernidade, consumindo marcas globais e *fast food*. A questão é se, em nome dessa modernidade, devemos desprezar um alimento tão nosso e que não apresenta graves problemas colaterais. Por outro lado, um grupo de consumidores passou a se interessar com mais veemência pelo tema, demonstrando interesse pelas qualidades nutricionais dos alimentos (FILGUEIRA, 2005).

#### 2.3.5.1 DADOS SOBRE O CONSUMO DE FEIJÃO NO BRASIL

Dados relativos a aspectos nutricionais e a medidas antropométricas da população brasileira foram levantados, no âmbito da Pesquisa de Orçamentos Familiares – POF 2002-2003, e publicados pelo IBGE. O estudo identifica o estado nutricional da população adulta do Brasil, a partir dos dados antropométricos de pessoas com 20 anos ou mais de idade. A pesquisa também faz avaliação nutricional da disponibilidade alimentar domiciliar, com base nas aquisições de alimentos e bebidas para consumo no domicílio. Tal estudo possibilita traçar um perfil das condições de vida da população brasileira a partir do grau e da qualidade do atendimento a sua necessidade mais básica sob a ótica do consumo – a alimentação. Para tanto, foram investigadas as quantidades adquiridas de alimentos e bebidas para consumo, segundo as Grandes Regiões.

“A disponibilidade média nacional de alimentos no domicílio, estimada pela POF de 2002-2003, correspondeu a cerca de 1.800kcal por pessoa por dia, sendo essa disponibilidade próxima de 1.700kcal no meio urbano e de 2.400kcal no meio rural” (IBGE, 2004). Feijões e outras leguminosas são descritos como um grupo de alimentos básicos de origem vegetal, fontes de energia e, em diferentes proporções, também de proteína, micronutrientes e fibras. Há indicação de que os alimentos básicos de origem vegetal, que incluem este grupo de alimentos, correspondem a cerca de 50% das calorias totais na disponibilidade alimentar domiciliar. A participação na dieta de feijões e demais leguminosas foi bastante maior no meio rural do que no meio urbano (9% das calorias totais contra 5,8%, respectivamente).

As cinco grandes regiões do país caracterizam-se por perfis diferenciados de disponibilidade domiciliar de alimentos (ver ANEXO 1). Assim, observa-se que a participação de certos alimentos em certa região excede a participação observada nas demais regiões do país. Em relação ao feijão e outras leguminosas, observa-se um consumo maior na região Nordeste.

Alguns alimentos e grupos de alimentos tiveram sua participação na dieta aumentada entre 1974-975 e 2002-2003, incluindo carnes em geral. Porém, feijões e demais leguminosas são um dos grupos de alimentos que mostraram tendência inversa, apresentando redução de até 30%, como mostra a tabela do ANEXO 2. Os dados de 1974-1975 são do Estudo Nacional da Despesa Familiar – ENDEF, realizado com procedimentos idênticos aos empregados pela POF de 2002-2003 (IBGE, 2004).

Conclui-se no estudo que alimentos tradicionais na dieta do brasileiro, como o arroz e o feijão, perdem importância no período, enquanto o consumo de produtos industrializados, como biscoitos e refrigerantes, aumenta em até 400%. Em decorrência destas mudanças alimentares, vê-se aumentar os casos de transtornos alimentares, déficit de peso, excesso de peso, obesidade entre outros. Sem recursos para manter uma alimentação saudável, incluindo carnes em geral, muitas famílias compensam a falta de proteínas com a união arroz e feijão, os quais são alimentos complementares, fonte de fibras, ferro e proteínas vegetais.

## 2.4 COMPOSIÇÃO DO FEIJÃO-FRADINHO

O feijão-fradinho é uma excelente fonte de proteínas possuindo em média 23-25% em sua composição, sendo superior aos feijões comuns (*Phaseolus vulgaris*), que possuem em média 20% (MARINHO *et al.*, 2001). Apresenta também aminoácidos essenciais, carboidratos, minerais, vitaminas, fibras e baixo teor de gordura (MENDEZ *et al.*, 1992; RODRIGUEZ-AMAYA *et al.*, 2006).

O principal constituinte dos feijões é o carboidrato, que ocupa de 60% a 65% da sua composição total, sendo o amido (reserva energética) o principal armazenado. Em casos de diabetes e hiperglicemia, as fibras dietéticas têm importância terapêutica. Grande parte dos carboidratos presentes no feijão encontra-se na forma de fibra, como celulose e hemicelulose. As fibras dietéticas são divididas em solúveis e insolúveis em água. Os feijões são, em comparação com outros alimentos, ricos em fibras solúveis, as quais têm sido comprovadamente responsáveis por reduzir os níveis de colesterol e de açúcar no sangue em seres humanos (FILGUEIRA, 2005).

Apesar de seu alto valor nutricional, substâncias não-nutritivas de origem natural também são encontradas nos grãos de feijão-fradinho, como os oligossacarídeos (RAO e VAKIL, 1983).

O conteúdo protéico do feijão varia de 16% a 33%, entretanto o valor biológico é baixo quando consumido separadamente. Isso se deve à baixa digestibilidade e ao reduzido teor e biodisponibilidade de aminoácidos sulfurados. As proteínas das leguminosas são ricas em lisina e limitadas em aminoácidos sulfurados (metionina e cisteína). A elevada concentração de lisina é considerada de grande valor na complementação das proteínas de cereais, os quais são pobres nesse aminoácido e ricos em metionina, como é o caso do arroz. A digestibilidade é aumentada após o processamento térmico, pois ocorre desnaturação de fatores antinutricionais de natureza protéica (FILGUEIRA, 2005).

O feijão é uma boa fonte de vitaminas hidrossolúveis, dentre elas tiamina, riboflavina, niacina, vitamina B<sub>6</sub> e ácido fólico.

O conteúdo mineral das leguminosas consumidas na forma inteira é conservado. Os feijões são importante fonte de ferro, fósforo, magnésio, manganês, zinco, cobre



e cálcio (FILGUEIRA, 2005).

As TAB. 2.4 e TAB. 2.5 apresentam, respectivamente, a composição centesimal e o valor energético e as quantidades de fibra da dieta insolúvel e solúvel do feijão-fradinho cru e cozido (30min), segundo a “Tabela de Composição de Alimentos”, de MENDEZ e colaboradores, editada pela Universidade Federal Fluminense (MENDEZ *et al.*, 1992). Esta tabela apresenta informações sobre preparo de amostras, nomes científicos, em espanhol e em inglês dos alimentos e metodologias utilizadas nas análises. A fibra insolúvel foi obtida com solução detergente e a solúvel, por método que determina parte da pectina.

TAB. 2.4: Composição centesimal (g/100g de material integral) e valor energético (kcal/100g) do feijão-fradinho cru e cozido (30min).

<b>Composição</b>	<b>Feijão-fradinho</b>	
	<b>Cru</b>	<b>Cozido</b>
Umidade	14,56	72,49
Proteína	24,36	8,34
Extrato etéreo	1,42	0,48
Minerais	3,15	0,97
Fibra da dieta	11,72	3,44
Glicídios	41,81	13,90
Valor energético	277,46	93,28

Fonte: MENDEZ *et al.*, 1992

TAB. 2.5: Quantidades (g/100g de material integral) de fibra da dieta insolúvel e solúvel do feijão-fradinho cru e cozido (30min).

<b>Fibra da dieta</b>	<b>Feijão-fradinho</b>	
	<b>Cru</b>	<b>Cozido</b>
<b>Insolúvel</b>		
Celulose	6,77	2,48
Hemiceluloses	3,05	0,03
Lignina	0,55	0,47
<b>Solúvel</b>		
Pectina solúvel	0,33	0,10
Propectina	1,02	0,36
Pectina total	1,35	0,46

Fonte: MENDEZ *et al.*, 1992

A TAB. 2.6 contém dados de frações de ácidos graxos, os quais são considerados representativos do hábito alimentar brasileiro, da “Tabela Brasileira de Composição de Alimentos” – TACO, do Núcleo de Estudos e Pesquisa em Alimentação da Universidade Estadual de Campinas – NEPA-UNICAMP. A tabela TACO possui dados de energia, macronutrientes, vitaminas e minerais de 198 alimentos (RODRIGUEZ-AMAYA *et al.*, 2006).

TAB. 2.6: Composição do feijão-fradinho por 100g de parte comestível: ácidos graxos.

<b>Composição (g)</b>	<b>Feijão-fradinho</b>	
	<b>Cru</b>	<b>Cozido</b>
Saturados	0,70	0,20
12:0	Tr	
14:0	Tr	Tr
16:0	0,50	0,18
18:0	0,08	0,03
20:0	0,02	0,01
22:0	0,04	0,02
Mono-insaturados	0,20	0,10
14:1	0,64	0,24
16:1		Tr
18:1	0,15	0,05
20:1	0,01	Tr
Poli-insaturados	0,90	0,30
18:2 n-6	0,58	0,21
18:3 n-3	0,28	0,10

Valores em branco nesta tabela: análises não solicitadas. Tr: traço. Adotou-se traço nas seguintes situações: a) valores de nutrientes arredondados para números com uma casa decimal que caiam entre 0 e 0,05; b) valores de nutrientes arredondados para números com duas casas decimais que caiam entre 0 e 0,005 e; c) valores abaixo dos limites de quantificação.

**Limites de Quantificação:** Ácidos graxos: 0,01g/100g

Fonte: RODRIGUEZ-AMAYA *et al.*, 2006

#### 2.4.1 AMINOÁCIDOS E PROTEÍNAS

Existem no organismo humano cerca de cinco milhões de proteínas diferentes. Proteínas são polímeros constituídos dos mesmos monômeros (aminoácidos). São aproximadamente vinte estes aminoácidos constituintes perfeitamente conhecidos, que se repetem, em média, cem vezes nas várias proteínas (ARAÚJO, 2006). Eles são denominados de alfa-aminoácidos (seus nomes e suas fórmulas estruturais podem ser vistas na FIG. 2.10).

Os aminoácidos funcionam não só como unidades estruturais básicas para a formação das proteínas, mas também como precursores de uma série de substâncias biologicamente importantes, como hormônios, enzimas, alcalóides, pigmentos etc.

Todos os seres vivos, animais e vegetais, sintetizam aminoácidos. No entanto, alguns animais superiores são deficientes na síntese de todos os aminoácidos de que necessitam para constituir suas proteínas e, por isso, devem obtê-los em sua dieta. Os humanos adultos necessitam de nove aminoácidos, denominados essenciais: valina, leucina, isoleucina, fenilalanina, triptofano, treonina, metionina, lisina e histidina (SHIELS, 2003).

Por possuírem um grupo básico e outro ácido, os aminoácidos têm caráter anfótero e podem existir em solução tanto como cátions quanto como ânions. No estado sólido, formam íons dipolares. A forma predominante do aminoácido em solução depende do pH da solução e da natureza do aminoácido. Em soluções ácidas fortes eles predominam como cátions e em bases fortes, como ânions (ARAÚJO, 2006).

Enzimas fazem com que os alfa aminoácidos se polimerizem, através da eliminação de água, formando a ligação conhecida como ligação peptídica. Ocorre que o grupo carboxílico (COOH) de um aminoácido é conectado, pela perda de uma molécula de água, ao grupo amino (NH<sub>2</sub>) do próximo, resultando na formação da ligação peptídica. Os polímeros que contêm 2, 3, 3 a 10 ou muitos aminoácidos são chamados respectivamente de dipeptídeos, tripeptídeos, oligopeptídeos e polipeptídeos. Proteínas são moléculas que contêm uma ou mais cadeias polipeptídicas (SHIELS, 2003).

Uma maneira de quebrar as ligações peptídicas das proteínas é submetê-las à refluxo de HCl 6N por 24 horas. Desta maneira, todas as ligações peptídicas são hidrolisadas e a solução final é uma mistura de aminoácidos livres. Quando se deseja determinar a estrutura de um polipeptídeo ou de uma proteína, a separação e identificação individual dos aminoácidos da mistura são fundamentais (SHIELS, 2003).

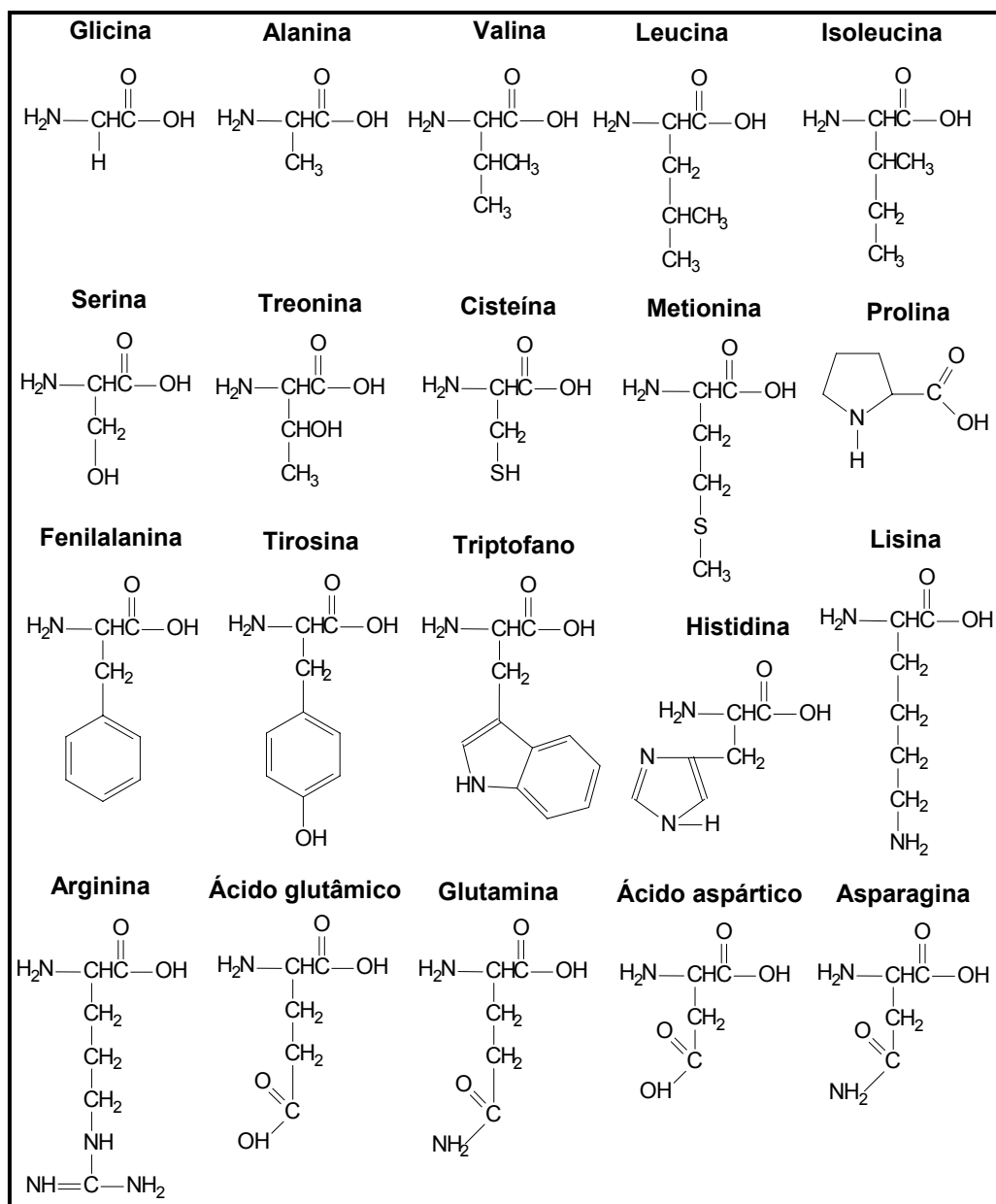


FIG. 2.10: Fórmulas estruturais dos alfa-aminoácidos.

A grande maioria dos aminoácidos não apresenta nenhuma característica física ou química que possibilite a sua fácil determinação, especialmente em baixas concentrações. Por esta razão, é necessário usar um artifício que os transforme em estruturas com características facilmente detectáveis. O usual é proporcionar uma reação com compostos que apresentem grupos cromóforos ou fluoróforos

detectados por espectroscopia de ultravioleta/visível ou fluorímetros. A este tipo de reação dá-se o nome de derivatização.

Diversas reações degradativas durante o processamento e o armazenamento de alimentos podem ocorrer, ocasionando alterações desejáveis ou indesejáveis nas proteínas. As proteínas podem apresentar perdas de funcionalidade e de qualidade nutricional, bem como alterações desejáveis de sabor. As modificações importantes que afetam as proteínas são aquecimento na presença e na ausência de carboidratos, pH extremos, principalmente alcalino, e exposição a condições oxidativas e luz. Portanto, nutrientes são destruídos quando os alimentos são processados, em razão da sensibilidade a pH, do oxigênio, da luz ou do aquecimento ou da combinação destes. Por exemplo, em condições alcalinas, os aminoácidos arginina, treonina, cistina, serina e cisteína são lentamente destruídos, enquanto glutamina e asparagina são deaminadas. Em meio ácido, o triptofano é rapidamente destruído. Todos os aminoácidos, especialmente lisina e metionina, são sensíveis ao aquecimento (ARAÚJO, 2006).

#### 2.4.2 OLIGOSSACARÍDEOS

Os carboidratos, ou hidratos de carbono, são uma classe básica de compostos bioquímicos. É a forma primária de armazenamento de energia. Os carboidratos são divididos em simples e complexos. Os simples são os monômeros, entre os quais se destacam a glicose e a frutose, responsáveis pelo sabor doce de muitas frutas. Dois açúcares simples combinados formam os dissacarídeos. A sacarose (açúcar de mesa) é uma combinação de glicose e frutose e a maltose (reserva da célula vegetal) de duas unidades de glicose. Quando 3 a 10 unidades de açúcares se combinam, formam-se os oligossacarídeos, como as maltodextrinas (9 unidades de glicose). Já os polissacarídeos são formas complexas de múltiplas moléculas (10 ou mais unidades de açúcares), como a celulose, presente nos vegetais, e o amido, presente em tubérculos como a batata.

Encontram-se no feijão-fradinho alguns oligossacarídeos, como rafinose e estaquiose, além de carboidratos componentes da fibra (indigeríveis), como os

polissacarídeos sem amido, e de carboidratos digeríveis, como amido e sacarose. Tais oligossacarídeos são os principais responsáveis pela produção de gases e conseqüente flatulência, dor e desconforto abdominal nas pessoas (GUIMARÃES *et al.*, 2001).

Oligossacarídeos são carboidratos que, por hidrólise, originam de dois a dez monossacarídeos. Classificam-se em dissacarídeos, quando produzem dois monossacarídeos, trissacarídeos, quando produzem três monossacarídeos, e assim por diante. Exemplos:

- (i) Sacarose + H<sub>2</sub>O → glicose + frutose
- (ii) Rafinose + 2 H<sub>2</sub>O → glicose + frutose + galactose

#### 2.4.2.1 SACAROSE

A sacarose (C<sub>12</sub>H<sub>22</sub>O<sub>11</sub>), também conhecida como açúcar de mesa ou açúcar comum comercial, é um tipo de glicídio formado por uma molécula de glicose e uma de frutose produzida pela planta ao realizar o processo de fotossíntese. Sua fórmula estrutural pode ser vista na FIG. 2.11.

A sacarose é amplamente distribuída entre as plantas superiores. Encontra-se na cana de açúcar (*Sacharum officinarum*) e na beterraba (*Beta vulgaris*), sendo que o suco da primeira, a garapa, contém de 15-20% e o da segunda, de 14-18% de sacarose. É doce e a sua fermentação por leveduras é muito utilizada comercialmente.

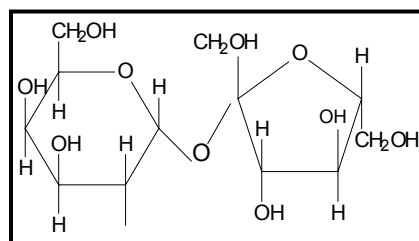


FIG. 2.11: Fórmula estrutural da sacarose.

#### 2.4.2.2 RAFINOSE E ESTAQUIOSE

A rafinose ( $C_{18}H_{32}O_{16}$ ) é um trissacarídeo formado por uma unidade de glicose, uma de galactose e uma de frutose. A estaquiose ( $C_{24}H_{42}O_{21}$ ) é um tetrassacarídeo formado por uma unidade de glicose, duas unidades de galactose e uma de frutose. A FIG. 2.12 apresenta as suas fórmulas estruturais.

Apesar do alto valor nutricional, o consumo de leguminosas é limitado dado o grande tempo de cocção e a presença destes oligossacarídeos, os dois maiores açúcares formadores de gases (SIDDHURAJU *et al.*, 2002). Devido à falta de atividade, no sistema digestório humano, da enzima  $\alpha$ -galactosidase, responsável pela hidrólise das ligações alfa galactosídicas presentes nos oligossacarídeos, estes não são metabolizados, passando intactos ao intestino grosso, onde são fermentados por bactérias anaeróbicas da flora intestinal, levando a produção dos gases  $CO_2$ ,  $H_2$  e  $CH_4$ , em menor quantidade (GUIMARÃES *et al.*, 2001; OLIVEIRA *et al.*, 2001).

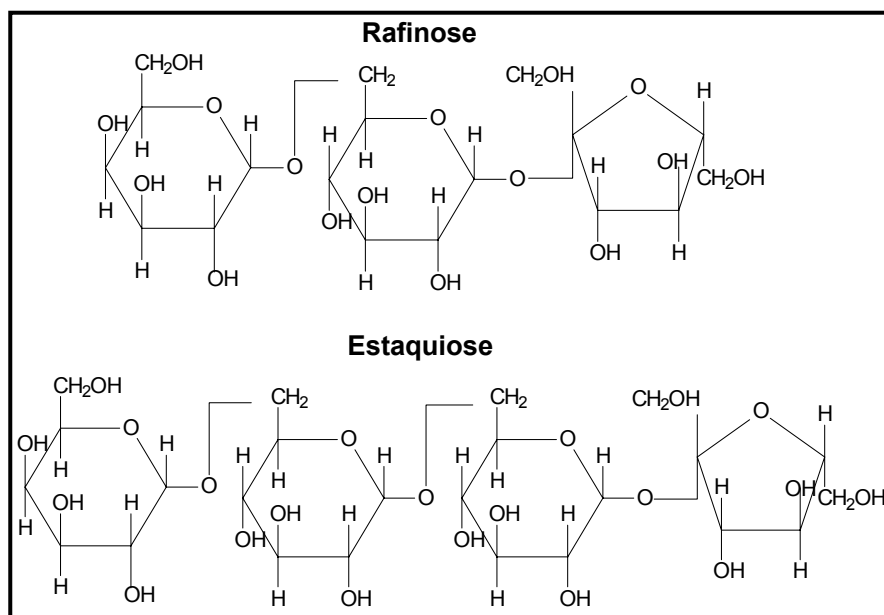


FIG. 2.12: Fórmulas estruturais da rafinose e da estaquiouse.



Para a remoção destes fatores antinutricionais, métodos convencionais são o descarte da água de molho e a cocção. Tais procedimentos são relativamente ineficientes (LIENER, 1994). O tratamento com radiação ionizante é um método alternativo para redução dos teores de oligossacarídeos. Os pesquisadores RAO e VAKIL (1983) relataram que a irradiação de feijões (*Phaseolus aureus*) com 2,5kGy reduziu em 50% os teores de rafinose e estaquiose.

### 2.4.3 TIAMINA

A tiamina (FIG. 2.13), conhecida como vitamina B<sub>1</sub>, é importante para o bom funcionamento dos sistemas nervoso, cardiovascular, muscular e digestório do organismo humano, além de melhorar mentalidade e raciocínio, entre outras funções. De acordo com a *Dietary Reference Intake* (IOM, 2004) é necessário o fornecimento diário de tiamina (1,2mg/dia), por não ser armazenada em grandes quantidades nos tecidos.

A carência desta vitamina na alimentação humana pode conduzir à avitaminose designada por beribéri. Alguns sinais de sua falta são insônia, nervosismo, irritação, fadiga, depressão, perda de apetite e energia, dores no abdômen e no peito, sensação de agulhadas e queimação nos pés, perda do tato e da memória e problemas de concentração. Alguns inimigos da tiamina são álcool, café, cigarro, antiácido, barbitúricos, diuréticos, excesso de doces e de açúcar (SHILS *et al.*, 2003).

A tiamina está presente em muitos alimentos, mas na maioria dos casos em pequenas quantidades. A melhor fonte de tiamina é a levedura de cerveja seca. Outras boas fontes incluem carnes de porco e de vaca, aves, peixes, cereais de grão inteiro, nozes, legumes secos, ervilhas, arroz integral, cereais integrais, fígado, rins, amendoins, verduras amargas, gema de ovo e feijão. Nos grãos de cereais, o farelo rico em tiamina é removido durante a moagem do trigo para produzir a farinha branca e durante o polimento do arroz integral para produzir arroz branco.

Sabe-se que a tiamina é instável ao calor, meios alcalinos e oxigênio e é uma das vitaminas mais sensíveis à radiação (KILCAST, 1994). A hidrossolubilidade é

também um fator de perda de tiamina a partir dos alimentos. Podem ser perdidas quantidades consideráveis na água de descongelamento dos alimentos congelados ou na água utilizada para cozinhar.

A tiamina é essencial para o metabolismo dos carboidratos através da suas funções coenzimáticas. As coenzimas são “moléculas auxiliares” que ativam as enzimas, as proteínas que controlam os milhares de processos bioquímicos que ocorrem no corpo. A coenzima da tiamina – pirofosfato de tiamina PFT – é a chave para várias reações na decomposição da glicose em energia. A tiamina também desempenha um papel na condução dos impulsos nervosos e no metabolismo aeróbico (SHILS *et al.*, 2003).

A derivatização com ferricianeto de potássio alcalino permite a detecção por fluorescência da tiamina em alimentos, sob a forma de tiocromo (conversão oxidativa). A derivatização pós-coluna garante que a presença de substâncias redutoras, como polifenóis, não prejudique a análise, pois o convertimento ocorrerá com a tiamina já separada dos interferentes.

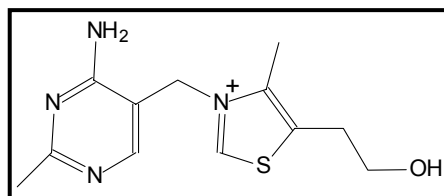


FIG. 2.13: Fórmula estrutural da tiamina.

## 2.5 TOXICOLOGIA ALIMENTAR

Toxicologia é a ciência que estuda a identificação e os efeitos de substâncias tóxicas sobre o metabolismo dos seres vivos. Neste contexto, os alimentos são definidos como misturas químicas complexas constituídas de substâncias nutritivas e não-nutritivas. Substâncias não-nutritivas são aquelas que decorrem da geração e/ou adição durante o processamento, a conservação e a estocagem, e que

não apresentam importância nutricional. Dentre estas substâncias, algumas podem apresentar caráter tóxico, impactando negativamente o metabolismo normal dos seres vivos (SILVA, 2005).

Dentre as principais substâncias tóxicas não-nutritivas de origem natural estão os glicosinolatos, os nitratos, os agentes produtores de flatulência e os carcinógenos. As substâncias não-nutritivas adicionadas aos alimentos decorrem de técnicas de produção, de processamento e de armazenagem. A produção de micotoxinas por microorganismos é um tipo de contaminação direta incontornável. Uma microbiota se desenvolve sobre os alimentos conforme propriedades, tais como atividade aquosa e composição química do produto e temperatura e umidade do ambiente de armazenagem. Dependendo dos valores destas propriedades irão prevalecer determinadas espécies que poderão sintetizar toxinas. No caso de fungos, são produzidas micotoxinas (SILVA, 2005).

### 2.5.1 FUNGOS E MICOTOXINAS

Um dos fatores que comprometem a qualidade final do feijão-fradinho é a presença de fungos. Os gêneros mais comumente encontrados, dentre as cultivares, são os *Aspergillus*, *Fusarium* e *Rhizopus*.

Micotoxinas são compostos orgânicos tóxicos de baixo peso molecular produzidos por fungos. A presença destas substâncias em alimentos e em rações é potencialmente perigosa para homens e animais por não estimularem o sistema imune, pois não são reconhecidas como estranhas ao organismo, e por possuírem efeitos tóxicos e resistência ao aquecimento. Elas são difíceis de definir e complicadas de classificar. A classificação tende a refletir a área do profissional que realiza a categorização. Micologistas, por exemplo, as classificam pelos fungos que as produzem.

Aflatoxinas são um grupo de micotoxinas produzidas por espécies do fungo *Aspergillus*, como *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger* e *Aspergillus parasiticus*. As aflatoxinas são tóxicas, ligando-se ao DNA das células e provocando inibição de

replicação do mesmo. Elas são causadoras de cancro em humanos e em outros animais (PIMENTA *et al.*, 2001).

Existem pelo menos treze tipos de aflatoxinas. As B<sub>1</sub> e B<sub>2</sub> são produzidas por *Aspergillus flavus* ou *Aspergillus parasiticus*, sendo a B<sub>1</sub> considerada a mais tóxica. As aflatoxinas G<sub>1</sub> e G<sub>2</sub> são produzidas exclusivamente pelo fungo *Aspergillus parasiticus*.

Os fungos *Aspergillus* estão presentes em diversos tipos de culturas agrícolas e também no leite de animais que consomem alimentos contaminados. A presença destes fungos em produtos alimentícios não é uma indicação segura de presença de aflatoxinas, mas tais alimentos passam a ser considerados como potencialmente perigosos. Estes fungos crescem em condições favoráveis de temperatura e umidade. A contaminação ocorre mais intensamente em nozes, amendoins, milho e sementes de algodão.

Outra micotoxina, reconhecidamente nefrotóxica e carcinogênica, é a ochratoxina A. Ela é produzida por *Aspergillus ochraceous* e também por várias espécies do gênero *Penicillium*. Existem diferentes formas da ochratoxina, determinadas pelas letras A, B, C, D e seus grupamentos metil e etil-esteres, sendo que a ochratoxina A é o metabólito primário mais abundante e mais tóxico dentre elas (PIMENTA *et al.*, 2001).

Passado mais de 40 anos da descoberta das micotoxinas, ainda não se desenvolveu um modelo de prevenção e controle seguro e eficaz. O processo de irradiação gama tem sido descrito na literatura com destaque de sua eficiência para a destruição de espécies fúngicas em diversos alimentos (AZIZ *et al.*, 2002).

## 2.6 COCÇÃO E AVALIAÇÃO DE ACEITAÇÃO DO FEIJÃO-FRADINHO

A cocção é fundamental na preparação do feijão para consumo humano, pois assegura a inativação de fatores antinutricionais, permitindo a digestão e a assimilação de proteínas e de amido. Um exemplo de fator antinutricional presente nos feijões é a enzima lipoxigenase, responsável pelo sabor adstringente de “feijão cru”. A cocção também proporciona a caracterização das propriedades sensoriais de

sabor e textura exigidos pelo consumidor. Grãos que apresentam menor tempo de cozimento resultam em economia de energia e de tempo. Para o feijão armazenado, a casca contribui com mais de 75% do tempo de cocção. Portanto, a casca é responsável pela dureza do grão e, conseqüentemente, pelo grande tempo de cozimento (ANDRADE JÚNIOR *et al.*, 2002).

A cocção também ocasiona um aumento nos valores da fração fibra da dieta e de seus componentes, devido à formação de complexos com proteínas e a presença de polímeros de *Maillard*, os quais interferem na digestibilidade das proteínas, diminuindo-a (MENDEZ *et al.*, 1992).

A textura é um dos atributos de qualidade mais importantes nos vegetais. (CHITARRA, 1990). O processo de irradiação apresenta como fator limitante o amolecimento dos tecidos dos alimentos, como quebra das fibras de feijões, podendo ocasionar perda de textura (URBAIN, 1986). Sendo assim, a análise sensorial do produto, assim como determinações laboratoriais do conteúdo de sólidos solúveis, são características importantes para avaliação dos melhores grãos. Quanto maior a porcentagem de sólidos solúveis, mais encorpado o caldo do feijão. Na maioria das regiões, o consumidor prefere um caldo grosso.

A avaliação da aceitação pelos consumidores é fundamental nos processos de desenvolvimento e melhoramento de produtos. Em análise sensorial, a escala hedônica de nove pontos é um dos métodos mais empregados como medida da aceitação. Neste método, o provador expressa sua aceitação pelo alimento seguindo uma escala previamente estabelecida, a qual varia gradativamente com base nos atributos “gosta e desgosta” (CARNEIRO, 2005; FERREIRA *et al.*, 2000; MARTINS *et al.*, 2007). Já na chamada escala do ideal, o provador indica, de preferência, a amostra que considera ideal quanto ao atributo analisado. As demais, ele avalia indicando o quão próximas elas se encontram desta amostra.

### 3 MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1 MATERIAL

A matéria-prima utilizada neste trabalho foi grãos de feijão-fradinho da marca Chinezinho, crus e coccionados, adquiridos no comércio local da cidade do Rio de Janeiro (RJ), em dezembro de 2006 e em setembro de 2007, sendo cada uma das cargas do mesmo lote.

Este cultivar pertence ao gênero *Vigna*, espécie *Vigna unguiculata*, grupo II, classe branco e subclasse fradinho. Os grãos são brancos com um grande halo preto, cultivados principalmente nos Estados da Bahia e do Rio de Janeiro, e atualmente em expansão na região Sudeste. Comercialmente, este feijão pertence ao grupo II, classe brancão, tipo 3 e possui validade de 6 meses (180 dias).

#### 3.2 MÉTODOS

##### 3.2.1 PROCESSO DE IRRADIAÇÃO

Após a aquisição da matéria-prima, o processo de irradiação foi realizado na Seção de Defesa Nuclear do Centro Tecnológico do Exército (CTEx), situado em Guaratiba (RJ). As doses de radiação empregadas nos grãos de feijão-fradinho embalados foram 0,5; 1,0; 2,5; 5,0 e 10kGy. O procedimento foi efetuado em duas etapas, uma em dezembro de 2006 e outra em setembro de 2007.

O irradiador de pesquisa utilizado (FIG. 3.1) é do tipo cavidade, com fonte de céσιο-137 autorecolhível, controlada por sistema eletro-eletrônico, com portas blindadas móveis. As duas câmaras têm dimensões de 138x37x19cm cada, sendo uma localizada acima e outra abaixo do plano da fonte. Tem capacidade de prover

simultaneidade nas duas câmaras, com volume total de cerca de 80L. O peso total de sua estrutura é de 19t (VITAL e VELLOZO, 1996).



FIG 3.1: Irradiador de pesquisa utilizado.

O irradiador é considerado de grande porte. Projetado e montado na *Brookhaven National Laboratory* (EUA) em 1969. A atividade inicial da fonte tinha o valor de  $3,99 \times 10^{15}$  Bq (108.000Ci). A atividade atual é de cerca de 45000Ci.

A fonte se apresenta na forma de duas hastes dispostas paralelamente, com 28 pastilhas de cloreto de césio-137, duplamente encapsuladas em aço inoxidável.

Produz taxas de doses entre 1,0 e 1,8kGy/h com boa uniformidade. A razão entre dose máxima e mínima é inferior a 20%.

O tempo de exposição é calculado considerando-se a atividade atual da fonte, a dose média desejada (Gy), o diâmetro ou altura máxima, densidade e geometria da amostra, a alta-atenuação e o fator de *Build-up* (VITAL e VELLOZO, 1996).

O irradiador possui ainda vários sistemas de segurança, os quais incluem dispositivos lógicos e travas fixas, que garantem o funcionamento seguro, eliminando qualquer possibilidade de exposição acidental à fonte (LIMA, 2003).

### 3.2.2 ANÁLISES

As análises de determinação dos teores de aminoácidos, de oligossacarídeos, de tiamina, de porcentagem fúngica, de potencial de toxidez e de aflatoxinas B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, G<sub>1</sub> e G<sub>2</sub> foram realizadas em laboratórios (acreditados pelo Inmetro) da Embrapa Agroindústria de Alimentos (CTAA), situada em Guaratiba (RJ). No Laboratório de Cromatografia Líquida foram realizadas as análises de determinação dos teores de aminoácidos, de oligossacarídeos e de tiamina. As análises de determinação de porcentagem fúngica, de potencial de toxidez de fungos isolados e de aflatoxinas B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, G<sub>1</sub> e G<sub>2</sub> foram realizadas no Laboratório de Micologia e Micotoxinas. A análise sensorial foi realizada no Laboratório de Controle Ambiental e Irradiação de Alimentos da Seção de Engenharia Nuclear (SE/7) do Instituto Militar de Engenharia.

A FIG. 3.2 mostra o fluxograma de processo do trabalho. Separou-se o material embalado adquirido em dois lotes, um controle (sem irradiação) e outro para ser irradiado. Após a irradiação, as amostras embaladas controle e irradiadas enviadas para o Laboratório de Cromatografia Líquida foram armazenadas em dessecador, até a realização das análises. As embalagens enviadas para o Laboratório de Micologia e Micotoxinas foram abertas em ambiente controlado (limpo e descontaminado). As amostras foram homogeneizadas e acondicionadas em sacos e potes plásticos estéreis devidamente identificados para cada experimento (FIG. 3.3). Foram separadas 3 alíquotas (100g) de cada tratamento para as análises micológicas e 3 alíquotas (300g) de cada tratamento para as análises de micotoxinas. Todo este procedimento foi realizado em câmara de fluxo laminar. As



amostras controle e irradiadas embaladas para a análise sensorial foram armazenadas em local seco até a realização da mesma.

As análises foram realizadas após o processo de irradiação (tempo zero ou  $t_0$ ) e durante o armazenamento de 30, 60 ou 180 dias ( $t_1$ ,  $t_2$  e  $t_6$ , respectivamente). Na preparação para as análises, a seleção compreende o isolamento de pedras, outros tipos de grãos, sujeiras, entre outros. A classificação envolve a obtenção de grãos uniformes.

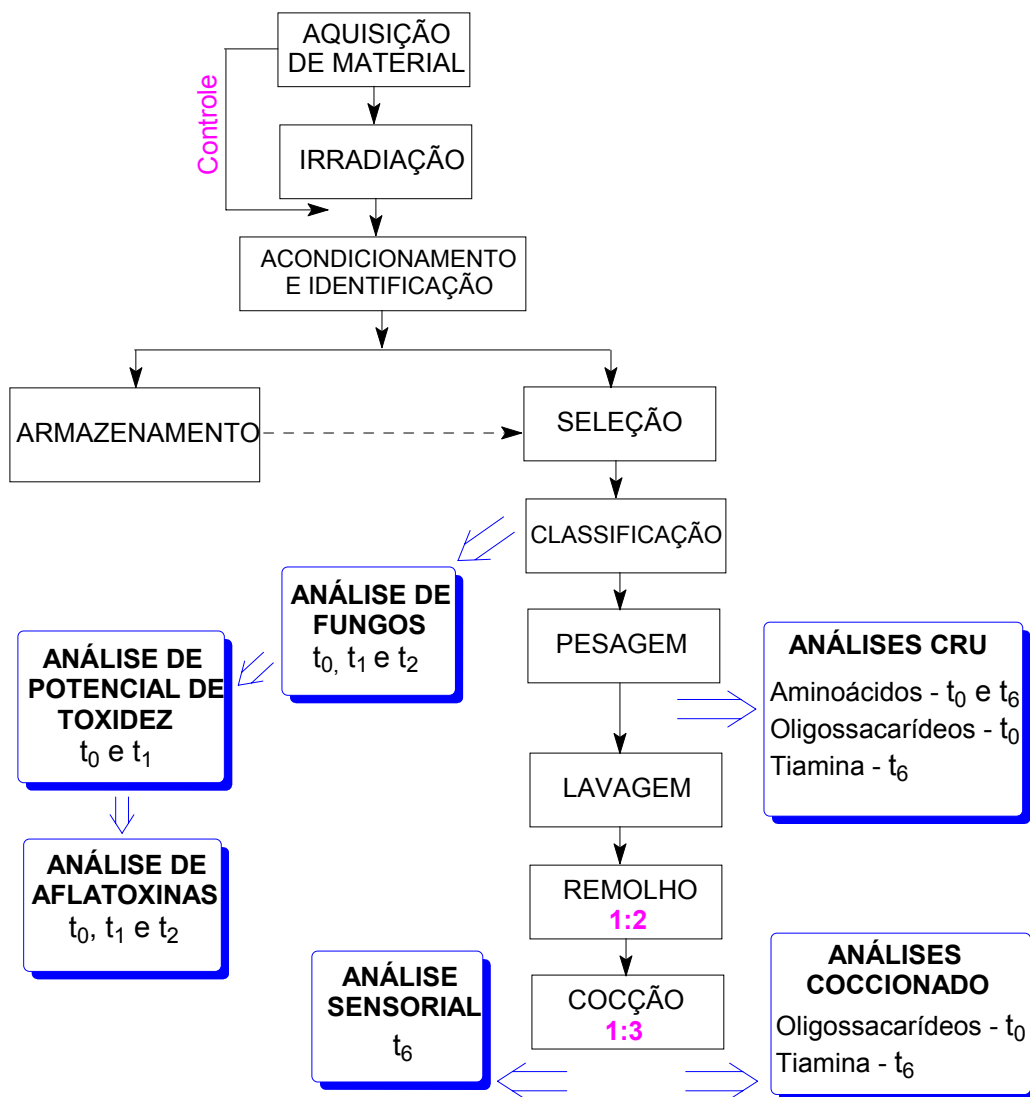


FIG. 3.2: Fluxograma de processo.

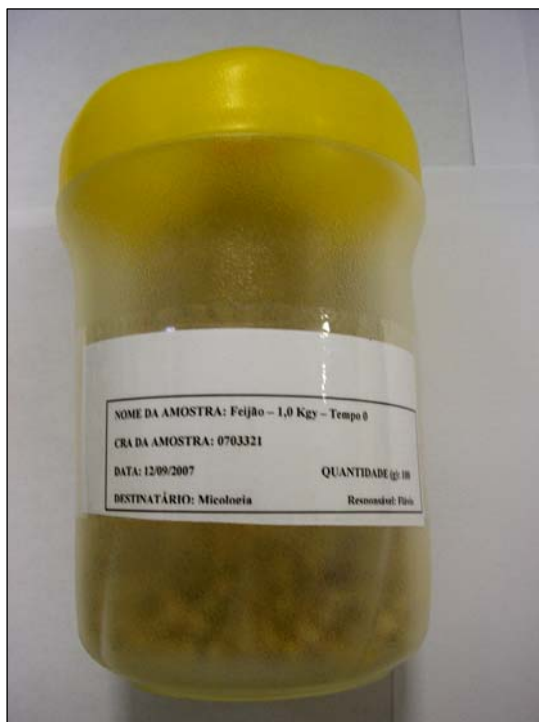


FIG. 3.3: Recipiente devidamente identificado para análises.

### 3.2.2.1 DETERMINAÇÃO DOS TEORES DE AMINOÁCIDOS

O objetivo desta análise foi avaliar o efeito das diferentes doses de radiação gama (0,5; 1,0; 2,5; 5,0 e 10kGy) nos teores de aminoácidos nos grãos de feijão-fradinho no tempo  $t_0$  (após a irradiação) e acompanhar os grãos durante um tempo de armazenamento de 6 meses ( $t_6$ ), efetuando novas análises.

#### 3.2.2.1.1 HIDRÓLISE

As amostras foram trituradas em moinho (Culatti) e peneiradas em peneira 30 mesh. Para serem desengorduradas, colocou-se 15g do farelo obtido em um tubo de digestão, adicionou-se éter de petróleo grau PA, até cobrir todo o farelo, e agitou-se

em agitador (Ultra-Turrax) à 14000rpm por 5min. Filtrou-se em funil de vidro com placa sinterizada. Transferiu-se o pó, já desengordurado, para copo plástico identificado e colocou-se em dessecador (Bellart Pequannock) por 48 horas. As amostras (preparadas em duplicata) secas, foram pesadas (15mg) em balança analítica (0,1mg) e hidrolisadas à ácido clorídrico 6M em ampola selada à vácuo. Após 24h em estufa à 110°C foram transferidas para balão volumétrico de 50mL e avolumadas, filtradas e centrifugadas por 10 minutos. Uma alíquota de 50µL foi mantida em dessecador até estar totalmente seca (24 horas). As amostras foram ressuspensas (20mM de HCl) e homogeneizadas em vórtex (Genie 2). Foram acrescentados 60µL de tampão borato pH 8,8 e 20µL de reagente AQC (6-aminoquinolyl-N-succinimidyl carbamate – AccQ Fluor Waters, lote 071125) para derivatização. Decorrido 1 minuto de reação, colocou-se em estufa a 55°C durante 10 minutos.

### 3.2.2.1.2 ANÁLISE DE AMINOÁCIDOS

A avaliação dos teores de aminoácidos (assim como de oligossacarídeos e de tiamina) foi realizada por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência – CLAE. A cromatografia é um processo de separação físico-químico, não implicando em reações químicas entre os compostos envolvidos. A aplicação da cromatografia possibilita análises qualitativa e quantitativa de uma amostra, permitindo separar constituintes de uma mistura através de sua distribuição por duas fases: uma estacionária e uma móvel, de acordo com as suas diferentes interações (SENTANIN e AMAYA, 2007).

Na cromatografia em coluna, quando a fase móvel é constituída por um líquido, temos a Cromatografia Líquida. A CLAE se desenvolveu muito nos últimos anos. Tem amplo campo de aplicação, baixo tempo de análise, alta resolução, boa análise qualitativa, resultados quantitativos e é versátil, analisando compostos orgânicos e inorgânicos, de baixa e alta massa molecular (CIOLA, 1998).

Os componentes básicos de um cromatógrafo líquido são reservatório, contendo a fase móvel, bomba, injetor, coluna cromatográfica, detector e registrador, para

aquisição de dados. A relação de componentes da fase móvel pode variar (cromatografia por gradiente de solvente) ou ser fixa (cromatografia isocrática). Três dos solventes mais utilizados são água, metanol e acetonitrila (SENTANIN e AMAYA, 2007).

Os detectores mais utilizados na CLAE são os fotométricos, os de fluorescência e os detectores por índice de refração, os quais se utilizam da diferença no índice de refração entre a fase móvel pura e o eluente que sai da coluna contendo os componentes da amostra (PERES, 2002).

Após receber os sinais provenientes do detector, os sistemas com software geram os cromatogramas com dados de área e altura dos picos, identificação da amostra e métodos. Os sistemas de CLAE são calibrados comparando-se as respostas dos picos obtidos com as respectivas concentrações de substâncias químicas de referência (PERES, 2002; CIOLA, 1998).

Uma das características mais importantes de um sistema cromatográfico é o tempo de retenção, definido como o tempo transcorrido entre a injeção da amostra e o máximo do pico cromatográfico, descontado do tempo morto (tempo de arraste entre a injeção da amostra e a sua passagem pelo detector).

A separação cromatográfica para a determinação dos teores de aminoácidos foi efetuada em um cromatógrafo líquido Waters, modelo Alliance 2695 (FIG. 3.4), com detector por fluorescência Waters 2475. O tempo de corrida foi de 40 minutos, com fluxo de 1mL/min e volume de injeção de 10µL. A fase móvel foi composta de gradientes de solução tampão acetato de sódio (A), acetonitrila (B) e água grau Milli-Q (C), conforme a TAB. 3.1. A coluna (Waters Nova-Pak C18 150,0 x 3,9mm; 4µm) foi mantida a 36°C. O software utilizado para a aquisição de dados foi o Empower (versão 2002).



FIG. 3.4: Sistema cromatográfico utilizado na análise de aminoácidos.

TAB. 3.1: Gradientes da fase móvel da análise de aminoácidos.

<b>Tempo (min)</b>	<b>% A</b>	<b>% B</b>	<b>% C</b>
0,00	100	0	0
0,50	99	1	0
18,0	95	5	0
19,0	91	9	0
29,5	83	17	0
33,0	0	60	40
36,0	100	0	0

### 3.2.2.2 DETERMINAÇÃO DOS TEORES DE OLIGOSSACARÍDEOS

O objetivo desta análise foi avaliar o efeito das diferentes doses de radiação gama (0,5; 1,0; 2,5; 5,0 e 10kGy) e o efeito combinado dos processos de cocção e

irradiação (dos grãos com doses de 1,0; 5,0 e 10,0kGy) nos teores de oligossacarídeos (rafinose, estaquiose e sacarose), nos grãos de feijão-fradinho no tempo  $t_0$  (após a irradiação).

Os grãos de feijão-fradinho controle e irradiados foram mantidos submersos em água na proporção 1:2 (grão:água) e, em seguida, cozidos por 10 minutos em pressão em água na proporção 1:3 (grão:água).

#### 3.2.2.2.1 MÉTODO DE EXTRAÇÃO

Os grãos, crus e cocionados, foram moídos e peneirados em peneira 30 mesh. As amostras (preparadas em duplicata) foram pesadas (1g) em balão volumétrico de 25mL, utilizando balança analítica (0,1mg). Adicionou-se água Milli-Q (10mL) e colocou-se em ultrassom (Branson 2210) por 20 minutos. Foram acrescentados 5mL de acetonitrila com proveta. Avolumou-se com água Milli-Q usando uma pipeta *Pasteur* para ajustar o volume. Transferiu-se a amostra para tubo de microcentrifuga de 2mL e centrifugou-se a 14.000rpm por 10min.

#### 3.2.2.2.2 ANÁLISE DE OLIGOSSACARÍDEOS

A injeção manual foi realizada em um sistema cromatográfico líquido Shimadzu, com detector por índice de refração Waters 2410. A fase móvel foi acetonitrila 70% em água para rafinose e estaquiose e 80% para sacarose. O fluxo e o tempo de corrida foram de 1mL/min e 18 minutos e de 1,3mL/min e 20 minutos para rafinose e estaquiose e sacarose, respectivamente. O volume de injeção foi 20 $\mu$ L. A coluna (Waters - Amina 300 x 4,6mm; 4 $\mu$ m) foi mantida à temperatura ambiente. O software utilizado para a aquisição de dados foi o Empower (versão 2002).

### 3.2.2.3 DETERMINAÇÃO DOS TEORES DE TIAMINA

O objetivo desta análise foi avaliar os efeitos de diferentes doses de radiação gama (0,5; 1,0; 2,5; 5,0 e 10,0kGy) e do processo combinado com a cocção (dos grãos com doses de 1,0; 5,0 e 10,0kGy) nos teores de tiamina em grãos de feijão-fradinho armazenados por 6 meses ( $t_6$ ).

Os grãos de feijão-fradinho controle e irradiados foram mantidos submersos em água na proporção 1:2 (grão:água). Para avaliação dos efeitos da combinação dos processos de irradiação e cocção, amostras de grãos controle e irradiados nas doses 1,0; 5,0 e 10,0kGy foram coccionadas na proporção 1:3 (grão:água), por 10 minutos em pressão.

#### 3.2.2.3.1 DERIVATIZAÇÃO PÓS-COLUNA

Para a detecção de tiamina realizou-se derivatização pós-coluna com ferricianeto de potássio alcalino. Os grãos foram triturados, peneirados em peneira 30 mesh e homogeneizados. As amostras (preparadas em duplicata) foram pesadas (1,5g) em erlenmeyer âmbar de 125mL. Adicionou-se 15mL de HCl 0,1M. Travou-se a tampa dos erlenmeyers, selou-se com *parafilm*, fita *crepe* e papel alumínio. Levou-se à autoclave (Phonix) por 30min à 121°C. Em seguida, as amostras foram resfriadas em banho de gelo. Adicionou-se 500µL de solução de acetato de sódio 2,5M até pH 4. Adicionou-se 150mg de enzima Takadiastase (Fluka Biochemika 135U/mg, lote 1206037) e fechou-se os erlenmeyers. Levou-se os erlenmeyers ao banho maria (Novatécnica) à 38°C com agitação por aproximadamente 16 horas. Depois de retiradas do banho maria, as amostras foram resfriadas à temperatura ambiente. Transferiu-se quantitativamente todo o conteúdo dos erlenmeyers para balão volumétrico âmbar de 100mL com HCl 0,1M. Avolumou-se os balões volumétricos com HCl 0,1M. Filtrou-se em papel de filtro rápido e separou-se aproximadamente 5mL de cada amostra para ser injetada. Centrifugou-se a

13.000rpm por 3min. Colocou-se as amostras em frascos do injetor e os frascos no suporte tipo carrossel. Colocou-se o suporte no interior do injetor automático.

#### 3.2.2.3.2 ANÁLISE DE TIAMINA

Programou-se a injeção via software Empower (versão 2002). Foi utilizado um sistema cromatográfico líquido Alliance Waters modelo 2695, com detector por fluorescência Waters 474. A fase móvel foi 60% hexanossulfonato de sódio e 40% metanol (eluição isocrática). O fluxo e o tempo de corrida foram de 1mL/min e 10min, respectivamente. O volume de injeção foi 20µL. A coluna (Waters Nova-Pak C18 150 x 4,6mm; 5µm) foi mantida à temperatura ambiente.

#### 3.2.2.4 ANÁLISE SENSORIAL

O objetivo da análise sensorial foi avaliar sensorialmente a salada de feijão-fradinho elaborada com grãos irradiados e armazenados por 6 meses ( $t_6$ ). Foram selecionados três tratamentos (1,0; 5,0 e 10,0kGy), além dos grãos controle, para a preparação da “salada de feijão-fradinho”.

Testes sensoriais de aceitação para julgamento dos atributos aparência e sabor e testes sensoriais de preferência para avaliação do atributo textura foram utilizados. Os testes envolveram 40 provadores não treinados, que responderam ao teste de aceitação utilizando uma escala hedônica e ao teste de preferência utilizando uma escala do ideal.



#### 3.2.2.4.1 COCÇÃO E PREPARAÇÃO DA SALADA DE FEIJÃO-FRADINHO

Os grãos de feijão-fradinho controle e irradiados foram mantidos por 12h submersos em água na proporção 1:2 (grão:água). Em seguida, a água do molho foi descartada (procedimento comumente adotado para reduzir os teores de agentes produtores de flatulência, além da cocção) e os grãos foram cozidos na proporção 1:3 (grão:água), por 10min em panela de pressão comum, sem a adição de cloreto de sódio, para não mascarar o sabor natural do alimento (FIG. 3.5). Uma ficha de preparação completa (cocção) do feijão-fradinho pode ser vista na FIG. 3.6.

Os ingredientes empregados na salada, manipulados de acordo com as Boas Práticas de Fabricação, foram selecionados e pesados seguindo a TAB. 3.2, com valores corrigidos pelos fatores de correção de cada alimento, disponíveis em TEIXEIRA e LUNA (1999). Tais fatores levam em consideração perdas inevitáveis no pré-preparo, como cascas, caroços, talos etc. O fator de correção é constante para cada alimento e é encontrado através da relação entre o peso bruto (alimento na forma em que é adquirido) e o peso líquido (alimento depois de limpo e pronto para ser utilizado). Em seguida, os ingredientes foram sanitizados em água clorada (FIG. 3.7), preparados e adicionados, na mesma proporção, aos grãos coccionados, de cada tratamento, para elaboração das saladas de feijão-fradinho.



FIG. 3.5: Cocção do feijão-fradinho. Na panela da esquerda, feijão irradiado com 5,0kGy; na panela da direita, feijão controle (sem irradiação).

#### FICHA DE PREPARAÇÃO

Procedimentos e técnica de preparo dos grãos de feijão-fradinho:

- 1 – Pesar 257,5g de feijão-fradinho.
- 2 – Retirar as sujidades do feijão. Lavar bem os grãos.
- 3 – Em recipiente higienizado, colocar o feijão com 500mL de água fria corrente e deixar de molho por 12 horas.
- 4 – Descartar a água do molho.
- 5 – Colocar o feijão na panela de pressão para cozinhar em 750mL de água fria.
- 6 – Realizar a cocção do feijão-fradinho na panela de pressão por 10 minutos. Verificar se o grão está macio, mas sem rompimento da casca.
- 7 – Deixar esfriar.

FIG. 3.6: Ficha de preparação (cocção) dos grãos de feijão-fradinho.

TAB. 3.2: Quantidades dos ingredientes da salada de feijão-fradinho.

<b>Ingrediente</b>	Feijão-fradinho	Cenoura	Tomate	Cebola	Azeite	Vinagre	Sal
<b>Quantidade</b>	257,5g	187,2g	93,6g	51,6g	40mL	40mL	8g



FIG. 3.7: Boas Práticas de Fabricação (BPF's).

#### 3.2.2.4.2 TESTES SENSORIAIS

Testes sensoriais de aceitação para julgamento dos atributos aparência e sabor e testes sensoriais de preferência para avaliação do atributo textura foram utilizados. Os testes envolveram 40 provadores não treinados, dentre funcionários, professores, pesquisadores e alunos do Instituto Militar de Engenharia, escolhidos aleatoriamente. Eles responderam ao teste de aceitação utilizando uma escala hedônica de nove pontos e ao teste de preferência utilizando uma escala do ideal. As fichas de análise entregues aos provadores podem ser vistas nos APÊNDICES 1 e 2.

As saladas foram servidas em copinhos plásticos transparentes, identificados com códigos de três números aleatórios, acompanhados de um copo de água. Foi

pedido aos provadores que lavassem a boca com água entre as provas. Uma bandeja de teste pode ser vista na FIG. 3.8.



FIG. 3.8: Bandeja de teste da análise sensorial.

#### 3.2.2.5 DETERMINAÇÃO DA PORCENTAGEM FÚNGICA

O objetivo desta análise foi avaliar a presença de *Aspergillus ochraceus*, *Aspergillus niger* e *Aspergillus flavus* nas amostras de feijão-fradinho controle e irradiadas na doses 0,5; 1,0; 2,5; 5,0 e 10,0kGy, nos tempos  $t_0$ ,  $t_1$  e  $t_2$  (após o processo de irradiação e transcorridos 30 e 60 dias, respectivamente).

##### 3.2.2.5.1 ANÁLISE DE PORCENTAGEM FÚNGICA

Preparou-se 40 placas *Petri* de tamanho médio (90 x 15mm) com meio de cultura AFPA (Base Oxoid, com 0,1g de Cloronfenicol Sigma) seletivo para *Aspergillus flavus* / *Aspergillus parasiticus* e 40 placas de tamanho médio com meio de cultura DG 18 (*Dichloran 18% Glycerol Agar*). Plaqueou-se 60 grãos de feijão-fradinho em 6 placas de AFPA e 60 grãos de feijão-fradinho em 6 placas de DG 18,

para cada um dos tratamentos (0,5; 1,0; 2,5; 5,0 e 10kGy), além do grupo controle, em cada tempo. Os grãos foram distribuídos uniformemente nas placas. Em seguida, incubaram-se as placas em estufa DBO (Demanda Biológica de Oxigênio - Eletrolab) mantida a 25°C com controle de umidade em 80% por 7 dias. Realizou-se acompanhamento diário das placas. Decorrido o tempo de 7 dias, identificaram-se e quantificaram-se visualmente (pela forma, coloração, filamentos entre outros aspectos) as colônias de fungos de *Aspergillus ochraceus*, *Aspergillus niger* e *Aspergillus flavus*, além de fungos dos gêneros *Penicilium*, *Fusarium* e *Rhizopus*, descritos como “outros”. Preencheu-se tabela de resultados.

### 3.2.2.6 POTENCIAL DE TOXIDEZ DE FUNGOS ISOLADOS

O objetivo desta análise foi identificar fungos potencialmente produtores de micotoxinas e medir seus respectivos potenciais de toxidez, nos tempos  $t_0$  e  $t_1$  (após o processo de irradiação e transcorridos 30 dias, respectivamente).

Utilizou-se a Técnica de *Plug Agar*, descrita por FILTENBORG e FRISVAD (1980). Para a identificação de aflatoxinas, utilizou-se Cromatografia de Camada Delgada – CCD. Na CCD, a fase estacionária é uma fina camada formada por um sólido granulado (sílica, alumina, etc.) depositado sobre uma placa de vidro ou outro suporte inerte. As amostras analisadas são depositadas em pequenas gotas na parte inferior da placa. A fase móvel, solvente ou mistura de solventes, sobe através da placa por capilaridade (PERES, 2002).

#### 3.2.2.6.1 ANÁLISE DE POTENCIAL DE TOXIDEZ DE FUNGOS ISOLADOS

Identificaram-se e isolaram-se os fungos *Aspergillus ochraceus* e *Aspergillus flavus* prováveis produtores de micotoxinas para tubo de ensaio com meio de cultura BDA (*Microbiologie Agar*). Após 7 dias de incubação em estufa DBO, repicou-se os fungos isolados nos tubos para placa de tamanho médio (90 x 15mm) contendo

meio de cultura YES (*Yeast Extract Sucrose Agar*), em três pontos distintos da placa, simulando os vértices de um triângulo equilátero. Incubaram-se, em seguida, as placas em estufa DBO por 7 dias. Cortou-se uma placa de sílica gel de CCD ao meio (10 x 22cm) e realizou-se as marcações. Ativou-se a placa em estufa a 80°C por uma hora. Retirou-se um disco de micélio (4mm) e transferiu-se para a placa, sob fluxo laminar (Veco). Aplicou-se 10µL de padrão de micotoxinas nos pontos indicados. Eluiu-se a placa em cuba com solvente (solução de éter:metanol:água – 96:3:1). Logo após, realizou-se a leitura no cromatovisor (cabine de ultravioleta – UV) a 366nm. A identificação de micotoxinas B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, G<sub>1</sub> e G<sub>2</sub> foi confirmada visualmente pela presença de pontos com fluorescência nas cores azul para B<sub>1</sub> e B<sub>2</sub> e verde para G<sub>1</sub> e G<sub>2</sub> em posições similares as dos padrões aplicados como referência. Preencheu-se tabela de resultados.

### 3.2.2.7 DETERMINAÇÃO DE AFLATOXINAS B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, G<sub>1</sub> E G<sub>2</sub>

O objetivo desta análise foi identificar e quantificar aflatoxinas B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, G<sub>1</sub> e G<sub>2</sub> presentes nos grãos de feijão-fradinho controle e irradiados, nos tempos t<sub>0</sub>, t<sub>1</sub> e t<sub>2</sub> (após o processo de irradiação e transcorridos 30 e 60 dias, respectivamente).

#### 3.2.2.7.1 EXTRAÇÃO DE AFLATOXINAS

As amostras foram moídas em *Blender* (Waring Commercial) em velocidade 4 por aproximadamente 5min. Pesou-se 50g de amostra (preparada em duplicata) moída. Adicionou-se 30mL de cloreto de potássio (KCl) 4% e 270mL de metanol e misturou-se o sistema em *Blender* em velocidade 4 por aproximadamente 5min. Filtrou-se o sistema em papel de filtro qualitativo e recolheu-se 150mL em proveta graduada de 250mL. Transferiu-se para bécher de 600mL, tudo sob capela.

### 3.2.2.7.2 PURIFICAÇÃO DE AFLATOXINAS

Adicionou-se lentamente ao bécher 150mL de clarificante sulfato de cobre 10%, agitando-se com bastão de vidro, sob capela. Após precipitação de material floculado, adicionou-se 15g de celite e agitou-se com bastão de vidro. Aguardou-se nova precipitação e filtrou-se em papel de filtro qualitativo, recolhendo-se 100mL do filtrado em proveta graduada de 100mL. Transferiu-se para um funil de separação de 500mL. Adicionou-se, previamente, 150mL de água destilada. Adicionou-se 50mL de hexano, agitou-se manual e vigorosamente por 1min. Aguardou-se pela separação das camadas e descartou-se a fração hexânica (superior) após a remoção da fase aquosa para um bécher pela torneira. Retornou-se com a fase aquosa para o funil de separação e repetiu-se a operação. Adicionou-se 10mL de clorofórmio ao funil e agitou-se mecanicamente por 5min em *Shaker* (MS Mistura). Aguardou-se a separação das camadas. Recolheu-se, em seguida, a camada clorofórmica (inferior) em tubo com rosca âmbar. Repetiu-se a operação, recolhendo-se no mesmo tubo. Evaporou-se o extrato sob nitrogênio em banho maria a 40°C e guardou-se o extrato sob refrigeração até o dia seguinte, para análise.

### 3.2.2.7.3 ANÁLISE DE AFLATOXINAS

Dissolveu-se o resíduo seco em 300µL de solução de tolueno:acetoneitrila (90:10) e agitou-se em vórtex, por 30s, tudo sob capela. Cortou-se uma placa de sílica gel ao meio (10 x 22cm) e realizou-se as marcações, conforme esquema da FIG. 3.9, para aplicações da amostra e dos padrões. Ativou-se a placa, colocando em estufa a 80°C por 1 hora. Aplicou-se 10µL do extrato purificado e volumes de 1µL a 9µL da solução padrão trabalho de aflatoxinas B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, G<sub>1</sub> e G<sub>2</sub> nos seus respectivos pontos na placa de sílica gel ativada conforme descrito acima. Os pontos de aplicação ficaram afastados 1,5cm das extremidades e entre si, para evitar interferências. Eluiu-se a placa em cuba não saturada com solução de éter:metanol:água (96:3:1), tomando cuidado para não ultrapassar o limite da corrida. Corrida na placa “deitada”

(a). Aguardou-se a placa secar dentro da capela por alguns minutos. A placa ficou protegida de umidade e luzes fluorescente e solar. Eluiu-se a placa na cuba não saturada com a solução de clorofórmio:acetona (90:10), tomando cuidado para não ultrapassar o limite da corrida. Corrida na placa “em pé” (b). Repetiu-se os procedimentos anteriores de corrida na placa “em pé” para o outro lado da placa não eluída. Aguardou-se novamente a placa secar dentro da capela. Levou-se a placa para o cromatovisor, acendeu-se a lâmpada de UV (365nm), apagou-se a luz do laboratório e realizou-se a leitura. A identificação de aflatoxinas B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, G<sub>1</sub> e G<sub>2</sub> foi confirmada visualmente pela presença de pontos com fluorescência nas cores azul e verde em posições (1 e 2) similares a dos padrões aplicados como referência. No caso de presença confirmada, a quantidade de aflatoxinas é determinada pela intensidade de fluorescência quando comparada com a quantidade de padrões aplicados na placa.

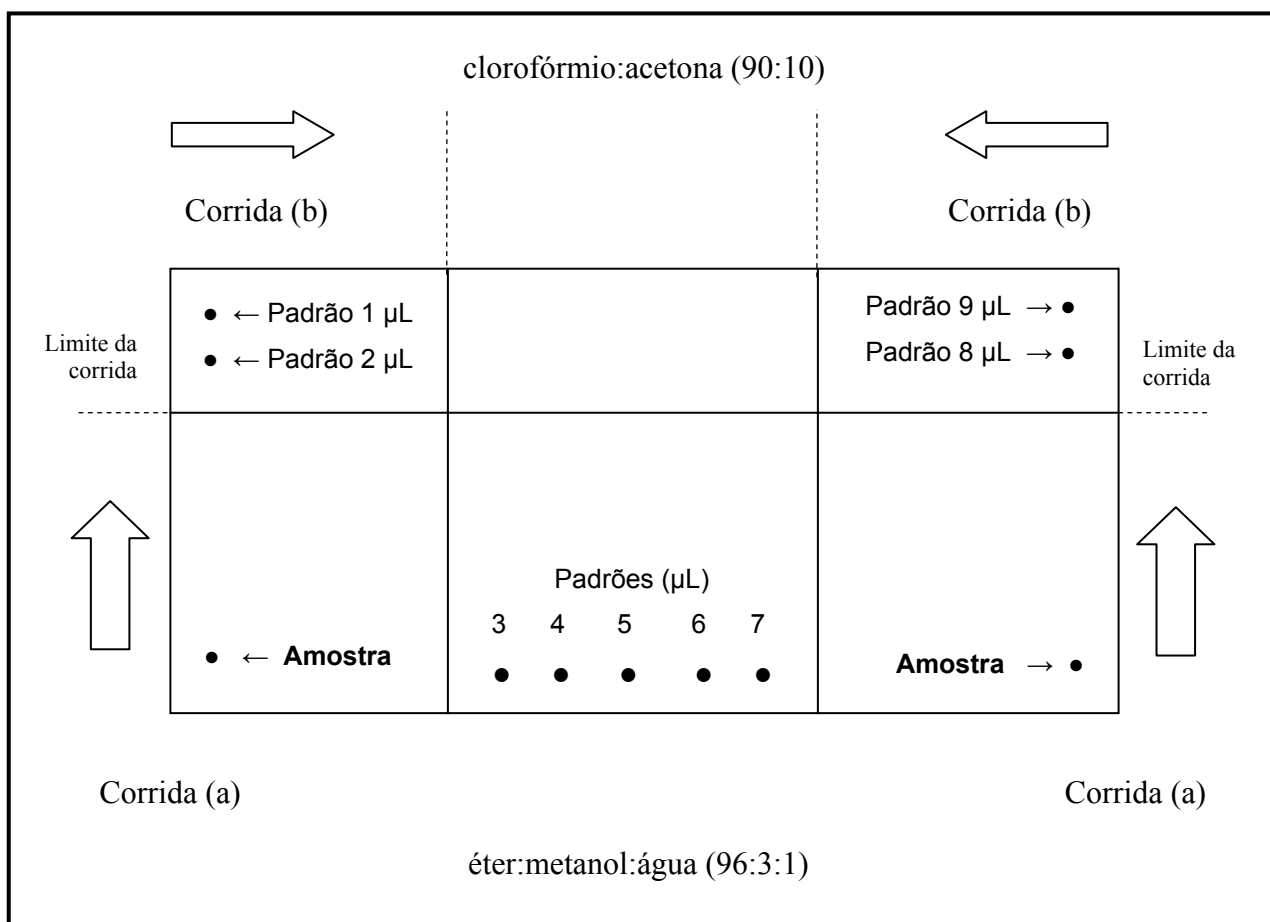


FIG. 3.9: Esquema da placa de sílica gel, com as marcações.



### 3.2.3 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os resultados obtidos de aminoácidos e oligossacarídeos foram submetidos à análise de variância (ANOVA de Fator Único – *Single Factor*), assumindo-se populações normais e uma variância da população comum para os k grupos, em *Microsoft Office Excel 2003*. Utilizou-se nível de confiança de 95% ( $\alpha = 5\%$ ). A análise estatística dos teores encontrados para o aminoácido fenilalanina pode ser vista no APÊNDICE 3, como exemplo de tratamento estatístico.

Para identificar médias que diferiram significativamente (5%) na ANOVA, empregou-se o *Tukey Test* (Comparações Múltiplas), assumindo-se variâncias iguais. Para identificar médias iguais ou diferentes contidas em uma mesma tabela empregaram-se letras, como “a” ou “b”.

Os resultados de tiamina foram submetidos à Análise de Variância para Dois Fatores (Análise Fatorial de Variância), a qual examina simultaneamente o efeito de mais de um fator. Os dois fatores examinados foram “dose de radiação” e “coccionado ou não-coccionado”. Utilizou-se nível de confiança de 95%.

Para a análise estatística dos resultados obtidos na análise sensorial foi aplicado o teste de hipótese t-Student para 2 amostras, assumindo que elas provêm de populações normais com variâncias iguais e nível de significância de 5% (ZAR, 1996).

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 DETERMINAÇÃO DOS TEORES DE AMINOÁCIDOS

A avaliação dos teores de 15 aminoácidos, entre os quais aminoácidos essenciais, como valina, leucina, isoleucina, fenilalanina, treonina, lisina e histidina, em grãos de feijão-fradinho por CLAE mostrou que não houve diferença significativa, para um nível de 5%, entre os diferentes tratamentos e a amostra controle, até com a dose máxima de 10kGy. Até mesmo os teores dos aminoácidos mais sensíveis aos efeitos dos raios gama, como os aromáticos e os de cadeia lateral básica, foram mantidos, como mostra a TAB. 4.1, que apresenta os resultados do tempo  $t_0$ , ou seja, após a irradiação (LIMA *et al.*, 2007a).

Estes resultados preliminares indicam que se pode usar a irradiação para minimizar perdas de grãos utilizando diferentes doses, sem mudanças nos teores de aminoácidos, até mesmo após um tempo de armazenamento de 6 meses ( $t_6$ ), como pode ser visto pela TAB. 4.2.

As FIG. 4.1, FIG. 4.2 e FIG. 4.3 mostram os cromatogramas obtidos por CLAE das amostras controle e das amostras irradiadas com doses de 1,0 e 10,0kGy, respectivamente, para o caso do tempo  $t_0$ . As FIG. 4.4 e FIG. 4.5 mostram os cromatogramas obtidos por CLAE da amostra controle e da amostra irradiada com dose de 2,5kGy, respectivamente, para o caso do tempo  $t_6$ , mostrando que não há alteração nos teores de aminoácidos. A ordem de apresentação dos picos nas figuras segue a seqüência de aminoácidos das TAB. 4.1 e TAB. 4.2.

TAB. 4.1: Valores médios obtidos de teores de aminoácidos (g/100g) em grãos de feijão-fradinho após aplicações de diferentes doses (kGy) de radiação ( $t_0$ ).

Dose (kGy)	Aminoácido*															
	Asp	Ser	Glu	Gli	His	Arg	Tre	Ala	Pro	Tir	Val	Lis	Iso	Leu	Fen	Total
0,0	2,17	0,84	3,28	0,81	0,90	1,92	0,85	0,87	1,07	0,90	1,10	1,51	1,01	1,66	1,30	20,17
0,5	2,33	0,87	3,46	0,82	0,83	1,93	0,85	0,86	0,91	0,74	1,08	1,50	1,00	1,65	1,28	20,08
1,0	2,21	0,84	3,28	0,76	0,78	1,82	0,80	0,80	0,83	0,70	1,02	1,42	0,95	1,56	1,21	18,94
2,5	2,16	0,83	3,24	0,79	0,79	1,80	0,80	0,80	0,90	0,74	1,03	1,46	0,94	1,55	1,21	18,98
5,0	2,12	0,84	3,18	0,81	0,81	1,87	0,80	0,81	0,93	0,80	1,04	1,45	0,95	1,57	1,25	19,19
10,0	2,22	0,86	3,35	0,82	0,91	1,92	0,87	0,88	1,08	0,91	1,12	1,56	1,02	1,63	1,30	20,40

\*Aminoácidos: Ácido aspártico (Asp); Serina (Ser); Ácido glutâmico (Glu); Glicina (Gli); Histidina (His); Arginina (Arg); Treonina (Tre); Alanina (Ala); Prolina (Pro); Tirosina (Tir); Valina (Val); Lisina (Lis); Isoleucina (Iso); Leucina (Leu); Fenilalanina (Fen).

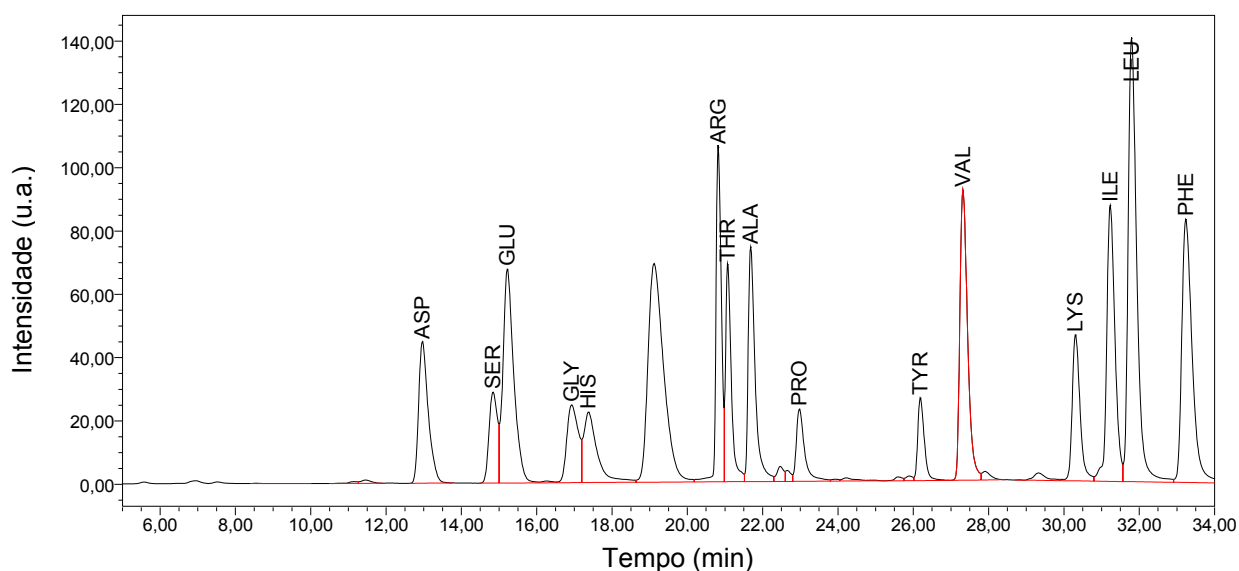


FIG. 4.1: Cromatograma da amostra controle de feijão-fradinho mostrando os teores de aminoácidos (após a irradiação).

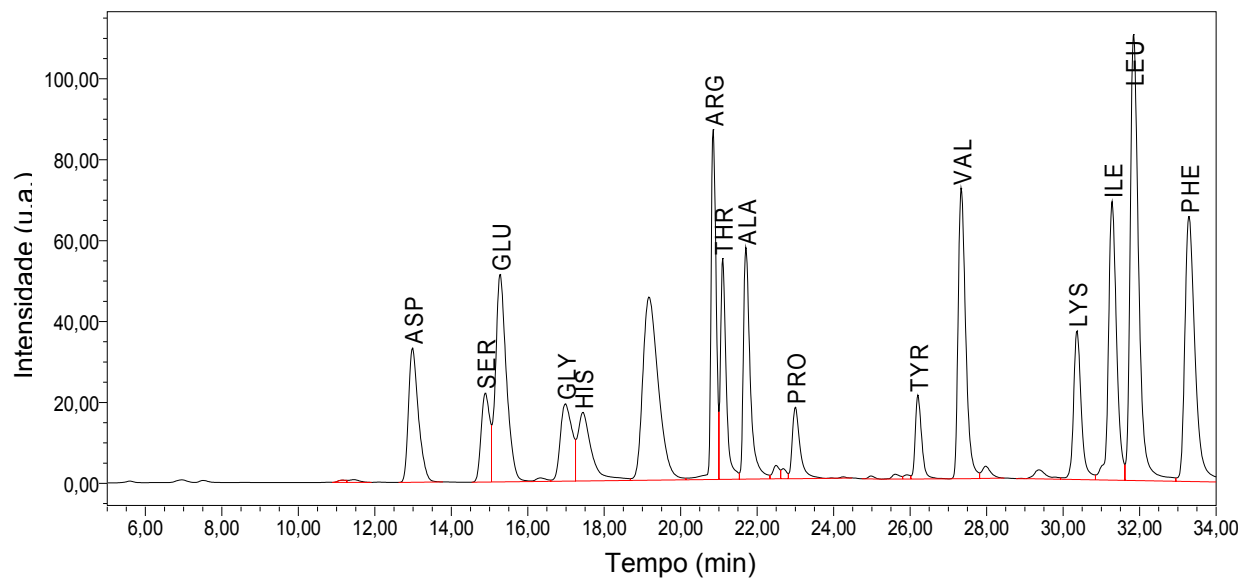


FIG. 4.2: Cromatograma da amostra irradiada com dose de 1kGy mostrando os teores de aminoácidos (após a irradiação).

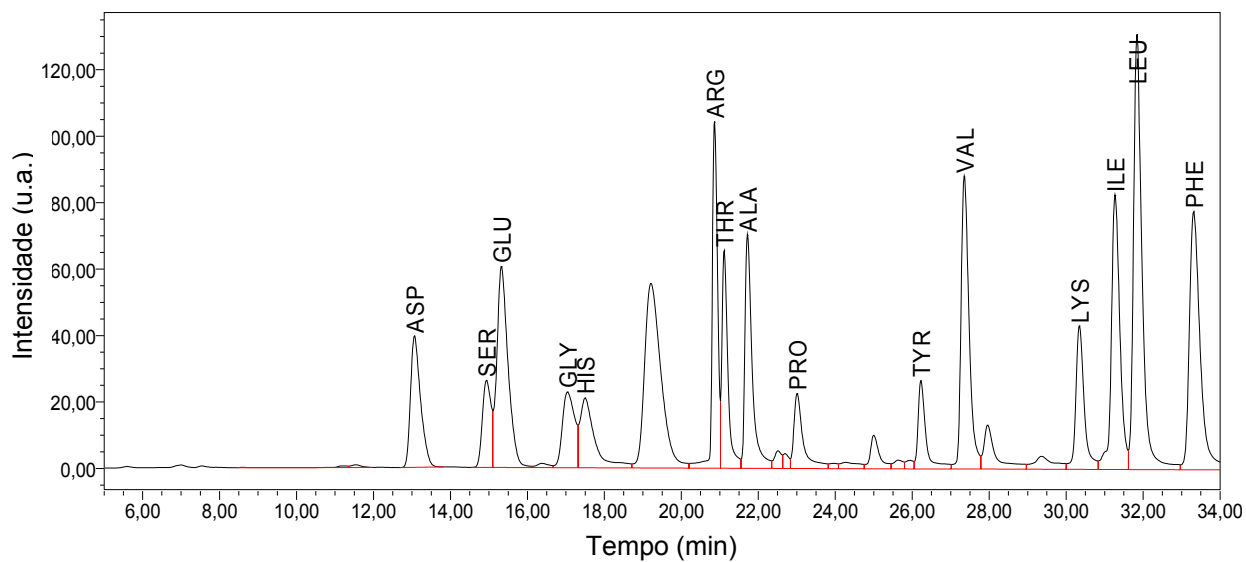


FIG. 4.3: Cromatograma da amostra irradiada com dose de 10,0kGy mostrando os teores de aminoácidos (após a irradiação).

TAB. 4.2: Valores médios obtidos de teores de aminoácidos (g/100g) em grãos de feijão-fradinho após aplicações de diferentes doses (kGy) de radiação ( $t_6$ ).

Dose (kGy)	Aminoácido*															
	Asp	Ser	Glu	Gli	His	Arg	Tre	Ala	Pro	Tir	Val	Lis	Iso	Leu	Fen	Total
0,0	2,20	1,01	2,87	0,95	0,84	1,94	0,93	0,92	0,95	1,15	1,09	1,69	0,96	1,58	1,17	20,23
1,0	2,17	0,99	3,17	0,89	0,88	1,86	0,84	0,88	0,95	0,83	1,04	1,44	1,04	1,57	1,29	19,49
2,5	2,58	0,93	3,48	0,89	0,95	1,93	0,82	0,94	1,09	0,96	1,17	1,63	1,02	1,77	1,32	21,43
5,0	2,58	0,85	3,16	0,97	1,02	2,06	0,78	0,98	1,11	1,18	1,25	1,50	1,07	1,72	1,29	21,49
10,0	2,48	0,91	3,62	0,85	0,89	1,89	0,88	0,89	0,93	0,91	1,16	1,54	0,97	1,74	1,28	20,77

\*Aminoácidos: Ácido aspártico (Asp); Serina (Ser); Ácido glutâmico (Glu); Glicina (Gli); Histidina (His); Arginina (Arg); Treonina (Tre); Alanina (Ala); Prolina (Pro); Tirosina (Tir); Valina (Val); Lisina (Lis); Isoleucina (Iso); Leucina (Leu); Fenilalanina (Fen).

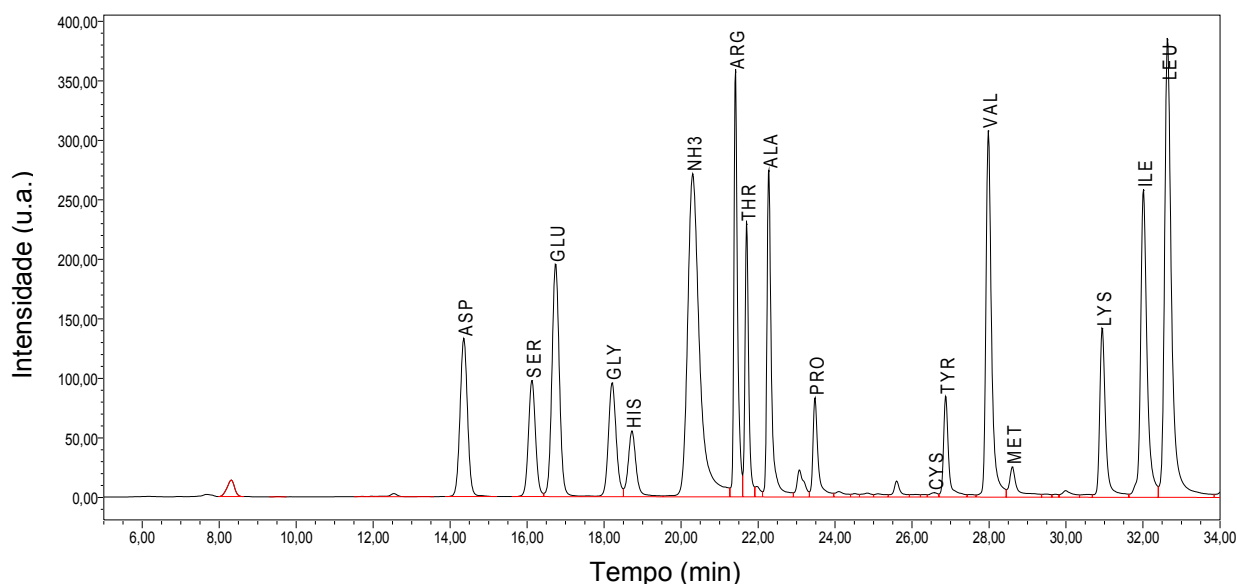


FIG. 4.4: Cromatograma da amostra controle de feijão-fradinho mostrando os teores de aminoácidos (após 6 meses de armazenamento).

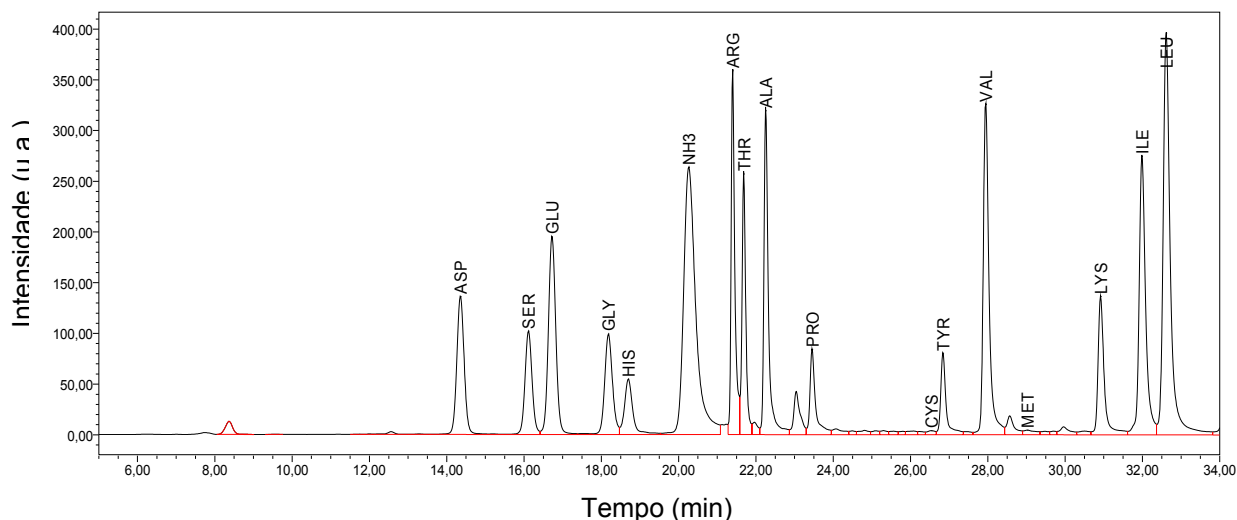


FIG. 4.5: Cromatograma da amostra irradiada com dose de 2,5kGy mostrando os teores de aminoácidos (após 6 meses de armazenamento).

## 4.2 DETERMINAÇÃO DOS TEORES DE OLIGOSSACARÍDEOS

Os valores médios obtidos por CLAE dos oligossacarídeos rafinose, estaquiose e sacarose encontrados no feijão-fradinho estão listados na TAB. 4.3. Os resultados mostram que não houve alteração significativa, para um nível de 5%, entre os grãos crus controle e com diferentes doses de radiação, até com 10kGy (LIMA *et al.*, 2007b). Os teores de oligossacarídeos encontrados são similares aos valores encontrados por OLIVEIRA *et al.* (2001). A FIG. 4.6 mostra um cromatograma de padrão de rafinose e estaquiose. Um cromatograma de amostra controle de feijão-fradinho cru, mostrando os tempos de retenção da rafinose e da estaquiose iguais aos tempos de retenção do padrão, é apresentado na FIG. 4.7.

TAB. 4.3: Valores médios obtidos de teores de oligossacarídeos (g/100g) em grãos de feijão-fradinho crus após aplicações de diferentes doses (kGy) de radiação.

Oligossacarídeo (g/100g)	Dose (kGy)					
	0,0	0,5	1,0	2,5	5,0	10,0
<b>Rafinose</b>	0,37 <sup>a</sup>	0,40 <sup>a</sup>	0,41 <sup>a</sup>	0,38 <sup>a</sup>	0,39 <sup>a</sup>	0,44 <sup>a</sup>
<b>Estaquiose</b>	3,64 <sup>a</sup>	3,41 <sup>a</sup>	3,34 <sup>a</sup>	3,41 <sup>a</sup>	3,31 <sup>a</sup>	3,60 <sup>a</sup>
<b>Sacarose</b>	3,40 <sup>a</sup>	3,21 <sup>a</sup>	3,19 <sup>a</sup>	2,89 <sup>a</sup>	3,60 <sup>a</sup>	4,26 <sup>a</sup>

a – não há diferença significativa para um nível de 5%.

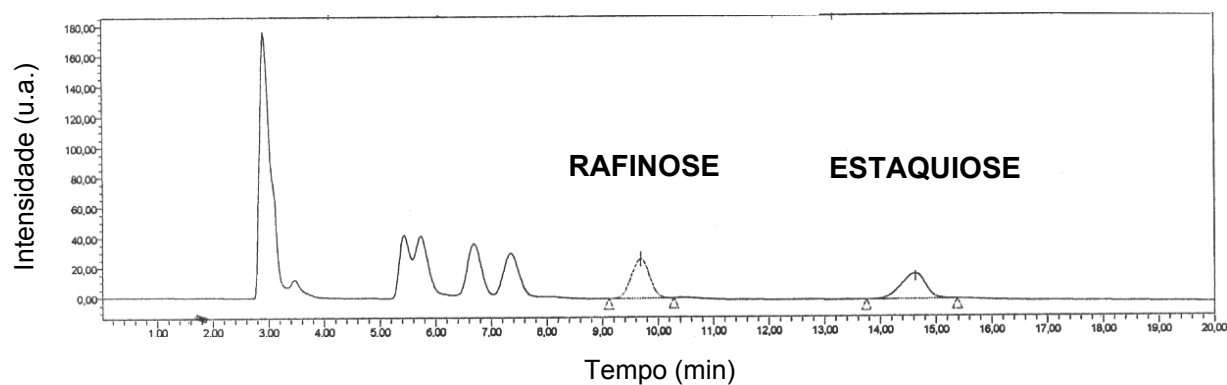


FIG. 4.6: Cromatograma de padrão de rafinose e estaquiose.

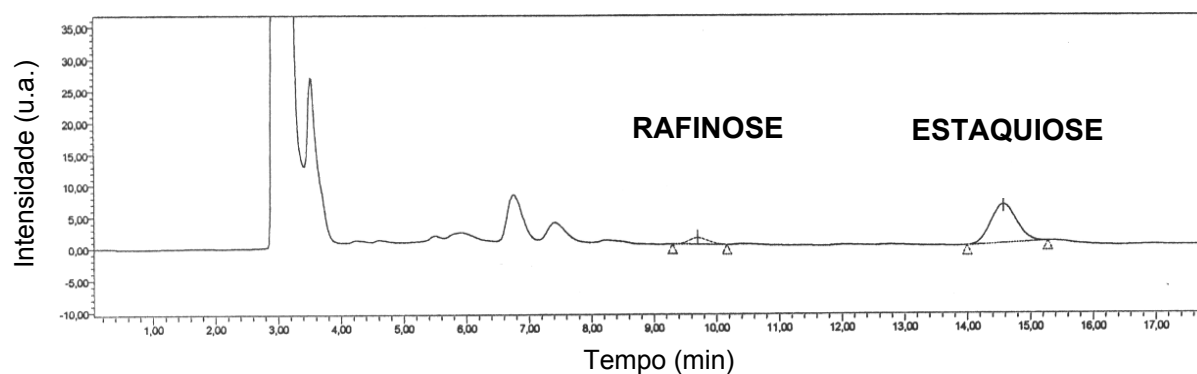


FIG. 4.7: Cromatograma de amostra controle de feijão-fradinho cru mostrando os teores de rafinose e estaquiose.

Na TAB. 4.4 estão listados os valores médios obtidos para os teores de oligossacarídeos encontrados nos grãos de feijão-fradinho controle e irradiados coccionados. Com respeito aos valores médios destes oligossacarídeos, houve redução significativa das amostras irradiadas em relação às amostras controle somente para rafinose e estaquiase, ou seja, a combinação dos processos de cocção e irradiação ocasionou redução dos teores dos oligossacarídeos causadores de flatulência, dor e desconforto abdominal, significando um real benefício para os consumidores. Esta redução foi mais intensa para 5,0 e 10,0kGy. Para sacarose, não houve diferença significativa entre as amostras controle e com diferentes doses de radiação, para um nível de 5% (LIMA *et al.*, 2007b).

TAB. 4.4: Valores médios obtidos de teores de oligossacarídeos (g/100g) em grãos de feijão-fradinho cozidos após aplicações de diferentes doses (kGy) de radiação.

Oligossacarídeo (g/100g)	Dose (kGy)			
	0,0	1,0	5,0	10,0
<b>Rafinose</b>	0,09 <sup>a</sup>	0,09 <sup>a</sup>	0,05 <sup>b</sup>	0,03 <sup>b</sup>
<b>Estaquiase</b>	0,57 <sup>a</sup>	0,53 <sup>a</sup>	0,48 <sup>b</sup>	0,22 <sup>b</sup>
<b>Sacarose</b>	0,19 <sup>a</sup>	0,16 <sup>a</sup>	0,18 <sup>a</sup>	0,17 <sup>a</sup>

a – não há diferença significativa para um nível de 5%.

b – há diferença significativa para um nível de 5%.

Em comparação com os feijões crus, ocorreu redução significativa nos teores dos oligossacarídeos nos feijões cozidos, de uma forma geral. Observou-se redução de rafinose (7-24%), estaquiase (6-16%) e sacarose (5-6%). A FIG. 4.8 mostra um cromatograma com os tempos de retenção da rafinose e da estaquiase de amostra de feijão-fradinho cozido e irradiado com 1,0kGy .

O efeito combinado dos processos de cocção e irradiação, levando a redução dos teores de rafinose e estaquiase, pode ser atribuído à difusão dos componentes dos grãos para as águas de remolho e de cocção devido ao aumento da hidrossolubilidade destes oligossacarídeos pela irradiação, o que significa um real benefício para os consumidores.



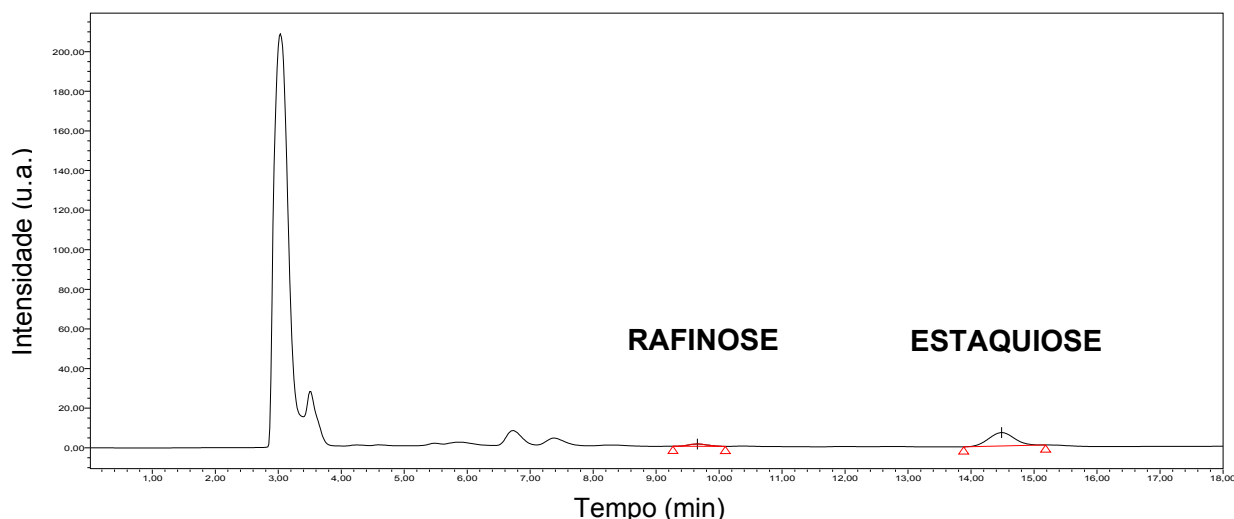


FIG. 4.8: Cromatograma de amostra de feijão-fradinho cozido e irradiado com 1,0kGy mostrando os teores de rafinose e estaquiose.

#### 4.3 DETERMINAÇÃO DOS TEORES DE TIAMINA

A avaliação dos teores de tiamina por CLAE mostrou que não houve diferença significativa, para um nível de 5%, entre as amostras controle e com diferentes doses de radiação, tanto para os feijões crus quanto para os coccionados, como pode ser visto pela TAB. 4.5 (SOUZA *et al.*, 2007a). Os valores médios para as amostras foram semelhantes aos encontrados por VILLAVICENCIO *et al.* (2000).

O fato de a tiamina ter se mantido em grãos irradiados pode ser atribuído à ação protetora dos outros componentes alimentares presentes nos grãos de feijão-fradinho (matriz alimentar).

Entretanto, grãos submetidos à cocção, grupo controle e irradiados, sofreram redução significativa do conteúdo de tiamina, alcançando perdas de até 72% (TAB. 4.6), confirmando que é uma vitamina termossensível, isto é, a cocção é um processo agressivo na deterioração desta vitamina. A FIG. 4.9 apresenta o cromatograma obtido por CLAE da amostra de feijão-fradinho cru e irradiado com 5,0kGy, mostrando o pico e o tempo de retenção da tiamina.

A Análise de Variância para Dois Fatores realizada como tratamento estatístico mostrou também que não existe interação entre “dose de radiação” e “coccionado ou não-coccionado”, para um nível de 5%, ou seja, o fator “coccionado ou não coccionado” não influencia o fator “dose de radiação” e vice-versa.

TAB. 4.5: Teores médios de tiamina (mg/100g) em grãos de feijão-fradinho crus e coccionados após aplicação de diferentes doses de radiação (kGy).

Dose (kGy)	Teor de B <sub>1</sub> (mg/100g)	
	Cru	Cozido
0,0	0,41 <sup>a</sup>	0,13 <sup>C</sup>
0,5	0,39 <sup>a</sup>	x
1,0	0,38 <sup>a</sup>	0,13 <sup>C</sup>
2,5	0,42 <sup>a</sup>	x
5,0	0,36 <sup>a</sup>	0,12 <sup>C</sup>
10,0	0,44 <sup>a</sup>	0,12 <sup>C</sup>

a – não há diferença significativa para um nível de 5%.

c - não há diferença significativa para um nível de 5%.

x – não foi realizada cocção.

TAB. 4.6: Percentagens de redução dos teores de tiamina causados pela cocção.

Dose (kGy)	Redução (%)
0,0	68,7
1,0	64,5
5,0	67,4
10,0	72,3

A FIG. 4.10 mostra, graficamente, os teores de tiamina obtidos por CLAE de grãos de feijão-fradinho controle e irradiados, crus e coccionados. Neste gráfico, observa-se claramente que o teor de tiamina é muito reduzido pelo processo de

cozção, enquanto que entre as amostras controle e irradiadas não há mudanças significativas.

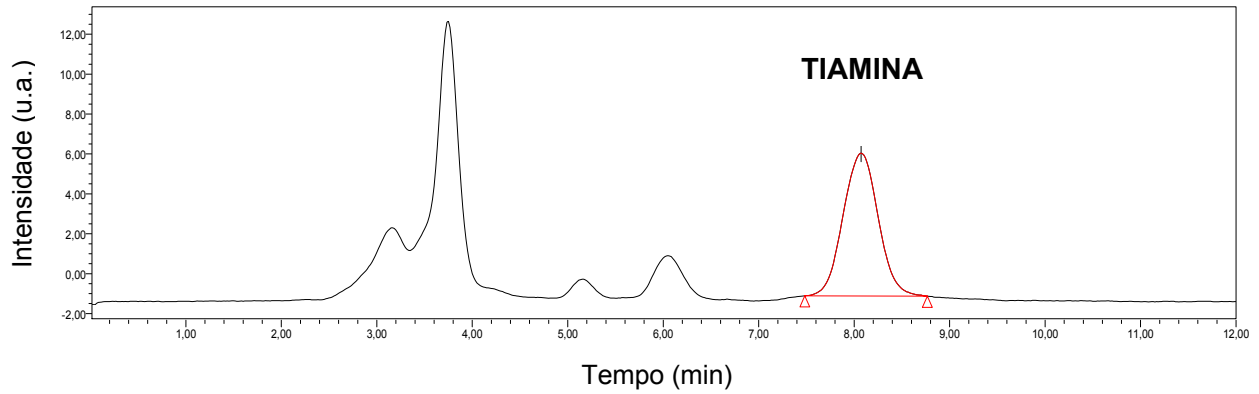


FIG. 4.9: Cromatograma de amostra de feijão-fradinho cru e irradiado com 5,0kGy mostrando o teor de tiamina.

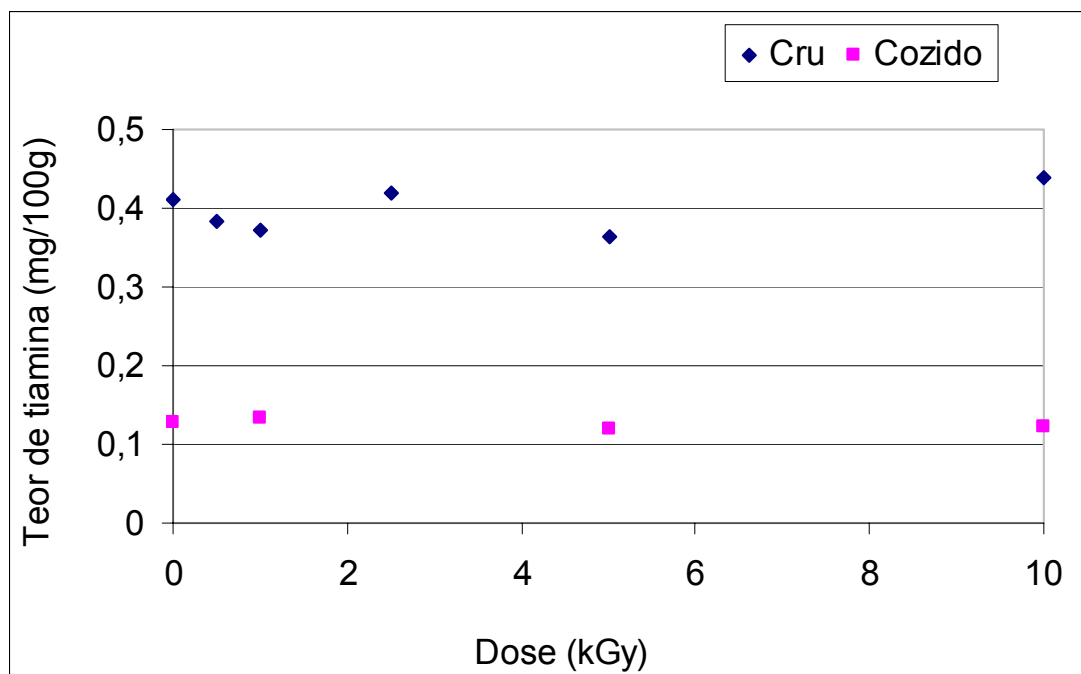


FIG. 4.10: Gráfico dos teores de tiamina das amostras cruas e cozidas.

#### 4.4 ANÁLISE SENSORIAL

Na análise sensorial, considerando notas de 1 a 9 (de desgostei extremamente até gostei extremamente), os atributos aparência e sabor obtiveram médias de 6,0 e 6,5, respectivamente. O limite inferior estabelecido como critério de aceitação do produto foi a média 5,0. Desta forma, as saladas de feijão-fradinho preparadas com grãos coccionados controle e irradiados manipulados de acordo com as Boas Práticas de Fabricação foram consideradas aceitas e, de acordo com o teste *t-Student* para um nível de significância de 5%, não foi percebida diferença significativa entre os produtos (FIG. 4.11) (SOUZA *et al.*, 2007b).

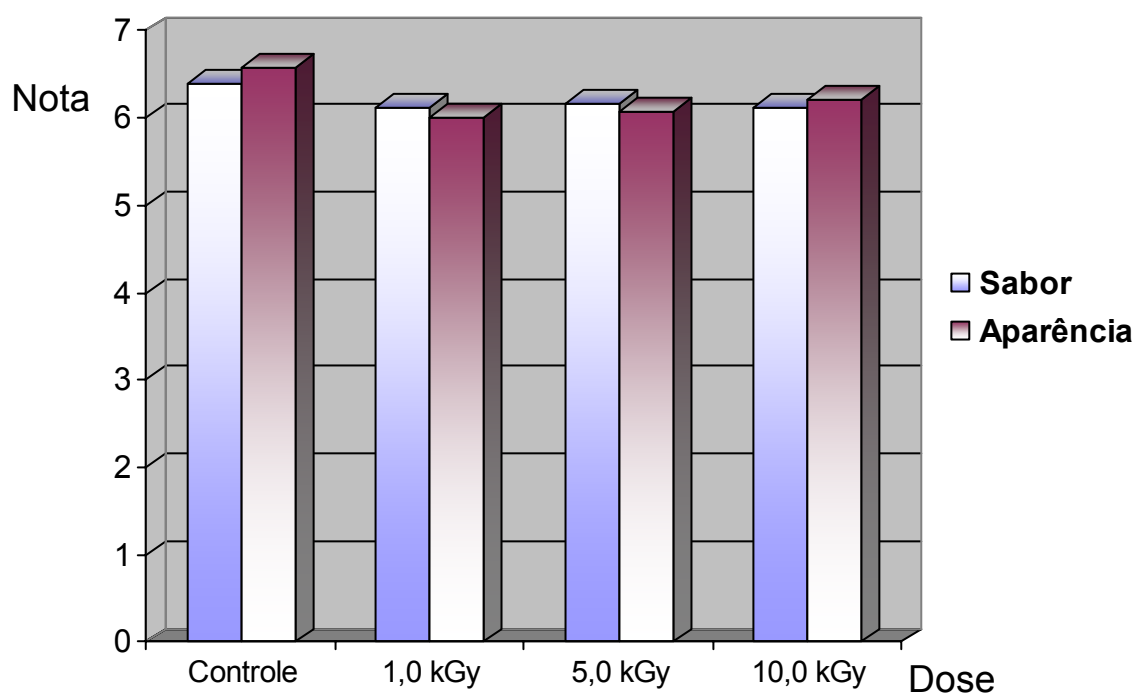


FIG. 4.11: Resultados médios obtidos para os atributos sabor e aparência das saladas de feijão-fradinho.

A FIG. 4.12 apresenta os resultados médios obtidos para o atributo textura das saladas de feijão-fradinho a partir de regressão linear das notas atribuídas pelos provadores. À amostra considerada ideal é atribuída a nota zero. Uma nota acima de zero significa mais macio na escala. Observa-se, portanto, que grãos irradiados tornaram-se mais macios que grãos controle. O tempo de cocção foi igual para todos os tratamentos. Sendo assim, os resultados indicam que grãos irradiados poderiam ser coccionados em menor tempo, economizando energia e conservando mais os macronutrientes e as vitaminas, pois muitos se perdem com o calor.

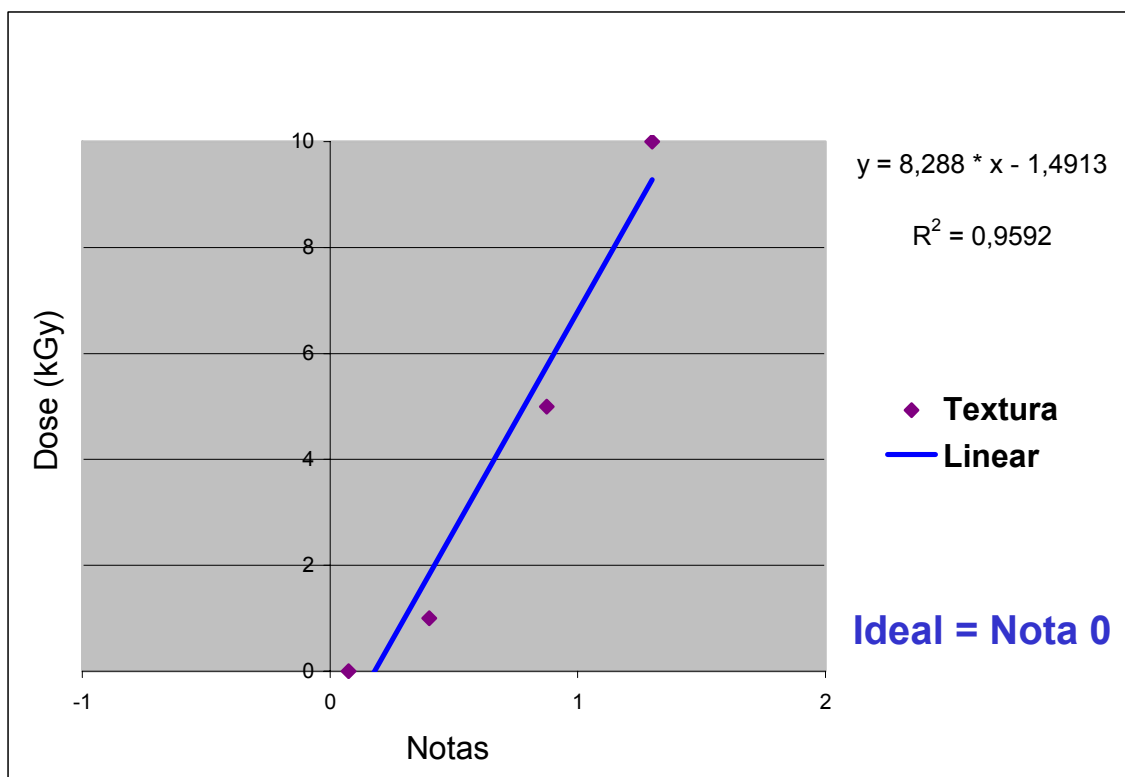


FIG. 4.12: Resultados médios obtidos para o atributo textura das saladas de feijão-fradinho.

O fato de grãos irradiados poderem ser coccionados em menor tempo permite afirmar que a irradiação é um processo auxiliar na manutenção da tiamina dos grãos de feijão-fradinho, já que sua característica termossensível foi confirmada na análise dos teores de tiamina.

#### 4.5 DETERMINAÇÃO DA PORCENTAGEM FÚNGICA

Foram encontrados fungos potencialmente produtores de micotoxinas, como *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger* e *Aspergillus ochraceus*, decorridos os 7 dias de incubação, em amostras de feijão-fradinho controle e irradiadas nas doses 0,5; 1,0 e 2,5kGy nos tempos  $t_0$ ,  $t_1$  e  $t_2$  (após a irradiação e transcorridos 30 e 60 dias, respectivamente), de acordo com as tabelas de resultados apresentadas nos APÊNDICES 4, 5 e 6. Como pode ser observado em tais tabelas, outros fungos, como os dos gêneros *Penicilium*, *Fusarium* e *Rhizopus*, também foram encontrados nas amostras. Isto foi comprovado no experimento utilizando os meios de cultura AFPA e DG 18. As FIG. 4.13, FIG. 4.14 e FIG. 4.15 mostram graficamente os resultados obtidos nos três tempos para os dois meios analisados.

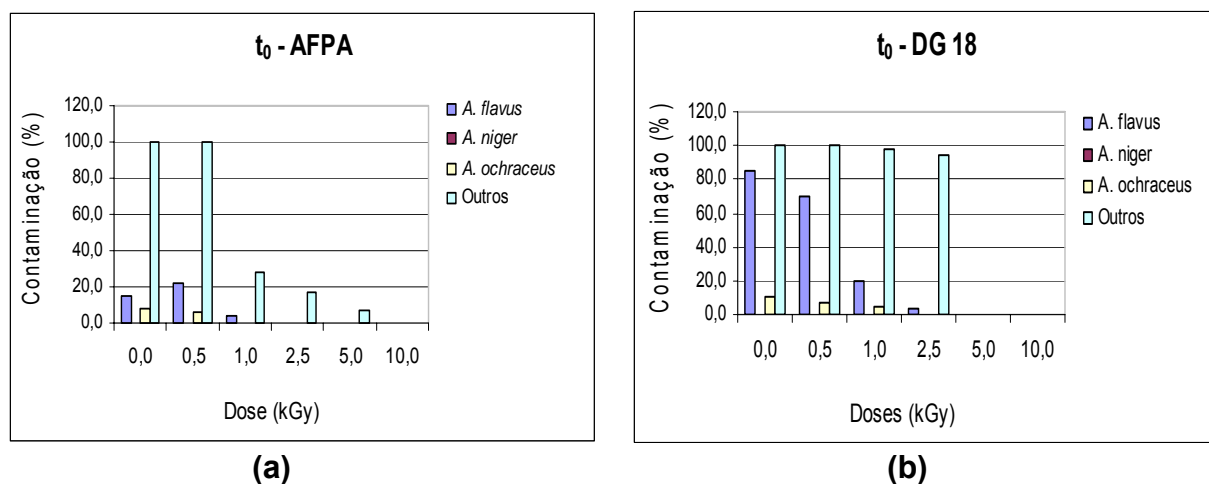


FIG. 4.13: Crescimento de fungos em grãos de feijão-fradinho submetidos a diferentes doses de radiação gama (após a irradiação) isolados em meio: (a) AFPA; (b) DG 18.

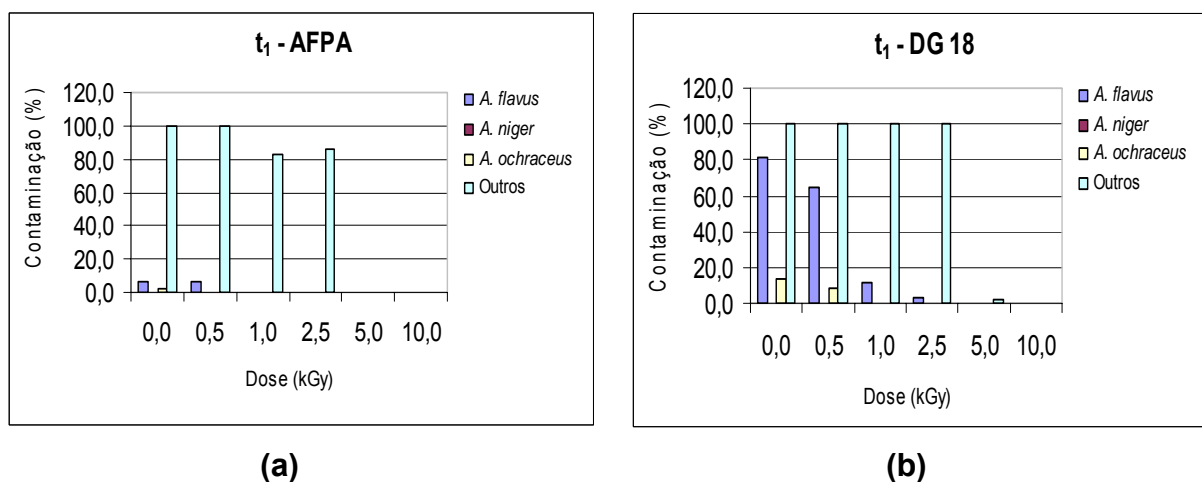


FIG. 4.14: Crescimento de fungos em grãos de feijão-fradinho submetidos a diferentes doses de radiação gama (30 dias após a irradiação) isolados em meio: (a) AFPA; (b) DG 18.

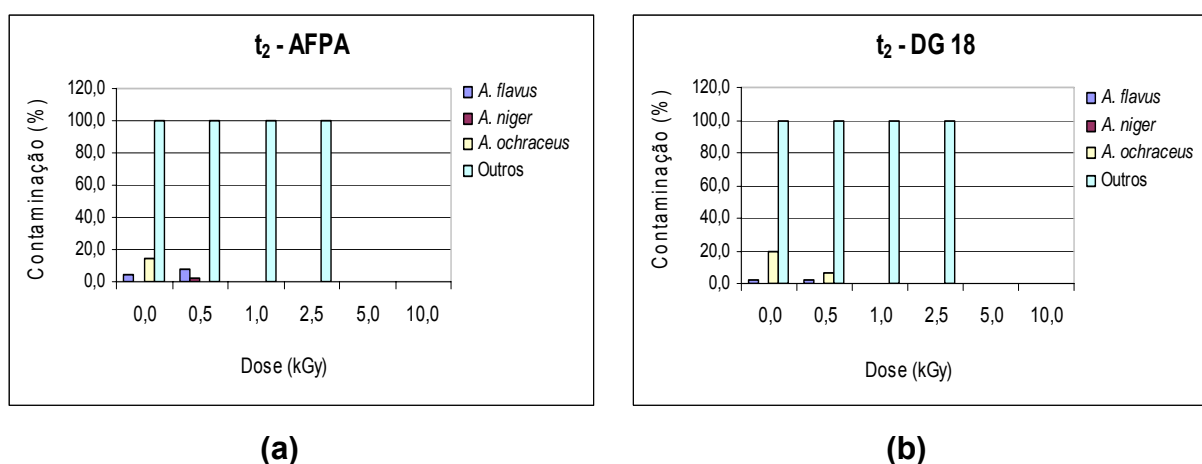


FIG. 4.15: Crescimento de fungos em grãos de feijão-fradinho submetidos a diferentes doses de radiação gama (60 dias após a irradiação) isolados em meio: (a) AFPA; (b) DG 18.

As FIG. 4.16 e FIG. 4.17 mostram placas de meio DG 18 do tempo  $t_0$  com colônias de fungos após 7 dias de incubação 25°C / 85% de umidade, em feijão-fradinho controle e com 2,5kGy e em feijão-fradinho controle e com 0,5; 1,0 e 2,5kGy, respectivamente.

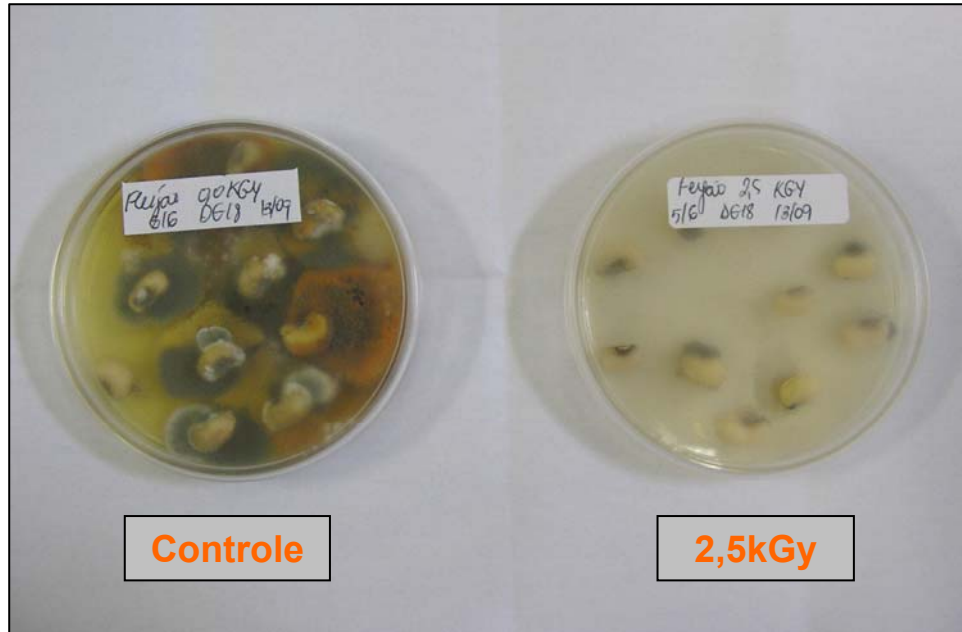


FIG. 4.16: Placas mostrando colônias de fungos em feijão-fradinho controle e irradiado com 2,5kGy.

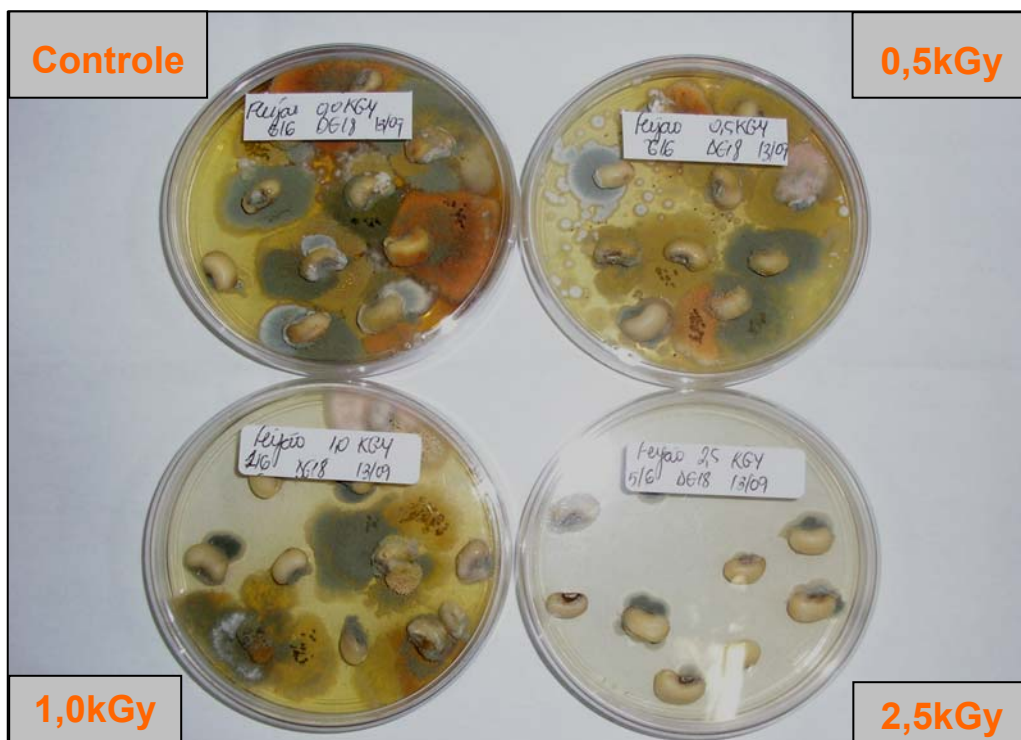


FIG. 4.17: Placas mostrando colônias de fungos em feijão-fradinho controle e irradiado com 0,5; 1,0 e 2,5kGy.



Pelas figuras anteriores pode-se observar o controle de crescimento de fungos promovido pela aplicação de radiação gama. As placas com feijão-fradinho sem irradiação apresentam praticamente todos os 10 grãos com pelo menos uma colônia de algum gênero de fungo. Conforme se aumenta a dose de radiação, o número de colônias presentes diminui.

A radiação gama se mostrou eficiente para a destruição de espécies fúngicas comumente encontradas em grãos de feijão-fradinho. Estes resultados sugerem que o processo de irradiação é também um importante recurso na área de saúde, auxiliando na redução de incidência de doenças causadas por fungos, alguns produtores de micotoxinas.

Ressalta-se que, como para qualquer outro processo de conservação de alimentos, a melhora da qualidade microbiológica obtida pela irradiação deve estar acompanhada de cuidados prévios e posteriores ao processo.

#### 4.6 POTENCIAL DE TOXIDEZ DE FUNGOS ISOLADOS

A FIG. 4.18 mostra uma placa com meio YES contendo três colônias do fungo isolado *Aspergillus flavus* da placa da análise de determinação da porcentagem fúngica de número 5, meio DG 18, grãos controle e tempo  $t_0$  (30 dias após a irradiação), a qual continha três fungos desta espécie. As três colônias apresentadas na figura são decorrentes do repique deste fungo em três pontos distintos da placa com meio YES.

A TAB. 4.7 apresenta os resultados da análise de potencial de toxidez dos fungos *Aspergillus flavus* e *Aspergillus ochraceus* identificados na análise de determinação da porcentagem fúngica e isolados. Como pode ser visto, fungos da espécie *flavus* do tempo  $t_0$  apresentaram resultado positivo no meio de cultura AFPA em grãos controle e irradiados na dose 0,5kGy e, em meio de cultura DG 18, em grãos controle e irradiados nas doses 0,5 e 1,0kGy. Na tabela, o termo “Positivo” expressa que o fungo isolado na análise de porcentagem fúngica, em questão, produziu algum tipo de aflatoxina, B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, G<sub>1</sub> ou G<sub>2</sub>.



FIG. 4.18: Placa com três colônias do fungo isolado *Aspergillus flavus*.

TAB. 4.7: Resultado do potencial de toxidez de fungos isolados.

Tempo	Fungo	Meio	Dose (kGy)			
			0,0	0,5	1,0	2,5
$t_0$	<i>A. flavus</i>	AFPA	Positivo	Positivo	Negativo	Negativo
		DG 18	Positivo	Positivo	Positivo	Negativo
	<i>A. ochraceus</i>	AFPA	Negativo	Negativo	Negativo	—
		DG 18	Negativo	Negativo	Negativo	—
$t_1$	<i>A. flavus</i>	AFPA	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo
		DG 18	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo
	<i>A. ochraceus</i>	AFPA	Negativo	Negativo	—	—
		DG 18	Negativo	Negativo	—	—

— Fungos não identificados na análise de determinação da porcentagem fúngica.

#### 4.7 DETERMINAÇÃO DE AFLATOXINAS B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, G<sub>1</sub> E G<sub>2</sub>

Não foram detectadas aflatoxinas nos grãos de feijão-fradinho controle e irradiados nas doses 0,5; 1,0; 2,5; 5,0 e 10,0kGy pelo método da CCD, nos três tempos analisados, zero, 30 e 60 dias ( $t_0$ ,  $t_1$  e  $t_2$ , respectivamente). O limite de detecção do método é de 1,5 $\mu$ g/Kg e de 1,0 $\mu$ g/Kg para as aflatoxinas B<sub>1</sub> e G<sub>1</sub> e B<sub>2</sub> e G<sub>2</sub>, respectivamente (BRASIL, 2000).

## 5 CONCLUSÕES

O valor nutricional de grãos de feijão-fradinho irradiados foi mantido, até com a dose de 10kGy e mesmo após um tempo de armazenamento de 6 meses, o que foi verificado pela avaliação de aminoácidos.

Não houve diferença significativa entre as amostras cruas controle e irradiadas nos teores de oligossacarídeos. A combinação dos processos de cocção e irradiação proporcionou um benefício para os consumidores decorrente da redução dos teores dos oligossacarídeos causadores de flatulência, dor e desconforto abdominal. A redução foi significativa para rafinose e estaquiose com 5,0 e 10,0kGy.

Os teores de tiamina não apresentam diferenças significativas entre as amostras controle e com diferentes doses de radiação tanto entre os grãos crus quanto entre os coccionados. Já dos grãos crus para os coccionados observou-se grande redução do conteúdo de tiamina, alcançando perdas de até 72%, confirmando que a cocção é um processo agressivo na deterioração desta vitamina.

O processo de irradiação dos grãos não interferiu no perfil sensorial de aceitação dos atributos aparência e sabor das saladas de feijão-fradinho preparadas. Os resultados da análise de preferência do atributo textura indicam que grãos irradiados deveriam ser coccionados em menor tempo, propiciando uma economia de energia e preservando mais as vitaminas e os macronutrientes, pois muitos se perdem com o calor. Isto permite afirmar que a irradiação pode ser utilizada como um processo auxiliar na manutenção da tiamina dos grãos de feijão-fradinho, já que sua característica termossensível foi confirmada na análise dos teores de tiamina.

A radiação gama reduziu significativamente a presença de fungos do gênero *Aspergillus* em grãos de feijão-fradinho a partir da dose de 2,5kGy e dos gêneros *Penicillium*, *Fusarium* e *Rhizopus* a partir da dose de 5,0kGy.

Na análise de potencial de toxidez, fungos da espécie *flavus* apresentaram resultado positivo em grãos controle e irradiados nas doses 0,5 e 1,0kGy.

Não foram detectadas aflatoxinas nas amostras de feijão-fradinho controle e irradiadas analisadas.

A radiação gama é um processo indicado para aumentar a vida útil de alguns produtos alimentares e serve como uma opção para o controle efetivo de pragas e doenças, inibindo o desenvolvimento de fungos e bactérias. Este conjunto de benefícios proporcionados pelo processo de irradiação se mostra uma importante ferramenta no combate à fome, uma vez que reduz principalmente as perdas associadas à estocagem dos alimentos. Adotando-se a irradiação como método de conservação e preservação de feijão-fradinho a sua validade comercial de 6 meses poderia ser estendida.

Para as doses aplicadas ao feijão-fradinho comprovou-se que a irradiação auxilia na redução de substâncias antinutricionais e não altera significativamente os teores de aminoácidos e de tiamina e as características sensoriais exigidas pelo consumidor.

Não tendo a legislação fixado valores mínimos ou máximos para as doses de radiação aplicadas, estas devem ser compatíveis com os efeitos desejados. Neste estudo, dentre as doses analisadas, conclui-se que a ideal é a de 5,0kGy, por possibilitar o controle do crescimento de fungos e por não alterar as características químicas e sensoriais do feijão-fradinho analisadas, assim como as demais doses.

## 6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANDRADE JÚNIOR, A. S.; SANTOS, A. A.; SOBRINHO, C. A.; BASTOS, E. A.; MELO, F. B.; VIANA, F. M. P.; FILHO, F. R. F.; SILVA, J. C.; ROCHA, M. M.; CARDOSO, M. J.; SILVA, P. H. S.; RIBEIRO, V. Q. **Sistemas de Produção: 2. Cultivo do Feijão-caupi (*Vigna unguiculata* (L.) Walp)**. Teresina: Embrapa Meio-Norte, 2002.
- ARAÚJO, J. M. A. **Química de alimentos. Teoria e prática**. 3. ed. Viçosa: UFV, 2006. 478 p.
- AZIZ, N. H.; YOUSSEF, B. M. Inactivation of naturally occurring of mycotoxins in some egyptian foods and agricultural commodities by gamma irradiation. **Egyptian Journal of Food Science**, Cairo, v. 30, n. 1, p. 167-177, 2002.
- BARBOSA, J. J. **Introdução à tecnologia de alimentos**. Rio de Janeiro: Livraria Kosmos, 1976.
- BARUFFALDI, R.; OLIVEIRA, M. N. **Fundamentos de tecnologia de alimentos**. v. 3. São Paulo, Rio de Janeiro, Belo Horizonte: Atheneu, 1998. 317 p.
- BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA. Resolução RDC nº 21, de 26 de janeiro de 2001. Aprova o regulamento para irradiação de alimentos. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 29 jan. 2001. Disponível em: <[http://www.anvisa.gov.br/legis/resol/21\\_01rdc.htm](http://www.anvisa.gov.br/legis/resol/21_01rdc.htm)>. Acesso em: 15 out. 2006.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Apoio Rural e Cooperativismo. Portaria nº 85 de 06 de março de 2002. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 18 mar. 2002. Seção 1, Anexo 12.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Instrução Normativa nº 09, de 24 de março de 2000. Aprova os métodos analíticos de referência para análise de micotoxinas em produtos, subprodutos e derivados de origem vegetal. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 30 de mar. 2000. Seção 1, p. 35-41.
- BRASIL. Portaria DINAL, nº 9, de 08 de março de 1985. Ministério da Saúde. Divisão Nacional de Vigilância Sanitária de Alimentos. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**. Disponível em: <<http://www.anvisa.gov.br/legis/portarias/>>. Acesso em: 15 out. 2006.

- BRASIL. Portaria SVS/MS, nº 326, de 30 de julho de 1997. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, 01 ago. 1997. Disponível em: <[http://www.anvisa.gov.br/legis/portarias/326\\_97](http://www.anvisa.gov.br/legis/portarias/326_97)>. Acesso em: 15 out. 2006.
- CARNEIRO, J. C. S.; MINIM, V. P. R.; SOUZA Jr., M. M.; CARNEIRO, J. E. S.; ARAÚJO, G. A. A. Perfil sensorial e aceitabilidade de cultivares de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 25, n. 1, p. 18-24, jan./mar. 2005.
- CDC. Preliminary FoodNet data on the incidence of infection with pathogens transmitted commonly through food – Select sites, United States, 2003. *Morb. Mortal. Weekly Rep.* v. 53, n. 16, p. 338 – 343, 2004.
- CHITARRA, M. I. F.; CHITARRA, A. B. **Pós-colheita de frutos e hortaliças: fisiologia e manuseio**. Lavras: ESAL-FAEPE, 1990. 320 p.
- CIOLA, R. **Fundamentos da cromatografia a líquido de alto desempenho - HPLC**. 1. ed. São Paulo: Edgar Bülcher, 1998.
- CODEX Stan 106. **Norma General del Codex para Alimentos Irradiados**. Disponível em: <[http://www.codexalimentarius.net/web/standard\\_list.do?lang=es](http://www.codexalimentarius.net/web/standard_list.do?lang=es)>. Acesso em: 25 de jun. 2007.
- DIEHL, J. F. **Safety of irradiated foods**. New York and Basel: Marcel Dekker, Inc., v. 36, 1990. 345 p.
- FEIJÃO-CAUPI, Avanços Tecnológicos na Cultura do. Direção de Jorge Macau. **Programa “Dia de Campo na TV”**, Canal Rural, exibido em: 03 out. 2003. Teresina: Embrapa Meio-Norte, 2003. 1 videocassete (60 min): VHS, son., color.
- FERREIRA, V. L. P.; ALMEIDA, T. C. A.; PETTINELLI, M. L. C. V.; SILVA, M. A. A. P.; CHAVES, J. B. P.; BARBOSA, E. M. M. **Análise sensorial: testes discriminativos e afetivos, Manual, Série Qualidade**. 1. ed. Campinas: SBCTA, 2000. 127 p.
- FIELTENBORG, O.; FRISVAD, J. C. A simple screening: method for toxigenic moulds in pure cultures. **Lebensmittel Wissenschaft und Technologie**, London, v. 13, p. 128-130, 1980.
- FILGUEIRA, F. A. R. **Novo manual de olericultura. Agrotecnologia moderna na produção e comercialização de hortaliças**. 2. ed. Viçosa: UFV, 2005. 412 p.
- FONTES, L. S.; ARTHUR V.; ARTHUR P.B. Influência da taxa de dose de radiação gama do cobalto-60 para desinfestação de feijão-caupi (*Vigna unguiculata* L.) infestado com formas imaturas de *Callosobruchus maculatus*. **16ª Reunião Anual do Instituto Biológico**, v. 70, suplemento 3, 2003.

- FONTES, L. S.; ARTHUR, V. Controle de *Callosobruchus maculatus* (F., 1775) (Coleoptera: Chrysomelidae: Bruchinae) em feijão-caupi através da radiação gama do cobalto-60. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 68, p. 1, 2001.
- FREIRE FILHO, F. R.; RIBEIRO, V. Q.; SANTOS, A. A. Cultivares de caupi para a região Meio-Norte do Brasil. In: CARDOSO, M. J. (Org.). **A cultura do feijão caupi no Meio-Norte do Brasil**. Teresina: Embrapa Meio-Norte, 2000. 264 p.
- GALLO, D.; NAKANO, O.; SILVEIRA NETO, S.; CARVALHO, R. P. L.; BATISTA, G. C. de; BERTI FILHO, E.; PARRA, J. R. P.; ZUCCHI, R. A.; ALVES, S. B.; VENDRAMIN, J. D.; MARCHINI, L. C.; LOPES, J. R. S.; OMOTO, C. **Entomologia agrícola**. Piracicaba: FEALQ, 2002. 920 p.
- GUIMARÃES, V. M.; REZENDE, S. T., MOREIRA, E. G. B.; FELIX, C. R. Characterization of  $\alpha$ -galactosidases from germinating soybean seed and their use for hydrolysis of oligosaccharides. **Phytochemistry**, v. 58, p. 67-73, 2001.
- GOULD, G. W. Methods for preservation and extension of shelf life. **International Journal of Food Microbiology**, v. 33, p. 51-64, 1996.
- HENKEL, J. Irradiation features. Food and Drug Administration. **FDA Consumer Magazine**, n. 98 – 2320, 1998. Disponível em: <[http://www.fda.gov/fdac/features/1998/398\\_rad.htm](http://www.fda.gov/fdac/features/1998/398_rad.htm)>. Acesso em: 01 fev. 2008.
- INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA – IBGE. **Pesquisa de Orçamentos Familiares – POF 2002-2003. Análise da disponibilidade domiciliar de alimentos e do estado nutricional do Brasil**. Rio de Janeiro: Diretoria de Pesquisas, 2004.
- IOM. National Academy of Sciences. **Dietary Reference Intakes (DRIs): Recommended Intakes for Individuals, Vitamins**. Food and Nutrition Board, Institute of Medicine, 2004. Disponível em: <[www.iom.edu/?id=21381](http://www.iom.edu/?id=21381)>. Acesso em: 24 jun. 2007.
- KADER, A. A.; ROSEN, J. Postharvest physiology and quality maintenance of sliced pear and strawberry fruits. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 54, p. 656-659, 1989.
- KILCAST, D. Effect of irradiation on vitamins. **Food Chemistry**, v. 49, p. 157-164, 1994.
- LADOMERY, L. G. Principles of the Codex General Standard for irradiated foods and associated code of practice. WHO/IAEA/FAO. In: SEMINAR ON HARMONIZATION OF REGULATIONS ON FOOD IRRADIATION IN ASIA AND THE PACIFIC, 1993, Malaysia. **Anais...** Malaysia: IAEA – TECDOC 696, 1993, p. 63-66.



- LIENER, I. E. Antinutritional factors related to proteins and amino acids. In: HUI, Y. H.; GORHAM, J. R.; MURREL, K. D.; CLIVER, D. O. (Eds.). **Foodborne disease handbook**, v. 3, p. 261- 309. New York: Marcel Dekker Inc, 1994.
- LIMA, K. S. C.; Lima, A. L. S.; SOUZA, L. B.; COELHO, M. J.; GODOY, R. L. O. Avaliação por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) de aminoácidos em feijão-fradinho (*Vigna unguiculata* (L.) Walp) irradiado. **Higiene Alimentar**, v. 21, p. 326-327, 2007a.
- LIMA, K. S. C.; Lima, A. L. S.; SOUZA, L. B.; COELHO, M. J.; GODOY, R. L. O.; VITAL, H. C. High Performance Liquid Chromatography (HPLC) applied to the determination of oligosaccharides in irradiated beans (*Vigna unguiculata* (L.) Walp). In: INTERNATIONAL NUCLEAR ATLANTIC CONFERENCE (INAC) - VIII ENAN, 2007, Santos. **Anais eletrônicos...**Santos, ABEN, 2007b (ISBN978-85-99141-02-1).
- LIMA, K. S. C.; LIMA, A. L. S.; LUCHESE, R. H.; GODOY, R. L. O.; SABAA-SRUR, A. U O. Cenouras minimamente processadas em embalagens com atmosferas modificadas e tratadas com radiação gama: avaliação microbiológica, físico-química e química. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 23, n. 2, p. 240-250, 2003.
- LIMA, R.Q. Direito de resposta. **Revista Consumidor**. jun./jul. 2002. Disponível em: <[http://www.cliquequimica.com.br/ultimas\\_noticias\\_irradiacao.htm](http://www.cliquequimica.com.br/ultimas_noticias_irradiacao.htm)>. Acesso em: 03 jan. 2007.
- LOPES, Fábila. **Josué de Castro e Herbert de Souza: dois ícones do combate à fome no Brasil**. Articulação no Semi-árido Brasileiro (ASA). 2007. Disponível em: <[http://www.asabrasil.org.br/Default.asp?CO\\_TOPICO=921](http://www.asabrasil.org.br/Default.asp?CO_TOPICO=921)>. Acesso em: 15 nov. 2007.
- MARINHO, J.T.S.; PEREIRA, R.C.A.; COSTA, J.G. **Caracterização de cultivares de caupi (*Vigna unguiculata* (L.) Walp) em plantios no Acre**. EMBRAPA ACRE. Boletim de Pesquisa, n. 31, set. 2001. Disponível em: <<http://www.cpafac.embrapa.br/pdf/bp31.pdf>>. Acesso em: 25 jan. 2007.
- MARTINS, C. G.; BEHRENS, J. H.; ARAGON-ALEGRO, L. C.; VIEIRA, V. S.; COSTA-SOBRINHO, P. S.; VIZEU, D. M.; HUTZLER, B.; FRANCO, B. D. G. M.; DESTRO, M. T.; LANDGRAF, M. Shelf life irradiated minimally processed (MP) watercress (*Nasturtium officinale*). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 27, n. 1, p. 44-48, 2007.
- MDS Nordion. **Sterilization**. Disponível em: <<http://www.mds.nordion.com/products/sterilization.htm>>. Acesso em: 25 jan. 2007.
- MELLO, L. C. Alimentos irradiados. **Revista Nutriweb**. Maio 2001. Disponível em: <<http://www.nutriweb.org.br/n0202/irradiados.htm>>. Acesso em: 03 jan. 2007.

- MENDEZ, M. H. M.; DERIVI, S. C. N.; RODRIGUES, M. C. R.; FERNANDES, M. L. **Tabela de composição de alimentos. Amiláceos, cereais e derivados, hortaliças, leguminosas.** Niterói: EDUFF, 1992.
- OLIVEIRA, A. C.; QUEIROZ, K. S.; HELBIG, E.; REIS, S. M. P. M.; CARRARO, F. O processamento doméstico do feijão comum ocasionou uma redução nos fatores antinutricionais fitatos e taninos, no teor de amido e em fatores de flatulência rafinose, estaquiose e verbascose. **Arquivos Latino Americanos de Nutrição**, v. 51, n. 3, 2001.
- OLIVEIRA, F. J. Combinações de espaçamentos e populações de plantas de caupi e de milho em monocultura e consorciadas. **Revista PAB**. Pesquisa Agropecuária Brasileira, v. 28, n. 8, ago. 1993.
- PERES, T. B. Noções básicas de cromatografia. **Biológico**. São Paulo, v. 64, n. 2, p. 227-229, jul./dez. 2002.
- PIMENTA, C. J.; CHALFOUN, S. M. Composição Microbiana associada ao café em coco beneficiado e colhido em diferentes estágios de maturação. **Ciências Agrotécnicas**, Lavras, v. 25, n. 3, p. 677-682, mai./jun. 2001.
- PIRANI, J. R. (Ed.). **Boletim de Botânica da USP**. Disponível em: <<http://www.bibvirt.futuro.usp.br/textos/periodicos>>. Acesso em: 25 jan. 2007.
- POTHISIRI, P. Control of food irradiation facilities and good irradiation practices. WHO/IAEA/FAO. In: SEMINAR ON HARMONIZATION OF REGULATIONS ON FOOD IRRADIATION IN ASIA AND THE PACIFIC, 1993, Malaysia. **Anais...** Malaysia: IAEA – TECDOC 696, 1993, p. 67-72.
- PRICE, W.J. **Nuclear Radiation Detection**. New York: McGraw-Hill, 1958.
- QUIN, F. M. Introduction. In: SING, B. B.; MOHAN RAJ, D. R.; DASHIEL, K. E.; JACKAI, L. E. N. (Ed), **Advances in cowpea research**. Ibadan: IITA-JIRCAS, 1997. p. ix-xv.
- QUINTÃO, L. C. Dados da fome. **ONG Banco de Alimentos**. 2007. Disponível em: <<http://www.bancodealimentos.org.br/por/dadosfome/index.htm>>. Acesso em: 10 nov. 2007.
- QUINTELA, E. D.; NEVES, B. P. das; QUINDERÉ, M. A. W.; ROBERTS, D. W. **Principais pragas do caupi no Brasil**. Goiânia: EMBRAPA-CNPAP, 1991. 38 p.
- RAO, V. S.; VAKIL, U. K. Effects of gamma-irradiation on flatulence-causing oligosaccharides in green gram (*Phaseolus aureus*). **Journal of Food Science**, v. 48, p. 1791-1795, 1983.

- RIBEIRO, V. Q. (Ed); ANDRADE JÚNIOR, A. S.; SANTOS, A. A.; SOBRINHO, C. A.; BASTOS, E. A.; MELO, F. B.; VIANA, F. M. P.; FILHO, F. R. F.; SILVA, J. C.; ROCHA, M. M.; CARDOSO, M. J.; SILVA, P. H. S. Embrapa Meio-Norte. **Cultivo do feijão-caupi (*Vigna unguiculata* (L.) Walp)**. 2007. Disponível em: <<http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Feijao/Feijaocaupi/index.htm>>. Acesso em: 10 mai. 2007.
- ROBERTS, T. Virginia Tech. **Cold Pasteurization of Food by Irradiation**. Agosto 1998. Disponível em: <<http://www.ext.vt.edu/pubs/foods/458-300/458-300.html>>. Acesso em: 06 mai. 2007.
- RODRIGUEZ-AMAYA, D. B.; LIMA, D. M.; COLUGNATI, F. A. B.; PADOVANI, R. M.; SALAY, E.; GALEAZZI, M. A. M. NEPA-UNICAMP. **Tabela Brasileira de Composição de Alimentos (TACO)**. Campinas: NEPA-UNICAMP, 2006. 113 p. Disponível em: <<http://www.unicamp.br/nepa/taco>>. Acesso em: 10 mai. 2007.
- SENTANIN, M. A.; AMAYA, D. B. R. Teores de carotenóides em mamão e pêsego determinados por cromatografia líquida de alta eficiência. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. Campinas, v. 27, n. 1, p. 13-19, jan./mar. 2007.
- SANTOS, A. A.; AQUINO, A. B.; SANTOS, A. B. Controle da podridão das raízes pelo uso de calcário no solo. In: REUNIÃO NACIONAL DE PESQUISA DE CAUPI, 4., 1996, Teresina. **Anais...** Teresina: EMBRAPA-CPAMN, 1996. p. 66.
- SHILS, M. E.; OLSON, J. A.; SHIKE, M.; ROSS, A. C. **Tratado de nutrição moderna na saúde e na doença**. 9. ed. São Paulo: Manole, 2003.
- SIDDHURAJU, P.; MAKKAR, H. P. S.; BECKER, K. The effect of ionizing radiation on antinutritional factors and the nutritional value of plant materials with reference to human and animal food. **Food Chemistry**, v. 78, p. 187-205, 2002.
- SILVA, L. C. **Toxicologia dos Alimentos**. Boletim Técnico. Vitória: Universidade Federal do Espírito Santo (UFES) – Departamento de Engenharia Rural, 2005.
- SOUZA, L. B.; LIMA, K. S. C.; COELHO, M. J.; LIMA, A. L. S.; GODOY, R. L. O.; ARAUJO, M. C. P. Avaliação dos teores de tiamina (vitamina B<sub>1</sub>) em feijão-fradinho (*Vigna unguiculata* (L.) Walp) irradiado e coccionado. In: SIMPÓSIO LATINO AMERICANO DE CIÊNCIAS DE ALIMENTOS, 7., 2007, Campinas. **Resumos...** Campinas: Unicamp, SBCTA, 2007a.
- SOUZA, L. B.; LIMA, K. S. C.; COELHO, M. J.; LIMA, A. L. S.; SILVA, J. M.; ALVES, R. N. Análise sensorial de salada de feijão-fradinho (*Vigna unguiculata* (L.) Walp) elaborada com grãos irradiados. In: SIMPÓSIO LATINO AMERICANO DE CIÊNCIAS DE ALIMENTOS, 7., 2007, Campinas. **Resumos...** Campinas: Unicamp, SBCTA, 2007b.

- TAPE, N. Control of good irradiation practices and the role of the ICGFI guidelines and codes. WHO/IAEA/FAO. In: SEMINAR ON HARMONIZATION OF REGULATIONS ON FOOD IRRADIATION IN ASIA AND THE PACIFIC, 1992, Malaysia. **Anais...** Malaysia: IAEA – TECDOC 696, 1992, p. 141-145.
- TAUHATA, L.; SALATI, I. P. A.; PRINZIO, R. Di; PRINZIO, A. R. Di; **Radioproteção e dosimetria: fundamentos**. Rio de Janeiro: IRD/CNEN, 2003. 242 p.
- TAUXE, R. V. Food safety and irradiation: protecting the public from foodborne infections. **Emerging Infectious Diseases**. v. 7, n. 3, jun. 2001.
- TEIXEIRA, A. B.; LUNA, N. M. M. Técnica dietética e fator de correção em alimentos de origem animal e vegetal. 2. ed. Cuiabá, 1999.
- URBAIN, W. M. **Food Irradiation**. Orlando: Academic Press Inc., 1986.
- VILLAVICENCIO, A. L. C. H.; BOGNÁR, A.; DELINCÉE, H.; MANCINI-FILHO, J. Effect of gamma irradiation on the thiamine, riboflavin and vitamin B<sub>6</sub> content in two varieties of Brazilian beans. **Radiation Physics and Chemistry**, Dinamarca, v. 57, n. 3-6, p. 299-304, 2000.
- VITAL, H. C.; VELLOZO, S. O. Perspectivas de uso do irradiador gama do IPE. In: CGEN, 6., 1996, Rio de Janeiro. **Anais...** Rio de Janeiro: v. iii, out. 1996, p. 27-31.
- WHO. **High-dose irradiation: wholesomeness of food irradiated with doses above 10kGy**. Report of a Joint FAO/IAEA/WHO Study Group, technical report series n. 890. Geneva, Switzerland: World Health Organization, 1999.
- WHO. **Inocuidad e idoneidad nutricional de los alimentos irradiados**. Ginebra: World Health Organization, 1995. 172 p.
- WHO. **Nutricion y prevención de enfermedades crónicas**. Informe Técnico 797. Ginebra: World Health Organization, 1990. 223 p.
- ZAR, J. H. **Biostatistical Analysis**. 3. ed. New Jersey & USA: Prentice Hall, 1996.

## **7 APÊNDICES**

7.1 Apêndice 1: Escala Hedônica

**TESTE DE ACEITAÇÃO**

**ESCALA HEDÔNICA**

Nome: \_\_\_\_\_ Data: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

Por favor, faça a degustação e avalie cada amostra da Salada de Feijão-fradinho. Provar da esquerda para a direita e assinalar sua resposta com um X. Responda, dando notas de acordo com a escala abaixo sobre o quanto você gostou de cada atributo dos produtos:

AMOSTRA	_____	_____	_____	_____
<b>Aparência</b>	( )	( )	( )	( )
9 – Gostei extremamente	( )	( )	( )	( )
8 – Gostei muito	( )	( )	( )	( )
7 – Gostei moderadamente	( )	( )	( )	( )
6 – Gostei ligeiramente	( )	( )	( )	( )
5 – Não gostei e nem desgostei	( )	( )	( )	( )
4 – Desgostei ligeiramente	( )	( )	( )	( )
3 – Desgostei moderadamente	( )	( )	( )	( )
2 – Desgostei muito	( )	( )	( )	( )
1 – Desgostei extremamente	( )	( )	( )	( )
<b>Sabor</b>	( )	( )	( )	( )
9 – Gostei extremamente	( )	( )	( )	( )
8 – Gostei muito	( )	( )	( )	( )
7 – Gostei moderadamente	( )	( )	( )	( )
6 – Gostei ligeiramente	( )	( )	( )	( )
5 – Não gostei e nem desgostei	( )	( )	( )	( )
4 – Desgostei ligeiramente	( )	( )	( )	( )
3 – Desgostei moderadamente	( )	( )	( )	( )
2 – Desgostei muito	( )	( )	( )	( )
1 – Desgostei extremamente	( )	( )	( )	( )

Comentários: \_\_\_\_\_

## 7.2 Apêndice 2: Escala do Ideal

### TESTE DE PREFERÊNCIA

#### ESCALA DO IDEAL

Nome: \_\_\_\_\_ Data: \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_

Por favor, faça a degustação e avalie cada amostra da Salada de Feijão-fradinho. Provar da esquerda para a direita e assinalar sua resposta com um X. Indique, utilizando a escala abaixo, o quão próximo do ideal encontra-se a textura dos grãos de cada amostra.

AMOSTRA	_____	_____	_____	_____
4 Extremamente mais macio que o ideal	( )	( )	( )	( )
3 Muito mais macio que o ideal	( )	( )	( )	( )
2 Moderadamente mais macio que o ideal	( )	( )	( )	( )
1 Ligeiramente mais macio que o ideal	( )	( )	( )	( )
0 Ideal	( )	( )	( )	( )
-1 Ligeiramente menos macio que o ideal	( )	( )	( )	( )
-2 Moderadamente menos macio que o ideal	( )	( )	( )	( )
-3 Muito menos macio que o ideal	( )	( )	( )	( )
-4 Extremamente menos macio que o ideal	( )	( )	( )	( )

Comentários: \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

### 7.3 APÊNDICE 3: Exemplo de tratamento estatístico

Tabela de dados - Teores do aminoácido (g/100g)							
<b>ANOVA Single Factor</b>	<b>Dose (kGy)</b>	<b>0,0 (1)</b>	<b>0,5 (2)</b>	<b>1,0 (3)</b>	<b>2,5 (4)</b>	<b>5,0 (5)</b>	<b>10,0 (6)</b>
Amostra 1	1,27	1,22	1,28	1,20	1,19	1,24	
Amostra 2	1,32	1,33	1,14	1,21	1,30	1,36	
Nível de significância 5%							
<b>Aminoácido:</b> Fenilalanina							
n	2	2	2	2	2	2	
K	6						
N	12						
Somatório dos elementos	2,59	2,55	2,42	2,41	2,49	2,60	
Média	1,30	1,28	1,21	1,21	1,25	1,30	
Somatório dos elem <2>	3,36	3,26	2,94	2,90	3,11	3,39	
Somatório Xij	15,06						
Grande Média X	1,26						
c	18,90						
SS Total	0,05						
SS Grupo	0,02						
SS Erro	0,03						
<b>Tabela ANOVA</b>							
<b>Fonte</b>	<b>SS</b>	<b>DF</b>	<b>MS</b>				
Total	0,05	11					
Grupo	0,02	5	0,0035				
Erro	0,03	6	0,0051				
F = 0,6829							
F tabelado : 4,39							
$F_{0,05;5;6}$							
<b>Teste: Não rej H0</b>							
<b>Intervalo de Confiança</b>							
Erro padrão	0,009						
<b>Tabela de dados - Teores do aminoácido</b>							
<b>Dose (kGy)</b>	<b>0,0</b>	<b>0,5</b>	<b>1,0</b>	<b>2,5</b>	<b>5,0</b>	<b>10,0</b>	
Média	1,295	1,275	1,210	1,205	1,245	1,300	
±	0,009	0,009	0,009	0,009	0,009	0,009	



#### 7.4 APÊNDICE 4: Fungos identificados no tempo zero

Dose (kGy)	Placa	<i>A. flavus</i>		<i>A. niger</i>		<i>A. ochraceus</i>		Outros		Levedura	
		AFPA	DG 18	AFPA	DG 18	AFPA	DG 18	AFPA	DG 18	AFPA	DG 18
0,0	1	1	9	x	x	1	2	10	10	x	x
	2	2	8	x	x	2	3	10	10	x	x
	3	2	6	x	x	x	x	10	10	x	x
	4	x	8	x	x	1	x	10	10	x	x
	5	3	10	x	x	x	x	10	10	x	x
	6	1	10	x	x	1	1	10	10	x	x
0,5	1	1	7	x	x	x	1	10	10	x	x
	2	3	9	x	x	x	x	10	10	x	x
	3	4	4	x	x	2	x	10	10	x	x
	4	—	8	—	x	—	x	—	10	—	x
	5	x	6	x	x	x	1	10	10	x	x
	6	3	8	x	x	1	2	10	10	x	x
1,0	1	x	5	x	x	x	2	2	10	3	x
	2	1	2	x	x	x	1	3	10	4	x
	3	—	2	—	x	—	x	—	10	—	x
	4	x	2	x	x	x	x	3	10	5	x
	5	x	1	x	x	x	x	2	10	6	x
	6	1	x	x	x	x	x	4	9	4	x
2,5	1	x	x	x	x	x	x	1	10	3	x
	2	x	x	x	x	x	x	3	10	3	x
	3	x	2	x	x	x	x	1	9	3	x
	4	x	—	x	—	x	—	1	—	3	—
	5	x	x	x	x	x	x	2	9	8	x
	6	x	x	x	x	x	x	2	9	5	x
5,0	1	x	x	x	x	x	x	1	x	x	x
	2	x	x	x	x	x	x	1	x	x	x
	3	x	x	x	x	x	x	1	x	x	x
	4	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
	5	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
	6	x	x	x	x	x	x	1	x	x	x
10,0	1	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
	2	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
	3	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
	4	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
	5	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
	6	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x

— Placa desconsiderada

x Ausente

## 7.5 APÊNDICE 5: Fungos identificados no tempo um

Dose (kGy)	Placa	<i>A. flavus</i>		<i>A. niger</i>		<i>A. ochraceus</i>		Outros		Levedura	
		AFPA	DG 18	AFPA	DG 18	AFPA	DG 18	AFPA	DG 18	AFPA	DG 18
0,0	1	1	8	x	x	x	1	10	10	x	x
	2	—	8	—	x	—	1	—	10	—	x
	3	x	9	x	x	x	3	10	10	x	x
	4	x	9	x	x	x	x	10	10	x	x
	5	1	9	x	x	x	2	10	10	x	x
	6	1	6	x	x	1	1	10	10	x	x
0,5	1	1	2	x	x	x	x	10	10	x	x
	2	1	8	x	x	x	2	10	10	x	x
	3	x	8	x	x	x	x	10	10	x	x
	4	x	8	x	x	x	1	10	10	x	x
	5	1	5	x	x	x	x	10	10	x	x
	6	—	8	—	x	—	2	—	10	—	x
1,0	1	x	1	x	x	x	x	10	10	x	x
	2	x	1	x	x	x	x	7	10	x	x
	3	x	1	x	x	x	x	8	10	x	x
	4	x	x	x	x	x	x	8	10	x	x
	5	x	2	x	x	x	x	9	10	x	x
	6	x	2	x	x	x	x	8	10	x	x
2,5	1	x	x	x	x	x	x	10	10	x	x
	2	x	1	x	x	x	x	8	10	x	x
	3	x	x	x	x	x	x	8	10	x	x
	4	x	1	x	x	x	x	9	10	x	x
	5	—	x	—	x	—	x	—	10	—	x
	6	x	x	x	x	x	x	8	10	x	x
5,0	1	x	x	x	x	x	x	x	x	x	3
	2	x	x	x	x	x	x	x	x	x	7
	3	x	x	x	x	x	x	x	1	x	2
	4	x	x	x	x	x	x	x	x	x	9
	5	x	—	x	—	x	—	x	—	x	—
	6	x	—	x	—	x	—	x	—	x	—
10,0	1	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
	2	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
	3	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
	4	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
	5	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
	6	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x

— Placa desconsiderada

x Ausente

## 7.6 APÊNDICE 6: Fungos identificados no tempo dois

Dose (kGy)	Placa	<i>A. flavus</i>		<i>A. niger</i>		<i>A. ochraceus</i>		Outros		Levedura	
		AFPA	DG 18	AFPA	DG 18	AFPA	DG 18	AFPA	DG 18	AFPA	DG 18
0,0	1	x	x	x	x	1	2	10	10	x	x
	2	x	x	x	x	x	5	10	10	x	x
	3	x	x	x	x	2	2	10	10	x	x
	4	x	1	x	x	2	x	10	10	x	x
	5	—	x	—	x	—	1	—	10	—	x
	6	2	x	x	x	2	2	10	10	x	x
0,5	1	x	x	x	x	x	2	10	10	x	x
	2	1	x	x	x	x	x	10	10	x	x
	3	1	x	x	x	x	1	10	10	x	x
	4	2	1	x	x	x	x	10	10	x	x
	5	x	x	1	x	x	1	10	10	x	x
	6	—	x	—	x	—	x	—	10	—	x
1,0	1	x	x	x	x	x	x	10	10	x	x
	2	x	x	x	x	x	x	10	10	x	x
	3	x	x	x	x	x	x	10	10	x	x
	4	x	x	x	x	x	x	10	10	x	x
	5	x	x	x	x	x	x	10	10	x	x
	6	x	x	x	x	x	x	10	10	x	x
2,5	1	x	x	x	x	x	x	10	10	x	x
	2	x	x	x	x	x	x	10	10	x	x
	3	x	x	x	x	x	x	10	10	x	x
	4	x	x	x	x	x	x	10	10	x	x
	5	x	x	x	x	x	x	10	10	x	x
	6	—	x	—	x	—	x	—	10	—	x
5,0	1	x	x	x	x	x	x	x	x	x	10
	2	x	x	x	x	x	x	x	x	x	10
	3	x	x	x	x	x	x	x	x	x	10
	4	x	x	x	x	x	x	x	x	x	10
	5	x	x	x	x	x	x	x	x	x	10
	6	x	x	x	x	x	x	x	x	x	10
10,0	1	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
	2	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
	3	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
	4	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
	5	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
	6	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x

— Placa desconsiderada

x Ausente

## 8 ANEXOS

8.1 ANEXO 1: Participação relativa de alimentos e grupos de alimentos no total de calorias determinado pela aquisição alimentar domiciliar, por Grandes Regiões – período 2002-2003

Alimentos e grupos de alimentos	Participação relativa, por Grandes Regiões (%)				
	Norte	Nordeste	Sudeste	Sul	Centro-Oeste
<b>Total</b>	<b>100,00</b>	<b>100,00</b>	<b>100,00</b>	<b>100,00</b>	<b>100,00</b>
Cereais e derivados	29,56	36,74	36,86	36,99	38,71
Arroz polido	17,60	17,72	18,25	13,26	26,23
Pão francês	4,53	5,30	6,21	4,77	4,01
Biscoitos	2,19	3,95	2,89	2,90	2,09
Macarrão	1,73	2,78	2,91	2,87	2,14
Farinha de trigo	1,15	0,84	2,08	9,06	2,28
Outros	2,36	6,14	4,52	4,12	1,96
Feijões e outras leguminosas	5,01	9,43	5,91	4,57	5,53
Raízes, tubérculos e derivados	19,26	10,10	2,15	2,62	1,92
Batata	0,31	0,44	0,87	1,21	0,44
Mandioca	0,55	0,26	0,27	0,74	0,35
Outros	18,39	9,39	1,01	0,67	1,12
Carnes	14,86	10,86	11,06	14,27	10,63
Bovina	6,47	5,89	4,04	5,88	5,24
Frango	2,85	2,24	2,57	2,83	2,29
Suína	0,92	0,62	1,14	2,46	1,22
Peixes	3,07	0,69	0,33	0,24	0,23
Embutidos	1,07	1,22	2,93	2,72	1,58
Outras	0,46	0,20	0,05	0,14	0,06
Leites e derivados	3,67	4,35	7,61	7,54	6,64
Leites	3,09	3,44	5,15	5,52	5,34
Queijos	0,31	0,62	1,63	1,27	0,82
Outros	0,27	0,29	0,82	0,75	0,47
Ovos	0,47	0,37	0,02	0,99	0,45
Frutas e sucos naturais	1,22	1,19	1,91	1,85	1,22
Bananas	0,72	0,54	0,73	0,72	0,50
Laranjas	0,08	0,14	0,24	0,25	0,16
Outras	0,42	0,51	0,94	0,88	0,56
Verduras e legumes	0,48	0,66	0,82	0,73	0,69
Tomate	0,10	0,15	0,18	0,13	0,15
Outros	0,38	0,50	0,64	0,60	0,54
Óleos e gorduras vegetais	10,92	10,36	14,35	12,07	16,97
Óleo de soja	9,34	8,12	11,96	9,32	15,39
Margarina	1,41	1,95	1,79	1,82	1,39
Outros	0,17	0,28	0,60	0,94	0,20
Gordura animal	0,69	0,69	1,57	2,17	1,20
Manteiga	0,36	0,43	0,42	0,14	0,31
Toucinho	0,33	0,26	1,15	2,02	0,89
Açúcar e refrigerantes	10,78	13,57	14,18	12,21	13,67
Açúcar	9,87	12,74	12,32	10,40	12,27
Refrigerantes	0,91	0,83	1,87	1,81	1,40
Bebidas alcoólicas	0,18	0,22	0,57	0,67	0,47
Cerveja	0,12	0,13	0,42	0,39	0,35
Aguardente	0,03	0,06	0,09	0,12	0,06
Outras	0,04	0,03	0,07	0,16	0,07
Oleaginosas	1,68	0,07	0,04	0,08	0,02
Condimentos	0,28	0,30	0,83	0,91	0,49
Refeições prontas e misturas industrializadas	0,95	1,09	2,11	2,33	1,40
<b>Total de calorias (kcal/dia <i>per capita</i>)</b>	<b>1 883,89</b>	<b>1 760,60</b>	<b>1 787,35</b>	<b>1 983,53</b>	<b>1 714,20</b>

Fonte: IBGE, Diretoria de Pesquisas, Coordenação de Índices de Preços, Pesquisa de Orçamentos Familiares 2002-2003.

8.2 ANEXO 2: Evolução da participação relativa de alimentos e grupos de alimentos no total de calorias determinado pela aquisição alimentar domiciliar nas Regiões Metropolitanas, Brasília e município de Goiânia, por ano da pesquisa – 1974/2003

Alimentos e grupos de alimentos	Evolução da participação relativa, por ano da pesquisa (%)			
	1974-1975	1987-1988	1995-1996	2002-2003
<b>Total</b>	<b>100,00</b>	<b>100,00</b>	<b>100,00</b>	<b>100,00</b>
Cereais e derivados	37,26	34,72	35,04	35,34
Arroz polido	19,09	16,20	16,02	14,71
Pão francês	10,03	8,02	8,31	8,76
Biscoitos	1,13	1,94	2,69	3,47
Macarrão	3,25	2,54	2,72	3,26
Farinha de trigo	1,08	2,15	1,83	1,57
Outros	2,68	3,87	3,46	3,56
Feijões e outras leguminosas	8,13	5,87	5,71	5,68
Raízes, tubérculos e derivados	4,85	4,10	3,58	3,34
Batata	1,49	1,25	1,01	0,88
Mandioca	0,21	0,16	0,17	0,20
Outros	3,15	2,69	2,41	2,26
Carnes	8,96	10,46	12,98	13,14
Bovina	4,43	4,94	5,90	5,43
Frango	1,55	2,52	3,39	3,22
Suína	0,97	0,92	0,67	0,86
Peixes	0,82	0,58	0,46	0,48
Embutidos	1,05	1,49	2,54	3,04
Outras	0,12	0,01	0,02	0,10
Leites e derivados	5,93	7,95	8,20	8,09
Leites	4,90	6,26	6,31	5,17
Queijos	0,85	1,09	1,37	1,95
Outros	0,18	0,60	0,52	0,98
Ovos	1,15	1,31	0,90	0,18
Frutas e sucos naturais	2,16	2,66	2,58	2,35
Bananas	0,82	0,92	0,73	0,85
Laranjas	0,62	0,74	0,64	0,28
Outras	0,72	0,99	1,21	1,21
Verduras e legumes	1,14	1,15	1,00	0,92
Tomate	0,24	0,19	0,19	0,19
Outros	0,90	0,96	0,81	0,73
Óleos e gorduras vegetais	11,62	14,61	12,55	13,45
Óleo de soja	8,88	11,43	10,19	10,09
Margarina	2,01	2,54	1,80	2,60
Outros	0,73	0,64	0,57	0,77
Gordura animal	3,04	0,95	0,77	1,08
Manteiga	0,92	0,48	0,49	0,61
Toucinho	2,12	0,47	0,29	0,47
Açúcar e refrigerantes	13,78	13,39	13,86	12,41
Açúcar	13,36	12,55	12,51	10,29
Refrigerantes	0,43	0,85	1,35	2,12
Bebidas alcoólicas	0,30	0,51	0,63	0,62
Cerveja	0,18	0,30	0,45	0,47
Aguardente	0,09	0,14	0,10	0,07
Outras	0,03	0,07	0,07	0,08
Oleaginosas	0,10	0,15	0,13	0,21
Condimentos	0,31	0,58	0,57	0,91
Refeições prontas e misturas industrializadas	1,26	1,59	1,50	2,29
<b>Total de calorias (kcal/dia <i>per capita</i>)</b>	<b>1 700,00</b>	<b>1 894,79</b>	<b>1 694,66</b>	<b>1 502,02</b>

Fontes: IBGE, Diretoria de Pesquisas, Coordenação de Índice de Preços, Estudo Nacional da Despesa Familiar 1974-1975 e Pesquisa de Orçamentos Familiares 1987-1988, 1995-1996 e 2002-2003.

# Livros Grátis

( <http://www.livrosgratis.com.br> )

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)  
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)  
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)  
[Baixar livros de Matemática](#)  
[Baixar livros de Medicina](#)  
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)  
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)  
[Baixar livros de Meteorologia](#)  
[Baixar Monografias e TCC](#)  
[Baixar livros Multidisciplinar](#)  
[Baixar livros de Música](#)  
[Baixar livros de Psicologia](#)  
[Baixar livros de Química](#)  
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)  
[Baixar livros de Serviço Social](#)  
[Baixar livros de Sociologia](#)  
[Baixar livros de Teologia](#)  
[Baixar livros de Trabalho](#)  
[Baixar livros de Turismo](#)