



INSTITUTO DE PESQUISAS ENERGÉTICAS E NUCLEARES

Autarquia associada à Universidade de São Paulo

**EFEITO DO PROCESSAMENTO POR RADIAÇÃO DE ^{60}CO NA
ERVA-MATE (*Ilex paraguariensis*)**

CAMILO FURGERI

Dissertação apresentada como parte dos requisitos para obtenção do grau de mestre em ciências na área de tecnologia nuclear – aplicações.

Orientadora:

Dra. Anna Lucia C. H. Villavicencio

SÃO PAULO

2009

Livros Grátis

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

Milhares de livros grátis para download.

INSTITUTO DE PESQUISAS ENERGÉTICAS E NUCLEARES

Autarquia associada à Universidade de São Paulo

**EFEITO DO PROCESSAMENTO POR RADIAÇÃO DE ^{60}CO NA
ERVA-MATE (*Ilex paraguariensis*)**

CAMILO FURGERI

Dissertação apresentada como parte dos requisitos para obtenção do grau de mestre em ciências na área de tecnologia nuclear – aplicações.

**Orientadora:
Dra. Anna Lucia C. H. Villavicencio**

SÃO PAULO

2009

*A minha mãe Ana Ruth, meu pai José Antonio,
meu irmão Marcelo e minha amada Priscila,
por toda dedicação, amor e incentivo.*

AGRADECIMENTOS

A minha orientadora Dra. Anna Lucia C. H. Villavicencio, por sua orientação que contribuiu para meu crescimento profissional e pessoal, por toda dedicação, carinho e amizade;

A Prof. Dra. Deborah Helena Marcowicz Bastos, pela valiosa colaboração e ensinamentos, assim como por disponibilizar seu laboratório e equipamentos, imprescindíveis para a materialização desta pesquisa;

Ao Dr. Valter Arthur, pela ajuda e conselhos no desenvolvimento prático e teórico desta dissertação;

Ao IPEN, especialmente ao Centro de Tecnologia das Radiações, representado pelo Dr. Wilson Aparecido Parejo Calvo, gerente do CTR, e pela Dra. Margarida Hamada, chefe de divisão de pesquisa e desenvolvimento do CTR, pelo apoio financeiro que foi essencial para o desenvolvimento desta pesquisa;

A Faculdade de Saúde Pública, que me acolheu durante o desenvolvimento desta pesquisa, pelo constante apoio e pré-disposição em ajudar e buscar soluções;

A Leão Jr. S/A pela doação das amostras de erva-mate para a realização das análises;

Ao laboratório de dosimetria do CTR, em especial para MSc. Celia Maria Napolitano, Danilo e Salomão por ceder equipamentos essenciais para o desenvolvimento desta pesquisa, como também pelo incentivo e paciência;

A Dra. Sueli Borrely, por ceder equipamentos essenciais para o desenvolvimento da parte laboratorial;

A MSc. Yasco Kodama e ao Paulo de Souza Santos por ajudarem no tratamento por radiação das amostras no irradiador multipropósito;

A minha amiga de pós-graduação Marina, da Faculdade de Saúde Pública, por me ajudar em momentos decisivos do desenvolvimento deste estudo;

Aos Amigos de laboratório do IPEN, que me ajudaram na realização deste trabalho: Michel, Gustavo, Renato, Débora, Ingrid, Patrícia, Priscila, Thaise, Vladimir e Reginaldo;

Aos meus amigos e colegas da Faculdade de Saúde Pública, que contribuíram para o desenvolvimento desta dissertação: Marina, Geni, Yara, Marcela, Patricia, Silvio, Rosana;

Ao meu amigo Willys “*âncora*”, que me acompanhou e deu força, para assim superar os obstáculos;

A minha amada Priscila, por todo amor, incentivo, carinho, compreensão e paciência. Que compartilhou comigo cada momento da realização deste estudo;

A minha querida madrinha Nadyr, que sempre me protege, aconselha e ajuda, com muito carinho e amor;

A minha família, por estar sempre presente e disposta a me ajudar em tudo, com paciência, carinho e amor;

A todos aqueles que colaboraram para a criação, desenvolvimento e conclusão deste estudo os meus mais sinceros agradecimentos.

**“A mente que se abre a uma nova idéia
jamais voltará ao seu tamanho original”**

Albert Einstein

EFEITO DO PROCESSAMENTO POR RADIAÇÃO DE ^{60}Co NA ERVA-MATE

(*Ilex paraguariensis*)

Camilo Furgeri

RESUMO

A erva-mate (*Ilex paraguariensis*), espécie nativa da América do Sul, é consumida principalmente na forma de bebidas típicas denominadas chimarrão e tererê. Um problema que tem afligido este setor é a contaminação fúngica responsável por afetar suas qualidades físicas, sanitárias e nutricionais. No intuito de melhorar a qualidade deste produto, o processamento por radiação pode ser eficiente no combate de agentes patogênicos, pouco comprometendo seus valores nutricionais e propriedades sensoriais. O objetivo desse estudo foi avaliar a eficácia da radiação gama de ^{60}Co em doses de 0, 3, 5, 7 e 10kGy na redução da microbiota fúngica presentes na erva-mate, assim como analisar suas características nutricionais e sensoriais. Este trabalho teve como metodologia: análise de bolores e leveduras, compostos fenólicos totais, análise antioxidante, quantificação de compostos fenólicos e xantinas através de cromatografia líquida e análise sensorial. A análise microbiológica mostrou uma diminuição no desenvolvimento de bolores e leveduras com doses de radiação crescentes. Independentemente da dose de radiação aplicada não houve diminuição de compostos fenólicos totais em ambas as infusões. Ocorreu um decréscimo na capacidade de seqüestrar radicais livres (DPPH) nas doses de 7 e 10kGy para o chimarrão, já para o tererê, a diferença não foi significativa. Quanto ao perfil cromatográfico do chimarrão, não foi observado variações das xantinas, porém ocorreu alteração no perfil quantitativo de compostos fenólicos na dose de 10kGy. No tererê não foi observada diferença significativa para nenhum dos compostos analisados. A análise sensorial não mostrou diferença significativa entre o produto irradiado e não irradiado. Conclui-se que o processamento de erva-mate por radiação gama pode ser uma alternativa viável para as indústrias, uma vez que houve a redução da contaminação fúngica, sem alterações das qualidades sensoriais e com mínimas alterações no perfil quali quantitativo dos compostos bioativos.

EFFECT OF ^{60}Co RADIATION PROCESSING IN MATÉ
(Ilex paraguariensis)

Camilo Furgeri

ABSTRACT

The maté (*Ilex paraguariensis*), a native species from South America, is mainly consumed as typical beverage called *chimarrão* and *tererê*. An important problem that has been afflicting this product since a long time is its natural fungal contamination responsible to affect its physical, health and nutritional qualities. In order to improve this product quality, radiation processing can be effective in reducing pathogens levels, with minimal nutritional and sensory changes. The aim of this study was to evaluate the effectiveness of gamma radiation from ^{60}Co at doses 0, 3, 5, 7 and 10kGy in reducing fungal contamination in mate, as well as analyze its nutritional and sensory characteristics. The following methodologies were applied: analysis of yeast and mold, total phenolic compounds analysis, antioxidant analysis, quantification of phenolic compounds and xanthines by liquid chromatography and sensory analysis. Microbiological analysis showed a decreasing molds and yeasts growth with increasing radiation doses. Regardless of the radiation dose applied there were no decrease of total phenolic compounds in both infusions. *Chimarrão* samples irradiated with 7 and 10kGy showed a decrease in the DPPH radical-scavenger activity, nevertheless for *tererê* samples, there were no significant difference. *Chimarrão* chromatographic profile did not show a variation on xanthines quantification, however a 10kGy radiation dose caused a change to phenolic compounds quantitative profile. *Tererê* samples did not show any significant difference to any analyzed compounds. Sensory analysis did not exhibit a significant difference between irradiated and non irradiated *chimarrão* samples, as well as between irradiated and non irradiated *tererê* samples. It could be concluded that gamma radiation processing of mate may be a feasible alternative to industry, since there was a reduction on fungal contamination, without changes in sensory qualities and with minimum alterations in quantitative and qualitative profile of bioactive compounds.

SUMÁRIO

| | Página |
|--|---------------|
| 1. INTRODUÇÃO | 15 |
| 2. OBJETIVOS | 18 |
| 3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA | 19 |
| 3.1 Irradiação de Alimentos..... | 19 |
| 3.1.1 Histórico da Irradiação de Alimentos..... | 22 |
| 3.1.2 Legislação brasileira para alimentos irradiados..... | 24 |
| 3.1.3 Aceitação do Público..... | 25 |
| 3.1.4 Custos da irradiação de alimentos | 26 |
| 3.2 Radicais Livres..... | 26 |
| 3.3 Estresse oxidativo | 28 |
| 3.4 Ácidos fenólicos como Antioxidante..... | 30 |
| 3.5 Erva - mate (<i>Ilex paraguariensis</i>)..... | 33 |
| 3.5.1 Atividade antioxidante da erva-mate..... | 35 |
| 3.5.2 Beneficiamento do Chimarrão e do Tererê..... | 36 |
| 3.5.3 Importância Econômica | 38 |
| 3.5.4 Contaminação Microbiológica | 39 |
| 3.6 Análise Sensorial | 41 |
| 4. MATERIAL E MÉTODOS | 42 |
| 4.1 Material..... | 42 |
| 4.1.1 amostras | 42 |
| 4.2 Métodos..... | 42 |
| 4.2.1 irradiação..... | 42 |
| 4.2.2 Preparação dos Extratos..... | 43 |

| | |
|--|-----------|
| 4.2.3 Atividade de água..... | 43 |
| 4.2.4 Análise de bolores e leveduras..... | 43 |
| 4.2.5 Análise de detecção de aflatoxina..... | 44 |
| 4.2.6 Determinação de compostos fenólicos totais..... | 45 |
| 4.2.7 Cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE)..... | 46 |
| 4.2.8. Validação do método..... | 47 |
| 4.2.8.1 Recuperação..... | 47 |
| 4.2.8.2 Determinação dos Limites de Detecção e dos Limites de Quantificação..... | 47 |
| 4.2.9 Avaliação da Atividade Antioxidante..... | 48 |
| 4.2.9.1 Determinação da atividade antioxidante pelo método do DPPH (EC50%)..... | 48 |
| 4.2.10 Análise de cor..... | 48 |
| 4.2.11 Análise Sensorial..... | 49 |
| 4.2.11.2 Análise sensorial na indústria..... | 49 |
| 4.2.11.3 Preparo das amostras..... | 49 |
| 4.2.11.4 Aplicação do teste de “Diferença do Controle”..... | 50 |
| 4.2.12 Aspectos éticos..... | 50 |
| 4.2.13 Análise estatística..... | 50 |
| | |
| 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO..... | 51 |
| 5.1 Determinação da atividade de água (<i>A_a</i>)..... | 51 |
| 5.2 Avaliação de Fungos e Leveduras | 51 |
| 5.3 Detecção Aflatoxina..... | 53 |
| 5.4 Compostos Fenólicos Totais..... | 54 |
| 5.5 Cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE)..... | 55 |
| 5.6 Avaliação da atividade antioxidante | 60 |
| 5.6.1 Ensaio 1,1-Difenil-2-Picrilhidrazil (DPPH)..... | 60 |
| 5.7 Análise colorimétrica | 61 |
| 5.8 Análise Sensorial | 63 |
| | |
| 6. CONCLUSÕES..... | 65 |

| | |
|--|----|
| 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS. | 67 |
| ANEXOS | 83 |
| Anexo 1- Fichas utilizadas na análise sensorial..... | 83 |
| Anexo 2- Aprovação do comitê de ética..... | 84 |

LISTA DE TABELAS

| | Página |
|--|---------------|
| TABELA 1 - Tipos diversos de radicais livres..... | 27 |
| TABELA 2 - Fatores que favorecem a formação de radicais livres..... | 29 |
| TABELA 3 - Níveis de Atividade de água (<i>A_a</i>) das amostras de erva-mate..... | 51 |
| TABELA 4 - Total de compostos fenólicos presentes no chimarrão e no tererê..... | 54 |
| TABELA 5 - Quantificação de compostos fenólicos e xantinas no extrato de chimarrão..... | 55 |
| TABELA 6 - Quantificação de compostos fenólicos e xantinas no extrato de tererê..... | 56 |
| TABELA 7 - Quantificação de compostos fenólicos totais solúveis no extrato de chimarrão e tererê..... | 59 |
| TABELA 8 - resultados referentes à validação do método no extrato do chimarrão..... | 59 |
| TABELA 9 - resultados referentes à validação do método no extrato do tererê..... | 60 |
| TABELA 10 - Atividade de inibição do DPPH (IC50%) pelo chimarrão..... | 60 |
| TABELA 11 - Atividade de inibição de DPPH (IC50%) pelo tererê..... | 61 |
| TABELA 12 - Médias que representam avaliação colorimétrica do extrato de chimarrão..... | 62 |
| TABELA 13 - Médias que representam avaliação colorimétrica do extrato tererê..... | 63 |
| TABELA 14 – Médias que representa a diferença global entre a erva mãe irradiada e não irradiada para o chimarrão e o tererê..... | 63 |
| TABELA 15 - Médias que representa a diferença global e de aparência entre a erva-mate irradiada e não irradiada para o chimarrão..... | 6.4 |

LISTA DE FIGURAS

Página

| | |
|---|----|
| FIGURA 1- Radura: símbolo utilizado em produtos irradiados..... | 25 |
| FIGURA 2 - Algumas doenças relacionadas com a geração de radicais livres..... | 29 |
| FIGURA 3 - Exemplo de compostos fitoquímicos presentes em alimentos vegetais, com a classificação dos compostos fenólicos..... | 31 |
| FIGURA 4 - Aparência da árvore de <i>Ilex paraguariensis</i> e suas folhas e flores..... | 34 |
| FIGURA 5 - Erva- mate submetida ao processo de soque..... | 38 |
| FIGURA 6 - Quantidade produzida em toneladas de erva-mate cancheada..... | 39 |
| FIGURA 7- Irradiador multipropósito – IPEN..... | 42 |
| FIGURA 8 - Procedimento utilizado para análise de bolores e leveduras..... | 44 |
| FIGURA 9 - Fungo <i>Aspergillus flavus</i> inoculado em placa de Agar coco e desenvolvimento colônia gigante..... | 44 |
| FIGURA 10 - Aplicação dos padrões e amostras de erva-mate em sílica gel..... | 45 |
| FIGURA 11- Quantificação de bolores e leveduras presentes na erva-mate..... | 52 |
| FIGURA 12 - Placa de gel sílica submetida à luz UV..... | 53 |
| FIGURA 13 - Perfil cromatográfico da amostra controle de chimarrão no comprimento de onda 272nm..... | 57 |
| FIGURA 14 - Perfil cromatográfico da amostra de chimarrão irradiada com a dose de 10kGy no comprimento de onda 272nm..... | 57 |

| | |
|--|----|
| FIGURA 15 - Perfil cromatográfico da amostra controle do tererê no comprimento de onda 272nm..... | 57 |
| FIGURA 16 - Perfil cromatográfico da amostra de chimarrão irradiada com a dose de 10kGy no comprimento de onda 272nm..... | 58 |

1. INTRODUÇÃO

A erva-mate (*Ilex paraguariensis*) planta nativa da região subtropical da América do Sul faz parte da cultura e história do Brasil, Paraguai, Uruguai e Argentina. Sendo um dos sistemas de exploração agroflorestais mais antigos e característicos da Região Sul do Brasil (ESMELINDRO *et al.*, 2002).

A produção brasileira anual está em torno de 226.000 toneladas (IBGE, 2008) sendo os principais estados produtores, Paraná, Santa Catarina, Rio Grande do Sul e Mato Grosso do Sul. O maior consumidor é o Estado do Rio Grande do Sul, representando cerca de 50-60% da comercialização no país, no entanto, essa cultura vem se expandindo, chegando a estados do norte com consumo significativo (HENRICHS & MALAVOLTA, 2001).

As folhas e ramos da erva-mate são utilizados para a preparação de bebidas alimentícias e estimulantes como o chá, chimarrão e o tererê, sendo que estes dois últimos possuem como características distintas sua regionalidade e temperatura de infusão, sendo o chimarrão preparado com água quente e o tererê com água fria. O consumo de erva-mate na América do Sul atinge aproximadamente 30% da população que consomem em média um litro dessas bebidas por dia (FILIP *et al.*, 2000; BASTOS *et al.*, 2007).

A erva-mate é considerada na literatura como uma das melhores fontes de compostos antioxidantes. Entre os antioxidantes presentes, os mais ativos e frequentemente encontrados são os compostos fenólicos. A ação antioxidante destes constituintes tem sido relacionada à proteção do organismo contra os radicais livres, gerados *in vivo*, que estão envolvidos na instalação de várias doenças degenerativas, como câncer, aterosclerose, artrite reumática, desordens cardiovasculares entre outros. Os compostos fenólicos podem inibir os processos da oxidação em certos sistemas, mas isso não significa que eles possam proteger as células e os tecidos de todos os tipos de danos oxidativos. Esses compostos podem apresentar atividade pró-oxidante em determinadas condições (FILIP *et al.*, 2001; BASTOS *et al.*, 2006; LUNCEFORD & GUGLIUCCI, 2005).

Um problema que tem afligido o setor ervateiro é a contaminação microbiológica que afeta as qualidades físicas, sanitárias e nutricionais da erva-mate. Por se tratar de produto extremamente desidratado poucos são os microrganismos que podem se multiplicar neste material. Entretanto, os fungos filamentosos por apresentarem estruturas de resistência, podem permanecer no produto até que existam condições físicas e nutricionais para o seu desenvolvimento. As condições da coleta, manipulação, secagem, transporte e estocagem podem propiciar o desenvolvimento destes microrganismos, que quando em presença excessiva resulta na deterioração ou redução da vida útil do alimento (LAZARETTI *et al.*, 2000; RENOVATTO & AGOSTINI, 2008; VALDUGA *et al.*, 2005).

Alguns fungos encontrados na erva-mate também podem ser produtores de toxinas, as chamadas micotoxinas, dentre os quais destacam-se *Aspergillus* sp. e *Penicillium* sp. que, dependendo da espécie e das condições de armazenamento, podem produzir aflatoxinas e ocratoxinas, respectivamente. Estas micotoxinas, dependendo da quantidade ingerida, podem ser nocivas à saúde humana, vindo a ser carcinogênicas ou hepatotóxicas (BORGES *et al.*, 2002; BERNARDI *et al.*, 2005).

Para garantir a qualidade de um alimento, tanto do ponto de vista de saúde pública bem como para aumentar sua vida útil, existem vários métodos disponíveis para as indústrias alimentícias, sendo um deles a irradiação. A irradiação de alimentos, é considerado um tratamento versátil e efetivo para a preservação, desinfestação e descontaminação dos mais diversos produtos do setor alimentício (ARAUJO *et al.*, 2007; FANARO *et al.*, 2007).

As radiações utilizadas no processamento de alimentos não possuem energia suficiente para provocar qualquer reação nuclear na matéria e, portanto, não deixam nenhum resíduo radioativo no material após a irradiação. Por esta razão, o alimento ou qualquer outro material submetido a esse tipo de radiação não se torna radioativo (FARKAS, 2001).

A irradiação de alimentos é um método simples e seguro para a preservação e armazenamento de alimentos em longo prazo, sendo uma alternativa mais atrativa e saudável, quando comparada aos tratamentos químicos, proibidos atualmente devido aos

resíduos tóxicos (CALUCCI *et al.*, 2003; SALUM *et al.*, 2007). Além disso a irradiação de alimentos atende medidas de preservação ambiental, diminuindo gastos energéticos e riscos sanitários.

Em função do aumento do comércio internacional de alimentos, das crescentes exigências regulatórias dos mercados consumidores, cada vez mais países importadores e exportadores estão apresentando interesse na irradiação de alimentos, e desenvolvido pesquisas na aplicação prática desta tecnologia (ICGFI, 1999).

2. OBJETIVOS

O presente trabalho teve como objetivos:

- ❖ Analisar a eficácia da radiação gama em diferentes doses na descontaminação de bolores e leveduras da erva-mate.
- ❖ Verificar a presença de aflatoxinas nas amostras de erva-mate.
- ❖ Avaliar e comparar os fenólicos totais da erva-mate irradiada e não irradiada na forma de extrato de tererê e chimarrão.
- ❖ Quantificar os compostos fenólicos (5CQA - Ácido 5 Cafeoilquinico e Ácido Caféico) e xantinas (Cafeína e Teobromina) da erva-mate irradiada e não irradiada por CLAE (cromatografia líquida de alta eficiência).
- ❖ Determinar e comparar a ação dos compostos antioxidantes da erva-mate irradiada e não irradiada pelo método DPPH (1,1-difenil 2-picrilhidrazil) no extrato chimarrão e tererê.
- ❖ Identificar as diferenças através da análise colorimétrica da erva-mate irradiada e não irradiada na forma de extrato de tererê e chimarrão.
- ❖ Analisar se o processamento por radiação altera as características sensoriais da erva-mate.

3. REVISÃO DA LITERATURA

3.1 Irradiação de Alimentos

A irradiação é o fenômeno físico pelo qual ocorre a emissão e propagação de energia através do espaço ou de uma matéria (RADOMYSKI *et al.*, 1994). A irradiação de alimentos é um meio de preservação dos alimentos que está em desenvolvimento desde o começo do século XX (MOREHOUSE, 2002). O processamento de alimentos por radiação requer uma exposição controlada e cuidadosa frente à radiação ionizante de energia conhecida. A exposição deve ser adequada para produzir um resultado desejado, evitando, ao mesmo tempo, a degradação do alimento (WHO, 1994; DIEHL, 2002).

A radiação mais utilizada no processo de conservação de alimentos é a do tipo gama (de isótopos radioativos de ^{60}Co e ^{137}Cs), mas também são utilizados em menor escala raios X e feixes de elétrons. Os raios gama e raios-X têm maior capacidade de penetração no alimento do que os feixes de elétrons, por isso o tratamento com aceleradores de elétrons somente é efetivo quando for levada em consideração a energia do equipamento, a espessura e a atividade de água do produto a ser irradiada, esta última deve ser considerada também na irradiação com raios gama e com raios-X (GAO, 2000). Nenhuma destas fontes de irradiação tem energia suficiente para ser capaz de induzir radioatividade no alimento, entretanto têm energia suficiente para remover elétrons dos átomos para formar íons ou radical livre. A quantidade de radiação ionizante absorvida é chamada de dose de radiação absorvida e é medida por unidade de Grays (1 Gy = 100 rads e 1 rad = 100 erg/g), sendo 1 Gy o equivalente a 1 Joule/Kg e 1000 Grays equivalente a 1 kiloGray (kGy) (OLSON, 1998).

Os alimentos são tratados por irradiação para alcançar diferentes objetivos tais como: reduzir microorganismos patogênicos causadores de doenças, prolongar a vida de prateleira do produto, bem como retardar brotamento de raízes e o amadurecimento de frutas e vegetais (DIEHL, 1995; MOREHOUSE, 2002; NUNES *et al.*, 2007).

Segundo o Grupo Consultivo Internacional sobre Irradiação de Alimentos (ICGFI) as doses de irradiação são divididas em três categorias: irradiação de dose baixa – Até 1kGy (inibição de brotamento; atraso na maturação; desinfestação de insetos, inativação de parasitas); irradiação de dose média – 1 à 10kGy (redução do número de microorganismos de decomposição; redução do número ou eliminação de patógenos não formadores de esporos); irradiação de alta dose – acima de 10kGy (redução de microorganismos ao ponto da esterilidade) (ICGFI,1999).

Essa técnica deve ser aplicada em alimentos já embalados evitando, desta forma, a recontaminação. Como em qualquer outro tipo de processamento, a irradiação deve produzir produtos de acordo com as boas práticas de fabricação (VILLAVICENCIO, 1998; SILVA *et al.*, 2007). Porém, assim como outros métodos de preservação de alimentos, a irradiação não pode inverter o processo de decomposição e fazer com que o alimento deteriorado se torne próprio para o consumo (DEL MASTRO, 1999; FANARO *et al.*, 2007; ARAUJO *et al.*, 2007).

O processo de irradiação pode inibir a divisão de células vivas, como microorganismos, promovendo uma alteração em seu material genético, a ponto de inibir os processos biológicos necessários para sua sobrevivência (TALLENTIRE, 1980; DIEHL, 1995; MURANO, 1995; SABUNDJIAN *et al.*, 2007). Com isso, torna-se possível o armazenamento dos alimentos por um prazo mais extenso, comparado ao armazenamento sem irradiação previa, dispensando o uso de conservantes químicos muitas vezes nocivos a saúde (DELINCÉE, 2005).

Os efeitos da radiação não podem ser descritos de maneira geral para todos os organismos, uma vez que esses efeitos estão relacionados com a natureza do organismo e, principalmente, com a sua complexidade. A quantidade de radiação necessária para controlar microorganismos nos alimentos, varia também em função da resistência da espécie em particular e o numero de organismos presentes. Além das habilidades inerentes dos microorganismos, vários fatores ambientais, tais como a composição do meio, teor de umidade, presença e ausência de oxigênio, entre outros, influenciam significativamente na capacidade de resistência desses microorganismos (RAZSKAZOVSKIY *et al.*, 2003; ARAUJO *et al.*, 2007).

A radiação ionizante pode agir de modo direto ou indireto. A ação direta ocorre quando a radiação atinge diretamente uma ligação química, quer de uma proteína, lipídio ou um carboidrato gerando radicais livres, quer de um DNA microbiano impedindo sua reprodução e levando à inativação dos microrganismos. A ação indireta ocorre pela ionização de moléculas adjacentes ao DNA, tal como a água, gerando radicais livres e estes radicais atacam outras moléculas incluindo o material genético. A água é a principal molécula na maioria dos alimentos e microorganismos, e é freqüentemente a molécula mais atingida pela radiação (GRECZ *et al.*, 1983; FARKAS, 1987; MURANO *et al.*, 1995; SABUNDJIAN *et al.*, 2007).

Os alimentos em geral, contêm alguns componentes-chaves que, embora presentes em concentrações muito baixas, regulam o sabor, aspecto e valor nutritivo (WHO, 1994, KITAZURU *et al.*, 2004; TRINDADE *et al.*, 2007; SILVA *et al.*, 2007). Esses componentes são muito sensíveis à irradiação e, se a dose de radiação for alta, pode causar transformações prejudiciais no sabor, odor e cor desses alimentos (VILLAVICENCIO, 1998, DELINCÉE, 1998b). Em geral, o processo de irradiação nas doses recomendadas, acarreta poucas alterações químicas nos alimentos. Segundo Diehl (1992; 1995), com doses de até 1,0kGy, as perdas nutricionais são consideradas insignificantes e nenhuma das alterações conhecidas encontradas nos alimentos irradiados é nociva ou perigosa, estando dentro dos limites encontrados normalmente para alimentos (DELINCÉE *et al.*, 1998). As perdas são menores quando o tratamento pela radiação é conjugado com baixa temperatura e vácuo, podendo-se assim, aumentar as doses de radiação, sem prejuízo do valor nutricional do alimento (DIEHL *et al.*, 1992). Pesquisas demonstraram que macronutrientes tais como proteínas, carboidratos e gorduras são relativamente estáveis a doses de até 10kGy, e que os micronutrientes, principalmente as vitaminas, podem ser sensíveis a qualquer método de tratamento de alimentos (VILLAVICENCIO *et al.*, 2000).

Nas últimas décadas a irradiação de alimentos tem recebido atenção crescente devido às vantagens que apresenta sobre os métodos convencionais de processamento. Este método possibilita o tratamento dos alimentos após a embalagem, a conservação dos produtos em seu estado fresco, assim, alimentos perecíveis podem ser conservados por

mais tempo sem perder sua qualidade e o produto praticamente não sofre alterações de temperatura (FARKAS, 2006; VILLAVICENCIO, 1998).

A influência na qualidade nutritiva dos alimentos não é maior do que outros métodos convencionais utilizados para o tratamento e conservação como, por exemplo, o método de aquecimento, não afetando significamente o alimento (HENRY & CHAPMAN, 2002; LIMA *et al.*, 2001).

Entre 1964 e 1997 especificamente, a Organização Mundial de Saúde acompanhou de maneira mais intensa os resultados desses estudos com alimentos irradiados, em conjunto com Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação (FAO) e a Agência Internacional de Energia Atômica (IAEA), através de uma série de reuniões com especialistas de diversos países do mundo. Na reunião de setembro de 1997, a conclusão final divulgada foi: a OMS aprova e recomenda a irradiação de alimentos, em doses que não comprometam suas características organolépticas, sem a necessidade de testes toxicológicos. A partir disto, a irradiação de determinados alimentos e ingredientes para alimentos foi aprovada pelas autoridades de saúde em aproximadamente 60 países (DELINCÉE, 2005).

3.1.1 Histórico da Irradiação de Alimentos

Com a descoberta da radiatividade em 1895, foi publicado neste mesmo ano um estudo que sugeria a utilização da energia ionizante para combater microorganismos em alimentos, porém os primeiros estudos científicos sobre a técnica ocorreu a partir de 1905. O desenvolvimento das pesquisas sobre irradiação se intensificou durante a segunda guerra mundial, resultando em um programa intitulado “Atoms for Peace” (Átomos para a Paz) (BOISSEAU, 1994; DEL MASTRO, 1999).

O primeiro uso comercial da irradiação de alimentos ocorreu em 1957 na Alemanha quando produtores de condimentos começaram a melhorar a qualidade higiênica de seus produtos pela irradiação com elétrons. No Canadá a irradiação de batatas para inibir o brotamento foi permitida em 1960, e uma fonte de ^{60}Co iniciou o processo em

1965. Apesar dos impasses que foram surgindo, o interesse na irradiação de alimentos continuou ao redor do mundo (DIEHL, 2002).

A primeira aprovação para o uso da irradiação em produtos alimentícios dada pela Food and Drug Administration foi em 1963 para irradiar trigo e farinha de trigo com a finalidade de desinfestação de insetos (SANZ, 2008).

O primeiro Simpósio Internacional de Irradiação de Alimentos, ocorreu em 1966, com a participação de 28 países que revisaram o progresso feito nos programas de pesquisas (IAEA, 1966). As autoridades de saúde permaneciam relutantes em apoiar e difundir a irradiação de alimentos, devido a questões ainda não respondidas sobre a segurança para o consumo humano (DIEHL, 2002). Em 1970, um projeto internacional foi criado com o objetivo de patrocinar programas de pesquisas mundiais sobre a salubridade de alimentos irradiados. Foram dez anos de pesquisas patrocinadas pela IAEA (International Atomic Energy Atomic), FAO (Food and Agriculture Organization), OECD (Organization for Economic Cooperation and Development) e WHO (World Health Organization), que concluíram que a irradiação de alimentos é um processo seguro, prático e benéfico (DELINCÉE *et al.*, 1998; SPOTO *et al.*, 1999; LACROIX & OUATARRA, 2000; SPOLAORE, 2003).

No Brasil, as primeiras pesquisas com irradiação de alimentos foram feitas na década de 50, pelo Centro de Energia Nuclear na Agricultura (CENA), em Piracicaba (SP). Mesmo com a permissão em 1985, do uso da irradiação para a conservação de alimentos, os estudos se restringiram quase que exclusivamente as instituições de pesquisas, uma vez que o País contava com um número restrito de especialistas (SANZ, 2008).

Atualmente no Brasil, há empresas que atuam na área de irradiação de alimentos em escala comercial, desde a década de 80, tanto com irradiadores de ^{60}Co , quanto com aceleradores de elétrons, as mais atuais. Tendo como principal tipo de alimento irradiado as especiarias (pimenta, cominho, páprica, entre outros).

3.1.2 Legislação Brasileira para Alimentos Irrradiados

A Legislação brasileira sobre irradiação de alimentos segue as recomendações internacionais sugeridas pela Food and agriculture Organization (FAO), International Atomic Energy Agency (IAEA) e Codex Alimentarium, da Organização das Nações Unidas.

No Brasil, o decreto nº 72.718 de 29/08/1973 estabeleceu e regulamentou a irradiação de alimentos com portarias complementares editadas em 1985 e 1989. A Portaria nº 30 de 02/08/89, da Divisão de Alimentos do Ministério da Saúde, indicava uma lista de produtos aprovados para irradiação e suas respectivas doses, determinava como dose limite 10kGy e proibia a re-irradiação. Em 26/01/2001, a Agência Internacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), aprovou a Resolução (RDC) nº21, que não restringe quais alimentos podem ser irradiados e nem a dose máxima absorvida para se obter o fim desejado, desde que não haja prejuízo nas suas qualidades funcionais e sensoriais.

Segundo a RDC nº 21, qualquer alimento pode ser irradiado desde que sejam observadas as seguintes condições:

- a dose mínima absorvida deve ser suficiente para alcançar a finalidade pretendida;
- a dose máxima absorvida de ser inferior àquela que comprometeria as propriedades funcionais e ou atributos sensoriais do alimento;
- a embalagem deve ter condições higiênicas aceitáveis para o processo de irradiação.

A RDC nº21 estabelece ainda que, quando um produto irradiado é usado como ingrediente em outro alimento, este fato deve ser mencionado na embalagem final com o símbolo “radura” (FIGURA 1) indicando que o alimento foi tratado por irradiação.



FIGURA 1- Radura: símbolo utilizado em produtos irradiados.

3.1.3 Aceitação do Público

A radiação ionizante tem sido empregada com muito sucesso ao longo dos anos em diferentes ramos da indústria alimentícia. Apesar disso, esta tecnologia não teve grande avanço comercial, devido à falta de informações ou interpretações errôneas do consumidor que tem limitado o uso dessa tecnologia, sem compreender de modo amplo os benefícios vinculados a este tipo de processamento (ORNELLAS *et al.*, 2006).

Pesquisas de opinião feitas com consumidores, evidenciaram que a falta de informação é um fator limitante do uso desta tecnologia. Segundo ORNELLAS *et al.* (2006), foi possível constatar que 89% dos entrevistados comeriam alimentos irradiados se soubessem que a irradiação aumenta a segurança alimentar contra inúmeras doenças. Fato também constatado CROWLEY *et al.* (2002), que demonstra que há maior disposição de compra a produtos, quando se tem expectativas de benefícios a saúde.

Estudos têm revelado que informações científicas sobre irradiação de alimentos reflete uma boa aceitação por parte do consumidor (CROWLEY *et al.* 2002). FOX (2002) relatou que dependendo da maneira como essa tecnologia é apresentada a aceitabilidade oscila entre os 45% a mais de 90%. NAYGA *et al.* (2004) documentaram que o nível de preocupação e de sensibilização, como a disponibilidade de informação, são fatores pelos quais os consumidores comprariam alimentos irradiados.

Perante esses fatos, torna-se importante educar o público consumidor sobre essa tecnologia e seus benefícios, como também esclarecer informações errôneas que não condiz com esse tipo de processamento.

3.1.4 Custos da irradiação de alimentos

Como qualquer tipo de processamento ou tratamento de alimentos, a irradiação de um alimento irá adicionar custo. Em sua grande maioria os preços dos alimentos ou produtos não aumentam necessariamente apenas porque o produto foi tratado. Existem diversas variáveis que afetam o custo. Entre os tratamentos existentes estão enlatamento, congelamento, pasteurização, refrigeração, fumigação e a irradiação. Todos trarão benefícios aos consumidores em termos de disponibilidade e quantidade, tempo de armazenamento, conveniência e a melhoria na higiene (ICGFI, 1999).

Na irradiação de alimentos os principais fatores que influenciam a economia incluem: parâmetros de projeto de irradiação tais como dose aplicada, densidade de acondicionamento dos produtos, condições de manuseio como produtos secos, deterioráveis, que necessitam de temperatura de conservação controlada, uniformidade da dose e produtividade operacional. Os custos de irradiação variam de US\$10 a \$15 por tonelada para uma aplicação de baixa dose (como por exemplo, para inibir o crescimento de brotos em batatas e cebolas) e de US\$100 a \$250 por tonelada para aplicação de altas doses (por exemplo, para assegurar a qualidade higiênica de especiarias) (ICGFI, 1999; NEVES *et al.*, 2002).

3.2 Radicais Livres

A respiração é um fenômeno intimamente relacionado com a vida; produz, entretanto, colateralmente, os radicais livres (HALLIWELL & GUTTERIDGE 2000). As mitocôndrias consomem mais de 90% do oxigênio disponível no organismo, sendo o principal local de formação dos radicais livres, que podem ser gerados também no citoplasma ou na membrana plasmática e o seu alvo celular (proteínas, lipídeos,

carboidratos e DNA) está relacionado com o seu sítio de formação (ANDERSON, 1996; YU & ANDERSON, 1997; VALKO *et al.*, 2006). A geração dos radicais livres constitui uma ação contínua e fisiológica, cumprindo funções biológicas essenciais (OKEZIE, 1998).

As moléculas orgânicas e inorgânicas e os átomos que contêm um ou mais elétrons não pareados, com existência independente, podem ser classificados como radicais livres (HALLIWELL, 1994). Essa configuração faz dos radicais livres moléculas altamente instáveis, com meia-vida curtíssima e quimicamente muito reativas. Nos processos biológicos há formação de uma variedade de radicais livres (TABELA 1). A presença dos radicais é crítica para a manutenção de muitas funções fisiológicas normais (POMPELLA, 1997).

TABELA 1 – Tipos diversos de radicais livres (SOARES, 2002).

| Radicais do Oxigênio | Radicais do Nitrogênio | Radicais de Carbono | Radicais de Enxofre |
|------------------------------------|-------------------------------|----------------------------|----------------------------|
| O_2^- Íon superóxido | $C_6H_5N=N^-$ Fenildiazina | CCl_3^- Triclorometil | RS^- Tiol |
| OH^- Hidroxila | NO^- Óxido nítrico | | |
| H_2O_2 Peróxido de Hidrogênio | | | |
| RO^- Alcoxila | | | |
| ROO^- Peroxila | | | |
| HOO^- Peridroxila | | | |
| $^1O^2$ Oxigênio singlete | | | |

Em sua maioria, os radicais livres derivam do oxigênio e denominam-se genericamente “EROs” (Espécies Reativas de Oxigênio) (SOARES, 2002). As EROs também podem se referir às espécies que não são radicais livres, e sim algumas moléculas derivadas de O₂ capazes de gerar radical livre, como o peróxido de hidrogênio (H₂O₂) (HALLIWELL & GUTTERIDGE 2000).

Estes radicais irão causar alterações nas células, agindo diretamente sobre alguns componentes celulares. Os ácidos graxos poliinsaturados das membranas, por exemplo, são muito vulneráveis ao ataque de radicais livres. Estas moléculas desencadeiam reações de oxidação nos ácidos graxos da membrana lipoprotéica, denominadas de peroxidação lipídica, que afetarão a integridade estrutural e funcional da membrana celular, alterando sua fluidez e permeabilidade. Além disso, os produtos da oxidação dos lipídios da membrana podem causar alterações em certas funções celulares (RICE-EVANS & BURDON, 1993). Os radicais livres podem provocar também modificações nas proteínas celulares, resultando em sua fragmentação, *cross linking*, agregação e, em certos casos, ativação ou inativação de certas enzimas devido à reação dos radicais livres com aminoácidos constituintes da cadeia polipeptídica. A reação de radicais livres com ácidos nucléicos também foi observada, gerando mudanças em moléculas de DNA e acarretando certas aberrações cromossômicas (ERENEL *et al.*, 1993). Além destes efeitos indiretos, há a ação tóxica resultante de altas concentrações de íon superóxido e peróxido de hidrogênio na célula (HALLIWELL *et al.*, 1995).

3.3 Estresse oxidativo

A formação de radicais livres *in vivo* ocorre via ação catalítica de enzimas, durante os processos de transferência de elétrons que ocorrem no metabolismo celular e pela exposição a fatores exógenos (TABELA 2). O estresse oxidativo dentro do organismo se dá quando há um desequilíbrio entre moléculas oxidantes e antioxidantes, sendo a geração de radicais livres, superior a das substâncias antioxidantes (CHAUDIERE e FERRARI-ILIOU, 1999; CHOW, 2002; BIANCHI & ANTUNES, 1999).

TABELA 2 - Fatores que favorecem a formação de radicais livres (BIANCHI & ANTUNES, 1999)

| Endógenas | Exógenas |
|---------------------------|-------------------------------|
| Respiração aeróbica | Ozônio |
| Inflamações | Radiações gama e ultravioleta |
| Peroxisomos | Medicamentos |
| Enzimas do citocromo P450 | Dieta |
| | Cigarro |

Os danos oxidativos causados nas células e tecidos têm sido relacionados com o desenvolvimento de várias doenças crônicas degenerativas tais como as cardiopatias, aterosclerose e problemas pulmonares (FIGURA 2). Os danos no DNA causados pelos radicais livres também desempenham um papel importante nos processos de mutagênese e carcinogênese (FINKEL e HOLBROOK, 2000) .



FIGURA 2 - Algumas doenças relacionadas com a geração de radicais livres (SHAHIDI, *et al.* 1992).

Estudos realizados nas ultimas décadas comprova que o consumo regular de alimentos com agentes protetores, como por exemplo, os antioxidantes reduzem consideravelmente o risco de diversas patologias principalmente as doenças crônicas não transmissíveis (DAGLIA *et al.*, 2000; DUTHIE *et al.* 2005; MOREIRA *et al.*, 2005).

3.4 Ácidos fenólicos como Antioxidantes

Os antioxidantes são capazes de inibir a oxidação de diversos substratos, de moléculas simples a polímeros e biosistemas complexos, por meio de dois mecanismos: o primeiro envolve a inibição da formação de radicais livres que possibilitam a etapa de iniciação; o segundo abrange a eliminação de radicais importantes na etapa de propagação, como alcoxila e peroxila, através da doação de átomos de hidrogênio a estas moléculas, interrompendo a reação em cadeia (NAMIKI, 1990; SIMIC & JAVANOVIC, 1994).

Em geral os compostos fenólicos são multifuncionais como antioxidantes, pois atuam de várias formas: combatendo os radicais livres, pela doação de um átomo de hidrogênio de um grupo hidroxila (OH) da sua estrutura aromática, que possui a capacidade de suportar um elétron desemparelhado através do deslocamento deste ao redor de todo o sistema de elétrons da molécula e algumas vezes como quelantes, metais de transição, como o Fe^{2+} e o Cu^{+} ; agindo tanto na etapa de iniciação como na propagação do processo oxidativo (PODSEDEK, 2007; KYUNGMI & EBELER, 2008).

Os compostos fenólicos compõem a grande classe dos fitoquímicos alimentares. Sua fórmula química contém pelo menos um anel aromático, ao qual está unida uma (ou mais) hidroxila(s). Existe uma grande variedade de compostos fenólicos (FIGURA - 3), classificados em dois grandes grupos, flavonóides e ácidos fenólicos (KARAKAYA, 2004).

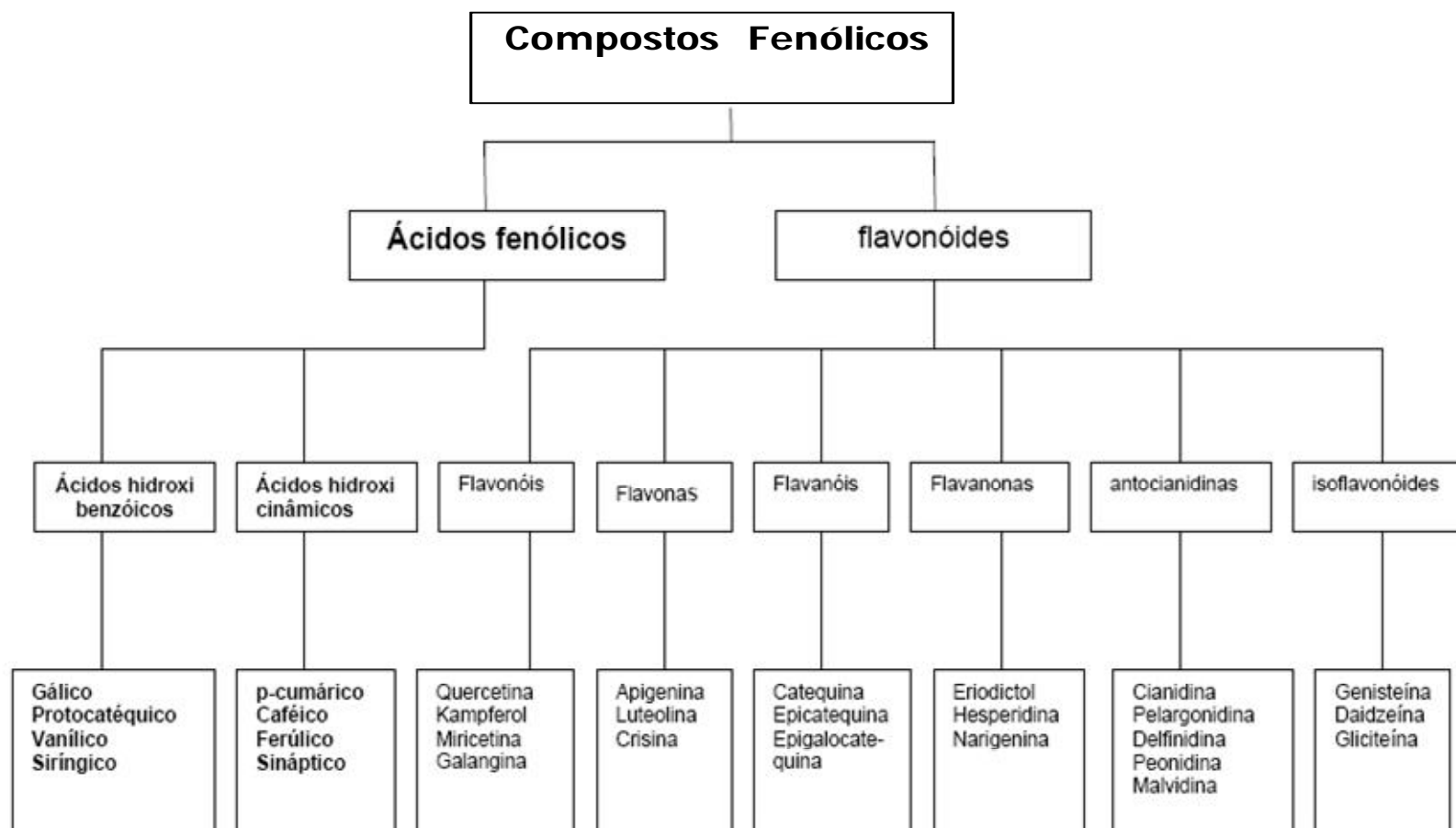


FIGURA 3 - Exemplo de compostos fitoquímicos presentes em alimentos vegetais, com a classificação dos compostos fenólicos, (KARAKAYA, 2004).

Os flavonóides são formados por dois anéis aromáticos unidos por um heterociclo oxigenado. Dependendo do grau de hidrogenação e da substituição do heterociclo, diferenciam-se em flavonóis, flavanonas, antocianidinas e isoflavonóides. Encontram-se geralmente ligados a açúcares, formando glicosídeos (KARAKAYA, 2004).

Os ácidos fenólicos são compostos hidrobenzóicos e hidrocínâmicos, que contêm um anel aromático com pelo menos um grupo hidroxila e com diferentes grupos funcionais: aldeídos, alcoóis ou ácidos; que podem formar ésteres com os ácidos orgânicos ou unir-se a açúcares. Os ácidos clorogênicos são os derivados hidroxicinâmicos mais abundantes e de maior distribuição dos alimentos (NARDINI *et al.*, 2006; GONTHIER *et al.*, 2003). O grupo dos ácidos clorogênicos representa um conjunto de compostos fenólicos, formado principalmente pela esterificação do ácido quínico com um dos derivados do ácido hidrocínâmico. O ácido 5-cafeoilquínico (5-CQA) é o mais relatado dentro desta classe de substâncias, formado pela esterificação do ácido caféico. (FARAH & DONANGELO, 2006).

Outros compostos de natureza fenólica são os estilbenos, lignanos e, de forma polimerizada, os taninos e ligninas. Algumas das propriedades dos vegetais (como a cor, a adstringência e o aroma) são devidas aos compostos fenólicos (MANACH *et al.*, 2004).

O grau de hidroxilação e a posição dos grupos hidroxila na molécula dos compostos fenólicos estão entre os mais importantes fatores que determinam sua atividade antioxidante. A solubilidade e os efeitos estéricos de cada molécula podem ser afetados pelo tipo de estrutura, como no caso dos derivados glicosilados, que podem aumentar ou diminuir a atividade antioxidante (RICE-EVANS *et al.*, 1996).

Em face das várias funções biológicas atribuídas aos compostos fenólicos, inúmeros trabalhos têm sido realizados com o objetivo de identificar e purificar tais compostos. A presença de compostos fenólicos em plantas, em especial na erva-mate que tem sido extensivamente estudada por sua ação antioxidante, tanto *in vitro* (SCHINELLA *et al.*, 2005; BASTOS *et al.*, 2006) como *in vivo*, (GUGLIUCCI, 1996, HODGSON *et al.*, 2000; YOKOZAMA *et al.*, 2002).

3.5 Erva - mate (*Ilex paraguariensis*)

A *Ilex paraguariensis* é uma árvore da família das aquífoliáceas, nativa da região subtropical da América do Sul, conhecida popularmente como erva-mate. Sua distribuição geográfica compreende países como o Brasil, Argentina, Paraguai e Uruguai. Entretanto, cerca de 80% da área de ocorrência pertence ao Brasil, distribuindo-se entre os Estados do Mato Grosso do Sul, São Paulo, Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul. A região Sul é a maior produtora, onde é explorada por pequenos produtores que se reúnem em cooperativas para processá-la ou comercializá-la (HECK & MEJLA, 2007).

A primeira constatação sobre o uso da erva-mate foi feita em 1554 pelo general paraguaio Irala e seus soldados, os quais constataram que os índios do Guairá faziam uso generalizado de uma bebida feita com folhas de erva-mate fragmentadas, tomadas num pequeno porongo, por meio de um canudo de taquara, em cuja base existia um trançado de fibras impedindo a passagem de fragmentos de folhas (DA CROCE & FLOSS, 1999). Desde o início das colonizações espanhola e portuguesa na América do Sul são feitas referências do uso da erva-mate pelos indígenas. Tribos do Peru, Chile e Bolívia obtinham a erva-mate por permuta transportando as folhas por milhares de quilômetros. Para os índios, a bebida dava resistência às jornadas de trabalho, reduzindo a fome e a sede (MAZUCHOWSKI *et al.*, 1996; ANDRADE, 1999).

O aspecto e o porte da árvore de erva-mate (FIGURA - 4) se assemelham à laranjeira. O caule é um tronco de cor acinzentada, geralmente com 20 a 25 cm de diâmetro, podendo chegar a 50 cm. A altura é variável dependendo da idade e do índice de sítio. Podem atingir até 25m de altura, mas geralmente, quando podadas, não passam de 7 metros. Porém em sistemas agrícolas atuais, com adensamento e podas, a altura não ultrapassa a 2 m (CARVALHO, 1994; BRACESCO *et al.*, 2007).



Fonte: www.clubedaselemente.org.br

FIGURA 4 - Aparência da árvore de *Ilex paraguariensis* e suas folhas e flores.

A classificação taxonômica *Ilex paraguariensis* se deve ao naturalista Francês Auguste de Saint Hilaire, que em 1823, após o regresso de uma viagem pela América do Sul, apresentou um relato sobre erva-mate à Academia de Ciências de Paris. Segundo os relatos a planta catalogada pertencia à região de Curitiba, porém devido a trocas de etiquetas, foi catalogada como sendo originária do Paraguai, da onde surgiu seu nome científico (BRACESCO *et al.*, 2007).

A erva mate possui diversas denominações populares, entre elas no Brasil: chá-argentino, chá-do-brasil, chá-dos-jesuítas, chá-das-missões, chá-do-paraguai, chá do paraná, chá-mate, carvalho-branco, caúna, congoín, congonha, congonha, congonha, congonha, congonha-das-missões, congonha-de-mato-grosso, congonha-genuína, congonha-grande, congonha-mansa, congonha-verdadeira, erva, erva-congonha, erva de são bartolomeu, erva-piriquita, erva-mate, erva-mate-peluda, erva mate de talobranco, erva mate de talo-roxo, erva-senhorita, erva-verdadeira, erveira, mate, matedo-paraguai, mate-legítimo, mate-verdadeiro, orelha-de-burro e pau-de-erva. Outras denominações: Indígenas: caá, caá-caati, caá-emi, caá-ete, caá-guaçu, caá-meriduvi e caá-ti; Argentina: yerba mate; Paraguai: ka'a (CARVALHO, 1994).

A erva-mate é a matéria prima de diversos produtos gerados pela indústria como: chás, refrigerantes e cosméticos, no entanto a maior parte sua colheita destina-se a produção de erva para chimarrão e tererê. Existem 29 patentes internacionais de produtos desenvolvidos através desta planta, sendo que, em sua maioria foram registradas após o ano 2000, o que indica um aumento de interesse por seus compostos fitoquímicos nos últimos anos (BASTOS *et al.*, 2007).

Esta planta é vastamente utilizada pela medicina popular sendo indicada para várias patologias como: artrite, dor de cabeça, constipação, reumatismo, hemorróidas, obesidade, fadiga, retenção de líquido, hipertensão, digestão lenta e desordens hepáticas. Devido a estas propriedades, a erva-mate encontra-se inclusa em importantes farmacopéias como a Martingdale e a British Herbal Pharmacopoeia (ANESINI *et al.*, 2005).

Os principais fitoquímicos presentes na erva-mate são os compostos fenólicos, as saponinas e as xantinas. Entre os compostos fenólicos podemos destacar o elevado conteúdo de derivados cafeoilquínicos, como o ácido caféico e o ácido 5 cafeoilquínico (5CQA), substâncias de grande interesse científico devido suas propriedades antioxidantes (CLIFFORD & RAMIREZ-MARTINEZ, 1990; CARDOZO-JUNIOR *et al.*, 2007). Pertencente a classe de saponinas encontram-se as agliconas, os ácidos ursólico e oleanólico. Tais substâncias são responsáveis pelo amargor e espuma do mate e pela atividade antiinflamatória além de outras inúmeras propriedades biológicas (GNOATTO *et al.*, 2005). Entretanto são as xantinas os compostos mais conhecidos desta espécie, componentes de reconhecida ação sobre o sistema nervoso central, aos quais é atribuída a ação estimulante da erva-mate, seus principais representantes são a cafeína, a teobromina e a teofilina (CARDOZO-JUNIOR *et al.*, 2007).

3.5.1 Atividade antioxidante da erva-mate

As recentes descobertas sobre os mecanismos de oxidação que ocorrem nas células, responsáveis por uma série de condições patológicas como arteriosclerose, câncer e diabetes, estimularam o aparecimento de grande número de pesquisas sobre a ação de

substâncias antioxidantes presentes na erva-mate (BASTOS *et al.* 2007; HECK & MEJLA, 2007).

A infusão de erva-mate mostrou importante atividade antioxidante *in vitro* e *in vivo* (GUGLIUCCI & STAHL, 1995; GUGLIUCCI & MENINI, 2002). SCHINELLA *et al.* (2000 e 2005) estudaram a atividade antioxidante de extratos aquosos de *Ilex paraguariensis* usando métodos geradores de radicais livres. Os extratos inibiram a peroxidação enzimática e não-enzimática em microsomos do fígado de ratos; reduziu a peroxidação de membranas de células vermelhas induzida pelo radical $H_2O_2^-$; exibiu propriedades seqüestrantes por meio do ânion superóxido e radical DPPH e inibiu a oxidação induzida por cobre da lipoproteína de baixa densidade no plasma humano, sugerindo que alguns compostos presentes no extrato podem aumentar a capacidade antioxidante da fase aquosa do plasma; LUNCEFORD E GUGLIUCCI (2005) verificaram que extratos de *Ilex paraguariensis* inibem *in vitro* a formação de produtos finais de glicação avançada (AGE) mais eficientemente que chá verde; ANESINI *et al.* (2005) constataram que extratos de *Ilex paraguariensis* possuem atividade antioxidante similar à ação da enzima peroxidase, indicando que tal atividade está claramente relacionada com o conteúdo total de polifenóis; BASTOS *et al.* (2006) demonstraram que infusões de folhas tostadas de erva-mate, possuem o mesmo poder antioxidante (*in vitro*) que Hidroxitolueno butilado (BHT), um conhecido antioxidante fenólico, de ampla utilização em alimentos.

Os estudos acima descritos sugerem que a ingestão diária de infusões de *Ilex paraguariensis*, aumenta as defesas do organismo perante a ação dos radicais livres.

3.5.2. Beneficiamento do Chimarrão e do Tererê

O chimarrão e o tererê são a denominações dadas tradicionalmente à erva-mate seca, triturada e socada com grande porcentagem de paus, folhas, pó e goma. Chimarrão é destinado à degustação em cuia, com água quente conservando o paladar amargo. O tererê consiste em infusão de erva-mate degustada com água gelada (BASTOS e TORRES *et al.*, 2003).

O processamento da erva-mate para chimarrão e tererê consiste basicamente de três etapas: sapeco, secagem e cancheamento.

O sapeco é realizado junto ao fogo direto e consiste na passagem rápida dos ramos com folhas sobre as chamas do sapecador. O equipamento consiste de um cilindro metálico, perfurado e inclinado através do qual a erva colhida passa recebendo as chamas. Esta etapa tem por função a retirada da umidade superficial e inativação de enzimas (peroxidase e polifenoloxidase) que causam a oxidação do produto. A temperatura média da erva na entrada do sapecador é de 400°C e na saída é de 65°C. Com tempo de permanência de aproximadamente 8 minutos (BASTOS e TORRES *et al.*, 2003).

A etapa de secagem pode ser realizada em dois tipos de secadores mecânicos: rotativo e esteira. A principal diferença entre os dois tipos de secadores está relacionada com o contato da matéria prima com a fumaça durante o processo de secagem. No secador rotativo, a fumaça entra em contato direto com o produto, e no secador de esteira, o contato é indireto, causando menores danos à matéria prima. No secador de esteira, o tempo médio é de 3 horas e a temperatura varia entre 90 e 110 °C. No secador rotativo, o produto permanece em contato direto com a fumaça por aproximadamente 30 minutos. No entanto, a temperatura não apresenta a mesma uniformidade da utilizada no secador de esteira, sendo que na entrada do secador a temperatura média é de 350 °C e na saída 110°C (ESMELINDRO *et al.*, 2002).

O cancheamento consiste na trituração da erva após o processo de secagem, podendo ser feito por um triturador de madeira ou por um cancheador metálico. Em seguida, a erva é peneirada e o material coletado passa a denominar-se erva cancheada. Esta pode ser usada diretamente como matéria-prima para a produção de chás ou, após passar por um processo de soque, como chimarrão (ESMELINDRO *et al.*, 2002; BASTOS e TORRES, 2003). O soque (FIGURA 5) consiste em uma bateria de pilões mecânicos onde a erva-mate é socada até atingir a granulometria desejada.



FIGURA 5 - Erva-mate submetida ao processo de soque.

3.5.3 Importância Econômica

Há muitas décadas, a erva-mate aparece como uma das espécies arbóreas naturais de maior importância econômica para a região sul e centro oeste do Brasil, nordeste da Argentina e todo Paraguai, principalmente pelo fato de ser uma das espécies que sofre pouco com as oscilações do clima em relação com os cultivos agrícolas em geral. Por isso, passou a ser uma espécie de grande importância na fixação do homem ao campo (VIDOR, 2002).

A maior parte da erva extraída provém de ervais nativos ou adensados, explorados por pequenos produtores, que se reúnem em cooperativas para o processamento, ou a comercializam com grandes indústrias produtoras de erva-mate do Sul do país. A extração da erva-mate gera cerca de 710 mil postos de trabalho diretos, com um volume de recursos da ordem de 180 milhões de reais por ano (DESER, 2002).

No ano de 2007 a produção Brasileira de erva-mate cancheada foi de 225.957 toneladas, sendo que nos últimos 10 anos a quantidade média produzida foi 209.224 toneladas. Tendo uma variação de produtividade de aproximadamente 28 mil toneladas. A

produção mais significativa dos últimos anos foi a 2004 com 246.837 toneladas (IBGE 2008). Na Figura 6, podemos observar a produção referente a os últimos 10 anos

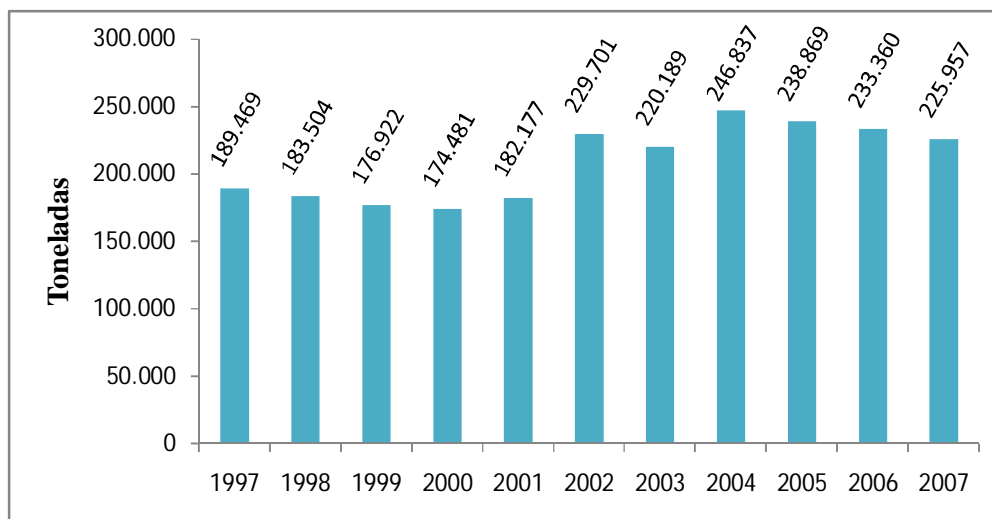


FIGURA 6 - Quantidade produzida em toneladas de erva-mate cancheada (IBGE, 2008).

A quantidade de erva-mate brasileira exportada manteve-se relativamente constante (entre 25 e 26 mil toneladas) de 1996 a 2003. A partir de 2004 ocorreu um aumento desta quantidade, elevando-a para um patamar superior a 30 mil toneladas nos anos 2005 e 2006. Os principais países exportadores de erva mate brasileira são o Uruguai com cerca 87%, seguido pelo Chile com 6% e a Alemanha com 1% (PEREZ, 2007).

3.5.4 Contaminação Microbiológica

Plantas em geral contêm grande quantidade e diversidade de fungos e bactérias que fazem parte de sua própria microbiota natural. As condições climáticas dos países tropicais (temperatura e umidade elevadas) favorecem a proliferação de fungos nos produtos agrícolas que também podem advir do processamento e da manipulação. As condições de manejo, secagem e armazenamento podem influenciar no desenvolvimento de microrganismos viáveis que aumentam o grau de contaminação do produto (RENOVATTO & AGOSTINI, 2008, SILVA *et al.*, 2007)

Informações contidas na literatura sobre fungos associados na erva-mate, revelam mais de 120 espécies registradas. Os primeiros registros da literatura abordando fungos associados à erva-mate ocorreu em 1908 na Argentina. No Brasil, a abordagem deste assunto iniciou-se com os trabalhos de Maublanc em 1913 e Grillo em 1936, os quais compilaram informações sobre os fungos associados à erva-mate, sem a determinação de sua patogenicidade. Posteriormente, no Paraná, Vellozo em 1949 e NOWACKI em 1954 relataram algumas doenças e a descrição de fungos associados à cultura da erva-mate (GRIGOLLETTI *et al.* 1996).

A constatação de contaminação fúngica em erva-mate processada, pode ser consequência de vários fatores como a contaminação por resíduos de solo, de microrganismos da filosfera e por falhas no processo de secagem. Neste último caso, os fragmentos maiores, como o palito e os fiapos, permanecem com alto teor de umidade, permitindo o desenvolvimento dos microrganismos contaminantes (SCHIFFL, 1997). É importante salientar que o tipo de armazenamento após sua colheita em depósitos como armazéns, barracões, pode propiciar um habitat favorável para o crescimento fúngico (DARINI *et al.*, 2003).

Alguns fungos encontrados na erva-mate são importantes agentes de deterioração de alimentos, outros podem ser produtores de toxinas, as chamadas micotoxinas, dentre os quais se destacam os fungos *Aspergillus* sp. e *Penicillium* sp., que dependendo da espécie e das condições de armazenamento, podem produzir aflatoxinas e ocratoxinas, respectivamente (RENOVATTO & AGOSTINI, 2008).

Micotoxinas designa um grupo de metabólitos secundários produzidos por determinadas espécies de fungos filamentosos. Estes metabólitos secundários são quimicamente diversos e podem estar contidos no interior dos esporos, em seus micélios, ou então serem liberados no alimento contaminado por estes microrganismos. Estas micotoxinas, dependendo da quantidade ingerida, podem ser nocivas à saúde humana, vindo a ser carcinogênicas ou hepatotóxicas (BORGES *et al.*, 2002; BERNARDI *et al.*, 2005).

3.6 Análise Sensorial

O desenvolvimento da análise sensorial foi influenciado por mudanças freqüentes na tecnologia de produção e distribuição dos alimentos, que alteravam a qualidade do produto. Outro fator importante foi o reconhecimento deste tipo de análise pelas indústrias de alimentos como um instrumento chave para a seleção de produtos, pesquisa e desenvolvimento de novos produtos, controle de qualidade e aceitação de consumidor. A análise sensorial atualmente tem representado um papel decisivo em vários setores sendo utilizada para: desenvolvimento de novos produtos, reprodução do produto, melhoramento do produto, alteração de processo, redução de custo e/ou seleção de nova fonte de suprimento, controle de qualidade, estabilidade no armazenamento, avaliação do nível de qualidade do produto, aceitação do consumidor, preferência do consumidor. Os cinco órgãos dos sentidos são as funções que permitem a captação das informações do mundo exterior, sendo eles a visão, audição, olfato, tato e sabor. A análise sensorial é realizada através do uso destes cinco sentidos, de forma a interpretar as respostas aos estímulos aplicados. O elemento humano é o instrumento que registra a medida, portanto uma equipe formada por um grupo de julgadores deve ser tratada como um instrumento científico (WATTS *et al*, 1992; LAWLESS & HEYMANN, 1999).

O odor, o sabor e a aparência são características fundamentais para a aceitação de um produto. Na indústria de alimentos a importância do odor está relacionada ao desenvolvimento de odores desejáveis, ao controle de odores indesejáveis bem como o uso de modificadores de odor. Devido à grande série de respostas olfativas há, provavelmente, mais problemas de odor do que de sabor, podendo os odores atrair ou repelir os consumidores. O sabor é definido como a sensação percebida na língua e na cavidade bucal. Quatro são as sensações básicas: ácido, salgado, doce e amargo. As outras sensações gustativas provêm da mistura dos quatro gostos básicos, em diferentes proporções causando variadas interações. No que diz respeito à aparência, o consumidor possui a expectativa de encontrar uma determinada cor para cada alimento e qualquer desvio desta cor pode produzir diminuição da aceitação do produto. Assim, muitos alimentos precisam ter sua cor intensificada para que possam ser mais ou menos apetitosos. Um alimento é primeiramente aceito ou rejeitado pela visão, ou seja, pela cor. Se a cor não for atraente, dificilmente o alimento será ingerido ou ao menos provado (MEILGAARD, 1999).

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Material

4.1.1 Amostras

Para este trabalho foram utilizados 10kg de erva-mate, acondicionada em embalagem de papel, sendo pertencente a safra de abril 2007. A erva-mate foi pesada e separada em sacos plásticos contendo 500g, e posteriormente armazenada sobre refrigeração aproximada de 15°C. A erva-mate utilizada é proveniente do estado de Santa Catarina, e foi gentilmente cedida pela empresa Leão Junior S/A

4.2 Métodos

4.2.1 Irradiação

As amostras de erva-mate, previamente embaladas em sacos plásticos, foram irradiadas nas doses de 0; 3; 5; 7 e 10kGy no irradiador semi-industrial multipropósito de ^{60}Co (FIGURA 7). A taxa de dose foi de 5.0 kGy/h. Dosímetros Amber 3042 Batch R foram utilizados para a medição da dose de radiação. As irradiações foram feitas no Centro Tecnologia de Radiações IPEN-CNEN/SP.



FIGURA 7- Irradiador multipropósito - IPEN

4.2.2 Preparação dos Extratos

Os extratos foram preparados utilizando-se 1g de erva-mate para 50 mL de água destilada, sendo que para o preparo do chimarrão a água se encontrava numa temperatura de 85°C e para preparo do tererê em uma temperatura de 10°C. Ambos os extratos foram submetidos a uma infusão de 5 minutos onde eram constantemente agitados e logo depois filtrados com papel de filtro através do sistema de bomba de vácuo. Os extratos somente foram utilizados após estarem em temperatura ambiente de aproximadamente 25°C.

4.2.3 Atividade de água

A atividade de água foi determinada em triplicata no medidor AQUALAB CX-2 de acordo com o método especificado pelo fabricante, regulamentado pelo Departamento de boas práticas de fabricação do Food and Drug Administration.

4.2.4 Análise de bolores e leveduras

As análises de bolores e leveduras foram feitas através da técnica de semeadura em superfície segundo a metodologia de SILVA *et al.* (2001), com modificações. Como meio de cultura, foram utilizados Ágar Dicloran Rosa de Bengala (OXOID) e Ágar dextrose batata (OXOID). Foram pesadas 10 gramas das amostras e diluídas em 90mL de água destilada estéril, agitadas por 30 minutos e repassados 1 ml em diluições seriadas contidas em tubos de ensaio estéreis de 10^{-1} a 10^{-6} . Então, transferiu-se 0,1mL das diluições para as placas de Petri já com o Ágar preparado, sendo posteriormente as placas incubadas 25°C, por um período de cinco dias. A contagem foi realizada em contador de colônias tipo Quebec e foi baseada na determinação do número de unidades formadoras de colônias por grama (UFC/g) (BITENCOURT *et al.*, 2005). Na figura 8, fotos do procedimento utilizado.

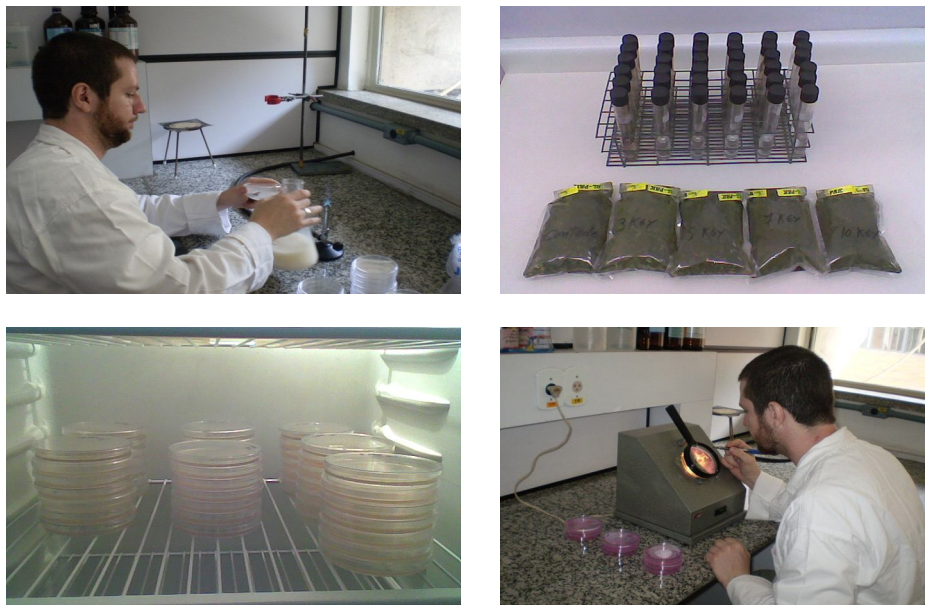


FIGURA 8 - Procedimento utilizado para análise de bolores e leveduras.

4.2.5 Análise de detecção de aflatoxina

Para o cultivo do fungo foram adotadas as técnicas descritas por LIN & DIANESE (1976) com modificações. O fungo *aspergillus* sp., isolado da erva mate foi inoculado em Agar coco, e posteriormente incubado em estufa a 25°C por um período de 10 dias, para a formação da colônia gigante (FIGURA 9).

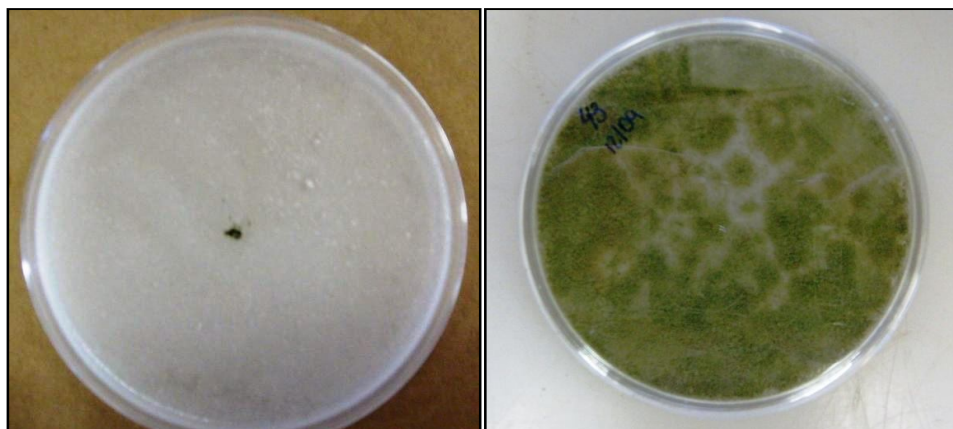


FIGURA 9- Fungo *Aspergillus flavus* inoculado em placa de Agar coco e desenvolvimento colônia gigante.

Após este período foi retirado todo conteúdo da placa de Petri e transferido para um erlenmeyer, para cada 10g do conteúdo de cada placa foram adicionados 30ml de clorofórmio. O conteúdo do erlenmeyer foi agitado por um período de 45 minutos em agitador horizontal e filtrado em papel filtro. O conteúdo foi colocado em banho maria a 80°C para evaporação completa do solvente. O material foi ressuspenso com 500µL de clorofórmio. A identificação e a quantificação das aflatoxinas (B₁, B₂, G₁ e G₂) foi realizada pela técnica de cromatografia em camada delgada (CCD). Os padrões de aflatoxinas e amostras analisadas foram aplicados na concentração 10µL em placa de sílica gel G 60 (FIGURA 10). As placas foram emergidas em uma cuba firmemente vedada e previamente saturada com solvente de clorofórmio e acetona (9:1). Após a corrida foi feita a leitura em câmara de luz ultravioleta (UV), com comprimento de onda (λ) = 350nm. Segundo metodologia de SOARES & RODRIGUEZ - AMAYA (1989).

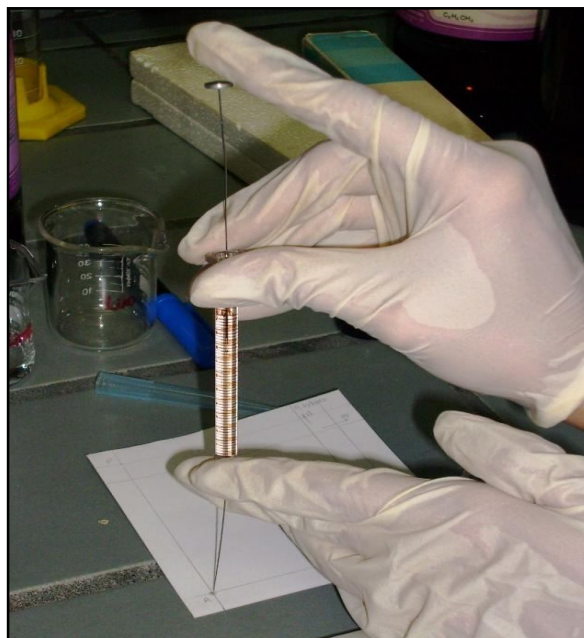


FIGURA 10 - Aplicação dos padrões e amostras de erva-mate em sílica gel.

4.2.6 Determinação de compostos fenólicos totais

A análise do teor de fenólicos totais em cada extrato foi feita de acordo com GENOVESE *et al.* (2003) com modificações. Para a análise as amostras foram preparadas em diluição 1:20. Em tubos de ensaio foram pipetados 0,25mL das amostras, 2mL de água

destilada e 0,25mL do reagente de Folin-Ciocalteu. Após 3 minutos à temperatura ambiente, foi adicionado 0,25mL de uma solução saturada de Carbonato de sódio (75g/L). Os tubos foram colocados em banho-maria a 37°C durante 30 minutos para desenvolvimento da cor. A leitura da absorbância no comprimento de onda de 750nm foi feita em espectrofotômetro UV-visível. O Ácido 5 Cafeoilquinico (5CQA) foi utilizado como padrão. Para o preparo da curva de calibração foram utilizadas alíquotas (0,25mL) de uma solução metanólica de ácido clorogênico nas seguintes concentrações: 0,07; 0,09; 0,12; 0,15 e 0,18 mg/mL. A metodologia utilizada para o padrão foi a mesma utilizada para as amostras. O conteúdo total de fenólicos nos extratos foi calculado segundo a equação obtida a partir da curva padrão.

4.2.7 Cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE)

Para análise de CLAE os extratos de erva-mate foram diluídos em uma proporção de 1:2 e posteriormente filtrados em filtro Millex (MiliporeR) 0,45µm. As análises dos compostos foram feitas por CLAE, utilizando-se um cromatógrafo Shimadzu, constituído por bomba quartenária (modelo FCV-10AL), com injetor manual Rheodyne com “loop” de 20µL e detector de arranjo de Diodo (SPD M10 AVP), operando em comprimentos de onda UV (Ultravioleta) de 272nm para a quantificação de xantinas (Teobromina e Cafeína) e 323nm para a quantificação dos compostos fenólicos (5CQA - Ácido 5 Cafeoilquinico e Ácido Caféico). O computador controlador era equipado com software CLASS-VP 6.0. Foi utilizada coluna cromatográfica Phenomenex C18 fase reversa de 5µm, com dimensões de 4,6 x 250mm. Os solventes foram previamente filtrados em membrana de 0,45µm (Millipore) e então desgazeificados em banho ultrassônico (Ultrasonic Cleaner Unique). Para a fase móvel denominada de A foram utilizados água MiliQ e ácido acético (99:1v/v) em uma proporção de 55% e a fase móvel denominada de B metanol e ácido acético (99:1v/v) em uma proporção de 45%, a eluição ocorreu de maneira isocrática, com fluxo de 0,6mL/min. O tempo de retenção (tR) dos padrões foi utilizado para modo identificar os compostos de interesse nas amostras. O tempo de corrida das análises foi de 30 minutos.

4.2.8. Validação do método

4.2.8.1 Recuperação

Os testes de recuperação foram feitos conforme (IUPAC) THOMPSON *et al.* (2002). Adicionando quantidades conhecidas de cada padrão nas amostras de erva-mate, para posteriormente fazer os extratos. As análises foram feitas em triplicata. O valor da recuperação foi determinado segundo a expressão a seguir:

$$\% \text{ RECUPERAÇÃO} = \frac{\text{ÁREA DA AMOSTRA CONTAMINADA}}{\text{ÁREA DA AMOSTRA} + \text{ÁREA DO PADRÃO}} \times 100$$

4.2.8.2 Determinação dos Limites de Detecção (LD) e dos Limites de Quantificação (LQ)

Os limites de detecção (LD) e quantificação (LQ) foram estabelecidos através da análise dos extratos contendo padrões dos compostos em quantidades conhecidas em diferentes concentrações. Para tal, preparou-se uma solução padrão estoque, da qual foram feitas diluições sucessivas. Foram analisados os perfis dos cromatogramas a 272nm (xantinas) e 323nm (fenólicos). Para quantificar o valor de cada padrão foram feitas 10 repetições observando a variação na área em função da concentração para cada composto, assim como o tempo de retenção (tR).

O LD e LQ, que correspondem respectivamente à menor quantidade de um analito que pode ser detectada e quantificada, foram calculados mediante definição (IUPAC) Thompson *et al.* (2002), utilizando as curvas analíticas obtidas para os compostos de interesse.

Os LOD e LOQ podem ser determinados segundo as expressões a seguir:

$$\text{LOD} = 3 \times \sigma/S; \text{LOQ} = 10 \times \sigma/S$$

Onde:

σ = Desvio padrão dos valores de Y no ponto de intercepto com a regressão linear.

S = coeficiente angular da curva analítica.

4.2.9 Avaliação da Atividade Antioxidante

4.2.9.1 Determinação da atividade antioxidante pelo método do DPPH (IC50%)

A capacidade de seqüestrar radicais livres foi determinada utilizando-se o radical estável 1,1-difenil-2-picrilhidrazil (DPPH), de acordo com o método de SCHINELLA *et al.* (2000) com modificações. Foi preparada uma solução metanólica de DPPH na concentração de 20mg/mL. A partir desta solução metanólica de DPPH foi preparada a curva de calibração utilizando alíquotas nas seguintes concentrações: 4, 8, 12, 16, 20mg/mL. Os extratos foram preparados em diferentes concentrações (5, 10, 20, 30, 50, 70 μ g/mL), foi pipetado 750 μ L das amostras, e adicionado 1,5mL de uma solução metanólica de DPPH na concentração de 20mg/mL. O meio de reação foi mantido em ambiente sem luminosidade durante os 20 minutos do ensaio. Todo o experimento foi feito em triplicata. Quando o DPPH reage com um antioxidante, que pode doar hidrogênio, ele é reduzido. As mudanças na coloração (de violeta escuro para amarelo claro) foram medidas por espectrofotômetro UV-visível a 517nm. A inibição do DPPH foi calculada segundo a equação obtida a partir da curva padrão. Os resultados foram expressos % de captação do DPPH, através do IC50% (coeficiente de inibição 50%).

4.2.10 Análise de cor

A análise de cor foi determinada em Espectrofotômetro HUNTERLAB COLORQUEST XE. Foram adotados os parâmetros L, a e b, onde L define a luminosidade (L = 0 preto e L = 100 branco) e a e b são responsáveis pela cromaticidade (+a vermelho e -a verde, + b amarelo e -b azul). O modelo de calibração utilizado foi Reflectância de Transmissão Regular (RTRAN), com uma fonte de iluminação D65 e ângulo de observação de 10°, que é adequado para amostras não totalmente translúcidas, porém que permitem a

passagem de luz. Empregando-se cubeta com 10mm de caminho ótico e a leitura realizada em três repetições por amostra (CALVO & DURAN, 1997).

4.2.11 Análise Sensorial

4.2.11.1 Analise sensorial na Faculdade de Saúde Pública / USP

As análises foram realizadas no laboratório de Técnica Dietética da Faculdade de Saúde Pública / USP , em cabines individuais, próprias para pratica de análise sensorial.

Foram selecionados 30 provadores (funcionários e estudantes do IPEN e da FSP/USP) não treinados para avaliaram a diferença global entre as amostras (processada com diferentes doses de radiação) e a amostra controle (não submetida ao processamento por irradiação) de acordo com o teste de “Diferença Múltipla” (MEILGAARD; 1999). Foi feita análise da bebida chimarrão e tererê.

4.2.11.2 Analise sensorial na industria

As análises foram realizadas na empresa Leão Junior S/A- Paraná, em local adequado para pratica de análise sensorial.

Foram selecionados 25 provadores (funcionários da empresa) habituados ao consumo de chimarrão, que avaliaram a diferença global e a diferença de aparência entre as amostras de acordo com o teste de “Diferença Múltipla” (MEILGAARD; 1999). O teste foi efetuado somente para bebida chimarrão.

4.2.11.3 Preparo das amostras

A infusão das amostras foi feita na proporção de 50g de erva-mate para 1 litro de água mineral, conforme sugerido pela empresa Leão Jr. S/A. Sendo que o chimarrão foi

preparado em uma temperatura aproximada de 85°C e o tererê 10°C, sendo servidos em copos descartáveis transparentes de 50ml.

4.2.11.4 Aplicação do teste de “Diferença Múltipla”

Uma amostra de erva-mate não processada por radiação denominada amostra Padrão e identificada pela letra P foi apresentada aos provadores. As amostras de erva-mate irradiadas foram apresentadas codificadas com algarismos de três dígitos, junto à outra amostra Padrão denominada testemunha. Foi solicitada aos provadores a atribuição de notas, avaliando diferença global das amostras em relação ao Padrão. A ficha sensorial (ANEXO1) utilizada possuía uma escala de avaliação de sete pontos, que variava de muito melhor, a muito pior que o padrão, com um campo apropriado para possíveis comentários dos julgadores. Para eliminar o sabor residual entre uma amostra e outra foram oferecidos biscoitos tipo “cream cracker” e água mineral.

4.2.12 Aspectos éticos

Este trabalho foi submetido ao comitê de ética e pesquisa da Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo sendo aprovado em 14/11/2007 (ANEXO 2).

4.2.13 Análise estatística

Neste estudo os resultados foram expressos como média \pm desvio-padrão. Para comparação das médias aritméticas, empregaram-se a análise de variância (ANOVA) e o teste de Tukey usando o software Prisma 4,0 (GraphPad). Adotou-se o nível de significância de 5% de probabilidade ($p < 0,05$). Para análise estatística dos dados da análise sensorial foi realizada análise de variância (ANOVA), teste de Dunnet ($p < 0,05$).

8. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Determinação da atividade de água (*Aa*)

Na tabela 3, observam-se os valores médios obtidos da atividade de água (*Aa*) nas amostras de erva mate. Os resultados não apresentam diferença significativa entre amostras analisadas ($p < 0.05$).

TABELA 3- Níveis de Atividade de água (*Aa*) das amostras de erva-mate

| Amostras | Atividade de água |
|-----------------|--------------------------|
| Controle | $0,55^a \pm 0,02$ |
| 3kGy | $0,52^a \pm 0,02$ |
| 5kGy | $0,54^a \pm 0,02$ |
| 7kGy | $0,52^a \pm 0,02$ |
| 10kGy | $0,53^a \pm 0,01$ |

(n) = 3. Diferente letra em subscripto indica diferença significativa ($p < 0.05$)

5.2. Avaliação de Fungos e Leveduras

Os resultados (FIGURA 11) da contagem das unidades formadoras de colônia por grama (UFC/g), indicam uma inibição do desenvolvimento conforme o aumento da dose de radiação.

As amostras analisadas no meio de cultura Agar dicloran rosa apresentaram uma contaminação superior as amostras analisadas pelo meio Agar dextrose batata.

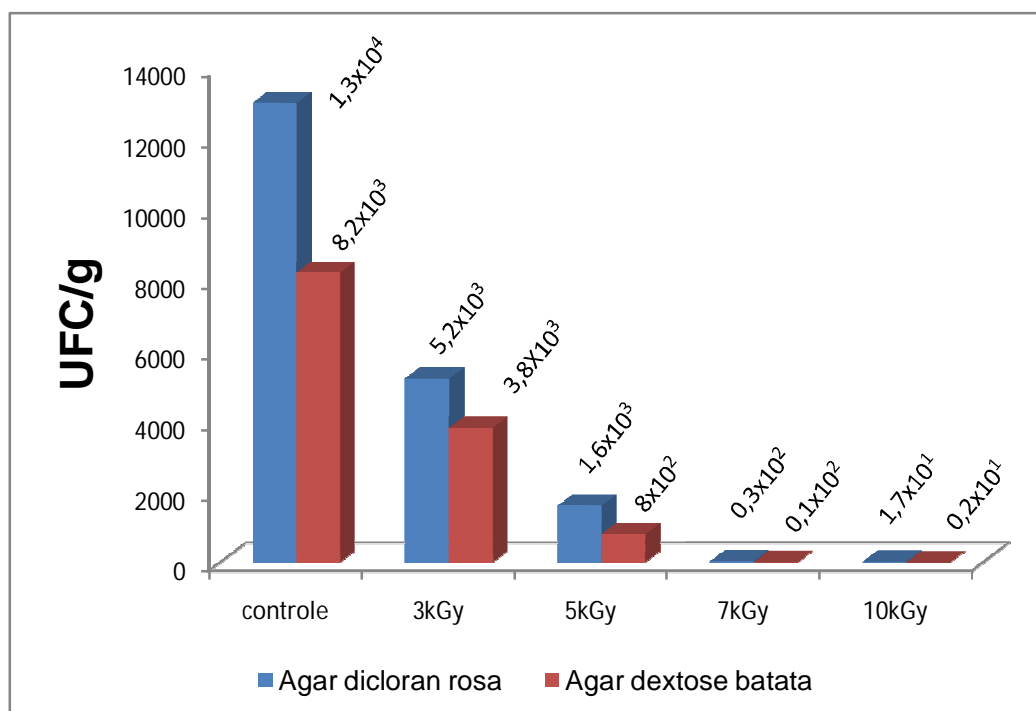


FIGURA 11- Quantificação de bolores e leveduras presentes na erva- mate.

Segundo a Organização Mundial de Saúde a tolerabilidade de fungos para a erva-mate consumida como chimarrão é de $10^5/g$ e para tererê estabelece o limite $10^3/g$ (WHO, 1998). Tendo esses dados como parâmetro, percebemos que a amostra controle analisada com o meio Agar dicloran rosa, apresenta uma contaminação superior ao limite estabelecido para o consumo do tererê, mas se enquadra dentro do limite estabelecido para o chimarrão, tendo contaminação de $10^4/g$. No entanto, a amostra controle analisada com o meio de cultura Agar dextrose batata, teve uma contaminação $10^3/g$, estando dentro dos limites estabelecidos para o consumo do produto.

A Portaria da ANVISA nº 451, de 19 de setembro de 1997, estabelecia contagem inferior a 5×10^3 UFC/g para bolores e leveduras nesse tipo de produto. Esta Portaria foi substituída pela Resolução nº 12, de 10 de janeiro de 2001, que exclui este tipo de análise em erva-mate.

LAZARETTI *et al.* (2000) compararam diferentes meios de cultura em análise de erva mate, e concluíram que o Agar Dicloran Rosa de Bengala é mais adequado para esse tipo

de análise que o Agar Dextrose batata, obtendo melhor visualização das colônias por restringir o tamanho destas, permitindo o crescimento de colônias de desenvolvimento mais lento. No entanto grande parte dos trabalhos publicados utilizam o meio Agar Dextrose batata, com resultados dentro dos limites estabelecidos pela Organização Mundial de Saúde (RENOVATTO E AGOSTINI, 2008; BERNARDI *et al.*, 2005; VALDUGA *et al.*, 2005).

5.3 Detecção Aflatoxina

Não foi detectada contaminação por aflatoxinas (B_1, B_2, G_1, G_2) nas amostras de erva-mate analisadas. Na figura 12, podemos verificar o resultado da análise, estando em destaque os padrões de aflatoxina.



FIGURA 12 - Placa de gel sílica submetida a luz UV

Apesar da erva-mate possuir fungos toxigenicos produtores de aflatoxina, não foi encontrado na literatura relato sobre a contaminação por aflatoxina na erva-mate.

5.4 Compostos Fenólicos Totais

A quantificação dos compostos fenólicos totais tendo o ácido 5CQA como padrão equivalente, apresenta maior concentração de fenólicos totais no extrato do chimarrão do que no tererê (TABELA 4).

TABELA 4 - Total de compostos fenólicos presentes no chimarrão e no tererê.

| Amostras | Chimarrão mg/mL | Tererê mg/mL |
|-----------------|-----------------------------|----------------------------|
| Controle | 2,71 ^c ± 0,001 | 2,11 ^{bc} ± 0,001 |
| 3kGy | 2,82 ^{ab} ± 0,001 | 2,31 ^a ± 0,001 |
| 5kGy | 2,77 ^{abc} ± 0,005 | 2,18 ^{ab} ± 0,005 |
| 7kGy | 2,84 ^a ± 0,002 | 2,29 ^a ± 0,002 |
| 10kGy | 2,73 ^{bc} ± 0,001 | 2,10 ^c ± 0,001 |

(n) = 3. Diferente letra em subscrito indica diferença significativa (p < 0,05)

As amostras irradiadas de chimarrão e tererê não apresentaram perdas de compostos fenólicos totais em relação à amostra controle. No extrato de chimarrão a dose 7kGy, apresentou um quantificação superior as demais amostras, mas não apresentou diferenças significativas em relação a amostra de 3 e 5kGy. A quantificação de fenólicos da amostra controle foi inferior as outras amostras, no entanto apresentou diferenças significativas, entre a amostra de 5 e 10kGy.

No extrato de tererê, a maior quantificação de fenólicos totais ocorreu na dose de 3kGy, porém não variou de maneira significativa em relação as amostras de 5 e 7kGy. A menor quantificação foi da amostra de 10kGy com 2,10mg/mL de fenólicos totais, valor próximo da amostra controle 2,11mg/mL.

Os resultados apresentados na literatura, que quantificaram os compostos fenólicos totais em chimarrão obtiveram resultados próximos ao deste estudo com variações entre 2,5 a 3 mg/mL (BIXBY *et al.*, 2005; LUNCEFORD & GUGLIUCCI, 2005; MENINI *et*

al., 2007). A maioria dos trabalhos sobre erva mate é referente a compostos presentes no chimarrão havendo uma escassez de trabalhos na literatura sobre o tererê.

MISHRA *et al.* (2006) utilizou a irradiação em doses de até 10kGy em folhas *Camellia sinensis* e obteve resultados semelhantes ao obtido neste estudo. Outros estudos que avaliaram fenólicos totais em vegetais irradiados, também não demonstraram perda significativa desses compostos (HARRISON & WERE, 2007; LEE *et al.*, 2009; VILLAVICENCIO *et al.*, 2000).

5.5 Cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE)

Na análise por CLAE quantificou-se as xantinas: cafeína e teobromina e os fenólicos: 5CQA e Ácido Caféico. Na tabela 5, temos os resultados obtidos da análise do chimarrão e na tabela 6 do tererê.

TABELA 5 – Quantificação de compostos fenólicos e xantinas no extrato de chimarrão.

| Amostras | Xantinas | | Fenólicos | |
|----------|----------------------------|---------------------------|----------------------------|------------------------------|
| | Teobromina mg/mL | Cafeína mg/mL | 5CQA mg/mL | Ácido Caféico mg/mL |
| Controle | 0.038 ^a ± 0.002 | 0.16 ^a ± 0.010 | 0.34 ^a ± 0.001 | 0,013 ^a ± 0.0001 |
| 3kGy | 0.037 ^a ± 0.002 | 0.15 ^a ± 0.010 | 0.34 ^a ± 0.010 | 0.012 ^{ab} ± 0.0005 |
| 5kGy | 0.038 ^a ± 0.003 | 0.15 ^a ± 0.007 | 0.32 ^{ab} ± 0.006 | 0.011 ^{ab} ± 0.0008 |
| 7kGy | 0.038 ^a ± 0.002 | 0.15 ^a ± 0.011 | 0.33 ^{ab} ± 0.013 | 0.012 ^{ab} ± 0.0015 |
| 10kGy | 0.032 ^a ± 0.004 | 0.14 ^a ± 0.009 | 0.31 ^b ± 0.002 | 0.010 ^b ± 0.0003 |

(n) = 3. Diferentes letras em subscrito indica diferença significativa (p < 0,05)

TABELA 6 – Quantificação de compostos fenólicos e xantinas no extrato de tererê.

| Amostras | Xantinas | | Fenólicos | |
|----------|----------------------------|---------------------------|----------------------------|-----------------------------|
| | Teobromina mg/mL | Cafeína mg/mL | 5CQA mg/mL | Ácido Caféico mg/mL |
| Controle | 0.024 ^a ± 0.003 | 0.11 ^a ± 0.007 | 0.25 ^{ab} ± 0.007 | 0,009 ^a ± 0.0005 |
| 3kGy | 0.022 ^a ± 0.001 | 0.11 ^a ± 0.008 | 0.27 ^a ± 0.012 | 0.008 ^a ± 0.0008 |
| 5kGy | 0.024 ^a ± 0.003 | 0.11 ^a ± 0.010 | 0.26 ^{ab} ± 0.009 | 0.006 ^a ± 0.0011 |
| 7kGy | 0.024 ^a ± 0.001 | 0.12 ^a ± 0.010 | 0.25 ^{ab} ± 0.016 | 0.008 ^a ± 0.0010 |
| 10kGy | 0.023 ^a ± 0.001 | 0.11 ^a ± 0.003 | 0.24 ^b ± 0.011 | 0.008 ^a ± 0.0006 |

(n) = 3. Diferentes letras em subscrito indica diferença significativa ($p < 0,05$)

A quantificação das substâncias analisadas foi superior nas amostras de chimarrão em relação ao tererê. O resultado da análise do chimarrão demonstrou diferença significativa de 5% ($p < 0.05$) apenas na dose de 10kGy, para os compostos fenólicos 5CQA e Ácido Caféico. As xantinas não apresentaram nenhuma diferença significativa em relação ao controle. O resultado da análise do tererê não demonstrou diferença significativa em nenhuma substância analisada independentemente da dose de radiação utilizada.

Os perfis cromatográficos (FIGURAS 13,14,15,16) da análise não apresentaram diferenças entre uma amostra e outra, apresentando a mesma ordem de eluição e tempo de retenção aproximados.

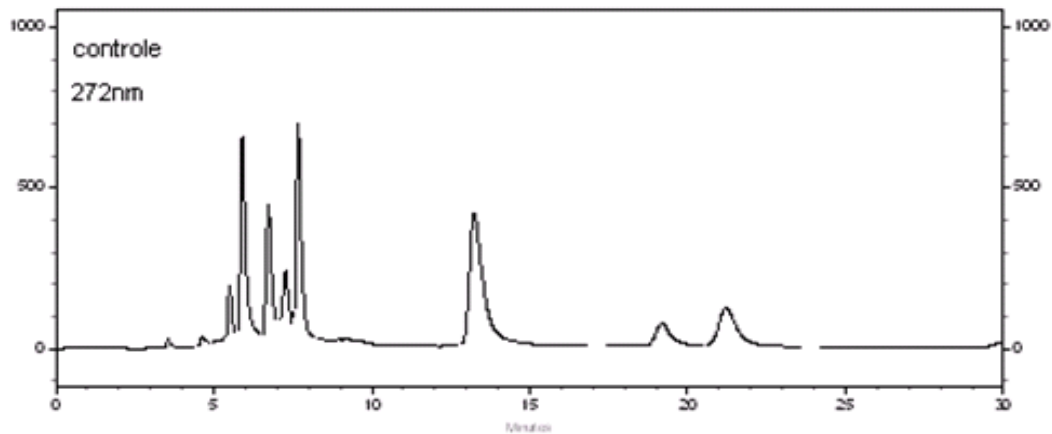


FIGURA 13- Perfil cromatográfico da amostra controle de chimarrão no comprimento de onda 272nm.

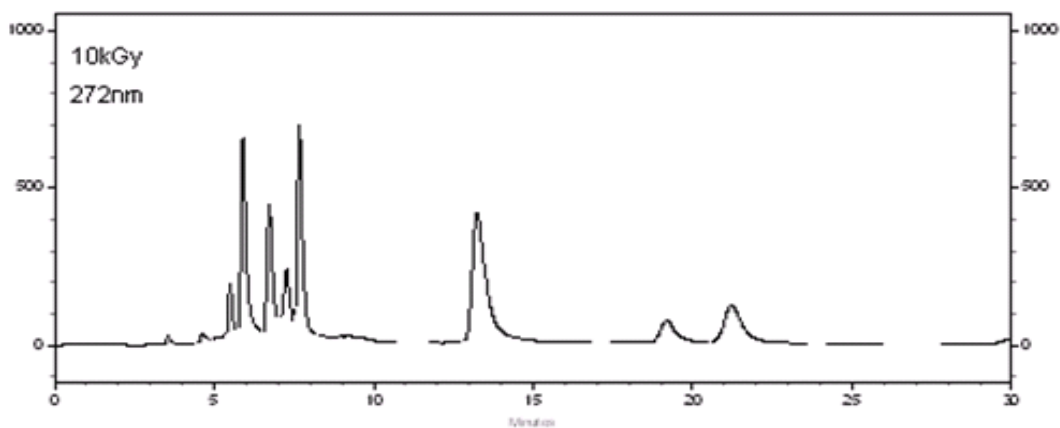


FIGURA 14 - Perfil cromatográfico da amostra de chimarrão irradiada com a dose de 10kGy no comprimento de onda 272nm.

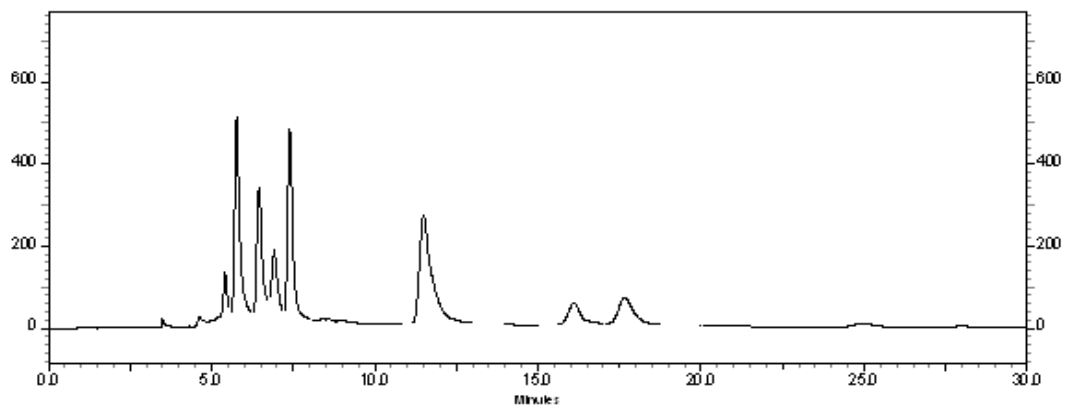


FIGURA 15 - Perfil cromatográfico da amostra controle do tererê no comprimento de onda 272nm

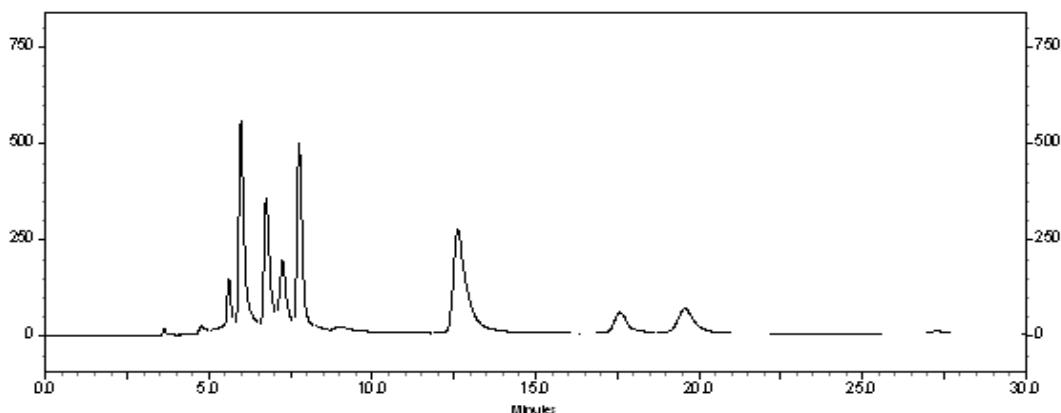


FIGURA 16 - Perfil cromatográfico da amostra de chimarrão irradiada com a dose de 10kGy no comprimento de onda 272nm.

Diversos estudos avaliaram por diferentes metodologias de CLAE, os compostos fenólicos e xantinas presentes na erva-mate. Apontando quantificações diferentes conforme o tipo de extrato, idade, região e características genéticas da planta (BASTOS *et al.*, 2007; CARDOZO JR. *et al.*, 2007). Bastos *et al.* (2006) quantificou em folhas secas de erva-mate, os compostos 5CQA (0,24-0,45mg/mL), Cafeína (0,14-0,29mg/mL) e Ácido Caféico (0,0026-0,0057mg/mL), obtendo resultados semelhantes, exceto no Ácido Caféico, que apresentou uma quantidade inferior da apresentada neste estudo. Estudo realizado por BASTOS *et al.* (2005) quantificou valores superior de Cafeína (0,20-0,33mg/mL) e de 5CQA (0,43-0,46 mg/mL) em amostras de chimarrão, no entanto na análise do tererê os resultados apresentados da cafeína (0,11- 0,20mg/mL) e 5CQA (0,26-0,37mg/mL) foram semelhantes ao deste estudo.

A tabela 7, mostra a quantificação dos compostos fenólicos totais solúveis. No chimarrão a amostra controle apresentou uma quantificação superior às demais amostras, no entanto os resultados não apresentaram diferenças significativas. No Tererê as amostras irradiadas nas doses de 3, 5, 7kGy, tiveram uma quantificação superior a amostra controle, porém não foi constatada diferenças significativas.

TABELA 7 - Quantificação de compostos fenólicos totais solúveis no extrato de chimarrão e tererê

| Amostras | Chimarrão mg/mL | Tererê mg/mL |
|-----------------|----------------------------|--------------------------|
| Controle | 2,12 ^a ± 0,12 | 1,40 ^a ± 0,03 |
| 3kGy | 2,04 ^a ± 0,08 | 1,45 ^a ± 0,08 |
| 5kGy | 1,98 ^a ± 0,12 | 1,49 ^a ± 0,11 |
| 7kGy | 2,07 ^a ± 0,06 | 1,46 ^a ± 0,09 |
| 10kGy | 1,95 ^a ± 0,05 | 1,38 ^a ± 0,04 |

(n) = 3. Diferentes letras em subscrito indica diferença significativa (p < 0,05)

Na literatura sobre irradiação de alimentos, percebemos que alguns vegetais têm uma sensibilidade maior ao processamento por irradiação, podendo ser evidenciadas através da análise de quantificação por CLAE (KOSEKI *et al.*, 2002). Estudo realizado com *Ginkgo biloba* e guaraná não demonstrou diferença significativa em seus compostos bioativos em doses de até 17,8kGy (SORIANI *et al.*, 2005).

Temos representado na tabela 8, o limite de detecção (LD) e Quantificação (LQ), o coeficiente de variação (CV) e a recuperação da análise do chimarrão e na tabela 9 do tererê.

TABELA 8 - Resultados referentes à validação do método no extrato do chimarrão

| | LD^a mg/mL | LQ^a mg/mL | CV^a % | RECUPERAÇÃO^b % |
|---------------|---------------------------------|---------------------------------|-----------------------------|--------------------------------------|
| Teobromina | 0,0007 | 0,0021 | 7,6 | 93,3 |
| Cafeína | 0,0004 | 0,0013 | 5,5 | 83,2 |
| 5CQA | 0,0007 | 0,0022 | 4,5 | 83,2 |
| Ácido Caféico | 0,0005 | 0,0014 | 7,7 | 96,2 |

^a (n) = 10, ^b(n) = 3.

TABELA 9 - Resultados referentes à validação do método no extrato do tererê

| | LD^a mg/mL | LQ^a mg/mL | CV^a % | RECUPERAÇÃO^b % |
|---------------|---------------------------------------|---------------------------------------|-----------------------------------|--|
| Teobromina | 0,0008 | 0,0024 | 7,3 | 84,2 |
| Cafeína | 0,0007 | 0,0021 | 5,9 | 76,3 |
| 5CQA | 0,0010 | 0,0030 | 6,9 | 88,2 |
| Ácido Caféico | 0,0007 | 0,0021 | 7,5 | 100 |

^a (n) = 10, ^b(n) = 3.

5.6 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

5.6.1 Ensaio 1,1-Difenil-2-Picrilhidrasil (DPPH)

Na tabela 10, temos o resultado do Coeficiente de inibição de 50% (IC50%) do radical livre DPPH pelo chimarrão e na tabela 11 pelo tererê.

TABELA 10 - Atividade de inibição do DPPH (IC50%) pelo chimarrão

| Amostra | µg/mL | mg/mL |
|----------------|----------------------------|----------------|
| Controle | 27,67 ^b ± 0.11 | 0,028 ± 0,0001 |
| 3kGy | 27,90 ^b ± 0.21 | 0,028 + 0,0002 |
| 5kGy | 29,27 ^{ab} ± 0.58 | 0,029 + 0,0005 |
| 7kGy | 30,67 ^a ± 0.97 | 0,031 + 0,0009 |
| 10kGy | 31,22 ^a ± 0.54 | 0,031 + 0,0005 |

(n) = 3. Diferentes letras em subscrito indicam diferença significativa (p < 0,05)

A avaliação antioxidante do chimarrão apresentou uma pequena perda na atividade de inibição do DPPH nas doses de 7kGy e 10kGy. Na análise do tererê não houve perda de atividade antioxidante entre as amostras irradiadas e a amostra controle.

TABELA 11- Atividade de inibição de DPPH (IC50%) pelo tererê

| Amostra | µg/mL | mg/mL |
|----------------|---------------------------|----------------|
| Controle | 36,96 ^a ± 0.92 | 0,037 ± 0,0001 |
| 3kGy | 35,78 ^a ± 0.29 | 0,036 ± 0,0003 |
| 5kGy | 36,54 ^a ± 0.07 | 0,037 ± 0,0001 |
| 7kGy | 35,62 ^a ± 0.26 | 0,036 ± 0,0003 |
| 10kGy | 36,69 ^a ± 0.17 | 0,037 ± 0,0002 |

(n) = 3. Diferente letra em subscrito indica diferença significativa (p < 0,05).

Apesar dos extratos de chimarrão processados nas doses de 7 e 10kGy, apresentarem perdas significativas em relação a amostra controle, essas perdas podem ser consideradas mínimas, devido sua alta capacidade antioxidante, principalmente em comparação a de outros alimentos, como o chá verde e o vinho que são considerados pela alimentos ricos em tais propriedades, no entanto a erva-mate possui atividade antioxidante superior a ambos, conforme relatado na literatura (BIXBY *et al.*, 2005).

Na área de irradiação de alimentos, MISHRA *et al.* (2006) utilizou a irradiação em doses de até 10kGy em folhas de *Camellia sinensis* e não obteve diferença significativa entre as amostras analisadas, resultado semelhante ao apresentado no extrato do tererê. JO *et al.* (2008), obteve diferença significativa irradiando chá verde na dose de 20kGy.

5.7 Análise colorimétrica

O valor (L) expressa a luminosidade ou claridade da amostra, e varia de 0 a 100; assim sendo, quanto mais próximo de 100, mais clara é a amostra e quanto mais distante, mais

escura. Já, valores de (a) mais positivos indicam tendência à coloração vermelha e mais negativos, coloração verde. Valores de (b) mais positivos expressam maior intensidade de amarelo e mais negativos, maior intensidade de azul.

No resultado da análise colorimétrica do chimarrão (TABELA 12), temos diferença significativa em relação ao (L) da amostra de 10kGy em comparação a amostra controle, sendo que ambas não apresenta diferenças em relação a amostra 3 e 7kGy. Quanto ao (a), apenas a amostra de 7kGy, apresentou diferença em relação a amostra controle. As demais amostras não diferiram significativamente. Na análise do (b) as amostras de chimarrão irradiadas não apresentaram diferenças significativas em relação a amostra controle.

TABELA 12 – Médias que representam avaliação colorimétrica do extrato de chimarrão

| | L | a | b |
|----------|----------------------------|---------------------------|----------------------------|
| Controle | 47,51 ^b ± 0,89 | 2,91 ^b ± 0,27 | 23,42 ^{ab} ± 1,94 |
| 3kGy | 49,24 ^{ab} ± 1,12 | 2,98 ^b ± 0,36 | 21,61 ^b ± 2,02 |
| 5kGy | 46,49 ^b ± 1,52 | 3,15 ^{ab} ± 0,29 | 22,00 ^b ± 1,68 |
| 7kGy | 49,88 ^{ab} ± 0,78 | 3,79 ^a ± 0,35 | 24,97 ^a ± 1,73 |
| 10kGy | 52,33 ^a ± 1,94 | 3,13 ^{ab} ± 0,23 | 25,84 ^a ± 1,95 |

Diferentes letras em subscrito indica diferença significativa ($p < 0,05$).

Na análise do tererê (TABELA 13), a amostra de 10kGy apresenta diferença significativa no (L) em relação a amostra controle. Porém, ambas amostras não apresentam diferenças significativas em relação a amostra de 3 e 7kGy. Nos parâmetros (a) e (b), os resultados não apresentam diferenças significativas entre as amostras.

TABELA 13- Médias que representam avaliação colorimétrica do extrato tererê

| | L | a | b |
|----------|----------------------------|---------------------------|---------------------------|
| Controle | 63,77 ^a ± 1,80 | -0,77 ^a ± 0,33 | 22,74 ^a ± 0,95 |
| 3kGy | 61,64 ^{ab} ± 1,74 | -0,23 ^a ± 0,25 | 21,61 ^a ± 0,69 |
| 5kGy | 60,66 ^{ab} ± 2,11 | -0,47 ^a ± 0,37 | 21,50 ^a ± 0,98 |
| 7kGy | 61,33 ^{ab} ± 0,94 | -0,38 ^a ± 0,41 | 21,25 ^a ± 1,13 |
| 10kGy | 57,14 ^b ± 2,14 | -0,27 ^a ± 0,22 | 21,40 ^a ± 0,84 |

Diferentes letras em subscrito indica diferença significativa ($p < 0,05$).

5.8 Análise Sensorial

Na tabela 14 observamos mos os resultados da analise sensorial realizada na faculdade de Saúde Publica. A análise sensorial de diferença múltipla para determinar diferenças globais entre a erva-mate irradiada e não irradiada não apresentou diferença significativa em um nível de até 5% ($p > 0,05$), tanto para o chimarrão, quanto para o tererê.

TABELA 14 – Médias que representa a diferença global entre a erva mãe irradiada e não irradiada para o chimarrão e o tererê.

| Amostras | Chimarrão | Tererê |
|-----------------|-------------------|--------------------|
| Controle | 3,80 ^a | 4,14 ^a |
| 3kGy | 3,90 ^a | 3,76 ^a |
| 5kGy | 4,16 ^a | 4,17 ^a |
| 7kGy | 4,40 ^a | 3,97 ^a |
| 10kGy | 3,80 ^a | 4,14, ^a |

Diferentes letras em subscrito indica diferença significativa ($p < 0,05$).

Na tabela 15, observarmos os resultados do teste de diferença da aparência e do teste de diferenças globais, com a bebida chimarrão, realizado na Industria Leão Junior S.A.

TABELA 15 - Médias que representa a diferença global e de aparência entre a erva-mate irradiada e não irradiada para o chimarrão.

| Amostras | Aparência | Global |
|----------|-------------------|-------------------|
| Controle | 4,04 ^a | 4,33 ^a |
| 3kGy | 4,59 ^a | 4,23 ^a |
| 5kGy | 4,83 ^a | 4,33 ^a |
| 7kGy | 4,83 ^a | 4,57 ^a |
| 10kGy | 4,50 ^a | 4,67 ^a |

Diferentes letras em subscrito indica diferença significativa ($p < 0,05$).

Os resultados da análise sensorial realizada na Indústria, com consumidores habituados ao consumo de chimarrão, não apresentou diferença significativa na análise de diferenças globais e de aparência.

É interessante ressaltar, que a análise colorimétrica detectou diferenças significativas no extrato de chimarrão nas doses de 7 e 10kGy e no extrato de tererê na dose de 10kGy. Apesar disso, a análise sensorial de aparência com provadores habituados ao consumo de chimarrão não detectou diferenças entre produto irradiado e não irradiado. O mesmo não ocorre com ervas de diferentes origens e marcas.

Estudos de análise sensorial feitos com erva-mate demonstram que diferentes processamentos como, adição de vitamina C, tipos de embalagens e tempo de prateleira não alteram as características sensoriais do produto (CROTTI *et al.*, 2008; VALDUGA *et al.*, 2005).

O processamento por irradiação já foi utilizado em estudos do chá *Camelia simensis* com doses de até 10kGy e não apresentaram diferenças significativas entre as amostras irradiadas e não irradiadas (MISHRA *et al.*, 2006). Resultado semelhante ao apresentado neste trabalho.

9. CONCLUSÕES

- ❖ A radiação gama foi eficaz na descontaminação de bolores e leveduras da erva-mate, diminuindo o número de unidades formadoras de colônia por grama (UFC/g), conforme o aumento da dose de radiação.
- ❖ Não foi detectada a presença de aflatoxina nas amostras de erva-mate analisadas.
- ❖ O processamento por radiação não causou perdas de compostos fenólicos totais nos extratos de chimarrão e tererê em relação à amostra controle.
- ❖ O perfil cromatográfico do extrato de chimarrão não apresenta diferença significativa na quantificação das xantinas, mas demonstrou perdas compostos fenólicos na dose de 10kGy. No tererê não houve diferença significativa para nenhum composto analisado.
- ❖ A capacidade de captar radicais livres (DPPH) diminuiu para o chimarrão nas doses de 7kGy e 10kGy, o que não foi observado para tererê. No entanto, a variação observada para o chimarrão, embora significativa, não pode ser considerada importante.
- ❖ A análise colorimétrica do extrato de chimarrão, apresentou diferenças significativas nas amostras de 10kGy no parâmetro (L) e de 7kGy no parâmetro (a). No extrato de tererê, houve diferença significativa na amostra de 10kGy no parâmetro (L).
- ❖ As análises sensoriais das bebidas chimarrão e tererê, não apresentaram diferença significativa entre o produto irradiado e não irradiado.

- ❖ Nas condições do presente experimento, pode-se concluir que os resultados apresentados foram promissores e que a tecnologia de processamento de erva-mate por radiação gama pode ser viável para as indústrias.

- ❖ A dose mais indicada para utilização comercial visando a redução da microbiota fúngica assim como os aspectos econômicos foi a de 5 kGy.

10. REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

ANDERSON, D. Antioxidant defences against reactive oxygen species causing genetic and other damage. *Mutation Research*, Amsterdam, v.350, n.1, p.103-108, 1996.

ANDRADE, F. M. **Diagnóstico da Cadeia Produtiva da *Ilex paraguariensis* St. Hil. Erva-mate**. São Mateus do Sul: [s.n.], 1999.

ANESINI C, FERRARO G, FILIP R. Peroxidase-like activity of *Ilex paraguariensis*. *Food Chem.*, 97 (3): 459-464, 2005.

ARAÚJO, M. M.; THOMAZ, F. S.; FANARO, G.B.; DUARTE R. C.; AQUINO, S.; CORRÊA B.; VILLAVICENCIO; A.L.C. H. Irradiation as a decontamination processing for rice paper sheet. In: INTERNATIONAL NUCLEAR CONFERENCE – *INAC 2007*, September 30 to October 5, Santos –SP, 2007.

BASTOS D.H.M.; TORRES E.A.F.S. Bebidas à base de erva-mate (*Ilex paraguariensis*) e saúde pública. *Nutrire: Revista da Sociedade Brasileira de Alimentação e Nutrição* v.26, 77-89, 2003.

BASTOS, D.H.M.; FORNARI, A.C.; QUEIROZ, Y.S.; SOARES, R.A.M.; TORRES, E.A.F.S. The chlorogenic acid and caffeine content of yerba maté (*Ilex paraguariensis*) beverages. *Acta. Farma. Bonaerense*, v.24, p. 91-95, 2005.

BASTOS, D.H.M.; FORNARI, A.C.; QUEIROZ, Y.S., TORRES, E.A.F. Bioactive compounds content of chimarrão infusions related to the moisture of yerba maté (*Ilex paraguariensis*) leaves. *Braz. Arch. Bio. Tech.*, v.49, p.399-404, 2006.

BASTOS, D.H.M.; OLIVEIRA, D. M. MATSUMOTO, R.L.T.; CARVALHO, P. O.; RIBEIRO M. L. *Yerba maté* composition and pharmacological properties. *Med. Arom. Plant. Sci. Biotech.*, v.1, p.37-46. 2007.

BERNARDI, E.; CALDEIRA, M.F.; NASCIMENTO, J.S. Identificação de fungos filamentosos em erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.). *Arq. Inst. Biol.*, v.72, n.4, p.489-493, 2005.

BIANCHI, M. L. P.; ANTUNES L. M. G. Radicais livres e os principais antioxidantes da dieta Free radicals and the main dietary antioxidants Rev. Nutr., Campinas, 12(2): 123-130, maio/ago., 1999

BITTENCOURT, A. B. F.; OLIVEIRA, C. A. F.; CORRÊA, B. Determinação da Microbiota fúngica de fubá e farinha de milho, comercializados no município de São Paulo, SP. *Hig. Alim.*, vol. 19, p. 79-83, 2005

BIXBY, M.; SPIELER L.; MENINI T.; GUGLIUCCI A. *Ilex paraguariensis* extracts are potent inhibitors of nitrosative stress: a comparative study with green tea and wines using a protein nitration model and mammalian cell cytotoxicity. *Life Sci.*, v.77 p345–58, 2005.

BOISSEAU, P. Irradiation and the food industry in France. *Food technology*, v.48, p.138-140, 1994.

BORGES, L. R.; PIMENTEL, I. C.; BEUX, M. R.; TALAMINI, A. Contagem de fungos no controle de qualidade da erva -mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.) e isolamento de gêneros potencialmente micotoxigênicos. *B. Ceppa*, v.20, p.103-110, 2002.

BRACESCO N.; CANDREVA, C.; NUNES E. Infusión de Yerba mate Análisis de propiedades de a nivel celular y molecular protección antioxidante *Revista Química y Farmacia*, p. 36-41, 2007.

BRASIL. Ministério da Saúde. Decreto-Lei nº 986, de 21 de outubro de 1969. Institui Normas Básicas sobre Alimentos. Publicada no Diário Oficial da União de 21 de outubro de 1969. Alterado pela Medida Provisória nº 2.190-34, de 23 de agosto de 2001

BRASIL. Ministério da Saúde. Decreto nº 72. 718, de 29 de agosto de 1973. Estabelece

normas gerais sobre irradiação de alimentos. Publicada no Diário Oficial da União de 30 de agosto de 1973.

BRASIL. ANVISA. Resolução RDC n° 21, de 26 de janeiro de 2001. Aprova regulamento técnico para irradiação de alimentos. Publicada no Diário Oficial da União de 29 de janeiro de 2001.

BRASIL. Ministério da Saúde. ANVISA. Portaria n° 451, de 19 set.1997. Estabelece critérios e padrões microbiológicos para alimentos. Publicada no Diário Oficial da União de 22 set. 1997.

BRASIL. Ministério da Saúde. ANVISA. Resolução RDC n° 12, de 2 jan. 2001. Estabelece padrões microbiológicos sanitários para alimentos. Publicada no Diário Oficial da União de 10 jan. 2001.

BRAVO, L.; GOYA, L.; LECUMBERRI, E. LC/MS characterization of phenolic constituents of Mate (*Ilex paraguariensis*, *St. Hil.*) and its antioxidant activity compared to commonly consumed beverages. *Food Res. Int.* v.40, p.393–405, 2007.

CAC (CODEX ALIMENTARIUS COMMISSION). Codex General Standard for Irradiated foods. Codex Stand. 106-1983. Rev. 1 – 2003.

CALUCCI, L.; PINZINO, C.; ZANDOMENEGHI, M.; CAPOCCHI, A.; GHIRINGHELLI, S.; SAVIOZZI F.; GALLESCHI, L. Effects of gamma irradiation on the Free radical and Antioxidant Content in nine Aromatic Herbs and Spices. *J. Agric. Food Chem.*, 51(4), 927-934, 2003.

CALVO, C.; DURÁN, L. Propiedades Físicas II – Ópticas y color. In: AGUILERA, J.M. **Temas em Tecnología de Alimentos**, México: Ed. Instituto Politécnico Nacional, v. I, p. 261-288, 1997.

CARDOZO JR, E. L.; FERRARESE-FILHO O.; CARDOZO FILHO L.; FERRARESE M. L.L.; DONADUZZI, C.M.; STURION, J. A. Methylxanthines and phenolic compounds in

mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.) progenies grown in Brazil. *J. Food Comp. Anal.*, v. 20, p. 553–558, 2007.

CARVALHO, P. E. R. **Espécies Florestais Brasileiras**. Recomendações Silviculturais. Potencialidades e Uso da Madeira. Colombo, EMBRAPA – CNPF; Brasília, EMBRAPA – SPI, 639p, 1994.

CERUTTI, P.A. Oxidant stress and carcinogenesis. *European Journal of Clinical Investigation*, Oxford, v.21, n.1, p.1-5, 1991.

CERUTTI, P.A. Oxy-radicals and cancer. *Lancet*, London, v.344, n. 8926, p.862-863, 1994.

CHAUDIÈRE, J.; FERRARI-ILIOU, R. Intracellular antioxidants: from chemical to biochemical mechanisms. *Food and Chemical Toxicology*, v.37, p.946-962, 1999.

CHOW, C. K. Antioxidant nutrients and environmental health: **Introduction**. *Toxicology*, v. 180(1); p. 1 – 3. 2002.

CLIFFORD M.N.; RAMIREZ-MARTINEZ JR (1990) Chlorogenic acids and purine alkaloids contents on maté (*Ilex paraguariensis*) leaf and beverage. *Food Chemistry* v.35, 13-21

CROTTI, L.; DRESCH, G.; RAMALLO, A.L. Stability of vitamin C-fortified yerba mate and sensory evaluation of the drink journal of food processing and preservation. *J. Food Proces. Preserv.*, v.32, p.306–318, 2008.

CROWLEY, M.L.; GABOURY, D.J.; WITT, D. Chef attitudes in North-Eastern US toward irradiation beef, Olestra, rBST and genetically engineered tomatoes. *Food Service Technology*, v.2, p. 173-183, 2002.

DA CROCE, D. M.; FLOSS, P. A. **Cultura da erva-mate no Estado de Santa Catarina**. Boletim Técnico, Florianópolis, n.1000, p. 15-19, 1999.

DAGLIA, M.; PAPETTI, A.; GREGOTTI, C.; BERTE F.; GAZZANI, G. In vitro antioxidant and ex vivo protective activities of green and roasted coffee. **J Agric Food Chem**; 48: 1449- 1454, 2000.

DARINI, M.; SOARES, M.M.S.R. ; CAZENAVE, S.O.S. Isolamento e identificação de fungos filamentosos a partir de *Cannabis sativa* L. **Revista de toxicologia an LÍnea**, n.3, p. 1-12, 2003. Disponível em: <www.sertox.com.ar/retel/n03/001.pdf> Acesso em: 09/nov/2008

DELINCÉE, H. Detection of food treated with ionizing radiation. **Trends Food Sci. Tech.**, v. 9, n.2, p. 73 - 82, 1998.

DEL MASTRO, N.L. Development of irradiation in Brazil. *Progress in Nuclear Energy*, v.35, p 229-248, 1999.

DIEHL, J.F. Food Irradiation: is it an alternative to chemical preservatives? **Food Addit. Contam.**, v. 9, p. 409-416, 1992.

DIEHL, J.F. **Safety of Irradiated Foods**. New York: Marcel Dekker Inc., 1995.

DIEHL, J.F. Food irradiation past, present and future. *Radiation Physics and Chemistry*. V. 63, p. 195- 214, 2002.

DELINCÉE, H.; VILLAVICENCIO, A. L. C. H.; MANCINI-FILHO, J. Protein quality of irradiated Brazilian beans. **Rad. Phys. Chem.**, v. 52, n. 1-6, p. 43-48, 1998.

DELINCÉE, H. Detection of food treated with ionizing radiation. **Trends Food Sci. Technol.**, v. 9, n.2, p. 73 - 82, 1998b.

DELINCÉE, H. Chemical and biological methods for identification of irradiated food. European school of advanced Studies on Nuclear and ionizing radiation Technologies: University of Pavia, Italia, 6 p., April 2005.

DESER. Departamento de Estudos Sócio Econômico. Informativo de conjuntura agrícola e

comercialização do alto Uruguai: A cadeia produtiva da erva mate. n° 3, 12p., 2001.

DUTHIE, S.J.; GARDNER, P.T.; MORRICE, P.C.; WOOD, S.G.; PIRIE, L.; VESTWICK, C.C.; MILNE, L.; DUTHIE, G.G. DNA stability and lipid peroxidation in vitamin E – deficient rats in vivo and colon cells in vitro: modulation by the dietary anthocyanin, cyanidin-3-glycoside. **Eur. j. nutr.**, v. 44, p195-203, 2005.

ERENEL, G., ERBAS, D., ARICIOGLU, A. Free radicals and antioxidant systems. *Materia Medica Polona*, Warsaw, v.1, n.85, p.37-43, 1993

ESMERINDO, M.C.; TONIAZZO, G.; WACZUK, A; DARIVA, C.; OLIVEIRA, D. Caracterização físico-química: influência das etapas do processamento industrial. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, vol. 22, 2002.

FANARO, G. B.; ARAÚJO, M. M.; THOMAZ, F. S.; DUARTE, R. C.; VILLAVICENCIO, A. L.C.H. comparison of treatment in soybean grains between ⁶⁰CO and e-beams applications. In: INTERNATIONAL NUCLEAR CONFERENCE – **INAC 2007**, September 30 to October 5, Santos –SP, 2007.

FARAH, A.; DONANGELO, C. M. Phenolic compounds in coffee. **Braz. J. Plant Physiol.**, 18(1):23-36, 2006.

FARKAS, J. Decontamination including parasite control of dried chilled and frozen foods by irradiation. **Acta Alimentaria**, 16: 351-389, 1987

FARKAS, J. Physical Methods of Food Preservation – Preservatives and Preservation Methods. In: DOYLE, M.P, BEUCHAT, L.R, MONTVILLE, T.J., **Food Microbiol.: fundamentals and frontiers**. 2 ed. Washington: ASM, p. 567-591, 2001.

FARKAS, J. Irradiation for better Foods. **Trends Food Sci. Tech.**, v. 18, p. 1-5, 2006.

FDA – FOOD AND DRUG ADMINISTRATION. Irradiation of meat and meat products. *Federal Register*, v. 64, n. 36, p. 9089-9105, 1999.

FILIP, R.; LOTITO, S.B.; FERRARO G., RAGA, C.G. Antioxidant activity of *Ilex paraguariensis* and related species. *Nutrition Research*, v. 20, 1437-1446, 2000.

FILIP, R.; LOPEZ, P.; GIBERTI, G.; COUSSIO, J.; FERRARO G. Phenolic compounds South American *Ilex* species. *Fitoterapia*, v.72, p. 774 – 778, 2001.

FINKEL, T.; HOLBROOK, N. J.. Oxidants, oxidative stress and the Biology of ageing. *Nature*, v. 408; p. 239 – 247. 2000.

FOX J.A. Influence on purchase of irradiated foods. *Food technology*, v. 56, p. 34-37, 2002.

GENOVESE, M.I.; SANTOS, R.J.; HASSIMOTO, N.M.A.; LAJOLO, F.M. Determinação do conteúdo de fenólicos totais em frutas. *Rev. Cien. Farm.*, v.39 p.167-169, 2003.

GNOATTO, S.C.B; SCHENKEL, E. P.; V. L. BASSANI. HPLC Method to Assay Total Saponins in *Ilex paraguariensis* Aqueous Extract. *J. Braz. Chem. Soc.*, vol. 16, No. 4, 723-726, 2005.

GONTHIER, M., VERNY, M., BESSON, C.; RÉMÉSY, C.; SCALBERT, A. Chorogenic acid bioavailability largely depends on its metabolism by the gut microflora in rats. *J. Nutr.*, v.133, p. 1853-1859, 2003.

GRECZ, N.; ROWLEY, D.B.; MATSUYAMA, A. JOSEPHSON; E.S.; PETERSON, M.S. The action of radiation on bacteria and viruses. **Preservation of foods by ionizing Radiation**. Boca Raton: CRC Press. v.2, p 167-218, 1983.

GRIGOLETTI, A. JR.; AUER, C. G.; MASCHIO, L.M.A. Doenças em erva – mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil). *Parte do Boletim de Pesquisa Florestal*, Colombo, n.32/33, p.43-51, Jan./Dez. 1996.

GUGLIUCCI A.; STAHL A.J. Low-density lipoprotein oxidation is inhibited by extracts of *Ilex paraguariensis*. *Biochemistry and Molecular Biology International* **35**, 47-56,1995.

GUGLIUCCI, A. Antioxidant Effects of *Ilex Paraguariensis*: Induction of Decreased Oxidability of Human LDL *in Vivo*. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. v. 224, p 338-344, 1996.

GUGLIUCCI, A.; MENINI, T. The botanical extracts of *Achyrocline satureoides* and *Ilex paraguariensis* prevent methylglyoxal-induced inhibition of plasminogen and antithrombin III. *Life Sciences* **72**, 279-292, 2002

HALLIWELL, B. Free radicals and antioxidants: a personal view. *Nutrition Reviews*, New York, v.52, n.8, p.253-265, 1994.

HALLIWELL, B., AESCHBACH, R., LÖLINGER, J., ARUOMA, O.I. The characterization on antioxidants. *Food and Chemical Toxicology*, Oxford, v.33, n.7, p.601-617, 1995.

HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J.M.C. **Free radicals in biology and medicine**. New York: Clarendon Press; Oxford: Oxford University Press, 3.ed. p.285-293, 2000.

HARRISON, K.; WERE L.M. Effect of gamma irradiation on total phenolic content yield and antioxidant capacity of Almond skin extracts. *Food Chem.*, v.102 p.932-937, 2007.

HEINRICHS, R.; MALAVOLTA, E. Mineral composition of a commercial product from mate-herb (*Ilex paraguariensis* St Hill). *Ciência Rural*, v. 31, 781-785, 2001.

HENRY, C.J.K., CHAPMAN, C. The Nutrition Handbook for food processors. In: Ehlerman, D.A.E (ed), Irradiation , 1 ed., chapter 17, New York, USA, CRC Press LLC, 2002.

HODGSON, J.M.; PUDEY I.B.; BURKE, V.; MORI, T.A.; CACETTA, R.A.A; BEILIN, L. Acute effects of ingestion of black and green tea on lipoprotein oxidation. *Am J Clin Nutr* 2000; 71: 1103-1107.

IBGE-Brasil. Produção da extração vegetal e da silvicultura – 2007. Disponível em: <http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/economia/pevs/2005/default.shtm>. Acesso novembro 2008.

ICGFI – GRUPO CONSULTIVO INTERNACIONAL SOBRE IRRADIAÇÃO DE ALIMENTOS (ICGFI). *Fatos sobre a irradiação de alimentos*. Brasil: CDTN, 1999.

IAEA. Food Irradiation. *Proceedings of a Symposium*, Karlsruhe, International Atomic Energy Agency, Vienna, 1966.

JO, C.; JEONG, S.; KIM S., PARK, E.; LEE, S. Effect of irradiation on the antioxidative and antigenotoxic activities of a green tea leaf and stem extract. *Inter. J. Food Sci. Tech*, v. 43 p. 400–405, 2008.

KARAKAYA, S. Bioavailability of phenolic compounds. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, v.44, n.6, p.453-464, 2004.

KITAZURU, E.R.; MOREIRA, A.V.B.; MANCINI-FILHO J., DELINCEÉ, H. VILLAVICENCIO, A.L.C.H. Effects of irradiation on natural antioxidants of cinnamon (*Cinnamomum zeylanicum* N.) *Radiation Physics and Chemistry*, v.71, p37–39, 2004

KOSEKI, P. M.; VILLAVICENCIO, A. L. C.H.; BRITO, M S; NAHMEA L. C.; SEBASTIÃO, K. I.; RELA, P. R.; ALMEIDA-MURADIAN L. B.; MANCINI-FILHO J.; FREITAS, P.C.D. Effects of irradiation in medicinal and eatable herbs. *Rad. Phys. Chem.*, v. 63, p. 681–684, 2002.

KYNGMI, M, S.; EBELER, E. Flavonoid effects on DNA oxidation at low concentrations relevant to physiological levels. *Food and Chemical Toxicology*, v.46, p. 96-104, 2008.

LACROIX, M.; OUATARRA, B. Combined industrial process with irradiation to assure innocuity and preservation of food products – a review. *Food Research International*, v. 33, p. 719-724, 2000.

LAWLESS, H.T. & HEYMANN, H. *Sensory evaluation of food*. Maryland: Aspen Publ., p 827,1999.

LAZARETTI, K.E.S.; BEUX, M. R.; PIMENTEL I.C.; TALAMINI, A.; GABARDO, J. Comparação entre os meios de cultura para contagem de fungos no controle microbiológico de erva-mate. *B.Ceppa*, v. 18, n. 2, p. 163-170, 2000.

LEE, J.W.; KIM, J.K.; SRINIVASAN, P. CHOI, J.; KIM J.H.; HAN, S.B.; KIM, D.; BYUN, M.W. Effect of gamma irradiation on microbial analysis, antioxidant activity, sugar content and color of ready-to-use tamarind during storage. *LWD - Food Sci. Tech.*,v.42, p.101-105, 2009.

LIMA, K.S., LIMA, C.; GROSSI, J.L.S., LIMA, A.L.S., ALVES, P.F.M.P., CONEGLIAN, R.C.C., GODOY, R.L.O., SABBA-SRUR, A.U.O. Efeito da irradiação ionizante na qualidade pós-colheita de cenouras (*Daucus carota L.*) *Ciênc. Tecnol. Aliment.*, Campinas , 21(2): 202-208, maio-ago., 2001.

LIN, M. L.; DIANESE, L. C. A coconut agar medium for rapid detection of aflatoxina production by *Aspergillus spp.* *Phytopathology*, v. 66, p. 1466-69, 1976.

LUNCEFORD, N.; GUGLIUCCI, A. *Ilex paraguariensis* extracts inhibit AGE formation more efficiently than green tea. *Fitoterapia* v.76, p.419–27, 2005.

MANACH, C.; SCALBERT, A.; MORAND, C.; REMESY, C.; JIMENEZ, L. Polyphenols: food sources and bioavailability. *American Journal of Clinical Nutrition*, v.79, n.5, p.727-747, 2004.

MAZUCHOWSKI, J. Z.; CROCE, D. M.; WINGE, H. **Diagnóstico e Perspectivas da Erva-Mate no Brasil**. Comissão Nacional da Erva-Mate. Chapecó, 1996. 28 p.

MENINI, T.; HECK, C.; SCHULZE, J.; MEJIA, E.; GUGLIUCCI, A. Protective Action of *Ilex paraguariensis* Extract against Free Radical Inactivation of Paraoxonase-1 in High-Density Lipoprotein. *Planta Med.*, v.73, p.1141-1147, 2007.

MEILGAARD, M.; CIVILLE, G. V.; CARR, B. T.; *Sensory Evaluation Techniques*, 3rd ed., Florida: CRC Press, 1999.

MISHRA, B.B.; GAUTAM, S.; SHARMA, A. Microbial Decontamination of Tea (*Camellia sinensis*) by Gamma Radiation. *J. Food Sci.*, V. 71, Nr. 6, 2006

MONK, J.D.; BEUCHAT, L.R.; DOYLE, M.P. Irradiation inactivation of food-borne microorganisms. *J. Food Protection*, v. 58, n. 2, p.197-208, 1995.

MOREHOUSE, M. Food irradiation – US regulatory considerations. *Rad. Phys. Chem.*, v. 63, p. 281-284, 2002.

MOREIRA, D.P.; MONTEIRO, M.C.; RIBEIRO-ALVES, M.; DONANGELO, C.M.; TRUGO, L.C. Contribution of chlorogenic acids to the iron-reducing activity of coffee beverages. *J. Agric. Food Chem.* 53:1399-1402, 2005.

MURANO, E. A. Irradiation of Fresh Meats. *Food Technol.*, p. 52-54, 1995.

NAMIKI, M. Antioxidants/antimutagens in food. *Journal of Nutrition*, Boca Raton, v.29, n.4, p.273-300, 1990.

NARDINI, M.; NATELLA, F.; SCACCINI, C.; GISHELLI, A. Phenolic acids from beer are absorbed and extensively metabolized in humans. *Journal of Nutritional Biochemistry*, v.17, p.14-22, 2006.

NAYGA R.M. Jr., POGHOSYAN A., NICHOLS J. will consumers accept irradiated food products? *international journal of consumer studies*, 28: 178-185, 2004.

NEVES, L. C.; MANZIONE, R.L.; VIEITES, R. L. Radiação gama na conservação pós-colheita da nectarina (*prunus Persica* var. *Nucipersica*) frigoconservada. *Rev. Bras. Frutic.*, Jaboticabal - SP, v. 24, n. 3, p. 676-679, 2002.

NUNES; T. C. F.; ROGOVSCHI, V D. ; THOMAZ F. S.; TRINDADE, R. A.; ALENCAR, S. M., VILLAVICENCIO, A. L. C. H. Effects of gamma radiation in cauliflower (*brassica* spp) minimally processed In: INTERNATIONAL NUCLEAR CONFERENCE – *INAC 2007*, September 30 to October 5, Santos –SP, 2007.

OKEZIE, I.A. Free radicals, oxidative stress, and antioxidants in human health and disease. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, v.75, n.2, p.199-212, 1998.

OLSON, D.G. Irradiation of Food. *Food technology*, v.52, p 56-62, 1998.

ORNELLAS, C.B.D.; GONÇALVES, M.P.J.; SILVA, P.R; MARTINS, R.T. Atitude do consumidor frente a irradiação de alimentos. *Cienc. Tecnol. Aliment.*, v 26, Campinas jan/mar., 2006.

PEREZ, L.H. Chá, mate e especiarias: exportações brasileiras 1996 a 2006. *Informações Econômicas*, v.37, n.7, jul. 2007.

PODSEDEK, A. Natural antioxidants capacity of brassica vegetables: a review. *Journal of Food Composition and Analysis*, v. 40, p.1-11, 2007

POMPELLA, A. Biochemistry and histochemistry of oxidant stress and lipid peroxidation. *International Journal of Vitamin and Nutrition Research*, Bern, v.67, n.5, p.289-297, 1997.

POULSEN, H.E., PRIEME, H., LOFT, S. Role of oxidative DNA damage in cancer initiation and promotion. *European Journal of Cancer Prevention*, Oxford, v.7, n.1, p.9-16, 1998.

RADOMYSKI, T.; MURANO, E.A.; OLSON, D.G; MURANO, P.S. Elimination of pathogens of significance in food by low-dose irradiation: a review. *J. Food Prot.*, v. 57, n. 1, p. 73-86, 1994.

RAZKAZOVSKIY, Y. DEBIJE, M. G., HOWERTON, S.B., WILLIAMS, L.D. BERNHARD, W.A. Strand breaks in X-irradiated crystalline DNA: Alternating CG oligomers. *Radiation Resistance Research*, 160: 334-339, 2003.

RENOVATTO, Y.P.; AGOSTINI J.; Qualidade microbiológica e físico-química de amostras de erva-mate (*Ilex paraguariensis*) comercializadas em dourados, MS. **Interbio**, v.2 p.1981-3775, 2008.

RICE-EVANS, C., BURDON, R. Free radical-lipid interactions and their pathological consequences. **Progress in Lipid Research**, Oxford, v.32, n.1, p.71-110, 1993.

RICE-EVANS, C.; MILLER, N.J.; PAPANGA, G. Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolics acids. **Free Radical Biology & Medicine**, v.20, p.933-956, 1996.

ROY, P., KULKARNI, A.P. Oxidation of ascorbic acid by lipoxygenase: effect of selected chemicals. **Food Chemical Toxicology**, Oxford, v.34, n.6, p.563-570, 1996.

SABUNDJIAN I. T.; SALUM D. C.; SILVA, P. V.; FURGERI , C.; DUARTE, R. C.; VILLAVICENCIO, A. L. C. H. Decontamination of biological ferment by gamma radiation In: INTERNATIONAL NUCLEAR CONFERENCE – **INAC 2007**, September 30 to October 5, Santos –SP, 2007.

SALUM, D. C.; SABUNDJIAN, I. T.; SILVA P. V.; FURGERI, C. PURGATTO. E.; VILLAVICENCIO, A. L. C. H. Sensorial effects of gamma radiation processing in Cinamom (*laurus cinnamomum*) and nut meg (*myristica fragans*). In: INTERNATIONAL NUCLEAR CONFERENCE – **INAC 2007**, September 30 to October 5, Santos –SP, 2007

SANZ , E. irradiacao de alimentos pode aumentar exportações de frutas brasileiras. Disponível em: www.radiobras.gov.br/ct/1996/materia_270996_12htm. Acesso em: 15 de dezembro de 2008.

SCHINELLA, G.R., TROIANI G., DAVILA V., DE BUSCHIAZZO P.M., TOURNIER H.A. Antioxidant effects of an aqueous extract of *Ilex paraguariensis*. **Biochem. Biophys. Res. Commun.**, v. 269, p. 357–360, 2000.

SCHINELLA, G.; FANTINELLI, J., C.; MOSCA, S., M. Cardioprotective effects of *Ilex paraguariensis* extract: evidence for a nitric oxide-dependent mechanism. **Clinical Nutrition**, v. 24, p. 360–366, 2005.

SHAHIDI, F.; JANITHA P.K.; WANASUNDARA, P.D.; Phenolic antioxidants. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition** 1992; 32(1): 67-103.

SIES, H. Strategies of antioxidant defence. Review. **European Journal of Biochemistry**, Berlin, v.215, n.2, p.213- 219, 1993.

SILVA, N.; AMSTALDEN, V.C.; SILVEIRA, N.S.A. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos**. 2 ed. São Paulo: Livraria Varela, 2001, 317p.

SILVA, P. V.; FURGERI, C.; SALUM, D. C.; ROGOVSCHI V. D.; A. L. C. H. VILLAVICENCIO. Sensorial analysis of peanuts processed by e-beam. Irradiation as a decontamination processing for rice paper sheet. In: INTERNATIONAL NUCLEAR CONFERENCE – **INAC 2007**, September 30 to October 5, Santos –SP, 2007.

SIMIC, M.G., JAVANOVIC, S.V. Inactivation of oxygen radicals by dietary phenolic compounds in anticarcinogenesis. In: HO, C.T., OSAWA, T., HUANG, T.M., ROSEN, R.T. (Ed.). *Food phytochemicals for cancer prevention*. Washington : American Chemical Society, 1994. p.20-33. (ACS Symposium Series, n.546).

SOARES, L. M. V.; RODRIGUES - AMAYA, D. B. Survey of aflatoxins, ochratoxin A, zearalenone and sterigmatocystin in some Brazilian foods by using multitoxin thin-layer chromatographic. **Journal Association Official**. Analytical Chemistry, v. 72, p. 22-26, 1989.

SOARES S.E. Ácidos fenólicos como antioxidantes. **Rev Nutrição** – Campinas; 15(1): 71-81, 2002

SORIANI, R. R.; SATOMI, L. C; PINTO, T. J. A. Effects of ionizing radiation in ginkgo and guarana. *Radiation Physics and Chemistry*, v.73, p. 239–242, 2005.

SPOLAORE, A. J. G. Irradiação de Alimentos. In: GERMANO, M. I. S.; GERMANO, P. M. L. *Higiene e Vigilância Sanitária de Alimentos*. 2 ed. São Paulo: Varela , 2003 , v. 1, p. 445 - 463.

SPOTO, M. H. F.; GALLO, C. R.; DOMARCO, R. E.; ALCARDE, A. R.; WALDER, J. M. M.; BLUMER, L. Radiação gama na redução da carga microbiana de filés de frango. *Ciênc. Tecnol. Aliment.*, vol. 19, p.397-400,1999.

STAHL, W., SIES, H. Antioxidant defence: vitamins E and C and carotenoids. *Diabetes*, New York, v.46, p.S14-S18, 1997.

TALLENTIRE, A. The spectrum of microbial radiation sensitivity. *Radiation and Physics and Chemistry*, v. 15, p. 83-89, 1980.

TRINDADE, R. A.; MANCINI-FILHO J., SABUNDJIAN, I. T.; NUNES, T. C. F.; ROGOVSCHI, V. D.; VILLAVICENCIO; A. L. C. H. Changes on lipid profile in beef burgers prepared with rosemary extract and submitted to e-beam processing. In: INTERNATIONAL NUCLEAR CONFERENCE – *INAC 2007*, September 30 to October 5, Santos –SP, 2007

TRITSCH, G.L. Food irradiation. *Rev. Nut.*, v. 16, n. 7/8, p. 698-701, 2000.

THOMPSON, M.; S. L. R. ELLISON, WOOD, R. Harmonized uidelines for singlelaboratory validation of methods of analysis (IUPAC Technical Report) *Pure Appl. Chem.*, v. 74, No. 5, pp. 835–855, 2002

VALDUGA, E.; JAVORNIK G.; SORDI M.; REZENDE D.F. Avaliação das características de qualidade da erva-mate (chimarrão) Acondicionada em Diferentes Embalagens. *Braz. J. Food Technol.*, v.8, n.2, p. 99-105, abr./jun. 2005.

VALKO, M.; LEIBFRITZ, D.; MONCOL, J.; CRONIC, M.T.D.; MILAN, M.; TELSER, J. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, v.32, n.3, p.3-41, 2006

VIDOR, M. A. Variabilidade genética em um ensaio de progênies de erva-mate (*Ilex paraguariensis* St.Hil.). **Cienc. Rural**, Santa Maria, v. 32, n. 4, jul./ago. 2002.

VILLAVICENCIO, A. L. C. H. **Avaliação dos efeitos da radiação ionizante de ^{60}Co em propriedades físicas, químicas e nutricionais dos feijões *Phaseolus vulgaris* L. e *Vigna unguiculata* (L.) Walp.** 1998. Tese (Doutorado) – FCF/USP, São Paulo.

VILLAVICENCIO, A.L.C.H.; MANCINI-FILHO, J.; DELINCEÉ, H.; GREINER R. Effect of irradiation on anti-nutrients (total phenolics, tannins and phytate) in brazilian beans. **Rad. Phys. Chem.**, v. 57, n. 3-6, p. 299, 2000.

WATTS, B.M. ET AL. Métodos sensoriales básicos. Ottawa: Centro Internacional de Investigaciones para el desarrollo,1992. P.170.

WHO. Safety and nutritional adequacy of irradiated food. Genebra, 1994.

WHO. Quality control methods for medicinal plant materials. Geneva, 1998.

WITZUM, J.L. The oxidative hypothesis of atherosclerosis. **Lancet**, London, v.344, n.8926, p.793-795, 1994.

YOKOSAWA T, NAKAGAWA T, KITANI K. Antioxidative activity of green tea polyphenol in cholesterol-fed rats. **J agric Food Chem**; 50: 3549-3552, 2002.

YU, T-W., ANDERSON, D. Reactive oxygen species--induced DNA damage and its modification: a chemical investigation. **Mutation Research**, Amsterdam, v.379, n.2, p.201-210, 1997.

ANEXOS

ANEXO 1- Fichas utilizadas na análise sensorial.

| <p>Teste de Comparação Múltipla de Diferença - Global Nome: _____</p> <p>Data: _____ Produto: ERVA-MATE</p> <p>Você está recebendo uma amostra padrão (P) e 5 amostras codificadas. Prove a amostra padrão e em seguida, prove cada uma das amostras codificadas da esquerda para a direita e avalie, na escala abaixo, o quanto cada amostra difere, em termos globais, da amostra padrão.</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Muito melhor que o padrão 2. Regularmente melhor que o padrão 3. Ligeiramente melhor que o padrão 4. Nenhuma diferença do padrão 5. Ligeiramente pior que o padrão 6. Regularmente pior que o padrão 7. Muito pior que o padrão <table border="0"> <thead> <tr> <th>Amostra</th> <th>Grau de diferença</th> </tr> </thead> <tbody> <tr><td>-----</td><td>-----</td></tr> <tr><td>-----</td><td>-----</td></tr> <tr><td>-----</td><td>-----</td></tr> <tr><td>-----</td><td>-----</td></tr> <tr><td>-----</td><td>-----</td></tr> </tbody> </table> <p>Comentários: _____ _____ _____ _____</p> | Amostra | Grau de diferença | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | <p>Teste de Comparação Múltipla de Diferença - Aparência Nome: _____</p> <p>Data: _____ Produto: ERVA-MATE</p> <p>Você está recebendo uma amostra padrão (P) e 5 amostras codificadas. Avalie a cor das amostras codificadas em comparação ao padrão conforme a escala abaixo.</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Muito mais clara que a cor do padrão 2. Regularmente mais clara que a cor do padrão 3. Ligeiramente mais clara que a cor do padrão 4. Nenhuma diferença de cor em relação ao padrão 5. Ligeiramente mais escura que a cor do padrão 6. Regularmente mais escura que a cor do padrão 7. Muito mais escura que a cor do padrão <table border="0"> <thead> <tr> <th>Amostra</th> <th>Grau de diferença</th> </tr> </thead> <tbody> <tr><td>-----</td><td>-----</td></tr> <tr><td>-----</td><td>-----</td></tr> <tr><td>-----</td><td>-----</td></tr> <tr><td>-----</td><td>-----</td></tr> <tr><td>-----</td><td>-----</td></tr> </tbody> </table> <p>Comentários: _____ _____ _____ _____</p> | Amostra | Grau de diferença | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- |
|--|-------------------|-------------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|--|---------|-------------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| Amostra | Grau de diferença | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| ----- | ----- | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| ----- | ----- | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| ----- | ----- | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| ----- | ----- | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| ----- | ----- | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Amostra | Grau de diferença | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| ----- | ----- | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| ----- | ----- | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| ----- | ----- | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| ----- | ----- | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| ----- | ----- | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |

ANEXO 2 – Aprovação do comitê de ética

| Andamento do projeto - CAAE - 0076.0.207.207-07 | | | | |
|--|----------------------------|--------------------------|------------------------------|----------------------------|
| Título do Projeto de Pesquisa | | | | |
| Avaliação da atividade antioxidante e análise sensorial da erva-mate (Ilex paraguariensis) submetida ao processamento por radiação gama. | | | | |
| Situação | Data Inicial no CEP | Data Final no CEP | Data Inicial na CONEP | Data Final na CONEP |
| Aprovado no CEP | 07/08/2007 16:12:38 | 14/11/2007 11:48:37 | | |
| Descrição | Data | Documento | Nº do Doc | Origem |
| 1 - Envio da Folha de Rosto pela Internet | 23/07/2007 09:18:19 | Folha de Rosto | FR.148346 | Pesquisador |
| 2 - Recebimento de Protocolo pelo CEP (Check-List) | 07/08/2007 16:12:38 | Folha de Rosto | 0076.0.207.207-07 | CEPV |
| 3 - Protocolo Aprovado no CEP | 14/11/2007 11:48:37 | Folha de Rosto | OF COEP 221/07 | CEP |

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](#)