



DETERMINAÇÃO DOS EFEITOS DA RADIAÇÃO GAMA NOS COMPONENTES  
MAJORITÁRIOS E NA DINÂMICA MOLECULAR DO FRUTO TUCUMÃ  
(*ASTROCARYUM VULGARE*, MART) IRRADIADO

Leandro Moreira Araujo

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-graduação em Engenharia Nuclear, COPPE, da Universidade Federal do Rio de Janeiro, como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Doutor em Engenharia Nuclear.

Orientadores: Delson Braz

Antonio Luís dos Santos Lima

Rio de Janeiro  
Outubro de 2014

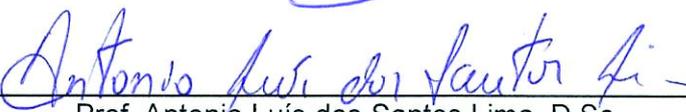
DETERMINAÇÃO DOS EFEITOS DA RADIAÇÃO GAMA NOS COMPONENTES  
MAJORITÁRIOS E NA DINÂMICA MOLECULAR DO FRUTO TUCUMÃ  
(*ASTROCARYUM VULGARE*, MART) IRRADIADO

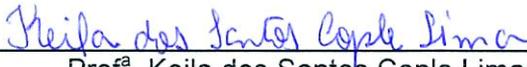
Leandro Moreira Araujo

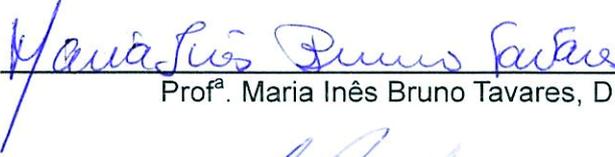
TESE SUBMETIDA AO CORPO DOCENTE DO INSTITUTO ALBERTO LUIZ  
COIMBRA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA DE ENGENHARIA (COPPE) DA  
UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO COMO PARTE DOS REQUISITOS  
NECESSÁRIOS PARA A OBTENÇÃO DO GRAU DE DOUTOR EM CIÊNCIAS EM  
ENGENHARIA NUCLEAR.

Examinada por:

  
\_\_\_\_\_  
Prof. Delson Braz, D.Sc.

  
\_\_\_\_\_  
Prof. Antonio Luís dos Santos Lima, D.Sc.

  
\_\_\_\_\_  
Prof<sup>a</sup>. Keila dos Santos Cople Lima, D.Sc.

  
\_\_\_\_\_  
Prof<sup>a</sup>. Maria Inês Bruno Tavares, D.Sc.

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

  
\_\_\_\_\_  
Dr. Sidney Pacheco, D.Sc.

RIO DE JANEIRO, RJ - BRASIL

OUTUBRO DE 2014

Araujo, Leandro Moreira

Determinação dos Efeitos da Radiação Gama nos Componentes Majoritários e na Dinâmica Molecular do Fruto Tucumã (*Astrocaryum vulgare*, Mart) Irrradiado/  
Leandro Moreira Araujo – Rio de Janeiro: UFRJ/COPPE, 2014.

XIII, 126 p.: il.; 29,7 cm.

Orientadores: Delson Braz

Antonio Luís dos Santos Lima

Tese (doutorado) – UFRJ/ COPPE/ Programa de Engenharia Nuclear, 2014.

Referências Bibliográficas: p. 116-126.

1. Ressonância Magnética Nuclear. 2. Irradiação de Alimentos. 3. Relaxação. I. Braz, Delson *et al.* II. Universidade Federal do Rio de Janeiro, COPPE, Programa de Engenharia Nuclear. III. Título.

*À minha esposa Erylaine*

*Aos meus Pais Luiz e Maria do*

*Socorro*

*Aos meus irmãos Leiane,*

*Lenilson e Luis Jr.*

## AGRADECIMENTOS

Agradeço em primeiro lugar ao bom Deus. O Pai eterno que tornou esse sonho possível. Ele me deu a oportunidade, a saúde, a força, o conhecimento e toda a ajuda necessária através das pessoas que descreverei e agradeço nesta nota.

Em segundo à minha querida e amada esposa Erylaine, que nunca mediu esforços para me ajudar nessa missão, ora fazendo cálculos e me ajudando com as tabelas, ora simplesmente suportando a minha ausência enquanto eu me recolhia na sala de estudos, e em outros momentos me dando todo o suporte emocional e espiritual que precisei. Também incluo nesse paragrafo os meus pais e irmãos, o meu berço. Foram e são minha fonte de inspiração nas pessoas da minha mãe Maria do Socorro e meu pai Luiz. Minha fonte de força nas pessoas dos meus irmãos Leiane, Lenilson e Luis Jr. Vocês são minha origem, me deram dias muito felizes e participaram na construção das minhas memórias mais doces. Sou grato a todos por terem me ajudado com palavras de ânimo, com orações e com a presença doce de cada um.

Ao querido professor e amigo Delson Braz, que pacientemente me orientou nesses últimos anos com suas sinceras palavras de ânimo e direcionamento.

Aos queridos professores Santos Lima e Keila, que com muita dedicação e esmero me orientaram no mestrado e agora no doutorado, pela prontidão e parceria na pesquisa na área de irradiação de alimentos.

À professora Maria Inês, pelo carinho sem medidas que sempre dispensou a mim durante as disciplinas e análises realizadas no Instituto de Macromoléculas Professora Eloísa Mano.

Ao Professor Ronoel e ao Dr. Sidney, pela parceria que me possibilitou realizar as análises de CLAE na Embrapa Agroindústria de Alimentos. Uma parceria valiosa que começou no mestrado e culminou nesta tese.

Aos amigos componentes do grupo de discussão gama que inspirou minha trajetória: Lenilson, Evilásio, Ednan, Marcos, Marcelo, Maurício e Flamarion (*in memoriam*).

Aos demais professores do PEN, assim como o corpo administrativo, destacando a Lili, a Jô, a Tânia, o Washington e o Reginaldo. Todos tiveram importância impar na minha jornada.

E a todos os demais que me ajudaram direta e indiretamente a realizar esse trabalho.

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

DETERMINAÇÃO DOS EFEITOS DA RADIAÇÃO GAMA NOS COMPONENTES  
MAJORITÁRIOS E NA DINÂMICA MOLECULAR DO FRUTO TUCUMÃ  
(ASTROCARYUM VULGARE, MART) IRRADIADO

Leandro Moreira Araujo

Outubro/2014

Orientadores: Delson Braz

Antonio Luís dos Santos Lima

Programa: Engenharia Nuclear

O objetivo deste trabalho foi avaliar os efeitos da radiação gama na estrutura química e molecular do tucumã por meio das técnicas de Ressonância Magnética Nuclear (RMN) de baixo e alto campo, espectroscopia no ultravioleta visível (UV/Vis) e Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE). As doses aplicadas foram 0,5 kGy, 1 kGy, 2 kGy e 4 kGy. O fruto foi dividido em três partes e os resultados mostraram três domínios principais em cada uma das partes do fruto: água, óleos e fibras mais polissacarídeos. O domínio que controla a relaxação em todo o fruto é referente aos óleos, componente majoritário. A radiação mostrou-se capaz de alterar a mobilidade da água livre no epicarpo, mesocarpo e semente, principalmente para 2 kGy. O óleo da porção epicarpo-mesocarpo apresentou elevado teor de carotenoides totais variando de 77300 a 193200 µg/100g. Os ácidos graxos majoritários identificados por RMN de <sup>1</sup>H foram: ácido oleico (65,55 %), saturados (28,26 %), linolênico (3,81 %) e linoleico (2,36 %). Não foram observados efeitos significativos da radiação no teor de carotenoides totais. A dose de 4 kGy foi capaz de alterar o teor de ácidos graxos, não sendo recomendada. Os resultados desse trabalho revelaram que a irradiação é uma técnica promissora na conservação do fruto, pois o efeito principal da radiação sobre o fruto foi à diminuição da água livre no sistema, o que corrobora para a conservação deste, sem efeitos deletérios na qualidade do tucumã.

Abstract of Thesis presented to COPPE/UFRJ as a partial fulfillment of the requirements for the degree of Doctor of Science (D.Sc.)

DETERMINATION OF THE EFFECTS OF GAMMA RADIATION IN THE MAJOR COMPONENTS AND IN THE MOLECULAR DYNAMICS OF THE IRRADIATED TUCUMÃ FRUIT (ASTROCARYUM VULGARE, MART)

Leandro Moreira Araujo

October/2014

Advisors: Delson Braz

Antonio Luís dos Santos Lima

Department: Nuclear Engineering

The objective of this work was to evaluate the irradiation effects in the tucumã fruit chemical and molecular structure by Nuclear Magnetic Resonance (NMR) of low and high resolution, Ultra Violet spectrophotometry (UV/Vis) and High Performance Liquid Chromatography (HPLC). The samples were irradiated in the doses of 0,5 kGy, 1 kGy, 2 kGy and 4 kGy. The fruit was divided in to three parts for analysis and three main domains were observed in each part of the fruit: water, oils and fiber together with polysaccharides. The domain that controls the relaxation in all the fruit is related to the oils, the majority component. The radiation was able to change the free water mobility in the epicarp, mesocarp and seed, mainly for 2 kGy. The oil from the epicarp - mesocarp portion showed high levels of total carotenoids ranging from 77300 to 193200  $\mu\text{g}/100\text{g}$ . The major fatty acids identified by NMR  $^1\text{H}$  were oleic acid ( 65.55 %), saturated ( 28.26% ), linolenic acid ( 3.81% ) and linoleic (2.36%). No significant effects of radiation were observed in total carotenoid. The dose of 4 kGy was able to change the fatty acid amount, not being recommended. The results of this work showed that the irradiation is a promising technique to conserve the fruit, once the main radiation effect in the fruit was the free water level decreasing in the system, what corroborate for the fruit conservation, with no deleterious effects in the quality of tucumã.

# ÍNDICE

	PÁGINA
<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	1
<b>2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b> .....	5
2.1 FRUTOS .....	5
2.2 O TUCUMÃ.....	6
2.3 NUTRIENTES DO TUCUMÃ.....	8
2.3.1 MICRONUTRIENTES.....	8
2.3.1.1 VITAMINAS .....	8
2.3.1.2 AMINOÁCIDOS .....	13
2.3.1.3 AÇÚCARES: GLICOSE, FRUTOSE E SACAROSE.....	15
2.3.1.4 AÇÚCARES: GLICOSE, FRUTOSE E SACAROSE.....	17
2.3.2 MACRONUTRIENTES: OS LIPÍDIOS.....	18
2.3.2.1 GLICERÍDEOS.....	18
2.3.2.1 CAROTENOIDES.....	20
2.4 CARÊNCIAS NUTRICINAIS BRASILEIRAS .....	22
2.4.1 HIPOVITAMINOSE A.....	22
2.5 IRRADIAÇÃO DE ALIMENTOS .....	23
2.5.1 A RADIOATIVIDADE .....	23
2.5.2 INTERAÇÃO DA RADIAÇÃO GAMA COM A MATÉRIA .....	27
2.5.3 APLICAÇÃO DA RADIAÇÃO EM ALIMENTOS: HISTÓRICO .....	27
2.5.4 O PROCESSO DE IRRADIAÇÃO DE ALIMENTOS .....	29
2.5.5 EFEITOS DA RADIAÇÃO GAMA NA COMPOSIÇÃO QUÍMICA DOS ALIMENTOS .....	32
2.5.5.1 EFEITOS QUÍMICOS PRIMÁRIOS .....	32
2.5.5.2 EFEITOS QUÍMICOS SECUNDÁRIOS .....	33

2.5.5.3 EFEITOS DA RADIAÇÃO GAMA NA ÁGUA .....	34
2.5.5.4 EFEITOS DA RADIAÇÃO GAMA NOS CARBOIDRATOS .....	35
2.5.5.5 EFEITOS DA RADIAÇÃO GAMA NAS PROTEÍNAS .....	38
2.5.5.6 EFEITOS DA RADIAÇÃO GAMA NOS LIPÍDIOS .....	39
2.5.5.7 EFEITOS DA RADIAÇÃO GAMA NAS VITAMINAS.....	39
2.5.6 VANTAGENS DA IRRADIAÇÃO DE ALIMENTOS.....	42
2.5.7 SEGURANÇA DO PROCESSO DE IRRADIAÇÃO DE ALIMENTOS.....	43
2.5.8 LEGISLAÇÃO.....	45
<b>2.6 TÉCNICAS ANALÍTICAS.....</b>	<b>47</b>
2.6.1 RESSONÂNCIA MAGNÉTICA NUCLEAR – RMN.....	47
2.6.1.1 RMN DE BAIXO CAMPO.....	48
2.6.1.2 RMN DE ALTO CAMPO EM SOLUÇÃO.....	49
2.6.2 CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA.....	49
<b>3 MATERIAL E MÉTODOS .....</b>	<b>52</b>
3.1 MATERIAL.....	52
3.2 EQUIPAMENTOS .....	53
3.3 PROCESSO DE IRRADIAÇÃO .....	53
3.3.1 CÁLCULO DA TAXA DE DOSE.....	56
3.3.2 IRRADIAÇÃO DOS FRUTOS.....	56
3.3.3 FLUXOGRAMA DO PROCESSO.....	56
3.4 ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS.....	57
3.4.1 ANÁLISES FÍSICAS.....	57
3.4.1.1 DETERMINAÇÃO DO TEOR DE UMIDADE.....	57
3.4.1.2 EXTRAÇÃO DE LIPÍDIOS POR SOXHLET.....	58
3.4.2 ANÁLISES POR RESSONÂNCIA MAGNÉTICA NUCLEAR DE BAIXO CAMPO.....	58
3.4.2.1 PREPARAÇÃO DAS AMOSTRAS.....	58

3.4.2.2 ANÁLISE POR RELAXOMETRIA.....	59
3.4.2.3 ANÁLISES DO TEOR DE ÓLEOS.....	59
3.4.3 ANÁLISES POR ESPECTROFOTOMETRIA – CAROTENOIDES TOTAIS DO ÓLEO.....	60
3.4.4 ANÁLISES POR CLAE – CAROTENOIDES MAJORITÁRIOS DO ÓLEO.....	61
3.4.5 ANÁLISES POR RESSONÂNCIA MAGNÉTICA NUCLEAR DE ALTO CAMPO.....	62
3.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	63
<b>4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>64</b>
4.1 ANÁLISES POR RMN BAIXO CAMPO.....	64
4.1.1 ANÁLISES PRELIMINARES POR RELAXOMETRIA.....	64
4.1.1.1 ANÁLISE DO AJUSTE EXPONENCIAL APROPRIADO NA DETERMINAÇÃO DE $T_1H$ DO TUCUMÃ.....	64
4.1.1.2 ANÁLISES DOS DOMÍNIOS E DETERMINAÇÃO DOS COMPONENTES MAJORITÁRIOS DO TUCUMÃ.....	71
4.1.2 ANÁLISE DOS EFEITOS A RADIAÇÃO GAMA POR RELAXOMETRIA.....	73
4.1.2.1 ANÁLISE DA INFLUÊNCIA DA RADIAÇÃO GAMA NOS VALORES DE $T_1H$ E INTENSIDADES DO EPICARPO E MESOCARPO DO TUCUMÃ.....	74
4.1.2.2 ANÁLISE DA INFLUÊNCIA DA RADIAÇÃO GAMA NOS VALORES DE $T_1H$ E INTENSIDADES DO ENDOCARPO DO TUCUMÃ.....	78
4.1.2.3 ANÁLISE DA INFLUÊNCIA DA RADIAÇÃO GAMA NOS VALORES DE $T_1H$ E INTENSIDADES DA SEMENTE DO TUCUMÃ.....	82
4.1.3 ANÁLISES PRELIMINARES DO TEOR DE ÓLEOS.....	85
4.1.4 ANÁLISES DOS EFEITOS A RADIAÇÃO GAMA NO TEOR DE ÓLEOS.....	88
4.2 ANÁLISES POR ESPECTROFOTOMETRIA – CAROTENOIDES TOTAIS.....	93
4.3 ANÁLISES POR CLAE – CAROTENOIDES MAJORITÁRIOS.....	95
4.4 ANÁLISES POR RESSONÂNCIA MAGNÉTICA NUCLEAR DE ALTO CAMPO.....	97
4.4.1 AVALIAÇÃO DOS CONSTITUÍNTES POR RMN EM SOLUÇÃO.....	98

4.4.2 AVALIAÇÃO DOS EFEITOS A RADIAÇÃO GAMA NO PERFIL LIPÍDICO POR RMN EM SOLUÇÃO.....	107
<b>5 CONCLUSÕES.....</b>	<b>112</b>
<b>6 SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS.....</b>	<b>115</b>
<b>7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>116</b>

## LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

ANOVA	Analysis of Variance
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
ATP	Attached Proton Test
Bq	Becquerel
Ci	Curie
CLAE	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência
CNEN	Comissão Nacional de Energia Nuclear
COPPE	Instituto Alberto Luiz Coimbra de Pós-Graduação e Pesquisa de Engenharia
CTEx	Centro tecnológico do Exército
DINAL	Divisão Nacional de Vigilância Sanitária de Alimentos
DRI	Dietary Reference Intake
FAD	Flavina-adenina dinucleotídeo
FMN	Flavina mononucleotídeo
FAO	Food and Agriculture Organization
Gy	Gray
IAEA	International Atomic Energy Agency
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
IBRAF	Instituto Brasileiro de Frutas
IMA	Instituto de macromoléculas Professora Eloísa Mano
IME	Instituto Militar de Engenharia
IOM	Institute of Medicine
Kev	Quilo elétron-volt ( $10^{-3}$ elétrons-volt)
kGy	Kilogray
LIN	Laboratório de Instrumentação Nuclear
Mev	Mega elétron-volt ( $10^{-6}$ elétrons-volt)

MHz	Mega Hertz
NASA	National Aeronautics and Space Administration
NC	Nível de Confiança
OMS	Organização Mundial de Saúde
PPM	Partes por Milhão
RDC	Resolução da Diretoria Colegiada
RMN	Ressonância magnética Nuclear
RMN-BC	Ressonância magnética Nuclear de baixo campo
SVS/MS	Secretaria de Vigilância Sanitária do Ministério da Saúde
UFRJ	Universidade federal do Rio de Janeiro
UV/Vis	Ultravioleta visível
WHO	World Health Organization

# 1 INTRODUÇÃO

A população mundial cresce em velocidade e proporções superiores aos mecanismos de produção de alimentos. Este fato coloca o planeta diante de uma missão complexa e urgente: prover meios para atender a demanda de alimentos para a humanidade nas próximas décadas. Algumas regiões do mundo se destacam por apresentarem grande potencial produtivo, o Brasil é umas destas regiões produzindo cerca de 140 milhões de toneladas de alimentos por ano e vem constantemente batendo recordes de safras. O Brasil produziu nos anos de 2008 e 2009, cerca de 42,6 e 41,0 milhões de toneladas de frutos, respectivamente, colocando o país como o terceiro produtor mundial de frutos, ficando atrás somente da China e da Índia. Mas muito do que é produzido não chega aos consumidores devido às perdas pós-colheita (ARAUJO, 2009, IBRAF, 2012). Isso se reflete na fome no País, que segundo dados do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), atinge 14 milhões de brasileiros, o que corresponde a 7,7% da população (IBGE, 2004).

A perda pós-colheita é a parte física da produção que não é destinada ao consumo, em razão da depreciação da qualidade dos produtos, devido à deterioração, causada por amassamentos, cortes, podridões e outros fatores (VILELA *et al.*, 2003). As perdas pós-colheita atingem todo o mundo com mais ou menos intensidade dependendo do país e sua disponibilidade tecnológica e critérios para o tratamento e a segurança de alimentos. Especificamente no caso das hortaliças, estudos realizados constatam que no Brasil os níveis médios de perdas pós-colheita são de 35%, chegando a atingir até 40%, enquanto em outros países como nos Estados Unidos não passam de 10% (VILELA *et al.*, 2003). Uma estimativa para as perdas pós-colheita de todos os produtos brasileiros ao longo da cadeia produtiva fica em torno de 30% (QUINTÃO, 2007), bem próximo da média mundial que está entre um quarto e

um terço de tudo que é produzido, segundo a Food and Agriculture Organization (FAO).

As perdas na cadeia produtiva de alimentos poderiam alimentar uma parcela significativa dos famintos brasileiros, sem gasto adicional com produção (QUINTÃO, 2007).

Os alimentos também são responsáveis por diversas infecções e doenças no mundo e matam, aproximadamente, 1,8 milhões de pessoas por ano. Em 2005, o consumo de alimentos contaminados acarretou 325 mil hospitalizações e 5 mil mortes nos EUA (CDC, 2003). Os patógenos *Salmonella*, *Escherichia coli* O157, *Campylobacter*, *Listeria* e *Toxoplasma* são os principais causadores de doenças (WHO, 1990).

Diante do grande desperdício de alimentos, das doenças que atingem os consumidores e da fome que também é uma conseqüência desses dois fatos apontados ainda há outro grande problema, a desnutrição. A desnutrição foi apontada como causadora de pelo menos 55% das mortes infantis em países em desenvolvimento no ano de 1995, segundo a UNICEF (1998). A hipovitaminose A é um dos problemas de saúde pública mais críticos enfrentados por todo mundo. Inclusive por populações com abundância de alimentos. Deste modo, entende-se que não basta produzir grandes quantidades de alimentos, com eficientes mecanismos anti-perdas e controle de vetores, o ideal é viabilizar para as demais regiões a distribuição desses alimentos com bom potencial vitamínico que geralmente não são conhecidos e consumidos além de sua região de incidência por possuírem vida útil bastante curta e não resistirem ao transporte de suas regiões de origem às demais (ARAUJO, 2009).

O aumento da vida útil dos alimentos pode ser possível pela aplicação das radiações ionizantes que constitui hoje uma das formas mais modernas, seguras e eficientes para a preservação de alimentos, pois reduz as perdas naturais causadas por processos fisiológicos (brotamento, maturação e envelhecimento),

conseqüentemente aumentando o tempo de vida do alimento. O método também elimina ou reduz a proliferação de microorganismos, parasitas e pragas, sem causar prejuízo ao alimento ou ainda utilizar produtos químicos com potencial contaminante. O processo de irradiação acarreta alterações químicas mínimas nos alimentos, nenhuma das quais nocivas ou perigosas, motivo pelo qual a Organização Mundial de Saúde recomenda sua aplicação e uso (OMS, 1981).

Sob este aspecto, o objetivo do presente trabalho é avaliar os efeitos da radiação gama nos componentes majoritários e na dinâmica molecular do fruto tucumã. Para tanto, foi utilizada a espectroscopia de RMN de baixo campo (RMN-BC) para analisar os efeitos do processo de irradiação no teor de óleos e na mobilidade molecular determinada pelo tempo de relaxação longitudinal para o núcleo de hidrogênio, um indicador da qualidade interna dos materiais naturais. Outras técnicas para investigação dos efeitos da radiação especificamente no perfil lipídico foram empregadas, como CLAE, Espectrofotometria UV/Vis e RMN de alto campo em solução.

Os frutos como o tucumã, que possuem elevado potencial nutritivo apresentam-se como uma alternativa ao combate a desnutrição em suas regiões de origem e nas demais regiões do país. A necessidade de divulgação do tucumã bem como de mecanismos para aumentar sua vida útil e conserva-lo no transporte para as outras regiões são condições que devem ser atendidas. Esses aspectos constituem a relevância desse trabalho, cujos resultados são de grande aplicabilidade no combate à desnutrição.

Os seguintes objetivos específicos foram alcançados na primeira fase do trabalho:

a) Identificação dos componentes predominantes do tucumã pela determinação dos tempos de relaxação nuclear e determinação da concentração de óleos por espectrometria utilizando a técnica de RMN-BC;

b) Avaliação da influência da radiação gama, nas doses de 0,5 kGy, 1,0 kGy e 2,0 kGy, nas concentrações dos óleos e dos componentes majoritários das partes do fruto, por meio de testes estatísticos;

c) Avaliação dos efeitos da radiação gama na dinâmica molecular do tucumã pela determinação dos tempos de relaxação nuclear.

O presente trabalho está estruturado da seguinte forma:

O ítem 1 apresenta a revisão bibliográfica realizada na fase inicial do trabalho.

No ítem 2 o fruto tucumã e as técnicas analíticas são apresentadas.

O ítem 3 descreve a metodologia do trabalho.

No ítem 4 encontram-se os resultados e as discussões dos dados obtidos.

O ítem 5 encerra o trabalho com as conclusões e recomendações.

O ítem 6 apresenta sugestões para trabalhos futuros.

### **Contribuição Original**

Este trabalho apresenta informações consolidadas sobre os assinalamentos dos domínios moleculares do tucumã por RMN baixo campo e os efeitos da radiação gama nos domínios assinalados. Também apresenta assinalamentos referentes aos espectros de RMN  $^1\text{H}$  do óleo de tucumã e a aplicação de uma metodologia recente para avaliação dos efeitos do tratamento gama no perfil lipídico do fruto do tucumã baseada na integralização de picos singulares da glicerina e dos ácidos graxos insaturados.

## 2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 FRUTOS

O fruto é uma estrutura exclusiva das Angiospermas e biologicamente é um envoltório protetor da semente (ou sementes), assegurando a propagação e perpetuação das espécies. O fruto é constituído por duas partes fundamentais: o pericarpo, que é o fruto propriamente dito, e a semente. O pericarpo por sua vez é dividido em três camadas:

Epicarpo: camada que reveste o fruto externamente;

Mesocarpo: porção mais desenvolvida nos frutos carnosos, geralmente comestível;

Endocarpo: camada que reveste a cavidade do fruto, ficando entre o mesocarpo e a semente.

A drupa é um tipo especial de fruto. Sua característica principal é ser carnosa, pois apresenta o pericarpo bem desenvolvido e o epicarpo delgado. Já o mesocarpo pode ser carnoso ou coriáceo ou fibroso, e o endocarpo é muito rígido, fortemente ligado a semente, formando o “caroço”. A manga (*Mangifera indica*), a azeitona (*Olea europaea*, L.), o tucumã e os demais tipos de coco são exemplos de drupas (KERBAUY, 2008).

#### **Amadurecimento dos frutos**

Quando o fruto e suas células adquirem o tamanho máximo, o processo de maturação tem início. Trata-se de um evento fisiológico complexo, tangido por mudanças fisiológicas, bioquímicas e estruturais consideráveis, perceptíveis pela

mudança de características como a coloração, textura, sabor e aroma (KERBAUY, 2008).

## 2.2 O TUCUMÃ

O Tucumã é um fruto presente em vários países da América Latina. Apresenta-se por várias espécies e todas do gênero *Astrocaryum*. A variedade estudada nesse trabalho foi a espécie *Astrocaryum vulgare*, Mart, nativa dos estados do Pará, Maranhão, Tocantins, Piauí, Ceará, Mato Grosso e Goiás. Sua incidência ocorre principalmente em solos arenosos e áreas degradadas por queimadas ou pastagens, é ecologicamente agressivo e possui alta capacidade de regeneração, sendo algumas vezes considerado como daninha (LORENZI, 2002).



Figura 2.1 Tucumanzeiro em meio à pastagem no estado do Pará.

O tucumanzeiro é uma palmeira espinhosa (Figura 2.1), geralmente entouceirada com outros caules em número variável (de 2 a 6 caules). Atinge até 10 m

de altura e com 10 a 20 cm de diâmetro, cobertos com espinhos pretos com cerca de 20 cm de comprimento. Cachos com cerca de 1 m e 150 frutos elipsóides verdes que adquirem cor amarelo alaranjada quando maduros, como pode ser visto na Figura 2.2. Da amêndoa se extrai óleo comestível com taxa de 30-50% de óleo branco. Polpa fibro-carnosa levemente adocicada também de cor amarelo alaranjada que envolve a semente. Comestíveis e bastante apreciados pelas populações regionais sendo inclusive comercializados em feiras locais (LORENZI, 2002).



Figura 2.2 Frutos tucumã (*Astrocaryum vulgare*, Mart), prontos para o consumo.

O amadurecimento dos frutos ocorre de dezembro a maio, e a colheita pode ser feita diretamente nas árvores assim que se inicia o período de queda espontânea ou no chão. A qualidade microbiológica dos frutos é uma questão séria, pois este fica exposto à micro fauna do chão onde é colhido. Um outro agravante é que quando cai, o fruto já está num estágio considerável de senescência o que resulta em um período curto de duração do mesmo. Esses são os principais fatores que dificultam o transporte do fruto para outros estados. São muito ricos em vitaminas e possuem o maior potencial pro-vitamínico A que se conhece na natureza, considerado como uma boa fonte de carotenoides com maior concentração em  $\beta$ -caroteno, principal precursor da vitamina A. (LIMA *et al.*, 2011, LORENZI, 1996 e 2002)

É um fruto pouco conhecido no país, somente conhecido e apreciado em suas regiões de ocorrência. A população consome o tucumã *in natura*, fazendo farinha,

sucos, sorvetes, tortas, sanduíches, algumas vezes em receitas mais exóticas, como lasanhas e outras misturas com pratos diversos. O grande teor de  $\beta$ -caroteno torna o fruto uma excelente alternativa ao combate da hipovitaminose A (LORENZI, 2002).

## **2.3 NUTRIENTES DO TUCUMÃ**

### **2.3.1 MICRONUTRIENTES**

#### **2.3.1.1 VITAMINAS**

Vitaminas são substâncias orgânicas essenciais ao metabolismo humano, não sendo sintetizada pelo organismo, devem ser adquiridas através de uma dieta balanceada.

#### **VITAMINA A - RETINOL**

A vitamina A (retinol) é considerada a vitamina da visão e um fator regulador do crescimento. Foi descoberta em 1913 por MC COLLUM e DAVIS em experiências com ratos. Notaram que os roedores sofriam uma deficiência nutricional quando eram alimentados apenas com gordura suína, e que essa deficiência desaparecia quando eram nutridos com um fator presente na gema do ovo e no óleo de fígado de bacalhau (MC DOWELLI, 1989 apud GIACOMINI, 1996). A sua estrutura foi determinada em 1931 por Karrer e colaboradores sendo sintetizada posteriormente pelo processo de Isler utilizando como matéria-prima a  $\beta$ -ionona (KOROLKAS e BURCKALTER, 1988 apud GIACOMINI, 1996).

O retinol é uma substância isoprenóide, composta por uma unidade chamada isopreno cuja cadeia é formada por hidrocarbonetos de 5 carbonos, fundamental em muitas substâncias de origem vegetal, possuindo aspecto oleoso, de alta viscosidade

(LEHNINGER, 1973). É um nutriente que só pode ser encontrado em alimentos de origem animal, como fígado, ovos, derivados de leite e peixe, mas os vegetais, legumes e frutas podem fornecer a pró-vitamina A, como  $\alpha$  e  $\beta$ -caroteno, que podem ser transformados biologicamente em vitamina A pelos organismos animais. O processo de biotransformação de carotenoides em retinol nos mamíferos ocorre no intestino delgado e no fígado (ALBERS *et al.*, 2002 apud GIACOMINI, 1996).

O termo vitamina A refere-se a um grupo de compostos, que inclui retinol, retinaldeído e ácido retinóico, e ainda inclui os carotenoides, por possuírem atividade pró-vitamina A (SBP, 2007). Os fatores de conversão usados para o cálculo do valor de vitamina A de um alimento de origem vegetal, baseiam-se no conceito de Equivalente de Atividade de Retinol (RAE, do inglês, Retinol Activity Equivalents), cada RAE corresponde a 1  $\mu\text{g}$  de retinol ou 12  $\mu\text{g}$  de  $\beta$ -caroteno ou 24  $\mu\text{g}$  de outros carotenoides provitamínicos ( $\alpha$ -caroteno e  $\beta$ -criptoxantina), segundo IOM (2001). Para o  $\beta$ -caroteno em óleo o fator de conversão é 1:2, ou seja, 1  $\mu\text{g}$  de retinol para cada 2  $\mu\text{g}$  de  $\beta$ -caroteno (IOM, 2001).

Segundo WHO, por volta de 64% de toda a vitamina A consumida pelas pessoas é originada dos carotenoides (WHO, 1995).

A Tabela 2.1 descreve a recomendação diária para diversas faixas de idade de homens e mulheres, de acordo com a *Dietary Reference Intake* (DRI).

Tabela 2.1 Recomendação diária de Vitamina A (IOM, 2001).

<b>Grupo etário</b>	<b>Homens (<math>\mu\text{g}/\text{dia}</math>)</b>	<b>Mulheres (<math>\mu\text{g}/\text{dia}</math>)</b>
Crianças 0-6 meses	400	400
Crianças 7-12 meses	500	500
Crianças 1-3 anos	300	300
Crianças 4-8 anos	400	400
Crianças 9-13 anos	600	600
Adolescentes 14-18 anos	900	700
Adolescentes 19 e +	900	700
Gestantes < 18 anos	---	750
Gestantes 19 e +	---	770
Lactantes < 18 anos	---	1200
Lactantes 19 e +	---	1300

## VITAMINA B1 – TIAMINA

A vitamina B1, amplamente conhecida como tiamina (Figura 2.3), é importante para o bom funcionamento dos sistemas nervoso, cardiovascular, muscular e digestório do organismo humano. De acordo com a *Dietary Reference Intake* (IOM, 2001) é necessário o fornecimento diário de tiamina (1,2 mg/dia), por não ser armazenada em grandes quantidades nos tecidos.

A carência desta vitamina na alimentação humana pode conduzir à avitaminose designada por beribéri. Alguns sinais de sua falta são insônia, nervosismo, irritação, fadiga, depressão, perda de apetite e energia, dores no abdômen e no peito, sensação de agulhadas e queimação nos pés, perda do tato e da memória e problemas de concentração. Alguns inimigos da tiamina são álcool, café, cigarro, antiácido, barbitúricos, diuréticos, excesso de doces e de açúcar (SHIELS *et al.*, 2003). A tiamina também apresenta ação repelente contra mosquitos em virtude dos compostos sulfúricos com cheiro característico que são produzidos pela cisão da molécula dessa vitamina e exalados pelo suor (FRANCO, 2007). Os autores do mesmo trabalho recomendam o consumo de 1,2 a 1,8 mg de tiamina diariamente por via oral dois dias antes da exposição aos mosquitos para conseguir o efeito repelente.

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

Sabe-se que a tiamina é instável ao calor, meios alcalinos e oxigênio e é uma das vitaminas mais sensíveis à radiação (KILCAST, 1994). A hidrossolubilidade é também um fator de perda de tiamina a partir dos alimentos. Podem ser perdidas

quantidades consideráveis na água de descongelamento dos alimentos ou na água utilizada para cozinhar.

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

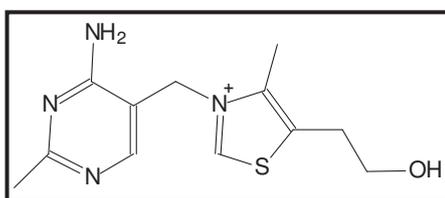


Figura 2.3 Fórmula estrutural da tiamina (Fonte: SOUZA, 2008).

## VITAMINA B2 – RIBOFLAVINA

A vitamina B2 (Figura 2.4), também conhecida como riboflavina, pertence ao grupo dos pigmentos naturais, hidrossolúveis, extremamente dispersos no reino animal e vegetal que se chamam liocromos, em oposição aos lipocromos, que são lipossolúveis. É estável ao aquecimento e aos processos comuns de cocção e é estável no leite, necessitando ser condicionadas em vidros ou caixas escuras protegidas da luz, pois sem esse cuidado pode ocorrer perda de 50% de riboflavina em duas horas de exposição a luz. Também é estável a ácidos e à oxidação, sendo sensível aos álcalis. Alimentos como carne, ovos, produtos vegetais e o leite com seus derivados são considerados boas fontes de riboflavina (FRANCO, 2007).

A riboflavina exerce suas funções no organismo sob a forma de uma de suas duas coenzimas, o fosfato de riboflavina ou flavina mononuclídeo (FMN) e flavina-adenina dinucleotídeo (FAD). Suas funções compreendem diversos processos

metabólicos, achando-se envolvida na transformação dos lipídios, proteínas e glicídios. Sob a forma de FMN, e principalmente sob a forma de FAD, forma o grupo prostético de varias enzimas que se caracterizam por atuar como agentes nos processos de transferência de hidrogênio e nos metabolismos de ácidos graxos e aminoácidos (FRANCO, 2007).

Ela é constituinte ativo de diversas enzimas entre as quais as que atuam no transporte de oxigênio e, desse modo, na respiração celular e processos de oxidação. Todas as flavinas possuem como grupo prostético as coenzimas FMN e FAD cujo papel é o de catalisação nas reações de vários tipos que diferem não apenas em relação aos substratos, mas também a respeito dos aceptores. A mais importante dessas reações é a desaminação oxidativa de aminoácidos, seguida da oxidação de aldeídos e dihidrogenação de cadeias alifáticas. Sem a presença da riboflavina a síntese protéica é bastante reduzida e graças a sua fotossensibilidade, a riboflavina desempenha importante papel nos fenômenos da visão, favorecendo também a diurese aquosa e salina (FRANCO, 2007).

A arriboflavinose, como é conhecida a deficiência da vitamina, se caracteriza por diversas manifestações, glossite com vermelhidão brilhante (língua magenta, estomatite angular), queratose folicular seborréica no sulco nasolabial, no nariz e na testa, dermatite na região anogenital, sensação de queimadura nos pés, anemia normocrômica e normocítica, acompanhada de neutropenia, fotofobia, prurido e ardor nos olhos (FRANCO, 2007).

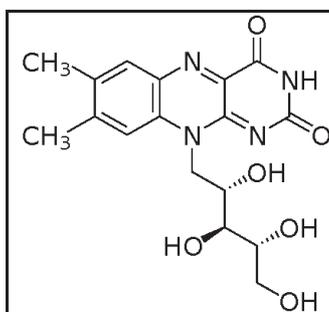


Figura 2.4 Fórmula estrutural da riboflavina.

### 2.3.1.2 AMINOÁCIDOS

Existem no organismo humano cerca de cinco milhões de proteínas diferentes. Proteínas são polímeros constituídos dos mesmos monômeros (aminoácidos). São aproximadamente vinte estes aminoácidos constituintes perfeitamente conhecidos, que se repetem, em média, cem vezes nas várias proteínas (ARAÚJO, 2006). Eles são denominados de alfa-aminoácidos (seus nomes e suas fórmulas estruturais podem ser vistas na Figura 2.5).

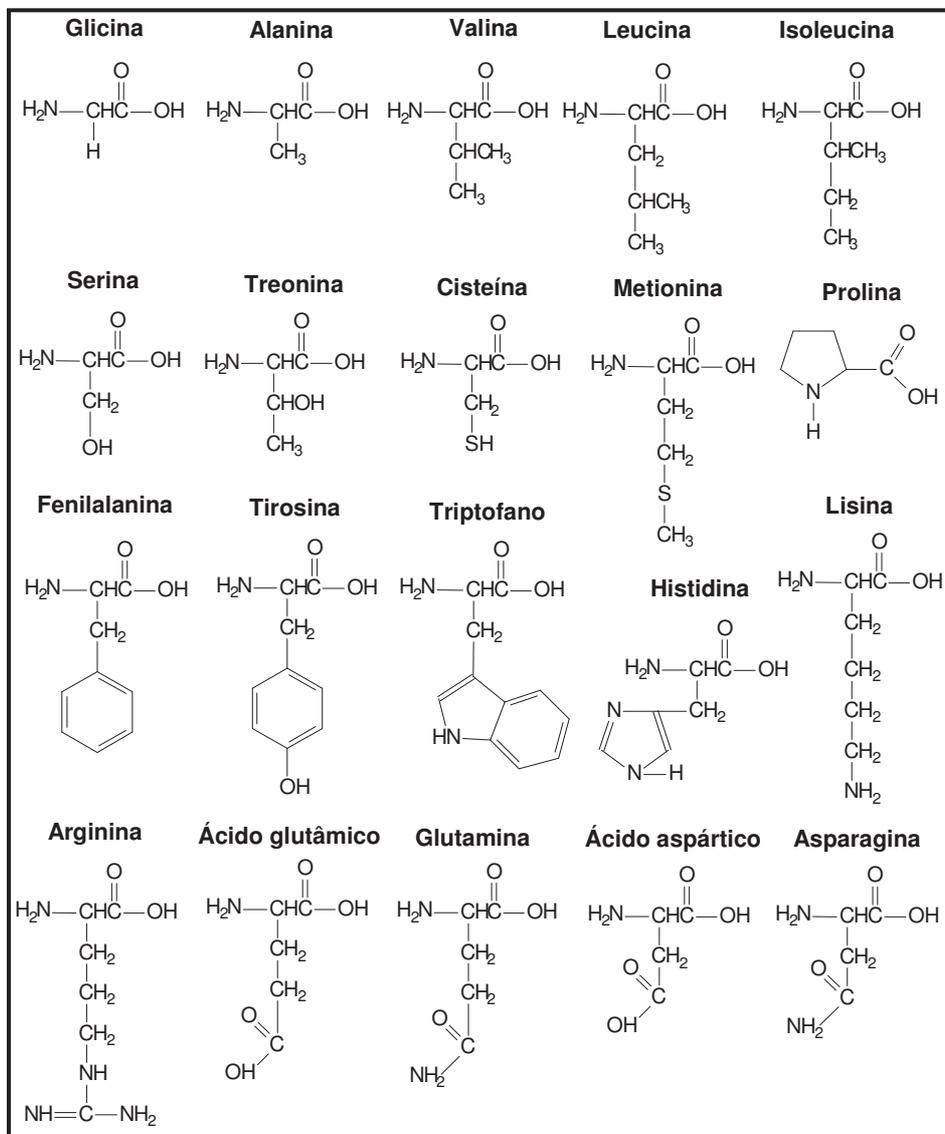


Figura 2.5 Fórmulas estruturais dos alfa-aminoácidos (Adaptado de ARAUJO, 2009).

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

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

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

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

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

A grande maioria dos aminoácidos não apresenta nenhuma característica física ou química que possibilite a sua fácil determinação, especialmente em baixas concentrações. Por esta razão, é necessário usar um artifício que os transforme em estruturas com características facilmente detectáveis. O usual é proporcionar uma reação com compostos que apresentem grupos cromóforos ou fluoróforos detectados por espectroscopia de ultravioleta/visível ou fluorímetros. A este tipo de reação dá-se o nome de derivatização (SOUZA, 2008).

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

### **2.3.1.3 AÇÚCARES: GLICOSE, FRUTOSE E SACAROSE**

Os açúcares são compostos orgânicos também conhecidos como carboidratos, ou hidratos de carbono. Como o próprio nome sugere são compostos com estruturas a base de carbono e hidrogênio, mas incluindo também o oxigênio. Derivam da reação de fotossíntese que ocorre nas plantas, com a ação catalítica da clorofila: o dióxido de carbono se combina com a água e formam a glicose ( $C_6H_{12}O_6$ ). As moléculas de

glicose (Figura 2.6) podem se combinar e formar outros três componentes característicos das plantas: a sacarose, composta de uma molécula de glicose mais uma molécula de frutose (Figura 2.7), a celulose, polímero composto de uma grande quantidade de moléculas de glicose ( $n > 200$ ) e o amido. As moléculas de celulose garantem a sustentação da planta, e as de amido servem como reserva energética (SOUZA, 2008). Tanto a sacarose quanto o amido são vitais para a alimentação básica do homem (MINATTI, 2007).

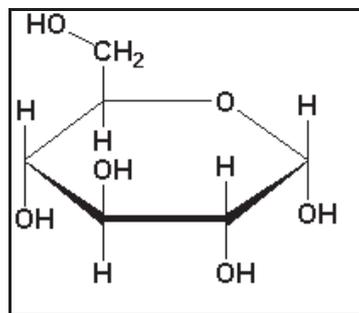


Figura 2.6 Glicose -  $C_6H_{12}O_6$ .

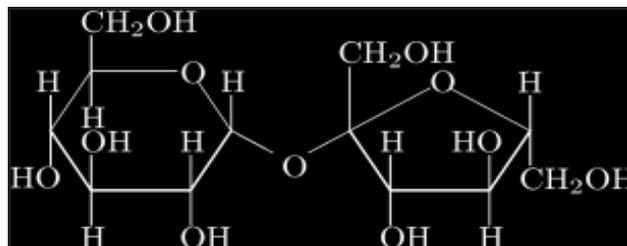


Figura 2.7 Sacarose -  $C_{12}H_{22}O_{11}$ .

Os carboidratos podem ser vistos como aldeídos poli-hidroxilados ou cetonas poli-hidroxiladas, ou, ainda, compostos que, pela hidrólise, podem se transformar nestes. Eles podem ser divididos em quatro grandes grupos: monossacarídeos, dissacarídeos, oligossacarídeos e polissacarídeos. Os monossacarídeos são carboidratos não polimerizados, por isso, não sofrem hidrólise. Possuem em geral entre três e sete átomos de carbono. A estrutura de um monossacarídeo consiste em

uma cadeia carbônica não-ramificada, apresentando ligações simples entre os carbonos. A glicose (Figura 2.6), a frutose (Figura 2.8) e a galactose (Figura 2.9) são os monossacarídeos mais comuns, e possuem a mesma fórmula molecular:  $C_6H_{12}O_6$ . A frutose e a glicose são encontradas em frutas e no mel e a galactose no leite dos mamíferos. Embora tenham a mesma fórmula molecular, estes compostos têm estruturas químicas diferentes, isto é, são isômeros. O sabor de cada um também é diferente. Sabe-se que o doce do açúcar depende grandemente da posição dos grupos -OH que compõe a estrutura molecular (MINATTI, 2007).

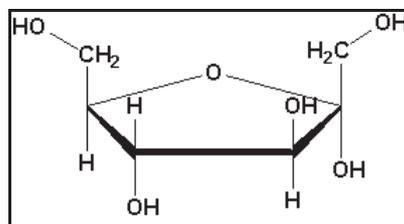


Figura 2.8 Frutose -  $C_6H_{12}O_6$ .

Quando duas moléculas de um açúcar simples se unem elas formam um dissacarídeo. A sacarose (Figura 2.7), por exemplo, é um dissacarídeo formado por uma unidade de frutose e outra unidade de glicose. A energia contida nas ligações químicas na frutose, glicose ou sacarose é a responsável por suprir, na maioria dos seres vivos, a energia necessária para suas atividades (MINATTI, 2007).

Os monossacarídeos podem, também, se combinar e formar macromoléculas, com longas cadeias de unidades de frutose, glicose ou galactose repetidas. Estes são os polissacarídeos: moléculas com mais de 10.000 unidades de açúcares. Mais de uma centena de espécies foram identificadas, mas as mais comuns são a celulose e o amido (MINATTI, 2007).

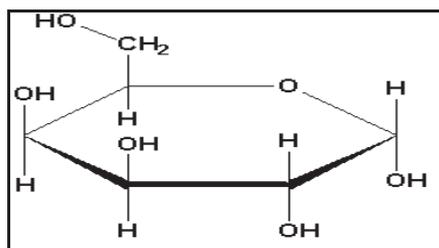


Figura 2.9 Galactose –  $C_6H_{12}O_6$ .

Os carboidratos são muito importantes para os seres vivos. O mecanismo de armazenamento de energia, em quase todos os seres vivos de nosso planeta, baseia-se em carboidratos ou lipídeos. Os primeiros são uma fonte de energia imediata, enquanto que os lipídeos queimam em uma velocidade menor, servindo para longo prazo. O ciclo metabólico da glicose, por exemplo, é vital para os organismos vivos, tal como o homem. Falhas neste ciclo acarretam vários males, tal como os desencadeados pela diabetes (MINATTI, 2007).

### 2.3.2 MACRONUTRIENTES: OS LIPÍDIOS

Os lipídios são biomoléculas insolúveis em água e solúveis em sistemas apolares como o álcool, benzina, éter, clorofórmio e acetona. São compostos por carbono, hidrogênio e oxigênio. A família de compostos designados por lipídios é muito vasta e nesse trabalho concentramos os estudos em duas classes principais, os glicerídeos e os carotenoides.

#### 2.3.2.1 GLICERÍDEOS

Os glicerídeos constituem os óleos e as gorduras, que diferem entre si quanto ao ponto de fusão. À temperatura ambiente, os óleos são líquidos, pois um ou mais dos ácidos graxos têm predominância de insaturações na cadeia. E as gorduras são sólidas pelo fato dos ácidos graxos terem predominância de saturação na cadeia. Os

óleos e gorduras são formados predominantemente por ésteres de triacilgliceróis ou triglicerídeo, produtos resultantes da esterificação entre o glicerol e ácidos graxos (Figura 2.10). Os glicerídeos possuem elevados teores energéticos e são os principais componentes lipídicos da dieta humana. Os óleos vegetais são constituídos principalmente de triacilgliceróis (> 95 %) e pequenas quantidades de mono e diacilgliceróis (REDA e CARNEIRO, 2007).

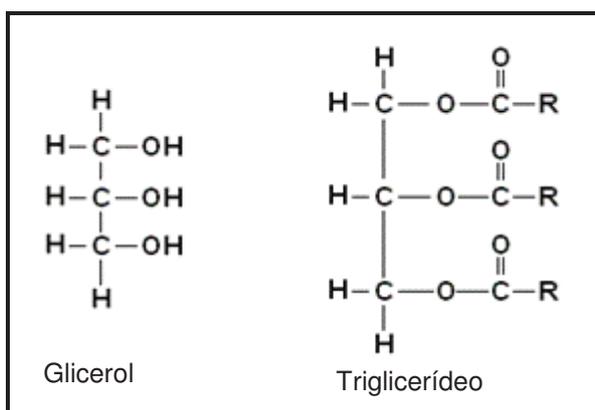


Figura 2.10 Estruturas do Glicerol e do triglicerídeo, onde R é um ácido graxo.

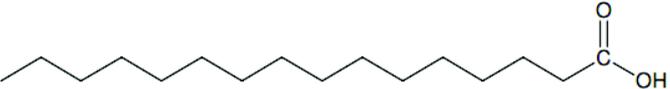
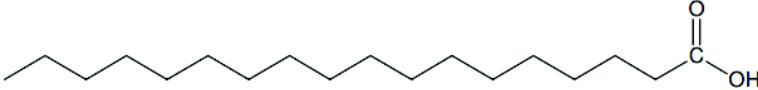
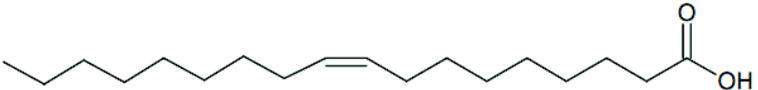
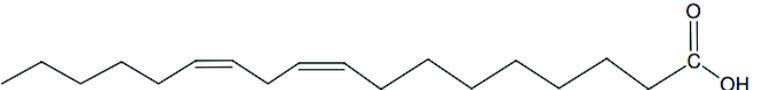
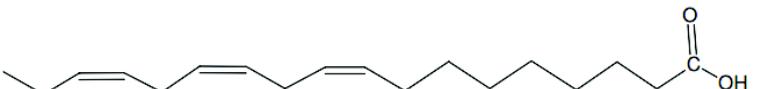
## ÁCIDOS GRAXOS

Os ácidos graxos são ácidos carboxílicos de cadeia longa (de quatro a trinta e seis átomos), livres ou esterificados, constituindo os óleos e gorduras. Quando saturados possuem apenas ligações simples entre os carbonos e possuem pouca reatividade química. Já os ácidos graxos insaturados, contêm uma ou mais ligações duplas no seu esqueleto carbônico e são mais reativos e mais suscetíveis a termo-oxidação (REDA e CARNEIRO, 2007).

Os óleos vegetais contêm diferentes tipos de ácidos graxos e as cadeias saturadas e insaturadas determinam as propriedades físicas e químicas destes, tais como: ponto de fusão, peso específico, viscosidade, solubilidade, reatividade química

e estabilidade térmica e oxidativa. A Tabela 2.2 apresenta os principais ácidos graxos presentes nos óleos vegetais.

Tabela 2.2 Estruturas dos principais ácidos graxos presentes no óleo de tucumã.

Ácido	Símbolo	Fórmula Estrutural
Palmitico	C16:0	
Estearico	C18:0	
Oleico	C18:1	
Linoleico	C18:2	
Linolênico	C18:3	

### 2.3.2.2 CAROTENOIDES

Os carotenoides são tetraterpenóides de 40 carbonos em uma estrutura simétrica e linear, sendo formados a partir de 8 unidades isoprenóides, cada unidade com 5 carbonos (RODRIGUEZ-AMAYA, 1999). Compõem um dos grupos de pigmentos naturais mais extensamente encontrados na natureza. Responsáveis pela coloração amarela das flores, folhas, frutas, algumas raízes, gema de ovo, lagosta e outros crustáceos. Existem pelo menos 600 carotenoides naturais caracterizados e esses são divididos em dois grandes grupos: (a) carotenos, com cadeias constituídas unicamente de carbono e hidrogênio; e (b) xantofilas, hidrocarbonetos que possuem grupos funcionais oxigenados em sua estrutura (RODRIGUEZ-AMAYA, 1999). Desses apenas 40 são encontrados nos alimentos e somente 14 são biodisponíveis devido a

seletividade de absorção do trato gastrointestinal (KHACHIK *et al.*, 1991). Entre esses se encontram o  $\alpha$ -caroteno e o  $\beta$ -caroteno (com suas fórmulas estruturais mostradas na Tabela 2.3) e a luteína, a violaxantina, a zeaxantina, o licopeno, a beta-criptoxantina, a fucoxantina, a astaxantina, a crocetina, a capsantina e o fitoeno.

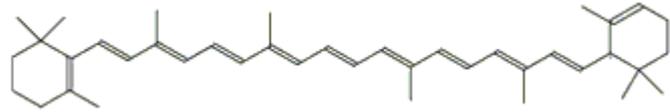
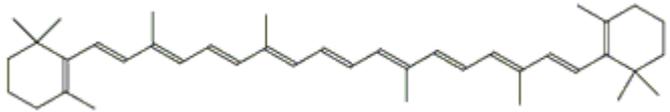
Os processos que conferem uma grande diversidade estrutural desses compostos são ciclização, hidrogenação, desidrogenação, migração de duplas ligações, encurtamento ou alongamento da cadeia, rearranjo, isomerização, introdução de funções com hidrogênio ou a combinação desses processos. Os carotenoides, além de apresentarem atividade pró-vitáminica A, também participam na prevenção de doenças cardiovasculares e promovem a melhora do sistema imunológico (KRINSKY, 1994).

O  $\alpha$ -caroteno é descrito como supressor da tumorigênese na pele, no pulmão, no fígado e no cólon (demonstrando, inclusive, uma atividade de supressão superior à promovida pelo  $\beta$ -caroteno), e age promovendo a cessação do ciclo de multiplicação celular, de forma análoga à ação de uma proteína específica conhecida como proteína p53, cuja função é atuar nesse estágio promovendo a cessação do ciclo de multiplicação celular, evitando que as células se reproduzam desordenadamente. Sua atuação pode ser identificada, tanto no estágio de iniciação quanto na promoção do câncer. O material genético e a regulação da multiplicação celular representam pontos de entrada cruciais para o desenvolvimento do câncer, logo, a possibilidade de interferir positivamente nesses pontos confere ao  $\alpha$ -caroteno atribuições decisivas à proteção contra o desenvolvimento de diversos tipos de câncer, mesmo os que, *a priori*, estariam mais fortemente associados a fatores de risco de natureza não dietética, como o câncer de pele (GOMES, 2007).

O trabalho de WILLIS e WIANS (2003), mostrou que o  $\beta$ -caroteno possui potencial quimiopreventivo conferido ao mesmo pela sua capacidade antioxidante, o que sempre esteve em impasse, pois não se sabia se tal capacidade era conferida a vitamina A que surgia devido à conversão do  $\beta$ -caroteno e promovia a ação.

O  $\beta$ -caroteno, além de sua transformação em vitamina A e sua capacidade antioxidativa, apresenta uma gama enorme de aplicações na indústria de alimentos como corante natural, podendo ser empregado em margarinas, manteigas, queijos, carnes e macarrão (BARUFFALDI *et al.*, 1983).

Tabela 2.3 Fórmulas estruturais do  $\alpha$  e  $\beta$ -caroteno, ambos precursores da vitamina A  
(Adaptado de SILVA, 2008).

Carotenoides	Fórmula estrutural
$\alpha$ -caroteno	
$\beta$ -caroteno	

## 2.4 CARÊNCIAS NUTRICIONAIS BRASILEIRAS

### 2.4.1 HIPOVITAMINOSE A

A falta de vitamina A provoca perturbações de crescimento e de visão e falta de apetite. Vários estudos nutricionais realizados na Amazônia Ocidental Brasileira têm apontado a deficiência de vitamina A (DVA), como um dos principais problemas de saúde pública, pois atinge populações do mundo inteiro (CAMPOS e ROSADO, 2005). Segundo a Organização Mundial da Saúde, só nas Américas a prevalência de hipovitaminose A é de cerca de 20%. A deficiência de vitamina A foi detectada em vários estados brasileiros dentre eles: Amazonas, Rio Grande do Norte, Paraíba,

Pernambuco, Bahia, Minas Gerais, São Paulo e Santa Catarina (WHO, 1995). A DVA constitui problema endêmico em boa parte das regiões Norte, Nordeste e Sudeste. Apesar da escassez de informações, é possível identificar a população infantil do Nordeste como a mais vulnerável ao problema, uma vez que entre 16% a 55% das crianças apresentam dosagem de vitamina A abaixo de 20 µg/dl, caracterizando situações de carências endêmicas (WHO, 1995). A única exceção desse quadro no Nordeste é o estado da Bahia, devido ao consumo bastante popular do óleo de palma, que apresenta um teor considerável de provitamina A (MANHÃES, 2007).

Existem, igualmente, indicações da ocorrência da hipovitaminose A em bolsões de pobreza de Minas Gerais e de São Paulo, além de áreas da região Norte. Nessas áreas, mais de 15% das amostras de sangue examinadas comprovaram que a dosagem de vitamina A estava também abaixo do limite (WHO, 1995).

## **2.5 IRRADIAÇÃO DE ALIMENTOS**

### **2.5.1. A RADIOATIVIDADE**

O primeiro evento que marcou a descoberta da radiação ocorreu em 1896 quando Henri Becquerel esqueceu uma rocha de urânio sobre um filme fotográfico virgem, deixando este marcado por “algo” que saía da rocha: as radiações. Descobriu-se que outros elementos pesados denominados de elementos radioativos, como o rádio e o polônio, tinham a mesma propriedade (KAPLAN, 1963).

Comprovou-se que núcleos com excesso de partículas ou de cargas, muito energéticos, tendem a estabilizar-se emitindo partículas ou ondas eletromagnéticas. Um dos processos de estabilização é a emissão de partículas alfa ( $\alpha$ ), constituídas por dois prótons e dois nêutrons. Estas partículas possuem carga +2. Quando existe um núcleo com excesso de nêutrons em relação a prótons, a estabilização ocorre através

da emissão de uma partícula beta negativa ( $\beta^-$ ), com carga -1. No caso de existir excesso de prótons, é emitida uma partícula beta positiva ( $\beta^+$ ), com carga +1, chamada pósitron. Neste último caso, também pode ocorrer Captura Eletrônica. Um elétron da camada K é capturado, convertendo-se um próton e um elétron em um nêutron (TAUHATA *et al.*, 2003).

Geralmente, após a emissão de partículas  $\alpha$  ou  $\beta$ , o núcleo resultante do processo (núcleo filho) ainda possui excesso de energia, estabilizando-se pela emissão de energia em forma de ondas eletromagnéticas, sem carga elétrica, denominada radiação gama. Portanto, a radiação gama é uma forma de energia constituída por campos elétricos e campos magnéticos, capazes de propagar-se no espaço. No vácuo, sua velocidade de propagação é de 300.000 Km/s (PRICE, 1958).

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

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

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

Cada radionuclídeo, natural ou obtido artificialmente, decai a uma velocidade que lhe é característica. O tempo que o elemento leva para ter sua atividade reduzida à metade da atividade inicial é denominado meia-vida do elemento (TAUHATA *et al.*, 2003).

## **A EMISSÃO GAMA**

A radiação gama não possui carga elétrica e, portanto, não pode ser desviada por campos elétricos e nem por campos magnéticos, o que faz com que ela apresente um grande alcance através da matéria. Pelo fato deste tipo de radiação não possuir carga elétrica, sua energia não pode ser mensurada através de aparelhos como espectrômetros magnéticos, devendo-se utilizar outros mecanismos para mensurar sua energia. Um deles, e também o método mais direto, consiste em determinar seu comprimento de onda, e posteriormente sua energia, usando-se para isso um cristal como rede de difração. O mecanismo de absorção de raios  $\gamma$  pela matéria também é diferente do das partículas carregadas, o que resulta em um poder de penetração muito maior dos raios gama (TAUHATA *et al.*, 2003).

## **O CÉSIO 137**

Césio 137 é o isótopo radiativo do césio que é formado principalmente por fissão nuclear. Sua meia vida é de 30,19 anos e decai puramente por radiação beta para o seu isômero bário 137 (Ba-137). O Ba-137 possui meia vida de 2,55 minutos em estado excitado. O isômero então emite radiação gama com 0,662 Mev para chegar ao nível de estabilidade. Ao invés do Césio 137, o Bário 137 é o verdadeiro responsável por toda a emissão de raios gama das amostras de césio 137 como pode ser visto na Figura 2.11, que demonstra o esquema de decaimento do césio 137 (KAPLAN, 1963).

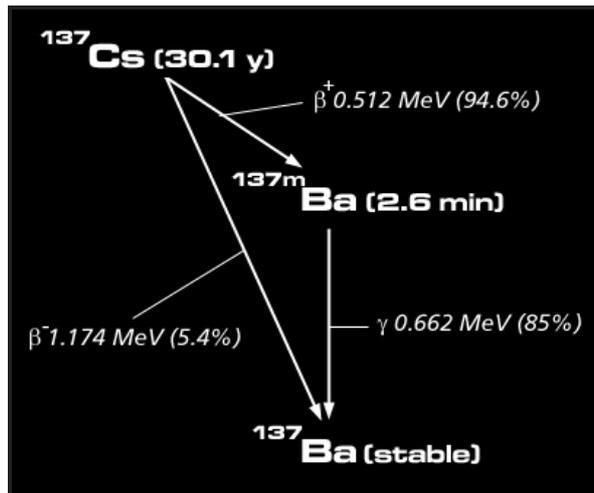


Figura 2.11 Esquema de decaimento do césio 137.

### O COBALTO 60

Cobalto 60 é o isótopo radiativo do cobalto que é formado por fissão nuclear. O cobalto-60 é usado em radioterapia em substituição ao rádio devido ao seu menor preço. Produz raios gamas com energias de 1,17 MeV e 1,33 MeV (Figura 2.12). A fonte de Co-60 tem uma vida útil de aproximadamente 5 anos, porém superado este tempo continua sendo muito radioativo, motivo pelo qual estas fontes tem perdido, em certa medida, sua popularidade no ocidente (KAPLAN, 1963).

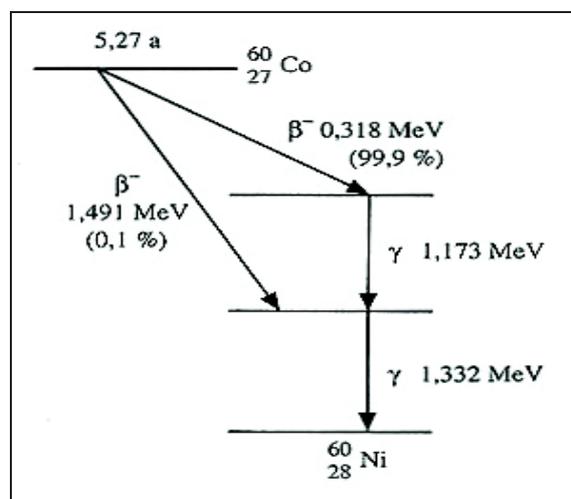


Figura 2.12 Esquema de decaimento do cobalto 60.

## **2.5.2 INTERAÇÃO DA RADIAÇÃO GAMA COM A MATÉRIA**

Durante a passagem dos feixes de radiação gama por um material, três efeitos principais caracterizam a transferência de energia do feixe para o mesmo: Efeito Fotoelétrico (com feixes de até 100 keV e número atômico, Z, alto), Efeito Compton (100 – 2.000 keV e Z baixo) e Formação de Pares (>1.020 keV e Z alto) (TAUHATA *et al.*, 2003).

O efeito fotoelétrico acontece quando um fóton incide em um átomo transferindo sua energia a um único elétron orbital, fazendo com que este seja ejetado. A probabilidade deste efeito aumenta com Z (KAPLAN, 1963). Os alimentos geralmente não apresentam em sua constituição elementos pesados. As fontes de cobalto-60 e césio-137 têm radiações com energias superiores a 100 KeV. Portanto, este efeito pode ser considerado irrelevante na irradiação de alimentos.

O Efeito Compton ocorre quando um fóton incide sobre um elétron periférico dos átomos do absorvedor. O fóton e o elétron são espalhados (KAPLAN, 1963). Observando-se o Z na composição alimentar e a energia das fontes emissoras, percebe-se que este é o efeito dominante como processo de interação na irradiação de alimentos.

A produção de pares ocorre quando fótons com energia maior ou igual a 1,02 MeV passam próximos a núcleos de Z elevado (KAPLAN, 1963). Assim, este efeito também pode ser considerado irrelevante no processo de irradiação de alimentos.

## **2.5.3 APLICAÇÃO DA RADIAÇÃO EM ALIMENTOS: HISTÓRICO**

A origem da irradiação de alimentos está relacionada com o trabalho publicado em 1895 pelo físico alemão Wilhelm Conrad Roentgen que produziu radiação eletromagnética nos comprimentos de onda correspondentes aos atualmente

chamados raios X. Abaixo temos cronologicamente os eventos mais importantes da irradiação de alimentos.

- 1896 - Descobrimto da radioatividade (Becquerel);
- 1905 – Nos Estados Unidos da América, é emitida a patente nº 788.480 que utilizava tório e na Grã-Bretanha é emitida a patente de nº 1.609 que utilizava raios alfa, beta e gama para processos de preservação de alimentos;
- 1909 – É emitida nos Estados Unidos da América a patente nº 924.284 que utilizava raio X na eliminação de ovos, larvas e pulpa do besouro do fumo (*Lasioderma serricornis*) para a preservação de fumo;
- 1921 – Benjamin Schwartz, publica trabalho sobre a preservação de carne de porco, utilizando-se Raio-x na eliminação de *Trichinella spiralis*;
- 1940 – As Forças Armadas Americanas iniciam testes de irradiação de alimentos;
- 1963 – A irradiação é aprovada pelo Governo Americano para controle de insetos no trigo e farinha de trigo;
- 1964 – Aprovada nos estados unidos a irradiação de tomates;
- 1970 – A NASA adota a irradiação para esterilizar a comida dos astronautas;
- 1973 – É publicado no Brasil o Decreto nº 72718 que estabelece as normas gerais sobre irradiação de alimentos;
- 1999 – A Organização Mundial de Saúde publica relatório dizendo que o uso da irradiação em alimentos é segura até dose de 10 kGy;
- 2001 – A ANVISA publica a RDC nº 21 que aprova o Regulamento Técnico para Irradiação de Alimentos, constante do Anexo desta Resolução;
- 2007 – O Ministério da Agricultura publica portaria nº 04 para consulta pública de projeto de instrução normativa para o uso da irradiação como tratamento fitossanitário para fins quarentenários.

Nos Estados Unidos, institutos de tecnologia vêm realizando pesquisas na área de irradiação de alimentos a mais de cem anos. Na Europa, cientistas alemães e franceses mostraram interesse pelo assunto a partir de 1914. Entretanto, os resultados dessas pesquisas iniciais não foram animadores, pois o processo de irradiação provocava alterações que comprometiam a aceitação do produto pelos consumidores. A partir de 1950, novos estudos começaram a mostrar os benefícios. Além do potencial para diminuir a incidência de intoxicações alimentares, a irradiação inibe o brotamento de raízes e tubérculos, desinfeta frutos, vegetais e grãos, atrasa a decomposição, elimina organismos patogênicos e aumenta o tempo de prateleira de vários produtos (DIEHL, 1990, MELLO, 2001).

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

#### **2.5.4 O PROCESSO DE IRRADIAÇÃO DE ALIMENTOS**

A Irradiação de alimentos é um “processo físico de tratamento que consiste em submeter o alimento, já embalado ou a granel, a doses controladas de radiação ionizante, com finalidades sanitárias, fitosanitárias e/ou tecnológicas”. O processo envolve a exposição do alimento a energia ionizante de raios gama, raios X ou feixe

de elétrons e é realizado em uma sala ou em uma câmara especial de processamento por um tempo determinado. A energia envolvida na irradiação é insuficiente para alterar os núcleos atômicos do material irradiado e, como esse último não entra em contato com a fonte radioativa, o alimento não se torna radioativo (VITAL, 2000, BRASIL, 2001).

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

O processo de irradiação é chamado de “esterilização a frio”, pois a variação de temperatura dos alimentos processados é insignificante. Os produtos que foram irradiados podem ser transportados, armazenados ou consumidos imediatamente após o tratamento (LIMA *et al.*, 2003).

A irradiação funciona pela interrupção dos processos orgânicos que levam o alimento à senescência ou deteriorização. Raios gama, raios X ou elétrons são absorvidos pela água ou outras moléculas constituintes dos alimentos, com as quais entram em contato. No processo, dependendo da dose de radiação, são rompidas células microbianas, tais como bactérias, leveduras e fungos. Além disso, parasitas, insetos e seus ovos e larvas podem ser mortos ou se tornarem estéreis (OMS, 1995).

A Tabela 2.4 apresenta algumas funções da irradiação nos alimentos de acordo com a dose empregada.

Tabela 2.4 Funções da irradiação de alimentos.

Funções	Doses (kGy)	Produtos irradiados
<b>Doses Reduzidas (até 1 kGy)</b>		
a) inibir germinação	0,05–0,15	Batata, alho, cebola, gengibre iname.
b) eliminar insetos e parasitas	0,15–0,75	Cereais e legumes, frutas, pescado e carnes secas e frescas.
c) retardar processos físicos (maturação)	0,25–1,00	Frutas e hortaliças frescas
<b>Doses médias (1 – 10 kGy)</b>		
a) prolongar o tempo de conservação	1,00–3,00	Pescado fresco e morango
b) eliminação de microorganismos patogênicos,	1,00–5,0	Marisco fresco e congelado, aves, produtos de ovos, queijo Camembert, carnes cruas e congeladas.
c) eliminação de esporos e microorganismos patogênicos	3,00–10,0	Ervas e especiarias, condimentos, vegetais desidratados, gomas.
d) melhorar propriedades tecnológicas dos alimentos	2,00–7,00	Uvas (aumentando a produção de sucos), verduras desidratadas (reduzindo o tempo de cocção)
<b>Doses elevadas (10 – 100 kGy)</b>		
a) esterilização industrial (combinada com calor)	30,0–100,0	Carne, aves, mariscos, alimentos, preparados, dietas especiais estéreis.
b) descontaminar certos aditivos alimentares e ingredientes	10,0–50,00	Especiarias, preparações enzimáticas, gomas, etc.

Fonte: OMS, 1995, Inocuidad e idoneidad nutricional de los alimentos irradiados.

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

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

## 2.5.5 EFEITOS DA RADIAÇÃO GAMA NA COMPOSIÇÃO QUÍMICA DOS ALIMENTOS

Como outros tratamentos convencionais, a irradiação induz mudanças químicas nos alimentos. A energia da radiação pode causar reações químicas, e a extensão destas aumenta com o aumento da dose de radiação (OMS, 1995).

A radiação gama não é capaz de ionizar a matéria diretamente, mas a energia dos fótons é suficiente para expulsar alguns elétrons das órbitas atômicas da matéria irradiada, gerando elétrons livres de alta energia, íons positivos e radicais livres, quando ligações químicas são quebradas. Na irradiação gama, a energia absorvida pelos alimentos é muito baixa. O Efeito Compton, caracterizado pelo espalhamento de elétrons do material absorvedor e dos fótons incidentes predomina durante o processo, gerando elétrons livres energéticos (OMS, 1995).

Quando elétrons de alta energia passam pela matéria eles causam três efeitos de notório interesse nos estudos sobre mudanças químicas nos alimentos irradiados, esses efeitos são didaticamente descritos como efeitos químicos primários, efeitos químicos secundários e efeitos da radiação ionizante na água (OMS, 1995).

### 2.5.5.1 EFEITOS QUÍMICOS PRIMÁRIOS

Os efeitos químicos primários geram como produto final moléculas excitadas e podem ocorrer de duas formas, excitação das moléculas e ionização.

a) Excitação das moléculas, onde os fótons incidentes sobre o alimento interagem diretamente com as moléculas e as excitam:



b) Ionização, onde um elétron é espalhado pelo fóton deixando o íon excitado  $(A^+)^*$  e posteriormente neutralizado pela captura de um elétron, deixando a molécula excitada  $A^*$ , como mostrado nas equações 2.2 e 2.3:



Uma molécula excitada pode reter sua energia extra por um período de aproximadamente  $10^{-8}$  segundos. A perda da energia de excitação pode ocorrer de várias maneiras e as reações produzirem novos produtos que podem ser moléculas estáveis ou entidades reativas como os radicais livres. Os radicais livres são átomos ou moléculas que tem um ou mais elétrons não pareados que estão disponíveis para formar uma ligação química, são representados geralmente com um ponto, como mostrado na Eq. 2.4 (OMS, 1995).



#### 2.5.5.2 EFEITOS QUÍMICOS SECUNDÁRIOS

Por causa da alta reatividade dos radicais livres produzidos no efeito primário, efeitos químicos secundários podem ocorrer. Esses efeitos resultam de vários tipos de reações dos radicais livres, incluindo:

- Adição;
- Combinação;
- Dissociação;
- Recombinação;

- Desproporcionação (dismutação); e
- Captura de elétron.

O processo completo que leva aos produtos finais estáveis como um resultado da irradiação de algum meio é chamado de radiólise e os produtos dos efeitos primários e secundários são os produtos radiolíticos. Esse processo ocorre em frações de micro segundos. Por causa de alguns produtos finais não serem estáveis, efeitos pós-irradiação podem ocorrer em alguns sistemas por dias ou meses.

Uma observação bastante pertinente é que os radicais livres não ocorrem somente em produtos irradiados. Vários métodos de conservação que envolvem reações bioquímicas em produtos derivados de plantas e animais, assim como a secagem e o calor também produzem radicais livres (OMS, 1995).

### **2.5.5.3 EFEITOS DA RADIAÇÃO GAMA NA ÁGUA**

Os efeitos da radiação ionizante na água são de particular interesse na irradiação de alimentos. A água está presente em quase todos os alimentos. Estas proporções são aproximadamente 90% nos vegetais, 80% nas frutas, 60% em carnes, e 40% nos pães. Produtos aparentemente secos contem alguma água: farinha de trigo 13%, vegetal seco por volta de 10%, nozes 5%. Quando água pura é irradiada os produtos radiolíticos formados são (OMS, 1995):

- Radical hidroxila ( $\bullet\text{OH}$ );
- Elétron aquoso ( $e^{-\text{aq}}$ );
- Átomo de hidrogênio ( $\bullet\text{H}$ );
- Hidrogênio ( $\text{H}_2$ );
- Peróxido de hidrogênio ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ); e

- Próton hidratado (H<sub>3</sub>O<sup>+</sup>)

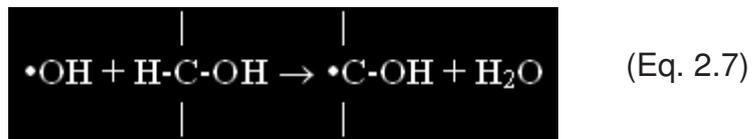
O elétron (e<sup>-</sup>) e o íon hidrogênio (H<sup>+</sup>) não podem existir livremente em meio aquoso. Eles estão sempre associados com moléculas de água. Enquanto a hidroxila, o elétron aquoso e o íon de hidrogênio, são espécies transitórias muito reativas, o hidrogênio e peróxido de hidrogênio são os únicos produtos finais estáveis da radiólise da água. Por causa das reações descritas abaixo, o hidrogênio e o peróxido de hidrogênio são largamente consumidos. Eles são, portanto produzidos com baixo rendimento, mesmo quando irradiados com doses altas (OMS, 1995).



Quando a água está saturada de oxigênio pode aumentar grandemente a produção de peróxido de hidrogênio que por serem largamente consumidos, tem grande significado em alimentos irradiados. Todos os alimentos contem substâncias que podem oxidar ou reduzir atacadas por esta espécie até que ela alcance o equilíbrio (OMS, 1995).

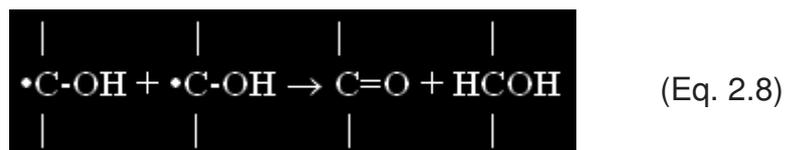
#### **2.5.5.4 EFEITOS DA RADIAÇÃO GAMA NOS CARBOIDRATOS**

Na presença de água, carboidratos são atacados principalmente por radicais  $\cdot\text{OH}$ . Elétrons hidratados e átomos  $\cdot\text{H}$  em menor quantidade. Os radicais  $\cdot\text{OH}$  abstraem predominantemente o hidrogênio de ligações C-H, formando água como mostrado na equação 2.7:

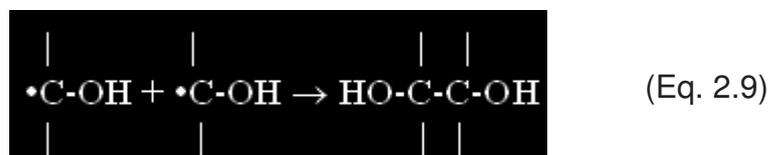


Os radicais resultantes da retirada de hidrogênio reagem por vários mecanismos:

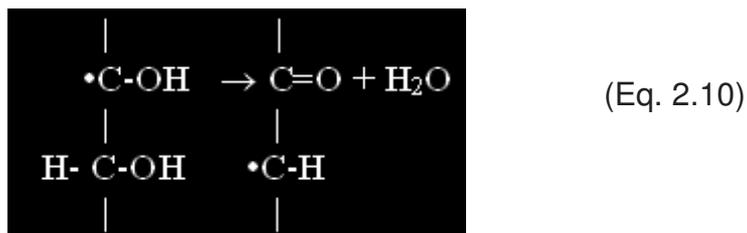
I) Desproporção:



II) Dimerização:



III) Desidratação:



Dependendo da posição molecular da carbonila formada pela desproporção ou desidratação, o produto resultante pode ser um ácido, uma cetona, ou um aldeído. Deste modo, retirando H do C-1 da glicose pode induzir para ácido glucônico:

Desde que radicais  $\bullet\text{OH}$  podem retirar hidrogênio de todos os seis átomos de carbono da glicose, uma variedade de produtos, podem ser formados.

Quando dissacarídeos ou polissacarídeos são irradiados, as reações observadas com monossacarídeos também podem ocorrer. Adicionalmente, as ligações glicosídicas que conectam as unidades de monossacarídeos podem ser quebradas. Dextrinas, maltoses e glicose são produzidas. Esta redução do grau de polimerização em polissacarídeos reduz a viscosidade das soluções. A solubilidade aumenta com o aumento da dose de irradiação (OMS, 1995).

Resultados muito diferentes podem ser obtidos irradiando açúcar cristalizado em vez de solução aquosa de açúcar. A indústria farmacêutica utiliza açúcar cristalino como carreador de medicamentos. Este açúcar é esterilizado (OMS, 1995).

Quando carboidratos são irradiados como componentes do alimento, eles são muito menos sensíveis a radiação do que em forma pura. As proteínas apresentam ação protetora para os carboidratos (OMS, 1995).

### 2.5.5.5 EFEITOS DA RADIAÇÃO GAMA NAS PROTEÍNAS

Proteínas consistem de cadeias de aminoácidos conectados por ligações peptídicas. A discussão do efeito da radiação nas proteínas é baseada no estudo da química da radiação dos aminoácidos (OMS, 1995).

Reações iniciadas com elétrons hidratados são a maior rota na radiólise de aminoácidos e proteínas (OMS, 1995)..

Quando proteínas são irradiadas na presença de água, todas as reações às quais são possíveis apenas com aminoácidos também são com proteínas contendo esses aminoácidos. A Irradiação de proteínas e aminoácidos na ausência de água também é estudada (OMS, 1995).

Com 20 aminoácidos constituintes das proteínas e com três espécies reativas da radiólise da água, muitas interações complexas são possíveis. Efeitos adicionais são exercidos pela configuração espacial da cadeia protéica, determinada pelas pontes de hidrogênio, pontes dissulfeto, ligações hidrofóbicas e ligações iônicas. Aminoácidos, os quais são sensíveis ao ataque de radicais quando irradiados sozinhos são muito menos sensíveis quando eles fazem parte da estrutura da proteína e são mais ou menos inacessíveis a reações com radicais. Um outro fator provável que também contribui para a maior resistência das proteínas comparadas com aminoácidos isolados é que devido a maior ou menor rigidez da estrutura espacial da molécula de proteína, radicais resultantes da irradiação são mantidos na posição e tem alta chance de recombinação (OMS, 1995).

A grande proporção de energia radiante depositada em proteínas irradiadas aparentemente avança para desnaturação, mudanças na cadeia secundária e terciária, antes da destruição dos aminoácidos constituintes. Essa desnaturação é muito menos extensiva que a causada pelo calor. Por isso costuma-se combinar

radiação com calor quando o objetivo é conservar o alimento por longos períodos de armazenamento, pois as enzimas são mais sensíveis ao calor (OMS, 1995).

#### **2.5.5.6 EFEITOS DA RADIAÇÃO GAMA NOS LIPÍDIOS**

Na presença de oxigênio, a irradiação pode também acelerar a autooxidação de gorduras. Isto pode ocorrer porque a irradiação acelera uma ou mais das seguintes reações: formação de radicais livres, os quais podem combinar com o oxigênio formando hidroperóxidos; quebrando hidroperóxidos, dando ação a vários produtos de decomposição, particularmente compostos carbonilas e destruição de antioxidantes (OMS, 1995).

Lipídios são normalmente expostos à irradiação como constituintes de alimentos coexistindo com outros em maior ou menor quantidade. Os produtos radiolíticos obtidos em lipídeos isolados são encontrados, quando estes fazem parte de alimentos, só que em menor proporção. Isto porque o efeito da radiação é dividido entre todos os constituintes do alimento (OMS, 1995).

Em pesquisas observou-se que quando triglicerídeos foram irradiados com doses altíssimas 250,0 kGy, os produtos voláteis e não voláteis formados eram muito parecidos com os obtidos pelo aquecimento de frituras a 180 °C por 1 hora.

A irradiação resulta em destruição parcial das vitaminas lipossolúveis, e o tocoferol é particularmente sensível (OMS, 1995).

#### **2.5.5.7 EFEITOS DA RADIAÇÃO GAMA NAS VITAMINAS**

As vitaminas são compostos orgânicos que variam amplamente quanto à estrutura química e atividade biológica, podendo funcionar tanto como co-fatores de

enzimas em diferentes reações bioquímicas, quanto como antioxidantes/oxidantes, modulando o balanço oxidativo, e até mesmo como hormônios, regulando a expressão gênica (SILVA e NAVES, 2001). As vitaminas são divididas em dois grupos principais: vitaminas lipossolúveis (A, D, E, K) e vitaminas hidrossolúveis (complexo B, C, H). O comportamento químico dos dois grupos é distinto, tal como as suas fontes. As primeiras - lipossolúveis - possuem uma estrutura química semelhante a alguns lipídios (esteróides) e são armazenadas pelo organismo com relativa facilidade. Este processo é, contudo, energeticamente dispendioso uma vez que exige a síntese de gorduras de reserva. A sua eliminação é também mais complexa e envolve um processo de mobilização hepática. As vitaminas do segundo grupo referido - hidrossolúveis - são, por seu lado, facilmente eliminadas pelo organismo através do complexo renal, daí que situações de excesso sejam pouco frequentes. A sua estabilidade química é também menor que as anteriores (também por isso são mais facilmente eliminadas) e não são armazenadas no organismo com facilidade, necessitando de uma reposição constante. As vitaminas hidrossolúveis são facilmente inativadas pela luz e temperatura, outras são oxidadas quando misturadas na água (SILVA e NAVES, 2001).

As vitaminas são sensíveis a todos os métodos de conservação, principalmente os térmicos. Na irradiação, sabe-se que a vitamina B1 (tiamina) é das mais sensíveis. A vitamina C (ácido ascórbico), sob efeito da irradiação, é convertida em ácido dehidroascórbico, que é outra forma ativa da vitamina C (MELLO, 2001). Alterações nas características organolépticas podem ser minimizadas combinando a irradiação com alguns dos outros métodos de conservação. O sucesso nessa combinação permite diminuir as doses de radiação aplicadas (KILCAST, 1994).

De acordo com RIOS e PENTEADO (2003), as variações de vitamina E no alho só ocorrem para doses acima de 200 Gy, e segundo KWON *et al.* (1985), a dose

mínima para evitar o brotamento do alho é de 75 Gy. Portanto a irradiação do alho é segura para inibir seu brotamento.

Segundo LIMA *et al.* (2001), no trabalho sobre efeito da irradiação ionizante gama na qualidade pós-colheita de cenoura, para doses de 1,0 kGy, houve manutenção da qualidade do produto para vários fatores incluindo vitamina C.

No trabalho sobre o uso da radiação gama na conservação pós-colheita do tomate de mesa em estágio maduro, CASTRICINI *et al.* (2004) utilizou a combinação de processos de conservação, aplicada a irradiação a 0,25, 0,50 e 1,0 kGy, e armazenados sob refrigeração. Nos resultados obtidos verificou-se que ocorreu a manutenção dos níveis iniciais de vitamina C em todos os frutos tratados até o período final de avaliação, não havendo diferença entre os mesmos, com exceção de 12º dia, em que os frutos submetidos a 0,50 kGy apresentaram níveis mais altos da vitamina em relação ao tratamento com 1,0 kGy, o que não concorda com citação de KILCAST (1994) e OMS (1995) onde é preconizada uma redução em pequenas proporções de vitaminas pelo emprego da irradiação e de outros métodos convencionais de processamento. Os tomates que receberam dose de 0,25 kGy e o controle ficaram em níveis intermediários.

TAIPINA (2003) estudou o efeito da radiação gama sobre a vitamina A e o beta caroteno de fígado bovino e suíno. Foram analisados o conteúdo e o percentual de retenção de atividade de vitamina A e  $\beta$ -caroteno em amostras de fígado bovino e patê de fígado suíno irradiados com doses de 3,0 kGy e 30,0 kGy de radiação gama por irradiador de cobalto 60. Os resultados mostraram que não houve perda alguma de vitamina A nem da pró-vitamina A nas amostras de fígado bovino e patê de fígado suíno irradiadas com doses de 3,0 kGy. Por outro lado, nas amostras de patê de fígado, 40% da atividade de vitamina A foi retida após a irradiação com uma dose de 30,0 kGy.

A alteração dos níveis de concentração de vitamina C do suco natural de laranja utilizando a irradiação foi estudada por IEMMA *et al.* (1999). As amostras de

suco natural foram extraídas de laranjas da variedade “Pêra”, irradiadas a uma taxa de dose de 2,0 kGy por hora (cobalto 60), e em seguida foram armazenadas sob refrigeração ( $5 \pm 3$  °C). Verificou-se que com o aumento da dose de radiação e o prolongamento do período de armazenamento houve redução no conteúdo de vitamina C do suco. Os resultados mostram que a perda desta vitamina pela irradiação foi de 17% para a dose de 2,0 kGy, de 45% para a dose de 4,0 kGy e de 55% para a dose de 6,0 kGy. A radiação gama se mostrou eficaz na redução da população microbiana do suco de laranja, mas com a necessidade do aumento da vida de prateleira do suco, há a necessidade de uma maior dose, com isso maior perda de vitamina C. MAXIE (1969) apud IEMMA *et al.* (1999), não observou perdas significativas de ácido ascórbico em laranjas irradiadas e armazenadas a 0 °C por 100 dias. No entanto, verificou redução no conteúdo de ácido ascórbico em limões irradiados e armazenados a 15 °C por um mês. O conteúdo de vitamina C do suco de laranja foi afetado pela dose de radiação e pelo período de armazenamento porque ambos provocaram redução no conteúdo da vitamina do suco.

DIEHL (1990) apud SIQUEIRA (2001), conclui que, para se ter menor perda de vitamina A e B1 (tiamina), quando o alimento é tratado com irradiação, este deve ser embalado a vácuo e processado a baixa temperatura. Filés de *Scyliorhinus retifer* irradiados a 0 °C, com doses de 3,0 kGy, não sofreram efeitos no teor de vitamina A, enquanto, houve perda de 45% quando o mesmo foi irradiado a 30,0 kGy.

#### **2.5.6 VANTAGENS DA IRRADIAÇÃO DE ALIMENTOS**

A irradiação pode ser utilizada para aumentar a durabilidade dos alimentos e assim reduzir as perdas pós-colheita, por irradiação das sementes, raízes, legumes e frutos, destruindo insetos, combatendo fungos, pasteurizando ou esterilizando produtos alimentícios, garantindo um bom armazenamento. Os efeitos da radiação nos alimentos também incluem retardar o amadurecimento de frutas e a germinação de

alimentos, como batata e cebola, prolongar o tempo de vida útil e melhorar caracteres organolépticos de alguns alimentos, como a branqueamento da farinha de trigo. O processo também contempla efeitos sanitários como promover a eliminação parcial ou total de microrganismos patogênicos ou parasitos presentes na estrutura física dos alimentos, evitando suas ações espoliativas, tóxicas, mecânicas, traumáticas, inflamatórias e enzimáticas. Essas vantagens sanitárias são de extrema importância para hospitais na alimentação de pacientes crônicos durante seus tratamentos, proporcionando ainda a redução de tempo de internação e custos hospitalares (ROCHA e SOUZA, 2007). Sendo assim, o processo de irradiação acarreta vantagens de ordem econômica com maiores e melhores colheitas, menor incidência de doenças sobre os alimentos, mais ampla variedade de produtos durante todo o ano e possibilidade de incremento das exportações (SOUZA, 2008). Os consumidores também são favorecidos com melhor qualidade e variedade de produtos seguros. Para a sociedade isto significa mais saúde pública e aumento das rendas *per capita* e nacional (WHO, 1995).

### **2.5.7 SEGURANÇA DO PROCESSO DE IRRADIAÇÃO DE ALIMENTOS**

A primeira norma para a irradiação de alimentos surge em 1983 por um grupo das Nações Unidas cuja finalidade é desenvolver normas internacionais para alimentos. Tal grupo é conhecido como a Comissão do *Codex Alimentarius*. O grupo concluiu que alimentos irradiados abaixo de 10 kGy não apresentavam risco toxicológico (CODEX, 2007). Em 1999, a Organização Mundial de Saúde (OMS/WHO) liberou doses de radiação superiores a 10 kGy (WHO, 1999).

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

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

Existe uma terminologia própria relativa à aplicação da irradiação e às doses empregadas. Os níveis de tratamento por irradiação são assim divididos em três grupos. Na radurização, são aplicadas doses baixas (< 1,0 kGy), com o objetivo de inibir brotamentos, retardar o período de maturação de frutas e de deterioração fúngica de frutas e hortaliças, como morango e tomate, e controlar a infestação por insetos e ácaros em cereais, farinhas, frutas, etc. Com isto, proporciona estocagem de longo prazo, sem o uso de produtos químicos. Já na radicidação ou radiopasteurização as aplicações são realizadas com dose média (de 1,0 a 10,0 kGy). É ideal para pasteurizar sucos, retardar a deterioração de carnes frescas, controlar a *Salmonella* em produtos avícolas, entre outros, aumentando a qualidade da conservação e prevenindo a intoxicação alimentar. Por fim, a radapertização, a qual utiliza altas doses (de 10,0 a 45,0 kGy), é utilizada na esterilização de carnes e outros produtos processados, destruindo populações de microorganismos e de patógenos, incluindo formadores de esporos, tais como *Clostridium botulinum*. Portanto, os efeitos são, respectivamente, de pasteurização, de ação bactericida e de esterilização (CODEX, 2007, DIEHL, 1990).

A energia dos raios gama é suficiente para expulsar alguns elétrons das órbitas atômicas da matéria irradiada e gerar radicais livres. Na irradiação, a energia absorvida pelos alimentos é muito baixa. Por exemplo, se toda a energia recebida por um alimento irradiado com 10 kGy se transformasse em energia calorífica, sua

temperatura aumentaria apenas 2,4°C (WHO, 1995). Assim, em relação aos nutrientes, a irradiação promove poucas mudanças. Outros processos de conservação, como o aquecimento, podem causar alterações muito maiores (SOUZA, 2008).

Sabe-se que os carboidratos nos alimentos são menos susceptíveis à degradação do que aqueles irradiados em estado puro. A composição de aminoácidos quase não se altera com doses inferiores a 50,0 kGy. Já as vitaminas são mais sensíveis a qualquer tipo de processamento. As investigações realizadas sobre a química e a bioquímica da irradiação de alimentos centram-se na natureza e medida dos produtos radiolíticos gerados. Mas as pesquisas mostram que tais produtos são idênticos aos encontrados em alimentos submetidos aos métodos convencionais de conservação (WHO, 1995).

#### **2.5.8 LEGISLAÇÃO**

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

O anexo I da Portaria SVS/MS nº 326, de 30 de julho de 1997, descreve o regulamento técnico sobre as condições higiênico-sanitárias e de boas práticas de

fabricação para estabelecimentos produtores/industrializadores de alimentos, o qual tem como objetivo estabelecer os requisitos gerais de higiene e de Boas Práticas para alimentos produzidos/fabricados para o consumo humano (BRASIL, 1997). A legislação brasileira exige o cumprimento do Manual de Boas Práticas de Fabricação para que o produto seja irradiado. “A irradiação, assim como qualquer outro processo de tratamento de alimentos, não deve ser utilizada em substituição as boas práticas de fabricação e ou agrícolas” (BRASIL, 2001, LADOMERY, 1993, POTHISIRI, 1993, TAPE, 1992).

Alimentos irradiados para o consumo devem ser rotulados com o símbolo internacional denominado "Radura", mostrado na Figura 2.13, além de apresentarem os dizeres exigidos para os alimentos em geral. O símbolo deve ser acompanhado pelas palavras "tratado por irradiação" ou "tratado com radiação". Esta rotulagem é exigida por lei para informar aos consumidores que eles estão comprando um alimento que foi processado. Este aviso é necessário pelo fato da radiação não deixar vestígio indicando que o alimento foi irradiado, seja pela aparência, cheiro ou toque. Isto contrasta com outras técnicas de processamento, tais como cozinhar, enlatar ou congelar, processos em que se percebe o tratamento (LIMA, 2002).



Figura 2.13 O símbolo internacional “Radura”. (HENKEL, 1998)

## 2.6 TÉCNICAS ANALÍTICAS

### 2.6.1 RESSONÂNCIA MAGNÉTICA NUCLEAR – RMN

A técnica de RMN se baseia na detecção do sinal dos spins nucleares que possuem momento magnético diferente de zero. O núcleo do hidrogênio ( $^1\text{H}$ ) é muito explorado nas aplicações de RMN devido à sua abundância alta isotópica, sensibilidade e resposta. A espectroscopia de RMN de baixo campo (frequências < 60 MHz) é uma técnica que se aplica aos núcleos de alta abundância isotópica em amostras no estado líquido e sólido (SILVERSTEIN *et al.*, 2007). Por meio destes equipamentos determina-se o tempo de relaxação spin-rede ( $T_1$ ) do núcleo de  $^1\text{H}$  para a verificação do teor de óleo e umidade em sementes, por exemplo, e também determina-se o tempo de relaxação spin-spin ( $T_2$ ). A técnica é utilizada em determinações quantitativas de forma não destrutiva e não invasiva (PRETO *et al.*, 2011), empregando pouco tempo de instrumentação, e uma quantidade de amostra representativa, 5g, de forma rápida, preservando a constituição e a natureza da amostra (MEDEIROS *et al.*, 2008).

O uso da técnica também se estende à análise dos mais diversos alimentos e seus componentes. MIGUEZ e TAVARES (2011) avaliaram a estabilidade química do látex extraído da *Brosimum parinarioides*, Moraceae por RMN baixo campo, por meio da determinação do tempo de relaxação  $T_2$  onde os resultados comprovaram a alta compatibilidade da técnica para estudo do látex. TOMA (2009) analisou satisfatoriamente a qualidade de óleos vegetais em sementes, frutos e amêndoas de 31 espécies vegetais por RMN baixo campo relacionando  $T_1$  e  $T_2$  com a viscosidade do óleo dessas amostras. UNGARO *et al.* (1992) analisou o teor de óleo em sementes de girassol pelas técnicas de RMN e “SOXHLET” e comparou os resultados concluindo que os resultados obtidos por RMN são quantitativamente superiores aos

obtidos por “SOXHLET” além da vantagem de não precisar destruir a amostra. RIBEIRO (2008) analisou a relação do sinal de RMN e do tempo de amadurecimento da uva e da banana pela determinação de  $T_1$  e  $T_2$ . A técnica de RMN alto Campo também é uma ferramenta importantíssima na análise de alimentos. TAVARES *et al.* (2003) empregou com sucesso a técnica de RMN alto campo no estado sólido para o estudo da dinâmica de carboidratos em duas espécies de manga. Os efeitos da radiação sobre os alimentos também foram estudados pela técnica de RMN alto campo. SILVA (2008) verificou que a radiação gama modificou a estrutura molecular dos lipídios do leite cru por RMN alto campo. As técnicas de RMN de alto e baixo campo se complementam em estudos mais completos de determinados alimentos e materiais, como foi feito por NASCIMENTO (2006), ao estudar o látex e o fruto da sorva caracterizando e identificando os domínios de mobilidades distintas e os componentes majoritários do fruto.

#### **2.6.1.1 RMN DE BAIXO CAMPO**

A RMN de baixo campo é o nome que se dá a técnica de RMN que utiliza aparelhos com campo entre 0,23 a 0,70 Tesla (10 a 30 MHz). Equipamentos de RMN de baixo campo foram desenvolvidos com o propósito de determinar relaxação molecular. Estes equipamentos têm particular aplicação na indústria de alimentos, pois possuem a vantagem de serem mais baratos, seu manuseio é mais fácil, e não necessitam de reposição de criogênicos (hélio e nitrogênio), tais quais os equipamentos de RMN de alto campo. Esses equipamentos são conhecidos por RMN de baixo campo (Low field NMR spectrometer) (NASCIMENTO, 2006).

### 2.6.1.2 RMN DE ALTO CAMPO EM SOLUÇÃO

As técnicas de RMN de alto campo escolhidas para as amostras em solução utilizadas nesse trabalho foram duas:

- Técnica de pulso simples para os núcleos de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$ .
- ATP (**A**ttached **P**roton **T**est)

A técnica de pulso simples consiste na aplicação de um pulso de  $90^\circ$  e logo após ocorre a detecção do sinal de RMN que pode ser qualitativa ou quantitativa, dependendo do intervalo de tempo entre a aplicação dos pulsos.

A técnica de APT é uma alternativa para identificar os tipos de núcleos de carbono, quando existem dúvidas sobre assinalamento, principalmente na região alifática, devido à sobreposição de sinais. Esta técnica consiste em registrar os sinais referentes aos grupos metila ( $-\text{CH}_3$ ) e metino ( $-\text{CH}$ ) na anti-fase, ou seja, invertidos, enquanto que os sinais dos grupos metilênicos e carbonos não hidrogenados são detectados na fase (positivo).

### 2.6.2 CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA

A espectroscopia (em todas as suas variedades) é a técnica analítica mais usada na identificação de compostos moleculares. Mas a sua utilização e eficiência requerem que o material em estudo esteja em grau de alta pureza. A cromatografia é um método físico químico de separação dos componentes de uma mistura, realizada através da distribuição destes componentes entre duas fases, que estão em contato íntimo. Uma das fases permanece estacionária enquanto a outra se move através dela, durante a passagem da fase móvel sobre a fase estacionária, os componentes da mistura são distribuídos entre as duas fases, de tal forma que cada um dos componentes é seletivamente retido pela fase estacionária, resultando em migração diferencial destes componentes. A grande variedade de combinações entre fases

móveis e estacionárias a torna uma técnica extremamente versátil e de grande aplicação (DEGANI *et al.*, 1998).

Existem vários tipos de cromatografia e abordamos a seguir a única técnica utilizada neste trabalho, à cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE).

As fases móveis utilizadas em CLAE devem possuir alto grau de pureza e estar livres de oxigênio ou outros gases dissolvidos, sendo filtradas e desgaseificadas antes do uso. A bomba deve proporcionar ao sistema vazão contínua sem pulsos com alta reprodutibilidade, possibilitando a eluição da fase móvel a um fluxo adequado. As válvulas de injeção (manual) usadas possuem uma alça de amostragem para a introdução da amostra com uma seringa e duas posições, uma para o preenchimento da alça e outra para sua liberação para a coluna. Existem loops de diversos volumes, sendo utilizadas geralmente alças na faixa de 5-50  $\mu\text{L}$  para injeções analíticas e 0,5-2,0  $\mu\text{L}$  para preparativas. As colunas são geralmente de aço inoxidável, com diâmetro interno de cerca de 0,45 cm para separações analíticas e na faixa de 2,2 cm para preparativas. O comprimento é variável, sendo comun colunas analíticas de 10-25 cm e preparativas em torno de 25-30 cm. Essas colunas são reaproveitáveis, sendo empacotadas com suportes de alta resolução, não sendo necessária sua regeneração após cada separação. O detector mais utilizado é o detector de ultravioleta, sendo também empregados detectores de fluorescência, de índice de refração, e eletroquímicos, entre outros (SILVA, 2008). Detectores de polarimetria para CLAE, recentemente desenvolvidos, diferenciam compostos quirais, através da rotação de seus estereoisômeros frente à luz plano-polarizada. O registro de dados pode ser feito através de um registrador, um integrador ou um microcomputador (DEGANI *et al.*, 1998).

A versatilidade desta técnica reside no grande número de fases estacionárias existentes, as quais possibilitam análises e separações de uma ampla gama de compostos com alta eficiência. Tem sido utilizada em várias áreas da ciência, no acompanhamento de sínteses, em análises de pesticidas, feromônios, no isolamento

de produtos naturais e sintéticos e na produção e controle de qualidade de medicamentos, dentre tantas outras aplicações. As separações em CLAE podem se dar por adsorção, partição ou ambos. O suporte mais comumente utilizado é a sílica. O uso de fases estacionárias líquidas adsorvidas a um suporte não tem grande aplicação devido à perda de fase estacionária, mas o uso de suportes modificados, os quais foram desenvolvidos como consequência do problema acima, possibilita a produção de uma imensa variedade de colunas com diferentes propriedades e tipos de seletividade. As fases assim obtidas são chamadas de quimicamente ligadas (DEGANI *et al.*, 1998).

Essas fases, dependendo da modificação feita ao suporte, podem atuar no modo normal, reverso ou ambos. Na cromatografia em fase normal, a fase estacionária é mais polar que a fase móvel, e em fase reversa, a fase móvel é mais polar. Separações analíticas são predominantemente realizadas em fase reversa, sendo a fase C18 (octadecilsílica) a mais usada, ao passo que são preferidas fases que atuem no modo normal para fins preparativos, em vista de que separações no modo reverso utilizam fases móveis aquosas. Entre as fases quimicamente ligadas, merecido destaque deve ser dado às fases estacionárias quirais, as quais possibilitam a separação direta de enantiômeros. Para tanto, é necessária a presença de um seletor quiral como parte integrante da fase estacionária (DEGANI *et al.*, 1998). A fase C30, aplicada neste trabalho, é tão usada quanto a fase C18 e apresenta a grande vantagem de separar maior número de isômeros, além de ser a única coluna capaz de separar isômeros de carotenoides não simétricos como 13-*cis*-, 13'-*cis*-, 9-*cis*- e 9'-*cis*-luteína (NUNES e MERCADANTE, 2006).

### **3 MATERIAL E MÉTODOS**

Este trabalho foi realizado com uma metodologia composta de duas etapas distintas.

A primeira etapa foi o emprego da RMN baixo campo (Relaxometria), com o objetivo de determinar qualitativa e quantitativamente os domínios moleculares e os componentes majoritários do fruto completo, seguidos da monitoração dos efeitos de cada dose de radiação gama em todos os domínios identificados. Essa etapa incluiu a aquisição dos frutos, irradiação e a preparação das amostras com desmembramento do fruto em três partes.

A segunda etapa ocorreu somente na porção epicarpo-mesocarpo do fruto, por ser a de maior valor nutricional, e caracterizou-se pela investigação química do domínio majoritário determinado na fase anterior, os lipídios, usando as técnicas de CLAE, espectrofotometria UV/Vis e RMN de alto campo no estado líquido. Esta etapa incluiu uma nova aquisição e irradiação dos frutos e ainda extração de fase etérea.

Os produtos químicos utilizados foram selecionados com o objetivo de separar as substâncias de interesse, visando sempre o menor potencial poluidor. Foram realizadas parcerias com outros centros de pesquisas para obtenção de espectros de RMN de baixo campo e no estado líquido em alta resolução e para as análises de CLAE e, conforme citado na lista de equipamentos utilizados nesta Tese.

#### **3.1 MATERIAL**

As amostras do fruto para a realização desse trabalho foram obtidas em Belém, Pará. As amostras foram adquiridas no estado ótimo para consumo. As amostras foram transportadas via aérea em sacos de polietileno contidos em caixa de papelão. Ao chegarem ao Rio de Janeiro, foram sanitizados (conforme Figura 3.3),

aconicionados em sacos de polietileno em grupos de 3 unidades e congelados até a irradiação.

### **3.2 EQUIPAMENTOS**

Para irradiação das amostras e para as análises de Ressonância Magnética Nuclear foram utilizados os seguintes equipamentos:

- Irradiador gama de pesquisa com fonte de césio 137 (Centro Tecnológico do Exército);
- Irradiador Gammacell 220 com fonte de cobalto-60 (Laboratório de Instrumentação Nuclear/COPPE/UFRJ);
- Espectrômetro de RMN de baixo campo, Resonance, modelo Maran Ultra 23 (Instituto de Macromoléculas Professora Eloísa Mano /UFRJ);
- Espectrômetro de RMN de baixo campo, MQC - OXFORD 23 MHz, (Instituto de Macromoléculas Professora Eloísa Mano /UFRJ);
- Cromatógrafo da WATERS® – Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) e detector de arranjo de diodos PDA 2996 (Embrapa Agroindústria de Alimentos – CTAA); e
- Espectrômetro de RMN de alta resolução Varian 600 MHz (Departamento de Química do Instituto Militar de Engenharia).

### **3.3 PROCESSO DE IRRADIAÇÃO**

#### **CENTRO TECNOLÓGICO DO EXÉRCITO (CTEX)**

A irradiação das amostras para as análises de Relaxometria ocorreu no Centro Tecnológico do Exército (CTEx), localizado em Guaratiba, RJ, com o Irradiador Gama

de Pesquisa com fonte de césio 137. O irradiador é do tipo “cavidade blindada” e possui volume útil da ordem de 100 L. A Figura 3.1 mostra o irradiador utilizado no CTEEx.

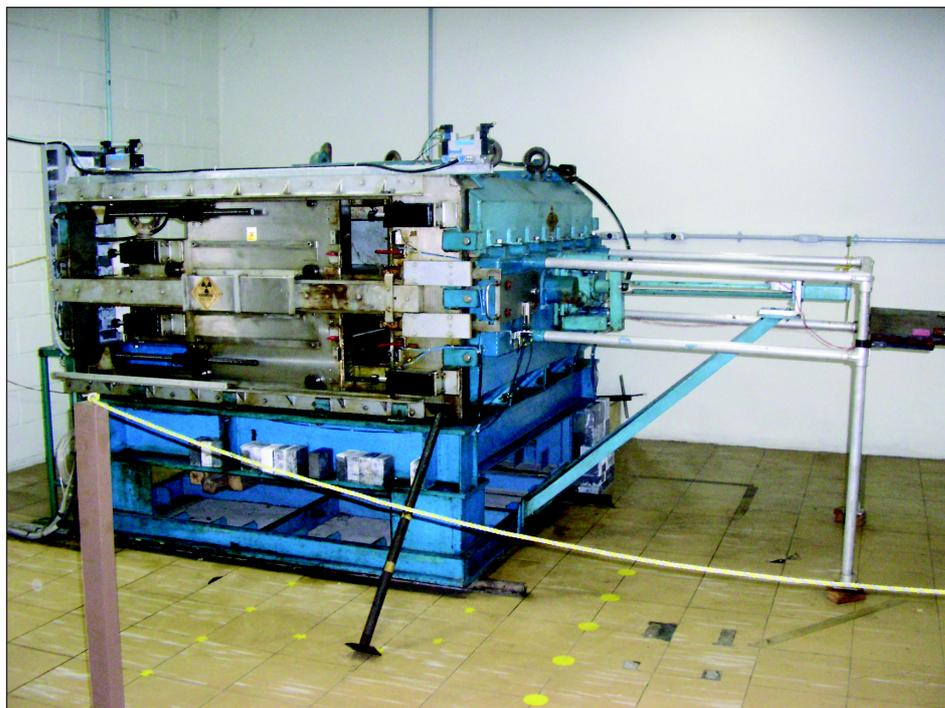


Figura 3.1 Irradiador Gama de Pesquisa do Centro Tecnológico do Exército.

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

A fonte se apresenta na forma de duas hastes dispostas paralelamente, com 28 pastilhas de cloreto de césio-137, duplamente encapsuladas em aço inoxidável. Produz taxas de doses entre 1,0 e 1,8 kGy/h com boa uniformidade. A razão entre dose máxima e mínima é inferior a 20%. O tempo de exposição é calculado considerando-se a atividade atual da fonte, a dose média desejada (Gy), o diâmetro ou altura máxima, densidade e geometria da amostra, a alta-atenuação e o fator de Build-up (VITAL e VELLOZO, 1996).

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

### **LABORATÓRIO DE INSTRUMENTAÇÃO NUCLEAR (LIN)**

Para as análises de RMN em solução, CLAE, determinação de umidade, extração de óleos por Soxhlet e espectrofotometria UV/Vis, as amostras dos grupos experimentais (Controle, 0,5 kGy, 1 kGy, 2 kGy e 4 kGy) foram encaminhadas ao Laboratório de Instrumentação Nuclear da Coordenação de Programas de Pós-graduação em Engenharia (COPPE) da Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ), no município do Rio de Janeiro, onde foram irradiadas no irradiador Cobalto 60 modelo Gammacell Nordion – Canadá (Figura 3.2).



Figura 3.2 Irradiador Gama de Pesquisa do Laboratório de Instrumentação Nuclear/COPPE.

### **3.3.1. CÁLCULO DA TAXA DE DOSE**

Os fatores para cálculo da taxa de dose são o decaimento da fonte, altura da amostra, auto-atenuação e o fator de build-Up.

No CTE<sub>x</sub>, o cálculo dos tempos de exposição foi realizado usando um programa desenvolvido especialmente para o irradiador, com base em um mapeamento dosimétrico, o qual leva em consideração: o decaimento da fonte, a altura, densidade e geometria da amostra (SILVA, 2008).

No LIN, o tempo de exposição foi calculado para atingir as doses médias desejadas (kGy) considerando-se a taxa de exposição de 22 Grays/minuto.

### **3.3.2 IRRADIAÇÃO DOS FRUTOS**

Os Tucumãs foram separados, três a três, em sacos plásticos identificados com etiquetas para cada dose aplicada, a saber, 0,5 kGy, 1 kGy e 2 kGy no CTE<sub>x</sub> e nas doses de 0,5 kGy, 1 kGy, 2 kGy e 4 kGy no LIN. Os frutos não irradiados foram denominados “controle”.

Após a irradiação, as amostras foram imediatamente acondicionadas numa caixa térmica e transportadas para os laboratórios específicos.

### **3.3.3 FLUXOGRAMA DO PROCESSO**

A Figura 3.3 mostra o fluxograma do pré-tratamento e do processo de irradiação dos frutos.

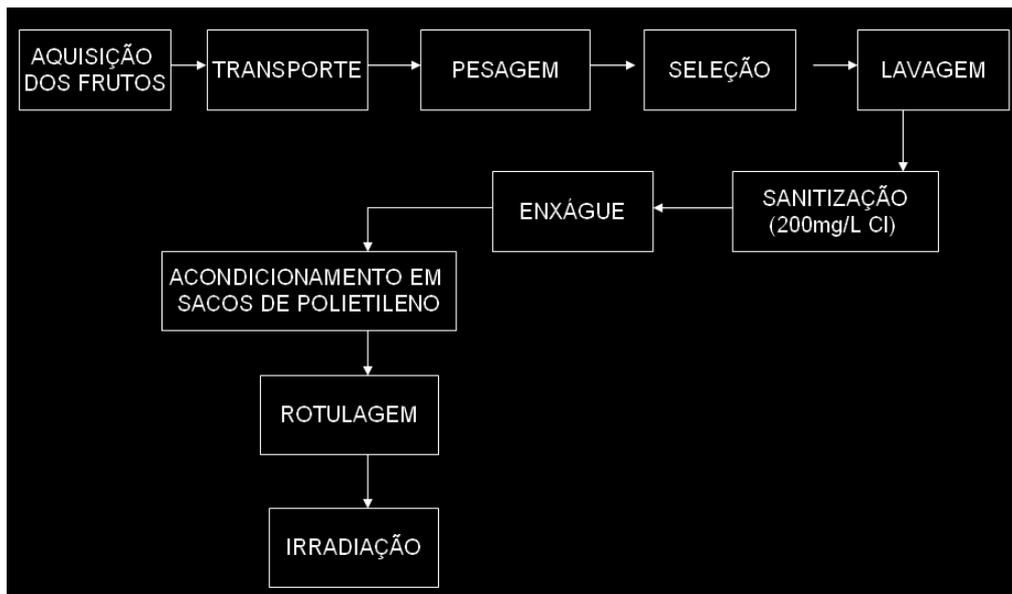


Figura 3.3 Fluxograma do processo de irradiação.

## 3.4 ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS

### 3.4.1 ANÁLISES FÍSICAS

#### 3.4.1.1 DETERMINAÇÃO DO TEOR DE UMIDADE

A umidade foi determinada por gravimetria, com os resultados expressos em % de umidade perdida, onde 20 gramas porção epicarpo-mesocarpo foram pesadas e colocadas em estufas a 105 °C, até peso constante. Os pesa-filtros foram colocados em dessecador até resfriamento e pesados em balança analítica. A análise ocorreu com 5 réplicas e o teor de umidade foi calculado conforme a fórmula abaixo:

$$\% \text{ umidade} = 100 - \frac{[(\text{pesafiltro} + \text{amostra}) - (\text{tara do pesafiltro})] * 100}{\text{peso da amostra}}$$

Os dados obtidos com essa análise foram utilizados para comparação com os dados obtidos por Relaxação. A amostra de polpa desidratada foi encaminhada para a extração de lipídios por Soxhlet.

### 3.4.1.2 EXTRAÇÃO DE LIPÍDIOS POR SOXHLET

O objetivo desta análise foi extrair a fração lipídica (óleo) presente nas amostras, onde 8 gramas da porção epicarpo-mesocarpo do tucumã foram pesadas em cartucho de extração e mantido em aparato de Soxhlet por 6 horas em refluxo. O solvente utilizado foi o éter etílico. O óleo e o solvente foram coletados em tubos previamente tarados e identificados, logo após, o solvente foi retirado por evaporação em banho-maria (40 °C). O óleo obtido foi encaminhado para as análises de espectrofotometria UV/Vis, CLAE e RMN de Alto Campo. O rendimento de óleo da polpa do tucumã foi obtido de forma semelhante ao teor de umidade pela fórmula abaixo:

$$\% \text{ óleo} = 100 - \frac{[(\text{cartucho} + \text{amostra sem óleo}) - (\text{tara do cartucho})] * 100}{\text{peso da amostra}}$$

### 3.4.2 ANÁLISES POR RESSONÂNCIA MAGNÉTICA NUCLEAR DE BAIXO CAMPO

#### 3.4.2.1 PREPARAÇÃO DAS AMOSTRAS

Após a irradiação os frutos foram acondicionados em sacos plásticos igualmente identificados com as doses de 0,5 kGy, 1,0 kGy, 2,0 kGy e o controle para então serem encaminhados para armazenamento congelado, onde ficaram até as análises de RMN-BC. Os frutos controle e irradiados foram descongelados na véspera das análises e desmembrados em três partes para análise: casca1, casca2 e semente. A amostra casca1 corresponde à parte amarelo fibro-carnosa mais externa do fruto, constituída pelo epicarpo e o mesocarpo (polpa), a casca 2 é o endocarpo, que envolve a semente, e é a parte mais resistente do fruto.

### 3.4.2.2 ANÁLISES POR RELAXOMETRIA

As determinações do tempo de relaxação longitudinal para o núcleo de hidrogênio por RMN baixo campo foram feitas no Laboratório de Ressonância Magnética Nuclear do Instituto de Macromoléculas Professora Eloisa Mano (IMA). O sistema de análises foi realizado em triplicatas na temperatura de 25 °C e a metodologia usada foi pelo emprego da técnica de inversão-recuperação, cuja seqüência de pulsos é:

[intervalo de reciclo – 180° -  $\tau$  - 90° - aquisição]

O tempo de relaxação longitudinal é influenciado pela mobilidade molecular da amostra e retrata informações que compreendem domínios que variam de 25 a 40 nm. Foi utilizado o espectrômetro de RMN de baixo campo, Resonance, modelo Maran Ultra 23 MHz. Os parâmetros para determinação do tempo de relaxação longitudinal estão descritos na Tabela 3.1.

Tabela 3.1 Parâmetros para obtenção do tempo de relaxação longitudinal do núcleo  $^1\text{H}$ .

PARÂMETROS	CONDIÇÕES DE DETERMINAÇÃO DE $T_1\text{H}$
Freqüência de observação (MHz)	23
Largura de pulso ( $\mu\text{s}$ ) (90°)	5
Largura de pulso ( $\mu\text{s}$ ) (180°)	10
Intervalo entre pulsos (s)	5
Faixa de $\tau$ ( $\mu\text{s}$ )	100-5000000
Temperatura	25 °C
Número de pontos	40
Números de acúmulos para cada ponto	4

### 3.4.2.3 ANÁLISES DO TEOR DE ÓLEOS

A análise de RMN baixo campo foi feita no Laboratório de RMN do IMA. A dificuldade da análise da semente em baixo campo demandou que o fruto fosse

desmembrado em três partes, casca 1, casca 2 e semente. A casca 1 corresponde a parte fibro-carnosa mais externa do fruto, a casca 2 é o envoltório da semente, a parte mais resistente do fruto. As análises foram realizadas na temperatura de 40 °C. As amostras foram previamente aquecidas na estufa, pois as análises de óleo em temperatura ambiente 27 °C não foram satisfatórias devido ao alto peso molecular do fruto. Todas as medidas foram realizadas com dez repetições autênticas para cada amostra. Foi utilizado o espectrômetro de RMN MQC - OXFORD 5 MHz.

As análises de óleos foram feitas com os parâmetros mostrados na Tabela 3.2:

Tabela 3.2 Parâmetros para obtenção do Teor de óleos no tucumã por RMN baixo campo.

PARÂMETROS	CONDIÇÕES DE DETERMINAÇÃO DO TEOR DE ÓLEOS NO TUCUMÃ
Frequência de observação (MHz)	5
Largura de pulso (µs) (90°)	4.6
Número de pontos	20
Números de acúmulos para cada ponto	4
Temperatura das análises (°C)	40

### 3.4.3 ANÁLISES POR ESPECTROFOTOMETRIA – CAROTENOIDES TOTAIS DO ÓLEO

As amostras dissolvidas com éter de petróleo foram encaminhadas para determinação de carotenoides totais por espectrofotometria a 450 nm. As análises foram feitas em duplicata. O cálculo dos carotenoides totais é feito pela equação 3.1:

$$\text{Quantidade de carotenoides}(\mu\text{g/g}) = \frac{A \times V \times 10^4}{A_{1\text{cm}}^{1\%} \times \text{Massa da amostra(g)}} \quad (\text{Eq. 3.1})$$

Onde:

A = Absorvância;

$A_{1\text{cm}}^{1\%}$  = Absortividade Molar

V = Volume total do extrato

#### 3.4.4 ANÁLISES POR CLAE – CAROTENOIDES MAJORITÁRIOS NO ÓLEO

A amostra do óleo foi diluída em acetona e a análise de carotenoides foi feita em duplicata.

A análise cromatográfica foi realizada num cromatógrafo WATERS®, sistema modular com as seguintes condições cromatográficas:

- Coluna: YCM® Carotenoid S-3 de 4,6 x 250 mm;
- Detector: Arranjo de Fotodiodos UV/Vis de 300 a 600 nm com configuração padrão;
- Gradiente de eluição com as fases móveis: a)Metanol e b)Éter Metil *Terc*-Butilílico (Tabela 3.3);
- Tempo de corrida: 28 minutos;
- Fluxo: 0,8 mL/min;
- Temperatura de coluna: 33°C;
- Temperatura do injetor: 15°C;
- Volume de injeção: 25µL.

#### CÁLCULO DO EQUIVALENTE DE ATIVIDADE DE RETINOL (RAE) PARA OS CAROTENOIDES DO ÓLEO

Para os cálculos do Equivalente de Atividade de Retinol foram adotados os seguintes fatores de conversão: 1 RAE = 2 µg de β-caroteno e 1 RAE = 24 µg de α-caroteno.

Tabela 3.3 Composição do Gradiente de fase móvel (PACHECO *et al.*, 2014).

Tempo Minutos	% Fase A	% Fase B
Inicial	80	20
0,50	75	25
15,00	15	85
15,05	10	90
16,50	10	90
16,55	80	20
28,00	80	20

### 3.4.5 ANÁLISES POR RESSONÂNCIA MAGNÉTICA NUCLEAR DE ALTO CAMPO

Os espectros de RMN  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  foram obtidos usando um espectrômetro Varian de 600 MHz. As amostras contendo as frações lipídicas oriundas da extração por Soxhlet foram analisadas usando clorofórmio deuterado ( $\text{CDCl}_3$ ) como solvente e a temperatura foi controlada pelo sistema de variação de temperatura do aparelho ( $\pm 1$  °C). Todas as amostras foram preparadas com 20 mg de óleo de tucumã com 600  $\mu\text{L}$  de solvente ( $\text{CDCl}_3$ ) em tubos de 5 mm de diâmetro próprios para RMN. O solvente foi utilizado como referência interna. Os espectros foram obtidos com 32 e 1024 scans, para  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$ , respectivamente. Os parâmetros para obtenção dos espectros de RMN para os núcleos de  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  e APT estão descritos na Tabela 3.4

Tabela 3.4 Parâmetros de aquisição de RMN para os núcleos de  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  pela técnica de pulso simples e APT.

PARÂMETROS	CONDIÇÕES		
	$^1\text{H}$	$^{13}\text{C}$	APT
Solvente	$\text{CDCl}_3$	$\text{CDCl}_3$	$\text{CDCl}_3$
Frequência de observação (MHz)	600 MHz	150,8 MHz	150,8 MHz
Janela espectral	9615,38 Hz	37878,7 Hz	37878,7 Hz
pulso	90°	90°	90°
Número de scans	16	2112	4928
Tipo de processamento	FT, LB: 1,5	FT, LB: 0,5	FT, LB: 0,5

### **3.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA**

Todos os dados obtidos por relaxometria e RMN de baixo campo foram submetidos ao Teste F como análise de variância para nível de confiança (NC) de 95%. Uma vez detectados a variância nos valores de  $T_1H$  entre as doses, as médias foram submetidas ao teste de variância por comparações múltiplas Teste de Tukey também para 95% NC.

## **4 RESULTADOS E DISCUSSÃO**

O desenvolvimento de uma metodologia para o estudo molecular do tucumã submetido ao processo de radiação gama, utilizando diferentes técnicas de RMN e o estudo do perfil lipídico do tucumã extraídos por solvente é contribuição inovadora desta tese.

Com o objetivo de se avaliar os efeitos da radiação gama nos constituintes do tucumã, primeiro foram feitas análises preliminares dos valores de  $T_1H$  e dos teores de óleos antes e após o processo de irradiação. Com isso pôde-se quantificar as variações ocorridas em cada parte do fruto pela radiação.

### **4.1 ANÁLISES POR RMN BAIXO CAMPO**

#### **4.1.1 ANÁLISES PRELIMINARES POR RELAXOMETRIA**

O experimento foi realizado com o objetivo de conhecer a mobilidade molecular dos componentes de cada parte do fruto e ocorreu em duas etapas. A primeira etapa foi a determinação do melhor ajuste exponencial para análise do tucumã. Uma vez encontrado o número de exponenciais adequado seguiu-se a segunda etapa, que foi a detecção dos domínios existentes nas partes do fruto.

##### **4.1.1.1 ANÁLISES DO AJUSTE EXPONENCIAL APROPRIADO NA DETERMINAÇÃO DE $T_1H$ DO TUCUMÃ**

## EPICARPO E MESOCARPO (CASCA1)

A distribuição de domínios da casca1 mostrada na Figura 4.1 mostra uma curva de domínio bem alargada e pouco definida, o que sugere a sobreposição de domínios. Por essa razão foram feitas análises para duas e três exponenciais. A base alargada do pico principal demonstra que a amostra é constituída de moléculas com alta mobilidade e interagindo fortemente.

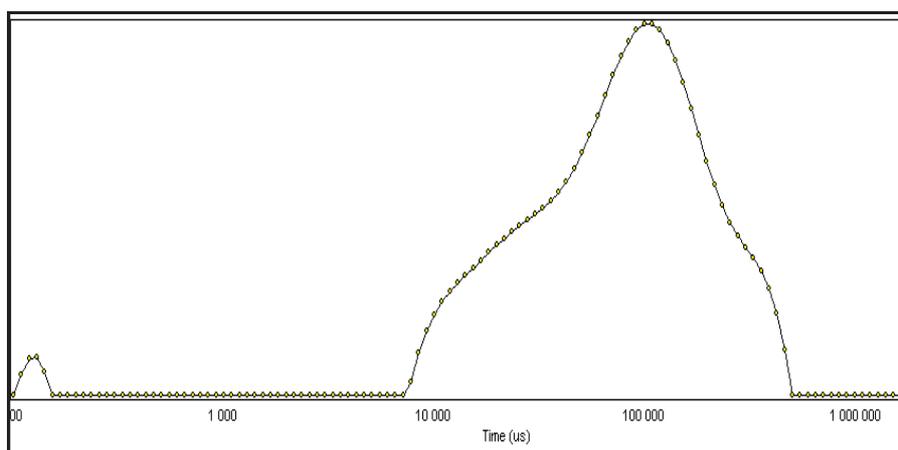


Figura 4.1 Distribuição de domínios do epicarpo e mesocarpo do tucumã (casca1).

A Tabela 4.1 mostra os valores de  $T_1H$  com uma, duas e três exponenciais para a amostra casca1. As informações obtidas para uma exponencial não são satisfatórias para descrever os domínios de uma matriz complexa como a casca do tucumã, considerando que a amostra casca1 é constituída de duas partes do fruto, o epicarpo e o mesocarpo.

Tabela 4.1 Valores de  $T_1H$  (ms) e para os ajuste com uma exponencial e valores de  $T_1H$  ( $\mu$ s) com duas ( $T_{1,1}$ ,  $T_{1,2}$ ) e três exponenciais ( $T_{1,1}$ ,  $T_{1,2}$  e  $T_{1,3}$ ) e suas respectivas intensidades  $[(I_1, I_2)$  e  $(I_1, I_2, I_3)]$  para a amostra casca1.

1 Exp	2 Exp				3 Exp					
$T_1$	$T_{1,1}$	$T_{1,2}$	$I_1$	$I_2$	$T_{1,1}$	$T_{1,2}$	$T_{1,3}$	$I_1$	$I_2$	$I_3$
74	26	151	41,0	59,0	15	68	238	19,0	52,0	29,0

Comparando todos os valores de  $T_1H$  para uma, duas e três exponenciais verificou-se uma semelhança entre os domínios para uma exponencial (74 ms) e para três (68 ms) este último com uma intensidade de 52% corrobora para a escolha de três exponenciais como o melhor ajuste para estudar o epicarpo e o mesocarpo do fruto.

#### **DETERMINAÇÃO FÍSICA DO TEOR DE UMIDADE**

A umidade foi determinada para corroborar na escolha do melhor ajuste exponencial para a análise das partes do fruto e foi feito unicamente para a polpa. Os dados obtidos por diferença de umidade perdida em estufa a 105 °C estão descritos na Tabela 4.2 juntamente com 5 valores aleatórios das intensidades de  $T_1H$  referentes ao domínio da água livre.

Tabela 4.2 Teores de  $H_2O$  por  $T_1H$  (% relativo) e pelo método de determinação de umidade por diferença.

Réplicas	Intensidade dos Sinais de $T_1H$ (% relativo)	Teor de $H_2O$ (% física)
01	20	27
02	19	27
03	18	26
04	18	19
05	17	17
<b>Média</b>	<b>18,4</b>	<b>23,2</b>

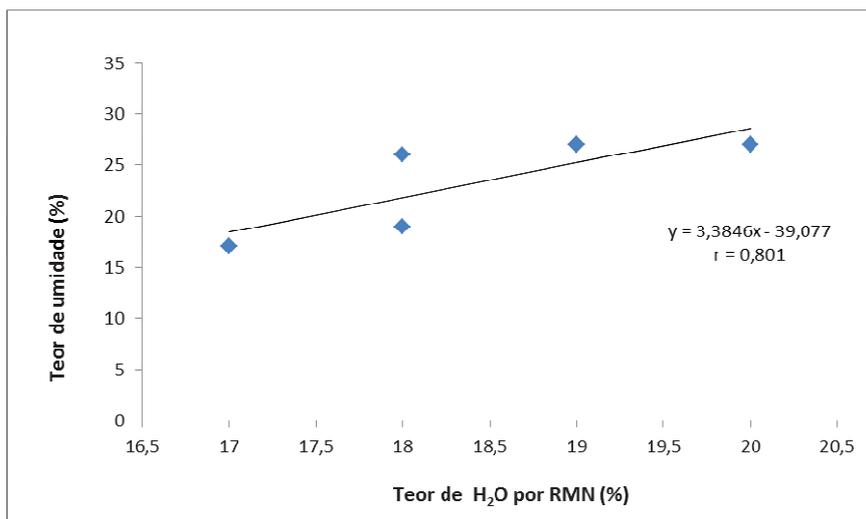


Figura 4.2 Correlação linear entre os teores de H<sub>2</sub>O obtidos pela intensidade de T<sub>1</sub>H e pelo método de determinação do teor de umidade (físico) da polpa do tucumã.

Podemos observar que a correlação entre as duas técnicas (Figura 4.2) é positiva e forte. O coeficiente de correlação de 0,8 mostra que os dados obtidos pela determinação de T<sub>1</sub>H são bem próximos dos dados físicos. Vale ressaltar que o método de determinação de umidade por diferença não é preciso, visto que boa parte da porção volátil da amostra é perdida a 105 °C, enquanto que o método de RMN analisa a amostra sem perdas físicas.

#### DETERMINAÇÃO DO RENDIMENTO DE ÓLEOS POR SOXHLET

O rendimento de óleos foi determinado para corroborar na escolha do melhor ajuste exponencial para a análise das partes do fruto e foi feito unicamente para a polpa. Os óleos foram extraídos da polpa por Soxhlet e o rendimento foi calculado por diferença. Os dados obtidos estão descritos na Tabela 4.3 juntamente com 5 valores aleatórios das intensidades de T<sub>1</sub>H referente ao domínio dos óleos.

Tabela 4.3 Teores de óleo por T<sub>1</sub>H (% relativo) e pelo método extração por Soxhlet.

Réplicas	Intensidade dos Sinais de T <sub>1</sub> H (% relativo)	Teor de Óleo Soxhlet (%)
01	52	39
02	48	21
03	50	26
04	54	42
05	53	40
<b>Média</b>	<b>51,4</b>	<b>33,6</b>

Os valores encontrados por Soxhlet revelam um teor de óleos menor que os determinados por RMN. Resultado semelhante foi encontrado por UNGARO *et al.* (1992), ao estudar o teor de óleos em sementes de girassol pelos métodos de RMN e Soxhlet. É possível que o solvente utilizado (éter etílico) não seja capaz de extrair todos os lipídios da amostra ou ainda que uma pequena parte dos lipídios interaja tão fortemente com outras moléculas da polpa que só sejam visualizadas por RMN.

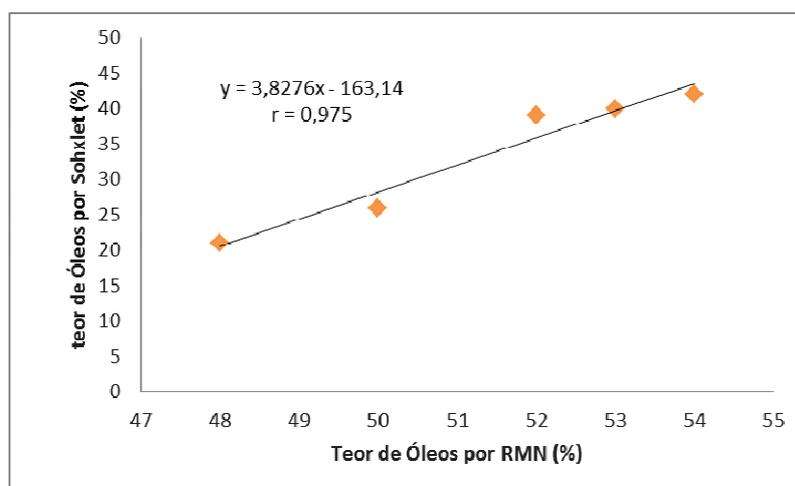


Figura 4.3 Correlação linear entre os teores de Óleo da polpa do tucumã obtidos pela intensidade de T<sub>1</sub>H e por Soxhlet da polpa do tucumã.

Podemos observar que a correlação entre as duas técnicas (Figura 4.3) é positiva e muito forte. O coeficiente de correlação de 0,9 mostra que os dados obtidos pela determinação de T<sub>1</sub>H são bem próximos dos dados físicos e corroboram com a escolha do ajuste de três exponenciais para a condução deste trabalho.

## ENDOCARPO (CASCA2)

Resultados semelhantes ao da amostra casca1 foram obtidos quanto ao melhor ajuste para a amostra casca2. A Figura 4.4 mostra a distribuição das curvas de domínio do endocarpo do tucumã.

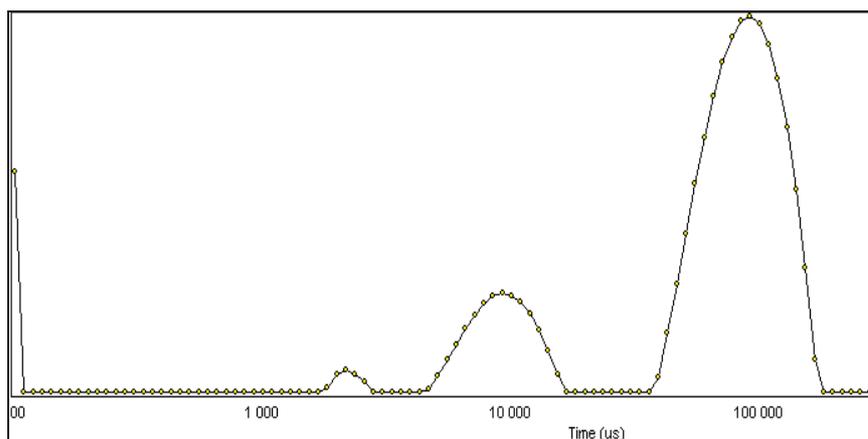


Figura 4.4 Distribuição de domínios do endocarpo do tucumã (casca2).

A amostra casca2 apresenta três domínios bem distintos e o mesmo acontece com os valores de  $T_1H$ . A Tabela 4.4 mostra os valores de  $T_1H$  para uma, duas e três exponenciais.

Tabela 4.4 Valores de  $T_1H$  (ms) e para os ajuste com uma exponencial e valores de  $T_1H$  com duas ( $T_{1,1}$ ,  $T_{1,2}$ ) e três exponenciais ( $T_{1,1}$ ,  $T_{1,2}$  e  $T_{1,3}$ ) e suas respectivas intensidades [ $(I_1, I_2)$  e  $(I_1, I_2, I_3)$ ] para a amostra casca2.

1 Exp	2 Exp				3 Exp					
$T_1$	$T_{1,1}$	$T_{1,2}$	$I_1$	$I_2$	$T_{1,1}$	$T_{1,2}$	$T_{1,3}$	$I_1$	$I_2$	$I_3$
61	9	69	22,0	78,0	2	14	94	4,0	23,0	73,0

Os Valores de  $T_1H$  para uma (61 ms) e duas exponenciais (69 ms) são bem parecidos, a semelhança é comprovada pela intensidade desse último de 78,0%. A abundância do menor valor de  $T_1H$  para três exponenciais ( $T_{1,1} = 2$  ms), é 4,0% e é suficiente para comprovar a existência de três domínios no endocarpo do tucumã.

Diante disso, o ajuste mais adequado para a análise da amostra casca2 é o de três exponenciais.

## SEMENTE

A curva de distribuição de domínio da semente do tucumã mostra três domínios bem distintos (Figura 4.5) e os dados da Tabela 4.5 mostram os valores de  $T_1H$  para uma, duas e três exponenciais da semente do tucumã.

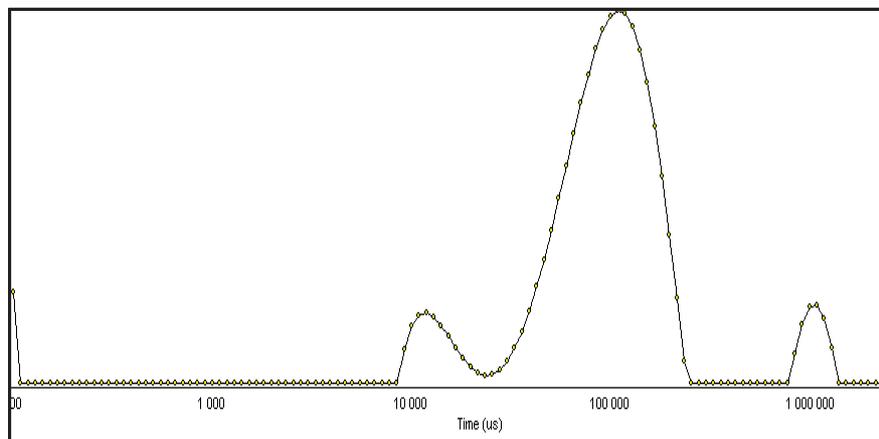


Figura 4.5 Distribuição de domínios da semente do tucumã.

De acordo com a Tabela 4.5 os domínios para uma (89) e três exponenciais ( $T_{1,2} = 103$  ms) são parecidos, com a abundância deste domínio com rigidez intermediária de 76%.

Tabela 4.5 Valores de  $T_1H$  (ms) para os ajuste com uma exponencial, duas ( $T_{1,1}$ ,  $T_{1,2}$ ) e três exponenciais ( $T_{1,1}$ ,  $T_{1,2}$  e  $T_{1,3}$ ) e suas respectivas intensidades [ $(I_1, I_2)$  e  $(I_1, I_2, I_3)$ ] para a semente.

1 Exp	2 Exp				3 Exp					
$T_1(s)$	$T_{1,1}(s)$	$T_{1,2}(s)$	$I_1$	$I_2$	$T_{1,1}(s)$	$T_{1,2}(s)$	$T_{1,3}(s)$	$I_1$	$I_2$	$I_3$
89	35	155	38,0	62,0	18	103	923	16,0	76,0	8,0

As intensidades dos valores de  $T_1H$  para três exponenciais são bem expressivas e comprovam que a semente do tucumã tem três domínios bem definidos. Portanto, o ajuste de três exponenciais é ideal para determinação do tempo de relaxação longitudinal da semente do tucumã.

#### 4.1.1.2 ANÁLISES DOS DOMÍNIOS E DETERMINAÇÃO DOS COMPONENTES MAJORITÁRIOS DO TUCUMÃ

A determinação de  $T_1H$  para todas as amostras ocorreu para três exponenciais. Os valores de  $T_1H$  em triplicata para as três amostras do tucumã estão descritas em três tabelas: Tabela 4.6 (casca1), Tabela 4.7 (casca2) e Tabela 4.8 (semente).

Tabela 4.6 Valores do  $T_1H$  do epicarpo e mesocarpo do tucumã (casca1).

Amostra	$T_1$ (ms)	Intensidade (%)
<b>Casca1</b>	<b>15</b>	<b>19,0</b>
	68	52,0
	238	29,0
<b>Casca1 rep1</b>	<b>14</b>	<b>18,0</b>
	63	48,0
	217	34,0
<b>Casca1 rep2</b>	<b>15</b>	<b>20,0</b>
	68	50,0
	232	30,0

De acordo com os dados nas tabelas citadas, tem-se que a amostra casca1, constituída de epicarpo e mesocarpo, possui mobilidade maior que as outras partes do fruto. O domínio que controla a relaxação na casca1 possui tempo de relaxação intermediário ( $T_1 \approx 68$  ms) com intensidade de 50% e representa os óleos contidos na polpa do fruto. O domínio com menor valor de  $T_1$  ( $T_1 \approx 15$  ms) é referente à água com intensidade de aproximadamente 20%. Esses dados mostram que o mesocarpo é a

parte do fruto com maior teor de água. O domínio com maior valor de  $T_1$  ( $T_1 \approx 232$  ms) representa as fibras, abundantes na polpa.

Tabela 4.7 Valores do  $T_1$ H do endocarpo do tucumã (casca2).

Amostra	$T_1$ (ms)	Intensidade (%)
	<b>2</b>	<b>4,0</b>
<b>Casca2</b>	14	23,0
	94	73,0
	<b>6</b>	<b>16,0</b>
<b>Casca2 rep1</b>	41	23,0
	104	61,0
	<b>2</b>	<b>4,0</b>
<b>Casca2 rep2</b>	12	21,0
	91	75,0

Tabela 4.8 Valores do  $T_1$ H da semente do tucumã.

Amostra	$T_1$ (ms)	Intensidade (%)
	<b>18</b>	<b>16,0</b>
<b>Semente</b>	103	76,0
	923	8,0
	<b>17</b>	<b>15,0</b>
<b>Semente rep1</b>	98	75,0
	608	10,0
	<b>18</b>	<b>15,0</b>
<b>Semente rep2</b>	100	76,0
	711	9,0

A semente é a parte do fruto com menor mobilidade, seguido da amostra casca2, o endocarpo. O domínio que controla a relaxação da semente possui  $T_1$  intermediário ( $T_1 \approx 100$  ms) com intensidade por volta de 75% e é atribuído aos óleos. O domínio mais rígido ( $T_1 \approx 711$  ms), porém menos abundante na semente (cerca de 9%) é atribuído às fibras e polissacarídeos. O valor de  $T_1$  alto é devido a contribuição de um polímero natural mais rígido, podendo ser a lignina.

O domínio que controla a relaxação na amostra casca2 é o de maior tempo de relaxação ( $T_1 \approx 94$  ms), também atribuído às fibras e polissacarídeos e com abundância de 73%. O domínio de rigidez intermediária do endocarpo é relativo a substâncias de baixa massa molar (23%) e os óleos. A quantidade de água na amostra casca2 é inferior às outras duas amostras, fato comum no endocarpo das drupas.

Os componentes majoritários das três partes do fruto são os óleos, as fibras e polissacarídeos ficam em segundo lugar. Em terceiro lugar está a água livre que em todas as amostras não ultrapassou 20%.

#### **4.1.2 ANÁLISES DOS EFEITOS DA RADIAÇÃO GAMA POR RELAXOMETRIA**

O experimento foi realizado com o objetivo de determinar os efeitos da radiação gama na estrutura molecular do fruto. A técnica de relaxometria permite determinar a dose de radiação que inicia mudanças nas interações entre os domínios.

Para fins de praticidade quanto à apresentação e discussão dos dados obtidos por relaxometria do fruto irradiado e não irradiado adotou-se a seguinte denominação para cada um dos domínios apresentados pelas partes do fruto analisadas:

Domínio 1, relativo ao domínio de menor valor de  $T_1$ , atribuído a água livre;

Domínio 2, relativo ao domínio de  $T_1$  intermediário, atribuído aos óleos e a alguns componentes de baixa massa molar; e

Domínio 3, domínio de maior valor de  $T_1$ , atribuído as fibras e polissacarídeos.

#### 4.1.2.1 ANÁLISE DA INFLUÊNCIA DA RADIAÇÃO GAMA NOS VALORES DE T<sub>1</sub>H E INTENSIDADE DO EPICARPO E MESOCARPO DO TUCUMÃ

A Tabela 4.9 mostra os valores de T<sub>1</sub>H e as intensidades em triplicata para as amostras do epicarpo e mesocarpo (casca1) do tucumã não irradiado (controle) e irradiado nas doses de 0,5 kGy, 1 kGy e 2 kGy.

Tabela 4.9 Valores em triplicata do T<sub>1</sub>H e intensidades do epicarpo e mesocarpo (casca1) do tucumã controle e irradiado com 0,5 kGy, 1 kGy e 2 kGy.

<i>Controle</i>		<i>0,5 kGy</i>		<i>1,0 kGy</i>		<i>2,0 kGy</i>	
<i>T<sub>1</sub> (ms)</i>	<i>Int (%)</i>						
<b>15</b>	<b>19</b>	<b>19</b>	<b>17</b>	<b>16</b>	<b>18</b>	<b>14</b>	<b>11</b>
68	52	69	54	65	49	55	55
238	29	246	29	215	33	199	34
<b>14</b>	<b>18</b>	<b>19</b>	<b>18</b>	<b>17</b>	<b>21</b>	<b>14</b>	<b>11</b>
63	48	70	53	69	47	55	55
217	34	250	29	210	32	203	34
<b>15</b>	<b>20</b>	<b>20</b>	<b>18</b>	<b>12</b>	<b>14</b>	<b>14</b>	<b>12</b>
68	50	67	51	8	50	56	55
232	30	239	31	203	33	203	33

A Figura 4.6 mostra os gráficos de dose (kGy) versus T<sub>1</sub> (ms) para os três domínios da amostra casca 1. Como observado no primeiro gráfico da Figura 4.6, que trata dos valores de T<sub>1</sub> do domínio 1, atribuído a água. A mobilidade molecular do domínio 1 sofreu alteração para a dose de 0,5 kGy pelo processo de irradiação, segundo teste de Tukey com 95% NC. A mobilidade desse domínio retorna ao mesmo nível da amostra controle com as doses de 1,0 e 2,0 kGy.

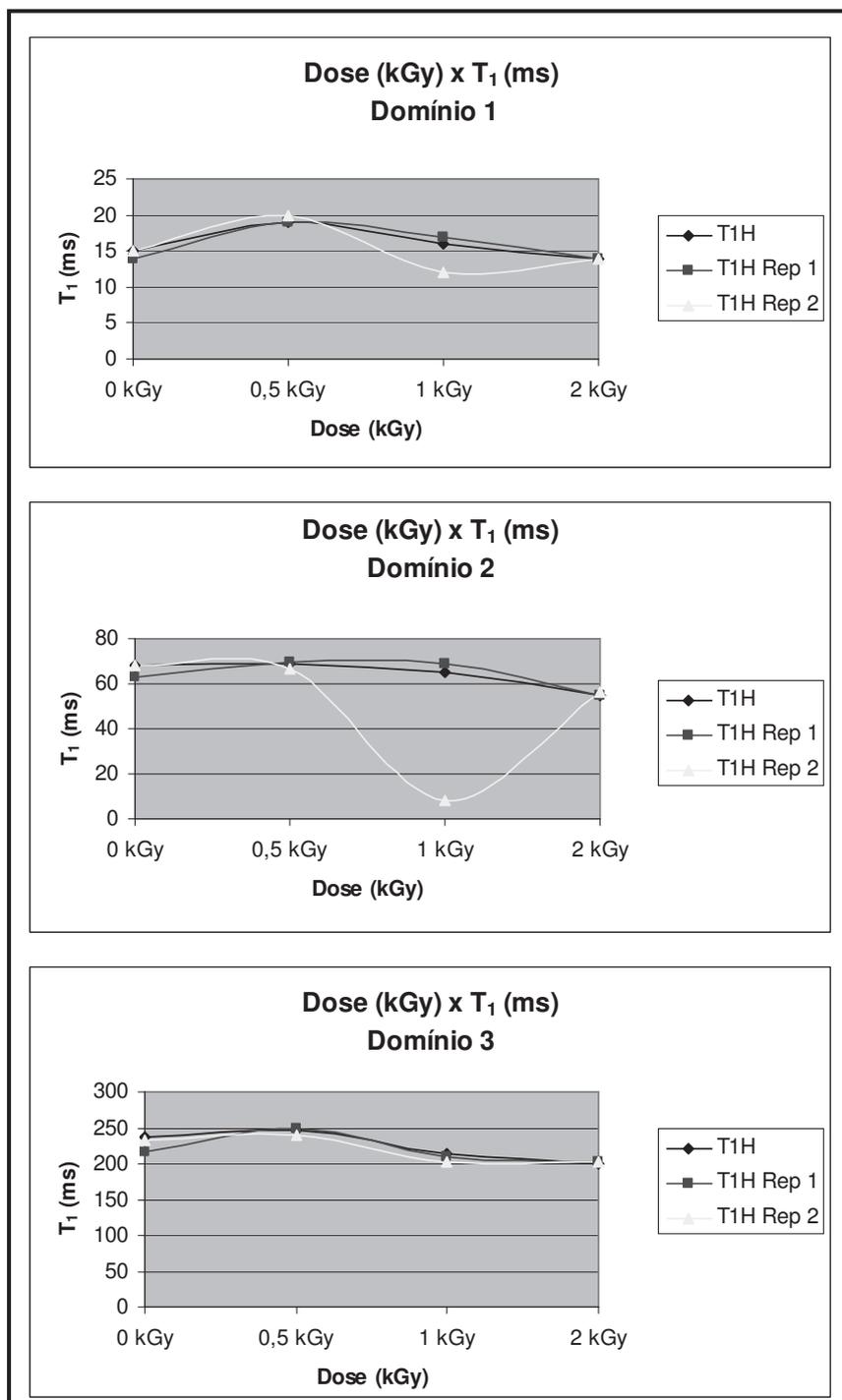


Figura 4.6 Gráfico dose (kGy) x T<sub>1</sub>(ms) das triplicatas dos domínios 1, 2 e 3 da amostra casca 1 irradiada (0,5 kGy, 1 kGy e 2 kGy) e controle.

O domínio 2 não apresentou variação significativa em seu tempo de relaxação, porém o domínio três apresentou uma queda do tempo de relaxação com o aumento da dose, segundo teste de Tukey com 95% NC, indicando que a irradiação possui a

capacidade de aumentar a mobilidade molecular dos polímeros naturais como as fibras e demais polissacarídeos. Esse aumento da mobilidade molecular está associado a mudanças na estrutura do fruto. Isso ocorre pela influência direta da irradiação na permeabilidade seletiva da membrana plasmática nas células fazendo com que estas liberem mais água para o meio extracelular (SANTOS, 2008). A variação ocorreu nas doses de 1 kGy e 2 kGy, segundo teste de Tukey com 95% NC.

A Figura 4.7 mostra os gráficos de dose (kGy) versus intensidade (%) para os três domínios da amostra casca 1.

A Figura 4.7 dá uma visão comparativa das intensidades de cada um dos domínios da amostra casca1. O teste de Tukey com 95% NC mostra que o domínio 1 apresenta diminuição em sua intensidade com o aumento da dose, enquanto o domínio 2 apresenta aumento de intensidade diretamente proporcional ao aumento da dose. Isso ocorre pelo efeito da irradiação sobre a água livre nos meios biológicos, em que muitas espécies reativas do oxigênio são geradas pela radiólise da água. Com a ionização de grande parte da água que confere maior mobilidade aos domínios 2 e 3, estes ficam mais rígidos com o aumento da dose. O domínio 3 não apresentou variação significativa em relação ao controle.

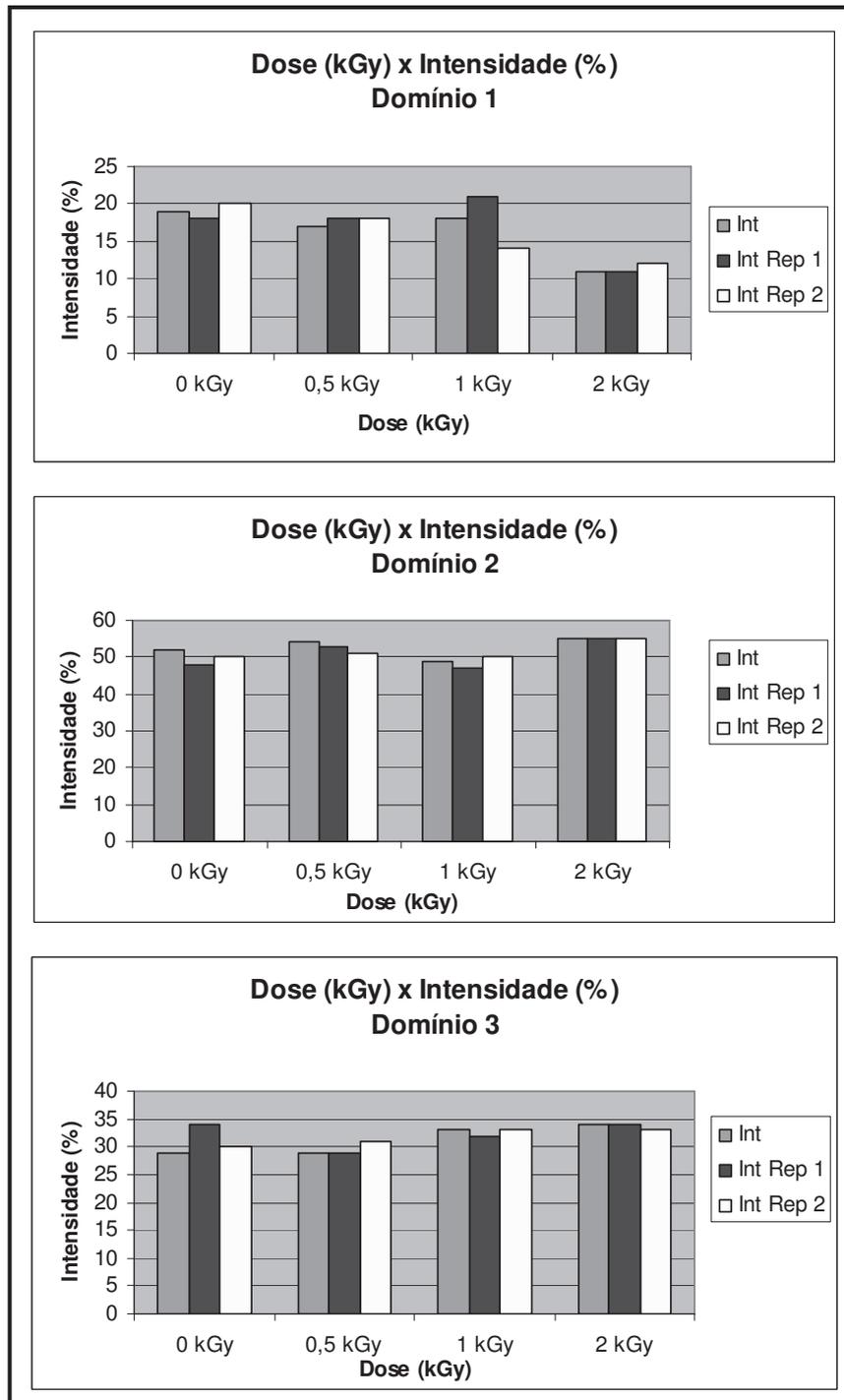


Figura 4.7 Gráfico dose (kGy) x Intensidade (%) das triplicatas dos domínios 1, 2 e 3 da amostra casca 1 irradiada (0,5 kGy, 1 kGy e 2 kGy) e controle.

#### 4.1.2.2 ANÁLISE DA INFLUÊNCIA DA RADIAÇÃO GAMA NOS VALORES DE T<sub>1</sub>H E INTENSIDADE DO ENDOCARPO DO TUCUMÃ

A Tabela 4.10 mostra os valores de T<sub>1</sub>H e as intensidades em triplicata para as amostras do endocarpo (casca2) do tucumã não irradiado (controle) e irradiado nas doses de 0,5 kGy, 1 kGy e 2 kGy.

Tabela 4.10 Valores em triplicata do T<sub>1</sub>H e intensidades do endocarpo (casca2) do tucumã controle e irradiado nas doses de 0,5 kGy, 1 kGy e 2 kGy.

<b>Controle</b>		<b>0,5 kGy</b>		<b>1,0 kGy</b>		<b>2,0 kGy</b>	
<b>T<sub>1</sub> (ms)</b>	<b>Int (%)</b>						
<b>2</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	<b>11</b>	<b>5</b>	<b>13</b>	<b>0,2</b>	<b>2</b>
<b>14</b>	<b>23</b>	<b>36</b>	<b>26</b>	<b>49</b>	<b>34</b>	<b>8</b>	<b>17</b>
<b>94</b>	<b>73</b>	<b>107</b>	<b>63</b>	<b>108</b>	<b>53</b>	<b>86</b>	<b>81</b>
<b>6</b>	<b>16</b>	<b>5</b>	<b>10</b>	<b>4</b>	<b>10</b>	<b>0,6</b>	<b>2</b>
<b>41</b>	<b>23</b>	<b>35</b>	<b>27</b>	<b>29</b>	<b>21</b>	<b>8</b>	<b>17</b>
<b>104</b>	<b>61</b>	<b>105</b>	<b>63</b>	<b>90</b>	<b>69</b>	<b>88</b>	<b>81</b>
<b>2</b>	<b>4</b>	<b>4</b>	<b>8</b>	<b>5</b>	<b>14</b>	<b>4</b>	<b>8</b>
<b>12</b>	<b>21</b>	<b>28</b>	<b>23</b>	<b>51</b>	<b>32</b>	<b>23</b>	<b>21</b>
<b>91</b>	<b>75</b>	<b>101</b>	<b>69</b>	<b>108</b>	<b>54</b>	<b>99</b>	<b>71</b>

Segundo os dados mostrados na Tabela 4.10, os valores de T<sub>1</sub> dos três domínios apresentam dispersão razoável entre suas réplicas. As dispersões nos valores de T<sub>1</sub> dos domínios 1, 2 e 3 são melhores visualizadas nos gráficos da Figura 4.8, que mostram todos os valores de T<sub>1</sub> para o tucumã irradiado e controle.

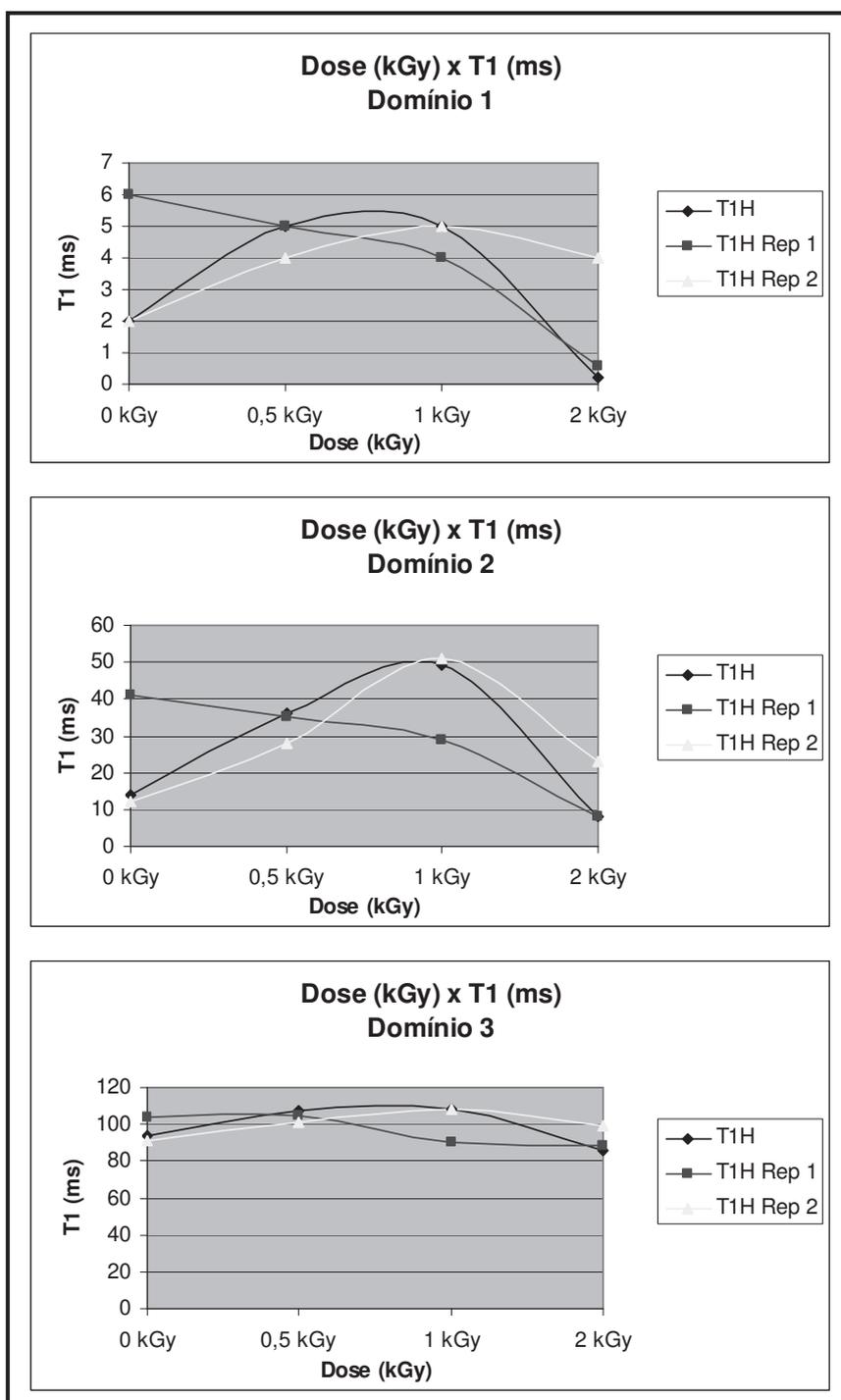


Figura 4.8 Gráfico dose (kGy) x  $T_1$ (ms) das triplicatas dos domínios 1, 2 e 3 da amostra casca 2 irradiada (0,5 kGy, 1 kGy e 2 kGy) e controle.

Segundo teste F com 95% NC não houve variação dos valores de  $T_1$  no domínio 1 do endocampo do tucumã, que é a parte do fruto que apresenta a menor quantidade de água e de óleos. O mesmo ocorreu no domínio 2, representativo dos óleos e outros componentes de baixa massa molar, como pode ser visto no gráfico da

Figura 4.8. Também não houve variação significativa nos valores de  $T_1$  para o domínio 3, representativo das fibras e polissacarídeos. Esses polímeros não sofreram despolimerização quando submetidos a baixas doses de radiação. SILVA *et al.* (2007) analisando as fibras do mamoeiro irradiado verificaram que o conteúdo de fibras das amostras irradiadas é maior que as amostras controle no decorrer do tempo de armazenagem, mostrando o potencial da irradiação como técnica de conservação do fruto. Já VITTI *et al.* (2008) observaram que a concentração de fibras diminuiu com altas doses de radiação utilizando a técnica de feixe de elétrons.

A Figura 4.9 mostra os gráficos de dose (kGy) versus intensidade (%) para os três domínios da amostra casca 2 e nos dá uma visão comparativa dos efeitos da radiação gama nas intensidades de cada um dos domínios da amostra casca2. Segundo teste F com 95% NC os domínios 1 e 2 não apresentam variação em sua intensidade com o aumento da dose. O domínio 3 da amostra casca2 também não apresentou variação significativa de sua intensidade das amostras irradiadas em relação ao controle. Provavelmente por ser a parte do fruto com maior teor de fibra, e esta é resistente à despolimerização em baixas doses.

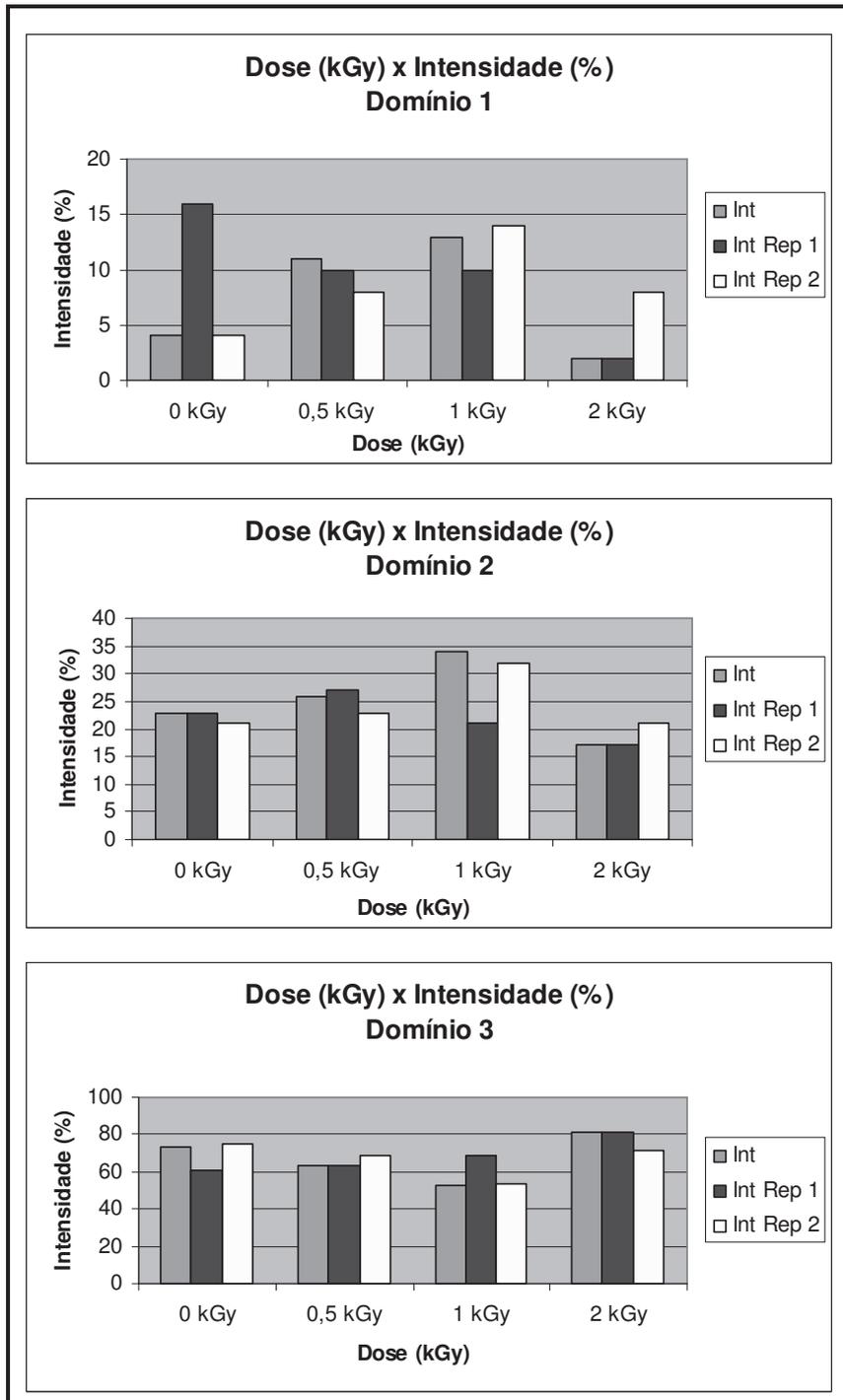


Figura 4.9 Gráfico dose (kGy) x Intensidade (%) das triplicatas dos domínios 1, 2 e 3 da amostra casca 2 irradiada (0,5 kGy, 1 kGy e 2 kGy) e controle.

#### 4.1.2.3 ANÁLISE DA INFLUÊNCIA DA RADIAÇÃO GAMA NOS VALORES DE T<sub>1</sub>H E INTENSIDADE DA SEMENTE DO TUCUMÃ

A Tabela 4.11 mostra os valores de T<sub>1</sub>H e as intensidades em triplicata para as amostras da semente do tucumã não irradiado (controle) e irradiado nas doses de 0,5 kGy, 1 kGy e 2 kGy.

Tabela 4.11 Valores em triplicata do T<sub>1</sub>H e intensidades da semente do tucumã controle (não irradiado) e irradiado nas doses de 0,5 kGy, 1 kGy e 2 kGy.

<b>Controle</b>		<b>0,5 kGy</b>		<b>1,0 kGy</b>		<b>2,0 kGy</b>	
<b>T<sub>1</sub> (ms)</b>	<b>Int (%)</b>						
<b>18</b>	16	<b>9</b>	6	<b>14</b>	13	<b>11</b>	13
<b>103</b>	76	<b>66</b>	69	<b>101</b>	75	<b>86</b>	71
<b>923</b>	8	<b>285</b>	25	<b>783</b>	12	<b>651</b>	16
<b>17</b>	15	<b>14</b>	10	<b>15</b>	13	<b>13</b>	15
<b>98</b>	75	<b>102</b>	76	<b>102</b>	75	<b>88</b>	70
<b>608</b>	10	<b>402</b>	14	<b>783</b>	12	<b>649</b>	15
<b>18</b>	15	<b>15</b>	10	<b>15</b>	13	<b>13</b>	14
<b>100</b>	76	<b>106</b>	79	<b>102</b>	75	<b>89</b>	71
<b>711</b>	9	<b>551</b>	11	<b>847</b>	12	<b>689</b>	15

A Figura 4.11 mostra os gráficos de dose (kGy) versus T<sub>1</sub> (ms) e suas triplicatas dos três domínios detectados na semente do fruto.

De acordo com os gráficos da Figura 4.10 as variações nos valores de T<sub>1</sub> causadas pela radiação nos domínios 1 e 3 da semente seguiram padrões semelhantes, indicando que a mobilidade da água e das fibras aumentou, principalmente para a dose de 0,5 kGy, nos quais a diminuição de T<sub>1</sub> chegou a 27% com relação ao controle no domínio 1, segundo teste de Tukey com 95 % NC. Não houve variação significativa nos valores de T<sub>1</sub> para o domínio 2 (95 % NC).

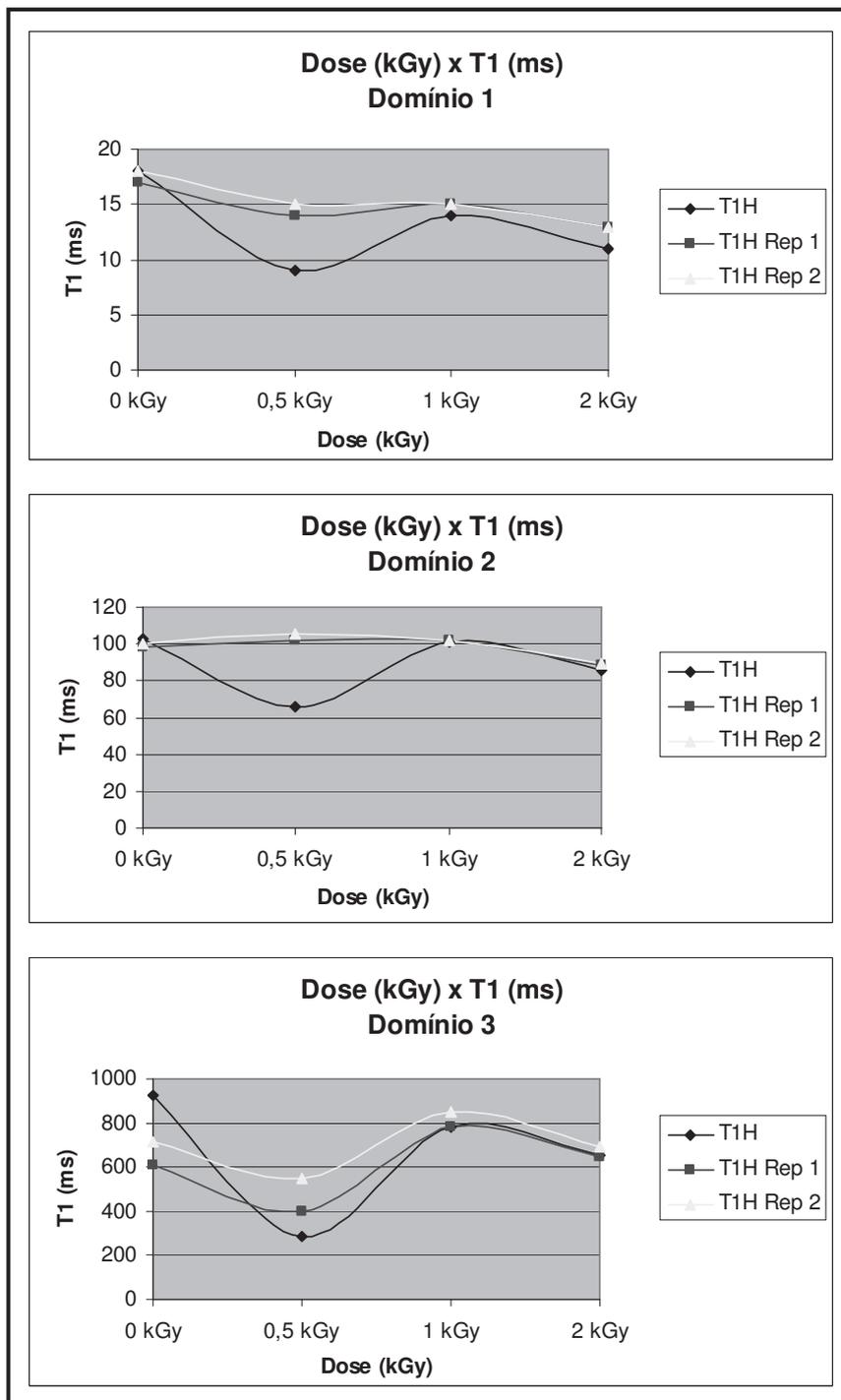


Figura 4.10 Gráfico dose (kGy) x  $T_1$ (ms) das triplicatas dos domínios 1, 2 e 3 da semente irradiada (0,5 kGy, 1 kGy e 2 kGy) e não irradiada (controle).

A Figura 4.11 mostra os gráficos de dose (kGy) versus intensidade (%) para os três domínios da semente do tucumã irradiado e controle.

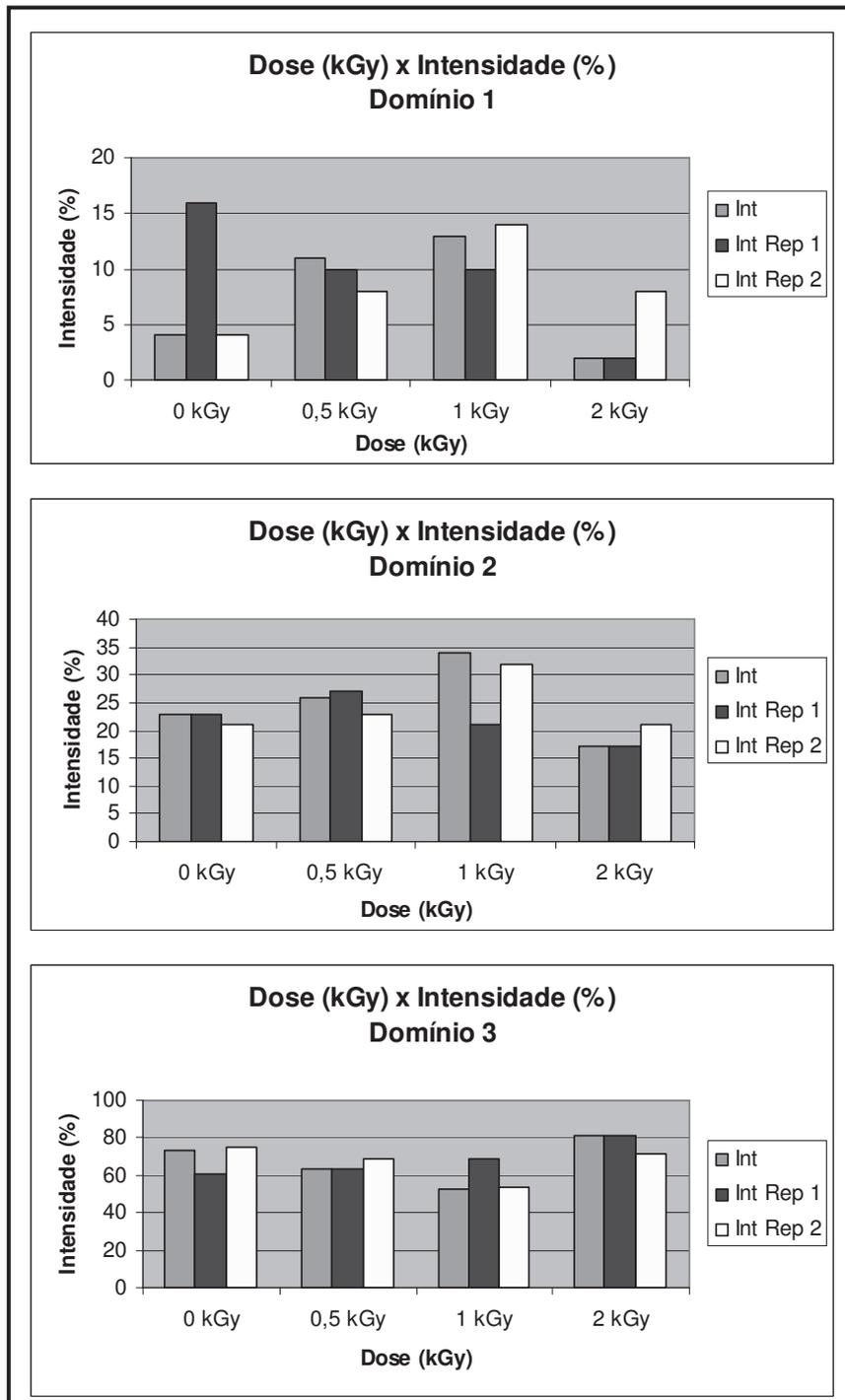


Figura 4.11 Gráfico de dose (kGy) x Intensidade (%) das triplicatas dos domínios 1, 2 e 3 da semente irradiada (0,5 kGy, 1 kGy e 2 kGy) e controle.

A irradiação mostrou efeitos significativos somente nas intensidades do domínio 1 da semente e na dose de 0,5 kGy, segundo teste de Tukey com 95 % NC. A dose de 0,5 kGy parece gerar um meio diferente de liberação da água da amostra

se comparado com as demais doses. Os efeitos da irradiação nas intensidades dos domínios 2 e 3 não foram significativos (95 % NC).

#### 4.1.3 ANÁLISES PRELIMINARES DO TEOR DE ÓLEOS

As análises a seguir têm por objetivo determinar quantitativamente o teor de óleos de cada parte do tucumã com uma resolução superior a apresentada pela técnica de determinação do tempo de relaxação longitudinal do hidrogênio ( $T_1H$ ), que determina de forma relativa os núcleos de hidrogênio que interagem no domínio molecular dos óleos. Para tanto se utilizou um aparelho de RMN baixo campo calibrado especificamente para análise do teor de óleos em alimentos e outros materiais. Uma vez determinado o teor de óleo, seguiram-se as análises dos efeitos do tratamento gama em cada amostra.

As Tabelas 4.12, 4.13 e 4.14 mostram os teores (%) e as massas (g) de óleos das amostras casca 1, casca 2 e semente, respectivamente:

Tabela 4.12 Intensidades (%) e massas (g) da amostra casca1 (pericarpo e mesocarpo) do tucumã com 10 repetições.

<b>SEMENTE DE TUCUMAN – CASCA 1 – MASSA 4,68g</b>		
<b>Nº ANÁLISE</b>	<b>Intensidade (%)</b>	<b>Massa de Óleo</b>
<b>Análise 01</b>	<b>42,33</b>	<b>1,98</b>
<b>Análise 02</b>	<b>42,31</b>	<b>1,98</b>
<b>Análise 03</b>	<b>44,61</b>	<b>2,08</b>
<b>Análise 04</b>	<b>44,64</b>	<b>2,08</b>
<b>Análise 05</b>	<b>44,26</b>	<b>2,07</b>
<b>Análise 06</b>	<b>45,01</b>	<b>2,10</b>
<b>Análise 07</b>	<b>44,93</b>	<b>2,10</b>
<b>Análise 08</b>	<b>44,36</b>	<b>2,07</b>
<b>Análise 09</b>	<b>44,17</b>	<b>2,06</b>
<b>Análise 10</b>	<b>44,58</b>	<b>2,08</b>

Tabela 4.13 Intensidades (%) e massas (g) da amostra casca2 (endocarpo) do tucumã com 10 repetições.

<b>SEMENTE DE TUCUMAN – CASCA 2 – MASSA 4,82g</b>		
<b>Nº ANÁLISE</b>	<b>Intensidade (%)</b>	<b>Massa de Óleo</b>
<b>Análise 01</b>	<b>8,74</b>	<b>0,42</b>
<b>Análise 02</b>	<b>8,75</b>	<b>0,42</b>
<b>Análise 03</b>	<b>8,72</b>	<b>0,42</b>
<b>Análise 04</b>	<b>8,71</b>	<b>0,41</b>
<b>Análise 05</b>	<b>8,71</b>	<b>0,41</b>
<b>Análise 06</b>	<b>8,71</b>	<b>0,41</b>
<b>Análise 07</b>	<b>8,71</b>	<b>0,41</b>
<b>Análise 08</b>	<b>8,70</b>	<b>0,41</b>
<b>Análise 09</b>	<b>8,69</b>	<b>0,41</b>
<b>Análise 10</b>	<b>8,66</b>	<b>0,41</b>

Tabela 4.14 Intensidades (%) e massas (g) da semente do tucumã com 10 repetições.

<b>SEMENTE DE TUCUMAN – SEMENTE – MASSA 3,93g</b>		
<b>Nº ANÁLISE</b>	<b>Intensidade (%)</b>	<b>Massa de Óleo</b>
<b>Análise 01</b>	<b>40,21</b>	<b>1,58</b>
<b>Análise 02</b>	<b>40,39</b>	<b>1,58</b>
<b>Análise 03</b>	<b>40,70</b>	<b>1,59</b>
<b>Análise 04</b>	<b>41,14</b>	<b>1,61</b>
<b>Análise 05</b>	<b>41,32</b>	<b>1,62</b>
<b>Análise 06</b>	<b>41,40</b>	<b>1,62</b>
<b>Análise 07</b>	<b>41,51</b>	<b>1,63</b>
<b>Análise 08</b>	<b>41,66</b>	<b>1,63</b>
<b>Análise 09</b>	<b>41,61</b>	<b>1,63</b>
<b>Análise 10</b>	<b>41,56</b>	<b>1,63</b>

As tabelas nos mostram que a polpa e a semente possuem quantidades equivalentes de lipídeos (cerca de 40%) e a amostra casca2, relativa ao endocarpo, possui teor mínimo de óleos (cerca de 8,7%).

Os resultados das Tabelas 4.12, 4.13 e 4.14 são bem próximos dos obtidos por BORA *et al.* (2001), mostrados na Tabela 4.15, que analisaram o teor de lipídeos da farinha obtida da polpa (com cerca de 58%) do tucumã. De acordo com o mesmo trabalho a polpa de tucumã apresenta 25 ácidos graxos, com a distribuição de 25,59% de ácidos graxos saturados, 47,36% de monoinsaturados e 27,05% de poli-insaturados. Os ácidos graxos palmítico (C<sub>16:0</sub>) e esteárico (C<sub>18:0</sub>) são os principais ácidos graxos saturados, na concentração de 13,86% e 9,8%, respectivamente. O

principal ácido graxo monoinsaturado é o oléico (C<sub>18:1</sub>), na concentração de 46,81%. Quanto aos ácidos graxos poli-insaturados, o ácido graxo linoléico (C<sub>18:2</sub>) é o principal representando 26,12% e o ácido graxo linolênico (C<sub>18:3</sub>) presente na concentração de 0,93%. Assim a distribuição dos lipídios da polpa do tucumã é semelhante a composição dos óleos de origem vegetal (Tabela 4.15).

Tabela 4.15 Composição centesimal do tucumã.

<b>COMPONENTES</b>	<b>POLPA (%)</b>
Umidade	10,62 ±2,54
Lipídios	58,65±1,56
Proteínas	8,44±0,18
Fibras	12,02±0,16
Carboidratos (Sem fibra)	7,15±1,37
Cinzas	3,12±0,09

Fonte: Adaptado de BORA *et al.* (2001), Caracterización de Las Fracciones Protéicas y Lipídicas de Pulpa y Semillas de Tucumã (*Astrocaryum vulgare* Mart).

Além de fonte de energia a quantidade de lipídeos no tucumã é muito importante para favorecer a biodisponibilidade dos carotenoides no organismo. FENNEMA (2000) afirma que o β-caroteno dissolvido em óleo é absorvido mais facilmente que o β-caroteno em alimentos com baixo teor de óleos. A absorção de β-caroteno no organismo conta primeiramente com a separação deste da matriz alimentar. O β-caroteno é lipossolúvel, e será dissolvido pelos lipídios da matriz, separando-o para ser mais facilmente absorvido no trato intestinal.

As análises mostram que o tucumã possui potencial lipídico apreciável para incrementar a biodisponibilidade de β-caroteno no organismo.

#### 4.1.4 ANÁLISES DOS EFEITOS DA RADIAÇÃO GAMA NO TEOR DE ÓLEOS

A Tabela 4.16 mostra os teores (%) de óleos da amostra da casca 1 (pericarpo e mesocarpo) irradiadas nas doses de 0,5 kGy, 1 kGy e 2 kGy e não irradiada (controle). As análises foram feitas com 10 repetições:

Tabela 4.16 Teor de óleos (%) da amostra casca 1 (pericarpo e mesocarpo) do tucumã irradiado com 0,5 kGy, 1 kGy, 2 kGy e não irradiado (controle) com 10 repetições.

<b>Teor (%) de óleos da amostra casca 1</b>				
Réplicas	Controle	0,5 kGy	1,0 kGy	2,0 kGy
1	42,33	47,95	48,84	35,88
2	42,31	48,05	49,11	35,89
3	44,61	48,32	49,07	36,65
4	44,64	48,22	49,32	36,96
5	44,26	48,20	49,80	37,41
6	45,01	48,32	50,13	38,16
7	44,93	48,72	50,56	37,72
8	44,36	48,80	50,40	37,52
9	44,17	48,61	50,38	37,75
10	44,58	48,72	50,75	38,02

O pericarpo e mesocarpo do tucumã apresentam quantidade apreciável de óleos. Os resultados obtidos neste experimento corroboram com os obtidos por BORA *et al.* (2001), que determinaram o teor de lipídios do fruto em torno de 50%. Segundo os testes ANOVA e Tukey com nível de confiança de 5% o teor de óleos variou em todas as doses, principalmente para 0,5 kGy e 2 kGy. Houve um incremento do teor de óleos para 0,5 kGy (melhor visto na Figura 4.12). Tal fato pode ter ocorrido pela liberação dos lipídios de outras moléculas mais sensíveis a radiação ionizante. Em 2 kGy os níveis caíram para cerca de 36% mostrando que as moléculas de lipídios sofreram oxidação. Isso ocorre pela interação dos lipídeos com o oxigênio e pela ação de iniciadores que podem ser a luz, calor e a radiação (ABREU, 2006).

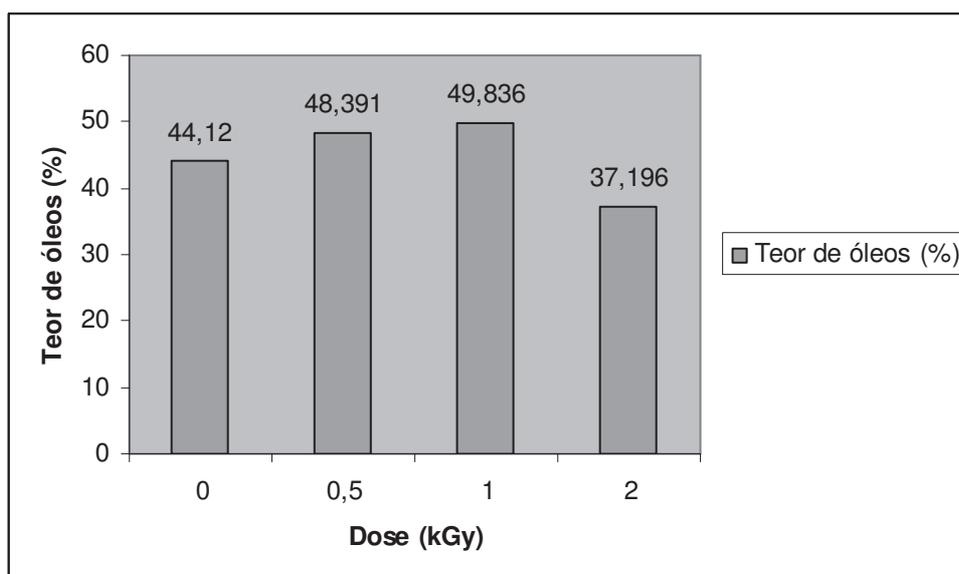


Figura 4.12 Gráfico dose (kGy) x Teor de óleos (%) da amostra casca 1 irradiada (0,5 kGy, 1 kGy e 2 kGy) e controle (0,0 kGy).

A Tabela 4.17 mostra os teores (%) de óleos da amostra casca 2 (endocarpo), para amostras irradiadas nas doses de 0,5 kGy, 1 kGy e 2 kGy e (controle).

Tabela 4.17 Teor de óleos (%) da amostra casca 2 (endocarpo) do tucumã irradiado com 0,5 kGy, 1 kGy, 2 kGy e não irradiado (controle) com 10 repetições.

**Teor (%) de óleos da amostra casca 2**

Réplicas	Controle	0,5 kGy	1,0 kGy	2,0 kGy
1	8,74	6,62	7,51	8,56
2	8,75	6,68	7,44	8,52
3	8,72	6,34	7,56	8,49
4	8,71	6,73	7,44	8,47
5	8,71	6,65	7,56	8,48
6	8,71	6,58	7,59	8,50
7	8,71	6,54	7,76	8,48
8	8,70	6,69	7,72	8,47
9	8,69	6,49	7,73	8,47
10	8,66	7,14	7,89	8,49

O endocarpo do tucumã é a parte do fruto com menor teor de óleos. É rígida e com baixo teor de água. Os testes ANOVA e Tukey com nível de confiança de 5% determinaram que houve variação na concentração de lipídios para todas as doses em relação ao controle. A Figura 4.13 mostra uma diminuição do teor acentuada nas doses de 0,5 kGy e 1 kGy.

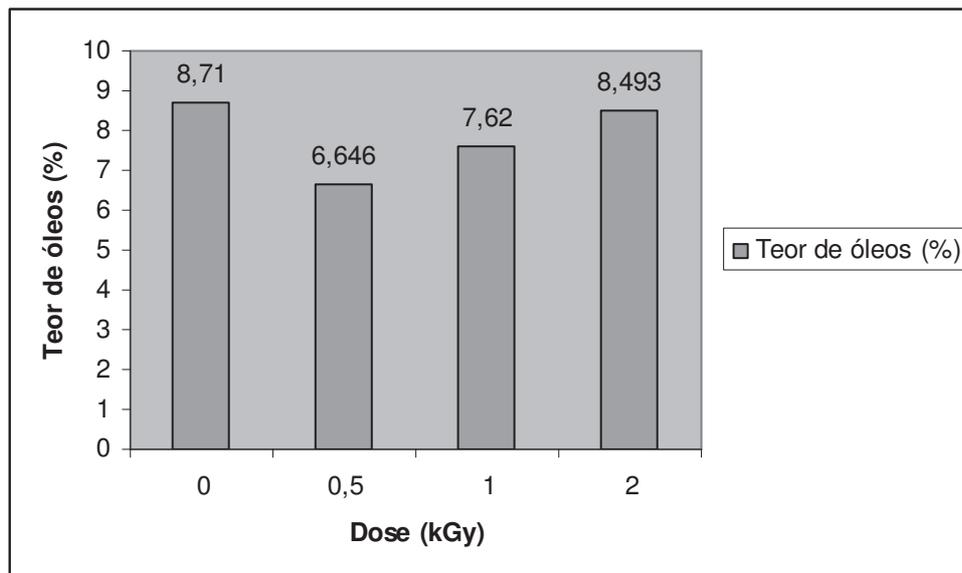


Figura 4.13 Gráfico dose (kGy) x Teor de óleos (%) da amostra casca 2 irradiada (0,5 kGy, 1 kGy e 2 kGy) e controle (0,0 kGy).

A Tabela 4.18 mostra os teores (%) de óleos da semente irradiada nas doses de 0,5 kGy, 1 kGy e 2 kGy e não irradiada (controle), obtidos com 10 repetições:

Tabela 4.18 Teor de óleos (%) da semente do tucumã irradiado com 0,5 kGy, 1 kGy, 2 kGy e não irradiado (controle) com 10 repetições.

<b>Teor (%) de óleos da semente</b>				
Réplicas	Controle	0,5 kGy	1,0 kGy	2,0 kGy
1	40,21	44,22	39,30	40,31
2	40,39	44,63	39,97	40,72
3	40,70	45,14	40,55	40,90
4	41,14	45,17	40,61	41,31
5	41,32	45,36	40,87	41,48
6	41,40	45,26	41,05	41,70
7	41,51	45,47	41,09	41,76
8	41,66	45,45	41,37	41,88
9	41,61	45,83	41,32	41,82
10	41,56	45,75	41,65	41,94

A Figura 4.14 mostra a variação das médias do teor de óleos na semente do fruto irradiado e controle. Segundo a análise de variância ANOVA e o teste Tukey com nível de confiança de 5% somente a dose de 0,5 kGy apresentou variação na concentração de lipídios em relação ao controle. A Figura 4.14 mostra o acréscimo no teor que, semelhante ao que ocorreu na amostra casca 1, é conseqüência da liberação dos lipídios de moléculas de baixa massa molar, voláteis, causados pela radiação.

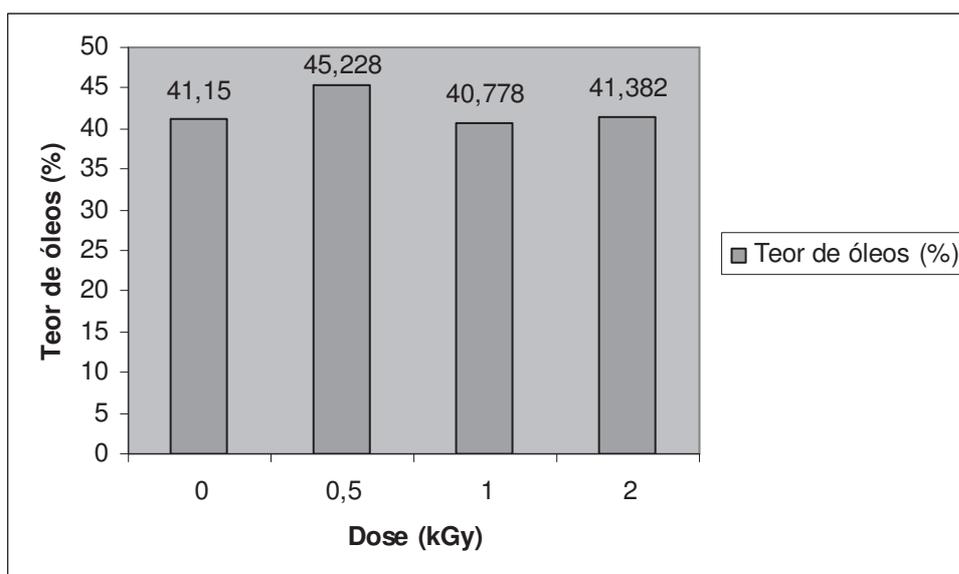


Figura 4.14 Gráfico dose (kGy) x Teor de óleos (%) da semente irradiada (0,5 kGy, 1 kGy e 2 kGy) e controle (0,0 kGy).

Além de fonte de energia a quantidade de lipídeos no tucumã é muito importante para favorecer a biodisponibilidade dos carotenoides no organismo. Análises feitas por ARAUJO (2009) mostraram que 100 gramas da polpa de tucumã possuem 40 mg de carotenoides totais, sendo o  $\beta$ -caroteno o majoritário. FENNEMA (2000) afirma que o  $\beta$ -caroteno dissolvido em óleo é absorvido mais facilmente que o  $\beta$ -caroteno em alimentos com baixo teor de óleos. A absorção de  $\beta$ -caroteno no organismo conta primeiramente com a separação deste da matriz alimentar. O  $\beta$ -caroteno é lipossolúvel, e será dissolvido pelos lipídios da matriz, separando-o para ser mais facilmente absorvido no trato intestinal.

As análises por RMN baixo campo mostraram que o tucumã, mesmo submetido ao tratamento com radiação ionizante, possui potencial lipídico apreciável para incrementar a biodisponibilidade deste carotenoide no organismo. As próximas análises visam determinar o potencial de carotenoides e ácidos graxos essenciais do óleo de tucumã e ainda investigar os efeitos da radiação ionizante nas concentrações de cada componente.

## 4.2 ANÁLISES POR ESPECTROFOTOMETRIA – CAROTENOIDES TOTAIS

Os carotenoides totais foram obtidos por espectrofotometria UV/Vis a 450 nm. A Figura 4.15 demonstra os resultados obtidos para o teor de carotenoides totais ( $\mu\text{g/mL}$ ) no óleo de tucumã controle e irradiado para as doses de 0,5 kGy, 1 kGy, 2 kGy e 4 kGy. Os valores encontrados variaram de 703 a 1758  $\mu\text{g/mL}$  entre a amostra controle e irradiada. Devido as grandes variações no teor de carotenoides de cada amostra podemos concluir que o óleo do fruto irradiado tem valores muito similares ao não irradiado, mesmo na dose mais alta (4 kGy), o tratamento com radiação ionizante não é um fator limitante da qualidade do óleo do tucumã. Para o cálculo do equivalente de retinol o teor de carotenoides foi convertido em  $\mu\text{g}/100\text{g}$  utilizando-se a densidade do óleo de tucumã igual a 0,91 a 20 °C (FERREIRA *et al.*, 2008).

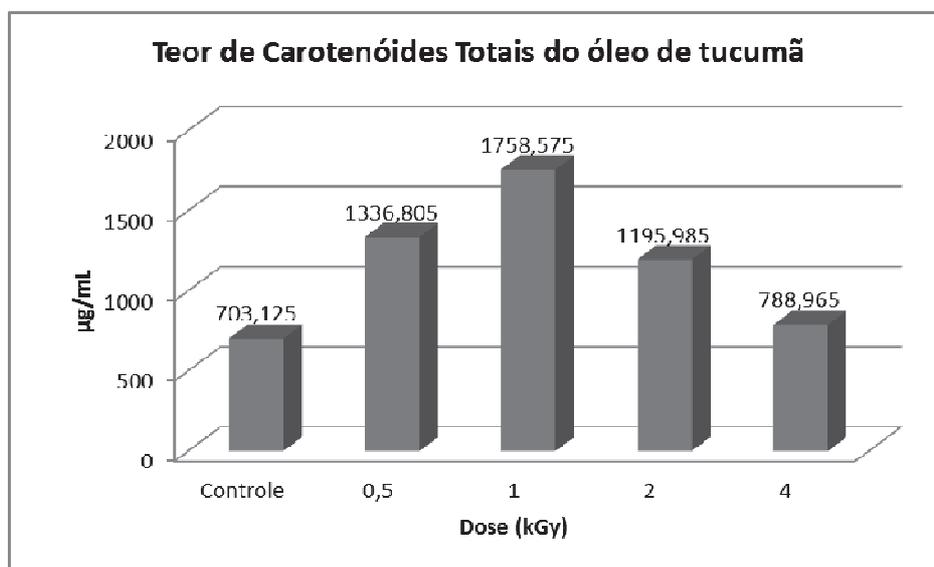


Figura 4.15 Teores médios de carotenoides totais no óleo de tucumã controle e irradiado.

A quantidade de carotenoides na polpa do tucumã (ARAUJO, 2009) equivale à encontrada na polpa do buriti (*Mauritia flexuosa L.*) por SILVA (2008), como pode ser visto na Tabela 4.19, que representa os níveis de carotenoides totais encontrados nos frutos irradiados. Observa-se na mesma tabela que houve variação no teor de

carotenoides apenas no buriti para a dose mais alta (2 kGy). Isso ocorre provavelmente pelo o teor de lipídios superior do tucumã (40%), que divide a energia dos fótons com os carotenoides dissolvidos. Segundo MANHÃES (2007), o buriti apresenta teor de  $13,85 \pm 0,69$  % de lipídios. O tucumã e o buriti possuem cerca de 4 vezes mais carotenoides que a cenoura, uma importante fonte de carotenoides em muitas regiões do mundo.

Tabela 4.19 Concentrações de carotenoides totais em 100g de polpa do tucumã em comparação com o do buriti (SILVA, 2008 e ARAUJO, 2009)

<b>Controle e doses (kGy)</b>	<b>Carotenoides totais no mesocarpo do tucumã <math>\mu\text{g}/100\text{g}</math> *</b>	<b>Carotenoides totais no mesocarpo do buriti <math>\mu\text{g}/100\text{g}</math> **</b>
Controle	40261 <sup>a</sup>	37646 <sup>a</sup>
0,5 kGy	39054 <sup>a</sup>	32517 <sup>a</sup>
1,0 kGy	36728 <sup>a</sup>	33762 <sup>a</sup>
2,0 kGy	37239 <sup>a</sup>	26564 <sup>b</sup>

a – não há diferença significativa para 95% NC.

b – há diferença significativa para 95% NC.

\* ARAUJO (2009), \*\* SILVA (2008)

A Tabela 4.20 mostra o alto teor de carotenoides totais encontrado no óleo de tucumã, com a devida transformação em  $\mu\text{g}/100\text{g}$ , que é bem superior ao encontrado por ARAUJO (2009) na polpa do tucumã. A grande diferença ocorreu porque o óleo foi extraído da amostra composta de epicarpo e mesocarpo, além de outros fatores, como os carotenoides serem lipossolúveis e o ambiente com baixa luminosidade para extração por Soxhlet. Esse resultado é de grande importância nutricional, pois até o momento, é o óleo vegetal com o mais elevado teor de carotenoides. Assim sendo, a menor concentração de carotenoides totais da Tabela 4.20, 77300  $\mu\text{g}/100\text{g}$  representa 29365  $\mu\text{g}$  de retinol em cada 100 gramas de óleo. O indicado para um homem acima de 14 anos é 900  $\mu\text{g}/\text{dia}$  pelo Dietary Reference Intake (IOM, 2001). Dessa forma, apenas 3,06 gramas de óleo atende ao recomendado.

Tabela 4.20 Concentrações de carotenoides totais em 100g de óleo de tucumã e a correspondência aproximada em retinol (valores somados do RAE de  $\alpha$  e  $\beta$ -caroteno das Tabelas 4.21 e 4.22) de acordo com as recomendações do IOM.

<b>Controle e doses (kGy)</b>	<b>Carotenoides totais em <math>\mu\text{g}/100\text{g}</math></b>	<b>Retinol em <math>\mu\text{g}/100\text{g}</math> (RAE)</b>
Controle	77300	29447
0,5 kGy	146900	59730
1,0 kGy	193200	77545
2,0 kGy	131400	54225
4,0 Kgy	86700	31455

#### **4.3 ANÁLISES POR CLAE – CAROTENOIDES MAJORITÁRIOS**

Observa-se nos cromatogramas das Figuras 4.16 e 4.17 que o beta caroteno é o carotenoide majoritário no mesocarpo (ARAUJO, 2009) e no óleo extraído da porção epicarpo-mesocarpo do tucumã, seguido do alfa caroteno. O beta caroteno do óleo do tucumã apresenta teores consideráveis dos isômeros 9-cis e 13-cis, como podem ser vistos na Tabela 4.21.

As Tabelas 4.21 e 4.22 mostram os teores de cada um dos carotenoides majoritários e os valores para cada dose, além da conversão em retinol (Vitamina A) de acordo com as recomendações do IOM (2001).

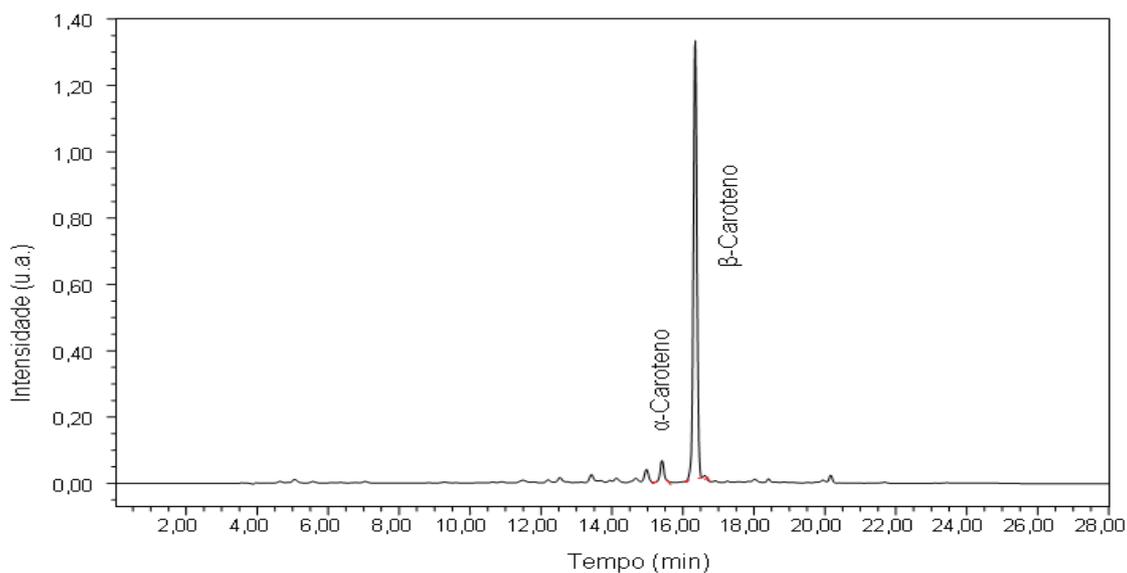


Figura 4.16 Cromatograma dos carotenoides majoritários no mesocarpo do tucumã.

Fonte: ARAUJO, 2009.

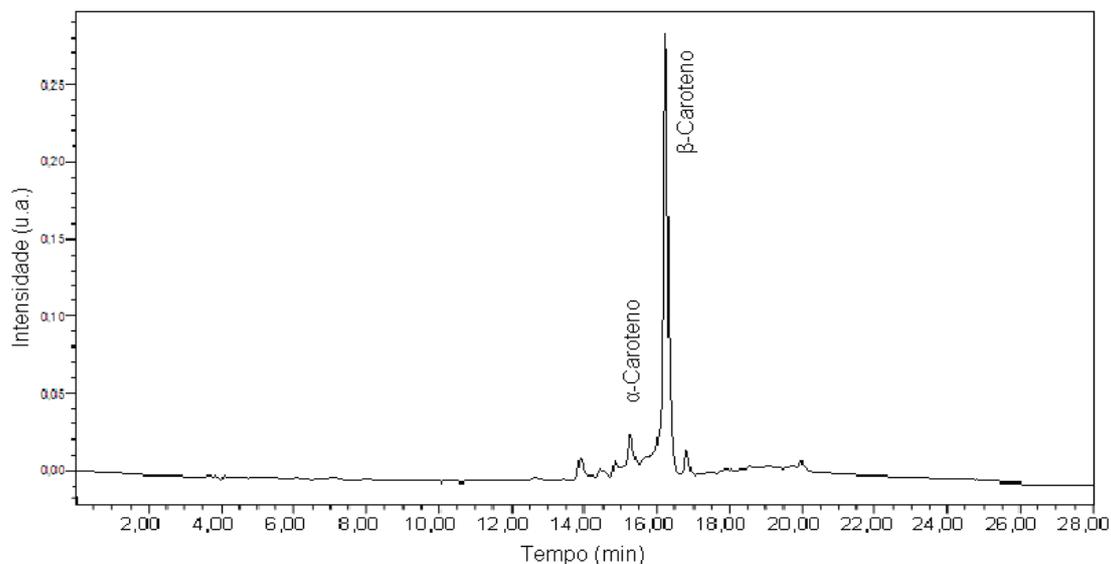


Figura 4.17 Cromatograma dos carotenoides no óleo da porção epicarpo-mesocarpo do tucumã.

Os resultados apresentaram a mesma variação dos carotenoides totais, onde o teor de carotenoides na amostra controle é similar ao de maior dose, reiterando que o tratamento gama é eficiente na conservação do fruto e causa efeitos mínimos na qualidade nutritiva do mesmo.

Tabela 4.21 Concentrações de  $\beta$ -caroteno e seus isômeros (13-cis e 9-cis) em 100g de óleo de tucumã e a correspondência em retinol (1 RAE = 2  $\mu\text{g}$  de  $\beta$ -caroteno).

<b>Controle e doses (kGy)</b>	<b><math>\beta</math>-Caroteno em <math>\mu\text{g}/100\text{g}</math></b>	<b>13-cis <math>\beta</math>-Caroteno em <math>\mu\text{g}/100\text{g}</math></b>	<b>9-cis <math>\beta</math>-Caroteno em <math>\mu\text{g}/100\text{g}</math></b>	<b>Retinol em <math>\mu\text{g}/100\text{g}</math> (RAE)</b>
Controle	47310	7250	4170	29365
0,5 kGy	106040	8960	3960	59480
1,0 kGy	135110	12640	6590	77170
2,0 kGy	102030	2030	4390	54225
4,0 kGy	54120	4670	4120	31455

Tabela 4.22 Concentrações de  $\alpha$ -caroteno em 100g de óleo de tucumã e a correspondência em retinol (1 RAE = 24  $\mu\text{g}$  de  $\alpha$ -caroteno).

<b>Controle e doses (kGy)</b>	<b><math>\alpha</math>-Caroteno em <math>\mu\text{g}/100\text{g}</math></b>	<b>Retinol em <math>\mu\text{g}/100\text{g}</math> (RAE)</b>
Controle	2690	112
0,5 kGy	5990	250
1,0 kGy	9010	375
2,0 kGy	5930	247
4,0 Kgy	2530	105

#### 4.4 ANÁLISES POR RESSONÂNCIA MAGNÉTICA NUCLEAR DE ALTO CAMPO

Um dos fatores mais importantes na conservação dos óleos é a oxidação dos lipídios. Os óleos que predominantemente contenham ácidos graxos insaturados sofrerão importantes modificações no sabor e odor, que podem causar danos na qualidade, uma vez oxidados. Elevadas doses ionizam as moléculas de água formando radicais livres tais como  $\text{OH}^\cdot$  e  $\text{O}_2^\cdot$ . Esses radicais tem a vantagem de serem microbicidas, contudo, podem estar relacionados a oxidação de lipídios (DONNELLY e ROBINSON, 1995). Os principais produtos finais da oxidação lipídica compreendem os

derivados da decomposição de hidroperóxidos, como álcoois, aldeídos, cetonas, ésteres e outros hidrocarbonetos (SILVA, 2008).

Para a verificação dos efeitos da radiação no perfil lipídico do óleo de tucumã foram obtidos espectros de  $^{13}\text{C}$  e  $^1\text{H}$  pela técnica de RMN de Alto Campo em Solução. Preliminarmente foi feito uma análise dos constituintes do óleo e em seguida, a análise dos efeitos da radiação nesses constituintes.

#### 4.4.1 AVALIAÇÃO DOS CONSTITUINTES POR RMN EM SOLUÇÃO

O óleo extraído da polpa do tucumã por Soxhlet foi colocado em tubo de RMN de 5 mm para obtenção do espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (Figura 4.18). A análise do núcleo de  $^{13}\text{C}$ , pela técnica de pulso simples foi realizada a temperatura ambiente, usando  $\text{CDCl}_3$  como solvente e como referência interna.

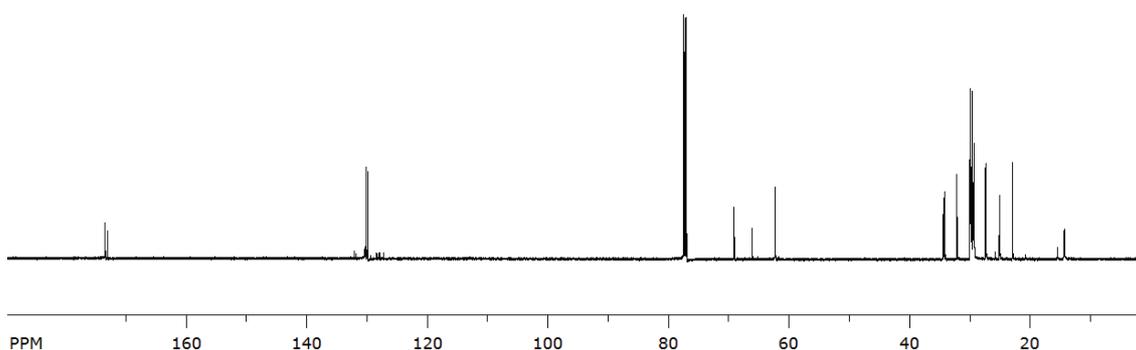


Figura 4.18 Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  do óleo de tucumã pela técnica de pulso simples.

O perfil do espectro de  $^{13}\text{C}$  do óleo de tucumã apresenta complexidade típica de um produto natural. Os sinais detectados mostram que o  $\text{CDCl}_3$  extraiu basicamente ésteres de cadeia longa e também compostos insaturados. Podemos observar quatro grupos de deslocamento químico ( $\delta = \text{ppm}$ ) em intervalos bem definidos. O primeiro de 15 a 36 ppm, relativo aos carbonos alifáticos, o segundo de 63 a 69 ppm, relativo a CH e  $\text{CH}_2$  próximos a carbonila, o terceiro em 130 ppm, relativo

aos carbonos com dupla ligação e aromáticos, e , por último, a região de 172 ppm, pertencente a região da carbonila.

A interpretação detalhada do espectro é complexa e para complementar as informações para o assinalamento foi obtido espectro de  $^{13}\text{C}$  (Figura 4.19) empregando a técnica de APT (Attached Proton Test), que é uma técnica de simplificação espectral que apresenta os carbonos tipo  $\text{CH}_2$  e quaternário (não hidrogenados) em fase positiva e os sinais referentes ao  $\text{CH}_3$  e  $\text{CH}$  em fase negativa (anti-fase).

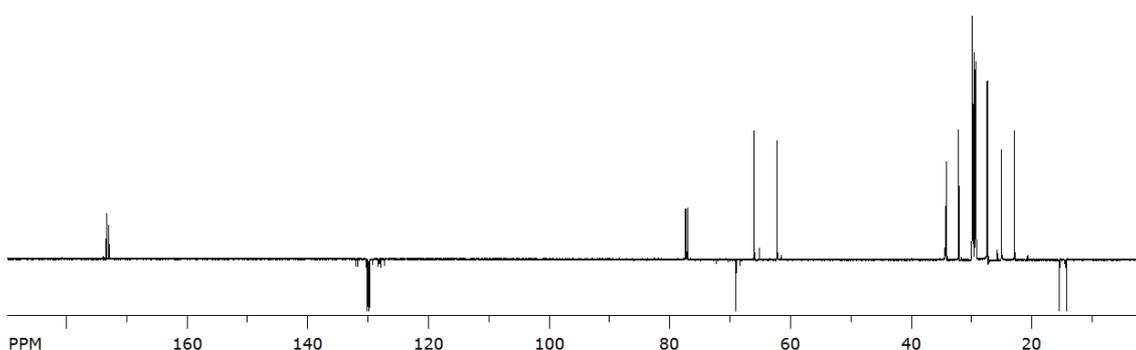


Figura 4.19 Espectro de APT de RMN de  $^{13}\text{C}$  do óleo de tucumã.

A Tabela 4.23 mostra os assinalamentos do óleo de tucumã complementados pelo espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  pela técnica de APT.

Tabela 4.23 Assinalamentos do Carbono-13 do óleo de tucumã.

$\delta(\text{ppm})$	Tipo de Carbono
173,44 – 173,00	<b>C=O</b>
132,05 - 127,25	<b>CH=CH</b>
72,28 - 68,24	<b>CH-O-CO-R</b>
66,06 - 62,10	<b>CH<sub>2</sub>-O-CO-R</b>
34,40 – 22,70	<b>CH<sub>2</sub></b>
15,39 – 14,26	<b>CH<sub>3</sub></b>

Outra técnica que complementa informações para determinação dos constituintes do óleo de tucumã é a obtenção dos espectros do núcleo de hidrogênio que podem fornecer informações adicionais para compreensão da estrutura molecular. O espectro de RMN de  $^1\text{H}$  do óleo de tucumã (Figura 4.20) mostra os sinais derivados dos ácidos graxos mais abundantes nos triglicerídeos e assinalamentos. Os sinais no intervalo de 4,33 a 4,04 ppm são referentes aos núcleos de hidrogênio ligados aos carbonos com dupla ligação e os núcleos de hidrogênio laterais do glicerol, este dado confirma os assinalamentos do espectro de RMN do  $^{13}\text{C}$  e descarta, assim a presença de compostos aromáticos, que é evidenciado pela ausência de sinais na região em torno de 7 ppm, corroborando assim o assinalamento da Tabela 4.24, que mostra os assinalamentos do óleo de tucumã pelo espectro de RMN  $^1\text{H}$ . O sinal em 7,24 ppm é relativo a impureza de  $\text{CHCl}_3$  no solvente (SILVERSTEIN *et al.*, 2007). Os assinalamentos foram feitos baseados em trabalhos com assinalamentos de diversos tipos de óleos vegetais e outros produtos ricos em triglicerídeos (COLZATO *et al.*, 2008, MIGUEZ e TAVARES, 2011, SALINERO *et al.*, 2012, SILVA, 2007 e SILVA *et al.*, 2005).

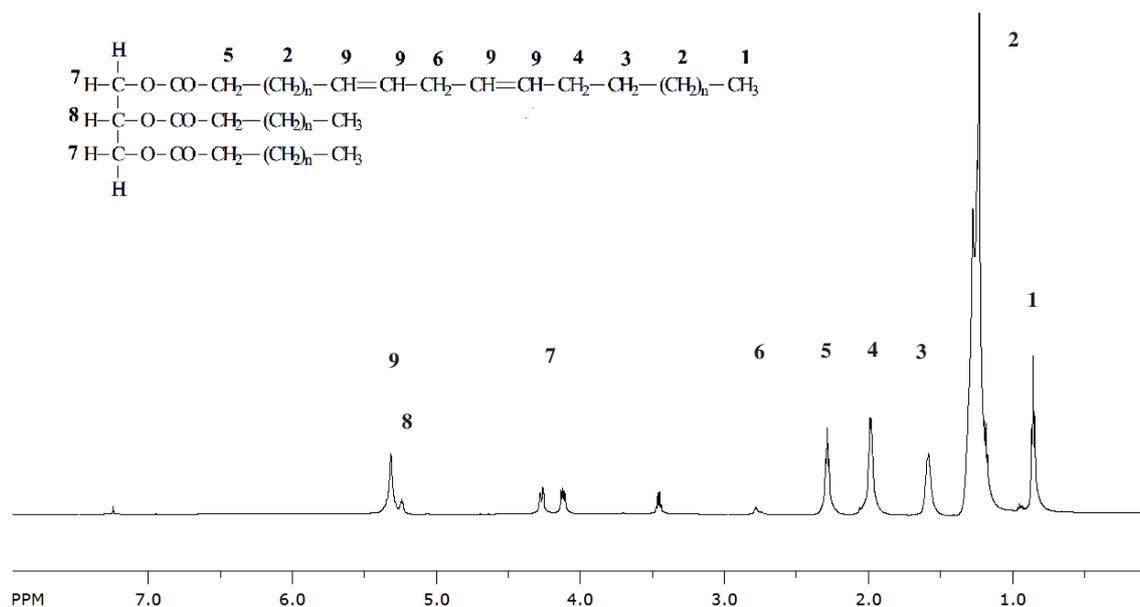


Figura 4.20 Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  do óleo de tucumã.

Tabela 4.24 Assinalamentos do espectro de RMN de  $^1\text{H}$  do óleo de tucumã.

$\delta$ (ppm)	Tipo de Hidrogênio
5,31	$\text{CH}=\text{CH}$
5,24	$\text{CH}_2\text{R}-\text{CHR}-\text{CH}_2\text{R}$ (Triglicerídeo)
4,33 – 4,04	$\text{CH}_2-\text{CH}_2\text{O}-\text{CO}-\text{R}$ e $\text{CH}_2\text{R}-\text{CHR}-\text{CH}_2\text{R}$
3,73 – 3,40	$\text{CH}_3-\text{O}-\text{CO}-\text{CH}_2$ (éster metílico)
2,78	$\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}_2-\text{CH}=\text{CH}$
2,28	$\text{CH}_2-\text{CO}-\text{R}$
2,07 – 1,89	$\text{CH}_2-\text{CH}=\text{CH}$
1,58	$\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CO}-\text{R}$
1,36 – 1,11	$(\text{CH}_2)_n$
0,97 – 0,75	$\text{CH}_3$

A análise dos dados espectrais mostraram que os principais componentes do óleo de tucumã são ácidos graxos saturados e insaturados e triacilglicerídeos (ésteres).

#### **AVALIAÇÃO QUALITATIVA DOS PRINCIPAIS ÁCIDOS GRAXOS POR COMPARAÇÃO DE ESPECTROS DE RMN DE $^1\text{H}$**

As análises com RMN de baixo campo revelaram que o fruto apresenta teor médio de 40 % de óleos e que o tratamento com radiação gama é capaz de alterar esse teor para a dose de 2,0 kGy no epicarpo-mesocarpo. No entanto, se faz necessário conhecer qualitativa e quantitativamente a composição de ácidos graxos majoritários que compõem o triglicerídeo do óleo.

Para comprovação qualitativa da presença de determinados ácidos graxos no endocarpo e epicarpo do tucumã, padrões dos ácidos palmítico, esteárico, oleico, linoleico e linolênico foram adquiridos (Sigma) para obtenção dos espectros de  $^1\text{H}$  e

<sup>13</sup>C. Os espectros obtidos foram usados para comparação visual com os espectros do óleo de tucumã e assinalamentos dos picos referentes ao ácidos graxos. Esta metodologia é bastante prática e permite a constatação da presença ou não de determinados compostos pela simples comparação da presença de picos característicos.

Podemos observar na Figura 4.21, o espectro de RMN de <sup>1</sup>H do óleo de tucumã apresenta picos referentes aos cinco ácidos graxos (palmítico, esteárico, oleico, linoleico e linolênico). O pequeno pico em 2,78 ppm (Núcleo de hidrogênio em carbono metilênico entre duas duplas ligações, ver Tabela 4.24) é característico dos ácidos carboxílicos poli-insaturados. A presença desse pico com pequena intensidade mostra que o óleo de tucumã possui baixo teor de ácidos graxos poli-insaturados, porém o pico em 2,1 ppm, com intensidade maior, mostra que a amostra é rica em ácido oleico. Esse resultado corrobora com os de FERREIRA *et al.* (2008) e VASCONCELOS *et al.* (2013) que estudaram a composição de ácidos graxos do tucumã e os resultados mostraram que o ácido majoritário é o oleico (monoinsaturado) com concentração média superior a 60 % e o palmítico (saturado) com média superior a 20 %.

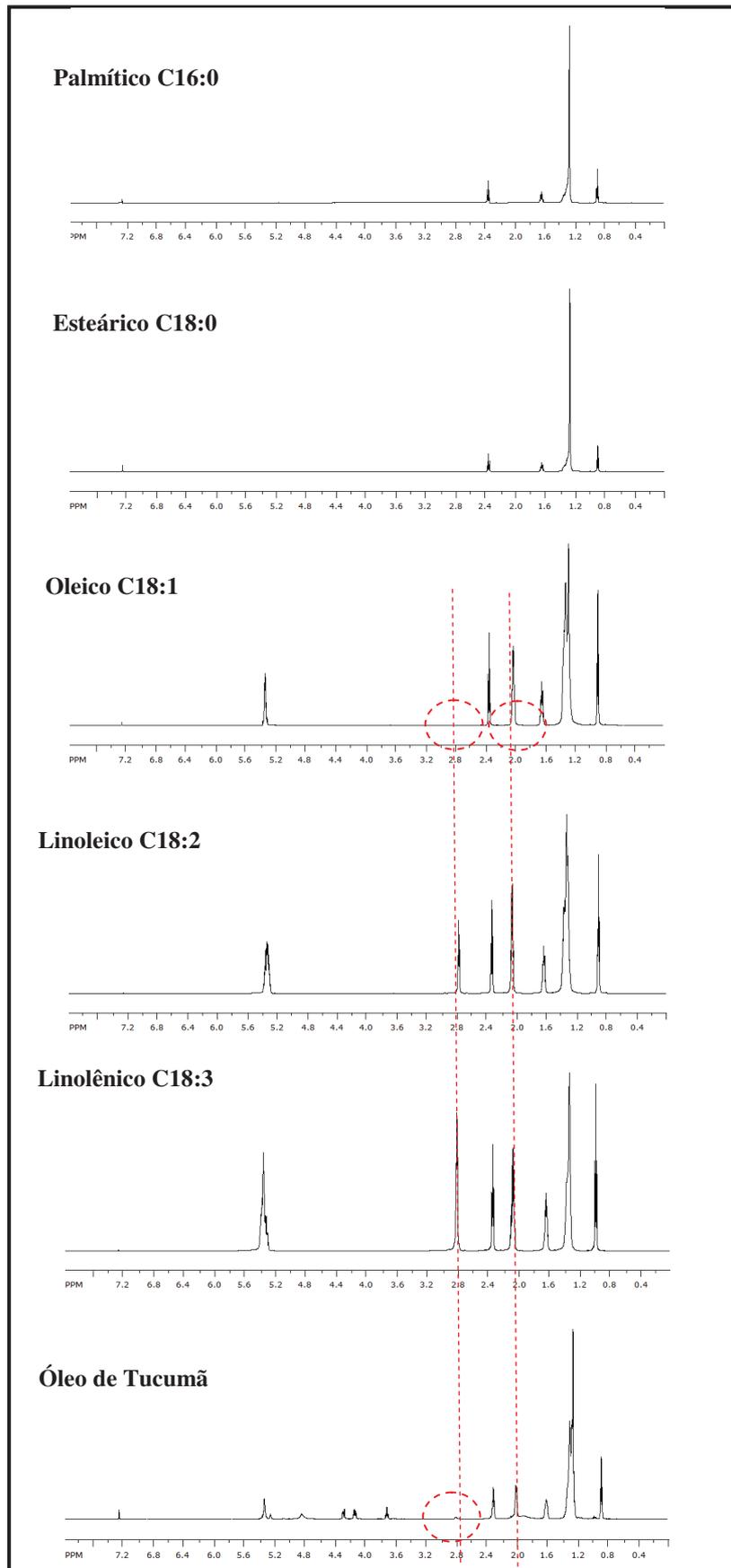


Figura 4.21 Espectros de RMN  $^1\text{H}$  dos principais ácidos graxos do óleo de tucumã.

## AVALIAÇÃO QUANTITATIVA DOS PRINCIPAIS ÁCIDOS GRAXOS PELO MÉTODO DE INTEGRAÇÃO DO HIDROGÊNIO TERCIÁRIO DOS ESPECTROS DE RMN DE $^1\text{H}$

Para avaliação quantitativa dos ácidos graxos componentes do triglicerídeo foi empregada metodologia desenvolvida por SALINERO, *et al.* (2012), que usa o hidrogênio terciário da glicerina ( $\text{H}_g$ ) para quantificar a razão dos ácidos graxos saturados/insaturados, uma vez que há apenas um hidrogênio para uma molécula de triglicerídeo. A Figura 4.22 mostra os principais triglicerídeos presentes nos óleos e os hidrogênios mais singulares em relação aos deslocamentos químicos da RMN. Os hidrogênios vinílicos ( $\text{H}_v$ ) possuem um deslocamento químico característico e pode ser usado para determinar a taxa de ácidos graxos saturados/insaturados. Os hidrogênios bis-álílicos podem ser usados para diferenciar os tipos de ácidos graxos, considerando que o linoleico apresenta duas ( $\text{H}_d$ ) e o linolênico três ( $\text{H}_t$ ).

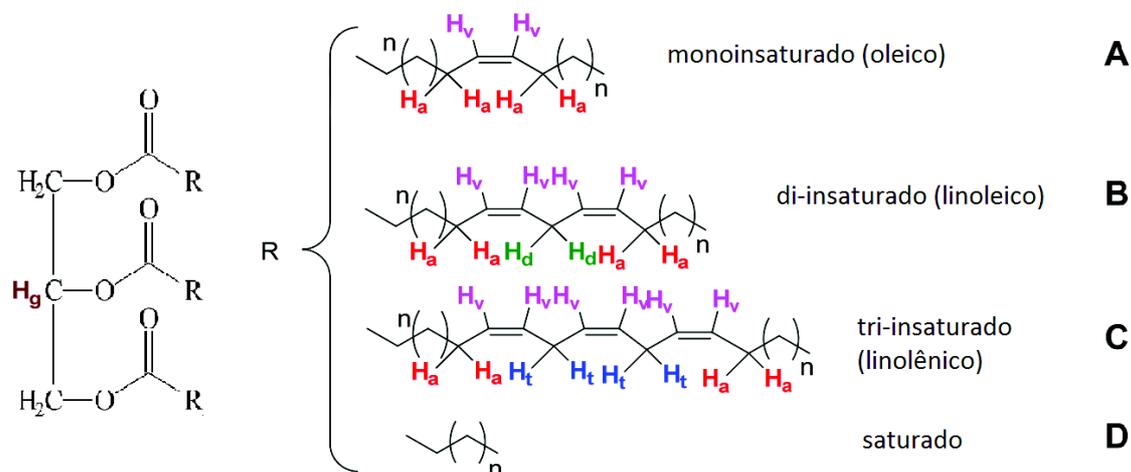


Figura 4.22 Estrutura química dos principais triglicerídeos nos óleos.

Considerando A, B, C e D a proporção de cada tipo de ácido graxo na estrutura do triglicerídeo as equações abaixo foram definidas:

- Integral dos hidrogênios vinílicos ( $\text{H}_v$ ) =  $2A + 4B + 6C$
- Integral dos hidrogênios bis-álílicos linoleico ( $\text{H}_d$ ) =  $2B$

- Integral dos hidrogênios bis-alílicos linolênico ( $H_t$ ) = 4C
- $A + B + C + D = 3$

A Figura 4.23 mostra o espectro de tucumã com o deslocamento do hidrogênio terciário do triglicerídeo integrado e normalizado para 100. O sinal dos hidrogênios vinílicos foi integrado como 4,93 (5,42 – 5,30 ppm), os bis-alílicos como 0,141 (linoleico) e 0,456 (linolênico).

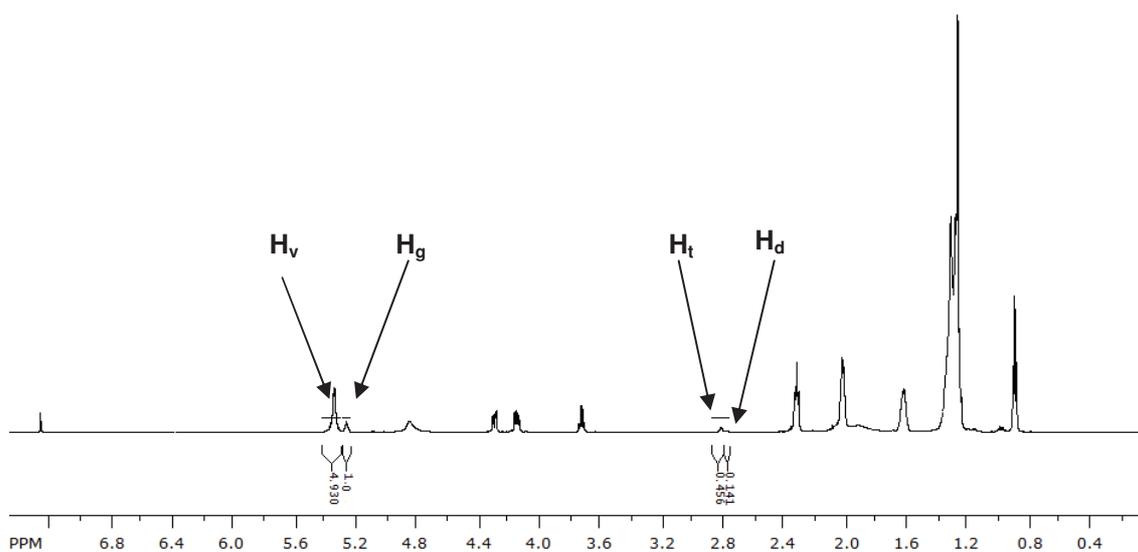


Figura 4.23 Hidrogênios singulares na estrutura do triglicerídeo dos óleos.

As integrais medidas podem ser resumidas como  $H_v = 4,904$ ,  $H_d = 0,142$ ,  $H_t = 0,458$  e  $H_g = 1,00$ . Assim os valores para cada tipo de ácido graxo estão descritos na Tabela 4.25.

Tabela 4.25 Teor dos ácidos graxos majoritários no triglicerídeo do óleo de tucumã determinado por RMN de <sup>1</sup>H.

Ácidos Graxos	% por RMN de <sup>1</sup> H	% FERREIRA <i>et al.</i> ( 2008)
Saturados	<b>28,26</b>	29,28
Oleico	<b>65,55</b>	67,6
Linoleico	<b>2,36</b>	1,15 ± 0,01
Linolênico	<b>3,81</b>	Não determinado

Os resultados são bem próximos dos encontrado por FERREIRA *et al.* (2008), que estudou o perfil do tucumã por cromatografia gasosa. Esta metodologia se mostrou adequada para o estudo dos principais ácidos graxos do triglicerídeo do óleo de tucumã e foi empregada para analisar os efeitos da radiação em cada um dos ácidos graxos identificados. Os dados obtidos por RMN de <sup>1</sup>H permitiram também comparar o teor dos principais ácidos graxos do óleo do tucumã com os óleos de outras espécies (Tabela 4.26).

Tabela 4.26 Teor dos ácidos graxos majoritários no triglicerídeo do óleo de tucumã, no óleo de abacate e no óleo de palma.

Ácidos Graxos	Tucumã	Abacate ( <i>Persea americana</i> , Mill.)*	Óleo de palma**
Saturados	<b>28,26</b>	22,03	47,8
Oleico	<b>65,55</b>	50,30	42
Linoleico	<b>2,36</b>	13,49	10,2
Linolênico	<b>3,81</b>	1,76	Não determinado

Fonte : \* MASSAFERA *et al.*( 2010), \*\* GRIMALDI *et al.* (2005)

O óleo do endocarpo do tucumã tem grande valor nutricional, pois apresenta alto teor de ácidos graxos insaturados. Os teores de ácido oleico e linolênico do

tucumã são superiores ao encontrados no óleo do endocarpo do abacate (*Persea americana*, Mill.) e do óleo de palma. O teor de saturados totais é inferior ao encontrado no óleo de palma, colocando o endocarpo do tucumã como fonte alternativa de óleo mais adequada que a palma.

#### **4.4.2 AVALIAÇÃO DOS EFEITOS DA RADIAÇÃO GAMA NOS PERFIL LIPÍDICO POR RMN EM SOLUÇÃO**

##### **ANÁLISE VISUAL DOS ESPECTROS DE RMN DE <sup>13</sup>C**

Para a avaliação dos efeitos da radiação gama no perfil lipídico do óleo de tucumã os espectros dos núcleos de <sup>13</sup>C das amostras irradiadas e controle foram submetidos preliminarmente a uma análise visual. Esta análise permite detectar facilmente a variação na intensidade dos picos ou o surgimento de novos, caracterizando a ocorrência de oxidação dos lipídios.

A Figura 4.24 mostra os espectros de RMN de <sup>13</sup>C do óleo controle e irradiado nas doses de 0,5 kGy, 1 kGy e 4 kGy. A análise visual revela que não houve variação alguma na intensidade dos picos, mesmo para a dose de 4,0 kGy. Este resultado está de acordo com CAMARGO *et al.* (2011) que irradiou o amendoim (*Arachis hypogaea* L.) com doses de até 15 kGy e relatou que as diferenças significativas ocorreram para 10 kGy onde a porcentagem de ácidos graxos saturados diminuiu em relação ao controle e a porcentagem de ácidos graxos insaturados aumentou, principalmente o oleico, que é precursor de ácidos graxos de cadeia longa e é necessário para manter em condições normais as funções cerebrais e transmissão de impulsos nervosos (MARTIN *et al.*, 2006). No entanto, SILVA (2008) pesquisando os efeitos da radiação gama nos lipídios do leite irradiado por RMN de <sup>13</sup>C, observou que 1 kGy foi suficiente para oxidar os lipídios do leite, a evidência foi o aparecimento de picos na região de 209 ppm e 202 ppm, relativos a cetonas e aldeídos, respectivamente. O leite possui

alto teor de água e ácidos graxos insaturados, o que facilita a sua oxidação com baixas doses. Um dos efeitos da radiação detectados nas análises de Relaxometria foi a diminuição de água no epicarpo-mesocarpo, fato que corrobora ainda mais para a estabilidade dos lipídios observadas pelos espectros de RMN de  $^{13}\text{C}$ . Ainda assim, é possível que a oxidação lipídica do óleo de tucumã ocorra, porém em proporções muito baixas. Outro fator que corrobora para os baixos níveis de oxidação dos lipídios das amostras irradiadas é a grande quantidade natural de carotenoides, especialmente o beta e o alfa caroteno, que possuem a capacidade de consumir todo o  $^1\text{O}_2$  do sistema.

Para uma investigação mais minuciosa dos efeitos da radiação gama no perfil lipídico do óleo de tucumã uma metodologia de análise dos espectros de RMN de  $^1\text{H}$  foi empregada.

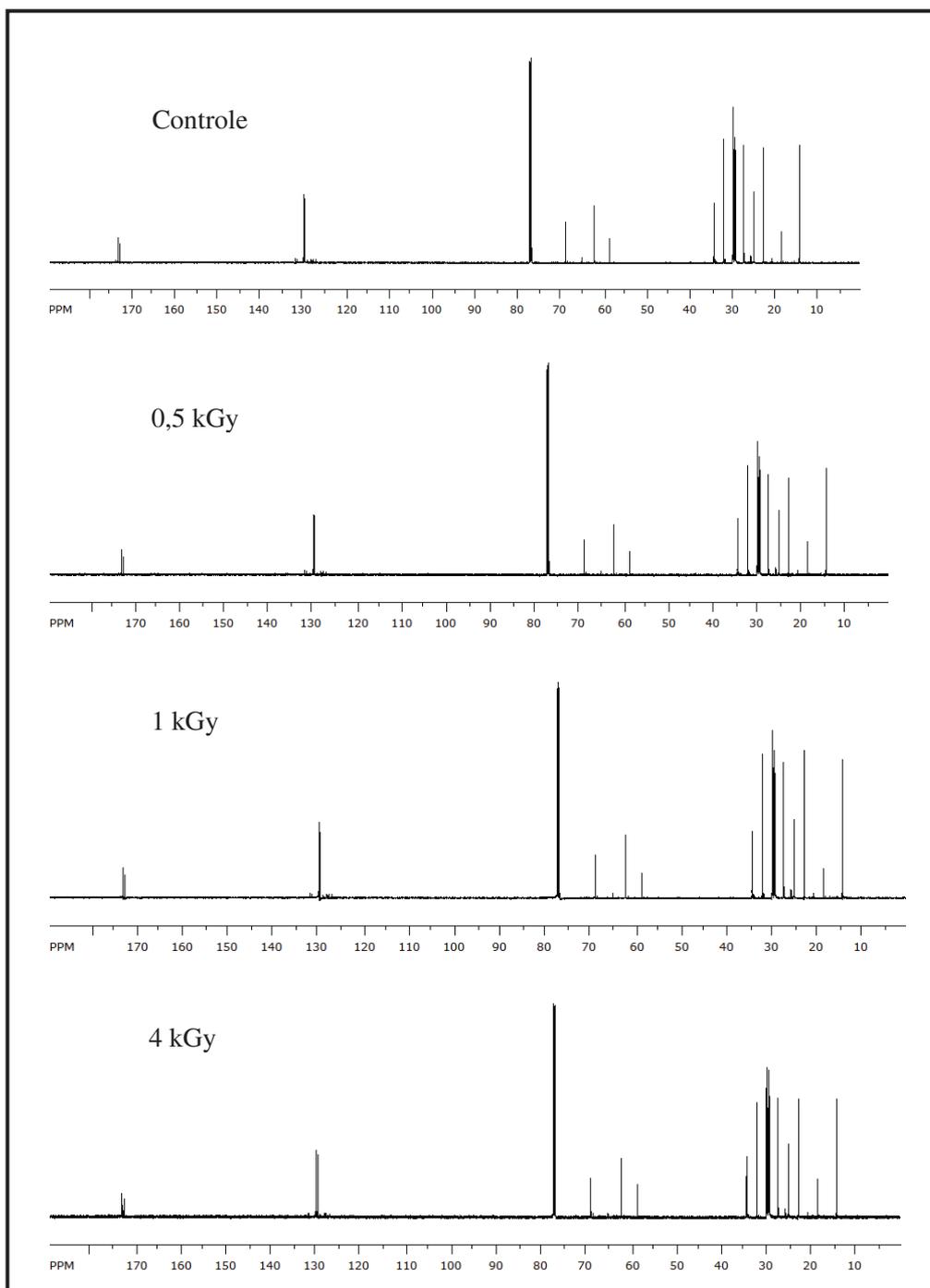


Figura 4.24 Espectros de RMN  $^{13}\text{C}$  do óleo de tucumã controle e irradiado nas doses de 0,5 kGy, 1 kGy e 4, kGy.

## AVALIAÇÃO QUANTITATIVA DOS EFEITOS DA RADIAÇÃO GAMA NOS ÁCIDOS GRAXOS MAJORITÁRIOS POR RMN DE $^1\text{H}$

Para a avaliação dos efeitos da radiação gama no perfil lipídico do óleo de tucumã os espectros de RMN  $^1\text{H}$  foram integrados na região do hidrogênio terciário ( $\text{H}_g$ ), hidrogênios vinílicos ( $\text{H}_v$ ) e bis-alílicos do ácido oleico ( $\text{H}_d$ ) e do linolênico ( $\text{H}_t$ ) conforme visto na Figura 4.22. Os valores das integrais de cada hidrogênio estão descritos na Tabela 4.27.

Tabela 4.27 Integrais medidas dos espectros de RMN de  $^1\text{H}$  das amostras de óleo irradiadas e controle.

Doses	$\text{H}_v$	$\text{H}_d$	$\text{H}_t$	$\text{H}_g$
controle	4,904	0,142	0,458	1,000
0,5 kGy	4,865	0,145	0,468	1,000
1 kGy	4,780	0,105	0,381	1,000
2 kGy	5,267	0,152	0,479	1,000
4 kGy	4,146	0,095	0,319	1,000

A Tabela 4.28 consolida os teores dos ácidos graxos majoritários do óleo de tucumã controle e irradiados nas doses de 0,5 kGy, 1 kGy, 2 kGy e 4 kGy.

A Tabela 4.28 evidencia que houve diminuição na porcentagem de ácidos saturados e aumento na porcentagem de insaturados até a dose de 2 kGy. Esse resultado é de suma importância para a qualidade do óleo de tucumã, pois equivale a uma melhora nutricional, considerando que os ácidos graxos saturados consumidos além dos limites desejados contribuem para o aumento das taxas de colesterol no sangue. Enquanto que o consumo moderado de alimentos fontes de ácidos graxos insaturados está relacionado com a diminuição dos níveis de colesterol circulantes e conseqüentemente ao menor risco para o aparecimento de doenças cardiovasculares.

Assim sendo, a dose limitante do tratamento gama foi a dose de 4 kGy, que causou diminuição na porcentagem de todos os ácidos graxos insaturados e aumento dos saturados em comparação com o controle.

Tabela 4.28 Teor dos ácidos graxos majoritários no triglicerídeo do óleo de tucumã irradiado e controle determinado por RMN de  $^1\text{H}$  do óleo de tucumã.

amostras	Saturados	Oleico	Linoleico	Linolênico
controle	28,26	65,55	2,36	3,81
0,5 kGy	29,13	64,55	2,41	3,90
1 kGy	28,43	66,64	1,75	3,18
2 kGy	22,73	70,74	2,53	3,99
4 kGy	37,8	57,95	1,58	2,65

## 5 CONCLUSÕES E RECOMENDAÇÕES

Os domínios moleculares do fruto tucumã foram determinados na primeira parte deste trabalho, e também o efeito da irradiação gama nestes domínios. Houve diferenças significativas na mobilidade molecular da água no epicarpo-mesocarpo e sementes. A quantidade de água livre caiu no epicarpo-mesocarpo principalmente na dose de 2 kGy e isto é um bom resultado para a conservação de frutos. Verificou-se que o endocarpo tem a menor quantidade de água e foi resistente a alterações na sua estrutura molecular. A semente tem o maior teor de óleos do fruto e a irradiação gama causou mudanças na interação das moléculas com a água, aumentando a mobilidade molecular dos componentes. Os resultados deste trabalho mostraram que a irradiação gama é uma técnica promissora na conservação do tucumã uma vez que o principal efeito das baixas doses de radiação foi a diminuição da água no sistema. A radiação corrobora para a conservação, sem efeitos deletérios na qualidade tucumã. A metodologia de determinação do tempo de relaxação longitudinal, usado na caracterização do tucumã antes e depois de diferentes doses de irradiação gama, foi adequado para o estudo da qualidade do fruto irradiado. Os resultados provaram que esta técnica pode ser usada como uma nova ferramenta para a análise de efeitos de radiação em frutas.

O fruto tucumã se mostra como uma boa fonte de lipídeos. Os lipídeos contidos no fruto são importantíssimos no incremento da biodisponibilidade de carotenoides no organismo. A concentração de óleos no pericarpo e mesocarpo do tucumã sofreu variação em todas as doses em relação ao controle porém com maior significância para a dose de 2,0 kGy, indicando que a radiação possui a capacidade de alterar o teor de óleos. O endocarpo, estrutura com quantidade mínima de água, também sofreu redução em sua concentração de óleos, principalmente para as doses de 0,5 kGy e 2,0 kGy. A semente do fruto sofreu variação em seu teor de óleos somente para

a dose de 0,5 kGy. Nas amostras mais abundantes de lipídios (casca 1 e semente) há um aumento significativo do teor de lipídios para as doses de 0,5 kGy e 1,0 kGy, mostrando que essas doses são capazes de liberar os lipídeos de outras moléculas componentes da matriz do fruto. As alterações nos níveis de óleos detectadas não descaracterizam as propriedades nutricionais e industriais do fruto, portanto comprovando a irradiação como uma técnica indicada para a conservação do tucumã.

A primeira parte deste trabalho revelou que o componente de maior concentração em todas as partes do tucumã são os óleos.

A segunda parte desta Tese foi baseada numa análise minuciosa no perfil lipídico do tucumã e nos efeitos das baixas doses de radiação gama nos componentes lipídicos majoritários.

O teor de carotenoides totais no óleo de tucumã foi determinado e observou-se que é altíssimo. Os efeitos do tratamento gama no teor de carotenoides totais e majoritários não foram verificados, uma vez que os valores das amostras controle e irradiadas são semelhantes.

O emprego da técnica de RMN de  $^1\text{H}$  para determinação quantitativa dos principais ácidos graxos no óleo e os efeitos da radiação em cada um mostrou resultados satisfatórios. As análises do perfil de lipídico do óleo revelaram que o ácido graxo majoritário é o oleico com concentração de aproximadamente 65% do total, e os saturados com contração aproximada de 28%. Os efeitos da radiação no perfil lipídico do fruto foram positivos até a dose de 2 kGy, pois houve aumento da porcentagem de ácido oleico, linoleico e linolênico e diminuição dos saturados. A dose de 4 kGy não se mostrou adequada para o tratamento do fruto pois diminuiu a concentração de ácidos insaturados e aumentou a concentração de saturados.

Os resultados desse trabalho revelaram que a irradiação é uma técnica promissora na conservação do fruto. Pois os efeitos principais da radiação gama sobre o fruto foram dois:

- a) a diminuição da água livre no sistema, o que corrobora para a conservação deste, sem efeitos deletérios na qualidade do tucumã;
- b) o aumento da concentração de ácidos graxos insaturados no óleo do epicarpo-mesocarpo e diminuição de ácidos graxos saturados para a dose de 2 kGy.

Assim sendo, para o melhoramento nutricional e para a conservação do tucumã, é recomendado o tratamento gama com doses não superiores a 2 kGy.

A partir desses resultados, justificam-se novas pesquisas para se conhecer a estabilidade oxidativa dos lipídios durante o armazenamento prolongado do óleo do tucumã irradiado e controle.

## 6 SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

1. Aplicar as técnicas de Relaxometria e RMN de alto campo em solução para monitorar a estabilidade lipídica do óleo de tucumã irradiado e controle em períodos de armazenamento diferentes;
2. Aplicar doses mais altas para verificar qual a dose geradora de produtos de oxidação dos lipídios do óleo de tucumã;
3. Estudo dos efeitos do processo de irradiação nos voláteis do tucumã por CG-MS;
4. Estudo dos efeitos da Irradiação nas fibras do tucumã por difração de raios x.
5. Determinar o teor de carotenoides totais no óleo após fritura.
6. Reavaliar os teores de carotenoides e equivalente de retinol no óleo irradiado de tucumã por extração convencional de carotenoides.

## 7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABREU, V. K. G. **Efeito da radiação gama sobre a redução de organismos patogênicos, a estabilidade dos lipídios e as características sensoriais em caudas de camarões congelados**, Dissertação de Mestrado, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, Ce, Brasil, 2006.
- ALBERS, N. *et al.* **Vitamins and their biological functions**. Vitamins in Animal Nutrition. Alemanha. Cap. 2, p. 9-31, 2002.
- ARAÚJO, J. M. A. **Química de alimentos**. Teoria e prática. 3. ed. Viçosa: UFV, 478 p., 2006.
- ARAÚJO, L. M. **Efeitos de Baixas Doses de Radiação Gama no Fruto Tucumã (*Astrocaryum vulgare* Mart)**, Dissertação de Mestrado. IME, Rio de Janeiro, RJ, Brasil, 2009.
- BARBOSA, J. J. **Introdução à tecnologia de alimentos**. Rio de Janeiro: Livraria Kosmos, 1976.
- BARUFFALDI, R., VESSONI PENNA, T. C., COLOMBO, A. J. *et al.*, “Efeito do armazenamento em condições ambientais na qualidade de cenoura”, **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 3, n. 2, p.155-160, 1983.
- BORA, P. S., NARAIN, N., ROCHA, R. V. M., *et al.*, “Caracterización de Las Fracciones Protéicas y Lipídicas de Pulpa y Semillas de Tucumã (*Astrocaryum vulgare* Mart)”, **Ciencia y Tecnología Alimentaria**, l. 3 n. 2, pp. 111-116, 2001.
- BRASIL. **Resolução RDC nº 21**, de 26 de janeiro de 2001. Aprova o regulamento para irradiação de alimentos. (Diário Oficial da República Federativa do Brasil, em 29/01/2001), Brasília, 2001.
- BRASIL. **Portaria DINAL, nº 9**, de 08 de março de 1985. **Regulamentação de procedimentos e doses de irradiação para produtos destinados à alimentação humana**. Brasília, 1985.

- BRASIL. **Portaria SVS/MS, nº 326**, de 30 de julho de 1997. (Diário Oficial da República Federativa do Brasil, em 01/08/1997).
- CAMARGO, A. C., CANNIATTI-BRAZACA, S. G., MANSI, D. N., *et al.*, “Efeitos da radiação gama na cor, capacidade oxidante e perfil de ácidos graxos em amendoim (*Arachis hypogaea* L.)”, **Ciencia e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 31, n. 1, pp. 11-15, jan 2011.
- CAMPOS, F. M., ROSADO, G. P., “Novos fatores de conversão de carotenoides provitamínicos A”, **Ciênc. Tecnol. Alimentos**, v. 25, n. 3, pp. 571-578, 2005.
- CASTRICINI, A., CONEGLIAN, R. C., MEDEIROS, S. F., *et al.*, “Uso da radiação gama na conservação pós-colheita do tomate de mesa em estágio maduro”, **Rev. Univ. Rural**, v. 24, n. 1, pp 85-91, 2004.
- CDC. **Preliminary FoodNet data on the incidence of infection with pathogens transmitted commonly through food – Select sites, United States, Morb. Mortal. Weekly Rep.** v. 53, n. 16, p. 338 – 343, 2003.
- CODEX , Stan 106. **Norma General del Codex para Alimentos Irradiados.** 1983.
- Disponível em: <[http://www.codexalimentarius.net/web/standard\\_list.do?lang=es](http://www.codexalimentarius.net/web/standard_list.do?lang=es)>.
- Acesso em: 07/05/2012.
- COLZATO, M., FORATO, L. A. COLNAGO, L. A., *et al.*, **Análise Comparativa dos espectros de <sup>1</sup>H RMN de Óleos Comestíveis Oxidados**, Embrapa Instrumentação Agropecuária, Comunicado Técnico 92, São Carlos, Sp, Brasil, 2008.
- DEGANI, A. L. G., CASS, Q. B., VIEIRA, P. C. **Química Nova na escola**, Cromatografia - N° 7, Maio, 1998.
- DIEHL, J. F. **Safety of irradiated foods.** New York and Basel: Marcel Dekker, Inc., v. 36, 1990.

- DONNELLY, J. K., ROBINSON, D. S. “Invited Review Free Radicals in Food”, **Free Radic. Research**, v. 22 n. 2, 147-176, 1995.
- FENNEMA, O. R. **Química dos Alimentos**. 2 ed. Zaragoza: Acribia, 2000.
- FRANCO, G. **Tabela de Composição Química dos Alimentos**. Revista e Atualizada. 9. ed. 307 p. Rio de Janeiro: Atheneu, 2007.
- FERREIRA, E. S., LUCIEN, V. J., AMARAL, A. S. *et al.*, “Caracterização Físico-Química do Fruto e do Óleo Extraído de Tucumã (*Astrocaryum vulgare*, MART)”, **Alim. Nutr.**, v. 19, n. 4, pp. 427-433, 2008.
- GIACOMINI, L. Z., **Quantificação de Vitamina A em Concentrados Polivitamínicos por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência**. Tese. UFSM, Santa Maria, RS, Brasil, 2006.
- GOMES, F. S., “Carotenoides, uma possível proteção contra o desenvolvimento do câncer”, **Rev. Nutr.**, v. 20, n. 5, pp. 537-548., set./out., 2007.
- GRIMALDI, R., GONÇALVES, L. A. G., ANDO, M. Y. “Otimização da reação de interesterificação química do óleo de Palma”, **Quim. Nova**, v. 28, n. 4, pp. 633-636, 2005.
- IEMMA, J., ALCARDE, A. R., DOMARCO, R. E., *et al.*, “Radiação gama na conservação do suco natural de laranja”, **Scientia Agricola**, v. 56, n. 4, pp.1193-1198, 1999.
- INSTITUTO BRASILEIRO DE FRUTAS – IBRAF. **Produção brasileira de Frutas 2008-2009**. Disponível em: [http://www.ibraf.org.br/estatisticas/est\\_frutas.asp](http://www.ibraf.org.br/estatisticas/est_frutas.asp)  
Acessado em: 12/09/2012.
- INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA – IBGE. Pesquisa de Orçamentos Familiares – POF 2002-2003. **Análise da disponibilidade domiciliar de alimentos e do estado nutricional do Brasil**. Rio de Janeiro: Diretoria de Pesquisas, 2004.
- IOM. **Dietary Reference Intakes for Vitamin A, Vitamin K, Arsenic, Boron, Chromium, Copper, Iodine, Iron, Manganese, Molybdenum, Nickel, Silicon,**

- Vanadium, and Zinc.** Food and Nutrition Board, Institute of Medicine, National Academic Press, Washington D.C., 2001. Disponível em: <[http://books.nap.edu/openbook.php?record\\_id=10026&page=R13](http://books.nap.edu/openbook.php?record_id=10026&page=R13)>. Acesso em: 20/09/2014.
- KAPLAN, I. **Nuclear Physics.** Second edition. Addison-Wesley Publishing Company. Japan, 1963.
- KERBAUY, G. B. **Fisiologia Vegetal.** 2 ed. Rio de Janeiro. Guanabara Koogan, 2008.
- KHACHIK, F., BEECHER, G. R., GOLI, M. B. “Separation, identification, and quantification of carotenoids in fruits, vegetables and human plasma by high performance liquid chromatography”, **Pure&App/. Chem.**, v. 63, n. 1, pp. 71-80, 1991.
- KILCAST, D. “Effect of irradiation on vitamins”, **Food Chemistry**, v. 49, p. 157-164, 1994.
- KOROKOLVAS, A., BURCKALTER, J.H. **Química Farmacêutica.** Rio de Janeiro: 1988.
- KRINSKY, N. I. “The biological properties of carotenoids”. **Great Britain, Pure & Applied Chemistry**, v. 66, p. 1003-1010, 1994.
- KWON, J. H., BYUN, M. W., CHO, H. O. “Effects of Gamma Irradiation Dose and Timing of Treatment after Harvest on the Storeability of Garlic Bulbs”, **J. Food Sci.** v. 50, n.. 2, pp. 379–381, 1985.
- LADOMERY, L. G. **Principles of the Codex General Standard for irradiated foods and associated code of practice.** WHO / IAEA/ FAO. In: SEMINAR ON HARMONIZATION OF REGULATIONS ON FOOD IRRADIATION IN ASIA AND THE PACIFIC, 1993, MALAYSIA. Anais. Malaysia: IAEA – TECDOC 696, 1993.
- LEHNINGER, A. L. **Vitaminas e Microelementos na função de enzimas.** In Princípios de Bioquímica. 8 ed. São Paulo: Sarvier , p. 185-202: Cap. 10 Guanabara Koogan, 1973. p.783, p.657-668. parte 6.

- LIMA, A. L. S., LIMA, K. S. C., GODOY, R. L. O., *et al.*, “Aplicação de baixas doses de radiação ionizante no fruto brasileiro tucumã (*Astrocarium vulgare* Mart.)”, **Acta Amazonica**, v. 41, n. 3, pp. 377 – 382, 2011.
- LIMA, K. S. C., GROSSI, J. L. S., LIMA, A. L. S., *et al.*, “Efeito da irradiação ionizante gama na qualidade pós-colheita de cenouras (*Daucus carota* L.) cv. Nantes”. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, v. 21, n. 2, pp. 202-208, 2001.
- LIMA, K. S. C., LIMA, A. L. S., LUCHESE, R. H., *et al.*, “Cenouras minimamente processadas em embalagens com atmosferas modificadas e tratadas com radiação gama: avaliação microbiológica, físico-química e química”, **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 23, n. 2, pp. 240-250, 2003.
- LIMA, R.Q. Direito de resposta. **Revista Consumidor**. jun./jul. 2002. Disponível em: [http://www.cliquequimica.com.br/ultimas\\_noticias\\_irradiacao.htm](http://www.cliquequimica.com.br/ultimas_noticias_irradiacao.htm). Acesso em: 30/11/2008.
- LORENZI, H. **Arvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas do Brasil**, v. 1, 4 ed. Nova Odessa, SP: Instituto Plantarum, 2002.
- LORENZI, H, **Palmeiras do Brasil: Exóticas e Nativas**. Nova Odessa, SP. Editora plantarum, 1996.
- MANHÃES, L. R. T. **Caracterização da polpa de buriti (*Mauritia flexuosa*, Mart.): um potente alimento funcional**, Dissertação de Mestrado. UFRRJ, Seropédica, RJ, Brasil, 2007.
- MARTIN, C. A., ALMEIDA, V. V., RUIZ, M. R., *et al.*, “Ácidos graxos poliinsaturados ômega-3 e ômega-6: importância e ocorrência em alimentos”, **Revista de Nutrição**, v. 19, n. 6, pp. 761-770, 2006.
- MASSAFERA, G., COSTA, T. M. B., OLIVEIRA, J. E. D., “Composição de ácidos graxos do óleo do mesocarpo e da semente de cultivares de abacate (*Persea americana*, Mill.) da região de Ribeirão Preto, SP”, **Alim. Nutr.**, v. 21, n. 2, pp. 325-331, 2010.

- MAXIE, E.C., SOMMER, N.F., EAKS, I.L. **Effect of gamma radiation on citrus fruits.**  
In: Internat. Citrus Symp, California, Proceedings. Vienna: IAEA, p.1375-1387,1969.
- MC DOWELL, L. R. **Vitamins in Animal Nutrition.** Publ. Academic Press, N. Y. 1989.
- MEDEIROS, E. P. de, FELIX, P. H. D., MELO, J. K. A., *et al.*, Um método não destrutivo por RMN de baixo campo e quimiometria para classificação de sementes de mamona em função do perfil espectral do óleo. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MAMONA, 3., 2008, Salvador. Energia e ricinoquímica: resumos. SEAGRI: Embrapa Algodão, p. 59, 2008.
- MELLO, L. C. **Alimentos irradiados.** Revista Nutriweb. Maio 2001. Disponível em: <http://www.nutriweb.org.br/n0202/irradiados.htm>. Acesso em: 03/05/2012.
- MIGUEZ, E., TAVARES, M. B. T. “The NMR Study of the látex extracted from *Brosimum parinarioides*”, **Chemistry & Chemical Technology**, v. 5, n. 2, 209-213, 2011.
- MINATTI. **Doce com o açúcar.** Univ. Federal de Santa Catarina. 2007. Disponível em: <http://www.qmc.ufsc.br/qmcweb/artigos/sugar.html> Acesso em: 13 de mar. 2012.
- NASCIMENTO, A. M. R. **Estudo do látex e fruto da sorva pela espectroscopia de ressonância magnética nuclear.** Tese de Doutorado, IMA/UFRJ, Rio de Janeiro, RJ, Brasil, 2006.
- NUNES, I. L., MERCADANTE, A. Z., “Vantagens e desvantagens das colunas C18 e C30 para a separação de carotenoides por CLAE”, **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 42, n. 4, 2006.
- ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE (OMS), Ginebra. **Inocuidad e idoneidad nutricional de los alimentos irradiados.** 1995. 178 páginas.
- ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE (OMS). **Wholesomeness of Irradiated Food:** (TRS 659). World Health Organization, Geneva, Switzerland, 1981.

- PACHECO, S., PEIXOTO, F. M., BORGUINI, R. G. *et al.*, “Microscale extraction method for HPLC carotenoid analysis in vegetable matrices”, **Scientia Agricola**, v. 71, n. 5, 416-419, 2014.
- PRETO, M. S. M., TAVARES, M. I. B., SEBASTIÃO, P. J. O. “Caracterização dos constituintes poliméricos da *Maytenus ilicifolia* por relaxação nuclear de 1h por RMN no Estado Sólido”, **Polímeros**, v. 21, n. 5, p. 416-420, 2011.
- POTHISIRI, P. **Control of food irradiation facilities and good irradiation practices.** WHO/IAEA/FAO. In: SEMINAR ON HARMONIZATION OF REGULATIONS ON FOOD IRRADIATION IN ASIA AND THE PACIFIC, Anais. Malaysia: IAEA – TECDOC 696, p. 67-72, 1993.
- PRICE, W.J. **Nuclear Radiation Detection.** New York: McGraw-Hill, 1958.
- QUINTÃO, L. C. **Dados da fome.** ONG Banco de Alimentos. 2007. Disponível em: <<http://www.bancodealimentos.org.br/por/dadosfome/dadosdesperdicio.htm>>. Acesso em: 16 nov. 2009.
- REDA, S. Y., CARNEIRO, P. I. B., “Óleos e Gorduras: aplicações e implicações”, **Revista Analytica**, n. 27, fev-mar, 2007.
- RIBEIRO, Z. R., **Avaliação da Qualidade de frutas por Ressonância Magnética Nuclear em baixa resolução**, Dissertação de Mestrado, Universidade de São Paulo, São Carlos, SP, Brasil, 2008.
- RIOS, M. D. G., PENTEADO, M. V. C. “Determinação de  $\alpha$ -tocoferol em alho irradiado utilizando cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE)”, **Quim. Nova**, v. 26, n. 1, pp. 10-12, 2003.
- ROCHA, M. A. A., SOUZA, Q. F., **O Uso de Alimentos Irrradiados no Tratamento de Pacientes com baixa Imunidade.** UNIP, Brasília, 2007.
- RODRIGUEZ-AMAYA, D.B. **A guide to carotenoid analysis in foods.** Washington: ILSI Press, 64p. 1999.

- SALINERO, C., FEÁS, X., MANSILLA, J. P., *et al.*, “<sup>1</sup>H-Nuclear Magnetic Resonance Analysis of the Triacylglyceride Composition of Cold-Pressed Oil from *Carmellia japonica*”, **Molecules**, v. 17, pp. 6716-6727, 2012.
- SANTOS, M. R. L. **Efeitos da Radiação Gama do <sup>60</sup>Co em frutos de pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.)**. Tese de Doutorado, Centro de Energia Nuclear na Agricultura, USP, Piracicaba, SP, Brasil, 2008.
- SBP, Sociedade Brasileira de Pediatria, **Deficiência de Vitamina A**. Documento Científico (Impresso), Fev., 2007.
- SHIELS, M. E., OLSON, J. A., SHIKE, M., *et al.*, **Tratado de nutrição moderna na saúde e na doença**. 9. ed. São Paulo: Manole, 2003.
- SILVA, A. C. O. **Efeito da radiação gama sobre lipídios, microbiota contaminante e validade comercial do leite cru integral refrigerado e sobre características sensoriais do leite pasteurizado integral refrigerado**. Tese de Doutorado, UFF, Niterói, RJ, Brasil, 2008.
- SILVA, C. R. M., NAVES, M. M. V. “Suplementação de vitaminas na Prevenção de Câncer”, **Rev. Nutr.**, v. 14, n. 2, pp. 135-143, maio, 2001.
- SILVA, E. O. **Caracterização da resina natural da Amescla por RMN e preparação de nanocompósitos a base dessa resina**. Tese de Doutorado, IMA, UFRJ, Rio de Janeiro, RJ, Brasil, 2007.
- SILVA, E. O., BATHISTA, A. L. B. S., TAVARES, M. I. B., *et al.* “<sup>13</sup>C NMR study of peach oil”, **J. Sci. Food Agric.** v. 85, pp. 2269-2272, 2005.
- SILVA, G. G. PELIÇÃO, R., SILVA, *et al.*, Avaliação do efeito da radiação gama sobre características nutricionais de frutos do mamoeiro (*Carica papaya* L.) do grupo solo “golden”, Papaya Brasil, 2007.
- SILVERSTEIN. R. M., WEBSTER, F. X. KIEMLE, D. J. **Identificação Espectrométrica de Compostos Orgânicos**. 7 ed. Rio de Janeiro: Editora LTC, 2007.

- SIQUEIRA, A. A. Z. C. **Efeitos da Irradiação e refrigeração na qualidade e no valor nutritivo da Tilápia (*Oreochromis niloticus*)**. Dissertação de Mestrado, USP, Piracicaba, SP, Brasil, 2001.
- SOUZA, L. B. **Efeito da Irradiação Gama sobre as Características Químicas, Sensoriais e Microbiológicas do Feijão-Fradinho (*Vigna unguiculata* (L.) Walp)**. Dissertação de Mestrado, Instituto Militar de Engenharia, Rio de Janeiro, RJ, Brasil, 2008.
- TAIPINA, M. S. DEL MASTRO, N. L. "Radiation effects on vitamin A and beta-carotene contents in liver products", **Inst. of Nuc. Chem. and Tech. Nukleonika**, v. 48 n. 1, pp. 9-12, 2003.
- TAPE, N. **Control of food irradiation practices and the role of the ICGFI guidelines and codes**. WHO/IAEA/FAO. In: SEMINAR ON HARMONIZATION OF REGULATIONS ON FOOD IRRADIATION IN ASIA AND THE PACIFIC, 1992, Malaysia. Anais. Malaysia: IAEA – TECDOC 696, pp. 141-145, 1992.
- TAUHATA, L., SALATI, I. P. A., PRINZIO, R. Di, *et al.*, **Radioproteção e dosimetria: fundamentos**. Rio de Janeiro: IRD/CNEN, 2003.
- TAVARES, M. I. B., BATHISTA, A. L. B. S., SILVA, E. O., *et al.* "A molecular dynamic of the starch obtained from the *Mangifera indica* Cv. *Bourbon* and *Espada* seeds by <sup>13</sup>C solid state NMR", **Carbohydrate Polymer**, v. 53, n. 2, pp. 213-216, 2003.
- TOMA, D. **Análise da qualidade de óleos vegetais em sementes intactas por RMN de baixa resolução**. Tese de Doutorado, Instituto de Química de São Carlos, USP, São Carlos, SP, Brasil, 2009.
- UNGARO, M. R. G., TOLEDO, N. M. P., TEIXEIRA, J. P. F., *et al.*, "Determinação do teor de óleo em sementes de girassol pelos métodos de Ressonância Magnética Nuclear e Soxhlet", **Bragantia**, v. 51, n. 1, pp. 1-5, 1992.

- UNICEF, **The State of the World's Children 1998**. Oxford University Press, 1998.  
Disponível em: <<http://www.unicef.org/sowc98/sowc98a.pdf>>. Acesso em: 09/04/2012.
- VASCONCELOS, B., SANTOS, O. MORAES, J., *et al.* "Comparative study of tucumã oil quality from two different species extracted by supercritical carbon dioxide".  
In: **Proceedings of the Prosciba 2013 - III Iberoamerican Conference on Supercritical Fluids**, Cartagena de Indias, Colombia, 8- 9 April 2013.
- VILELA, N.J., LANA, M.M., MAKISHIMA, N. "O peso da perda de alimentos para a sociedade: o caso das hortaliças", **Horticultura Brasileira**, v.21, n. 2, p. 141-143, abr., 2003.
- VITAL, H.C. **Apostila do Curso de Especialização em Irradiação de Alimentos**. Universidade Federal Fluminense. 2000. 4 p. (Manuscrito).
- VITAL, H. C., VELLOZO, S. O. **Perspectivas de uso do irradiador gama do IPE**. In: CGEN, 6., Rio de Janeiro. Anais. Rio de Janeiro: v. iii, outubro, pp. 27-31, 1996.
- VITTI, D.M.S.S., DEL MASTRO, N.L., KIKUCHI, O.K. *et al.*, "Irradiação de resíduos fibrosos com feixe de elétrons: efeitos na composição química e digestibilidade", **Sci. agric.**, v. 55, n. 2, Mai. 1998.
- WHO, **Global prevalence of vitamin A deficiency**. World Health Organization, Geneva, 1995.
- WHO. **High-dose irradiation: wholesomeness of food irradiated with doses above 10kGy**. Report of a Joint FAO/IAEA/WHO Study Group, technical report series n. 890. Geneva, Switzerland, 1999.
- WHO. **Inocuidad e idoneidad nutricional de los alimentos irradiados**. Ginebra: World Health Organization, 172 p., 1995.
- WHO. **Nutricion y prevención de enfermedades crónicas**. Informe Técnico 797. Ginebra: World Health Organization, 223 p., 1990.

WILLIS, M.S., WIANS, F.H. Jr. "The role of nutrition in preventing prostate cancer: a review of the proposed mechanism of action of various dietary substances", **Clin Chim Acta**, v. 330, n. 1-2, pp. 57-83, 2003.