

# Irradiação do chá verde para controle de fungos *Aspergillus sp.*

S. G. Lemos<sup>1</sup>; E. B. Silva<sup>1</sup>; M. S. Nascimento<sup>2</sup>; I. S. Oliveira<sup>3</sup>; L. F. Costa<sup>1</sup>;

<sup>1</sup>Departamento de Energia Nuclear, Centro de Tecnologia e Geociências/UFPE. Av. Prof. Luiz Freire, 1000. Cidade Universitária, CEP: 50740-54. Recife, PE - Brasil.

<sup>2</sup>Departamento de Antibióticos, Centro de Ciências Biológicas/UFPE. Av. Morais Rego, 1235. Cidade Universitária. CEP: 50670-901. Recife, PE - Brasil.

<sup>3</sup>Centro Acadêmico de Vitória-CAV/UFPE, Rua Alto do Reservatório, S/N - Bela Vista CEP: 55608-680, Vitória de Santo Antão, PE - Brasil.

sloana.lemos@gmail.com;

(Recebido em 29 de março de 2013; aceito em 15 de julho de 2013)

O uso de insumos vegetais, entre eles o chá verde (*Camelia sinensis*) vem aumentando no Brasil. Com o crescimento do consumo, potencializam-se os riscos de contaminação devido à manipulação e armazenamento inadequados, o que implica a necessidade de meios que possam controlar estes fatores, como, por exemplo, uso da radiação ionizante. Neste contexto, o presente trabalho objetivou avaliar o efeito da radiação gama sobre a quantidade de fenólicos totais, atividade antioxidante e carga fúngica do extrato aquoso de chá verde, visando seu processamento. Foram analisadas alíquotas de amostra a granel antes e após a irradiação gama (doses: 0; 5; 7,5 e 10 kGy). O teor de fenólicos totais dos extratos aquosos foi determinado utilizando o reagente Folin-Ciocalteu tendo a catequina como padrão. Os mesmos extratos obtidos foram utilizados para avaliar sua capacidade de sequestrar o radical livre DPPH (1, 1-difenil-2-picrilhidrazil). As análises microbiológicas foram realizadas a partir das amostras irradiadas e controle. O processamento por radiação em diferentes doses (5; 7,5 e 10 kGy) não provocou perdas de compostos fenólicos nem reduziu a capacidade antioxidante dos extratos aquosos do chá verde em relação à amostra controle. Observou-se ainda, que a radiação pode ter provocado efeito catalisador na reação de oxidação do DPPH, e ainda se mostrou eficaz no controle microbiológico, mesmo não conseguindo eliminar os fungos aflatoxigênicos.

Palavras-chave: *Camellia sinensis*, irradiação de alimentos, seqüestro de radicais livres.

## **The influence of gamma radiation on the aflatoxigenic fungi, phenolics content and antioxidant activity of the green tea.**

The use of raw plants, including the green tea (*Camelia sinensis*), has been increasing in Brazil. Along with this increasing tea consumption, there are risks due to its unsuitable handling and storage, which points to the need of controlling possible contaminations. This could be achieved with the use of ionizing radiation. In this context, the present study aimed to evaluate the effect of gamma irradiation over the total phenolics amount, antioxidants and fungic activities of the green tea aqueous extract aiming its processing. Aliquots of the bulk samples have been analyzed before and after gamma irradiation (dosages of 0; 5; 7,5 and 10 kGy). The total phenolics content of the aqueous extracts was determined by using the Folin-Ciocalteu reagent having the catechin as the standard. Those same extracts were used to evaluate its ability of scavenging the free radical DPPH. The microbiological analysis were performed through irradiated samples and control. The results have allowed to check that different dosages of radiation (5; 7,5 e 10 kGy) did not induce significant differences on the content of total phenols and on the antioxidant capacity of the analyzed samples when compared to control. Also, it was also observed that the radiation may have had a catalytic effect on the oxidation of the DPPH and was effective on the microbiological control, even though it was not possible to kill the aflatoxigenic fungus.

Keywords: *Camellia sinensis*, food irradiation, free radical scavenging.

## **1. INTRODUÇÃO**

O uso de insumos vegetais vem aumentando em todo o mundo, seja por seu baixo custo, aceitabilidade e disponibilidade, seja por atividades biológicas comprovadas, como aquelas observadas nos mais diversos tipos de vegetais utilizados como chás. Uma importante

característica percebida no mundo inteiro é o aumento do consumo destes produtos, independente da classe social <sup>1</sup>.

No Brasil essa tendência também é percebida pelas várias espécies de plantas que compartilham as prateleiras dos supermercados, comprovando o aumento do consumo de chás no país <sup>2</sup>. Os chás preto e verde, ambos provenientes da mesma planta (*Camellia sinensis*) e diferem apenas quanto ao modo como suas folhas são processadas, são um exemplo dos tipos mais procurados pelos consumidores <sup>3</sup>.

Influências culturais, sociais e econômicas repercutem na intensificação de pesquisas com extratos vegetais e seus componentes bioativos. Nesse contexto, *C. sinensis*, popularmente conhecida como chá verde, vem se destacando em várias pesquisas por sua composição rica em compostos fenólicos, os quais constituem potentes antioxidantes.

*C. sinensis* tem procedência oriental, sendo muito popular na China, Índia e no Japão. Esta planta é uma das bebidas mais consumidas no mundo. Segundo a Resolução CNNPA nº 12/1978 <sup>4</sup>, chá é o produto constituído pelas folhas novas e brotos de várias espécies do gênero *Thea*, atualmente chamado *Camellia*. *Camellia sinensis*, como uma espécie representante da família Theaceae, é um alimento, mas que possui seu maior consumo pela população como planta medicinal, o que o torna para muitos um alimento funcional <sup>5</sup>.

Junto com o aumento do consumo de produtos vegetais, principalmente os chás, aumenta também os casos de toxinfecções que se configuram como um problema de Saúde Pública, devido à possibilidade de acesso a produtos com uma elevada carga microbiana e sem condições adequadas de uso.

A grande contaminação microbiológica dos produtos vegetais pode ser justificada pelo fato de as regiões produtoras desses insumos serem, em sua maioria, áreas subdesenvolvidas em que as técnicas de plantio, colheita, processamento, transporte e armazenagem costumam ser rudimentares e sem controle de qualidade, ocasionando a contaminação desses produtos.

Neste sentido o uso da radiação ionizante aparece como mais uma técnica de processamento pós-colheita visando o tratamento sanitário destes alimentos, como também a obtenção de um insumo agrícola com inocuidade e, sobretudo com as suas propriedades sensoriais e fitoquímicas preservadas.

A utilização da radiação em alimentos proporciona uma dieta com uma carga de agentes patogênicos reduzida, os quais costumam estar presentes na superfície ou no interior dos alimentos devido à má higienização ou processo natural de decomposição dos mesmos <sup>6</sup>. No entanto, todo processamento alimentar possui uma normatização embasada em diretrizes da ANVISA.

A seguinte Resolução de Diretoria Colegiada da ANVISA, RDC n. 21 de 2001, contempla exatamente o tratamento por irradiação, em que preconiza “estabelecer os requisitos gerais para o uso da irradiação de alimentos com vistas à qualidade sanitária do produto final” <sup>7</sup>. No tocante a dose absorvida, a resolução indica que ela deve ser a mínima necessária para alcançar a finalidade pretendida, e o seu limite será estabelecido pelas características próprias de cada alimento, em virtude de apresentarem composições hídrica e química particulares. Portanto, há a necessidade de avaliar a interação da radiação gama com cada alimento, de modo a se identificar qual a dose ideal que pode ser empregada para que se atinja a finalidade de eliminar agentes decompositores e patogênicos, como também atuar no aumento do tempo de prateleira (a partir exterminação de agentes decompositores e da inativação de enzimas ligadas à maturação de vegetais), sem que haja alterações em suas qualidades químicas e biológicas.

A identificação da microbiota presente em amostras comerciais de chá verde é de grande importância, uma vez que esta permitirá avaliar o efeito da radiação sobre os microorganismos existentes. Além disto, a identificação preliminar permitirá confirmar a eficiência da técnica na redução da carga microbiana deste alimento após sua irradiação.

Desta maneira o presente estudo teve por objetivos avaliar o efeito da radiação gama sobre a quantidade de fenólicos totais, atividade antioxidante e espécies de *Aspergillus* aflatoxigênicos presentes no extrato aquoso de chá verde - *Camellia sinensis*.

## 2. MATERIAIS E MÉTODOS

### 2.1 Irradiação do material vegetal

O chá verde utilizado foi adquirido, a granel, no Centro de Abastecimento Alimentar de Pernambuco – CEASA/PE. Foi considerada uma amostra primária, de 500g.

A partir da secagem em estufa a 50°C por 24 horas, as folhas de chá verde foram trituradas em um moinho de facas e divididas em duas partes: aquela relacionada aos experimentos para análise fitoquímica, atividade antioxidante e fenóis totais, para as quais foram retiradas quatro alíquotas de 6 g, que foram acondicionadas em frascos de vidro vedados por tampas de borracha, e devidamente identificados; e as amostras relacionadas ao experimento da análise microbiológica, contendo cada uma 25g de folhas secas e trituradas, acondicionadas em sacos de polietileno de baixa densidade com fecho tipo zíper.

Posteriormente, todas as amostras, com exceção dos controles, foram levadas para irradiação em uma fonte de  $^{60}\text{Co}$  Gammacell, nas doses de 5 kGy; 7,5 kGy e 10 kGy, com taxa de dose de 6,476 kGy/h, pertencente ao Departamento de Energia Nuclear/Universidade Federal de Pernambuco - UFPE.

## 2.2 Preparação dos extratos

Os extratos foram obtidos a partir de folhas secas e trituradas de *C. sinensis* cujo delineamento experimental consistiu do formato 3X4, utilizando-se triplicatas de 0,5 g para cada dose de radiação (5; 7,5 e 10 kGy) e a controle (não irradiada), totalizando 12 amostras. 80 mL de água destilada foram aquecidos a 80 °C ± 2 °C e sob agitação constante as folhas trituradas foram adicionadas. Esta extração ocorreu durante 5 min em ausência de luz. O extrato aquoso foi filtrado, e após resfriamento à temperatura ambiente (25 °C ± 1 °C) o volume foi aferido para 100 mL com água destilada.

## 2.3 Determinação de fenólicos totais e análise da atividade antioxidante

O teor de fenólicos totais dos extratos aquosos de chá verde foi determinado utilizando o reagente Folin-Ciocalteu tendo a catequina como padrão de referência <sup>8</sup>. A absorbância foi determinada a 725 nm e os resultados foram expressos em mg de fenólicos totais em equivalente de catequina por g de amostra.

Os mesmos extratos acima obtidos foram utilizados para avaliar a capacidade de sequestrar radical livre utilizando DPPH (1, 1-difenil-2-picrilhidrazil). Esta capacidade foi avaliada de acordo com o método descrito por Brand-Williams, Cuvelier, Berset <sup>9</sup>. Os resultados foram expressos como percentual de sequestro de radical livre e calculados pela seguinte fórmula <sup>10</sup>:

$$\% \text{ DE SEQUESTRO DE RADICAL LIVRE} = [(A_B - A_A)/A_B] \times 100$$

Onde:  $A_B$  = absorção do branco (t = 0 min);  $A_A$  = absorção dos extratos (t = diferentes intervalos de tempo).

## 2.4 Análise microbiológica

### 2.4.1 Preparo das diluições

As amostras irradiadas e controle contendo cada uma 25g de folhas secas e trituradas de *Camellia sinensis*, foram levadas ao Laboratório de Microbiologia e Imunologia do Centro Acadêmico de Vitória/UFPE, onde foram mantidas conservadas em lugar seco e ao abrigo da luz até o início dos experimentos.

Os extratos foram preparados através de suspensões utilizando-se os 25g de cada amostra irradiada e controle (não irradiada) para 225 ml de solução de água peptonada estéril, compondo as amostras matrizes. Esta proporção segue o método para obtenção de diluições iniciais de 1:10 ( $10^{-1}$ ) descrita por Silva et al., <sup>11</sup>.

A partir de cada amostra matriz foi retirado 1 mL da solução para adicioná-lo a 9 mL de água peptonada estéril. Este procedimento foi repetido em quintuplicata e na sequência, os tubos de ensaio foram agitados por 1 minuto.

### 2.4.2 Crescimento e contagem da microbiota fúngica presente em amostras de chá verde

O nível de contaminação das amostras irradiadas e da amostra controle foi avaliado a partir do semeio das diluições dos extratos de chá verde em meio de cultura próprio para crescimento fúngico. Foram utilizados os meios de cultura Ágar Dicloran Rosa Bengala Cloranfenicol (DRBC) acrescido de glicerol a 18% para técnica de semeadura direta e Ágar *Aspergillus flavus* - *parasiticus* (AFPA) para isolamento de cepas de fungos produtores de aflatoxinas, *Aspergillus flavus* e *A. parasiticus*.

Para cada diluição ( $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$  e  $10^{-4}$ ), foram semeadas quintuplicatas com 0,1 ml da amostra diluída do extrato, em placas de Petri, contendo cada uma 15 ml de meio de cultura específico, empregando-se a técnica de semeadura por espalhamento em superfície com auxílio de alça de Drigalsky. O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado em fatorial 4 X 3, sendo quatro doses de radiação e uma controle (0; 5; 7,5 e 10 kGy) e três diluições ( $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$  e  $10^{-4}$ ), com cinco repetições.

O crescimento dos fungos nos meios DRBC/glicerol (18%) e AFPA ocorreu em condições de alternância de luminosidade (12h de claro e escuro) a temperatura ambiente com variação de 22 a 25° C, durante cinco dias. Após esse período, as colônias fúngicas foram quantificadas para cada tratamento.

### 2.5 Tratamento estatístico dos dados

Todas as determinações foram efetuadas em triplicata e as médias dos valores encontrados foram submetidas à Análise de Variância (ANOVA) e Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

## 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 3.1 Determinação de fenólicos totais

Na Tabela 1 são apresentados os valores dos teores de fenólicos totais, expressos em equivalente de catequina, encontrados neste estudo. Os teores de fenólicos variaram de 70,02 a 72,81 mg.g<sup>-1</sup> de catequina da amostra. A análise da variância (ANOVA) ( $p = 0,03$ ) mostrou que não ocorreu diferença estatística significativa entre as amostras controle e as amostras irradiadas e nem entre as amostras irradiadas ( $p = 0,30$ ), ou seja, a radiação não alterou os teores de fenólicos totais nas amostras de chá verde.

Tabela 1: teor de fenólicos totais em chá verde

Doses (kGy)	Fenólicos totais (mg/g) **
0,0	71,23 ± 3,03 <sup>a</sup>
5,0	70,02 ± 1,01 <sup>a</sup>
7,5	72,81 ± 0,49 <sup>a</sup>
10,0	72,62 ± 1,08 <sup>a</sup>

\*\* mg em equivalente de catequina.g<sup>-1</sup> de amostra. Letras iguais indicam não haver diferença estatística significativa entre os dados. Média de três repetições.

Os resultados do presente trabalho corroboram com os encontrados por Koseki et al.<sup>12</sup>, os quais observaram que a radiação gama não influenciou nos teores de fenóis totais e taninos em extratos de alecrim (*Rosmarinus officinalis* Linné), Agrião (*Nasturtium officinale* R. Br), Alcachofra (*Cynara scolymus* Linné) e manjerição (*Ocimum basilicum* Linné), irradiados a 10, 20 e 30 kGy.

Resultados semelhantes também foram obtidos por Mishra et al.<sup>13</sup> os quais utilizaram radiação em doses de até 10 kGy em folhas de chá verde e observaram que não houve diferenças significativas entre as amostras irradiadas e o controle (não irradiado) nas determinações de fenóis totais. Outros estudos que avaliaram fenólicos totais em vegetais irradiados, também não demonstraram perda significativa desses compostos<sup>14,15,16</sup>.

### 3.2 Análise da atividade antioxidante

Na Tabela 2 estão apresentados os resultados encontrados no presente trabalho para a atividade antioxidante. Observa-se, considerando o mesmo tempo de reação, que os valores da capacidade antioxidante, tanto para o controle quanto para os tratamentos realizados, não apresentaram diferenças estatisticamente significativas entre as diferentes doses para cada um dos três tempos considerados nos sequestros do radical DPPH.

Tabela 2: capacidade antioxidante do radical DPPH (%) de extratos aquosos obtidos de infusão de chá verde

Doses (kGy)	Tempo de reação* (min)		
	1	3	5
0	77,93 ± 1,44 <sup>aA</sup>	88,57 ± 1,25 <sup>bB</sup>	91,34 ± 0,16 <sup>cB</sup>
5,0	78,06 ± 0,82 <sup>aA</sup>	89,38 ± 0,98 <sup>bB</sup>	91,13 ± 0,59 <sup>cB</sup>
7,5	77,05 ± 3,07 <sup>aA</sup>	89,18 ± 4,91 <sup>bB</sup>	91,22 ± 0,46 <sup>cB</sup>
10,0	78,01 ± 0,89 <sup>aA</sup>	90,04 ± 0,44 <sup>bB</sup>	91,62 ± 0,12 <sup>cB</sup>

Letras iguais indicam não haver diferença estatística significativa entre os dados, ao nível de 5% de significância. Média de três repetições.

Percebe-se que houve um aumento com o tempo, do percentual de sequestro do DPPH. Então, mais uma vez a ANOVA também foi utilizada para se avaliar se havia diferença estatística entre os percentuais de sequestro de DPPH com o aumento do tempo. A ANOVA retornou um F foi bastante significativo (p-valor < 0,0000017), indicando diferenças estatísticas entre os tratamentos. A partir daí, partiu-se para as análises entre as médias de cada tempo, utilizando o teste de Tukey. A utilização de letras maiúsculas diferentes entre as colunas serviu para indicar que ocorreram diferenças estatísticas significativas (p < 0,05) entre os três tempos analisados.

Foi observado que o tempo de 1 minuto diferenciou-se dos tempos de 3 e 5 minutos (p < 0,01), porém, não ocorreram diferenças estatísticas significativas entre os tempos de 3 e 5 minutos. Isto sugere que a radiação pode ter provocado efeito catalisador, reduzindo o tempo necessário para se atingir a atividade máxima de sequestro de DPPH de 5 para 3 minutos, ou seja, a radiação parece ter provocado aumento da ação antioxidante do chá verde.

Mishra et al.<sup>13</sup> utilizou radiação em doses de até 10 kGy em folhas de chá verde e não obteve diferença significativa entre as amostras analisadas, resultado semelhante ao apresentado no extrato do tererê, *Ilex paraguariensis*, encontrados por Furgeri<sup>17</sup>. Por outro lado, JO et al.<sup>18</sup>, obteve diferença significativa na capacidade de sequestro do radical DPPH, irradiando chá verde na dose de 20 kGy.

Štajner<sup>19</sup> verificou que a irradiação gama de grãos de soja provocou alterações muito pequenas na peroxidação lipídica e no teor de proteínas solúveis, enquanto que a intensidade da oxidação proteica diminuiu significativamente quando a dose de 10 kGy foi aplicada. Seus resultados mostraram que o desempenho da capacidade antioxidante e a estabilidade proteica dos grãos de soja foram aumentados depois da aplicação da irradiação gama.

### 3.3 Crescimento e contagem da microbiota fúngica presente em amostras de chá verde

A contagem de colônias no meio DRBC para cada amostra mostrou que a irradiação diminuiu consideravelmente (100 x) a quantidade de colônias fúngicas nas amostras de chá

verde, a saber: não irradiada ( $1,34 \times 10^{-6}$  UFC/g), 5 kGy ( $1,2 \times 10^{-4}$  UFC/g), 7,5 kGy ( $5,6 \times 10^{-4}$  UFC/g) e 10 kGy ( $2,6 \times 10^{-4}$  UFC/g).

Aziz et al.<sup>20</sup>, *apud* Aquino et al.<sup>23</sup> em seu trabalho com plantas medicinais, mostraram que as contagens de microflora viável diminuíram quase que exponencialmente com o aumento das doses de radiação, e a dose efetiva na eliminação de fungos foi de 5 kGy para todas as plantas usadas.

Das amostras não irradiadas de chá verde, foram observados além de *Aspergillus* outros fungos usualmente contaminantes de alimentos, mas que não foram objetos de estudo. Por outro lado não foi observada em nenhuma das diluições, a presença da cor laranja indicativa da produção de aflatoxinas.

No entanto, nas matrizes que receberam tratamentos com irradiação nas doses de 5; 7,5 e 10 kGy, foi visualizada a presença de *Aspergillus* aflatoxigênicos, indicados pela presença da cor laranja no verso da placa com meio AFPA. Nas amostras irradiadas pela dose de 5 kGy a presença de aflatoxinas foi observada em duas repetições na diluição de  $10^{-2}$  e em duas repetições na diluição de  $10^{-3}$ .

Na amostra irradiada com a dose de 7,5 kGy, foram encontrados fungos produtores de aflatoxinas em uma repetição para as diluições de  $10^{-2}$  e para  $10^{-3}$ . Assim como nas doses de 5 e 7,5, a dose de 10 kGy, também apresentou fungos produtores de aflatoxinas, sendo observados os pontos laranja em uma repetição na diluição de  $10^{-2}$  e em três repetições na diluição de  $10^{-4}$ .

A presença de *Aspergillus* aflatoxigênicos em amostras irradiadas com 5 e 10 kGy demonstra a radiorresistência do gênero *Aspergillus* em chá verde, assim como a necessidade de se ampliar os estudos sobre a contaminação por este gênero em alimentos não usualmente indicados como de risco toxigênico.

Aquino<sup>22</sup>, em estudo da microbiota fúngica e da presença de micotoxinas em amostras de plantas medicinais irradiadas observou contaminação fúngica de 15% em amostras de Boldo, tratadas pelo processo de irradiação, com a dose de 5 kGy. Sendo *A. flavus* o fungo que apresentou crescimento em todas as placas, após os tratamentos. Em relação às amostras de Espinheira Santa, *Maytenus ilicifolia*, a contaminação foi de 15% e *A. flavus* foi o fungo mais resistente ao tratamento. Quanto ao Sene, *Cassia angustifolia*, após a irradiação, observou-se que 25% e 30% das amostras tratadas com a dose de 5 kGy apresentaram crescimento fúngico, respectivamente *Phoma* spp. (20%), *A. niger* (5%), e após 30 dias (10%) de *A. flavus*,<sup>22</sup>.

Os resultados podem indicar ainda que o meio utilizado pode ter estimulado o desenvolvimento fúngico por ser uma fonte de energia mais eficiente além de trazer em sua composição um micronutriente que estimularia um aumento do nível de expressão dos genes relacionados à produção de aflatoxina, o citrato férrico amoniacal<sup>24</sup>.

Além disso, o estímulo gerado pela radiação pode ter alterado importantes vias metabólicas, assim como possíveis alterações morfológicas ocasionadas pelo estresse do tratamento feito nas amostras de chá verde, gerando uma resposta de auto preservação estimulando seu crescimento.

Mironenko et al.<sup>25</sup> analisando o fungo *Alternaria alternata*, conhecido por se desenvolver em ambientes com elevada radiação e que já fora estudado como modelo para investigações genéticas a fim de explicar o fenômeno da radiorresistência destacou a sua presença em localidades poluídas com radioisótopos como o reator N°4 ChNPP em Chernobyl.

Os mecanismos de reparo do DNA são predominantemente responsáveis pela resistência à radiação e pode ter um papel importante na sobrevivência de fungos BOREHAM<sup>26</sup> *apud* Aquino et al.<sup>23</sup>. Quanto a radiorresistência do gênero *Aspergillus*<sup>27</sup>, observou-se que culturas fúngicas de cepas de *Aspergillus* aflatoxigênicos irradiados com acelerador de elétrons apresentaram degradação ligeiramente superior às irradiadas com radiação gama de  $^{60}\text{Co}$ .

Apesar de a comunidade científica, e órgãos internacionais como a FAO, OMS, e o *Codex Alimentarius*, liberarem o uso e garantirem a inocuidade dos alimentos tratados por radiações ionizantes, a sua aplicação em escala industrial continua limitada. Uma das questões está relacionada ao fato de que mesmo com o uso apropriado da técnica, ainda assim, ela não substitui a aplicação das Boas Práticas de Fabricação.

É possível que o uso das radiações ionizantes nos chás os torne aptos ao consumo do produto pela população, fato comprovado pela não alteração dos fenóis totais e atividade antioxidante das amostras irradiadas em contraponto com o controle (não irradiado).

Paralelamente, verifica-se a necessidade da adoção de boas práticas de manipulação e produção. Isto envolve um controle mais abrangente desde o plantio, colheita, armazenamento,

transporte e beneficiamento para assegurar a inocuidade do alimento já que a técnica de irradiação utilizada não exclui que tais medidas sejam tomadas pelos produtores, distribuidores e comerciantes.

#### 4. CONCLUSÃO

O uso da radiação gama não influencia na composição dos fenólicos do chá verde, apesar dos resultados mostrarem que ela pode ter provocado um aumento da capacidade antioxidante deste chá. A radiação gama nas doses de 5; 7,5 e 10 kGy é eficaz no controle microbiológico, mesmo não conseguindo eliminar os fungos aflatoxigênicos.

#### 5. AGRADECIMENTOS

A Professora Vera Arroxelas do Laboratório de Análises Físico-Químicas de Alimentos, Departamento de Ciências Domésticas da UFRPE. À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior, CAPES, pelo auxílio financeiro sem o qual não seria possível a realização deste trabalho.

- 
1. INMETRO - Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial. Informação ao Consumidor - Chá. 1998 [relatório na internet]. Acesso em 15.06.2011. Disponível em: <http://www.inmetro.gov.br/consumidor/produtos/cha.asp>.
  2. MATSUBARA, S. Polifenóis em chás comercializados no Brasil. Dissertação (mestrado). Departamento de Ciência de Alimentos. Faculdade de Engenharia de Alimentos – FEA. Universidade Estadual de Campinas. 2001.
  3. BRASIL. Ministério da Saúde. Resolução - CNNPA nº 12, de 1978. Decreto-Lei nº 986, de 21 de outubro de 1969. Institui normas básicas sobre alimentos. Brasília-DF, 1969. Disponível em: [http://www.anvisa.gov.br/legis/resol/12\\_78.htm](http://www.anvisa.gov.br/legis/resol/12_78.htm). Acessado em 17/11/2011.
  4. ROCHA, M. A. A.; SOUSA, Q-H. F. Irradiação de alimentos - O uso de alimentos irradiados no tratamento de pacientes com baixa imunidade. UNIP/ Brasília-DF, setembro de 2007. Disponível em <http://www.crr01.org.br/html/pdf/irradiacao.pdf>. Acesso em 01.05.2011.
  5. BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução - RDC nº 21, de 26 de janeiro de 2001, da Secretária de Vigilância Sanitária, do Ministério da Saúde. REGULAMENTO TÉCNICO PARA IRRADIAÇÃO DE ALIMENTOS. Disponível em: [http://www.anvisa.gov.br/legis/resol/21\\_01rdc.htm](http://www.anvisa.gov.br/legis/resol/21_01rdc.htm), acessado em 08 de maio de 2011.
  6. WETTASINGHE, M.; SHAHIDI, F. Evening primrose meal: a source of natural antioxidants and scavenger of hydrogen peroxide and oxygen-derived free radicals. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v.47, p.1801-1812, 1999.
  7. BRAND-WILLIAMS W.; CUVELIER M.E.; BERSET C. Use of a free method to evaluate antioxidant activity. *Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie*, v.28, p.25-30, 1995.
  8. MILIAUSKAS G.; VENSKUTONIS P.R.; van BEEK, T.A. Screening of radical scavenging activity of some medicinal and aromatic plant extracts. *Food Chemistry*, v.85, p.231-237, 2004.
  9. SILVA, N.; JUNQUEIRA, V. C. A.; SILVEIRA, N. F. A. Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos. 3ª Edição – São Paulo: Livraria Varela, 552p. 2007.
  10. KOSEKI, P. M.; VILLAVICENCIO, A. L. C. H.; BRITO, M. S.; NAHME, L. C.; SEBASTIÃO, K. I.; RELA, P. R.; ALMEIDA-MURADIAN, L. B.; MANCINI-FILHO, J.; FREITAS, P. C. D. Effects of irradiation in medicinal and eatable herbs. *Radiation Physics and Chemistry*, v. 63, p. 681-684. 2002.
  11. MISHRA, B.B.,Gautam,S.,Sharma,A.,2006.Microbialdecontaminationoftea (*Camellia sinensis*) bygammaradiation.*J.FoodSci.*71(6),M151–M156. HARRISON, K.; WERE L.M. Effect of gamma irradiation on total phenolic content yield and M.W. Effect of gamma irradiation on microbial analysis, antioxidant activity, sugar content and color of ready-to-use tamarind during storage. *LWD - Food Sci. Tech.*,v.42, p.101-105, 2009.
  12. LEE, J.W.; KIM, J.K.; SRINIVASAN, P. CHOI, J.; KIM J.H.; HAN, S.B.; KIM, D.; BYUN, LIMA, J. D.; SILVA, R. B.; MAZZAFERA, P.; MORAES, W. S.. Chá: aspectos relacionados à qualidade e perspectivas - Revisão bibliográfica. *Ciência Rural*, Santa Maria, v.39, n.4, p.1270-1278, jul, 2009.

13. VILLAVICENCIO, A.L.C.H.; MANCINI-FILHO, J.; DELINCEÉ, H.; GREINER R. Effect of irradiation on anti-nutrients (total phenolics, tannins and phytate) in brazilian beans. *Rad. Phys. Chem.*, v. 57, n. 3-6, p. 299, 2000.
14. FURGERI, C., Nunes, T.C.F., Fanaro, G.B., Souza, M.F.F., Bastos, D.H.M., Villavicencio, A.L.C.H. Evaluation of phenolic compounds in maté (*Ilex paraguariensis*) processed by gamma radiation. *Radiation Physics and Chemistry.* , v.78, p.639 - 641, 2009.
15. JO, C.; JEONG, S.; KIM S., PARK, E.; LEE, S. Effect of irradiation on the antioxidative and antigenotoxic activities of a green tea leaf and stem extract. *Inter. J. Food Sci. Tech.*, v. 43 p. 400–405, 2008.
16. ŠTAJNER, D.; MILOSEVIC, M.; POPOVIC, B. M. Irradiation Effects on Phenolic Content, Lipid and Protein Oxidation and Scavenger Ability of Soybean Seeds. *International Journal of Molecular Sciences*, v. 8, p. 618-627. 2007.
17. AZIZ, N.H.; EL-FOULY, M.Z.; ABU-SHADY, M.R.; MOUSSA, L.A.A. Effect of gamma radiation on the survival of fungal and actinomycetal floras contaminating medicinal plants. *Appl Radiat Isot.* 48(1):71-6; 1997.
18. AQUINO, S. Efeitos da radiação gama no crescimento de *Aspergillus flavus* produtor de aflatoxinas e no emprego da técnica da reação em cadeia de polimerase (PCR) em amostras de grãos de milho inoculadas artificialmente. Dissertação (mestrado) – Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, São Paulo. 2003.
19. AQUINO, S. Avaliação da microbiota fúngica e da presença de micotoxinas em amostras de plantas medicinais irradiadas adquiridas no comércio varejista e Atacadista. (Tese) Área de Tecnologia Nuclear - Aplicações. IPEN - Instituto De Pesquisas Energéticas E Nucleares. Autarquia associada à Universidade de São Paulo. São Paulo. 2007
20. AQUINO, S., NUNES T.C.F., CORRÊA B. Efeito da radiação gama nas propriedades sensoriais, atividade de água e micobiota de arroz. *ConScientiae Saúde*.10(2):215-222. 2011.
21. PEREIRA, M. M. G.; CARVALHO, E. P; PRADO, G. Crescimento e produção de aflatoxinas por *Aspergillus flavus* e *Aspergillus parasiticus*. B.CEPBP.AC,E CPuPrAit,ib Ca,u rvi.t ib2a0,vn.. 210, pn. . 114,1 j-a1n5.6/j,u nja. n2./0ju0n2. 2002.
22. MIRONENKO, N.V.; ALEKHINA, I.A.; ZHDANOVA, N.N.; BULAT, S.A. Intraspecific variation in gamma-radiation resistance and genomic structure in the filamentous fungus *Alternaria alternata*: a case study of strains inhabiting Chernobyl reactor nº. 4 *Ecotox Environ Safety.* 45:177-87. 2000.
23. BOREHAM, D.R.; MITCHEL REJ. Heat and radiation stress response regulation in yeast by HSP104. *Radiat Res.*137:190-5. 1994
24. ROGOVSCHI, V. D. Degradação por radiação de resíduos biológicos (aflatoxinas) produzidos em laboratório de alimentos.São Paulo. Dissertação apresentada como parte dos requisitos para obtenção do Grau de Mestre em Ciências na Área de Tecnologia Nuclear – Aplicações. 2009.