



AUTARQUIA ASSOCIADA À UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

**EFEITOS DA RADIAÇÃO IONIZANTE EM CORANTES  
NATURAIS DE USO ALIMENTÍCIO**

**HÉLIO MORRONE COSENTINO**

**Tese apresentada como parte dos  
requisitos para obtenção do Grau de  
Doutor em Ciências na Área de  
Tecnologia Nuclear - Aplicações.**

**Orientadora:  
Dra. Nélida Lúcia Del Mastro**

**São Paulo  
2005**

**INSTITUTO DE PESQUISAS ENERGÉTICAS E NUCLEARES - IPEN /CNEN/SP**

**Autarquia associada à Universidade de São Paulo**

**EFEITOS DA RADIAÇÃO IONIZANTE EM CORANTES NATURAIS DE USO  
ALIMENTÍCIO**

**HÉLIO MORRONE COSENTINO**

**São Paulo**

**2005**

**INSTITUTO DE PESQUISAS ENERGÉTICAS E NUCLEARES - IPEN /CNEN/SP**

**Autarquia associada à Universidade de São Paulo**

**EFEITOS DA RADIAÇÃO IONIZANTE EM CORANTES NATURAIS DE USO  
ALIMENTÍCIO**

**HÉLIO MORRONE COSENTINO**



Tese apresentada como parte dos requisitos para obtenção do grau de Doutor em Ciências na área de Tecnologia das Radiações e Aplicações.

Orientadora: Dra. Nélida Lúcia Del Mastro

São Paulo

Agosto de 2005



*Agradeço ao Doutor Nikolai Sharapin, que me ensinou a exercer a química e a física de forma efetiva, partindo de um texto e chegando a uma tonelada de um produto. À Doutora Petra Sanchez Sanchez, que me ensinou pela primeira vez construir e formalizar um pensamento científico. À Doutora Nélide Lúcia Del Mastro, que me deu ampla e total liberdade de criar, amadurecer e exercitar meus conhecimentos, porém esteve sempre vigilante para que eu buscasse a simplicidade dos métodos e da comunicação.*

# EFEITOS DA RADIAÇÃO IONIZANTE EM CORANTES NATURAIS DE USO ALIMENTÍCIO

HÉLIO MORRONE COSENTINO

## RESUMO

O rápido crescimento da população mundial e o conseqüente aumento da demanda por alimentos, têm levado o homem a aperfeiçoar tecnologias que garantam o fornecimento mais seguro destes suprimentos. Destaca-se o processamento por radiação de alimentos e seus constituintes como uma técnica alternativa viável capaz de atender os requisitos de segurança alimentar. Corantes naturais são amplamente utilizados na indústria de alimentos graças a suas propriedades de incrementar a cor de produtos alimentícios. Este trabalho teve por objetivo o estudo do efeito da radiação ionizante em três corantes naturais: o ácido carmínico e seus derivados (corantes de cochonilha) , bixina e seus sais (corantes de urucum) e curcumina (corante da cúrcuma) , utilizados na indústria de alimentos e cosméticos, na gama de diluições e doses a que os produtos poderão vir a ser processados, esclarecendo a compatibilidade da aplicação da técnica de irradiação com a preservação de importante atributo sensorial que é a cor do produto. Os métodos analíticos empregados foram espectrofotometria e eletroforese capilar. Em geral foi observada uma diminuição da cor proporcional ao aumento da dose de radiação gama aplicada (1 a 32kGy). Os corantes de carmim revelaram-se bastante estáveis frente à radiação. Os corantes de urucum resultaram moderadamente estáveis e a cúrcuma mostrou ser altamente sensível à ação da radiação. Estes resultados deverão ser levados em consideração em quanto à necessidade de modificar a quantidade do aditivo na formulação de produtos que poderão ser submetidos ao processamento por radiação.

**Palavras-chave:** alimentos; aditivos; corantes naturais; radiação; carmim; ácido carmínico; urucum; bixina; cúrcuma; curcumina; espectrofotometria; eletroforese capilar.

## EFFECTS OF THE IONIZING RADIATION IN NATURAL FOOD COLOURS

HÉLIO MORRONE COSENTINO

### ABSTRACT

The world's fast growing population and its consequent increase in demand for food has driven mankind into improving technologies which ensure a safer supply of such commodities. Both food radiation processing and its constituents are highlighted as a feasible alternative technique capable of meeting food safety standards. Natural dyes are extensively employed in the food industry thanks to their colour enhancing properties on food products. This paper has aimed at studying the effects of ionizing radiation on three natural dyes: carminic acid and its derivatives (cochineal dyes), bixine and its salts (annatto dyes) and curcumin (turmeric dyes), used in the food and cosmetic industries within dilutions and doses those goods might eventually be processed in. It also envisages clarifying the compatibility of the irradiation technique with the keeping of such relevant sensorial attribute which is the product colour. Spectrophotometry and capillary electrophoresis were the analytic methods employed. All in all, a colour decrease proportional to the increase on the applied gamma radiation (1 to 32kGy) has been observed. The annatto dyes have proven moderately stable whereas turmeric has shown to be highly sensitive to radiation. Those results shall be taken into account as far as the need to alter the formulae additive amount in the product is concerned whenever undergoing radiation processing.

**Key-words:** food; additives; natural dyes; radiation; carmin; carminic acid; annatto, bixine; turmeric; curcumin; spectrophotometry; capillary electrophoresis.

## SUMÁRIO

	Página
<b>1. INTRODUÇÃO.....</b>	<b>1</b>
1.1 Considerações Gerais.....	1
1.2 Objetivo.....	4
<b>2. REVISÃO DA LITERATURA.....</b>	<b>5</b>
2.1 Corantes.....	5
2.1.1 Características físico-químicas de um corante.....	5
2.1.2 Legislação sobre corantes.....	9
2.1.3 Análise do grau de pureza de corantes alimentícios.....	12
2.1.4 Espectrofotometria.....	13
2.1.5 Eletroforese capilar (EC).....	17
2.1.6 Ácido carmínico e seus derivados.....	21
2.1.7 Carotenóides de urucum – bixina e norbixina.....	26
2.1.8 Cúrcuma e curcumina.....	31
2.2 Interação da radiação com a matéria.....	33
2.2.1 Radiólise da água.....	37
2.3 Legislação sobre irradiação de alimentos.....	39
2.4 Estabilidade dos corantes.....	39



<b>3.MATERIAIS E MÉTODOS.....</b>	<b>42</b>
3.1 Materiais.....	42
3.2 Métodos.....	44
3.2.1 Preparação das amostras.....	44
3.2.2 Determinações por espectrofotometria.....	45
3.2.2.1 Determinação do ácido carmínico em carmim de cochonilha por fotometria.....	45
3.2.2.2 Determinação de carotenóides totais expressos como bixina e norbixina em corantes de urucum por fotometria.....	46
3.2.2.3 Determinação do teor de matéria corante total em cúrcuma por fotometria.....	47
3.2.3 Determinações por eletroforese capilar (EC).....	47
3.2.3.1 Determinação de ácido carmínico em carmim de cochonilha por eletroforese capilar.....	47
3.2.3.2 Determinação de bixina em compostos de urucum por eletroforese capilar.....	48
3.2.3.3 Determinação de curcumina em compostos de cúrcuma por eletroforese capilar.....	48
3.2.4 Irradiações.....	49
<b>4.RESULTADOS.....</b>	<b>50</b>
4.1 Corante de carmim de cochonilha.....	50
4.1.1 Espectrofotometria do carmim de cochonilha.....	50
4.1.2 Eletroforese capilar do carmim de cochonilha.....	55
4.2 Corante de urucum.....	57

4.2.1 Espectrofotometria do urucum.....	57
4.2.2 Eletroforese capilar do urucum.....	62
4.3 Corante de cúrcuma.....	64
4.3.1 Espectrofotometria da cúrcuma.....	64
4.3.2 Eletroforese capilar da cúrcuma.....	69
<b>5. DISCUSSÃO.....</b>	<b>71</b>
<b>6.CONCLUSÕES E RECOMENDAÇÕES.....</b>	<b>76</b>
<b>APÊNDICE.....</b>	<b>78</b>
Apêndice – Detalhes dos resultados analíticos.....	78
Apêndice –Tratamento estatístico carmim de cochonilha.....	102
Apêndice –Tratamento estatístico urucum.....	109
Apêndice –Tratamento estatístico cúrcuma.....	116
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>123</b>

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Representação de componentes físicos da energia radiante.....	5
Figura 2	Representação da alteração do nível de energia de uma molécula (M) por influência de uma onda eletromagnética.....	6
Figura 3	Formas de decaimento de estados excitados.....	7
Figura 4	Grupos cromóforos típicos presentes em corantes.....	9
Figura 5	Princípios do funcionamento de um espectrofotômetro.....	14
Figura 6	Absorção de um feixe luminoso por uma amostra durante uma análise espectrofotométrica.....	15
Figura 7	Esquema simplificado do funcionamento de um sistema de eletroforese capilar.....	18
Figura 8	Mecanismos de formação de cargas e fluxo eletrosmótico nos capilares.....	20
Figura 9	Representação estrutural da molécula de ácido carmínico.....	22
Figura 10	Representação estrutural de algumas moléculas de carotenóides encontrados em urucum .....	27
Figura 11	Representação estrutural da molécula de curcumina.....	31
Figura 12	Carmim em pó – Absorbância em função da dose de radiação gama.....	50
Figura 13	Tintura de carmim – Absorbância em função da dose de radiação gama.....	50
Figura 14	Tintura de carmim 10% v/v – Absorbância em função da dose de radiação gama.....	50
Figura 15	Tintura de carmim 5% v/v – Absorbância em função da dose de radiação gama.....	50
Figura 16	Carmim em pó – Comparativo do espectro de absorção da amostra não irradiada e da amostra irradiada com dose de 32 kGy.....	52

Figura 17	Tintura de carmim – Comparativo do espectro de absorção da amostra não irradiada e da amostra irradiada com dose de 32 kGy.....	52
Figura 18	Tintura de carmim 10% v/v – Comparativo do espectro de absorção da amostra não irradiada e da amostra irradiada com dose de 32 kGy.....	52
Figura 19	Tintura de carmim a 5% – Comparativo do espectro de absorção da amostra não irradiada e da amostra irradiada com dose de 32 kGy.....	52
Figura 20	Carmim em pó – Eletroferograma comparativo de doses.....	55
Figura 21	Tintura de carmim – Eletroferograma comparativo de doses.....	55
Figura 22	Tintura de carmim 10% v/v – Eletroferograma comparativo de doses.....	55
Figura 23	Tintura de carmim 5% v/v – Eletroferograma comparativo de doses.....	55
Figura 24	Tintura de urucum – Absorbância em função da dose de radiação gama.....	57
Figura 25	Tintura de urucum 50% v/v – Absorbância em função da dose de radiação gama.....	57
Figura 26	Tintura de urucum 10% v/v – Absorbância em função da dose de radiação gama.....	57
Figura 27	Tintura de urucum 5% v/v – Absorbância em função da dose de radiação gama.....	57
Figura 28	Tintura de urucum – Comparativo do espectro de absorção da amostra não irradiada e da amostra irradiada com dose de 32 kGy.....	59
Figura 29	Tintura de urucum 50% v/v – Comparativo do espectro de absorção da amostra não irradiada e da amostra irradiada com dose de 32 kGy.....	59
Figura 30	Tintura de urucum 10% v/v – Comparativo do espectro de absorção da amostra não irradiada e da amostra irradiada com dose de 32 kGy.....	59

Figura 31	Tintura de urucum 5% v/v – Comparativo do espectro de absorção da amostra não irradiada e da amostra irradiada com dose de 32 kGy.....	59
Figura 32	Tintura de urucum – Eletroferograma comparativo de doses.....	62
Figura 33	Tintura de urucum 50% v/v – Eletroferograma comparativo de doses.....	62
Figura 34	Tintura de urucum 10% v/v – Eletroferograma comparativo de doses.....	62
Figura 35	Tintura de urucum 5% v/v – Eletroferograma comparativo de doses.....	62
Figura 36	Tintura de cúrcuma – Absorbância em função da dose de radiação gama.....	64
Figura 37	Tintura de cúrcuma 50% v/v – Absorbância em função da dose de radiação gama.....	64
Figura 38	Tintura de cúrcuma 10% v/v – Absorbância em função da dose de radiação gama.....	64
Figura 39	Tintura de cúrcuma 5% v/v – Absorbância em função da dose de radiação gama.....	64
Figura 40	Tintura de cúrcuma – Comparativo do espectro de absorção da amostra não irradiada e da amostra irradiada com dose de 32 kGy.....	66
Figura 41	Tintura de cúrcuma 50% v/v – Comparativo do espectro de absorção da amostra não irradiada e da amostra irradiada com dose de 32 kGy.....	66
Figura 42	Tintura de cúrcuma 10% v/v – Comparativo do espectro de absorção da amostra não irradiada e da amostra irradiada com dose de 32 kGy.....	66
Figura 43	Tintura de cúrcuma 5% v/v – Comparativo do espectro de absorção da amostra não irradiada e da amostra irradiada com dose de 32 kGy.....	66
Figura 44	Tintura de cúrcuma – Eletroferograma comparativo de doses.....	69
Figura 45	Tintura de cúrcuma 50% v/v – Eletroferograma comparativo de doses.....	69

Figura 46	Tintura de cúrcuma 10% v/v – Eletroferograma comparativo de doses.....	69
Figura 47	Tintura de cúrcuma 5% v/v – Eletroferograma comparativo de doses.....	69
Figura 48	Histograma da distribuição das absorbâncias em função das doses para corantes de carmim de cochonilha.....	103
Figura 49	Carmim em pó – Intervalo de confiança para a média ( $\beta = 95\%$ ).....	104
Figura 50	Tintura de carmim - Intervalo de confiança para a média ( $\beta = 95\%$ ).....	104
Figura 51	Tintura de carmim 10 % - Intervalo de confiança para a média ( $\beta = 95\%$ ).....	104
Figura 52	Tintura de carmim 5% - Intervalo de confiança para a média ( $\beta = 95\%$ ).....	104
Figura 53	Histograma da distribuição das absorbâncias em função das doses para corantes de urucum.....	110
Figura 54	Tintura de urucum – Intervalo de confiança para a média ( $\beta = 95\%$ ).....	111
Figura 55	Tintura de urucum 50% v/v - Intervalo de confiança para a média ( $\beta = 95\%$ ) .....	111
Figura 56	Tintura de urucum 10 % - Intervalo de confiança para a média ( $\beta = 95\%$ ) .....	111
Figura 57	Tintura de urucum 5% - Intervalo de confiança para a média ( $\beta = 95\%$ ).....	111
Figura 58	Histograma da distribuição das absorbâncias em função das doses para corantes de cúrcuma .....	117
Figura 59	Tintura de cúrcuma – Intervalo de confiança para a média ( $\beta = 95\%$ ) .....	118
Figura 60	Tintura de cúrcuma 50% v/v - Intervalo de confiança para a média ( $\beta = 95\%$ ) .....	118
Figura 61	Tintura de cúrcuma 10 % - Intervalo de confiança para a média ( $\beta = 95\%$ ) .....	118

Figura 62	Tintura de cúrcuma 5% - Intervalo de confiança para a média ( $\beta$ = 95%) .....	118
-----------	--	-----

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Transições moleculares e seus efeitos em relação ao espectro...	8
Tabela 2	Limites para uso de corantes conforme Legislação Brasileira.....	11
Tabela 3	Relação entre absorvância e transmitância.....	16
Tabela 4	Relação entre cores complementares e visíveis .....	17
Tabela 5	Preços e volume de exportação de sementes de urucum do Peru .....	29
Tabela 6	Preços pagos no campo aos produtores peruanos de sementes de urucum.....	30
Tabela 7	Aplicação da radiação ionizante no processamento de alimentos	35
Tabela 8	Reações relacionadas à radiólise da água.....	38
Tabela 9	Variação da cor das amostras de carmim de cochonilha.....	53
Tabela 10	Eletroforese do carmim de cochonilha – Comparativo entre os valores de área do ácido carmínico na amostra não irradiada e da amostra irradiada com 32 kGy.....	56
Tabela 11	Variação da Cor das amostras de urucum.....	60
Tabela 12	Eletroforese do urucum – Comparativo entre os valores de área do carotenóide bixina na amostra não irradiada e na amostra irradiada com 32 kGy.....	63
Tabela 13	Variação de cor das amostras de cúrcuma.....	67
Tabela 14	Eletroforese da cúrcuma – Comparativo entre os valores de área da curcumina na amostra não irradiada e na amostra irradiada com 32 kGy.....	70
Tabela 15	Carmim em pó – Valores de absorvância em função da dose de radiação gama.....	78
Tabela 16	Carmim em pó – Parâmetros estatísticos da absorvância em função da dose de radiação gama.....	78
Tabela 17	Carmim em pó – Espectro de absorção da amostra não irradiada.....	79



Tabela 18	Carmim em pó – Espectro de absorção da amostra irradiada com dose de 32 kGy.....	79
Tabela 19	Tintura de carmim – Valores de absorbância em função da dose de radiação gama.....	80
Tabela 20	Tintura de carmim – Parâmetros estatísticos da absorbância em função da dose de radiação gama.....	80
Tabela 21	Tintura de carmim – Espectro de absorção da amostra não irradiada.....	81
Tabela 22	Tintura de carmim – Espectro de absorção da amostra irradiada com dose de 32 kGy.....	81
Tabela 23	Tintura de carmim 10% v/v – Valores de absorbância em função da dose de radiação gama.....	82
Tabela 24	Tintura de carmim 10% v/v – Parâmetros estatísticos da absorbância em função da dose de radiação gama.....	82
Tabela 25	Tintura de carmim 10% v/v – Espectro de absorção da amostra não irradiada.....	83
Tabela 26	Tintura de carmim 10% v/v – Espectro de absorção da amostra irradiada com dose de 32 kGy.....	83
Tabela 27	Tintura de carmim 5% v/v – Valores de absorbância em função da dose de radiação gama.....	84
Tabela 28	Tintura de carmim 5% v/v – Parâmetros estatísticos da absorbância em função da dose de radiação gama.....	84
Tabela 29	Tintura de carmim 5% v/v – Espectro de absorção da amostra não irradiada.....	85
Tabela 30	Tintura de carmim 5% v/v – Espectro de absorção da amostra irradiada com dose de 32 kGy.....	85
Tabela 31	Tintura de urucum – Valores de absorbância em função da dose de radiação gama.....	86
Tabela 32	Tintura de urucum – Parâmetros estatísticos da absorbância em função da dose de radiação gama.....	86
Tabela 33	Tintura de urucum – Espectro de absorção da amostra não irradiada.....	87

Tabela 34	Tintura de urucum – Espectro de absorção da amostra irradiada com dose de 32 kGy.....	87
Tabela 35	Tintura de urucum 50% v/v – Valores de absorbância em função da dose de radiação gama.....	88
Tabela 36	Tintura de urucum 50% v/v – Parâmetros estatísticos da absorbância em função da dose de radiação gama.....	88
Tabela 37	Tintura de urucum 50% v/v – Espectro de absorção da amostra não irradiada.....	89
Tabela 38	Tintura de urucum 50% v/v – Espectro de absorção da amostra irradiada com dose de 32 kGy.....	89
Tabela 39	Tintura de urucum 10% v/v – Valores de absorbância em função da dose de radiação gama.....	90
Tabela 40	Tintura de urucum 10% v/v – Parâmetros estatísticos da absorbância em função da dose de radiação gama.....	90
Tabela 41	Tintura de urucum 10% v/v – Espectro de absorção da amostra não irradiada.....	91
Tabela 42	Tintura de urucum 10% v/v – Espectro de absorção da amostra irradiada com dose de 32 kGy.....	91
Tabela 43	Tintura de urucum 5% v/v – Valores de absorbância em função da dose de radiação gama.....	92
Tabela 44	Tintura de urucum 5% v/v – Parâmetros estatísticos da absorbância em função da dose de radiação gama.....	92
Tabela 45	Tintura de urucum 5% v/v – Espectro de absorção da amostra não irradiada.....	93
Tabela 46	Tintura de urucum 5% v/v – Espectro de absorção da amostra irradiada com dose de 32 kGy.....	93
Tabela 47	Tintura de cúrcuma – Valores de absorbância em função da dose de radiação gama.....	94
Tabela 48	Tintura de cúrcuma – Parâmetros estatísticos da absorbância em função da dose de radiação gama.....	94
Tabela 49	Tintura de cúrcuma – Espectro de absorção da amostra não irradiada.....	95

Tabela 50	Tintura de cúrcuma – Espectro de absorção da amostra irradiada com dose de 32 kGy.....	95
Tabela 51	Tintura de cúrcuma 50% v/v – Valores de absorbância em função da dose de radiação gama.....	96
Tabela 52	Tintura de cúrcuma 50% v/v – Parâmetros estatísticos da absorbância em função da dose de radiação gama.....	96
Tabela 53	Tintura de cúrcuma 50% v/v – Espectro de absorção da amostra não irradiada.....	97
Tabela 54	Tintura de cúrcuma 50% v/v – Espectro de absorção da amostra irradiada com dose de 32 kGy.....	97
Tabela 55	Tintura de cúrcuma 10% v/v – Valores de absorbância em função da dose de radiação gama.....	98
Tabela 56	Tintura de cúrcuma 10% v/v – Parâmetros estatísticos da absorbância em função da dose de radiação gama.....	98
Tabela 57	Tintura de cúrcuma 10% v/v – Espectro de absorção da amostra não irradiada.....	99
Tabela 58	Tintura de cúrcuma 10% v/v – Espectro de absorção da amostra irradiada com dose de 32 kGy.....	99
Tabela 59	Tintura de cúrcuma 5% v/v – Valores de absorbância em função da dose de radiação gama.....	100
Tabela 60	Tintura de cúrcuma 5% v/v – Parâmetros estatísticos da absorbância em função da dose de radiação gama.....	100
Tabela 61	Tintura de cúrcuma 5% v/v – Espectro de absorção da amostra não irradiada.....	101
Tabela 62	Tintura de cúrcuma 5% v/v – Espectro de absorção da amostra irradiada com dose de 32 kGy.....	101
Tabela 63	Tabela ANOVA de duplo fator sem repetição para os corantes de camim de cochoilha.....	107
Tabela 64	Tabela ANOVA de duplo fator sem repetição para os corantes de urucum.....	114
Tabela 65	Tabela ANOVA de duplo fator sem repetição para os corantes de cúrcuma.....	121

## 1. INTRODUÇÃO

### 1.1. CONSIDERAÇÕES GERAIS

O rápido crescimento da população mundial e o conseqüente aumento da demanda por alimentos, têm levado o homem a aperfeiçoar tecnologias que garantam fornecimento mais seguro destes suprimentos. Novas formas de obtenção, processamento e estocagem têm sido criados ao longo do tempo, uma vez que o comércio de tais produtos é um dos principais itens de um mercado em permanente expansão, representando forte apelo econômico local e internacional.

A dificuldade em atender os padrões de qualidade internacionais tem sido mais um fator restritivo a um livre comércio entre as nações, agravando o balanço mundial nas relações de oferta e procura por alimentos. Os países com maior nível de desenvolvimento, os maiores consumidores, têm exigido produtos mais sofisticados não somente em qualidade, mas também em diversidade, induzindo o mercado a oferecer itens bastante elaborados na forma de apresentação e aparência. Nestes aspectos, a utilização dos chamados *aditivos alimentares* é preponderante, uma vez que contribuem para a melhoria de qualidade e de aspectos sensoriais nos alimentos.

A ingestão de alimentos sempre possuiu aspectos culturais, simbólicos e até espirituais, além da função de nutrir, como é o caso de certos rituais de tribos primitivas [1]. Para os padrões do homem contemporâneo ocidental, um xarope de cor vermelha brilhante, por exemplo, apresenta-se mais ligado à idéia de saúde do que seu correspondente de coloração marrom esverdeada.

A evolução da indústria alimentícia mundial tem gerado a necessidade do emprego crescente de compostos químicos e tecnologias, com o intuito de melhorar

a qualidade e o aspecto final de seus produtos, atendendo a requisitos de mercado e legislações governamentais. O uso de aditivos alimentícios, como os corantes, merece um estudo específico em relação a sua sensibilidade frente às radiações ionizante, cuja aplicação vem sendo apontada como tecnologia promissora na conservação de alimentos [2].

Atender a uma lacuna nessa área, ou seja, estabelecer a correlação entre o comportamento de corantes naturais utilizados em alimentos e a radiação, tema ainda não abordado na literatura, é relevante, uma vez que a cor é o fator de primeiro impacto junto ao consumidor.

A irradiação de alimentos é uma tecnologia de processamento de alimentos com uma série de atributos importantes. Primeiramente, incrementa a qualidade higiênica através da redução de microorganismos patogênicos e em segundo lugar reduz aqueles organismos responsáveis pela deterioração, com conseqüente extensão da vida-de-prateleira. De maneira semelhante a qualquer outro processo, a técnica de irradiação de alimentos deve ser aplicada adequadamente. Deve ser levado em consideração o tipo mais apropriado de radiação, bem como a aplicação da dose adequada para determinado objetivo. Outras importantes variáveis do processo devem ser também consideradas, tais como, temperatura e atmosfera (presença ou ausência de oxigênio). Além de poder ser aplicada em produtos a granel, a irradiação pode ser aplicada em produtos já embalados e prontos para o consumo [3].

A possibilidade de que subprodutos gerados pela degradação de compostos durante sua irradiação (radiólise) poderiam ser prejudiciais à saúde foi por muito tempo um obstáculo para a aceitabilidade de alimentos submetidos à irradiação. Felizmente, contudo, a Organização Mundial da Saúde (OMS) publicou

em 1999 um documento no qual fica estabelecido a salubridade dos alimentos irradiados mesmo com altas doses [4].

O consumidor desenvolveu ao longo do tempo critérios mais rígidos na hora de selecionar seus alimentos, preferindo produtos que julga serem mais seguros. Mais especificamente, no caso de corantes alimentícios, prefere alimentos que tenham sido adicionados de corantes naturais. Dessa forma espera resguardar sua saúde e não sofrer efeitos nocivos como os causados por alguns corantes derivados do petróleo e hulha, como as anilinas [5].

Dentre os chamados corantes naturais alimentícios e cosméticos, destacam-se alguns de uso bastante corrente no mercado, como a curcumina, ácido carmínico (e suas lacas) e bixina (e seus sais). Tais corantes permitem, conforme sua forma de apresentação e concentração, colorir produtos proporcionando-lhes tons que vão desde o amarelo claro, passando pelo laranja e vermelho, alcançando até o violeta intenso.

Essa diversidade de cores permite a utilização destes corantes em uma enorme gama de produtos tais como, produtos lácteos, bebidas, doces e condimentos, produtos cárneos, massas e pães.

O efeito da degradação de poluentes em efluentes de indústrias têxteis por ação da radiação é conhecido e aplicado para tratar águas poluídas [6][7]. Entretanto, a estabilidade frente à radiação de corantes naturais que integram a composição de alimentos, e que são responsáveis em grande parte pela sua boa aceitabilidade, não foi até agora abordada.

Estima-se que em 2004 o mercado de corantes alimentícios movimentou na Europa €195 milhões. O mercado de corantes como um todo, no período de 2001 a 2008 tem uma expectativa de crescimento de 1% ao ano, contrastando com um

crescimento previsto de 10 a 15% para os corantes naturais alimentícios (incluem-se concentrados de vegetais e frutas e extratos concentrados e secos) [8].

## 1.2. OBJETIVO

O presente trabalho tem por objetivo o estudo do efeito da radiação ionizante de  $^{60}\text{Co}$  em corantes tais como o ácido carmínico e seus derivados, bixina e seus sais e curcumina, utilizados na indústria de alimentos e cosméticos, na gama de doses a que os produtos possam ser processados. Para tanto, foram utilizadas técnicas analíticas de espectrofotometria e eletroforese capilar aplicadas em diversas diluições dos corantes mencionados. Em face aos resultados obtidos, este trabalho objetiva contribuir com recomendações de uso desses corantes pela indústria de alimentos nos casos de utilização de processamento por radiação.

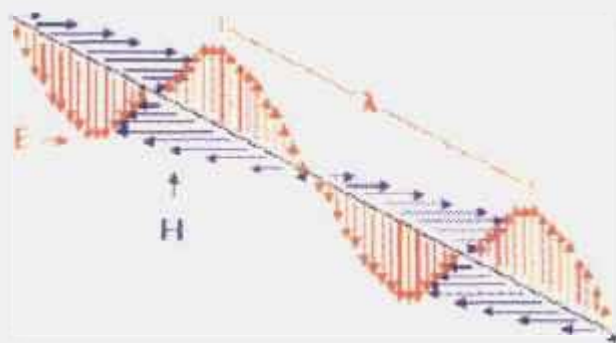
## 2. REVISÃO DA LITERATURA

### 2.1 CORANTES

Os corantes são uma classe de aditivos alimentares adicionados a alimentos, bebidas e cosméticos, com o único objetivo de conferir-lhes cor. Não possuem valor nutricional e seu uso, exclusivamente estético, é primordialmente justificado por motivos comerciais.

#### 2.1.1 CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS DE UM CORANTE

Do ponto de vista físico-químico a cor é resultado de uma série de interações que ocorre na matéria, mais especificamente em grupamentos ou associações de átomos ou moléculas que são denominados *cromóforos*, e suas respectivas capacidades de emitirem energia radiante em processos de absorção e emissão de energia. Em certos momentos a energia radiante assume características de uma onda eletromagnética, representada na FIG. 1, e em outros pode ser considerada como que constituída por uma série de pacotes de energia, denominados *fótons* [9].



$\lambda$  = comprimento da onda / E = vetor elétrico / H = vetor magnético

FIGURA 1 – Representação de componentes físicos da energia radiante



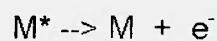
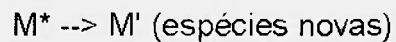
A ação da radiação eletromagnética sobre os cromóforos origina uma diferença de potencial em sua energia eletrônica e/ou cinética de seus constituintes. Comumente, a absorção de energia pelas moléculas em *estado basal* (fundamental) transmuta-se em energia translativa, rotacional ou vibracional, ou seja, as moléculas alcançam novos níveis de energia, dito como *excitados*. Os novos estados energéticos ocorrem de forma discreta. Assim, somente determinados valores são alcançados e o comprimento da onda incidente sobre os cromóforos está diretamente associado às variações de energia do processo [9], como ilustrado na FIG. 2.



FIGURA 2 – Representação da alteração do nível de energia de uma molécula (M) por influência de uma onda eletromagnética

O acréscimo desta quantidade de energia ao sistema cromóforo costuma instabilizá-lo. O retorno ao estado fundamental pode gerar calor, radiação e formar novas espécies químicas, cuja representação simplificada do mecanismo seria:

$M + \text{energia radiante} \rightarrow M^*$  (estado excitado), onde podem ocorrer:



Uma representação detalhada do fenômeno é apresentada na FIG. 3:



FIGURA 3 – Formas de decaimento de estados excitados

Dependendo de fatores intrínsecos a cada tipo de cromóforo e da quantidade de energia que possa ser absorvida por ele durante o processo, a molécula poderá atingir níveis vibracionais classificados como *singletos* e *tripletos* (este último comumente com menor potencial energético que o outro e alcançado apenas por processos indiretos).

O intervalo de tempo entre a absorção e posterior emissão da energia pelo cromóforo permite classificações e tipificações da energia radiante emitida. Por exemplo, valores entre  $10^{-8}$  a  $10^{-4}$  s correspondem à chamada *fluorescência*, onde ocorre transição do estado *singlete* para o *basal*. Já a chamada *fosforescência*, ocorre em transições do nível *triplete* para o *basal*, em intervalos de tempo prolongados (de  $10^{-4}$  a  $10^2$  s) [9].

O gradiente de energia envolvido nos processos acima citados, quando particularizados para os cromóforos e suas associações, resultam em espectros característicos para cada corante. Fato este, que além de ser responsável pela visualização da cor pelos olhos humanos permite a identificação de compostos através de metodologias e equipamentos que podem quantificar tais valores e associá-los a determinados princípios ativos [10]. Na TAB. 1 estão descritas as transições atômicas ou moleculares pertinentes a regiões sucessivas do espectro de absorção e seus efeitos.

TABELA 1 – Transições moleculares e seus efeitos em relação ao espectro

Região do Espectro	Efeitos
Raio X	Quebra de ligação e ionização (Elétrons das camadas K e L)
Ultravioleta afastado	Elétrons de camadas intermediárias
Ultravioleta próximo	Excitação eletrônica (Elétrons de valência)
Visível	Excitação eletrônica (Elétrons de valência)
Infra-vermelho próximo	Vibrações moleculares
Infra-vermelho médio	Vibrações moleculares
Infra-vermelho afastado	Rotações moleculares e vibrações físicas
Microondas	Rotações moleculares

Quimicamente os corantes são caracterizados por possuírem grupos de elétrons lábeis, responsáveis pelo processo de absorção e emissão de energia pela

molécula corante. A FIG. 4 ilustra alguns radicais orgânicos presentes nestes compostos, onde tais elétrons apresentam-se especialmente nas ligações duplas e triplas [11].

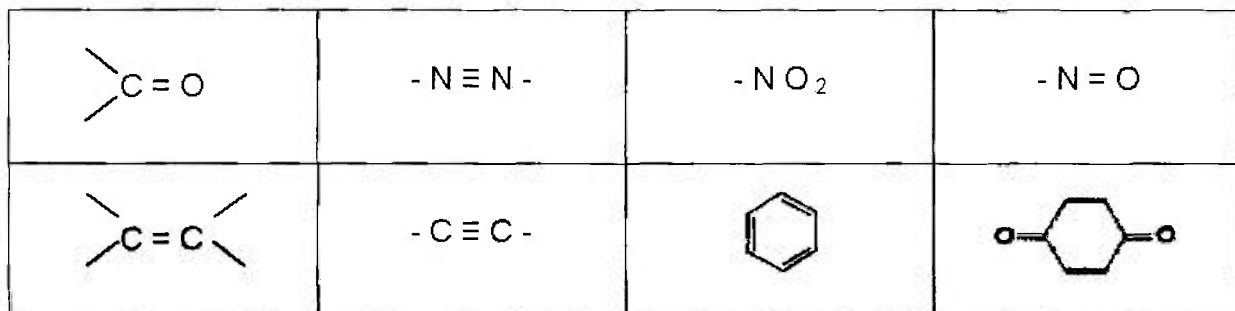


FIGURA 4 – Grupos cromóforos típicos presentes em corantes

Usualmente são requeridos diversos grupos de cromóforos em uma mesma molécula de corante de forma a promover a absorção da luz na região do espectro visível. A combinação destes diversos grupos cromóforos conduz à dispersão de determinados conjuntos de elétrons, resultando em possíveis “rotações” das duplas ligações, graças ao que diferentes isômeros podem ser encontrados em um mesmo corante. A estrutura da molécula corante favorece sua reatividade com radicais livres, comumente derivados do oxigênio. A consequência é sua reduzida prontidão em absorver luz e diminuição de cor [11].

### 2.1.2 LEGISLAÇÃO SOBRE CORANTES

As instruções normativas governamentais para seus usos variam regionalmente em suas abordagens legais de permissões e limites.

A legislação brasileira prevê a existência e utilização de corantes ditos *naturais*, através do Ministério da Saúde e sua *Agência Nacional de Vigilância Sanitária* (ANVISA). Já a legislação dos EUA, por exemplo, normatizada pela *Food*

*and Drug Administration* (FDA), não considera nenhuma cor proveniente de corantes como natural, a menos que utilizado para colorir o mesmo produto do qual foi feito.

No Brasil, em 1961, foi promulgado pela primeira vez decreto presidencial regulamentando o emprego de aditivos químicos a alimentos. Nele, define-se corante como “ a substância que confere ou intensifica a cor dos alimentos” , trazendo ainda “considera-se corante natural os pigmentos inócuos extraídos de produtos vegetais ou animais “ [12] . Um decreto de 1965 modifica o decreto anterior, mas mantém a essência no que se refere aos corantes naturais [13].

Já em 1977 a *Comissão Nacional de Normas e Padrões para Alimentos*, estabelece uma classificação para os corantes alimentícios. Define o corante natural orgânico como “ aquele obtido a partir de vegetal, ou eventualmente, de animal, cujo princípio corante tenha sido isolado com o emprego de processos tecnológicos adequados”. Adota códigos de rotulagem para corantes em geral, onde os divide em quatro classificações ( C.I. , C.II. , C.III. , C.IV. ), sendo que os corantes do tipo C.I. correspondem aos corantes naturais curcumina, cochonilha e ácido carmínico, carotenóides (dentre eles bixina e norbixina), entre outros [14].

Em 1994 a Comunidade Européia adotou um sistema de classificação de corantes para preparações alimentícias denominado *Colour Directive 94/36/EC*, que prevê a indexação dos corantes segundo o sistema europeu (E-). Os corantes são listados em uma faixa que varia do E -100 (curcumina) ao E- 180 (lithorubina BK).

Em 1997 uma portaria da *Secretaria de Vigilância Sanitária*, resolve compatibilizar a legislação nacional sobre alimentos com as *Resoluções Mercosul referentes a aditivos alimentares*. Estabelece a função dos corantes, como “substância que confere, intensifica ou restaura a cor de um alimento” [15].

Esta portaria destaca ainda a adoção dos critérios de pureza para aditivos estabelecidos pela FAO – OMS, ou pelo *Food Chemical Codex*.

No TAB. 2 são apresentados os principais usos dos corantes de interesse deste trabalho e os limites impostos pela legislação brasileira vigente [16][17][18][19][20][21][22][23].

TABELA 2 – Limites (g/100 g) para uso de corantes conforme a Legislação Brasileira

CATEGORIA	Cúrcuma e curcumina	Cochonilha, ác. carmínico e carmim	Urucum, bixina e norbixina	RESOLUÇÃO/ANO
Produtos cárneos	0,002	0,010	0,002	1.004 / 98
Condimentos preparados e mostarda *	----	----	0,001 (como bixina)	374 / 99
Condimentos vegetais ou especiarias	0,050	0,050	0,001	382 / 99
Maionese	0,010	---	0,001	382 / 99
Molhos não emulsionados **	0,050	----	0,001	382 / 99
Condimentos preparados	0,050	0,050	0,001	382 / 99
Biscoitos e similares (com/sem recheios e coberturas)	0,020	----	0,001	383 / 99
Bolos, tortas, doces e massas de confeitaria	0,020	---	0,001	383 / 99
Gelados comestíveis	0,015	0,015	0,020	384 / 99
Balas e caramelos	0,015 (como curcumina)	0,030	0,020 (como bixina)	387 / 99
Sobremesas de gelatina	0,015 (como curcumina)	----	0,001 (como bixina)	388 / 99
Outras sobremesas (com / sem amidos e/ou gelificantes)	0,015 (como curcumina)	0,015	0,001 (como bixina)	388 / 99
Bebidas não alcoólicas (gaseificadas e não gaseificadas)	0,010	0,010	0,005	389 / 99

\* exceto catchup

\*\* exceto produtos cuja denominação inclua a palavra *tomate*

Fonte: Ministério da Saúde – Brasil, 2001.

### 2.1.3 ANÁLISE DO GRAU DE PUREZA DE CORANTES ALIMENTÍCIOS

Na determinação de pureza dos corantes, o primeiro quesito observado, é a possível presença de contaminantes. Não raro, técnicas primitivas de colheita e beneficiamento carregam impurezas como terra, pedras e outros resíduos para a matéria prima que dará origem aos corantes. Para este controle, são realizadas provas tradicionais para determinação do teor de cinzas, cinzas insolúveis, proteínas, metais e solubilidade.

Numa etapa seguinte procura-se pela presença de adulterantes, ou seja, adição de substâncias corantes estranhas ao produto. Antigamente, por exemplo, era comum a adição de pigmentos como óxidos de ferro ou até tijolos moídos em preparações de urucum devido à similaridade de suas cores. A pesquisa de adulterantes é realizada por reações químicas qualitativas, inerentes a cada produto, e por técnicas de cromatografia, sendo bastante utilizadas as análises cromatográficas tipo camada delgada por possuírem baixo custo, fácil acesso e boa eficiência.

As metodologias de análise do corante em si, ou seja, a determinação da quantidade do princípio ativo presente e o conseqüente poder de coloração é realizada normalmente através da espectrofotometria.

Os corantes naturais disponíveis no mercado praticamente nunca se encontram na forma pura (ao contrário dos sintéticos), pois são na verdade extratos semi-purificados que apresentam enorme complexidade em suas composições. É comum a expressão *carotenóides totais*, ou *curcuminóides totais*, denotando resumidamente a extensão da quantidade de princípios ativos nas metodologias analíticas, bem como nas formas comerciais dos corantes. Muitas vezes os itens são comercializados por pontos de pureza, onde cada 1% de princípio corante contido

no produto possui sua correspondência em preço, raramente ultrapassando o valor de 60%.

Determinações microbiológicas também são comuns no controle de qualidade de corantes, uma vez que se destinam à utilização humana.

Em 1982, na *Seção de Aditivos e Pesticidas* do Instituto Adolfo Lutz foi criado o *Grupo de Estudos de Corantes Naturais*, que contava com a colaboração de dezenas de técnicos provenientes de Instituições públicas, privadas e empresas, além de representantes brasileiros no Comitê de Especialistas em Aditivos Alimentares da Organização Mundial de Saúde (*FAO/OMS Joint Expert on Food Additives – JECFA*). Este grupo de estudo, e os eventos gerados por suas atividades, reuniu no decorrer do tempo informações atualizadas sobre produção, tecnologia, aplicação e legislação, propondo a elaboração de uma *Monografia de corantes para fins alimentícios*, onde apresentavam-se as propostas para normas de identificação e qualidade para corantes naturais. Posteriormente, em 1987, foi lançada uma segunda edição deste trabalho, com informações atualizadas e aperfeiçoadas, originadas de vários testes e que é adotada até os dias de hoje [24].

#### 2.1.4 ESPECTROFOTOMETRIA

A espectrofotometria nas regiões visível e ultravioleta, é um método rotineiro para a quantificação de substâncias em soluções. É uma metodologia que permite detectar a presença de compostos específicos em soluções e extratos complexos ou ainda permite monitorar o grau de pureza de compostos isolados.

Para estas determinações utilizam-se aparelhos denominados *espectrofotômetros*, que medem a capacidade de absorção da luz pela amostra estudada, como é mostrado na FIG. 5.



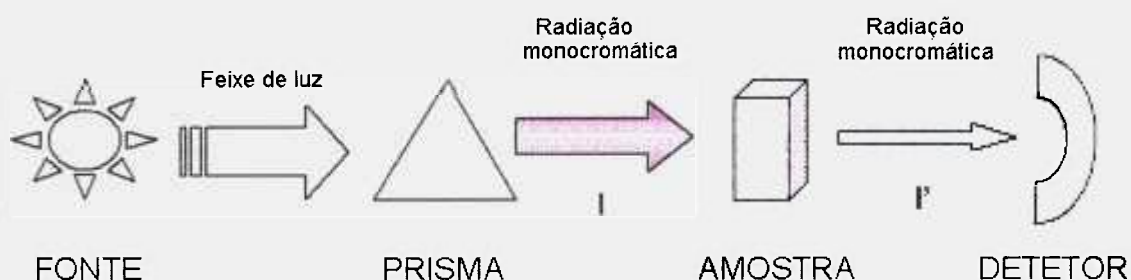


FIGURA 5 - Princípios do funcionamento de um espectrofotômetro

Um feixe de radiação emitido por uma fonte apropriada pode ser refletido, refratado, transpor inalterado ou pode ser absorvido pela amostra. A medida de quantidades de radiação absorvidas por soluções pode ser realizada experimentalmente, uma vez que as radiações produzidas pela fonte, com intensidade  $I$ , atravessam uma câmara onde se encontra colocada a solução amostra até atingirem um detector que mede a intensidade de luz restante  $I'$  (onde  $I' < I$ ) [25].

A absorção de radiações eletromagnéticas pela matéria obedece a dois princípios básicos esquematizados na FIG. 6.

- a relação entre luz absorvida e número de moléculas de soluto numa solução (traduzida pela sua concentração  $c$ ) tem caráter exponencial;
- a absorção de luz relaciona-se exponencialmente com a com a distância que a luz percorre através da amostra.

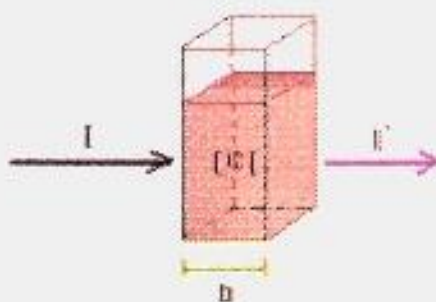


FIGURA 6 – Absorção de um feixe luminoso por uma amostra durante uma análise espectrofotométrica

Estes dois princípios foram integrados através da expressão designada como “Lei de Beer-Lambert”, que serve como base a todo e qualquer ensaio espectrofotométrico quantitativo. A expressão matemática desta lei é  $A = \epsilon \cdot b \cdot c$ , onde **A** representa a absorvância da amostra (uma grandeza adimensional); **c** representa a concentração da amostra (comumente mol / Litro = Molar = M); **b** representa o caminho óptico percorrido pelo feixe de luz através da amostra (geralmente expresso em cm) e a variável  $\epsilon$  é denominada absorvidade molar (ou mais antigamente coeficiente de extinção, com unidade expressa em  $M^{-1} \cdot cm^{-1}$ ).

A lei implica na definição de dois parâmetros, relacionando a quantidade de luz absorvida e concentrações, e pode ser expressa de forma simples como:

- Transmitância – a percentagem de radiação que atravessa uma solução homogênea, ou  $T = (I' / I) \times 100$
- Absorvância (ou densidade óptica) – simétrico do logaritmo da transmitância. Este parâmetro apresenta sobre a transmitância a vantagem de variar linearmente com a concentração das amostras, ou  $A = \log_{10} (I / I') = -\log_{10} T$

A relação entre estes parâmetros são mostradas na TAB. 3.

TABELA 3 – Relação entre Transmitância e Absorbância [26]

$(I/I_0)$	%T	A
1	100	0
0,1	10	1
0,01	1	2

Fonte: Skoog, 1992.

É importante notar que a linearidade constatada na Lei de Beer-Lambert restringe-se a certas zonas de aplicabilidade, características às condições experimentais utilizadas. As zonas de aplicação de cada ensaio devem ser determinadas experimentalmente, de forma a garantir a validade dos resultados obtidos para as soluções problemas [26].

A proporcionalidade direta existente entre a quantidade de luz absorvida a comprimentos de ondas específicos e a concentração de soluções, permite a utilização da espectrofotometria como método quantitativo.

Sabe-se que uma solução corante apresenta determinada coloração, por exemplo vermelha, não pela presença de complexos corantes que irradiem esta cor, mas, pelo contrário, devido a complexos presentes que absorvam sua cor complementar (verde) proveniente da radiação branca que chega à amostra. Assim, para análises colorimétricas, a máxima absorbância de um corante vermelho ocorre com a componente verde de radiação luminosa [26]. Na TAB. 4 é mostrada a relação entre as cores complementares e visíveis.

TABELA 4 – Relação entre cores complementares e visíveis

<b>Comprimento de onda (nm)</b>	<b>Cor</b>	<b>Cor complementar</b>
400 – 435	Violeta	Amarela-verde
435 – 480	Azul	Amarela
480 – 490	Azul-verde	Laranja
490 – 500	Verde-azul	Vermelha
500 – 560	Verde	Púrpura
560 – 580	Amarela-verde	Violeta
580 – 595	Amarela	Azul
595 – 650	Laranja	Azul-verde
650 – 750	Vermelha	Verde-azul

Fonte: Skoog, 1992.

As análises espectrofotométricas podem ser feitas por comparação direta contra padrão de concentração conhecida (a partir de curvas de calibração), ou mais simplesmente adotando-se para comparação valores padrão previamente descrito na literatura.

Uma varredura em todo espectro gera uma curva característica de absorção. Conhecidos os comprimentos de onda de maior absorção (picos) dos princípios ativos a serem analisados, as leituras podem ser comparadas a padrões, permitindo caracterização qualitativa e quantitativa da amostra, bem como a detecção de eventuais anomalias [27]. No caso específico deste trabalho, tais anomalias seriam a presença de novos compostos, gerados pela possível degradação dos princípios ativos pela ação da radiação ionizante.

### 2.1. 5 ELETROFORESE CAPILAR ( EC )

A técnica analítica denominada *eletroforese* foi desenvolvida pelo químico Arne Tiselius na década de quarenta (século XX) para a pesquisa de proteínas em soro sanguíneo, conferindo-lhe um prêmio Nobel. A utilização desta metodologia

analítica foi limitada durante longo período por instabilidade dos equipamentos e o longo tempo que os procedimentos analíticos demandavam.

Em 1981, a técnica foi aperfeiçoada por Jorgenson e Lukacs, embora sua concepção ainda hoje tenha uma significativa aproximação da idéia original. A adoção de um tubo capilar, como novo componente da aparelhagem, aperfeiçoou seu uso (daí a denominação *eletroforese capilar*), permitindo fundamentais avanços na qualidade dos resultados gerados e tornando-a amplamente difundida em inúmeras utilizações [28].

Eletroforese é um fenômeno que se caracteriza pela migração de compostos eletricamente carregados quando dissolvidos ou suspensos em um eletrólito submetido a uma corrente elétrica. As diferentes cargas e massas dos solutos presentes na mistura a ser analisada influenciam suas mobilidades, permitindo a separação dos diversos constituintes da amostra. Na FIG. 7 apresenta-se o diagrama dessa técnica.

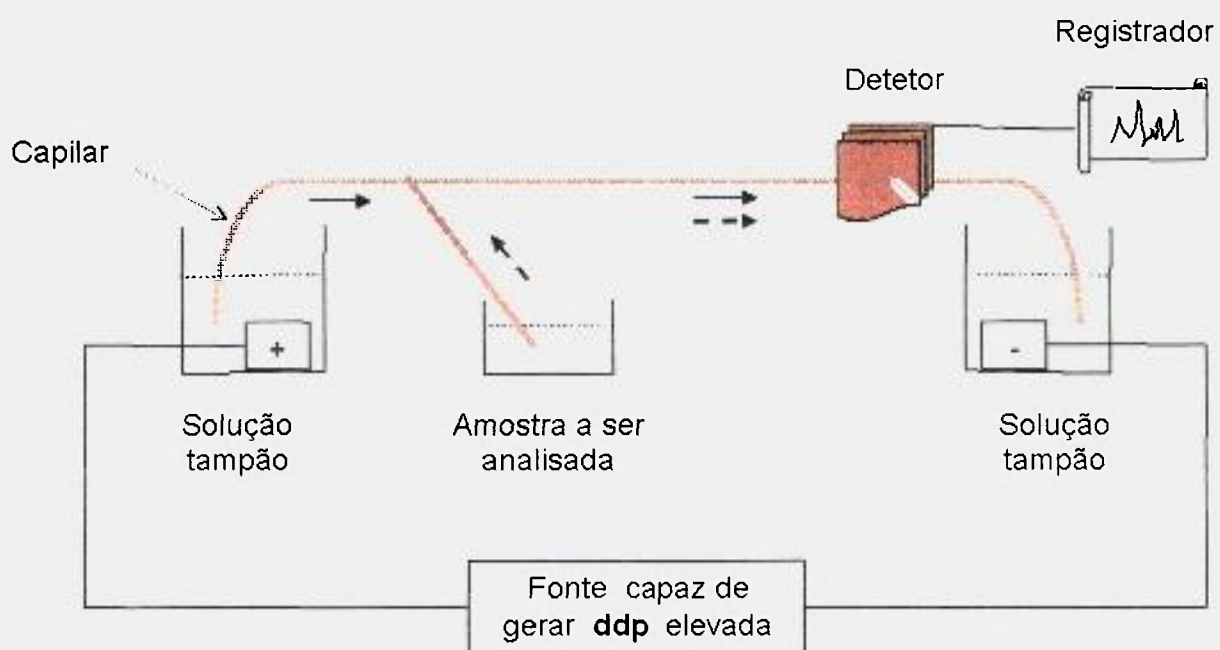


FIGURA nº 7 – Esquema simplificado do funcionamento de um sistema de eletroforese capilar

Na técnica de EC dois recipientes contendo uma solução tampão adequada são unidos através de um tubo capilar cheio deste mesmo líquido. Esse tubo, confeccionado em vidro, sílica fundida ou teflon pode apresentar diversas dimensões, comumente com 20 a 100 cm de comprimento e diâmetro interno de 15 a 100  $\mu\text{m}$  e cujas características devem ser escolhidas em função da composição da amostra estudada. A temperatura ao longo de todo o capilar deve ser controlada e mantida estável, com o auxílio de ar ou líquidos refrigerantes, a fim de garantir a reprodutibilidade das separações.

A amostra a ser analisada é introduzida dentro do capilar, por sifonagem ou pressurização, de modo a poder percorrê-lo em toda sua extensão durante o procedimento. A presença de detetores ao final deste percurso permite o registro adequado de cada um dos componentes da mistura, conforme chegam ao final do tubo. Tais detetores, comumente do tipo espectrofotométricos de absorção UV/Vis, normalmente são acompanhados de arranjos de diodos, o que permite obter espectros individuais para cada um dos compostos observados. O resultado global de todos os registros constitui o chamado *eletroferograma* [28].

A qualidade de análises por eletroforese é fortemente dependente do chamado fluxo eletrosmótico, responsável pela movimentação de quase todas as espécies presentes na amostra na mesma direção, independentemente das cargas que originalmente possuem. As paredes dos capilares em sílica, por exemplo, contêm grupos do tipo silanóis ( $\text{SiOH}$ ) que, em contato com soluções de elevado valor de pH, ionizam-se nas espécies químicas  $(\text{SiOH})^-$  e  $\text{H}^+$ . Essa dissociação forma uma camada com superfície negativa, gerando em contrapartida uma camada de contra-íons (cátions) próxima às paredes do capilar, a fim de preservar a

neutralidade da região. Esta diferença de potencial é denominada potencial zeta, sendo gerada ao longo de todo o capilar.

Caso a solução eletrólita seja submetida a uma diferença de potencial (ddp), os íons metálicos e suas moléculas associadas, solvatadas com água, caminham em direção ao cátodo em fluxo contínuo e uniforme, graças ao potencial zeta (FIG. 8) [28].

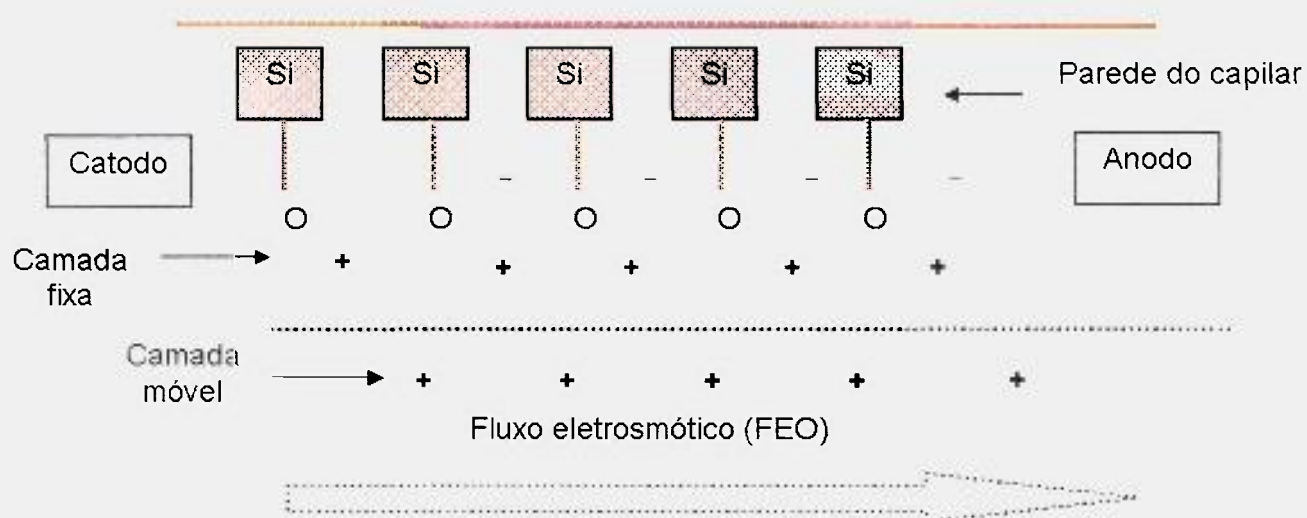


FIGURA 8 – Mecanismos de formação de cargas e fluxo eletrosmótico nos capilares

Este fluxo eletricamente dirigido, o fluxo eletrosmótico ( $V_{FEO}$ ), pode ser expresso em função da velocidade ( $V_{FEO}$ ) ou mobilidade das espécies ( $\mu_{FEO}$ ), segundo as equações:

$$V_{FEO} = (\epsilon \cdot \xi / \eta) \cdot E$$

$$\mu_{FEO} = (\epsilon \cdot \xi / \eta)$$

Onde  $\epsilon$  é a constante dielétrica do meio ;  $\xi$  é o potencial zeta ;  $\eta$  é a viscosidade e  $E$  é o potencial aplicado.

Outros fatores, tais como o tempo de migração das espécies químicas, a difusão molecular do soluto e as correntes de convecção geradas dentro do capilar devido ao efeito Joule (aquecimento nas paredes do capilar pela passagem de corrente elétrica), devem ser observados de forma a evitar resultados indesejáveis, que fatalmente implicariam no alargamento dos picos no eletroferograma, ou seja, diminuição da capacidade de resolução da técnica [28].

A eletroforese capilar oferece algumas vantagens sobre métodos analíticos similares, como exemplo, rapidez, versatilidade em ampla gama de usos, baixo custo por análise, boa resolução e consumo mínimo de reagentes, especialmente se comparado a técnicas de cromatografia líquida de alta resolução (HPLC) e cromatografia gasosa (CG).

A Eletroforese Capilar consolidou-se nas duas últimas décadas como uma excelente alternativa a técnicas cromatográficas como a HPLC na análise de compostos pouco voláteis, de elevada massa molecular, termo-instáveis, e que apresentem outras características não adequadas à análise por cromatografia gasosa

Em contrapartida, a eletroforese é inadequada para análise de compostos voláteis, não-polares e de baixas massas moleculares.

#### **2.1.6. ÁCIDO CARMÍNICO E SEUS DERIVADOS**

O ácido carmínico é o princípio ativo corante encontrado em corpos dessecados de fêmeas do inseto denominado cochonilha (*Dactylopus* spp, principalmente *Dactylopus coccus* Costa – família Dactylopidae). O termo cochonilha normalmente é utilizado para designar tanto o corante como a matéria prima utilizada para sua fabricação, ou seja, o inseto.



O hospedeiro principal destes insetos são as partes aéreas dos cactos das espécies *Opuntia* e *Nopalea*. Os insetos são removidos dos cactos com o uso de uma espátula e posteriormente peneirados para separar os machos das fêmeas, uma vez que as fêmeas normalmente possuem um corpo de tamanho maior que o dos machos, além de possuírem teor elevado de ácido carmínico. Em seqüência, os insetos são dessecados na sombra ou em estufas e estocados para posterior uso [29] [30].

O principal pigmento na cochonilha é o ácido carmínico (ácido 7-beta-D-glucopiranosil-3,5,6,8-tetra-hidroxi-1-metil-9,10-dioxoantraceno-2-carboxílico) cuja molécula é representada na FIG. 9. Sua fórmula molecular é  $C_{22}H_{20}O_{13}$  e sua massa molecular 492,38. Possui coloração vermelha acentuada em meio alcalino e amarelada a violeta em meio ácido. É solúvel em água, álcool, ácido sulfúrico e levemente em éter, sendo insolúvel em éter de petróleo, benzeno e clorofórmio. Sua laca de alumínio - cálcio, denominada carmin ou carmin de cochonilha é de cor vermelha brilhante e facilmente reduzida a pó, sendo praticamente insolúvel em água fria ou ácidos diluídos, parcialmente solúvel em água quente e bastante solúvel em soluções alcalinas, quando gera cor vermelha bastante intensa na solução [31].

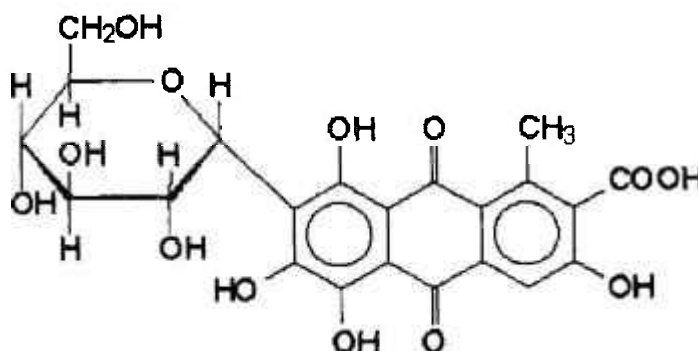


FIGURA 9 – Representação estrutural da molécula de ácido carmínico

Embora possua utilização como corante têxtil, o ácido carmínico e sua laca são importantes corantes cosméticos, especialmente em produtos utilizados na região próxima aos olhos, além de serem corantes alimentícios e farmacêuticos de enorme expressão no cenário mundial. Extensos estudos toxicológicos na comunidade europeia deram-lhes a classificação como *E120* – “*Vermelho natural*” e seu grau de utilização e doses dependem da legislação de cada país. Possui ainda outras indexações como corantes, como *C.I. Vermelho natural 4* no Brasil e *C.I. 75470* internacionalmente.

O ácido carmínico normalmente é apresentado em soluções aquosas contendo até 7% de ácido carmínico, mas seu baixo poder corante limitam suas aplicações comerciais.

O carmim, ou seja, a laca obtida pela reação do ácido carmínico com sais duplos de sódio e potássio, é o principal produto empregado comercialmente como corante, sendo comumente apresentado na forma de pó, possuindo teores entre 40 e 60% de ácido carmínico. Soluções alcalinas contendo entre 2 e 7% também são comercializadas, além da forma spray-dried. O carmim compete com outros corantes como o vermelho de beterraba (betanina) e antocianinas para tingimento de produtos alimentícios, mas tem como principal fator limitante sua insolubilidade em valores baixos de pH. Aplicações típicas de seu uso ocorrem em produtos tais como bebidas, panificação, laticínios e conservas, com dosagem variando de 0,1 a 0,5% da massa final destes produtos. Sua utilização em produtos têxteis atualmente é limitada a produtos específicos de alto grau de sofisticação, onde se necessitam de tons especiais, ou pinturas artísticas [32].

O uso da cochonilha como matéria corante data de quase 3.000 anos no Peru e México. O potencial comercial de seu uso foi rapidamente reconhecido pelos conquistadores espanhóis que a introduziram na Europa no início do século 16, sendo um produto comercialmente bastante conhecido desde então. Sua superioridade como corante frente a métodos tradicionalmente usados anteriormente fez com que a Espanha promovesse seu cultivo em suas colônias na América, notadamente na Guatemala.

Pelo início do século 19 o inseto da cochonilha e seus cactos hospedeiros haviam sido intensamente introduzidos no velho mundo pela Espanha e seus rivais econômicos, sendo que a produção e o comércio apresentaram um pico por volta do meio do século 19. México, Guatemala, Haiti, Java e as Ilhas Canárias eram as mais proeminentes fontes, exportando um volume superior a 3.000 toneladas em 1875.

O desenvolvimento de corantes sintéticos à base de carvão de hulha no final do século 19 resultou em uma progressiva redução da demanda de cochonilha na indústria têxtil, no entanto manteve uma participação significativa por um tempo bastante considerável, por exemplo, sendo usada como corante para uniformes do exército britânico até meados dos anos 50.

O uso mais comum da cochonilha e seus derivados reside na indústria cosmética e alimentícia, tendo como principal mercado (em ordem decrescente) a Europa ocidental (especialmente Reino Unido e França), USA, Japão e Argentina. O Peru tem sido o principal exportador do produto, respondendo por aproximadamente 90% do mercado, sendo seguido pelas Ilhas Canárias, cujas exportações oscilam entre 10 e 30 toneladas por ano.

Anteriormente a 1980, todas exportações peruanas eram na forma de matéria prima bruta (insetos), mas atualmente pelo menos 50% das exportações correspondem a produtos beneficiados ou parcialmente beneficiados [29][33][34].

Devido à irregularidade de suprimento e demanda, os preços da cochonilha (e conseqüentemente o carmim) têm variado intensamente ao longo do tempo.

Ao redor de 1995 foram trazidas do Peru, ao Brasil, mudas do cactos hospedeiros e matrizes de cochonilha que, após sofrerem longo processo de aclimação e reprodução em São Paulo, foram transportados e criados mais extensivamente na região de Petrolina, na Bahia. Paralelamente a mesma empresa desenvolveu um processo de obtenção de carmim de cochonilha a partir dos insetos dessecados, pois até então importava-se somente o carmim já manufaturado. Tal ato deveu-se exclusivamente a uma empresa particular, tradicional produtora nacional de corantes, e tinha como objetivo suprir as deficiências e altos custos de importação da matéria prima, carmim, na época. Até onde temos notícias, a auto regularização do mercado internacional do produto, no decorrer destes últimos dez anos, tornou o empreendimento menos interessante e não há produção nacional significativa.

### 2.1.7 CAROTENÓIDES DE URUCUM – BIXINA E NORBIXINA

O urucum no comércio é encontrado como sementes secas de *Bixa orellana* L. da família das *Bixaceae*, um arbusto ou pequena árvore, nativos da América Central e América do Sul tropical. A árvore tem sido introduzida largamente em países da Ásia e África com fins ornamentais ou para produção de sementes.

As sementes são empregadas diretamente como pigmento nos países de sua origem e mais recentemente dá origem a preparados naturais para colorir produtos alimentícios e, em menor extensão, para colorir tecidos, ao longo de todo o mundo [35][36].

O principal pigmento, é um carotenóide denominado por bixina, o 6,6'-Diapo- $\psi,\psi'$ -ácido carotenodióico monometil éster, cuja fórmula molecular é  $C_{25}H_{30}O_4$  com massa molecular 394,49. A forma isomérica *cis*, que ocorre originalmente na planta é instável, transformando-se posteriormente na forma estável *trans*, também denominada isobixina. A isobixina apresenta cor laranja e possui absorção máxima, em clorofórmio, a 509,5 ; 475 e 443 nm [37].

A metil bixina (metil éster de fórmula  $C_{26}H_{32}O_4$ ) possui absorção máxima em benzeno a 475 nm, enquanto a etil bixina (etil éster de fórmula  $C_{27}H_{34}O_4$ ) possui ponto de fusão de 138 °C e é facilmente solúvel em clorofórmio, acetona e éter. Uma suspensão oleosa deste composto é utilizada como corante para alimentos e drogas, proporcionando uma coloração amarela dourada [37].

Na FIG. 10 são apresentadas as fórmulas moleculares estruturais de alguns dos diversos carotenóides encontrados no urucum.

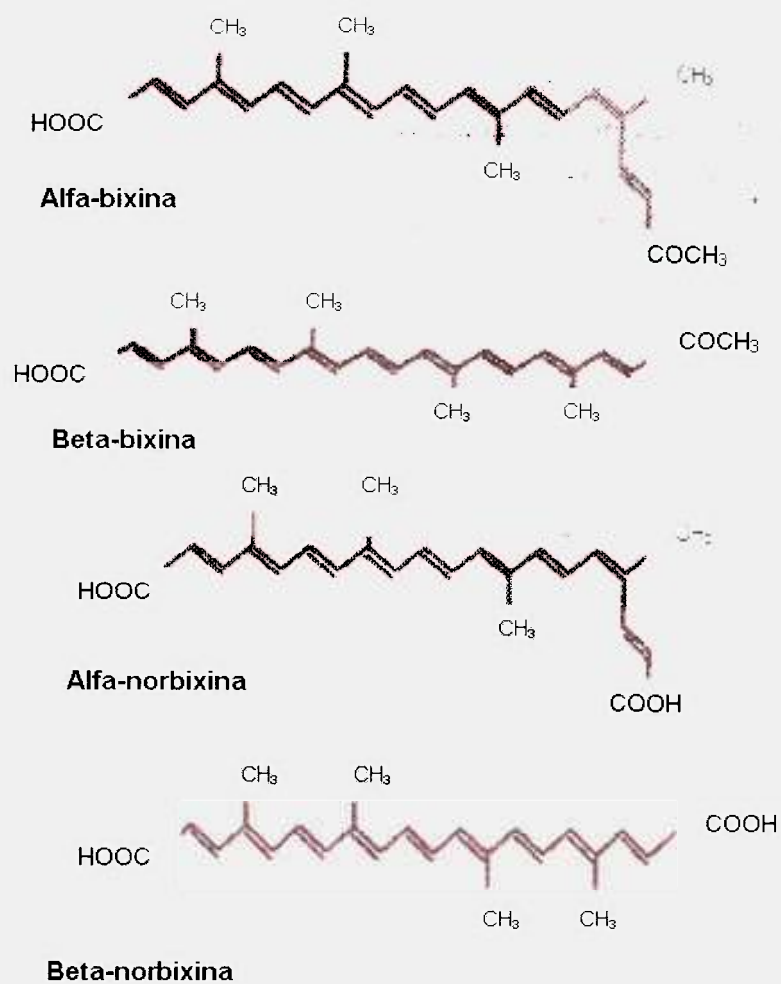


FIGURA 10 – Representação estrutural de algumas moléculas de carotenóides encontrados em urucum

O conteúdo total de pigmentos nas sementes varia conforme as regiões de produção, contendo entre 2 e 3% de pigmentos expressos em bixina.

O comércio internacional de sementes de urucum é historicamente estável ao longo dos anos, porém nos últimos anos tem sido observado um aumento

da exportação de extratos manufaturados pelos seus dois maiores produtores, Peru e Quênia [38][39][40].

A forma predominante de uso do urucum no mercado de países desenvolvidos é como extratos corantes para a indústria alimentícia em queijos, margarinas, produtos matinais, sorvetes, produtos de peixe e panificação. O tipo particular de corante para cada uso depende do produto a ser corado, uma vez que determinados produtos utilizam formas hidro ou lipo solúveis, sendo que a concentração dos extratos pode variar de 0,1 a 99% em pigmentos. O principal competidor dos extratos de urucum é o beta-caroteno sintético [41][42].

O cálculo acurado do comércio mundial de produtos de urucum é dificultado pelo fato de que o mercado conta com diferentes tipos de extratos e concentrações, além das sementes. Uma avaliação conservadora estima um comércio mundial de 7.000 toneladas anuais calculadas no equivalente a sementes. Outras pesquisas mais otimistas estimam valores de até 9.000 toneladas. Os maiores importadores de sementes de urucum e seus extratos são os EUA e Canadá, Europa e Japão, com respectivamente 2.500, 2.500 e 1500 ton (sementes e extratos, expressos como o equivalente em sementes) [43].

Segundo o censo agrícola de 1996 realizado pelo IBGE, no Brasil a produção de sementes de urucum foi da ordem de 5.076 ton [44].

A demanda por urucum como corante aumentou durante os anos 80 devido ao banimento de alguns pigmentos sintéticos e pela preferência do consumidor aos produtos naturais. O mercado japonês, em particular, tem crescido consideravelmente nos últimos anos com o banimento de corantes sintéticos e “idênticos aos naturais” de seu mercado.

O Peru e o Quênia respondem pela maior parte da produção e comercialização internacional dos produtos de urucum, sendo suas plantações orientadas para exportação.

Contrasta a enorme produção no Brasil, porém destinada sobremaneira ao mercado interno e constituída por plantações em pequenas propriedades familiares (78,2% do total) que possuem o produto como única fonte de renda, uma vez que as grandes plantações sofreram com a falsa expectativa de aumento de preço do produto no final dos anos 80. A safra brasileira foi estimada no ano de 2.001 como sendo de 12.000 ton , sendo que 60% dela seriam reservadas à fabricação do condimento alimentício denominado por *colorau* [45].

Na TAB. 5 apresenta-se o volume e preços de sementes de urucum exportados pelo Peru de 1984 a 1990 [46].

TABELA 5 – Preços e volume de exportação de sementes de urucum do Peru

Ano	1984	1985	1986	1987	1988	1989	1990
Quantidade (ton)	1.500	1.300	1.200	650	1.450	1650	1500
Valor em US\$/ton FOB	750	800	1900	2.300	1.300	900	600

Fonte: Arquivos do ITC, 1998.

Comparativamente a outras culturas, o plantio de urucum apresenta rentabilidade razoável, quando comparada a outras culturas tradicionais como cacau, café e arroz. Por outro lado, pode-se observar uma flutuação bastante acentuada nos preços [46], como é mostrado na TAB. 6.



TABELA 6 – Preços pagos no campo aos produtores peruanos de sementes de urucum, 1988-98.

Ano	1988	1989	1990	1991	1992	1993	1994	1995	1996	1997	1998
Valor * (Novos sois / kg)	86,81 *	681,51 *	38.992,12 *	0,72	0,64	1,29	2,73	3,63	1,25	1,60	1,26

Fonte: Arquivos do ITC, 1998.

\* os valores até 1990 são expressos em "Intis" e a partir de 1991 em "Novos sóis", devido a mudanças na denominação da moeda.

O processo mais comum empregado para obtenção de produtos à base de urucum com características hidrossolúveis é a extração direta das sementes com soluções alcalinas (normalmente de hidróxido de sódio ou potássio). As sementes são colocadas na solução e aquecidas por cerca de 10 minutos a uma temperatura máxima de 70 °C. Esta operação transforma a bixina existente na camada externa da semente em um derivado aquasolúvel denominado norbixina. O extrato obtido é acidificado para precipitar a norbixina livre e depois filtrado, seco e moído, obtendo-se um pó com um mínimo de 30% de pigmentos [47][48][49].

Para obtenção de produtos lipossolúveis, procede-se à extração das sementes com óleo vegetal quente (70 °C) simultaneamente a um processo de raspagem (abrasão mecânica) das sementes, obtendo-se uma suspensão do pigmento. Outros processos alternativos prevêem a extração das sementes com solventes orgânicos e posterior concentração dos extratos obtidos [46][47]. Extrações com dióxido de carbono têm sido estudadas, porém sem emprego comercial significativa [50].

### 2.1.8 CÚRCUMA E CURCUMINA

A cúrcuma é uma pequena planta herbácea perene que apresenta diversos rizomas ou “dedos” que possuem características aromáticas de coloração amarelo-avermelhada. Botanicamente é conhecida como *Cúrcuma domestica* Val. (syn. *C. longa* Koenig non L.) da família *Zingiberaceae*. A planta origina-se do subcontinente Indiano e possivelmente do sudeste da Ásia, sendo atualmente cultivada praticamente em toda região tropical do planeta. Sua utilização é como condimento, corante alimentício e corante para tecidos.

A cúrcuma encontrada no comércio consiste nos rizomas secos da planta, que podem variar de 2,5 a 7,5 cm de comprimento por 1 cm de diâmetro, contendo em seu interior o pigmento que atinge teores de 2 a 7%. Os rizomas possuem também um óleo volátil de aroma e sabor bastante característicos que também podem ser utilizados como condimento ou corante [51].

Três principais pigmentos estão presentes nos rizomas: curcumina, desmetóxicurcumina e bis-desmetóxicurcumina, coletivamente conhecidos como curcuminóides, sendo encontrados também em outras espécies de *Cúrcuma* [52].

A curcumina, material corante mais abundante é o 1,7- Bis (4-hidróxi-3-metóxi-fenil)-1,6-heptadieno-3,5-diona cuja fórmula molecular é  $C_{21}H_{20}O_6$ , tendo massa molecular 368,37. Possui ponto de fusão de 183 °C e é insolúvel em água e éter, sendo solúvel em álcool e ácido acético glacial [53] e cuja fórmula molecular estrutural pode ser observada na FIG. 11.

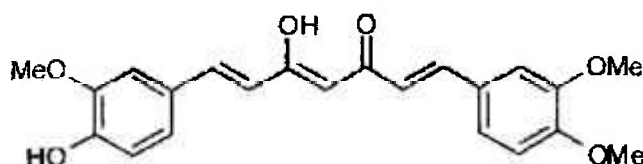


FIGURA 11 - Representação estrutural da molécula de curcumina

Como condimento, a cúrcuma em pó apresenta a combinação de características flavorizantes e corantes, sendo o ingrediente principal do chamado “curry” e servindo também como alternativa barata aos estigmas da flor de açafrão (que são tradicionalmente usados como corante, porém de custo elevadíssimo).

Na Europa e América do Norte a cúrcuma é empregada em grande gama de produtos, com a finalidade de corá-los, notadamente em mostardas.

Atualmente as indústrias alimentícias preferem utilizar o “oleoresina de cúrcuma” aos rizomas simplesmente moídos a pó. O oleoresina é um concentrado dos extratos obtidos por extração de cúrcuma com solventes, devido ao seu baixo impacto de aroma e gosto, uma vez que seus óleos voláteis aromáticos, são eliminados durante o processo de aquecimento para obtenção do produto. Desta forma resulta em um produto com bom poder de coloração, sem saturar o alimento a ser corado com aroma e gosto característicos da planta [54]. A curcumina pura, com conteúdo mínimo de 95% de curcuminóides, é menos freqüentemente usada.

O uso de curcumina ou oleoresina permitem conferir colorações que variam do tom limão em meio ácido, ao alaranjado em meio alcalino, em produtos tais como sorvetes, pós para sobremesas, pickles, sorvetes e balas. O oleoresina é lipossolúvel, enquanto a curcumina apresenta menor solubilidade em meio oleoso, sendo que ambas são insolúveis em água e necessitam a utilização de emulsificantes, usualmente polisorbatos, para gerar produtos hidrossolúveis.

A cúrcuma e seus derivados corantes são permitidos mundialmente como aditivos alimentares e na Comunidade Européia são incluídos na listagem de corantes naturais com o código E100 [51]. Estes produtos também são aprovados e classificados como corantes naturais para alimentos e bebidas pelo *US Food and Drug Administration* nos EUA.

A cúrcuma cresce em toda a região tropical do planeta e não é possível precisar adequadamente a produção mundial, uma vez que apresenta consumo interno expressivo nos países de origem. Para se ter uma extensão do fato, a Índia, sua maior produtora mundial, obteve recentemente uma produção de 390.000 toneladas, da qual menos de 5% destinava-se à exportação [55]. Já outra fonte, indica uma exportação de 36.000 ton, a um valor de US\$ 30 milhões, relativos à safra do período 1998-2000 [56].

No Brasil, segundo o censo agrícola de 1996 realizado pelo IBGE, a produção de cúrcuma foi da ordem de 4.486 ton [44].

A escala de comércio por cúrcuma (rizomas) é estimado em 15.000 a 20.000 ton por ano, enquanto a demanda por oleoresina e curcumina pura alcança talvez 150 ton. Os principais mercados consumidores são o Irã, a Europa Ocidental (especialmente Reino Unido e Alemanha), América do Norte e Japão.

Existem diversas variedades de cúrcuma, tais como *madrás* e *allepey*, possuindo características aromáticas e teores corantes diferenciados. A política de preços mundial é bastante dependente da dimensão da safra indiana e normalmente o produto é vendido de acordo com o seu teor em curcumina, onde cada 1% de pureza possui um equivalente em preço [57].

## **2.2. INTERAÇÃO DA RADIAÇÃO COM A MATÉRIA**

Observações sobre a interação da radiação com a matéria datam dos primeiros experimentos de Becquerel, em 1895.

A sugestão de uso destas interações com o objetivo de destruir microorganismos em alimentos foi publicada neste mesmo ano por um jornal médico alemão e, nos primórdios de 1900, foram solicitadas as primeiras patentes

descrevendo o uso de radiação com estes mesmos fins. Em 1929, Madame Curie apresentou sua tese para obtenção do grau de Ph.D., com trabalho que versava sobre a redução de colônias de microorganismos pelo uso de radiação.

A era moderna das pesquisas com radiação de alimentos iniciou-se logo após a Segunda Guerra mundial, primeiramente com projeção dos EUA e posteriormente estendendo-se por diversos países [58].

O tipo de radiação utilizada no processamento de alimentos está limitado às radiações de raios gama de alta energia, raios-X e elétrons acelerados. São ditas radiações ionizantes, pois sua energia é suficiente para arrancar elétrons de átomos e moléculas, tornando-os eletricamente ativos (íons).

A irradiação de alimentos é um processo através do qual o alimento é exposto a uma fonte controlada de radiação ionizante, com o objetivo de prolongar seu tempo de vida útil, através do controle e/ou retardamento de processos biológicos que possam ocorrer no produto [59].

A dose da radiação ionizante determina o efeito do processo e são medidas na unidade internacional *gray* (Gy), onde 1 Gy equivale à energia de 1 Joule absorvida por 1 kg de material. Normalmente doses entre 50 Gy e 10 kGy são utilizadas, sendo que doses baixas (menores que 1 kGy) têm por objetivo inibir brotamento de vegetais ou esterilizar insetos que infestem o produto; doses médias (de 1 a 10 kGy) prolongam o tempo de prateleira e doses altas (maiores que 10 kGy) esterilizam o produto [60]. Na TAB. 7 apresenta-se a aplicação da radiação nos alimentos segundo as faixas de doses.

TABELA 7 – Aplicação da radiação ionizante no processamento de alimentos

APLICAÇÃO	INTERVALO DE DOSE (kGy)
Inibição da germinação (batata, cebola, alho, etc)	0,01 – 0,15
Retardo no amadurecimento (frutas e vegetais)	0,01 – 1,00
Desinfestação (grãos, cereais, frutas frescas e secas e peixes secos)	0,20 – 1,00
Controle de parasitas (fígado, carnes e peixes)	0,10 – 1,00
Controle de microorganismos patogênicos (aves, mariscos e carnes)	2,00 – 8,00
Redução de microorganismos causadores de decomposição (carnes, peixes, vegetais, frutas, etc)	0,40 – 10,00
Esterilização comercial para armazenagem segura	10,00 – 50,00
Melhorar propriedades tecnológicas (aumentar a produção de frutas e reduzir o tempo de cozimento de vegetais desidratados)	1,00 – 10,00

Fonte: IAEA – TECDOC – 587, 1991.

A irradiação destrói os microorganismos fragmentando seus DNA e conseqüentemente impedindo sua reprodução, sendo que a complexidade biológica dos organismos envolvidos influi diretamente em sua sensibilidade à radiação. Quanto mais complexos mais sensíveis. Vírus são mais resistentes à radiação do que insetos, por exemplo.

A sensibilidade à radiação depende também das condições ambientes, tais como umidade, temperatura e presença de oxigênio.

Todas as formas de processamento de alimentos afetam, em maior ou menor grau, o conteúdo nutricional, e a irradiação não é uma exceção. Alterações atribuídas à ação da radiação são similares àquelas resultantes de processos como

cozimento, pasteurização, branqueamento, enlatamento e outras formas de tratamentos térmicos [61].

O processo de irradiação induz a absorção de uma pequena dose de energia, gerando produtos de radiólise semelhantes aos gerados por processos térmicos, porém em menor número [60].

Em alimentos irradiados, pode haver perdas de nutrientes, especialmente vitaminas. Vitaminas hidrossolúveis, como vitamina B e C, podem ser oxidadas durante o processo de irradiação; em solução pura, tiamina é a mais sensível, seguida pela vitamina C, piridoxina, riboflavina e niacina. Das vitaminas lipossolúveis a vitamina E é a mais sensível, seguida pela A e K, sendo a vitamina D bastante radioestável. Por ser um processo não térmico, a perda de vitaminas durante o processo de irradiação não é maior que em processos convencionais térmicos, e freqüentemente menor. A perda ocorre durante a exposição do produto aos raios ionizantes e posteriormente durante a estocagem, fatos que podem ser minimizados excluindo-se a presença de oxigênio. Há sinergismo entre irradiação e perdas por calor (cozimento) de certas vitaminas em alimentos [62] [63] [64].

Carboidratos e proteínas não são significativamente afetados durante processos de irradiação nos níveis de doses aceitáveis, porém gorduras podem ser oxidadas, gerando ranço, alterações de odor e cor. Ácidos graxos polinsaturados geralmente suportam bem o processo para doses baixas e médias de irradiação [62].

Ainda em relação à interação das radiações com a matéria, no caso específico deste trabalho, deveremos considerar a forma de apresentação do corante, além de seus compostos intrínsecos. Quer ele esteja na forma de pó, em solução ou disperso, a presença de compostos suplementares, por exemplo

diluentes e excipientes, poderá interagir com os complexos corantes de forma a proporcionar efeitos indesejáveis nestes quando da irradiação dos produtos. Uma vez o corante aplicado a um produto, os mesmos tipos de efeitos poderão ocorrer.

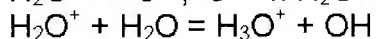
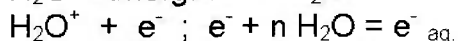
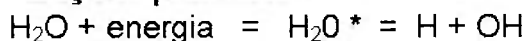
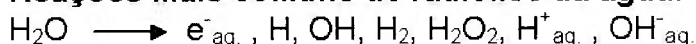
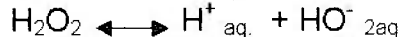
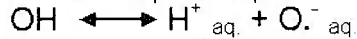
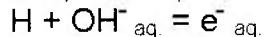
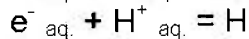
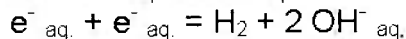
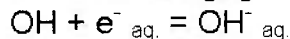
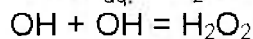
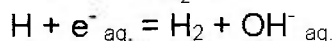
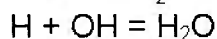
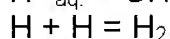
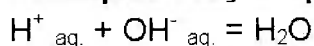
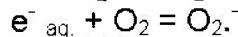
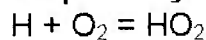
### 2.2.1 RADIÓLISE DA ÁGUA

Somente a energia da radiação absorvida pode iniciar algum efeito físico, químico ou biológico. A absorção em um meio como a água tem lugar em  $10^{-15}$  s, apesar da distribuição de dose não ser normalmente uniforme no material irradiado, pois deverão também ser consideradas variáveis como energia, densidade do material irradiado e ângulo de incidência (no caso de feixe de elétrons). A radiação gama do  $^{60}\text{Co}$ , por exemplo, é atenuada em 40% ao penetrar 10 cm em água [65].

Como resultado da interação entre radiação ionizante e água eletronicamente ionizada e excitada, novas moléculas são formadas. Conseqüentemente, são geradas diversas espécies primárias reativas, bem como produtos moleculares. Algumas das principais reações que podem ocorrer são mostradas na TAB. 8.



TABELA 8 - Reações relacionadas à radiólise da água

**Reações primárias:****Reações mais comuns de radiólise da água:****Principais reações primárias:****Na presença de oxigênio:**

Fonte: Getoff, 1996.

Outras considerações como pH ou a quantidade de oxigênio dissolvido na mistura poderão ser feitas, uma vez que a maior ou menor incidência destes fatores privilegiará algumas reações de radiólise. A presença de oxigênio na água, átomos de hidrogênio e "elétrons solvatados" são convertidos em espécies oxidantes, tais como radicais perhidroxila ( $\text{HO}_2$ ) e ânions superóxido ( $\text{O}_2^-$ ). Este último, entre outros, juntamente com radicais hidroxila podem iniciar processos de degradação no meio [66].

## 2.3 LEGISLAÇÃO SOBRE IRRADIAÇÃO DE ALIMENTOS

A legislação brasileira estabeleceu normas para a irradiação de alimentos, baseadas em diretrizes do *Codex Alimentarius*. A legislação em vigor, atualizada em janeiro de 2001, não faz restrições às doses a serem aplicadas em produtos alimentícios [67].

Podem ser aplicadas em alimentos radiações ionizante em geral, cujas energias sejam inferiores ao limiar das reações nucleares que possam induzir radioatividade no alimento irradiado, não prevendo, no entanto, ao contrário das normas anteriores, restrições em relação às doses a serem aplicadas e nem restringindo os tipos de alimentos que possam ser submetidos ao processo. Essas radiações são:

a) Raios gama de:

- $^{60}\text{Co}$  ( $T_{1/2} = 5,263$  anos;  $\beta^- = 0,314$  MeV;  $\gamma = 1,173$  e  $1,332$  MeV).
- $^{137}\text{Cs}$  ( $T_{1/2} = 30$  ano;  $\beta^- = 0,514$  e  $1,176$  MeV que decai a  $^{137m}\text{Ba}$ ,  $T_{1/2} = 2,554$  min;  $\gamma = 0,662$  MeV).

b) Feixes de elétrons de até 10 MeV.

c) Raios X de até 5 MeV.

## 2.4 ESTABILIDADE DOS CORANTES

Embora o termo *estabilidade* possa ser compreendido e interpretado sob diversos aspectos, relativamente aos corantes poderemos citar os seguintes fatores:

- aptidão para estocagem em condições ordinárias;
- manutenção de suas características físico-químicas durante processos de armazenamento;
- facilidade e preservação de suas propriedades durante seu manuseio e aplicação;
- comportamento previsível frente a condições de reação (pH, calor, luz e agentes incompatíveis);
- baixa reatividade com os constituintes da mistura onde foi adicionado;
- capacidade de manutenção do nível de cor ao longo do tempo no produto final.

Embora haja um consenso informal no mercado de que os corantes sintéticos sejam mais estáveis que os naturais, o embasamento desta idéia é precário, uma vez que a extensa gama de produtos e a diversidade de utilizações parecem não acarretar interesse neste tipo de pesquisa. Ademais, o fator custo exerce influências inquestionáveis nas práticas do mercado, pendendo favoravelmente aos corantes sintéticos que comumente oferecem preços mais competitivos.

O uso de corantes naturais vem intensificando-se ao longo dos anos graças a apelos de *marketing* e da idéia do consumidor que os associa a melhores condições de saúde por sua ligação com a natureza. De qualquer forma, é inegável que os corantes naturais permitem alcançar hoje uma relação custo-benefício atrativa às indústrias e ao consumidor, sobretudo em produtos mais elaborados, aumentando seu valor agregado.

Segundo a literatura consultada há escassos registros sobre a estabilidade de corantes naturais frente à irradiação. No entanto, é possível encontrar referências no que tange a seus comportamentos frente à luz, temperatura e presença de oxigênio. Por exemplo, a bixina, princípio ativo dos corantes de urucum possui estabilidade bastante apreciável na ausência de luz na presença ou ausência de oxigênio, o que já não acontece sob a ação direta de iluminação quando ocorrem processos degradativos [68] [69]. Já sua degradação térmica gera um carotenóide com 17 átomos de carbono em sua estrutura (éster trans-monometílico do ácido 4,8-dimetil tetradecahexaenodióico) e compostos voláteis (especialmente xileno) [70] [71]. A combinação de diversos fatores físico-químicos, atuam sobre a estrutura dos corantes de urucum gerando instabilidades de diversas ordens e causando prejuízo à qualidade do corante [72].

### 3. MATERIAIS E MÉTODOS

#### 3.1. MATERIAIS

As amostras utilizadas nos experimentos foram adquiridas ou recebidas como amostras de tradicionais fornecedores comerciais dos produtos (Chr. Hansen Indústria e Comércio Ltda – São Paulo, Kienast & Kratschmer Ltda - São Paulo e Casa do Queijeiro de Minas Gerais Ltda - Minas Gerais) e cujas principais características, declaradas em seus rótulos de embalagens e respectivos laudos analíticos, são explicitadas e resumidas a seguir:

- **corante carmim de cochonilha:** amostra na forma de pó, constituída de laca alumínio-cálcica, com um máximo de 5% de umidade e contendo um mínimo de 52% em pureza de ácido carmínico expresso em base seca; amostra na forma líquida, também denominada por *tintura de cochonilha*, contendo um mínimo de 3 g / 100 mL de ácido carmínico, na forma de solução amoniacal de carmim de cochonilha (laca alumínio-cálcica), pH entre 10,2 e 10,8, totalmente solúvel em água. Ambas amostras isentas de aditivos e coliformes, utilizadas dentro do período de validade (6 meses) , estocadas em local fresco ou preferencialmente câmara fria e conservadas ao abrigo da luz.

- **corante de urucum:** amostra na forma de pó, contendo um mínimo de 30% de norbixina (expressa na forma de carotenóides totais) em base seca, contendo entre 5% e 10% de umidade, sendo altamente solúvel em água e isenta de aditivos e coliformes, utilizadas dentro do período de validade (6 meses) , estocadas em local fresco ou preferencialmente câmara fria e conservadas ao abrigo da luz.

- **corante de cúrcuma:** amostra na forma de pó, contendo um máximo de 5% de umidade e um mínimo de 30% de curcuminóides expressos em base seca; amostra na forma líquida ou tintura de cúrcuma, apresentada como contendo um mínimo de 30% de curcuminóides , sob a forma de solução hidroalcoólica de concentração não especificada, totalmente solúvel em etanol e moderadamente solúvel em água. Ambas amostras isentas de aditivos e coliformes, utilizadas dentro do período de validade (8 meses) , estocadas em local fresco ou preferencialmente câmara fria e conservadas ao abrigo da luz.

## 3.2 MÉTODOS

### 3.2.1 PREPARAÇÃO DAS AMOSTRAS

Para cada um dos tipos de corantes estudados foram preparadas séries de amostras sob diversas formas de apresentações e concentrações:

- **corante carmim:** pó (forma apresentada comercialmente com 5% de umidade), tintura de carmim líquida (forma apresentada comercialmente) e 2 diluições desta tintura de carmim, a 10 e 5% v/v ;
- **corante de urucum:** tintura de urucum líquida (forma apresentada comercialmente) e 3 diluições desta tintura, a 50, 10 e 5% v/v ;
- **corante de cúrcuma:** tintura de cúrcuma líquida (forma apresentada comercialmente) e 3 diluições desta tintura, a 50, 10 e 5% v/v ;

Cada uma das amostras foi dividida em alíquotas, sendo a primeira mantida como controle (não irradiada) e as demais submetidas à radiação.

Todas amostras foram acondicionadas em tubos de ensaios previamente identificados, esterilizados e munidos com tampas herméticas, sendo conservadas em refrigerador doméstico (7 - 10°C) por 48 horas. Posteriormente foram encaminhadas à fase de irradiação, sendo analisadas no prazo máximo de 72 horas.

Foram utilizadas técnicas de análise por espectrofotometria e por eletroforese capilar, conforme metodologias específicas para cada tipo de corante, descritas nas seções seguintes.

Inicialmente foram estabelecidos os espectros de absorção na região do visível de soluções padrões de cada um dos corantes a serem estudados e determinados seus picos característicos de absorção. Também foram estabelecidos os seus eletroferogramas, permitindo registrar suas características físico-químicas originais. Os dados obtidos permitiram comparações com as porções que foram posteriormente irradiadas e analisadas.

Cada uma das amostras estudadas foi analisada em triplicata (espectrofotometria) ou duplicata (eletroforese capilar), e os resultados finais expressos como valor médio das medidas.

### **3.2.2 DETERMINAÇÕES POR ESPECTROFOTOMETRIA**

Foi utilizado espectrofotômetro VARIAN, modelo 280, uv/vis, equipado com cubetas de quartzo de 1 cm de percurso óptico.

#### **3.2.2.1 DETERMINAÇÃO DE ÁCIDO CARMÍNICO EM CARMIM DE COCHONILHA POR FOTOMETRIA [24].**

Uma amostra de 300 mg da amostra foi adicionada a 10 mL de HCl 2 N e 50 mL de água destilada e fervida até a dissolução. Após esfriar foi transferida para balão volumétrico de 200 mL e completado o volume com água destilada. Foi lida a absorbância em espectrofotômetro, em célula de 1 cm a 494 nm usando como branco uma solução de ácido clorídrico de pH 2,0.

A concentração de ácido carmínico da amostra foi calculada levando-se em conta as diluições realizadas no processo e adotando-se para comparação a absorbância de uma solução de ácido carmínico contendo 15 mg, em célula de 1 cm, com  $\epsilon = 0,262$ .



### 3.2.2.2 DETERMINAÇÃO DE CAROTENÓIDES TOTAIS EXPRESSOS COMO BIXINA / NORBIXINA EM CORANTES DE URUCUM POR FOTOMETRIA [24].

Amostras de 0,1 a 1,0 g da amostra foram transferidas para um balão volumétrico de 100 mL, com solução de hidróxido de sódio 0,01N e foi completado seu volume com a mesma solução. Uma alíquota de 10 mL foi pipetada e diluída novamente a 100 mL com hidróxido de sódio 0,01 N e transferiu-se 1 mL desta solução para um funil de separação, sendo então adicionado 10 mL de solução de cloreto de sódio (1:10) e cerca de 50 mL de água destilada. Foram adicionados 2 mL de solução de ácido sulfúrico a 10% que foram extraídos com porções sucessivas de 10 mL de benzeno, até que o benzeno não apresentasse mais coloração. Os extratos benzênicos foram reunidos e lavados por 3 vezes com porções de 5 mL de água. As camadas aquosas obtidas foram agrupadas em outro funil de separação e lavadas por 3 vezes com porções de 2 mL de benzeno. Todos os extratos benzênicos reunidos foram adicionados igual volume de éter de petróleo e extraídos com porções de 5 mL de solução de hidróxido de sódio 0,01 N, até que esta ficasse incolor. Os extratos alcalinos foram recolhidos em balão volumétrico de 100 mL e seu volume completado com uma solução 0,01 N de hidróxido de sódio. A absorbância desta solução foi determinada a 453 nm e a concentração total de carotenóides, expressa como norbixina, foi calculada por comparação com uma solução a 1% do corante, em célula de 1 cm, com  $\epsilon = 3473$ .

### **3.2.2.3 DETERMINAÇÃO DE TEOR DE MATÉRIA CORANTE TOTAL EM CURCUMINA POR FOTOMETRIA [24].**

Uma amostra de 0,08 g foi transferida para balão volumétrico de 200 mL com auxílio de etanol e agitada até completa dissolução. O volume do balão foi completado com o mesmo solvente e foi pipetado 1 mL da solução para um balão volumétrico de 100 mL que teve seu volume completado com etanol. A medida da absorbância desta solução foi realizada a 425 nm, usando-se etanol como branco. A concentração da matéria corante total na amostra, expressa como curcumina, foi calculada usando-se o valor de absorvidade de uma solução a 1% do corante, em célula de 1 cm, com  $\epsilon = 1607$ .

### **3.2.3 DETERMINAÇÕES POR ELETROFORESE CAPILAR (EC) [60]**

Foi utilizado equipamento BECKMAN P/ACE 5510 equipado com tubo capilar em sílica fundida de 75  $\mu\text{m}$  de diâmetro interno e 47 cm de comprimento total (40 cm até o detetor). As determinações foram realizadas a 25°C, sob uma ddp de 25 kV e a uma taxa de injeção de 0,5 psi/s.

#### **3.2.3.1 DETERMINAÇÃO DE ÁCIDO CARMÍNICO EM CARMIM DE COCHONILHA POR ELETROFORESE CAPILAR (EC) [73] [74].**

Uma amostra de 0,100 g de carmim de cochonilha foi transferida e dissolvida parcialmente em 30 mL de uma solução de ácido clorídrico 2 M. A mistura foi aquecida ligeiramente, até total dissolução do corante, sendo posteriormente resfriada e transferida quantitativamente para balão volumétrico de 1.000 mL com o auxílio de água destilada. Desta forma foi obtida uma solução de

aproximadamente 50  $\mu\text{g}$  / mL de ácido carmínico e a solução assim obtida foi filtrada para remoção de impurezas, através de filtro tipo Sartorius RC15 Minisart (Mississauga, Canada) com 0,45  $\mu\text{m}$  de dimensão de poro. Da solução obtida foi utilizada uma alíquota ou sua diluição conveniente para a análise.

### **3.2.3.2 DETERMINAÇÃO DE BIXINA EM COMPOSTOS DE URUCUM POR ELETROFORESE CAPILAR (EC) [73] [74].**

Uma amostra de 0,600 g de urucum foi adicionada a 0,100 g de solução de hidróxido de sódio a 10% p/v. A solução foi transferida quantitativamente para balão volumétrico de 100 mL com auxílio de metanol, resultando em uma concentração de aproximadamente 520  $\mu\text{g}$  de bixina / mL. A solução foi homogeneizada e deixada em repouso por uma noite antes de ser realizada a análise em EC. Da solução obtida foi utilizada uma alíquota ou sua diluição conveniente para a análise.

### **3.2.3.3 DETERMINAÇÃO DE CURCUMINA EM COMPOSTOS DE CÚRCUMA POR ELETROFORESE CAPILAR (EC) [73] [74].**

Uma amostra de 0,500 g de curcumina foi pesada e transferida para um balão volumétrico de 100 mL com auxílio de metanol. A solução foi homogeneizada e deixada em repouso por uma noite antes de ser realizada a análise em EC. Da solução obtida foi utilizada uma alíquota ou sua diluição conveniente para a análise.

### 3.2.4 IRRADIAÇÕES

As amostras foram irradiadas à temperatura ambiente, de forma a reproduzir condições normais e habituais aos produtos em uso comercial.

A dosimetria da fonte foi realizada previamente, segundo a metodologia Fricke e o tempo de exposição das amostras foi calculado levando-se em consideração a taxa de decaimento da fonte, de forma a serem aferidas as doses aplicadas.

Foi utilizada uma fonte de radiação gama de  $^{60}\text{Co}$  Gammacell 220 (Atomic Energy of Canadá LTD, Canada), localizada no Centro de Tecnologia das Radiações (CTR) do Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares (IPEN), com taxa de dose média de 5 kGy/h e fator de uniformidade de dose de 1,13 .

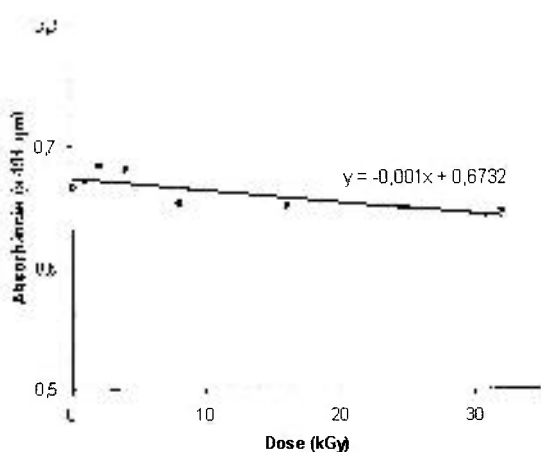
As doses utilizadas para irradiação foram de 1, 2, 4, 8, 16 e 32 kGy de forma a simular condições habitualmente utilizadas em processos comerciais de tratamento de alimentos. Foram irradiados um total de 72 amostras, com 4 diferentes concentrações (pura e diluídas a 50; 10 e 5%) para os corantes estudados: carmim, urucum e cúrcuma.

## 4. RESULTADOS

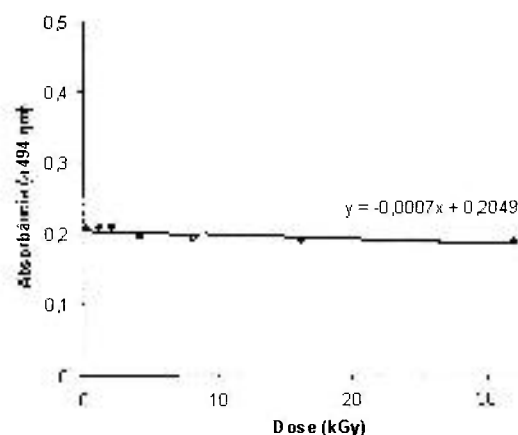
### 4.1 CORANTE CARMIM DE COCHONILHA

#### 4.1.1 ESPECTROFOTOMETRIA DO CARMIM DE COCHONILHA

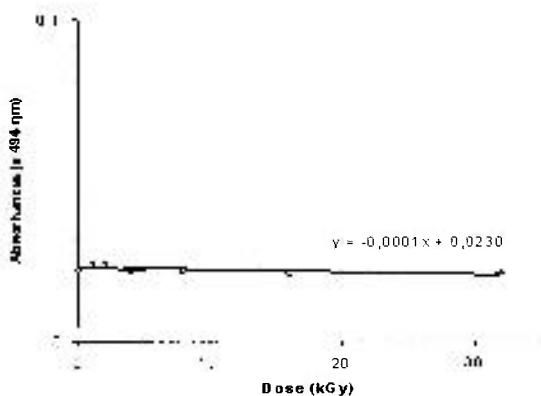
As leituras das absorvâncias em função da dose de radiação a que foi submetida cada uma das amostras estudadas estão representadas nas FIG. 12 a 15.



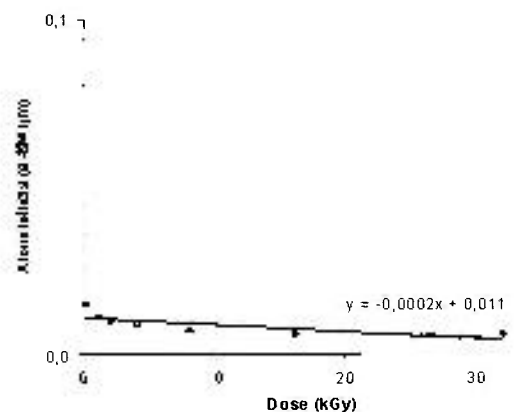
**FIGURA 12** – Carmim em pó – Absorvância em função da dose de radiação gama



**FIGURA 13** – Tintura de carmim – Absorvância em função da dose de radiação gama



**FIGURA 14** – Tintura de carmim a 10% v/v – Absorvância em função da dose de radiação gama

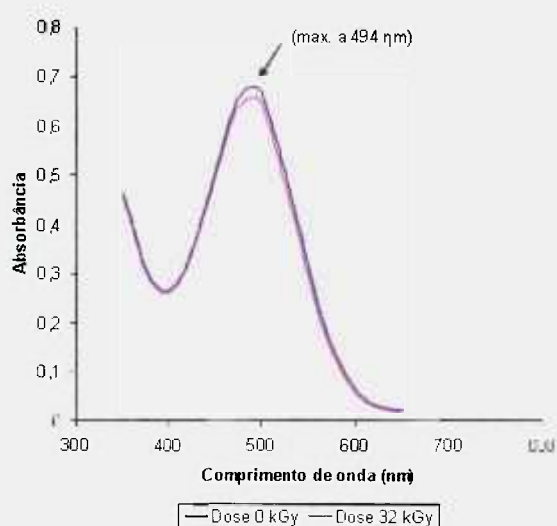


**FIGURA 15** – Tintura de carmim a 5% v/v – Absorvância em função da dose de radiação gama

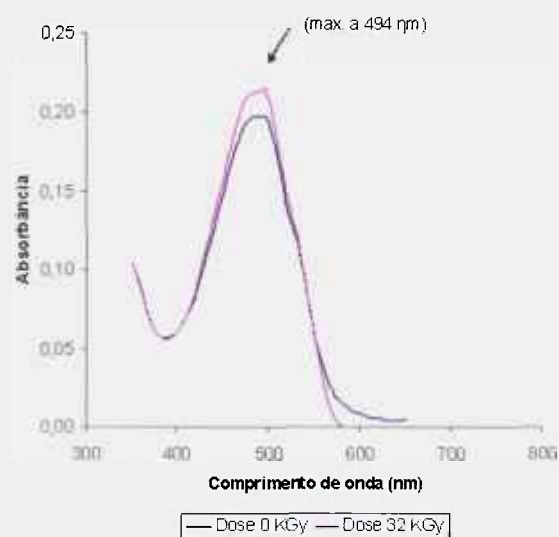
Os correspondentes dados analíticos e parâmetros estatísticos referentes às figuras constam das TAB. 15 a 30 localizadas no Apêndice.

A função linear (reta de regressão) ajustada para cada amostra possui inclinação negativa indicando um leve e contínuo decréscimo dos valores de absorvância em função das doses. Ocorre também um moderado incremento dos valores de absorvância para as doses de 1 e 2 kGy, excetuado o caso da solução de maior diluição (tintura de camim a 5% v/v). Os coeficientes de determinação ( $R^2$ ) superiores a 0,69 sugerem haver associação entre as variáveis *Dose X Absorvância*.

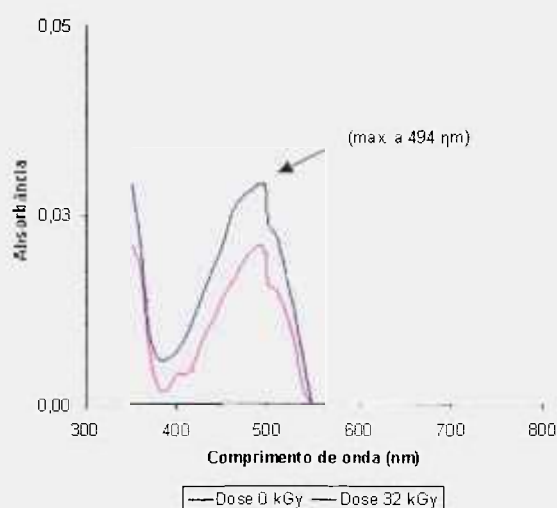
Nas FIG. 16 a 19 a seguir são apresentados os espectros de absorção das amostras não irradiadas, comparados às amostras irradiadas com dose de 32 kGy.



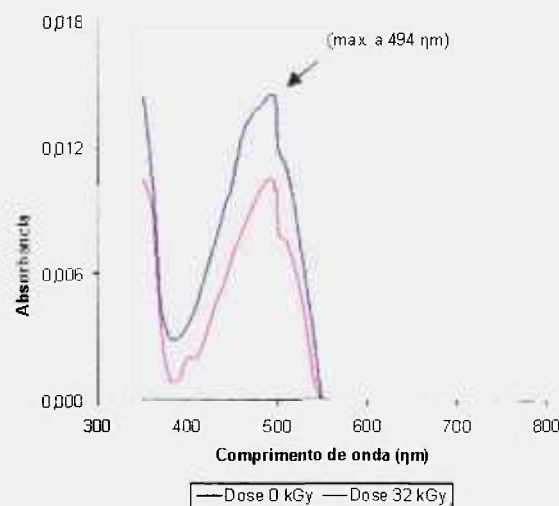
**FIGURA 16** – Carmim em pó - Comparativo do espectro de absorção da amostra não irradiada e da amostra irradiada com dose de 32 kGy.



**FIGURA 17** – Tintura de carmim - Comparativo do espectro de absorção da amostra não irradiada e da amostra irradiada com dose de 32 kGy.



**FIGURA 18** – Tintura de carmim 10% v/v - Comparativo do espectro de absorção da amostra não irradiada e da amostra irradiada com dose de 32 kGy.



**FIGURA 19** - Tintura de carmim 5% v/v - Comparativo do espectro de absorção da amostra não irradiada e da amostra irradiada com dose de 32 kGy.

A variação da absorvância não foi significativamente importante para as amostras mais concentradas. Somente as amostras mais diluídas parecem sofrer a ação da radiação, fato denotado pela diminuição da altura dos picos característicos dos espectros de absorção.

Na TABELA 9 é apresentada a variação percentual da cor em função da dose de radiação aplicada nas amostras.

TABELA 9 – Variação da Cor das amostras de carmim de cochonilha

		Carmim em pó	T. carmim	T. carmim 10%v/v	T. carmim 5%v/v
0 kGy	Abs	0,666 ± 0,017	0,208 ± 0,008	0,022 ± 0,001	0,015 ± 0,000
	Cor	100%	100%	100%	100%
1 kGy	Abs	0,671 ± 0,022	0,209 ± 0,002	0,024 ± 0,001	0,011 ± 0,000
	Cor	101%	100%	109%	73%
2 kGy	Abs	0,683 ± 0,027	0,209 ± 0,005	0,024 ± 0,001	0,010 ± 0,001
	Cor	103%	100%	109%	67%
4 kGy	Abs	0,681 ± 0,005	0,195 ± 0,009	0,022 ± 0,000	0,009 ± 0,000
	Cor	102%	94%	100%	60%
8 kGy	Abs	0,653 ± 0,008	0,194 ± 0,003	0,022 ± 0,001	0,007 ± 0,000
	Cor	98%	93%	100%	47%
16 kGy	Abs	0,651 ± 0,029	0,190 ± 0,004	0,021 ± 0,001	0,006 ± 0,000
	Cor	98%	91%	95%	40%
32 kGy	Abs	0,647 ± 0,015	0,188 ± 0,009	0,021 ± 0,000	0,006 ± 0,000
	Cor	97%	90%	95%	40%

Analisando a evolução do coeficiente Cor nas colunas é possível observar de forma geral sua manutenção ao longo do processo para as 3 soluções corantes mais concentradas. Ocorre ainda um pequeno incremento da Cor (5% em média) para as doses iniciais (de 1 e 2 kGy), seguido de leve e contínua diminuição para doses de maior valor. Já na amostra mais diluída ocorre diminuição significativa do nível de cor ao longo do processo (perda de até 60%).

A partir dos dados da TAB. 9, admitindo-se uma distribuição contínua “t” (Student), foi possível construir um intervalo de confiança ao redor do valor médio das absorvâncias.



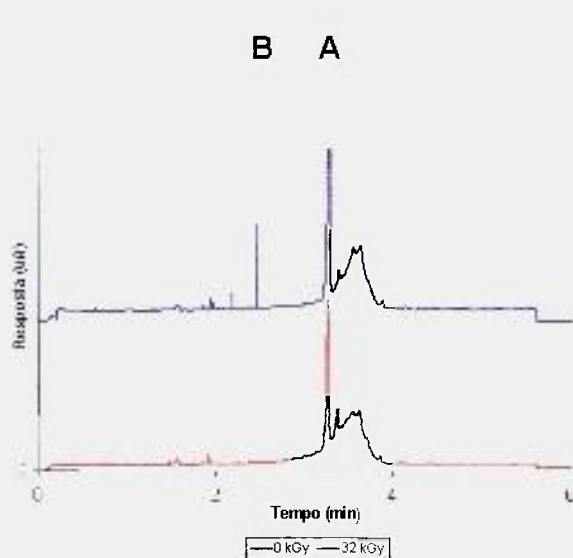
Com um nível de significância de 5%, considerando que alguns poucos valores estejam em regiões limitrofes externas ao intervalo (campos hachurados em cinza na TAB. 9), é possível considerar o corante carmim bastante estável frente à radiação, exceto em sua forma mais diluída. Isto é estatisticamente verdadeiro, tanto através de efeitos diretos que seriam acentuados na amostra em pó, quanto nas amostras diluídas onde os efeitos indiretos da radiação são fundamentalmente exercidos através de produtos provenientes da radiólise da água.

Foi realizado um teste de *Análise de variâncias* (ANOVA), com o objetivo de aferir se existem influências das doses e diluições no nível de cor (absorbância) das amostras.

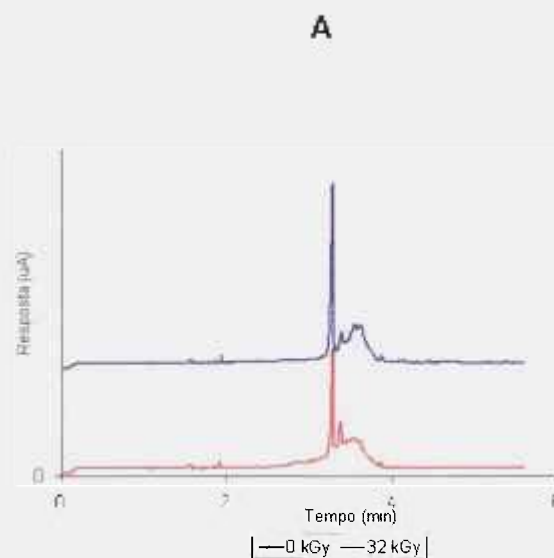
Considerado um nível de 5% de significância, foi constatado que a dose e a diluição possuem influência na cor das amostras, havendo relação causa e efeito para as variáveis envolvidas no processo. Tal fato é corroborado pelos coeficientes de determinação ( $R^2$ ) das retas de regressão, citados anteriormente, que sugeriam moderada associação entre as variáveis.

#### 4.1.2 ELETROFORESE CAPILAR DO CARMIM DE COCHONILHA

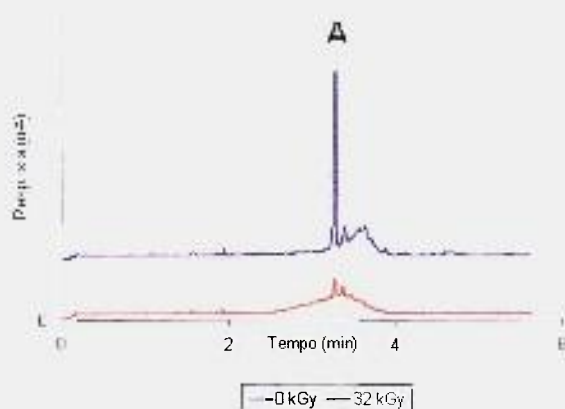
As FIG. 20 a 23 apresentam os eletroferogramas correspondentes às amostras estudadas quando não irradiadas e quando submetidas à dose de 32 kGy.



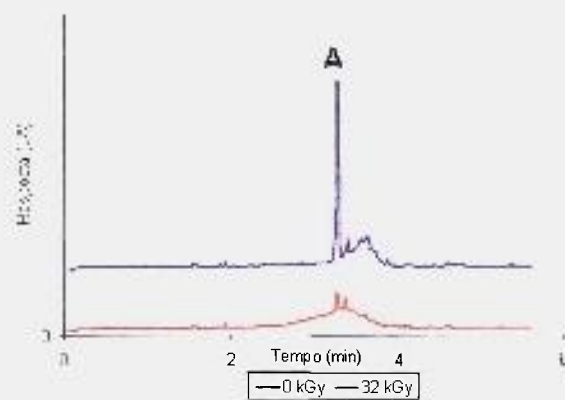
**FIGURA 20** – Carmim em pó – Eletroferograma comparativo de doses



**FIGURA 21** – Tintura de carmim – Eletroferograma comparativo de doses



**FIGURA 22** – Tintura de carmim 10% v/v – Eletroferograma comparativo de doses



**FIGURA 23** – Tintura de carmim 5% v/v – Eletroferograma comparativo de doses

Nas duas soluções mais concentradas o aspecto de ambas as curvas do eletroferogramas revela grande similaridade. Contudo, é possível observar alterações nas alturas de alguns picos mais característicos, destacados nas figuras,

como por exemplo o *Pico A* (o principal, correspondente ao ácido carmínico) e o *Pico B* (o secundário, de composição não determinada). Na TAB.ELA 10 apresentam-se dados (área de integração) referentes ao ácido carmínico.

TABELA 10 – Eletroforese do carmim de cochonilha - Comparativo entre os valores de área do ácido carmínico na amostra não irradiada e da amostra irradiada com 32 kGy

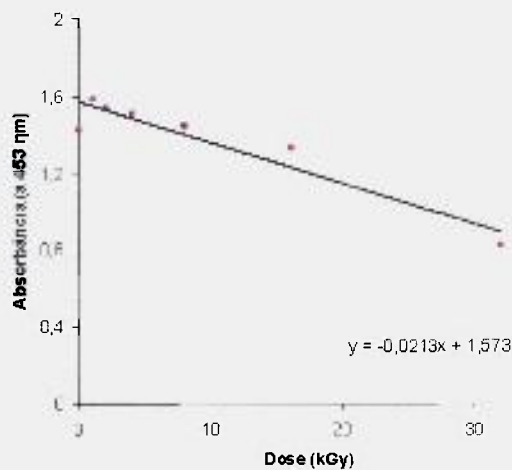
	<b>Carmim pó</b>	<b>T. de carmim</b>	<b>T. carmim 10% v/v</b>	<b>T. carmim 5% v/v</b>
<b>0 KGy</b>	4.163.960	2.761.160	694.080	346.485
<b>32 kGy</b>	2.972.090	1.448.400	69.198	3.505
<b>Decréscimo</b>				
<b>após a</b>	<b>29%</b>	<b>48%</b>	<b>90%</b>	<b>99%</b>
<b>irradiação</b>				

É possível verificar um decréscimo na área sob a curva do pico correspondente ao princípio ativo nas amostras irradiadas.

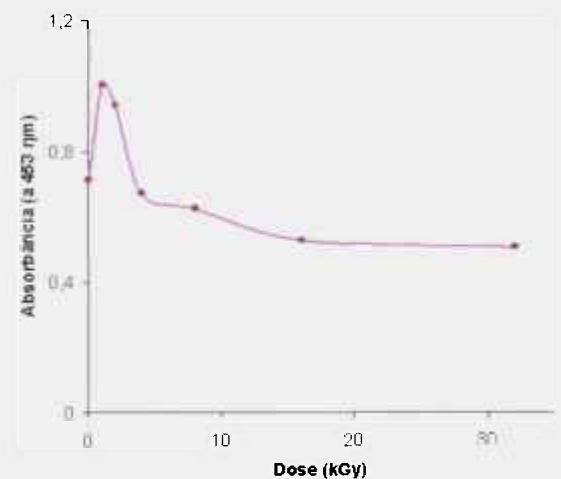
## 4.2 CORANTE DE URUCUM

### 4.2.1 ESPECTROFOTOMETRIA DO URUCUM

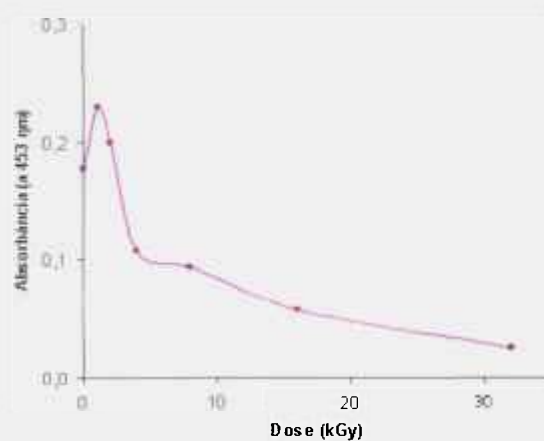
As leituras das absorvâncias em função da dose de radiação a que foi submetida cada uma das amostras estudadas estão representada nas FIG. 24 a 27.



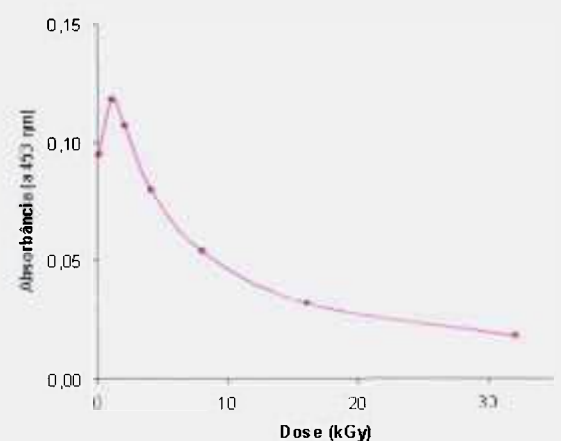
**FIGURA 24** – Tintura de urucum – Absorvância em função da dose de radiação gama



**FIGURA 25** - Tintura de urucum 50% v/v – Absorvância em função da dose de radiação gama



**FIGURA 26** – Tintura de urucum 10% v/v – Absorvância em função da dose de radiação gama



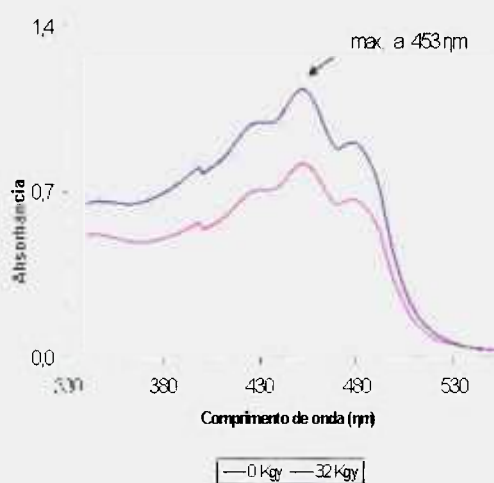
**FIGURA 27** – Tintura de urucum 5% v/v - Absorvância em função da dose de radiação gama

Os correspondentes dados analíticos e parâmetros estatísticos referentes às figuras anteriores constam das TAB. 31 a 46 localizadas no Apêndice.

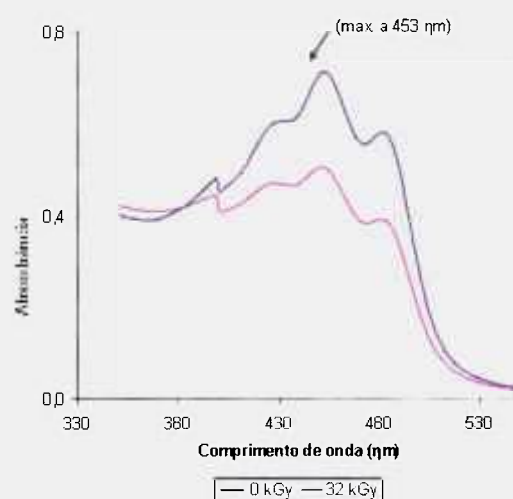
Em todas as diluições estudadas houve discreto aumento da absorvância nas amostras irradiadas com as doses menores, especialmente 1 e 2 kGy.

A função linear (reta de regressão) ajustada para a solução mais concentrada (Tintura de urucum) possui inclinação negativa, indicando leve e contínuo decréscimo dos valores de absorvância em função da dose. O coeficiente de determinação ( $R^2$ ), com valor de aproximadamente 0,95 sugere haver forte associação entre as variáveis *Dose X Absorvância*. Já para as 3 soluções mais diluídas não foi possível o ajuste satisfatório de funções matemáticas tais como a linear, logarítmica, polinomial (até 4º grau), potência e exponencial.

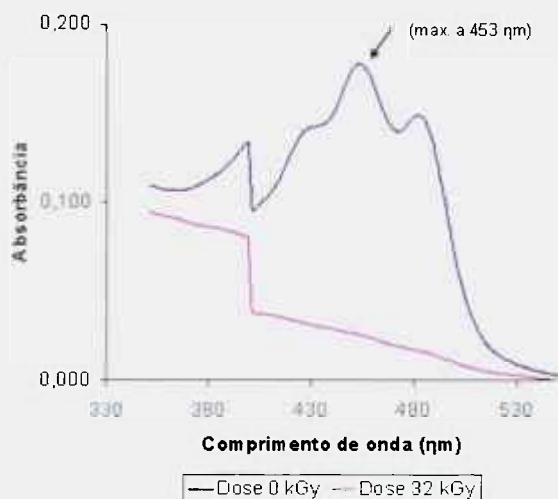
Nas FIG. 28 a 31 são apresentados os espectros de absorção das amostras não irradiada comparados às amostras irradiadas com dose de 32 kGy.



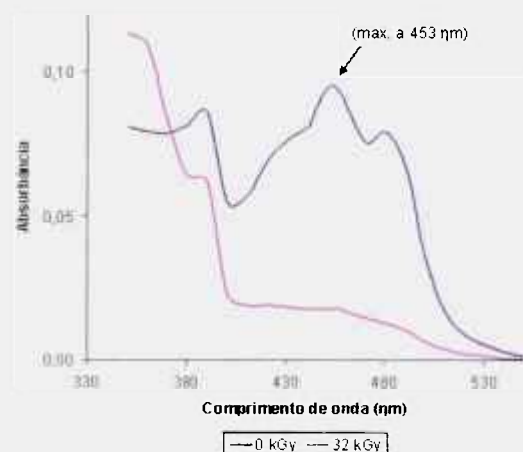
**FIGURA 28** – Tintura de urucum - Comparativo do espectro de absorção da amostra não irradiada e da amostra irradiada com dose de 32 kGy.



**FIGURA 29** – Tintura urucum 50% v/v - Comparativo do espectro de absorção da amostra não irradiada e da amostra irradiada com dose de 32 kGy.



**FIGURA 30** – Tintura urucum a 10% v/v - Comparativo do espectro de absorção da amostra não irradiada e da amostra irradiada com dose de 32 kGy.



**FIGURA 31** - T. urucum a 5% v/v - Comparativo do espectro de absorção da amostra não irradiada e da amostra irradiada com dose de 32 kGy.

Embora todos corantes demonstrem ter sofrido diminuição de seus valores de absorvância quando irradiados, as amostras de maior diluição evidenciaram sofrer mais intensamente a ação da radiação, fato denotado pela sensível diminuição da altura dos picos característicos de seu espectro de absorção.

Na TAB. 11 é apresentada a variação percentual da cor em função da dose de radiação aplicada nas amostras.

TABELA 11 - Variação da Cor das amostras de urucum

		Tintura de urucum	T. urucum 50% v/v	T. urucum 10% v/v	T. urucum 5% v/v
0 kGy	Abs	1,429 ± 0,004	0,714 ± 0,025	0,178 ± 0,009	0,095 ± 0,003
	Cor	100%	100%	100%	100%
1 kGy	Abs	1,585 ± 0,070	0,968 ± 0,033	0,230 ± 0,003	0,118 ± 0,039
	Cor	111%	138%	129%	124%
2 kGy	Abs	1,542 ± 0,056	0,943 ± 0,027	0,200 ± 0,007	0,107 ± 0,003
	Cor	108%	132%	112%	113%
4 kGy	Abs	1,509 ± 0,038	0,671 ± 0,049	0,108 ± 0,003	0,080 ± 0,002
	Cor	106%	94%	61%	84%
8 kGy	Abs	1,442 ± 0,063	0,624 ± 0,021	0,095 ± 0,001	0,054 ± 0,002
	Cor	101%	87%	53%	57%
16 kGy	Abs	1,337 ± 0,023	0,528 ± 0,012	0,058 ± 0,001	0,032 ± 0,001
	Cor	94%	74%	33%	34%
32 kGy	Abs	0,824 ± 0,009	0,506 ± 0,012	0,026 ± 0,001	0,018 ± 0,001
	Cor	58%	71%	15%	19%

Analisando a evolução do coeficiente Cor em cada uma das colunas, é possível observar que em todas as amostras ocorrem incrementos das absorvâncias nas doses iniciais (1 e 2 kGy), seguido de leve e contínuo decréscimo para doses de maior valor.

Para as duas soluções mais concentradas é possível observar uma relativa manutenção de seus níveis até doses de 8 kGy. No entanto, nas 2 soluções mais diluídas ocorre diminuição significativa do nível de cor, especialmente a partir de 8 kGy.

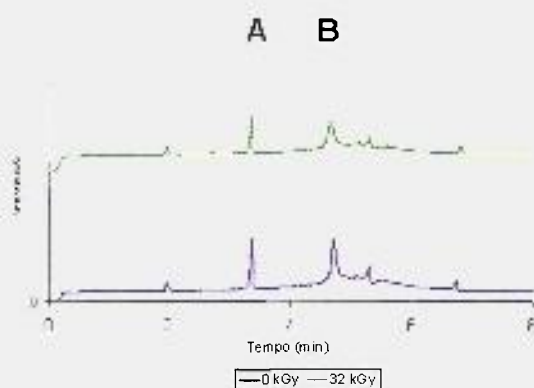
Procedemos a uma análise estatística nos moldes realizados para o corante anterior, com um nível de significância de 5%, considerando que alguns poucos valores estejam em regiões limítrofes externas ao intervalo (campos hachurados em cinza na TAB. 11), podemos considerar o corante de urucum relativamente estável frente à radiação, até doses de 16 kGy. Isto é estatisticamente verdadeiro, tanto através de efeitos diretos que seriam mais acentuados na solução mais concentrado, quanto nas amostras diluídas onde os efeitos indiretos da radiação são fundamentalmente exercidos através de produtos provenientes da radiólise da água.

O teste de *Análise de variâncias* (ANOVA), considerado um nível de 5% de significância, permite constatar a existência de relação causa e efeito para as variáveis envolvidas no estudo (concentração e dose) influenciando, portanto, na cor das amostras após a irradiação.

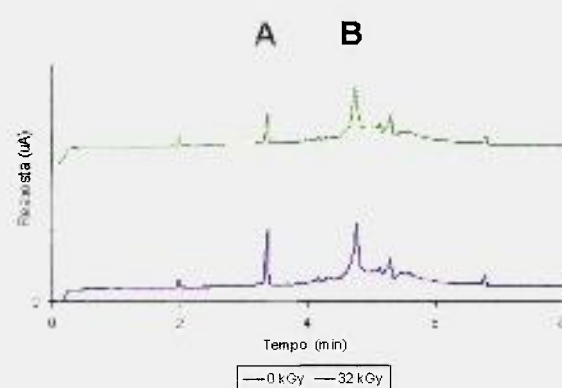


#### 4.2.2 ELETROFORESE CAPILAR DO URUCUM

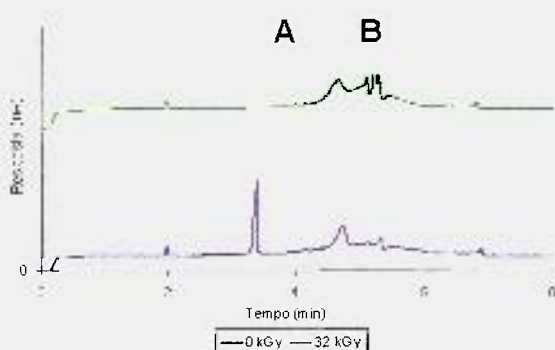
As FIG. 32 a 35 apresentam os eletroferogramas correspondentes a cada uma das amostras estudadas quando não irradiadas e quando submetidas à dose de 32 kGy.



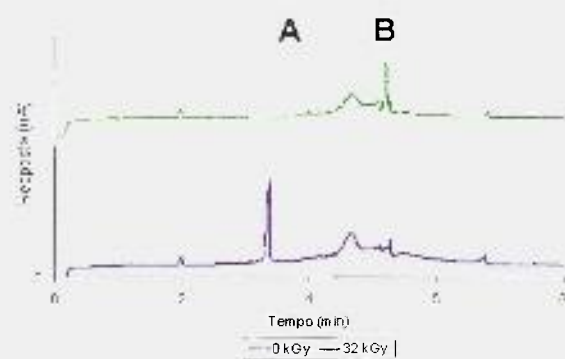
**FIGURA 32** – Tintura de urucum – Eletroferograma comparativo de doses



**FIGURA 33** – Tintura de urucum a 50% v/v – Eletroferograma comparativo de doses



**FIGURA 34** – Tintura de urucum a 10% v/v – Eletroferograma comparativo de doses



**FIGURA 35** – Tintura de urucum a 5% v/v – Eletroferograma comparativo de doses

Nas duas soluções mais concentradas, o aspecto de ambas as curvas do eletroferograma revela grande similaridade. Contudo, é possível observar alterações nas alturas de alguns picos mais característicos destacados nas figuras, como por exemplo, o *Pico A* (o principal, correspondente a carotenóides derivados da bixina)

e o *Pico B* (o secundário, de composição não determinada). Na TAB. 12 apresentam-se dados (áreas de integração) referentes ao carotenóide bixina:

TABELA 12 – Eletroforese do urucum - Comparativo entre os valores de área do carotenóide bixina na amostra não irradiada e na amostra irradiada com 32 kGy

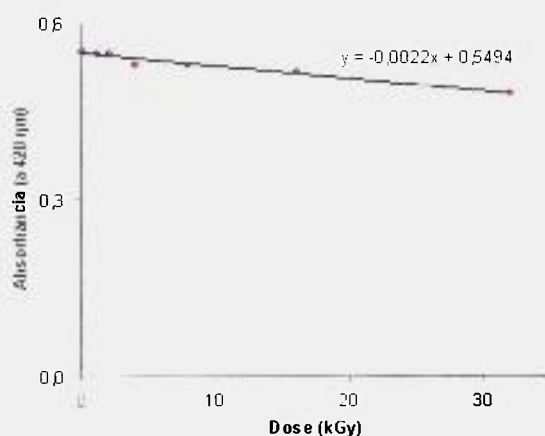
	T. urucum	T.urucum 50% v/v	T. urucum 10% v/v	T. urucum 5% v/v
<b>0 KGy</b>	4.103	2.616	599	311
<b>32 kGy</b>	2.749	1.170	0	0
<b>Decréscimo</b>				
<b>após a</b>	<b>33%</b>	<b>55%</b>	<b>100%</b>	<b>100 %</b>
<b>irradiação</b>				

É possível observar um grande decréscimo na área sob a curva do pico correspondente ao princípio ativo nas amostras irradiadas..

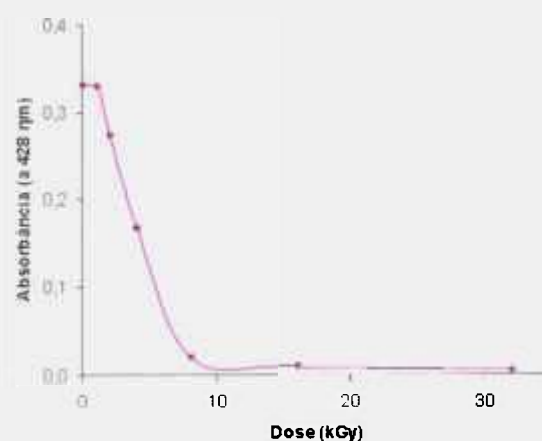
### 4.3 CORANTE DE CÚRCUMA

#### 4.3.1 ESPECTROFOTOMETRIA DA CÚRCUMA

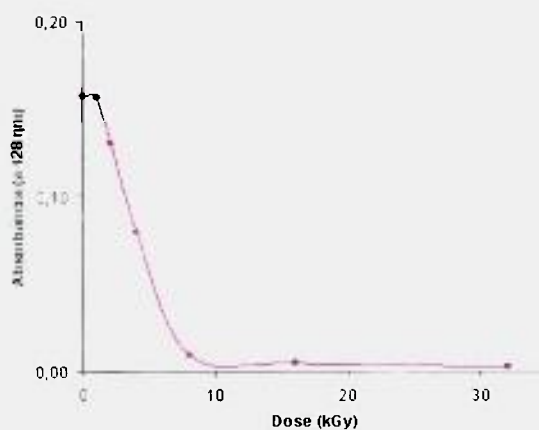
As leituras das absorvâncias em função da dose de radiação a que foi submetida cada uma das amostras estudadas estão representada nas FIG. 36 a 39.



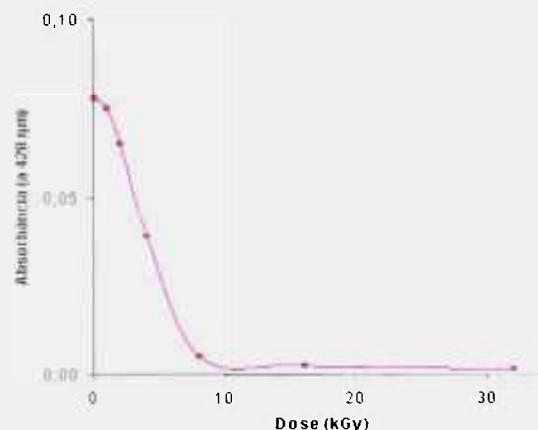
**FIGURA 36** – Tintura de cúrcuma – Absorvância em função da dose de radiação gama



**FIGURA 37** – Tintura cúrcuma 50% v/v – Absorvância em função da dose de radiação gama



**FIGURA 38** – Tintura de cúrcuma 10% v/v – Absorvância em função da dose de radiação gama



**FIGURA 39** – Tintura de cúrcuma 5% v/v – Absorvância em função da dose de radiação gama

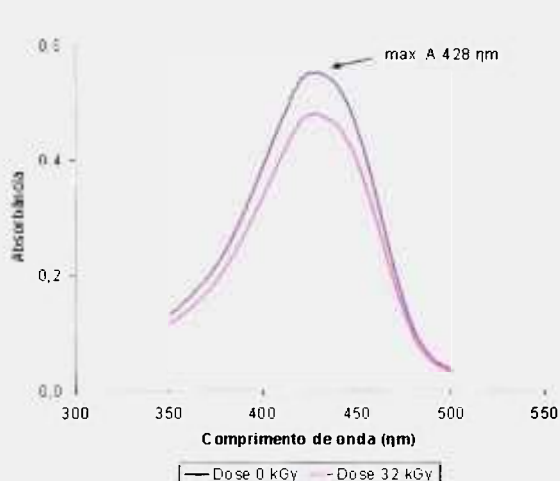
Os correspondentes dados analíticos e parâmetros estatísticos referentes às figuras anteriores constam das TAB. 47 a 62 localizadas no Apêndice.

Em todas as amostras estudadas houve manutenção nos valores da absorvância quando irradiadas com a menor dose aplicada (1 kGy).

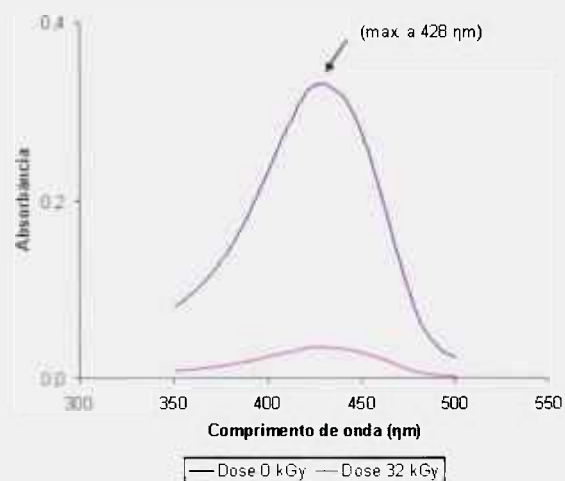
A função linear (reta de regressão) ajustada para a solução mais concentrada (Tintura de cúrcuma) possui inclinação negativa, indicando leve e contínuo decréscimo dos valores de absorvância em função da dose. O coeficiente de determinação ( $R^2$ ) de aproximadamente 0,98 sugere haver forte associação entre as variáveis *Dose X Absorvância*.

Já para as três soluções mais diluídas, não foi possível ajustarmos satisfatoriamente funções matemáticas tais como a linear, logaritma, polinomial (até 4º grau), potência e exponencial. Por outro lado, nestas diluições pode-se observar a partir da dose de 2 kGy um rápido decréscimo nos valores de absorvância que chegam a atingir valores próximos a zero em doses superiores a 8 kGy.

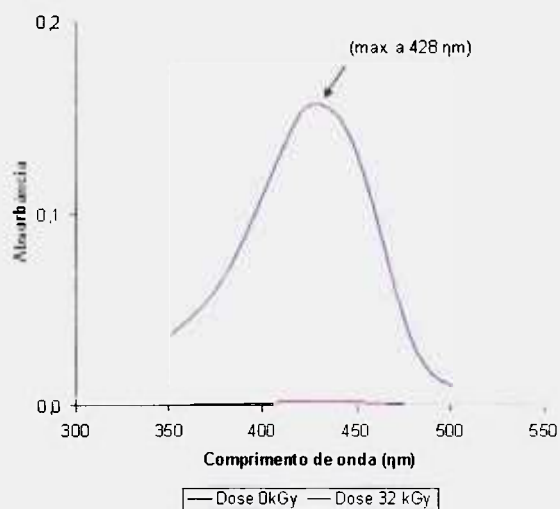
Nas FIG. 40 a 43 são apresentados os espectros de absorção das amostras não irradiada comparados às amostras irradiadas com dose de 32 kGy.



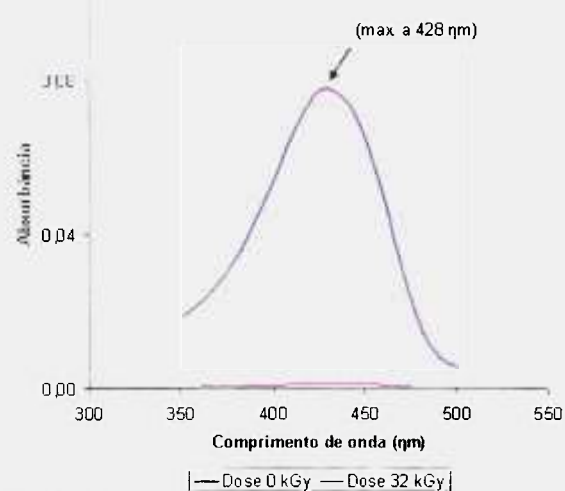
**FIGURA 40** – Tintura de cúrcuma - Comparativo do espectro de absorção da amostra não irradiada e da amostra irradiada com dose de 32 kGy.



**FIGURA 41** – Tintura de cúrcuma 50% v/v - Comparativo do espectro de absorção da amostra não irradiada e da amostra irradiada com dose de 32 kGy.



**FIGURA 42** – Tintura de cúrcuma 10% v/v - Comparativo do espectro de absorção da amostra não irradiada e da amostra irradiada com dose de 32 kGy.



**FIGURA 43** – Tintura de cúrcuma 5% v/v - Comparativo do espectro de absorção da amostra não irradiada e da amostra irradiada com dose de 32 kGy.

Embora a solução mais concentrada demonstre ter sofrido alguma diminuição de seus valores de absorvância quando irradiada, todas as demais amostras evidenciaram sofrer muito mais intensamente a ação da radiação, fato denotado pela flagrante diminuição da altura do pico característico de seus espectros de absorção.

Na TAB. 13, é apresentada a variação percentual da cor em função da dose de radiação aplicada nas amostras.

TABELA 13 – Variação da Cor das amostras de cúrcuma

		T. cúrcuma	T. cúrcuma 50% v/v	T. cúrcuma 10% v/v	T. cúrcuma 5% v/v
0 kGy	Abs	0,553±0,012	0,332±0,005	0,158±0,005	0,078±0,000
	Cor	100%	100%	100%	100%
1 kGy	Abs	0,550±0,010	0,330±0,005	0,157±0,003	0,075±0,000
	Cor	99%	99%	99%	96%
2 kGy	Abs	0,549±0,003	0,274±0,008	0,131±0,002	0,065±0,000
	Cor	99%	83%	83%	83%
4 kGy	Abs	0,530±0,005	0,167±0,006	0,080±0,000	0,039±0,000
	Cor	96%	50%	51%	50%
8 kGy	Abs	0,530±0,009	0,020±0,001	0,009±0,000	0,005±0,000
	Cor	96%	6%	6%	6%
16 kGy	Abs	0,518±0,015	0,011±0,000	0,005±0,000	0,003±0,000
	Cor	94%	3%	3%	4%
32 kGy	Abs	0,480±0,008	0,005±0,000	0,003±0,000	0,001±0,000
	Cor	87%	2%	2%	1%

Analisando a evolução do coeficiente Cor nas colunas, podemos observar que em todas as amostras ocorre uma relativa estabilidade das absorvâncias para doses até 2 kGy, seguida de diminuição significativa para doses de maior valor.

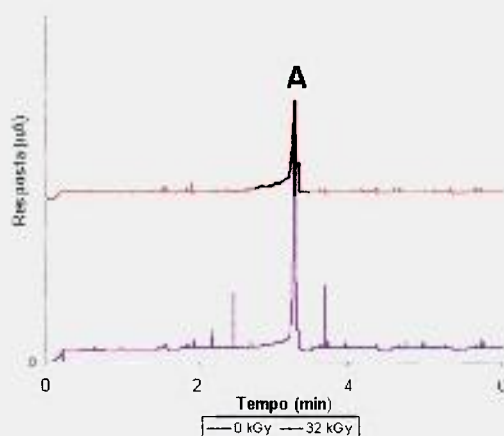
Procedendo a uma análise estatística nos moldes realizados para o corante anterior, com um nível de significância de 5%, considerando que a maior

parte dos pontos relativos às 3 amostras mais diluídas estejam em regiões externas ao intervalo (campos hachurados em cinza na TAB. 13), não podemos considerar o corante de cúrcuma estável frente à radiação, exceto no caso da amostra mais concentrada (tintura de cúrcuma). Isto é estatisticamente verdadeiro nas amostras diluídas, onde os efeitos indiretos da radiação são fundamentalmente exercidos através de produtos provenientes da radiólise da água.

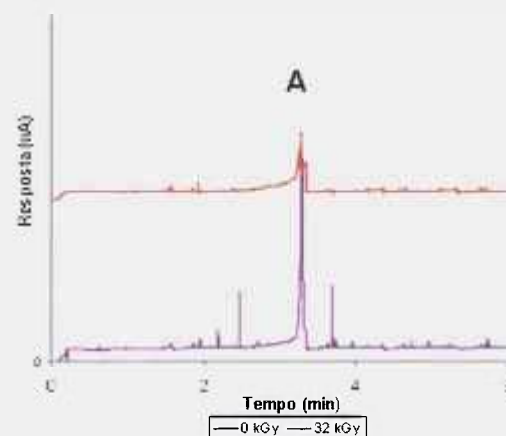
O teste de *Análise de variâncias* (ANOVA), considerado um nível de 5% de significância, permite constatar a existência de relação causa e efeito para as variáveis envolvidas no estudo (concentração e dose) influenciando, portanto, na cor das amostras após a irradiação.

### 4.3.2 ELETROFORESE CAPILAR DA CÚRCUMA

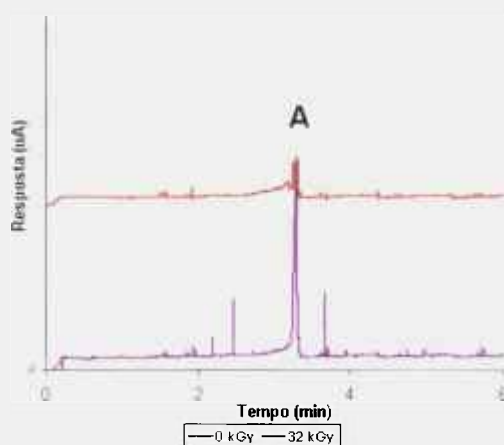
As figuras a seguir apresentam os eletroferogramas correspondentes a cada uma das amostras estudadas quando não irradiadas e quando submetidas à dose de 32 kGy.



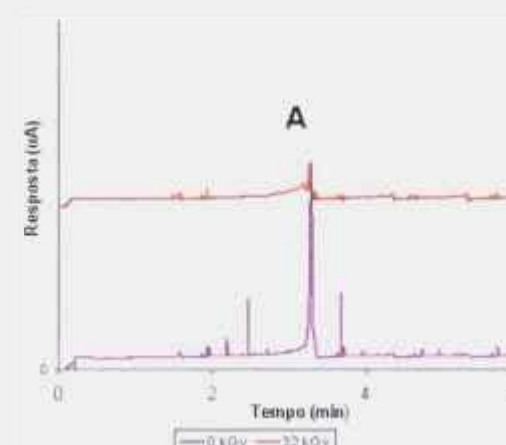
**FIGURA 44** – Tintura de cúrcuma – Eletroferograma comparativo de doses



**FIGURA 45** – Tintura de cúrcuma 50% v/v – Eletroferograma comparativo de doses



**FIGURA 46** – Tintura de cúrcuma 10% v/v – Eletroferograma comparativo de doses



**FIGURA 47** – Tintura de cúrcuma 5% v/v – Eletroferograma comparativo de doses

Na solução mais concentrada, o aspecto de ambas as curvas do eletroferograma revela similaridade em seus contornos. Contudo, é possível



observar alterações nas alturas de alguns picos mais característicos destacados nas figuras, como por exemplo, o *Pico A* (o principal, correspondente à curcumina) e 2 picos secundários de composição não determinada. Já nas 3 soluções mais diluídas tal fato denota profundas diminuições nos teores dos princípios ativos presentes do corante. Na TAB. 14 são apresentados os dados (área de integração) referentes à curcumina:

TABELA 14 – Eletroforese da cúrcuma - Comparativo entre os valores de área da curcumina na amostra não irradiada e na amostra irradiada com 32 kGy

	T. cúrcuma	Γ. cúrcuma 50% v/v	T. cúrcuma 10% v/v	T. cúrcuma 5% v/v
<b>0 KGy</b>	6.512	3.406	699	315
<b>32 kGy</b>	4.884	222	0	0
<b>Decréscimo</b>				
<b>após</b>	<b>25%</b>	<b>94%</b>	<b>100%</b>	<b>100%</b>
<b>irradiação</b>				

Podemos constatar um decréscimo da área sob a curva do pico correspondente ao princípio ativo nas amostras irradiadas.

## 5. DISCUSSÃO

Ainda que a literatura sobre estabilidade de corantes naturais alimentícios frente à radiação ionizante seja praticamente inexistente, existem algumas referências que podem contribuir para o entendimento dos fenômenos envolvidos na ação da radiação nos corantes abordados neste trabalho.

Sabe-se que a oxidação é um dos mais importantes processos químicos que contribuem para a degradação de contaminantes em meio aquoso. Dentre os oxidantes responsáveis por estas reações incluem-se o radical hidroxila, peróxidos, cromóforos orgânicos em estados tripletos excitados, oxigênio molecular singleto e ozônio, entre outros [75].

Corantes contidos em efluentes industriais sofrem descoloração quando submetidos a doses de radiação de até 7 kGy [76]. Outro estudo similar indicou haver uma relação *descoloração / dose* inerente à concentração total de corantes da mistura, independentemente dos tipos de corantes presentes [77].

A capacidade intrínseca de algumas moléculas capturarem radicais livres vem sendo discutida na atualidade, enfatizando sua importância tanto em processos de descontaminações industriais quanto na prevenção de doenças degenerativas do ser humano. Neste último caso, os radicais livres gerados como metabólitos de reações bioquímicas seriam capturados por determinadas moléculas e transformados em produtos inócuos ao organismo.

Grupos cromóforos com ação antioxidante têm a capacidade de interceptar espécies nocivas no estado tripleto prevenindo a formação de oxigênio singleto ou mesmo eliminando-o diretamente. Neste caso os antioxidantes são

também reativos a outras espécies oxigenadas ativas como o radical hidroxila, o ânion superóxido e oxigênio em estado basal na presença de radicais iniciadores (ou sensibilizadores). Experimentos com corantes submetidos a processos químicos oxidativos demonstram que a oxidação tem a capacidade de degradar ou até mesmo eliminar os grupos cromóforos das moléculas corantes. Estes processos oxidativos teriam muitas vezes caráter indireto, pela produção do radical hidroxila ( $\bullet\text{OH}$ ) que é um poderoso agente oxidante não seletivo de elevado potencial de oxidação ( $E^0 = 2,80 \text{ V}$ ) e caráter oxidante mais intenso que o do próprio ozônio ( $\text{O}_3 - E^0 = 2,08 \text{ V}$ ) e peróxido de hidrogênio ( $\text{H}_2\text{O}_2 - E^0 = 1,78 \text{ V}$ ). Este radical livre (hidroxila) pode reagir com moléculas corantes através de três mecanismos distintos (abstração de hidrogênio, transferência de elétrons ou adição radicalar) formando ainda outros radicais secundários que retornariam ao ciclo reativo, sempre colaborando na destruição dos grupos cromóforos [78].

A presença de peróxido de hidrogênio também é capaz de eliminar grupos cromóforos, resultando na formação de grupos carboxílicos [79]. A adição de  $\text{H}_2\text{O}_2$  a efluentes industriais atua como um forte potencializador da degradação diversos corantes, graças à capacidade da  $\text{H}_2\text{O}_2$  gerar radicais hidroxila no meio [80].

Na interação de radiação com soluções aquosas de corantes, como é o foco de nosso trabalho, há a formação de espécies ativas de oxigênio e elétrons solvatados. Tais espécies induzem um choque oxidativo, que agindo sobre os corantes estudados seriam responsáveis pela sua descoloração.

Também há registros na literatura de degradação de cor em amostras corantes induzida por processos eletroquímicos [81].

Os resultados do presente trabalho mostram uma considerável estabilidade do primeiro corante estudado. O carmim possui uma estrutura cromofórica hidroxiantraquinona que é altamente estável frente a diversos agentes e mostrou-se pouco susceptível à oxidação promovida pela radiação.

Já no caso dos corantes de urucum, que contam com a presença de inúmeros carotenóides em sua composição, especialmente a bixina e norbixina, houve diminuição da cor como consequência de interação da radiação com essas moléculas antioxidantes.

A classe dos carotenóides é caracterizada por sua capacidade corante e reatividade química, resultando em compostos instáveis e facilmente destrutíveis [82]. Entre inúmeras funções atribuídas aos carotenóides destaca-se sua atuação como seqüestrante de oxigênio, propriedade esta que os tornam protetores dos lipídeos contra a oxidação [83,84,85] e inibidores de determinados tipos de carcinomas [86]. A adição de pequenas quantidades de carotenóides previne a oxidação prematura de constituintes de alimentos durante seu processamento, seqüestrando a molécula de oxigênio singleto [87].

A elevação dos níveis de radicais livres em processos biológicos, especialmente superóxidos ( $O_2^-$ ) e peróxidos ( $H_2O_2$ ) [88], está associada ao decréscimo dos níveis de vitaminas A, E e  $\beta$ -caroteno no sangue e fígado [89], sendo que a suplementação de nutrientes antioxidantes pode atenuar a formação de radicais livres no meio [90].

Estas ações seriam exercidas pelo seu eficiente consumo de oxigênios singleto e habilidade em capturar radicais livres, inibindo inclusive processos de peroxidação de lipídeos [91].

A capacidade de diversos carotenóides, tióis e tocoferóis agirem como consumidores de oxigênio molecular singlete ( $^1O_2$ ) revelou a seguinte ordem decrescente: licopeno,  $\gamma$ -caroteno, astaxantina, cantaxantina,  $\alpha$ -caroteno,  $\beta$ -caroteno, **bixina**, zeaxantina, luteína, bilirubina, biliverdina, tocoferóis e tióis [20].

Processos de autoxidação ou oxidação-fotosensibilizada são comuns em processos de deterioração de alimentos, frequentemente na presença de moléculas denominadas *sensibilizadoras (S)* no meio. Uma vez que uma série de compostos tais como riboflavina, clorofila e diversos corantes orgânicos comumente agem como sensibilizadores [93,94,95] é possível inferir que o carotenóide bixina contido em alimentos e bebidas possua comportamento similar, degradando-se em processos semelhantes.

Nestas reações a energia absorvida pelas moléculas *S* causa-lhes elevação a um nível energético excitado de longa duração (normalmente estado tripleto -  $^3S^*$ ), o que favorece a ocorrência de reações com outras moléculas do substrato. Por outro lado, as moléculas sensibilizadoras excitadas passam a reagir diretamente com oxigênio molecular ( $O_2$ ) gerando produtos intermediários que prosseguirão na reação (comumente oxigênio singlete -  $^1O_2$ ). Assim, diversos antioxidantes, como os carotenóides, dependendo do sistema, podem agir como antioxidantes ou pró-oxidantes [96].

Foi descrito ainda na literatura que o corante de urucum efetivamente inibe a formação de hidroperóxidos [97] colaborando no controle de processos autoxidativos de triglicérides e também que sua estabilidade fica bastante comprometida frente a ação de calor [98] [99].

No caso da curcumina, as peculiaridades da estrutura molecular de seus componentes químicos favorecem a interação de radicais de oxigênio com a

molécula corante neutralizando a geração de radicais livres superóxidos. Estes radicais atuam como promotores tumorais e inibidores de processos oxidativos e inflamatórios relacionados com processos degenerativos biológicos [100].

As inúmeras ações da curcumina estão sempre associadas à sua capacidade de reação, especialmente com radicais livres e precursores oxigenados (choque oxidativo), o que reforça a convicção de sua aptidão em combinar-se com produtos da radiólise da água e, por conseguinte, alterar sua estrutura molecular e enfraquecer sua capacidade colorante [101], a exemplo do que ocorreu neste estudo.

O conteúdo de água envolvido em processos de irradiação de corantes exerce influência preponderante em sua estabilidade. Tal fato pode ser comprovado pelo estudo que avaliou os efeitos causados pela radiação (doses de até 10 kGy) sobre o poder corante de raízes de cúrcuma em pó. Neste trabalho foi mostrado que a cúrcuma em pó manteve suas características originais praticamente inalteradas [102]. Embora o estudo não faça qualquer referência sobre teores de umidade das amostras envolvidas, a prática indica conteúdos habituais entre 5 e 10% neste condimento. Desta forma, a interação da radiação com as moléculas de água das soluções corantes utilizadas seria o responsável pela degradação da cor neste estudo, corroborando novamente a idéia da influência e ação dos produtos de radiólise da água sobre as moléculas corantes.

## 6. CONCLUSÕES

Os corantes naturais estudados são reconhecidos aditivos alimentares de uso internacional e fazem parte da ampla gama de ingredientes que podem ser beneficiados pela irradiação. O processamento de insetos de cochonilha, sementes de urucum e raízes de cúrcuma implica em inúmeras fases de processamento, desde o campo até a indústria. Assim, há riscos de contaminação nas soluções corantes obtidas e que posteriormente poderão afetar a higiene dos alimentos a que forem adicionados. Por outro lado, a irradiação pode ser também aplicada em alimentos prontos para o consumo que contenham esses aditivos.

A ação da radiação nos corantes estudados mostrou ser dependente da dose aplicada e da diluição daqueles. Os corantes de carmim revelaram-se bastante estáveis frente à radiação. Os corantes de urucum resultaram moderadamente estáveis e a cúrcuma mostrou ser altamente sensível à ação da radiação.

Os resultados obtidos deverão ser levados em consideração em termos da necessidade de modificar a quantidade do aditivo na formulação de produtos que poderão ser submetidos ao processamento por radiação. Alimentos que utilizam estes corantes naturais em sua composição e que sofrerão processos de irradiação deverão ser cuidadosamente avaliados, sobretudo se irradiados com doses elevadas que, comprovadamente, afetaram negativamente dois dos corantes estudados.

O pequeno incremento nos níveis de cor, observados em alguns casos pela ação de baixas doses de irradiação, não é suficiente para justificar *per si* a irradiação dos produtos.

Em face aos resultados obtidos, recomenda-se sempre que possível a substituição do corante de cúrcuma pelo de urucum e o de urucum pelo de carmim,

de forma a mitigar os efeitos da radiação sobre os níveis de cor nos alimentos a que forem adicionados.

De qualquer maneira, é importante recordar os benefícios sociais advindos da utilização dos corantes naturais ora abordados, uma vez que na maioria das vezes são originários de regiões pobres da América Latina, África e Ásia, onde suas matérias primas são cultivadas em pequenas unidades rurais familiares.



## APÊNDICE – RESULTADOS ANALÍTICOS GERAIS

**TABELA 15 - Carmim em pó – Valores de absorvância em função da dose de radiação gama**

Dose (KGy)	Absorvância
0	0,666
1	0,671
2	0,683
4	0,681
8	0,653
16	0,651
32	0,647

**TABELA 16 - Carmim em pó – Parâmetros estatísticos da absorvância em função da dose de radiação gama**

Parâmetros Estatísticos	
valor médio	0,665
desvio padrão	0,014
desvio médio	0,012
correlação	-0,755
distorção	0,111
inclinação	-0,001

**TABELA 17 - Carmim em pó – Espectro de absorção da amostra não irradiada**

Comprimento de onda ( $\eta\text{m}$ )	Absorbância	Comprimento de onda ( $\eta\text{m}$ )	Absorbância
350	0,464	498	0,672
360	0,405	500	0,663
370	0,332	510	0,605
380	0,288	520	0,535
390	0,267	530	0,468
400	0,267	540	0,391
410	0,289	550	0,305
420	0,328	560	0,233
430	0,384	570	0,173
440	0,445	580	0,128
450	0,508	590	0,091
460	0,579	600	0,062
470	0,639	610	0,043
480	0,671	620	0,032
490	0,677	630	0,027
492	0,677	640	0,023
494	0,679	650	0,021
496	0,675		

**TABELA 18 - Carmim em pó – Espectro de absorção da amostra irradiada com dose de 32 kGy**

Comprimento de onda ( $\eta\text{m}$ )	Absorbância	Comprimento de onda ( $\eta\text{m}$ )	Absorbância
350	0,455	498	0,649
360	0,397	500	0,641
370	0,325	510	0,584
380	0,283	520	0,512
390	0,263	530	0,445
400	0,262	540	0,369
410	0,284	550	0,284
420	0,322	560	0,213
430	0,378	570	0,157
440	0,435	580	0,115
450	0,497	590	0,082
460	0,565	600	0,055
470	0,623	610	0,038
480	0,650	620	0,029
490	0,657	630	0,023
492	0,658	640	0,019
494	0,658	650	0,018
496	0,653		

**TABELA 19 – Tintura de carmim – Valores de absorvância em função da dose de radiação gama**

<b>Dose (kGy)</b>	<b>Absorvância</b>
0	0,208
1	0,209
2	0,209
4	0,195
8	0,194
16	0,190
32	0,188

**TABELA 20 – Tintura de carmim – Parâmetros estatísticos da absorvância em função da dose de radiação gama**

<b>Parâmetros Estatísticos</b>	
valor médio	0,199
desvio padrão	0,009
desvio médio	0,008
correlação	-0,807
Distorção	0,137
inclinação	-0,001

**TABELA 21 – Tintura de carmim – Espectro de absorção da amostra não irradiada**

Comprimento de onda (nm)	Absorbância	Comprimento de onda (nm)	Absorbância
350	0,103	498	0,208
360	0,086	500	0,205
370	0,067	510	0,174
380	0,058	520	0,142
390	0,057	530	0,118
400	0,062	540	0,088
410	0,072	550	0,054
420	0,090	560	0,023
430	0,113	570	0,007
440	0,137	580	0,000
450	0,160	590	0,000
460	0,185	600	0,000
470	0,205	610	0,000
480	0,212	620	0,000
490	0,214	630	0,000
492	0,215	640	0,000
494	0,215	650	0,000
496	0,211		

**TABELA 22 – Tintura de carmim – Espectro de absorção da amostra irradiada com dose de 32 kGy**

Comprimento de onda (nm)	Absorbância	Comprimento de onda (nm)	Absorbância
350	0,104	498	0,194
360	0,085	500	0,189
370	0,067	510	0,166
380	0,058	520	0,135
390	0,058	530	0,115
400	0,062	540	0,087
410	0,072	550	0,054
420	0,087	560	0,034
430	0,108	570	0,021
440	0,129	580	0,015
450	0,151	590	0,01
460	0,172	600	0,008
470	0,190	610	0,006
480	0,197	620	0,006
490	0,198	630	0,004
492	0,198	640	0,004
494	0,198	650	0,005
496	0,196		

**TABELA 23 – Tintura de carmim 10% v/v – Valores de absorvância em função da dose de radiação gama**

<b>Dose (KGy)</b>	<b>Absorvância</b>
0	0,022
1	0,024
2	0,024
4	0,022
8	0,022
16	0,021
32	0,021

**TABELA 24 – Tintura de carmim 10% v/v – Parâmetros estatísticos da absorvância em função da dose de radiação gama**

<b>Parâmetros Estatísticos</b>	
valor médio	0,022
desvio padrão	0,001
desvio médio	0,001
correlação	-0,692
distorção	0,682
inclinação	-0,0001

**TABELA 25 – Tintura de carmim a 10% v/v – Espectro de absorção da amostra não irradiada**

Comprimento de onda (nm)	Absorbância	Comprimento de onda (nm)	Absorbância
350	0,029	498	0,028
360	0,021	500	0,024
370	0,009	510	0,022
380	0,006	520	0,017
390	0,006	530	0,012
400	0,007	540	0,006
410	0,009	550	0,000
420	0,012	560	0,000
430	0,015	570	0,000
440	0,018	580	0,000
450	0,021	590	0,000
460	0,025	600	0,000
470	0,027	610	0,000
480	0,028	620	0,000
490	0,029	630	0,000
492	0,029	640	0,000
494	0,029	650	0,000
496	0,029		

**TABELA 26 – Tintura de carmim a 10% v/v – Espectro de absorção da amostra irradiada com dose de 32 kGy**

Comprimento de onda (nm)	Absorbância	Comprimento de onda (nm)	Absorbância
350	0,021	498	0,020
360	0,018	500	0,016
370	0,007	510	0,015
380	0,002	520	0,012
390	0,002	530	0,008
400	0,004	540	0,002
410	0,004	550	0,000
420	0,006	560	0,000
430	0,009	570	0,000
440	0,011	580	0,000
450	0,014	590	0,000
460	0,016	600	0,000
470	0,018	610	0,000
480	0,020	620	0,000
490	0,021	630	0,000
492	0,021	640	0,000
494	0,021	650	0,000
496	0,020		

**TABELA 27 – Tintura de carmim a 5% v/v - Valores de absorvância em função da dose de radiação gama**

<b>Dose (kGy)</b>	<b>Absorvância</b>
0	0,015
1	0,011
2	0,010
4	0,009
8	0,007
16	0,006
32	0,006

**TABELA 28 – Tintura de carmim a 5% v/v – Parâmetros estatísticos da absorvância em função da dose de radiação gama**

<b>Parâmetros Estatísticos</b>	
valor médio	0,0091
desvio padrão	0,0030
desvio médio	0,0024
correlação	-0,7367
distorção	0,9361
inclinação	-0,0002

**TABELA 29 – Tintura de carmim a 5% v/v – Espectro de absorção da amostra não irradiada**

Comprimento de onda (nm)	Absorbância	Comprimento de onda (nm)	Absorbância
350	0,015	498	0,014
360	0,011	500	0,012
370	0,005	510	0,011
380	0,003	520	0,010
390	0,003	530	0,006
400	0,004	540	0,002
410	0,005	550	0,000
420	0,006	560	0,000
430	0,008	570	0,000
440	0,009	580	0,000
450	0,011	590	0,000
460	0,013	600	0,000
470	0,014	610	0,000
480	0,014	620	0,000
490	0,015	630	0,000
492	0,015	640	0,000
494	0,015	650	0,000
496	0,015		

**TABELA 30 – Tintura de carmim a 5% v/v – Espectro de absorção da amostra irradiada com dose de 32 kGy**

Comprimento de onda (nm)	Absorbância	Comprimento de onda (nm)	Absorbância
350	0,011	498	0,010
360	0,009	500	0,008
370	0,004	510	0,008
380	0,001	520	0,006
390	0,001	530	0,004
400	0,002	540	0,001
410	0,002	550	0,000
420	0,003	560	0,000
430	0,005	570	0,000
440	0,006	580	0,000
450	0,007	590	0,000
460	0,008	600	0,000
470	0,009	610	0,000
480	0,010	620	0,000
490	0,011	630	0,000
492	0,011	640	0,000
494	0,011	650	0,000
496	0,010		



**TABELA 31 – Tintura de urucum – Valores de absorvância em função da dose de radiação gama**

<b>Dose (KGy)</b>	<b>Absorbância</b>
0	1,429
1	1,585
2	1,542
4	1,509
8	1,442
16	1,337
32	0,824

**TABELA 32 – Tintura de urucum – Parâmetros estatísticos da absorvância em função da dose de radiação gama**

<b>Parâmetros Estatísticos</b>	
valor médio	1,381
desvio padrão	,240
desvio médio	0,172
correlação	-0,949
distorção	-2,124
inclinação	-0,0021

**TABELA 33 – Tintura de urucum – Espectro de absorção da amostra não irradiada**

Comprimento de onda (nm)	Absorbância	Comprimento de onda (nm)	Absorbância
550	0,035	400	0,784
540	0,045	390	0,756
530	0,065	380	0,699
520	0,103	370	0,664
510	0,195	360	0,654
500	0,413	350	0,663
490	0,765		
480	0,909		
470	0,883		
460	1,146		
450	1,398		
448	1,292		
446	1,129		
444	1,071		
442	1,045		
440	1,022		
430	1,000		
420	0,946		
410	0,841		

**TABELA 34 – Tintura de urucum – Espectro de absorção da amostra irradiada com dose de 32 kGy**

Comprimento de onda (nm)	Absorbância	Comprimento de onda (nm)	Absorbância
550	0,032	444	0,768
540	0,040	442	0,747
530	0,056	440	0,730
510	0,154	430	0,712
500	0,314	420	0,669
490	0,569	410	0,588
480	0,669	400	0,549
470	0,648	390	0,540
460	0,762	380	0,509
458	0,787	370	0,493
456	0,806	360	0,501
454	0,819	350	0,519
452	0,824		
450	0,819		
448	0,806		
446	0,788		

**TABELA 35 – Tintura de urucum a 50% v/v – Valores de absorvância em função da dose de radiação gama**

<b>Dose (KGy)</b>	<b>Absorvância</b>
0	0,714
1	0,988
2	0,943
4	0,671
8	0,624
16	0,528
32	0,506

**TABELA 36 – Tintura de urucum a 50% v/v – Parâmetros estatísticos da absorvância em função da dose de radiação gama**

<b>Parâmetros Estatísticos</b>	
valor médio	0,711
desvio padrão	0,175
desvio médio	0,147
correlação	-0,730
distorção	0,637
inclinação	-0,012

**TABELA 37 – Tintura de urucum a 50% v/v– Espectro de absorção da amostra não irradiada**

Comprimento de onda (nm)	Absorbância	Comprimento de onda (nm)	Absorbância
550	0,023	446	0,680
540	0,030	444	0,661
530	0,042	442	0,642
520	0,067	440	0,626
510	0,126	430	0,606
500	0,267	420	0,566
490	0,494	410	0,491
480	0,581	400	0,454
470	0,561	390	0,447
460	0,659	380	0,413
458	0,681	370	0,397
456	0,699	360	0,393
454	0,710	350	0,402
452	0,714		
450	0,709		
448	0,697		

**TABELA 38 – Tintura de urucum a 50% v/v – Espectro de absorção da amostra irradiada com dose de 32 kGy**

Comprimento de onda (nm)	Absorbância	Comprimento de onda (nm)	Absorbância
550	0,020	446	0,495
540	0,025	444	0,487
530	0,034	442	0,479
520	0,052	440	0,472
510	0,092	430	0,470
500	0,186	420	0,458
490	0,330	410	0,425
480	0,392	400	0,411
470	0,389	390	0,432
460	0,462	380	0,417
458	0,477	370	0,411
456	0,491	360	0,413
454	0,500	350	0,424
452	0,506		
450	0,506		
448	0,502		

**TABELA 39 – Tintura de urucum a 10% v/v – Valores de absorvância em função da dose de radiação gama**

<b>Dose (KGy)</b>	<b>Absorvância</b>
0	0,178
1	0,230
2	0,200
4	0,108
8	0,095
16	0,058
32	0,026

**TABELA 40 – Tintura de urucum a 10% v/v – Parâmetros estatísticos da absorvância em função da dose de radiação gama**

<b>Parâmetros Estatísticos</b>	
valor médio	0,128
desvio padrão	0,071
desvio médio	0,064
correlação	-0,848
distorção	0,066

**TABELA 41 – Tintura de urucum a 10% v/v– Espectro de absorção da amostra não irradiada**

Comprimento de onda (nm)	Absorbância	Comprimento de onda (nm)	Absorbância
550	0,003	446	0,167
540	0,005	444	0,161
530	0,009	442	0,155
520	0,015	440	0,151
510	0,029	430	0,143
500	0,059	420	0,130
490	0,124	410	0,107
480	0,149	400	0,098
470	0,141	390	0,123
460	0,165	380	0,114
458	0,168	370	0,108
456	0,175	360	0,107
454	0,178	350	0,110
452	0,178		
450	0,176		
448	0,172		

**TABELA 42 – Tintura de urucum a 10% v/v – Espectro de absorção da amostra irradiada com dose de 32 kGy**

Comprimento de onda (nm)	Absorbância	Comprimento de onda (nm)	Absorbância
550	0,000	446	0,0278
540	0,001	444	0,0282
530	0,003	442	0,0287
520	0,004	440	0,0292
510	0,007	430	0,0317
500	0,010	420	0,0343
490	0,014	410	0,0369
480	0,018	400	0,0426
470	0,020	390	0,0837
460	0,024	380	0,0861
458	0,025	370	0,0885
456	0,025	360	0,0919
454	0,026	350	0,0951
452	0,026		
450	0,027		

**TABELA 43 – Tintura de urucum a 5% v/v – Valores de absorvância em função da dose de radiação gama**

<b>Dose (kGy)</b>	<b>Absorbância</b>
0	0,095
1	0,118
2	0,107
4	0,080
8	0,054
16	0,032
32	0,018

**TABELA 44 – Tintura de urucum a 5% v/v – Parâmetros estatísticos da absorvância em função da dose de radiação gama**

<b>Parâmetros Estatísticos</b>	
valor médio	0,072
desvio padrão	0,035
desvio médio	0,032
correlação	-0,893
distorção	-0,305

**TABELA 45 – Tintura de urucum a 5% v/v– Espectro de absorção da amostra não irradiada**

Comprimento de onda (nm)	Absorbância	Comprimento de onda (nm)	Absorbância
550	0,001	446	0,090
540	0,003	444	0,086
530	0,005	442	0,083
520	0,009	440	0,081
510	0,017	430	0,076
500	0,035	420	0,069
490	0,067	410	0,057
480	0,079	400	0,055
470	0,076	390	0,086
460	0,089	380	0,082
458	0,092	370	0,079
456	0,094	360	0,079
454	0,095	350	0,081
452	0,095		
450	0,094		
448	0,092		

**TABELA 46 – Tintura de urucum a 5% v/v – Espectro de absorção da amostra irradiada com dose de 32 kGy**

Comprimento de onda (nm)	Absorbância	Comprimento de onda (nm)	Absorbância
550	0,000	446	0,018
540	0,000	444	0,018
530	0,001	442	0,018
520	0,002	440	0,018
510	0,004	430	0,018
500	0,006	420	0,019
490	0,010	410	0,019
480	0,013	400	0,023
470	0,015	390	0,062
460	0,017	380	0,064
458	0,018	370	0,083
456	0,018	360	0,109
454	0,018	350	0,114
452	0,018		
450	0,018		
448	0,018		



**TABELA 47 – Tintura cúrcuma – Valores de absorvância em função da dose de radiação gama**

<b>Dose (kGy)</b>	<b>Absorvância</b>
0	0,553
1	0,550
2	0,549
4	0,530
8	0,530
16	0,518
32	0,480

**TABELA 48 – Tintura de cúrcuma – Parâmetros estatísticos da absorvância em função da dose de radiação gama**

<b>Parâmetros Estatísticos</b>	
valor médio	0,530
desvio padrão	0,024
desvio médio	0,018
correlação	-0,979
distorção	-1,378
inclinação	-0,002

**TABELA 49 – Tintura de cúrcuma– Espectro de absorção da amostra não irradiada**

Comprimento de onda (nm)	Absorbância	Comprimento de onda (nm)	Absorbância
350	0,132	440	0,527
360	0,162	450	0,456
370	0,198	460	0,343
380	0,247	470	0,214
390	0,314	480	0,111
400	0,391	490	0,059
410	0,471	500	0,039
420	0,538		
422	0,545		
424	0,549		
426	0,552		
428	0,553		
430	0,552		

**TABELA 50 – Tintura de cúrcuma– Espectro de absorção da amostra irradiada com dose de 32 kGy**

Comprimento de onda (nm)	Absorbância	Comprimento de onda (nm)	Absorbância
350	0,117	440	0,458
360	0,142	450	0,398
370	0,173	460	0,301
380	0,216	470	0,189
390	0,274	480	0,098
400	0,340	490	0,053
410	0,409	500	0,035
420	0,466		
422	0,473		
424	0,477		
426	0,479		
428	0,480		
430	0,480		

**TABELA 51 – Tintura cúrcuma a 50% v/v – Valores de absorvância em função da dose de radiação gama**

<b>Dose (kGy)</b>	<b>Absorbância</b>
0	0,332
1	0,330
2	0,274
4	0,167
8	0,020
16	0,011
32	0,005

**TABELA 52 – Tintura de cúrcuma a 50% v/v – Parâmetros estatísticos da absorvância em função da dose de radiação gama**

<b>Parâmetros Estatísticos</b>	
valor médio	0,163
desvio padrão	0,140
desvio médio	0,129
correlação	-0,784
distorção	0,037

**TABELA 53 – Tintura de cúrcuma a 50% v/v – Espectro de absorção da amostra não irradiada**

Comprimento de onda (nm)	Absorbância	Comprimento de onda (nm)	Absorbância
350	0,079	440	0,316
360	0,097	450	0,274
370	0,119	460	0,206
380	0,149	470	0,129
390	0,188	480	0,067
400	0,235	490	0,035
410	0,283	500	0,023
420	0,323		
422	0,327		
424	0,330		
426	0,331		
428	0,332		
430	0,331		

**TABELA 54 – Tintura de cúrcuma a 50% v/v– Espectro de absorção da amostra irradiada com dose de 32 kGy**

Comprimento de onda (nm)	Absorbância	Comprimento de onda (nm)	Absorbância
350	0,008	440	0,033
360	0,010	450	0,029
370	0,013	460	0,022
380	0,016	470	0,014
390	0,020	480	0,007
400	0,025	490	0,004
410	0,030	500	0,003
420	0,034		
422	0,034		
424	0,034		
426	0,035		
428	0,035		
430	0,035		

**TABELA 55 – Tintura cúrcuma a 10% v/v – Valores de absorvância em função da dose de radiação gama**

<b>Dose (kGy)</b>	<b>Absorbância</b>
0	0,158
1	0,157
2	0,131
4	0,080
8	0,009
16	0,005
32	0,003

**TABELA 56 – Tintura de cúrcuma a 10% v/v – Parâmetros estatísticos da absorvância em função da dose de radiação gama**

<b>Parâmetros Estatísticos</b>	
valor médio	0,077
desvio padrão	0,067
desvio médio	0,062
correlação	-0,784
distorção	0,037

**TABELA 57 – Tintura de cúrcuma a 10% v/v – Espectro de absorção da amostra não irradiada**

Comprimento de onda (nm)	Absorbância	Comprimento de onda (nm)	Absorbância
350	0,038	440	0,151
360	0,046	450	0,130
370	0,056	460	0,098
380	0,071	470	0,061
390	0,090	480	0,032
400	0,112	490	0,017
410	0,135	500	0,011
420	0,154		
422	0,156		
424	0,157		
426	0,158		
428	0,158		
430	0,158		

**TABELA 58 – Tintura de cúrcuma a 50% v/v– Espectro de absorção da amostra irradiada com dose de 32 kG**

Comprimento de onda (nm)	Absorbância	Comprimento de onda (nm)	Absorbância
350	0,001	440	0,002
360	0,001	450	0,002
370	0,001	460	0,002
380	0,001	470	0,001
390	0,001	480	0,001
400	0,002	490	0,000
410	0,002	500	0,000
420	0,003		
422	0,003		
424	0,003		
426	0,003		
428	0,003		
430	0,003		

**TABELA 59 – Tintura cúrcuma a 5% v/v – Valores de absorvância em função da dose de radiação gama**

Dose (kGy)	Absorvância
0	0,078
1	0,075
2	0,065
4	0,039
8	0,005
16	0,003
32	0,001

**TABELA 60 – Tintura de cúrcuma a 10% v/v – Parâmetros estatísticos da absorvância em função da dose de radiação gama**

Parâmetros Estatísticos	
valor médio	0,038
desvio padrão	0,032
desvio médio	0,030
correlação	-0,786
distorção	0,027

**TABELA 61 – Tintura de cúrcuma a 5% v/v – Espectro de absorção da amostra não irradiada**

Comprimento de onda (nm)	Absorbância	Comprimento de onda (nm)	Absorbância
350	0,019	440	0,074
360	0,023	450	0,064
370	0,028	460	0,048
380	0,035	470	0,030
390	0,044	480	0,016
400	0,055	490	0,008
410	0,067	500	0,005
420	0,076		
422	0,077		
424	0,078		
426	0,078		
428	0,078		
430	0,078		

**TABELA 62 – Tintura de cúrcuma a 5% v/v– Espectro de absorção da amostra irradiada com dose de 32 kG**

Comprimento de onda (nm)	Absorbância	Comprimento de onda (nm)	Absorbância
350	0,000	440	0,001
360	0,000	450	0,001
370	0,000	460	0,001
380	0,001	470	0,001
390	0,001	480	0,000
400	0,001	490	0,000
410	0,001	500	0,000
420	0,001		
422	0,001		
424	0,001		
426	0,001		
428	0,001		
430	0,001		



## APÊNDICE – TRATAMENTO ESTATÍSTICO CARMIM DE COCHONILHA

Embora a reta de regressão permita modelar com alguma precisão o comportamento das amostras estudadas, cabe um estudo estatístico mais aprofundado, que possibilite melhor caracterização do processo, permitindo fazer algumas inferências sobre possíveis populações.

Em uma primeira fase escolheu-se a montagem de uma TABELA de contingências que procurou quantificar e comparar a evolução das absorbâncias em relação às doses aplicadas. Para tanto, utilizamos como padrão de comparação amostras não irradiadas que receberam um coeficiente Cor igual a 100% .

Este tipo de observação estabelece as observações à partir da “ponta inicial” do processo, tomando como base o corante em sua forma tradicionalmente comercializada e utilizada pelo mercado e depois acompanhamos sua evolução frente a ação das doses cada vez mais severas empregadas.

Em uma fase seguinte do estudo optou-se por observar o processo não mais tendo como referência a amostra não irradiada (“ponta inicial”), mas sim a partir da média, ou seja, tomando como nova referência uma medida de tendência central da distribuição. Inicialmente construímos um histograma, conforme segue na próxima página:

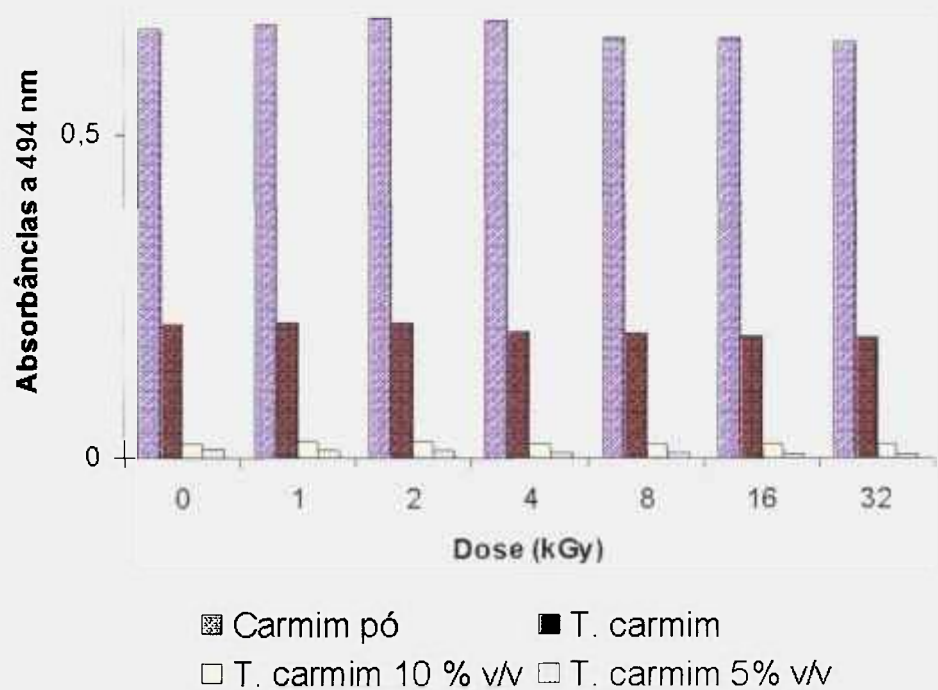


FIGURA 48 – Histograma da distribuição das absorvâncias em função das doses para corantes de carmim de cochonilha

Embora a apresentação gráfica limite bastante nossa percepção e visualização mais apurada do fenômeno, uma observação mais acurada admitiu delinear curvas bastantes suaves, levemente assimétricas à esquerda e de contornos que permitissem pressupor distribuições "t" (Student).

A causa da assimetria à esquerda seria justificada pela presença de pontos de máximo evidenciado nas doses iniciais de tratamento das amostras.

A distribuição "t" (Student) foi escolhida em detrimento da distribuição "z" (Normal), não somente pela observação empírica dos resultados que geraram curvas de aspectos mais planos, mas também devido ao tamanho da amostra (inferior a 30 unidades para cada uma das diluições estudadas) [103].

A adoção de um modelo de distribuição permitiu construir um intervalo de confiança para a população partindo das amostras. As figuras seguintes ilustram estes parâmetros estatísticos

A confiabilidade ( $\beta$ ) adotada foi de 95% e o intervalo de confiança gerado para cada uma das amostra dos corantes de carmim de cochonilha estão representados pelos segmentos de reta verticais.

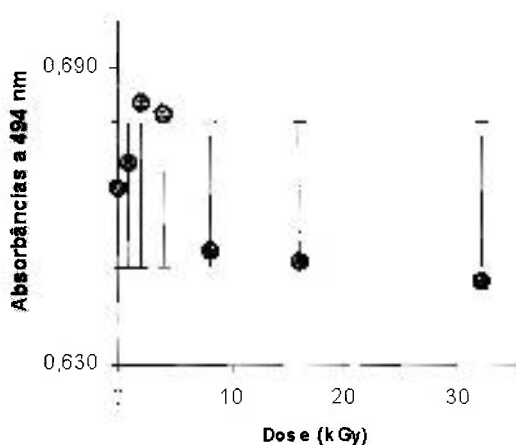


FIGURA 49 – Carmim em pó – Intervalo de confiança para a média ( $\beta = 95\%$ )

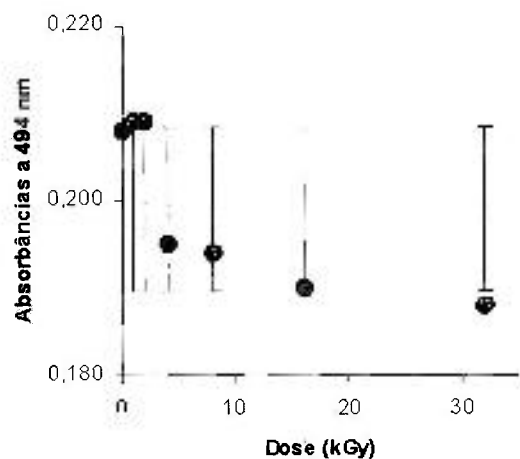


FIGURA 50 – Tintura de carmim – Intervalo de confiança para a média ( $\beta = 95\%$ )

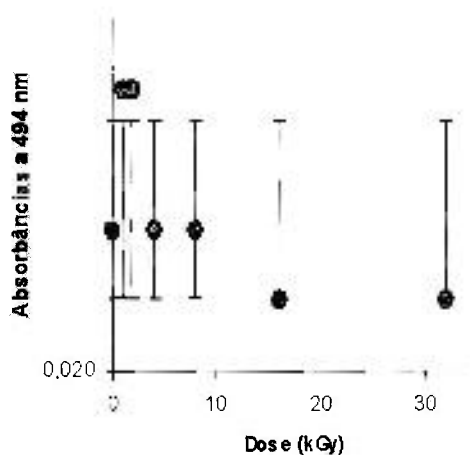


FIGURA 51 – T. de carmim a 10% – Intervalo de confiança para a média ( $\beta = 95\%$ )

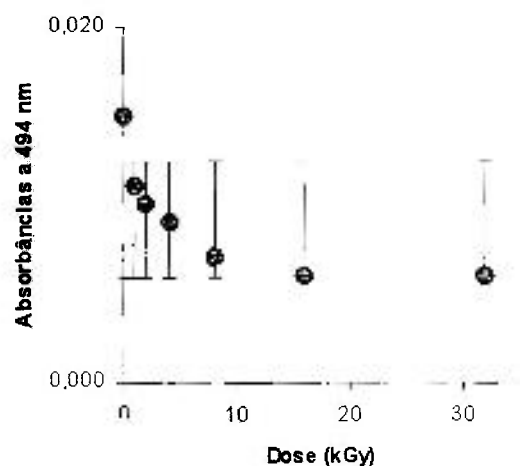


FIGURA 52 – T. de carmim a 5% v/v – Intervalo de confiança para a média ( $\beta = 95\%$ )

Uma vez observada a estabilidade e comportamento do corante sob dois parâmetros diferentes, ou seja, primeiramente tomando-se como referencial a amostra não irradiada ( "ponta inicial" do processo ) e em um segundo momento adotando como referência uma medida de tendência central da distribuição (sua média), optou-se pela utilização de mais uma técnica estatística que viesse a complementar as informações obtidas até então.

Decidiu-se pela utilização da técnica denominada Análise de Variância ( Analysis of Variance – ANOVA) cujos conceitos básicos foram desenvolvido pela primeira vez por R.A. Fisher (distribuição F).

A denominação Análise de Variância provém do fato da técnica utilizar-se de medidas referentes à variância para fazer inferências sobre a média populacional. Uma suposição básica implícita na ANOVA é que as diversas médias amostrais são obtidas de populações normalmente distribuídas e de mesma variância, todavia descobriu-se que o procedimento do teste não é grandemente afetado por violações da hipótese de normalidade, quando as populações são unimodais e o tamanho das amostras são aproximadamente iguais [104].

Uma das características mais úteis da ANOVA é que ela pode se estender a qualquer número de populações.

Seu objetivo é testar a hipótese nula ( $H_0$ ) de que todas as " n " populações das quais as amostras foram extraídas possuem médias iguais. Já a hipótese alternativa ( $H_1$ ) nega tal fato, indicando haver diferença entre uma ou mais das médias da população [105].

No presente estudo selecionou-se a técnica da ANOVA mais adequada ao problema de pesquisa, denominada *Análise de Variância de 2 fatores* (também chamada *análise de duplo fator sem interação* ou *planejamento com blocos*

*aleatorizados*). A técnica escolhida prevê a interação entre duas variáveis estudadas para "n" populações.

Neste estudo, mais especificamente, uma das variáveis estudada é a Dose, locada nas 7 linhas da TABELA e a outra variável é a Diluição, locada nas 4 colunas.

Convencionalmente a característica que distingue uma linha da outra é controlada pelo pesquisador e usada com a finalidade de permitir melhor identificação das diferenças a serem analisadas [105].

A técnica testa a **variabilidade entre** as populações e a **variabilidade dentro** das amostras, permitindo considerações matemáticas que indicam pela aceitação ou rejeição da hipótese nula [106]. Os valores denominados por F (observável e crítico), provenientes do teste de Fisher indicam a decisão.

Para nosso estudo, a aceitação da hipótese nula ( $H_0$ ) indicaria uma igualdade entre as médias das diversas populações, negando a existência da relação entre causa e efeito. Já a rejeição de  $H_0$ , portanto a aceitação da hipótese alternativa ( $H_1$ ), indicaria que existem possíveis diferenças entre as populações estudadas permitindo-nos pressupor a existência da relação citada.

A TABELA ANOVA terá por objetivo verificar a existência desta relação de causa e efeito, ou seja, verificar se de fato a dose de radiação (variável independente) gera respostas no nível de cor dos corantes (variável dependente), considerando uma margem de erro de 5% (significância de 5% ou  $\alpha = 0,05$ ).

TABELA 63 – TABELA ANOVA de duplo fator sem repetição para os corantes de carmim de cochonilha

RESUMO	Contagem	Soma	Média	Variância
Carmim pó	7	4,652	0,665	0,000
T. carmim	7	1,393	0,199	0,000
T. carmim a 10% v/v	7	0,156	0,022	0,000
T. carmim a 5% v/v	7	0,064	0,009	0,000
0 kGy	4	0,911	0,228	0,093
1 kGy	4	0,915	0,229	0,095
2 kGy	4	0,926	0,232	0,099
4 kGy	4	0,907	0,227	0,099
8 kGy	4	0,876	0,219	0,091
16 kGy	4	0,868	0,217	0,091
32 kGy	4	0,862	0,216	0,090

RESULTADOS						
Fonte da variação	SQ	gl	MQ	F	valor-P	F crítico
Linhas	1,971	3,000	0,657	13273,140	2,765E-30	3,160
Colunas	0,001	6,000	0,000	3,316	0,022	2,661
Erro	0,001	18,000	0,000			
Total	1,973	27,000				

A uma significância de 5%, a interpretação da TABELA permitiu-nos observar tanto para as linhas (Diluições) quanto para as colunas (Doses):

- os valores de  $F_{\text{observado}}$  e  $F_{\text{crítico}}$  quando comparados indicam que  $F_{\text{observado}} > F_{\text{crítico}}$ , condição suficiente para rejeitar  $H_0$ ;
- o valor-P pequeno e inferior à significância confirma o resultado do item anterior, rejeitando  $H_0$ .

Neste estudo, a rejeição de  $H_0$  nas linhas indica que existem diferenças entre as médias das populações referentes às linhas. As linhas correspondem a

diferenças entre as Diluições e rejeitar  $H_0$  significa que existe uma diferença real entre elas, algo que já era conhecido antes.

O único valor do teste entre as linhas é ajudar a identificar uma situação em que teríamos escolhido de modo errado um fator de controle que não está fortemente relacionado à medida da saída (absorbância) na qual temos interesse. Isto não ocorreu neste estudo, o que permite-nos prosseguir na análise das colunas.

Já a rejeição de  $H_0$  nas colunas indica que temos evidência (em nível de 5% de significância) que as doses fazem diferença no nível de cor (absorbâncias).

Desta forma, neste teste de hipóteses, com a rejeição de  $H_0$  e aceitação de  $H_1$  é possível afirmar que existem possíveis diferenças entre as populações permitindo-nos pressupor existência da relação causa e efeito para as variáveis envolvidas no processo.

## APÊNDICE – TRATAMENTO ESTATÍSTICO URUCUM

Cabe aqui um estudo estatístico mais aprofundado, que possibilite melhor caracterização do processo, permitindo fazer algumas inferências sobre possíveis populações.

Em uma primeira fase escolheu-se a montagem de uma TABELA de contingências que procurou quantificar e comparar a evolução das absorbâncias em relação às doses aplicadas. Para tanto, utilizamos como padrão de comparação amostras não irradiadas que receberam um coeficiente Cor igual a 100% .

Este tipo de observação estabelece as observações à partir da “ponta inicial” do processo, tomando como base o corante em sua forma tradicionalmente comercializada e utilizada pelo mercado e depois acompanhamos sua evolução frente a ação das doses cada vez mais severas empregadas.

Em uma fase seguinte do estudo optou-se por observar o processo não mais tendo como referência a amostra não irradiada (“ponta inicial”), mas sim a partir da média, ou seja, tomando como nova referência uma medida de tendência central da distribuição. Inicialmente construímos um histograma, conforme segue na figura da próxima página:



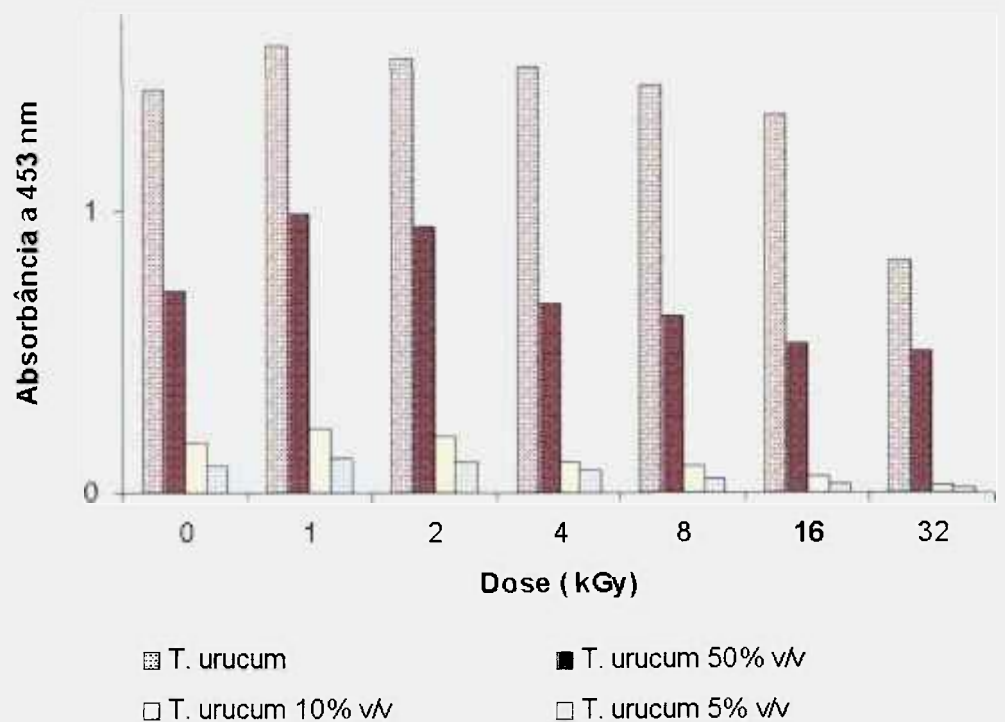


FIGURA 53 – Histograma da distribuição das absorbâncias em função das doses para corantes de urucum

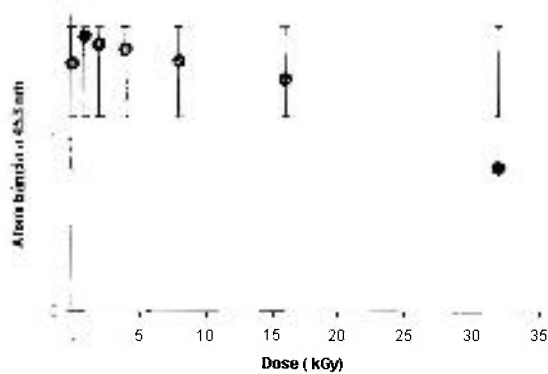
O histograma admitiu delinear as curvas levemente assimétricas à esquerda e de contornos que permitissem pressupor distribuições “t” (Student).

A causa da assimetria à esquerda seria justificada pela presença de pontos de máximo evidenciado nas doses iniciais de tratamento das amostras.

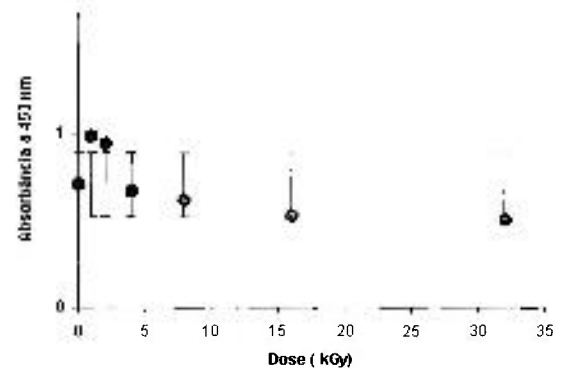
A distribuição “t” (Student) foi escolhida em detrimento da distribuição “z” (Normal), não somente pela observação empírica dos resultados que geraram curvas de aspectos mais planos, mas também devido ao tamanho da amostra (inferior a 30 unidades para cada uma das diluições estudadas) [103].

A adoção de um modelo de distribuição permitiu construir um intervalo de confiança para a população partindo das amostras. As figuras seguintes ilustram estes parâmetros estatísticos

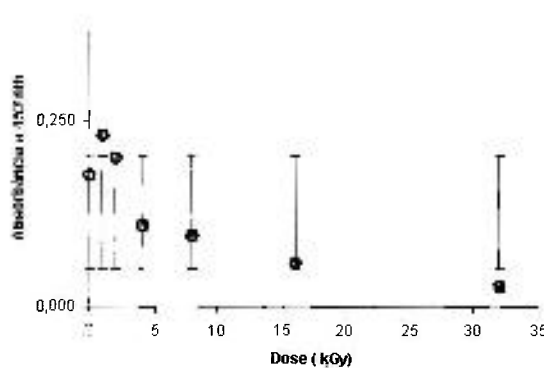
A confiabilidade ( $\beta$ ) adotada foi de 95% e o intervalo de confiança gerado para cada uma das amostra dos corantes de carmim de cochonilha estão representados pelos segmentos de reta verticais.



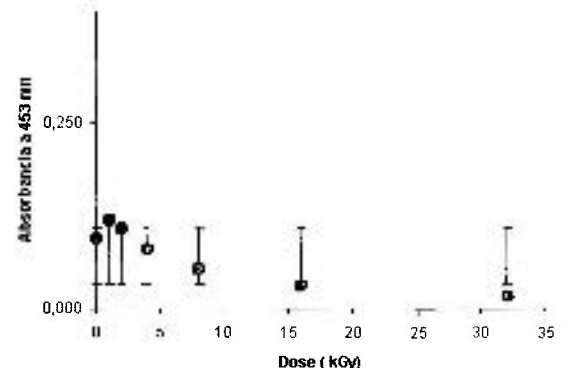
**FIGURA 54 – Tintura de urucum – Intervalo de confiança para a média ( $\beta = 95\%$ )**



**FIGURA 55 – T. de urucum 50% v/v – Intervalo de confiança para a média ( $\beta = 95\%$ )**



**FIGURA 56 – T. de urucum a 10% – Intervalo de confiança para a média ( $\beta = 95\%$ )**



**FIGURA 57 – T. de urucum a 5% v/v – Intervalo de confiança para a média ( $\beta = 95\%$ )**

Uma vez observada a estabilidade e comportamento do corante sob dois parâmetros diferentes, ou seja, primeiramente tomando-se como referencial a

amostra não irradiada ( "ponta inicial" do processo ) e em um segundo momento adotando como referência uma medida de tendência central da distribuição (sua média), optou-se pela utilização de mais uma técnica estatística que viesse a complementar as informações obtidas até então.

Decidiu-se pela utilização da técnica denominada Análise de Variância ( Analysis of Variance – ANOVA) cujos conceitos básicos foram desenvolvido pela primeira vez por R.A. Fisher (distribuição F).

A denominação Análise de Variância provém do fato da técnica utilizar-se de medidas referentes à variância para fazer inferências sobre a média populacional. Uma suposição básica implícita na ANOVA é que as diversas médias amostrais são obtidas de populações normalmente distribuídas e de mesma variância, todavia descobriu-se que o procedimento do teste não é grandemente afetado por violações da hipótese de normalidade, quando as populações são unimodais e o tamanho das amostras são aproximadamente iguais [104].

Uma das características mais úteis da ANOVA é que ela pode se estender a qualquer número de populações.

Seu objetivo é testar a hipótese nula ( $H_0$ ) de que todas as " n " populações das quais as amostras foram extraídas possuem médias iguais. Já a hipótese alternativa ( $H_1$ ) nega tal fato, indicando haver diferença entre uma ou mais das médias da população [105].

No presente estudo selecionou-se a técnica da ANOVA mais adequada ao problema de pesquisa, denominada *Análise de Variância de 2 fatores* ( também chamada *análise de duplo fator sem interação* ou *planejamento com blocos aleatorizados* ). A técnica escolhida prevê a interação entre duas variáveis estudadas para "n" populações.

Neste estudo, mais especificamente, uma das variáveis estudada é a Dose, locada nas 7 linhas da TABELA e a outra variável é a Diluição, locada nas 4 colunas.

Convencionalmente a característica que distingue uma linha da outra é controlada pelo pesquisador e usada com a finalidade de permitir melhor identificação das diferenças a serem analisadas [105].

A técnica testa a **variabilidade entre** as populações e a **variabilidade dentro** das amostras, permitindo considerações matemáticas que indicam pela aceitação ou rejeição da hipótese nula [106]. Os valores denominados por F (observável e crítico), provenientes do teste de Fisher indicam a decisão.

Para nosso estudo, a aceitação da hipótese nula ( $H_0$ ) indicaria uma igualdade entre as médias das diversas populações, negando a existência da relação entre causa e efeito. Já a rejeição de  $H_0$ , portanto a aceitação da hipótese alternativa ( $H_1$ ), indicaria que existem possíveis diferenças entre as populações estudadas permitindo-nos pressupor a existência da relação citada.

A TABELA ANOVA terá por objetivo verificar a existência desta relação de causa e efeito, ou seja, verificar se de fato a dose de radiação (variável independente) gera respostas no nível de cor dos corantes (variável dependente), considerando uma margem de erro de 5% (significância de 5% ou  $\alpha = 0,05$ ).

TABELA 64 – TABELA ANOVA de duplo fator sem repetição para os corantes de urucum

RESUMO	Contagem	Soma	Média	Variância
T. urucum	7	9,67	1,38	0,07
T. urucum 50% v/v	7	4,97	0,71	0,04
T. urucum 10% v/v	7	0,90	0,13	0,01
T. urucum 5% v/v	7	0,50	0,07	0,00
0 KGy	4	2,42	0,60	0,38
1 KGy	4	2,92	0,73	0,47
2 KGy	4	2,79	0,70	0,46
4 KGy	4	2,37	0,59	0,45
8 KGy	4	2,22	0,55	0,42
16 KGy	4	1,96	0,49	0,37
32 KGy	4	1,37	0,34	0,15

## ANOVA

Fonte da variação	SQ	gl	MQ	F	valor-P	F crítico
Linhas	7,848	3	2,616	185,555	1,01E-13	3,160
Colunas	0,407	6	0,068	4,814	0,00428	2,661
Erro	0,254	18	0,014			
Total	8,509	27				

A uma significância de 5%, a interpretação da TABELA permitiu-nos observar tanto para as linhas (Diluições) quanto para as colunas (Doses):

- os valores de  $F_{\text{observado}}$  e  $F_{\text{crítico}}$  quando comparados indicam que  $F_{\text{observado}} > F_{\text{crítico}}$ , condição suficiente para rejeitar  $H_0$ ;
- o valor-P pequeno e inferior à significância confirma o resultado do item anterior, rejeitando  $H_0$ .

Neste estudo, a rejeição de  $H_0$  nas linhas indica que existem diferenças entre as médias das populações referentes às linhas. As linhas correspondem a diferenças entre as Diluições e rejeitar  $H_0$  significa que existe uma diferença real entre elas, algo que já era conhecido antes.

O único valor do teste entre as linhas é ajudar a identificar uma situação em que teríamos escolhido de modo errado um fator de controle que não está fortemente relacionado à medida da saída (absorbância) na qual temos interesse. Isto não ocorreu neste estudo, o que permite-nos prosseguir na análise das colunas.

Já a rejeição de  $H_0$  nas colunas indica que temos evidência (em nível de 5% de significância) que as doses fazem diferença no nível de cor (absorbâncias).

Desta forma, neste teste de hipóteses, com a rejeição de  $H_0$  e aceitação de  $H_1$  é possível afirmar que existem possíveis diferenças entre as populações permitindo-nos pressupor existência da relação causa e efeito para as variáveis envolvidas no processo.

## APÊNDICE – TRATAMENTO ESTATÍSTICO CÚRCUMA

Cabe aqui um estudo estatístico mais aprofundado, que possibilite melhor caracterização do processo, permitindo fazer algumas inferências sobre possíveis populações.

Em uma primeira fase escolheu-se a montagem de uma TABELA de contingências que procurou quantificar e comparar a evolução das absorvâncias em relação às doses aplicadas. Para tanto, utilizamos como padrão de comparação amostras não irradiadas que receberam um coeficiente Cor igual a 100% .

Este tipo de observação estabelece as observações à partir da “ponta inicial” do processo, tomando como base o corante em sua forma tradicionalmente comercializada e utilizada pelo mercado e depois acompanhamos sua evolução frente a ação das doses cada vez mais severas empregadas.

Em uma fase seguinte do estudo optou-se por observar o processo não mais tendo como referência a amostra não irradiada (“ponta inicial”), mas sim a partir da média, ou seja, tomando como nova referência uma medida de tendência central da distribuição. Inicialmente construímos um histograma, conforme segue na próxima página:

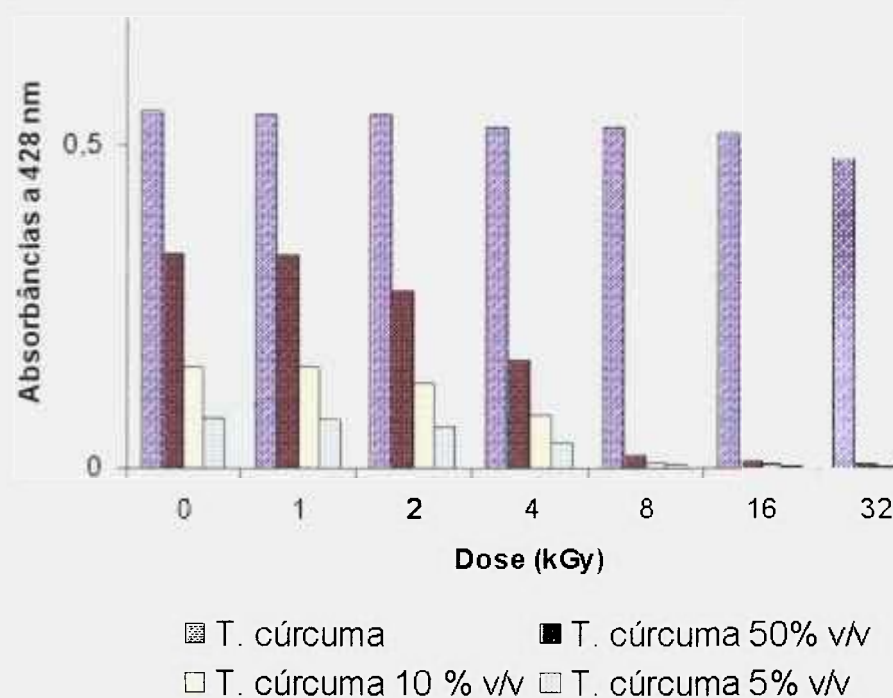


FIGURA 58 – Histograma da distribuição das absorvâncias em função das doses para corantes de cúrcuma

O histograma admitiu delinear as curvas assimétricas à esquerda e, a exemplo dos outros corantes, admitimos uma distribuição “t” (Student).

A causa da assimetria à esquerda, especialmente nas amostras mais diluídas, seria justificada pelo grande decréscimo da absorvância relativo às doses mais elevadas de radiação.

A distribuição “t” (Student) foi escolhida em detrimento da distribuição “z” (Normal), não somente pela observação empírica dos resultados que geraram curvas de aspectos mais planos, mas também devido ao tamanho da amostra (inferior a 30 unidades para cada uma das diluições estudadas) [103].

A adoção de um modelo de distribuição permitiu construir um intervalo de confiança para a população partindo das amostras. As figuras seguintes ilustram estes parâmetros estatísticos



A confiabilidade ( $\beta$ ) adotada foi de 95% e o intervalo de confiança gerado para cada uma das amostra dos corantes de carmim de cochonilha estão representados pelos segmentos de reta verticais.

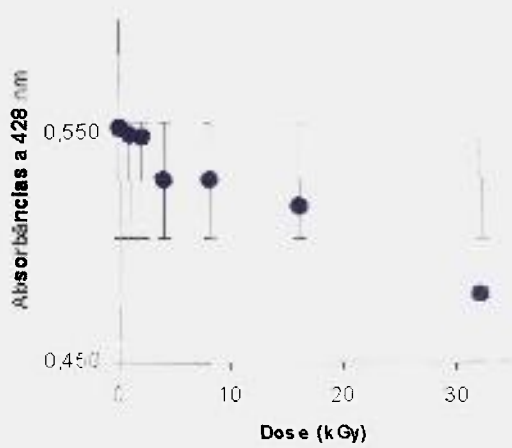


FIGURA 59 – Tintura de cúrcuma – Intervalo de confiança para a média ( $\beta = 95\%$ )

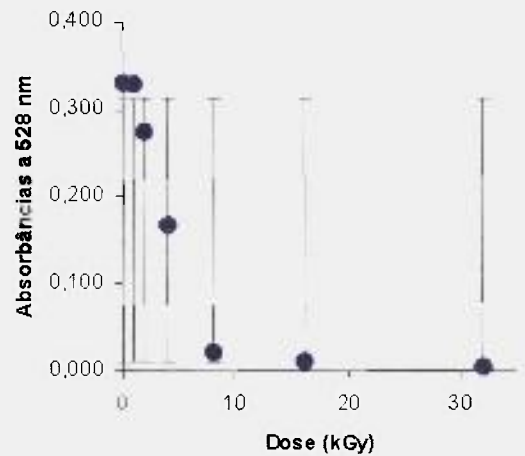


FIGURA 60 – T. de cúrcuma 50% v/v – Intervalo de confiança para a média ( $\beta = 95\%$ )

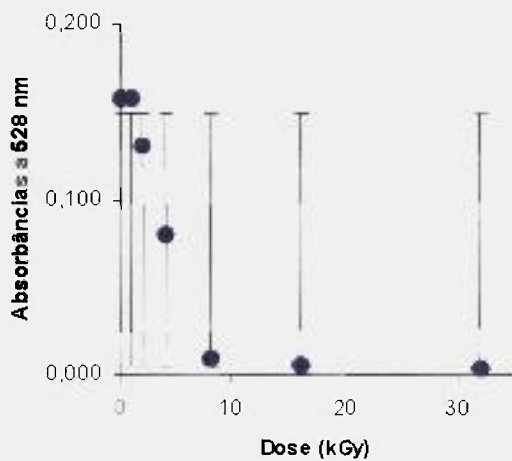


FIGURA 61 – T. de cúrcuma a 10% – Intervalo de confiança para a média ( $\beta = 95\%$ )

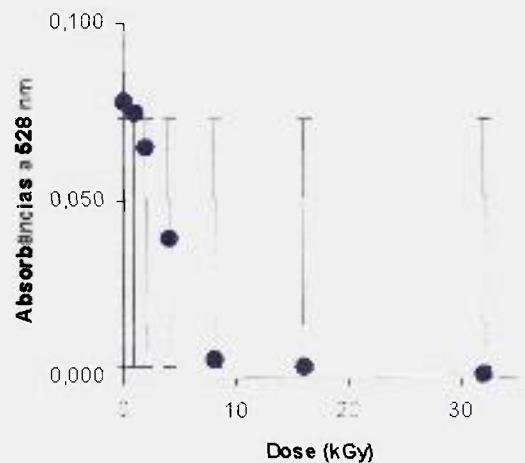


FIGURA 62 – T. de cúrcuma a 5% v/v – Intervalo de confiança para a média ( $\beta = 95\%$ )

Uma vez observada a estabilidade e comportamento do corante sob dois parâmetros diferentes, ou seja, primeiramente tomando-se como referencial a amostra não irradiada ( “ponta inicial” do processo ) e em um segundo momento adotando como referência uma medida de tendência central da distribuição (sua média), optou-se pela utilização de mais uma técnica estatística que viesse a complementar as informações obtidas até então.

Decidiu-se pela utilização da técnica denominada Análise de Variância ( Analysis of Variance – ANOVA) cujos conceitos básicos foram desenvolvido pela primeira vez por R.A. Fisher (distribuição F).

A denominação Análise de Variância provém do fato da técnica utilizar-se de medidas referentes à variância para fazer inferências sobre a média populacional. Uma suposição básica implícita na ANOVA é que as diversas médias amostrais são obtidas de populações normalmente distribuídas e de mesma variância, todavia descobriu-se que o procedimento do teste não é grandemente afetado por violações da hipótese de normalidade, quando as populações são unimodais e o tamanho das amostras são aproximadamente iguais [104].

Uma das características mais úteis da ANOVA é que ela pode se estender a qualquer número de populações.

Seu objetivo é testar a hipótese nula ( $H_0$ ) de que todas as “ n “ populações das quais as amostras foram extraídas possuem médias iguais. Já a hipótese alternativa ( $H_1$ ) nega tal fato, indicando haver diferença entre uma ou mais das médias da população [105].

No presente estudo selecionou-se a técnica da ANOVA mais adequada ao problema de pesquisa, denominada *Análise de Variância de 2 fatores* ( também chamada *análise de duplo fator sem interação* ou *planejamento com blocos*

*aleatorizados* ). A técnica escolhida prevê a interação entre duas variáveis estudadas para “n” populações.

Neste estudo, mais especificamente, uma das variáveis estudada é a Dose, locada nas 7 linhas da TABELA e a outra variável é a Diluição, locada nas 4 colunas.

Convencionalmente a característica que distingue uma linha da outra é controlada pelo pesquisador e usada com a finalidade de permitir melhor [105].

A técnica testa a **variabilidade entre** as populações e a **variabilidade dentro** das amostras, permitindo considerações matemáticas que indicam pela aceitação ou rejeição da hipótese nula [106]. Os valores denominados por F (observável e crítico), provenientes do teste de Fisher indicam a decisão.

Para nosso estudo, a aceitação da hipótese nula ( $H_0$ ) indicaria uma igualdade entre as médias das diversas populações, negando a existência da relação entre causa e efeito. Já a rejeição de  $H_0$  , portanto a aceitação da hipótese alternativa ( $H_1$ ), indicaria que existem possíveis diferenças entre as populações estudadas permitindo-nos pressupor a existência da relação citada.

A TABELA ANOVA terá por objetivo verificar a existência desta relação de causa e efeito, ou seja, verificar se de fato a dose de radiação (variável independente) gera respostas no nível de cor dos corantes (variável dependente), considerando uma margem de erro de 5% (significância de 5% ou  $\alpha = 0,05$ ).

TABELA 65 – TABELA ANOVA de duplo fator sem repetição para os corantes de cúrcuma

RESUMO	Contagem	Soma	Média	Variância
T. cúrcuma	7	3,710	0,530	0,001
T.cúrcuma 50% v/v	7	1,139	0,163	0,023
T.cúrcuma 10% v/v	7	0,543	0,078	0,005
T.cúrcuma 5% v/v	7	0,266	0,038	0,001
0 kGy	4	1,121	0,280	0,044
1 kGy	4	1,112	0,278	0,044
2 kGy	4	1,019	0,255	0,046
4 kGy	4	0,816	0,204	0,050
8 kGy	4	0,564	0,141	0,067
16 kGy	4	0,537	0,134	0,065
32 kGy	4	0,489	0,122	0,057

ANOVA						
Fonte da variação	SQ	gl	MQ	F	valor-P	F crítico
Linhas	1,061	3	0,354	102,040	1,73E-11	3,160
Colunas	0,117	6	0,020	5,649	0,002	2,661
Erro	0,062	18	0,003			
Total	1,240	27				

A uma significância de 5%, a interpretação da TABELA permitiu-nos observar tanto para as linhas (Diluições) quanto para as colunas (Doses):

- os valores de  $F_{\text{observado}}$  e  $F_{\text{crítico}}$  quando comparados indicam que  $F_{\text{observado}} > F_{\text{crítico}}$ , condição suficiente para rejeitar  $H_0$ ;
- o valor-P pequeno e inferior à significância confirma o resultado do item anterior, rejeitando  $H_0$ .

Neste estudo, a rejeição de  $H_0$  nas linhas indica que existem diferenças entre as médias das populações referentes às linhas. As linhas correspondem a diferenças entre as Diluições e rejeitar  $H_0$  significa que existe uma diferença real entre elas, algo que já era conhecido antes.

O único valor do teste entre as linhas é ajudar a identificar uma situação em que teríamos escolhido de modo errado um fator de controle que não está fortemente relacionado à medida da saída (absorbância) na qual temos interesse. Isto não ocorreu neste estudo, o que permite-nos prosseguir na análise das colunas.

Já a rejeição de  $H_0$  nas colunas indica que temos evidência (em nível de 5% de significância) que as doses fazem diferença no nível de cor (absorbâncias).

Desta forma, neste teste de hipóteses, com a rejeição de  $H_0$  e aceitação de  $H_1$  é possível afirmar que existem possíveis diferenças entre as populações permitindo-nos pressupor existência da relação causa e efeito para as variáveis envolvidas no processo.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1 FRIELING, H. Food colours as appetizers. **Natcol Quartely Information Bulletin**, 1. Natural Food Colours Association, Basle, Switzerland, p. 4-5, 1986.
- 2 BUZBY, J. C. et al. Radiation preservation of food, **Food Irradiation - Food industry & trade - United States**— update p. 1-3, 1995.
- 3 MOKHIBER, R. Irradiation: Anything Goes. **Multinational Monitor**, Vol. 21, Issue 12, p.30, dec 2000.
- 4 WHO. High-dose Irradiation: Wholesomeness of Food Irradiated with Doses Above 10kGy. **WHO Technical Report Series 890**, World Health Organization, Geneve, 1999.
- 5 MILLSTONE, E. Adverse reactions to food additives. **Journal of Nutritional & Environmental Medicine**, Vol 7 – issue 4, p.323, dec 1997.
- 6 GETOFF, N. Radiation-Induced Degradation of Water Pollutants – State of the Art , **Radiation on Physics and Chemistry**, Vol 47, nº4, p.581-593, 1996.
- 7 DUARTE, C.L. **Aplicação do processo avançado de oxidação por feixe de elétrons na degradação de compostos orgânicos presentes em efluentes industriais**. 1999. 178p. Tese (Doutorado em ciências), IPEN-USP, São Paulo.
- 8 PARTOS, L. **Overseal expands in US and drives growth in natural colours**. Abril 2004. Disponível em <http://overseal.com.uk>. Acessado em 25 de setembro de 2005.
- 9 ABDON, H.M. Métodos de análise de tipo instrumental. **Remington's Pharmaceutical Sciences**, ed. Médica Panamericana, 17ª ed., p.846-872, Buenos Aires, 1990.
- 10 EWING, G.W. **Métodos instrumentais de análise química**, ed. Edgar Blucher, 2ª ed., v.1, p.1-87, São Paulo, 1980.
- 11 HARRIS, D.C. **Análise química quantitativa**, ed. LTC, p.435-525, Rio de Janeiro, 2001.
- 12 BRASIL. Ministério da Saúde, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Decreto nº 50.040, de 24 de janeiro de 1961.
- 13 BRASIL. Ministério da Saúde, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Decreto nº 55.871, de 26 de março de 1965. Modifica o decreto nº 50.040.

- 14 BRASIL. Ministério da Saúde, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução CNNPA nº 44, de 1977. Publicada no **Diário Oficial da União** – Seção I, 01/02/78 e 24/04/78.
- 15 BRASIL. Ministério da Saúde, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Portaria nº 540, SVS/MS, de 27 de outubro de 1997. Publicado no **Diário Oficial da União** de 28/10/97.
- 16 BRASIL. Ministério da Saúde, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução nº 382, de 05 de agosto de 1999. Dispõe. Publicada no **Diário oficial da União** de 09/08/1999.
- 17 BRASIL. Ministério da Saúde, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução nº 383, de 05 de agosto de 1999. Publicado no **Diário oficial da União** de 09/08/1999.
- 18 BRASIL. Ministério da Saúde, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução nº 387, de 05 de agosto de 1999. Publicado no **Diário oficial da União**, de 09/08/1999.
- 19 BRASIL. Ministério da Saúde, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução nº 384, de 05 de agosto de 1999. Publicado no **Diário oficial da União** de 09/08/1999.
- 20 BRASIL. Ministério da Saúde, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução nº 388, de 05 de agosto de 1999. Publicado no **Diário oficial da União** de 09/08/1999.
- 21 BRASIL. Ministério da Saúde, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução nº 389, de 05 de agosto de 1999. Publicado no **Diário oficial da União** de 09/08/1999.
- 22 BRASIL. Ministério da Saúde, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução nº 374, de 26 de abril de 1999. Publicado no **Diário oficial da União** de 09/08/1999.
- 23 BRASIL. Ministério da Saúde, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução nº 1004, de 11 de dezembro de 1998. Publicado no **Diário oficial da União** de 22/03/1999.
- 24 TAKAHASHI, M.Y. et all - **MONOGRAFIAS DE CORANTES NATURAIS PARA FINS ALIMENTÍCIOS**, 2º Ed.- Instituto Adolfo Lutz, São Paulo, p.1-78, 1987.
- 25 GORDON, D.B. **Principles and techniques of practical biochemistry**, 4º ed., Keith Wilson & John Walker, Eds. Cambridge University Press, p. 324-325, 331-340, 1994.

- 26 SKOOG, D.A. **Fundamentals of Analytical Chemistry**, 6<sup>o</sup> ed., F. James Holler, Saunders College Publishing, p.508-523, 1992.
- 27 KOROLKOVAS, A. **Análise Farmacológica**. p.72-75, ed. Guanabara 2, 1984.
- 28 QUEIROZ, S.C.N. et al. **Eletroforese capilar**. Universidade Estadual de Campinas – Instituto de Química, 11 p. , disponível em [www.chemkeys.com.bra/md/mds\\_11/elec4p\\_18/18.htm](http://www.chemkeys.com.bra/md/mds_11/elec4p_18/18.htm). Acessado em 16 de outubro de 2004.
- 29 DONKIN, R.A. Spanish Red – Ethnogeographical study of cochineal and the *Opuntia cactus*. **Trans- American Philosophical Society**, p.67, 1998.
- 30 BARRIGA RUIZ, C.A. **Cochineal production in Peru**. Paper presented at the FAO Expert Consultation Meeting on Non-wood Forest Products in Latin America, held in Santiago, Chile, jul 1994.
- 31 **THE MERCK INDEX**, Rahway, N.J., U.S.A., 13<sup>o</sup> Ed. p.280-281, 1989.
- 32 KASHINO, E. et al. **Studies on the dyeing properties of fibres by natural dyes (V). Dye affinity of cochineal for various fibres**. Kaseika, 29, p. 85-93 (Traduction from Japanese), 1986.
- 33 ANAD, N. **The Market for Annatto and Other Natural Colouring Materials**, with Special Reference to the United Kingdom. UK: Tropical Development and Research Institute, Report N<sup>o</sup> G174 ,1983.
- 34 FAO - **Major Colourants and Dyestuffs - MAINLY PRODUCED IN HORTICULTURAL SYSTEMS**. p.42, 2001.
- 35 SÃO JOSE, A.R. and REBOUCAS, T.N.H (eds) **A cultura do urucum no Brasil**. Vitória da Conquista, Brazil: Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia. p 98, 1990.
- 36 SOCIEDADE BRASILEIRA DO URUCUM. **Urucum uma alternativa viável (Annatto a viable alternative crop)**. Fortaleza, Brazil: Departamento Nacional de Obras Contra as Secas. 44p. , 1989.
- 37 **THE MERCK INDEX**, Rathway, N.J., U.S.A., 13<sup>o</sup> edition, p.201, 1989.
- 38 ITC- **Annatto seeds**. Market brief. International trade Centre, UNCTAD/GATT, Geneva, 1990.
- 39 ITC- Silk Review. **A survey of international trends and trade**. International Trade Centre, UNCTAD/GATT, Geneva. 1992.
- 40 ITC- **Annatto seeds. Export opportunities for the andean region**. International Trade Centre, UNCTAD/GATT, Geneva, 1993.



- 41 COLLINS, P. The role of annatto in food colouring. **Food Ingredients and Processing International**, feb.,p. 23-27. 1992.
- 42 ENGELHARDT, J. et al. Annatto: the natural of choice in the modern food industry. **Natcol Quarterly Information Bulletin**,2, p.4-10. Natural Food Colours Association, Basle, Switzerland. 1988.
- 43 GARCIA, M.A.V. **Productos más importantes y con ventajas comparativas**, CODESU – Consorcio para el desarrollo sostenible de Ucayali, 9 pp., Pucallpa, Peru, 1999.
- 44 IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia Estatística, **CENSO 1996**, disponível em <http://www.sidra.ibge.gov.br/bda/agric/> , acesso em 20 de agosto de 2004.
- 45 FRANCO, C. EMBRAPA domestica o urucum, **Pesquisa Estadual em Foco** , ano 5, nº 11, p.2, jan/abr 2001
- 46 FAO - **Major Colourants and Dyestuffs Entering International Trade. Annatto Seed and Its Extracts** – International trade in non-wood forest products: An overview VI – Natural pigments. p. 1-17,1998.
- 47 APPROPRIATE TECHNOLOGY INTERNATIONAL. **Annatto processing in Peru**. Washigton DC: ATI Bulletin nº. 21,feb., p.6, 1991
- 48 BAHL,C.P. et al. Preparation of bixin and methyl bixin from Indian seeds of *Bixa orellana*. **Current Science**, 2, 27-28, 1971.
- 49 PRESTON, H.D. and RICKARD, M.D. Extraction and chemistry of annatto. **Food Chemistry**, 5, p. 47-56, 1992.
- 50 CHAO, R.R. et al. Supercritical carbon dioxide extraction of annatto pigments and some characteristics of the colour extracts. **Journal of Food and Science.**, 56 (1), p.80- 83,1991.
- 51 FRANCIS, F.J. In: **Natural Food Colourants**, edited by G.A.F. Hendry and J.D. Houghton. Glasgow, UK: Blackie and Sons, p. 256-258, 1992.
- 52 HENRY,B.S.. In: **Natural Food Colourants**, G.A.F. Hendry and J.D. Houghton, p. 68-73. 1992.
- 53 **THE MERCK INDEX**. U.S.A, Rathway, N.J., U.S.A., p.416-417, 1989.
- 54 GEORGE, K.M. On the extraction of oleoresin from turmeric-comparative performance of ehtanol, acetone and ehtylene dichloride. **Indian Spices**, p.7-9, 1981.
- 55 ITC- Imports of spices into selected markets, 1987-1991 In: **Report of the Third Meeting of the International Spice Group**, Kingston, Jamaica Geneva, Switzerland: International Trade Centre, p. 276-379, nov.,1991.

- 56 MARINOZZI G. et al. **Fortalecimento organizacional e institucional para construção coletiva da competitividade nos sistemas agro-alimentares localizados: o caso do cluster da cúrcuma em Mara Rosa – GO** (título provisório). Trabalho realizado no âmbito de projeto integrado de pesquisa CNPQ, UFG e AGENCIARURAL, 2001.
- 57 USDA - **US Spice Trade. In Tropical Products: World Markets and Trade.** Washington DC: United States Department of Agriculture Foreign Agricultural Service Circular Series FTROP 1-95, April 1995.
- 58 DEL MASTRO, N. L., Development of food irradiation in Brazil. **Program of Nuclear Energy**, v. 35, n.3/4, p.229-248, 1999.
- 59 FDA -**Irradiation in the Production, Processing and Handling of Food.** Department of Health and Human Services, United States Food and Drug Administration, Volume 6ª. Number 232, Pages 64107-64121, dec., 1997.
- 60 MURANO E.A.. **Food Irradiation: A Source Book.** Ames, IA: Iowa State University Press, p.22 – 147, 1995.
- 61 BINDRA, A.S. Irradiation for safe durable foods. **Indian Food Paccker**, Jul-Aug., p.54-57,1997.
- 62 DIEHL, J..F. Food irradiation : Is it an alternative to chemical preservatives?, **Food Additives Contan.**, v.9, p.409 -416,1992.
- 63 MULLER, H. et al. Effect of ionizing radiation on folates. **Food Lebensm-Wiss. und Technologie.** v.29, n.1-2, p. 187-190,1996.
- 64 AMARO,J.D.V.; NETTO,E. .M. Efeitos físicos-químicos da radiação gama nos teores de vitamina C em goiabas brancas e vermelhas. In: **BRAZILIAN MEETING ON NUCLEAR APPLICATIONS**, aug 7-11, 1995, Águas de Lindóia. **Proceedings.**, Aben, p.954-957,1995.
- 65 ALEXANDER, P. Effects of ionizing radiations on biological molecules. **Comprehensive Biochemistry**, v.27, ed. Elsevier Publishing Company, New York, 1970.
- 66 **CODEX - General Standart for Irradiated Foods and Recommended International Code of Praticce for the Operation of Radiation Facilities used for the Treatment od Foods.** Rome, Food and Agriculture Organization of the United Nations, v. 15,1984.
- 67 BRASIL. Ministério da Saúde, Agencia Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução nº 21, de 26 de janeiro de 2001. Publicado no **Diário oficial da União**, de 29 de janeiro de 2001.
- 68 NAJAR, S. V. et al. Effects of light, air, anti-oxidants and pro-oxidants on annatto extracts. **Food Chemistry**, nº 29, p.283-289, 1988.

- 69 TOCCHINI, L. Extração e determinação , por CLAE, de bixina e norbixina em coloríficos, **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, 21(3), p.310-313, Campinas, set-dez 2001.
- 70 SCOTTER, M.J. et al. Analysis of annatto food coloring fomulations: determination of coloring components and colored thermal degradation products by HPLC. Ministry of Agriculture, Fisheries and Food, CSL Food Science Laboratory, Norwich Research Park, **American Chemical Society**, p.1031-1038, 1998.
- 71 SCOTTER, M.J. et al. Analysis of annatto food coloring formulations: determination of aromatic hydrocarbon thermal degradation products by HPLC. Ministry of Agriculture, Fisheries and Food, CSL Food Science Laboratory, Norwich Research Park, **American Chemical Society**, p.484-488, 1999.
- 72 HERNANDEZ, C.P. Obtenção e avaliação de bixina a partir de extrato de urucum. 1994, 133 pp. Tese (Doutorado em Tecnologia de Alimentos). Universidade Estadual de Campinas.
- 73 HEIGER, D.N. **High performance capillary electrophoresis**, Hewlett Packard Company, nº 12-5091-6199E, 1997.
- 74 SETTLE, F. **Handbook of instrumental techniques for analytical chemistry**, ed. Prentice-Hall, New Jersey, 1997.
- 75 CANONICA S. et al. Quantitative structure-activity relationship for oxidation reactions of organic chemicals in water. **Environmental Toxicology and Chemistry** 22(8), p.1743-1754, 2003.
- 76 EMARA A.G.A.S. et al.; The destructive degradation of some organic textile dye compounds using gamma ray irradiation. **IAEA** (International Atomic Energy Agency) – TECDOC-1225, p.97-120, 2001.
- 77 PICCININI, N. et al. Effect of gamma irradiation on the degradation of dyes. **IAEA** (International Atomic Energy Agency) – SM 194/407, p. 249-258, 1975.
- 78 KUNZ, A. et al; Novas tendencias no tratamento de efluentes têxteis. **Química Nova**, 25 (1), p.78-82, São Paulo, 2002.
- 79 HACHEM C. et al. Decolourization of textile industry wastewater by the photocatalytic degradation process. **Dyes and Pigments**, 49(2), p. 117-125, 2001.
- 80 CAMARERO L. et al. Photo-assisted oxidation of indigocarmine in an acid medium. **Environmental Engineering Science**, 20(4), p.281-287, 2003.

- 81 Sanromán, M.P. et al. Electrochemical decolourisation of structurally different dyes. *Chemosphere*, 57, p.233-239, 2004.
- 82 MERCADANTE A.Z.; Chromatographic separation of carotenoids. **Archivos Latino-americanos de nutricion**, 49, p.52S-57S, 1999.
- 83 DIPLOCK, A.T. Antioxidant nutrients and disease prevention: an overview. **American Journal of Clinical Nutrition**, 53, p.189S-193S, 1991.
- 84 PALOZZA, P et al. Antioxidant effects of carotenoids in vivo and in vitro: an overview. **Methods Enzymology**, 213, p.403-420,1992.
- 85 RODRIGUEZ-AMAYA, D.B. Carotenóides - Propriedades e aplicações. Seminário: **Corantes para Alimentos**, ITAL (Instituto Tecnológico de Alimentos), Campinas, p.47, 1988.
- 86 David Geffen School of Medicine at UCLA; UCLA Alzheimer's Disease Research Center; USA, 7 december online edition of the **Journal of Biological Chemistry**. Disponível em [www.ucla.com](http://www.ucla.com). Acesso: 24 maio 2004.
- 87 BRADLEY, D.G. et al; Singlet oxygen oxidation of foods. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, 3, p.211-236, 1992.
- 88 ISHII H. et al.; Pathogenesis of alcoholic liver disease with particular emphasis on oxidative stress. **Journal of Gastroenterology and Hepatology**, 12, p.272-282, 1997.
- 89 KAWASE T.K. et al. Lipid peroxidation and antioxidant defense system in rat liver after chronic ethanol feeding. **Hepatology**, 10, p.815-821,1989.
- 90 LIEBER C.S.; Roles of oxidative estress and antioxidant therapy in alcoholic and nonalcoholic liver diseases. **Adv. Pharmacology**, 38, p. 601-628, 2003.
- 91 AHMED S. et al.; Interaction between alcohol and beta-carotene in patients with alcoholic liver disease. **American Journal of Clinical Nutrition**, 60, p.430-436, 1994.
- 92 DI MASCIO, P. ; Carotenoids, tocopherols and thiols as biological singlet molecular oxygen quenchers. **Biochemical Society Trans.**, 18, p.1054-1056, 1990.
- 93 FOOTE, C.S.; Chemistry of singlet oxygen. Cis-trans isomerization of carotenoids by singlet oxygen and a probable quenching mechanism. **Journal of the American Chemical Society**, 92, p. 5218-5219, 1970.
- 94 MANITTO, P. et al; Singlet oxygen reactions in aqueous solution. Physical and chemical quenching rate constants of crocin and related corotenoids. **Tetrahedron Letters**, 28,p. 4221-4224, 1987.

- 95 REDMOND, R.W.; GAMLIN, J.N.A.; A compilation of singlet oxygen yields from biologically relevant molecules. **Photochemistry and Photobiology**, 70, p.391-475, 1999.
- 96 MONTENEGRO, M.A.; Model studies on the photosensitized isomerization of bixin. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 52, p.367-373, 2004.
- 97 HAILA, K.M et al; Effects of lutein, lycopene, annatto, and gamma-tocopherol on autoxidation os triglycerides. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 44(8), p.2096-2100, 1996.
- 98 SCOTTER, M.J.; Characterisation of the coloured thermal degradation products of bixin from annatto and a revised mechanism for their formation. **Food Chemistry**, 53, p. 177-185, 1995.
- 99 SCOTTER, M.J. et al; Kinetics and yields for the formation of colored and aromatic thermal degradation products of annatto in foods. **Food Chemistry**, 74(3), p.365-375, 2001.
- 100 EL-GALEEL A.; Solubility and Stability of Natural Food Colorants in Microemulsions; Inaugural Dissertation zur Erlangung des Grades; **Institut fur Lebensmitteltechnologie**, 2002.
- 101 MESA, M.D. et al; Efectos Farmacológicos y nutricionales de los extractos de *Curcuma longa* L. y de los curcuminoides. **Ars Pharmaceutica**, 41:3; p.307-321, 2000.
- 102 CHATTERJJE S. et al; Effects of gamma-irradiation on the color power of turmeric and red chillies during storage. **Food Research International** 31, p.625-628, 1998.
- 103 LEVINE, D.M. et al. **Estatística: teoria e aplicações**. ed. LTC, p.289, Rio de Janeiro, 2000.
- 104 KAZMIER, L.J. **Estatística aplicada à economia e administração**. Coleção Schaun, ed. Makron Books, p.217-222, São Paulo, 1993.
- 105 NEUFELD, J.L. **Estatística**. Ed. Prentice Hall, p.323-326, São Paulo, 2003.
- 106 LAPPONI, J.C. **Estatística usando Excel**. Lapponi Treinamento e editora, p.367-380, São Paulo, 2000.