

SENSIBILIDADE DE OSTRAS À RADIAÇÃO

Sandra R. M. Marchese* e Nélida L. Del Mastro**

*Centro Tecnológico
da Marinha em São Paulo- CTMSP
Av. Prof. Linco Prestes, 2242 -
Cidade Universitária - SP-SP
05508-900
marchese@net.ipen.br

**Instituto de Pesquisas
Energéticas e Nucleares - IPEN-CNEN/SP
Travessa R, 400
05508-900
nlmastro@ih0.ipen.br

RESUMO

Vários itens alimentícios incluindo ostras, caranguejos e camarões, tem sido descritos como possíveis transmissores de *Vibrio spp.* A irradiação de alimentos de origem marinha vem sendo apresentada como uma alternativa às medidas de intervenção em saúde pública contra doenças transmissíveis através desses alimentos. O objetivo deste trabalho foi estabelecer, inicialmente, a resistência à radiação de ostras *Crassostrea brasiliana*. As ostras foram irradiadas com Co-60 com doses de 0, 1,5, 3 e 6kGy. As curvas de sobrevivência em função do tempo mostram que 100% das ostras irradiadas com doses de 3kGy sobrevivem ao menos 6 dias; dentre aquelas irradiadas com 6kGy, 100% delas sobreviveram 3 dias. Os presentes resultados são auspiciosos, uma vez que uma dose de 2,0kGy já é efetiva na diminuição da carga microbiana de ostras.

INTRODUÇÃO

Todos os alimentos de origem animal sofrem o processo de deterioração de maneira semelhante. Os caminhos metabólicos seguidos por esses processos incluem a ação microbiana e mudanças físico-químicas que resultam em alterações no sabor e cor. Os frutos-do-mar, entretanto, sofrem ação importante da proteólise tanto de enzimas endógenas quanto aquela resultante do crescimento bacteriano.

Até determinado grau, o deterioro induzido por enzimas endógenas ou ação bacteriana, pode ser retardado pelo uso de baixas temperaturas durante a estocagem e distribuição. Entretanto, qualquer contaminação bacteriana no produto o acompanhará para se manifestar por ocasião do preparo do alimento. Além da refrigeração/congelamento, são utilizados outros métodos

de preservação bastante conhecidos, como a secagem, salgação, defumação, tratamento pelo calor e enlatamento.

A microflora de alimentos de origem marinha reflete a localização de sua origem. Bactérias patogênicas podem estar presentes incluindo *Staphylococcus aureus* ou *Vibrio parahaemolyticus* [1]. Por exemplo, ostras provenientes da costa leste dos EUA, apresentam contaminações predominantemente por *Bacillus spp* e *Pseudomonas spp* [2]. Além disso, o meio aquático é um importante depósito de diversos poluentes químicos ou provenientes de esgotos domésticos. Certos organismos, principalmente moluscos tais como, ostras ou mexilhões, são filtradores e por sua vez acumulam em seus órgãos poluentes químicos ou biológicos. Um exemplo disso, são os dados descritos por DePAOLA et al., 1990 [3], onde a densidade de *V. parahaemolyticus* encontrada em ostras

era de mais de 100 vezes os valores encontrados na água do mar.

Vários itens alimentícios incluindo ostras, caranguejos e camarões tem sido descritos como possíveis transmissores de *Vibrio spp* [4]. Na realidade, a cólera, doença infecciosa aguda, geralmente epidêmica, é provocada pela ingestão do *Vibrio cholerae*, cuja fonte é a excreção de pessoas infectadas, que contaminariam os alimentos pela via hídrica.

A irradiação de alimentos é um processo no qual os alimentos são expostos a frio, à ação da radiação ionizante, com o intuito de higienização, desinfestação, preservação por um tempo maior ou melhora nas suas propriedades físicas. A irradiação de alimentos de origem marinha vem sendo apresentada como uma alternativa às medidas de intervenção em saúde pública contra doenças transmissíveis através de alimentos. A Organização Panamericana da Saúde e a Agência Internacional de Energia Atômica assim o entendem, e por esse motivo, vem apoiando pesquisas sobre a aplicabilidade da radiação ionizante na eliminação da carga microbiana em alimentos específicos. Inicialmente, contudo, é mister estabelecer a resistência à radiação do próprio alimento escolhido, independentemente de qualquer outra consideração.

O objetivo deste trabalho é estabelecer a sensibilidade à radiação de ostras *Crassostrea brasiliana* utilizadas como iguaria em nosso meio.

MATERIAIS E MÉTODOS

1. Material.

Foram utilizadas ostras da variedade *Crassostrea brasiliana* adultas com aproximadamente 8cm de comprimento fornecidas pela Fazenda Jacostra, Cananéia, SP, e ao menos 9 exemplares para cada valor de dose em cada experimento.

2. Métodos.

Após a chegada ao laboratório, as ostras ficaram imersas em água doce por 2h para eliminação de parasitas que pudessem estar aderidos à concha. Posteriormente, as valvas foram raspadas para retirar pedaços de substratos, cracas etc, lavadas novamente em água corrente e colocadas no tanque contendo água de mar proveniente da região de origem dos moluscos. Os tanques de experimentação foram especialmente desenhados para esse objetivo, nos quais a água, por meio duma bomba, é forçada a passar através de 3 sistemas diferentes. O primeiro consiste numa camada de lã de vidro que atua como filtro de partículas grandes. O segundo compartimento é uma camada de esferas de plástico que tem por objetivo aumentar a área de contato, estimulando a aeração. O terceiro compartimento é preenchido por cascalho de coral e conchas, que atua como filtro biológico e corretor do pH (Figura 1). As ostras ficaram

ao menos 5 dias em aclimação antes de começar os experimentos.

A alimentação das ostras foi inicialmente feita com a microalga *Tetraselmis gracilis* e posteriormente substituída por um "pool" de microalgas mais balanceado quanto as concentrações de proteínas e lipídeos. O inóculo inicial foi fornecido pelo Banco de algas do Instituto Oceanográfico da Universidade de São Paulo, que armaneza diversas algas planctônicas que foram isoladas de águas da costa brasileira, e incluíram os seguintes espécimes: *Nannochloropsis oculata*, *Hillea sp.*, *Phaeodactylum tricornutum*, *Skeletonema costatum*, *Synechococcus sp.*, *Prorocentrum minimum*, *Isochrysis salbana* e *Tetraselmis gracilis*. O cultivo das microalgas foi realizado em balões com capacidade de 2l, com iluminação proveniente de luminária com lâmpadas fluorescentes, de 3800lux. A luminosidade foi controlada com timer alternando períodos de 12h de iluminação / 12h no escuro.

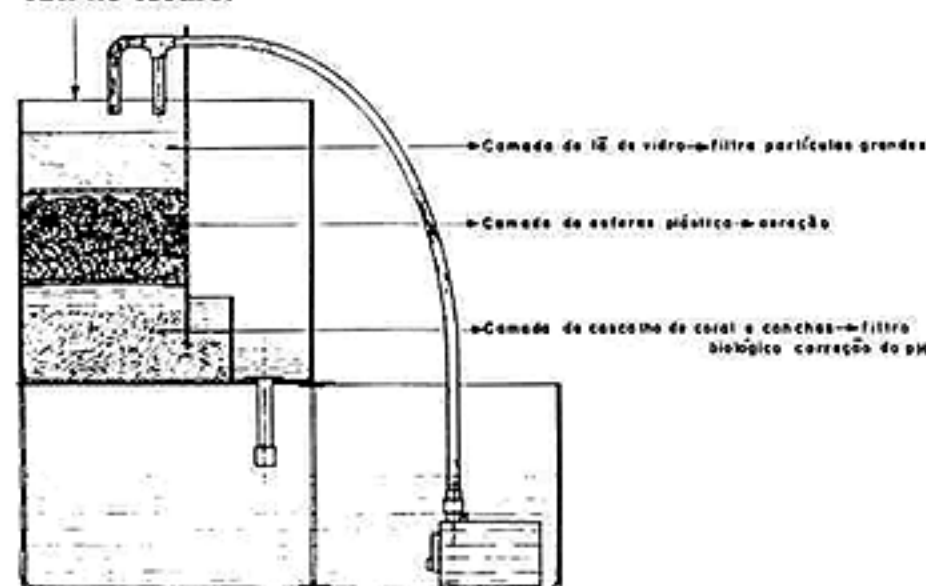


Figura 1 - Esquema do Filtro

A alimentação das ostras foi feita fora do tanque de cultivo, em beckers de 4l, contendo suspensão das microalgas, permanecendo por 4h de cada vez, 3 vezes por semana, retornando posteriormente ao tanque.

A salinidade da água de cultivo foi regularmente monitorada com densímetro de aquarismo, que relaciona salinidade com densidade, e para manter o valor da salinidade próxima da água de origem, foi adicionada água doce.

Para as irradiações foram utilizadas 2 tipos de fontes de radiação gama de Co-60 do Departamento de Aplicações de Técnicas Nucleares, IPEN-CNEN/SP.

a) No experimento I foi utilizada uma fonte de ^{60}Co do tipo Gammacell 220 da AECL. Neste experimento as ostras foram irradiadas dentro de becker de 500ml submersas em água do mar.

b) Nos experimentos II e III as amostras foram expostas à radiação proveniente de fonte de ^{60}Co Panorâmica da YOSHISAWA KIKO Ltda, sendo as ostras distribuídas numa simetria radial ao redor da fonte a uma distância de 25cm em suportes de alumínio, fora da água (Figura 2).

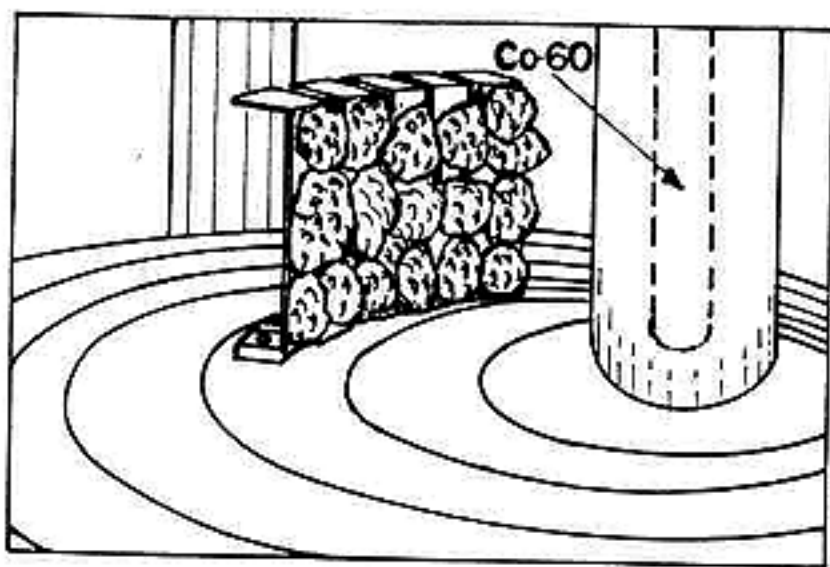


Figura 2 - Ostras para irradiação

Na Tabela I está o esquema experimental dos diferentes ensaios, isto é, número de espécimes iniciais para cada uma das doses ensaiadas: 0; 1,5; 3 e 6kGy e condições em que a irradiação foi realizada (tipo de fonte, taxa de dose, mês). Em todos os casos, os experimentos foram deliberadamente finalizados após um determinado período de observação de 60 dias, independentemente do número de sobreviventes.

A verificação da viabilidade das ostras - ou seja a sobrevivência durante os experimentos, foi feita observando-se se as valvas (concha) do animal estavam fechadas ou não.

Foram estabelecidas as curvas de sobrevivência em função do tempo, para cada grupo experimental para as diversas doses.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na Figura 3 é apresentada a curva de sobrevivência de ostras irradiadas submersas em água de mar (experimento I). As ostras que receberam as doses mais altas, de 6 e 3kGy sobreviveram, como máximo, 6 e 9 dias respectivamente, enquanto que 100% daquelas que receberam dose de 1,5kGy mantiveram-se vivas ao menos por 7 dias. Neste primeiro experimento, contudo, houve também uma significativa mortalidade das ostras testemunhas que não passaram pelo processo de irradiação.

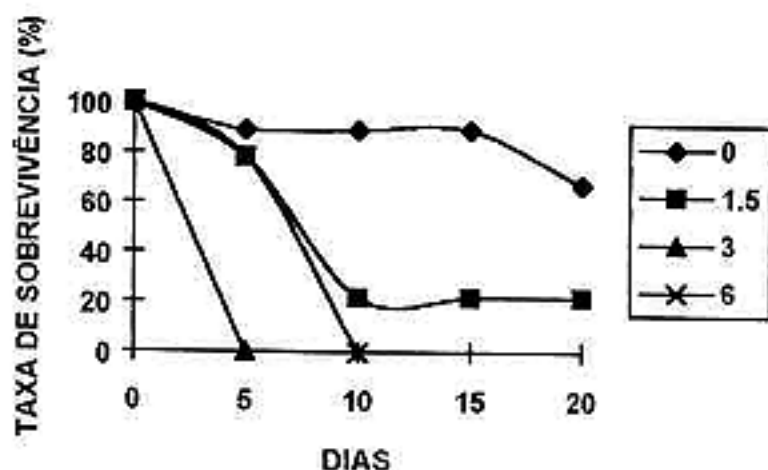


Figura 3 - Curva de sobrevivência de ostras irradiadas - Exp. I

Nas Figuras 4 e 5 aparecem as curvas de sobrevivência de ostras irradiadas no ar, correspondentes aos experimentos II e III realizados em diferentes épocas do ano. Pode-se observar, que as ostras que receberam a dose mais alta, isto é, 6,0kGy, tiveram uma sobrevivência reduzida, de até 5 dias. Mas mesmo dentre aquelas irradiadas com 3kGy, 100% delas sobreviveram ao menos 6 dias em ambos experimentos. No experimento II, 80% das ostras que receberam doses de 1,5kGy sobreviveram durante todo o período de observação, juntamente com o controle. No experimento III, porém, 70% sobreviveu até 18 dias.

Pudemos verificar que a utilização de água do mar para irradiar as ostras, tentando assim diminuir o tempo que as mesmas ficam expostas ao ar, não trouxe resultados significantes, uma vez que as mesmas suportam ficar até 12h fora da água do mar, e pelo contrário pode tornar a água tóxica para o animal pelo efeito da radiólise.

Analizando os experimentos realizados (espécimes irradiados em água do mar ou fora dela), e levando em consideração o comportamento dos grupos testemunha correspondentes, não haveria diferenças apreciáveis na sensibilidade à radiação de ostras irradiadas submersas ou não na água.

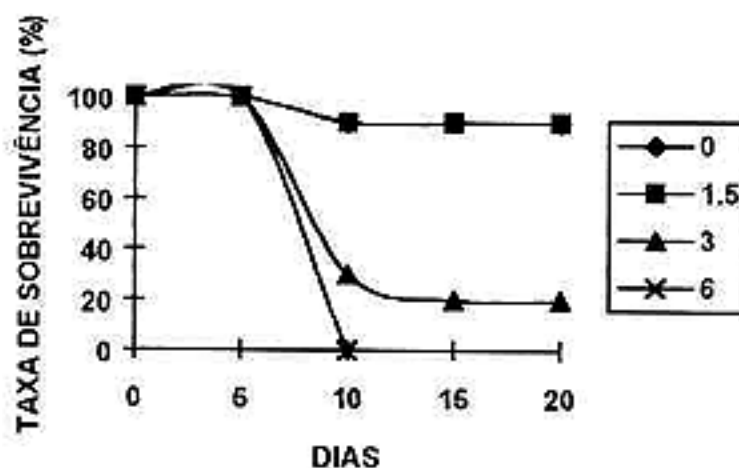


Figura 4 - Curva de sobrevivência de ostras irradiadas - Exp. II

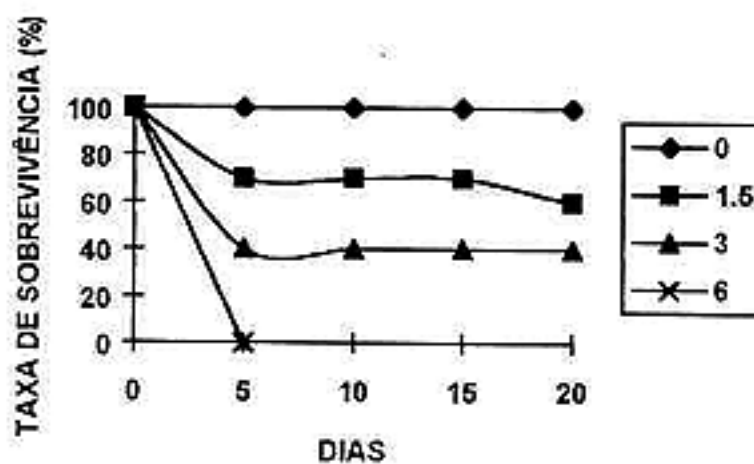


Figura 5 - Curva de sobrevivência de ostras irradiadas - Exp. III

Muitos frutos-do-mar são consumidos cozidos ou praticamente crus, por esse motivo a viabilidade no caso de ostras usadas como alimento é de grande importância.

Na legislação de alimentos irradiados de muitos países, incluindo o Brasil, não há especificação em relação a irradiação de frutos-do-mar. Assim, para podermos pensar na sua introdução, dados sobre a sensibilidade à radiação são imprescindíveis.

Os presentes resultados são auspiciosos, uma vez que uma dose de 2,0 kGy já é efetiva na diminuição da carga microbiana de ostras [5], e são compatíveis com o tempo que transcorre entre a captura e a distribuição de ostras para os estabelecimentos comerciais ou restaurantes em nosso meio, que não é superior aos 5 dias.

AGRADECIMENTOS

As autoras agradecem ao empresário Jacques Debeauvais pelo fornecimento das ostras e água do mar utilizadas neste estudo e também ao Desenhista Projetista Cláudio Botelho, pela elaboração dos desenhos em nanquim.

Este trabalho foi realizado dentro do contrato de pesquisa com a Agência Internacional de Energia Atômica, IAEA RC 302-D6-BRA-8029 e recebeu apoio do CNPq (proc. 52.0802/95-0).

ABSTRACT

Various food products like oysters, crabs and shrimps have been described as possible *Vibrio spp.* transmitting agents. Seafood irradiation is been presented as an alternative among the different public health intervention measures to control foodborne diseases. The objective of this work was to establish, firstly, the radioresistance of *Crassostrea brasiliiana* oysters. The oysters were irradiated with Co-60 radiation with doses of 0, 1.5, 3 and 6kGy. Survival curves as a function of time showed that 100% of samples irradiated with 3kGy survived at least 6 days; among those irradiated with 6kGy, 100% survived 3 days. These results are encouraging since a dose of 2kGy is already effective in diminishing oyster bioburden.

Tabela I - Esquema experimental dos diferentes ensaios

	Experimento I				Experimento II				Experimento III			
	0	1.5	3.0	6.0	0	1.5	3.0	6.0	0	1.5	3.0	6.0
Doses ensaiadas	0	1.5	3.0	6.0	0	1.5	3.0	6.0	0	1.5	3.0	6.0
Nº de espécimes utilizadas	9	9	9	9	10	10	10	10	10	10	10	10
Nº de espécimes vivas no 5º dia	8	7	4	7	10	10	10	10	10	7	4	0
Tipo de fonte	Gammacel				Panorâmica				Panorâmica			
Taxa de dose	0.408 kGy/h				0.389 kGy/h				0.380 kGy/h			
Mês do experimento	Maio				Agosto				Outubro			
Condição de radiação	com água do mar				sem água do mar				sem água do mar			

REFERÊNCIAS

- [1] URBAIN, W.M. **Food Irradiation**. Academic Press, Inc. New York, 1986.
- [2] SINNHUBER, R.O. & LEE, J.S. In: URBAIN, W.M. **Food Irradiation**. Academic Press, Inc. New York, 1986.
- [3] De Paola, A., Hopkins L.H., Peeler J.T., Wents B. and Mc Phearson R.M. **Incidence of *Vibrio parahaemolyticus* in U.S. Coastal Waters and Oysters**. Applied and Environmental Microbiology, Aug. 1990.
- [4] De Paola, A. ***Vibrio cholerae* in Foods**. In Cholera on The American Continents, 1993.
- [5] International Atomic Energy Agency. **Analytical detection methods for irradiated foods**. A review of the current literature. Vienna, 1991 (IAEA - TECDOC-587).