

AVALIAÇÃO DOS FRAGMENTOS DE DNA E GERMINAÇÃO EM FRUTAS IRRADIADAS

Nélida Simona Marin-Huachaca*, Henry Delincée** & Anna Lúcia C. H. Villavicencio

*Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares – **IPEN-CNEN/SP**.
Centro de Tecnologia das Radiações – CTR - Laboratório de Detecção de Alimentos Irrradiados.
Travessa R. Nº 400, Cidade Universitária, CEP: 05508-910
São Paulo, Brasil. E-mail: villavic@net.ipen.br

** Federal Research Centre for Nutrition – **BFE**.
Haid-und-Neu-Str. 9, D-76131 Karlsruhe, Germany.
Fax: +49 721 66 25 – 404, E-mail: henry.delincee@bfe.uni-karlsruhe.de

RESUMO

A Organização Mundial da Saúde tem recomendado a irradiação de alimentos, como uma técnica para preservar e melhorar a qualidade do alimento. O método de detecção do ensaio do cometa, está baseado nas alterações ocorridas no DNA, enquanto o teste de germinação de sementes de alimentos irradiados pode constatar variações características nos cotilédones e nas raízes. As vantagens destes métodos são sua velocidade e simplicidade. Considerando a importância dos produtos de origem vegetal para a população brasileira, este trabalho tem o objetivo de avaliar o efeito da radiação na capacidade de germinação e nas quebras ocorridas no DNA em sementes de frutas irradiadas a diferentes doses de radiação. Foram analisados, sementes de melões, maçãs e melancias, permitidos pela legislação brasileira sobre irradiação de alimentos. As irradiações foram realizadas em fonte gama de ^{60}Co , GammaCell 220. As doses usadas foram de 0; 0,5; 0,75; 1,0 e 2,0 kGy. Os resultados obtidos mostraram que nas doses baixas, a migração do DNA é maior quanto maior a dose de radiação e para cada dose de radiação predomina determinado comprimento de migração. Nos testes de germinação sua capacidade é afetada conforme aumenta a dose de radiação. Na dose de 1 kGy, permitida pela legislação, as diferenças são mais marcantes em ambos os métodos e já com 2 kGy, podemos identificar o tratamento por radiação nitidamente.

I. INTRODUÇÃO

O tratamento de alimentos com radiação ionizante, é utilizado para inibição de brotamento, retardo na maturação, desinfestação e eliminação de parasitas e na redução da carga microbiana, permitindo assim, um maior tempo de estocagem, reduzindo as enfermidades causadas por alimentos contaminados e substituindo o uso dos fumigantes químicos [1, 2, 3, 4].

Este processo é recomendado pela Organização Mundial da Saúde em base a resultados de mais de 30 anos de pesquisas nas qualidades toxicológica, biológica e nutricional de alimentos irradiados [5], sendo fundamental utilizar as boas práticas de fabricação (“Good Manufacturing Practices – GMP”) [2].

Em dezembro de 1988, delegados de cerca de 60 países se reuniram em Genebra, na Conferência sobre “Aceitação, Controle e Comércio de Alimentos Irradiados”, juntamente com representantes da FAO/OMS entre outros, e concluíram pela necessidade de métodos e procedimentos padrões que poderiam detectar se o alimento foi irradiado ou não [6].

A disponibilidade geral dos métodos de detecção de alimentos irradiados pode contribuir para aumentar a confiança do consumidor como o uso correto da aplicação deste processo, e em seu controle pelas autoridades competentes [1].

Atualmente, existem cinco métodos analíticos de detecção (EN-1784, EN-1785, EN-1786, EN-1787 e EN-1788, todos de 1996), estabelecidos como padrões utilizados pela comunidade europeia e demais países que utilizam a irradiação de alimentos. Para cada tipo de alimento ou processamento, utiliza-se o método mais eficaz, nem todos os métodos são aplicáveis a todos alimentos [7].

No ensaio do cometa, a detecção do dano produzido no DNA das células pode ser avaliada usando-se a eletroforese em micro gel, as células não irradiadas exibem uma migração limitada do DNA enquanto que as irradiadas produzem “cometas” característicos da irradiação [2, 8, 9, 10, 11].

O Teste de germinação (half-embryo test) de sementes de alimentos irradiados pode constatar variações

características nos cotilédones e nas raízes [1, 9, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18].

As vantagens do método acima mencionado é sua velocidade e simplicidade e não requer equipamentos caros em contraste a outros métodos para identificação de alimentos irradiados [3].

II. OBJETIVOS

Considerando a importância dos produtos de origem vegetal para a população brasileira, este trabalho tem o objetivo de avaliar o efeito da radiação ionizante na capacidade de germinação e nas quebras ocorridas no DNA em sementes de frutas irradiadas com diferentes doses de radiação.

III. MATERIAL E MÉTODOS

Foram analisadas sementes de frutas tais como melancia, maçã e melão, permitidos pela legislação brasileira sobre irradiação de alimentos. As frutas foram obtidas no comércio varejista da cidade de São Paulo.

As irradiações das sementes foram realizadas em fonte gama de ^{60}Co , GammaCell 220. As doses foram: 0; 0,5; 0,75; 1,0; 2,0 kGy.

Para o ensaio do Half-embryo Test foi utilizada a metodologia descrita por Kawamura *et al*, 1996 [19] e o Ensaio Cometa foi feito conforme Cerda *et al*, 1997 [10].

IV. RESULTADOS E DISCUSSÃO

No ensaio do cometa realizado em sementes de melancia, para dose de 0 kGy foi observado os tipos de células cometa 10, 20 e 30, sendo o tipo 20 de maior porcentagem. Para as doses de 0,5 e 0,75 kGy o tipo 30 foi predominante e para as doses 1,0 e 2,0 kGy o tipo 40 foi predominante mas com diferentes porcentagens como apresentado na figura 1.

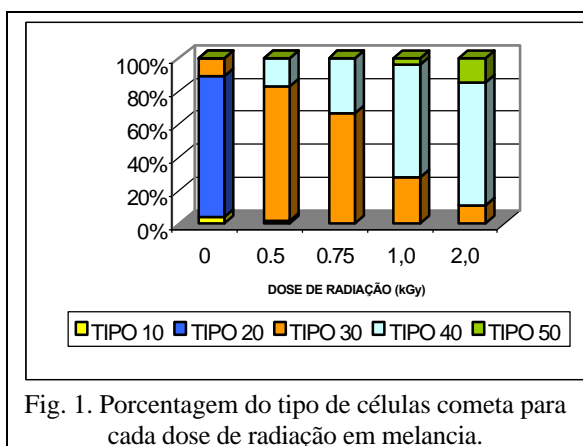


Fig. 1. Porcentagem do tipo de células cometa para cada dose de radiação em melancia.

Em maçã, a 0kGy o tipo 10 teve maior porcentagem que os tipos 20 e 30. Para as doses 0,5 e 0,75 foram predominantes os tipos 20 e 30 respectivamente, enquanto que para as doses 1,0 e 2,0 kGy foi predominante o tipo 40 como mostrado na figura 2.

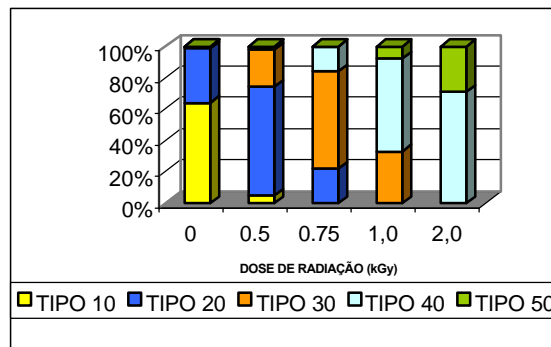


Fig. 2. Porcentagem do tipos de células cometa para cada dose de radiação em maçã.

No Teste de Germinação, as sementes de melancia e melão foram avaliadas no terceiro e sexto dias após irradiação e foi observado que o crescimento dos cotilédones e raízes eram afetados conforme o aumento da dose de radiação, como mostrado na figuras 3, 4, 5 e 6.

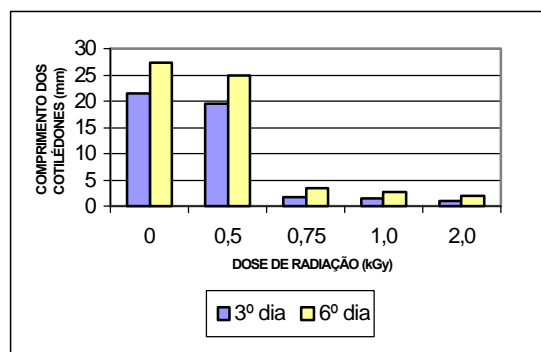


Fig. 3. Comprimento médio dos cotilédones para cada dose de radiação em melancia.

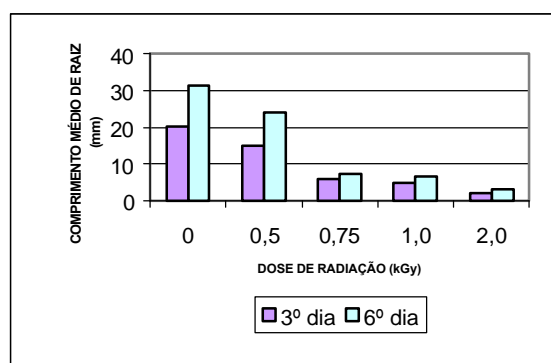


Fig. 4. Comprimento médio da raiz para cada dose de radiação em melancia.

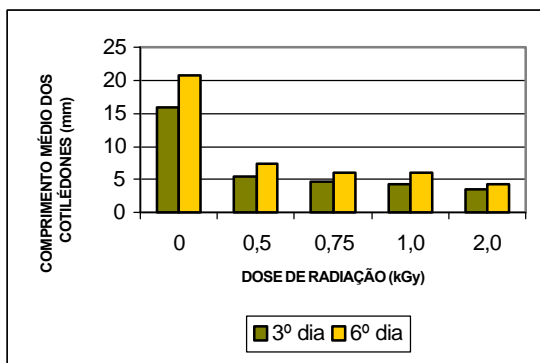


Fig. 5. Comprimento médio do cotilédone para cada dose de radiação em melão.

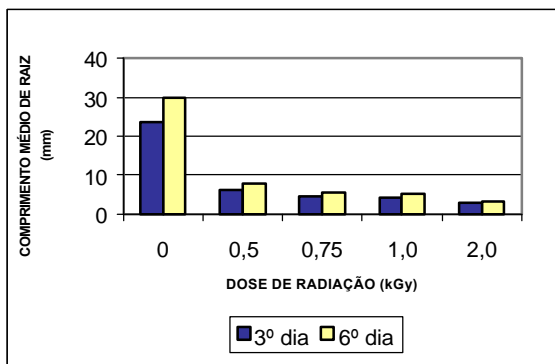


Fig. 6. Comprimento médio de raiz para cada dose de radiação em melão.

V. CONCLUSÕES

No ensaio do cometa, para cada dose de radiação pode existir um determinado tipo de célula cometa predominante, mas também pode variar de um alimento para outro.

Pelo teste de germinação é possível estabelecer o efeito da radiação no crescimento dos cotilédones e das raízes.

Ambos os métodos constituem um potencial para a detecção de alimentos irradiados.

VI. AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à CAPES e ao IPEN.

por eletroforese em micro gel. In: Simpósio Latino Americano de Ciência dos Alimentos. Campinas, 1995.

[12] KAWAMURA, Y.; UCHIYAMA, S.; SAITO, Y. Improvement of the Half-embryo Test for Detection of Gamma-irradiated Grapefruit and its Application to

VII. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] DELINCÉE, H. Detection methods for irradiated foods: an overview. *Radiat. Phys. Chem.* Oxford, v. 48, n. 3, p. 378-379, 1996.
- [2] DELINCÉE, H. **Safety aspects in food irradiated. Second Symposium on food safety and human health.** Doha, Qatar, April 29 – May 1, 1997.
- [3] DELINCÉE, H. Detection of food treated with ionizing radiation. *Trends in Food Science & Technology.* 9:73-82. 1998.
- [4] ROSS R.; ENGELJOHN D. Food Irradiation in the United States: irradiation as a phytosanitary treatment for fresh fruits and vegetables and for the control of microorganisms in meat and poultry. *Rad. Phys. Chem.* 57 (2000) 211-214.
- [5] DIEHL, J.F. **Safety of irradiated food.** New York: Marcel Dekker, 454 p., 1995.
- [6] FAO, IAEA, ADMIT. **Co-Ordinated Research Programme on analytical detection methods for irradiation treatment of foods.** Warsaw, 1990. 45p.
- [7] WOOD, R. The progress of the European Committee for Standardization (CEN) in developing methods of analysis for the detection of food irradiation. *Food Sci. Technol. Today,* v. 10, n.3, p. 171-173, 1996.
- [8] DELINCÉE, H. Control of Irradiated Food: Recent Developments in Analytical Detection Methods. *Radiat. Phys. Chem.,* Oxford, v. 42, n. 1-3, p. 351-357, 1993.
- [9] DELINCÉE, H. Rapid and simple screening test to detect the radiation treatment of foods. *Radiat. Phys. Chem.,* Oxford, v. 46, n. 4-6, p. 653-658, 1995.
- [10] CERDA, H., DELINCÉE, H., HAINE, H., RUPP, H. The DNA "Comet Assay" as a rapid screening technique to control irradiated food. *Mutat. Res.,* Amsterdam, v. 375, p. 167-181, 1997.
- [11] VILLAVICENCIO, A.L.C.H., MANCINI-FILHO, J., DELINCÉE, H. **Detecção de feijões irradiados com ⁶⁰Co** irradiated Oranges and Lemons. *J. Food Sci.* 54(6):1501-1504. 1989.
- [13] KAWAMURA, Y. Germination test for identification of gamma-irradiated wheat. *Radiat. Phys. Chem.,* Oxford, v. 39, n. 2, p. 203-207, 1992.

[14] KAWAMURA, Y.; MIURA A.; SUGITA T. ; YAMADA T.; SAITO Y. Application of half-embryo test to irradiated apples and cherries. **Radiat. Phys. Chem.**, Vol. 46, N° 3, pp. 371-375, 1995.

[15] BELLUARDO, J.J. Methods for the detection of foodstuffs treated by irradiation. **Radiat. Phys. Chem**, Oxford, v. 42, n. 1-3, p. 377-382, 1993.

[16] STEVENSON, M.H. Identification of irradiated foods. **Food Technol**, Chicago, v.48, n.5, p. 141-144, 1994.

[17] RAHMAN A.K.M.M.; SUMAR, S. Chemical and biological methods for the identification of irradiated foodstuffs. **Nutr. Food Sci.**, London, v.1, p. 4-11, 1995.

[18] VILLAVICENCIO, A.L.C.H.; MANCINI-FILHO, J.; DELINCÉE, H. Utilization of half-embryo test to identify irradiated beans. **Bolletino Chimico Farmaceutico**. v. 136:11, 670-673, 1997.

[19] KAWAMURA, Y.; SUGITA, T.; YAMADA, T.; SAITO, Y. Half-embryo test for identification of irradiated citrus fruit: collaborative study. **Radiat. Phys. Chem.**, Oxford, v. 48, n. 5, p. 665-668, 1996.

ABSTRACT

The method of "Comet Assay" as a screening method to identify irradiated foods are employed here to ensure the free consumer choice. Seeds of irradiated Brazilian fruits by gamma ray could be detected by two rapid screening methods. Since treatment with ionising radiation causes DNA fragmentation, the analysis of DNA damage might be promising. Germination was also employed and, to confirm exactly. In this paper, we used gamma irradiation to compare some modifying responses of irradiation. Fresh fruit such as apples, watermelons and muskmelon were observed. The applied radiation doses were 0, 0,5; 0,75; 1,0 and 2,0 kGy. The analysis of the germination and DNA migration enabled a rapid identification of the radiation treatment.