

**UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO  
CENTRO DE ENERGIA NUCLEAR NA AGRICULTURA**

**TATIANA GISELLE GUIMARÃES LOPES**

**Efeito da radiação gama na reatividade alergênica e nas  
propriedades físico-químicas e sensoriais de camarão (*Litopenaeus  
vannamei*)**

**Piracicaba  
2012**



**Tatiana Giselle Guimarães Lopes**

**Efeito da radiação gama na reatividade alergênica e nas propriedades físico-químicas e sensoriais de camarão (*Litopenaeus vannamei*)**

Tese apresentada ao Centro de Energia Nuclear na Agricultura da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Doutora em Ciências

Área de Concentração: Energia Nuclear na Agricultura e no Ambiente

Orientadora: Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Solange Guidolin Canniatti Brazaca

Co-orientador: Prof. Dr Valter Arthur

**Piracicaba**

**2012**

AUTORIZO A DIVULGAÇÃO TOTAL OU PARCIAL DESTE TRABALHO, POR QUALQUER MEIO CONVENCIONAL OU ELETRÔNICO, PARA FINS DE ESTUDO E PESQUISA, DESDE QUE CITADA A FONTE.

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)  
**Seção Técnica de Biblioteca - CENA/USP**

Lopes, Tatiana Giselle Guimarães

Efeito da radiação gama na reatividade alergênica e nas propriedades físico-químicas e sensoriais de camarão (*Litopenaeus vannamei*) / Tatiana Giselle Guimarães Lopes; orientadora Solange Guidolin Canniatti-Brazaca; co-orientador Valter Arthur. - - Piracicaba, 2012.

91 p.: il.

Tese (Doutorado – Programa de Pós-Graduação em Ciências. Área de Concentração: Energia na Agricultura e no Ambiente) – Centro de Energia Nuclear na Agricultura da Universidade de São Paulo.

1. Alergia e imunologia 2. Análise sensorial de alimentos 3. Hipersensibilidade alimentar 4. Irradiação de alimentos 5. Lipídeos 6. Pescado 7. Proteínas I. Título

CDU 621.039.83 : 612.398

## **Dedico...**

*A meu marido Robson... Sem o seu apoio e amor esse trabalho não seria possível.*

*Ao meu pequeno Guilherme pela sua doçura, compreensão e paciência. Por ser meu companheirinho... A razão da minha existência.*

*A minha família amada... Sonia, Fred, D. Zélia, Sr. Edson, Rodrigo e Letícia. Ao meu avô Antonio... Segui seus conselhos.*

*À minha querida orientadora Solange, que me proporcionou tamanha oportunidade.*

*Com muita humildade... Ao Engenheiro Agrônomo Luiz Vicente de Queiróz (in memorian) e ao Dr. Eurycles de Jesus Zerbine (in memorian), homens honrados, pesquisadores brilhantes, que transformaram seus sonhos, projetos de uma vida inteira, em nossa realidade e que através da Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz" e do Instituto do Coração de São Paulo, multiplicaram a ciência e seus benefícios à sociedade.*



## AGRADECIMENTOS

À minha orientadora Professora Dr<sup>a</sup>. Solange Guidolin Canniatti Brazaca, pela orientação sempre precisa, pela gentileza, confiança e dedicação. Por acreditar que podíamos realizar este trabalho com sucesso.

Ao meu co-orientador, Professor Dr. Valter Arthur, pelo suporte na área de irradiação de alimentos e Energia Nuclear.

Ao Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares da Universidade de São Paulo e ao Professor Dr. Cyro Teiti Enokihara, por viabilizarem o processo de irradiação dos camarões.

Ao assessor anônimo da FAPESP, que durante o processo para o financiamento do projeto, fez críticas extremamente construtivas, dando novos rumos ao trabalho. Suas valiosas considerações nos proporcionaram melhor direcionamento e agilidade à pesquisa.

Ao Professor Fabio Fernandes Morato Castro e a Dr<sup>a</sup> Ariana Campos Yang, que me receberam com grande simpatia e entusiasmo na Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (FMUSP), orientaram-me e disponibilizaram acesso ao Ambulatório de Alergia Alimentar e Dermatite Atópica do Hospital das Clínicas (HCFMUSP) e parte da sua equipe para realização das análises imunológicas. A tese da Dr<sup>a</sup> Ariana foi uma grande inspiração. Seu auxílio como alergista no tratamento do meu filho Guilherme foi uma bênção à parte.

A toda equipe dos Laboratórios de Imunologia Clínica e Alergia (FMUSP) e Imunologia do Instituto do Coração (Incor-HCFMUSP).

À professora Dr<sup>a</sup> Luisa Karla de Paula Arruda, que me recebeu na Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto (FMRP-USP), orientou-me e disponibilizou material indispensável para a realização das análises.

À Dr<sup>a</sup> Michelle Rodrigues Barbosa e a Dr<sup>a</sup> Keity Souza Santos, notáveis pesquisadoras que me orientaram, tranquilizaram-me e dedicaram muito tempo e energia para a realização das análises imunológicas.

À Professora Marília Oetterer pelo seu exemplo, dedicação e grande contribuição à Tecnologia de Pescado. Por suas valiosas considerações em minha qualificação.

Ao Professor Edson Geraldo Luiz Lopes, pela revisão ortográfica do texto.

Esse estudo recebeu o apoio da Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de São Paulo – FAPESP. Agradeço pelo suporte financeiro e pela bolsa de estudos

concedida. O recurso disponibilizado através da reserva técnica de bolsa, além de fundamental para a realização das análises, tornou possível a apresentação do trabalho “Allergenicity of shrimp (*Litopenaeus vannamei*) treated with gamma radiation”, durante o “Internacional Food Congress: Novel Approaches in Food Industry (NAFI 2011)”, no dia 28 de maio de 2011, na cidade de Cesme – Izmir, na Turquia. Tal participação foi uma grande oportunidade, que, tenho certeza, contribuiu para minha formação como pesquisadora.

Por fim... Agradeço imensamente a meus pais, Sonia e Fred, e a meu querido Robson, que estiveram sempre ao meu lado. O carinho e os cuidados dispensados ao nosso Guilherme me proporcionaram segurança e a concentração necessária para a realização das análises e elaboração desse texto.

*Dentro do trabalho em sua equipe, todos podiam tudo, principalmente em investigação e produção científica. Mas, após inúmeras oportunidades, o professor Zerbini os escolhia instintiva e cuidadosamente. E novas oportunidades eram dadas àqueles que realmente eram bons, que mereciam progredir.*

**Lemos (1999)**

*Ninguém doa nada que não lhe tenha sido dado para doar.*

**Luiz Vicente de Souza Queiroz**



## RESUMO

GUIMARÃES-LOPES, T. G. **Efeito da radiação gama na reatividade alérgica e nas propriedades físico-químicas e sensoriais de camarão (*Litopenaeus vannamei*)**. 2012. 91 f. Tese (Doutorado) – Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2012.

A hipersensibilidade a alimentos é comum em crianças e adultos. O camarão, apesar de muito apreciado, é um alimento potencialmente capaz de desencadear reações alérgicas em indivíduos geneticamente predispostos. O principal alérgeno em camarão é a tropomiosina. O objetivo desse experimento foi avaliar os efeitos da radiação gama na reatividade IgE a tropomiosina de camarão da espécie *Litopenaeus vannamei* e avaliar as modificações físico-químicas e sensoriais no produto, induzidas por esse processo. As amostras foram constituídas de camarões sem o cefalotórax, descongelados e liofilizados, submetidos a diferentes doses de radiação gama: 0 (test.), 5, 10 e 15 kGy. Utilizou-se para a irradiação um irradiador multipropósito, semi-industrial de  $^{60}\text{Co}$ . A taxa de dose empregada foi de 7,5 kGy/hora. Determinou-se a reatividade IgE utilizando as técnicas: ELISA e “Imunobloting”. Foram realizados testes físico-químicos e sensoriais, para verificar a viabilidade do produto após a irradiação. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ). As doses de radiação gama aplicadas nesse experimento não alteraram de forma significativa a reatividade IgE, a cor, o colesterol, teor de ácidos graxos e a aceitação dos camarões. Concluiu-se que a radiação gama nessas doses, apesar de não causar modificações que comprometam a qualidade do produto, não pode ser indicada para o controle de alérgenos em camarões, por ter apresentado baixo impacto na modificação da estrutura protéica alérgica.

**Palavras-chaves:** Camarão. *Litopenaeus vannamei*. Irradiação de alimentos. Camarão branco do Pacífico. Alergia alimentar.



## ABSTRACT

GUIMARÃES-LOPES, T. G. **Effect of gamma radiation on the allergenic reactivity and the physicochemical properties and sensory shrimp (*Litopenaeus vannamei*)**. 2012. 91 f. Tese (Doutorado) – Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2012.

The hypersensitivity to foods is common in children and adults. The shrimp in spite of very appreciated is a food potentially capable to unchain allergic reactions genetically in individuals per disposed. The major allergen in shrimp is the tropomyosin. The aim of this study was to evaluate the effects of gamma irradiation on IgE reactivity to shrimp tropomyosin (*Litopenaeus vannamei*) and evaluate the physical and chemical changes and sensory product, induced by this process. The samples will be constituted of thawed and freeze-dried shrimp submitted to different radiation doses: 0 (test.), 5, 10 and 15 kGy. Was used for irradiating an irradiation multipurpose semi-industrial sector. <sup>60</sup>Co. The dose rate used was 7.5 kGy / hr. The samples, later to the irradiation, they will go by analyses for allergens determination using the techniques: ELISA and Immunoblotting. Acceptance test will be done to verify physicochemical and sensorial attributes after irradiation. Datas will be evaluated by ANOVA and Tukey test ( $p \leq 0.05$ ). The gamma radiation doses applied in this experiment did not change significantly IgE reactivity, color, cholesterol, fatty acid content and the acceptance of shrimp studied. It was concluded that the gamma radiation in these doses, although not causing changes that compromise the quality of the product cannot be indicated for control of allergens in shrimp because it presented a low impact on allergenic protein structure modification.

**Key-words:** Shrimp. *Litopenaeus vannamei*. Food irradiation. White shrimp- Pacific. Food allergy. Seafood.



## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 -	Camarão-branco-do-pacífico ( <i>Litopenaeus vannamei</i> ).....	21
Figura 2 -	Camarão-branco-do-pacífico ( <i>Litopenaeus vannamei</i> ) liofilizado sem o cefalotórax.....	21
Figura 3 -	Camarão-branco-do-pacífico ( <i>Litopenaeus vannamei</i> ) descongelado sem o cefalotórax.....	21
Figura 4 -	Passando pela mucosa do trato gastrintestinal, o antígeno (Pen1a) sensibiliza um linfócito B; este, por sua vez, desencadeia a produção de IgE. A IgE se fixa na superfície dos mastócitos, sensibilizando-os. Uma segunda exposição ao antígeno resulta na formação de ligações entre as moléculas de IgE e desencadeia a desgranulação dos mastócitos e a liberação de substâncias mediadoras que provocam os sintomas característicos da alergia.....	31
Figura 5 -	Peso molecular (KD) das bandas protéicas dos extratos brutos de <i>Litopenaeus vannamei</i> .....	80
Figura 6 -	Resultados do immunoblot.....	81

## LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 -	Alimentos permitidos para serem irradiados de acordo com o (Food Drug Administration (FDA)).....	24
Gráfico 2 -	Concentração (µg/mL) de alérgenos por ELISA quimérico em camarões irradiados, descongelados e liofilizados.....	26



## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 -	Alimentos permitidos para serem irradiados de acordo com o Food Drug Administration (FDA).....	25
Tabela 2 -	Concentração ( $\mu\text{g/mL}$ ) de alérgenos por ELISA quimérico em camarões irradiados, descongelados e liofilizados.....	37
Tabela 3 -	Análise microbiológica de amostras de camarão ( <i>L. vannamei</i> )....	65
Tabela 4 -	Análise sensorial de camarão-branco-do-pacífico ( <i>Litopenaeus vannamei</i> ) descongelado e liofilizado submetido a doses de irradiação.....	65
Tabela 5 -	Aparência de camarão-branco-do-pacífico ( <i>Litopenaeus vannamei</i> ) sem preparo, irradiado, fresco e liofilizado.....	66
Tabela 6 -	Aparência de camarão-branco-do-pacífico ( <i>Litopenaeus vannamei</i> ) sem preparo, irradiado, fresco e liofilizado.	67
Tabela 7 -	Cor instrumental em camarão-branco-do-pacífico ( <i>Litopenaeus vannamei</i> ) fresco e liofilizado submetido à radiação gama.....	69
Tabela 8 -	Alergenicidade de extracto de proteína de camarão tratado com radiação gama determinada por ensaio de immunoblot.....	82
Tabela 9 -	TBA ( $\text{mg}$ de malanoaldeído. $\text{kg}^{-1}$ ), colesterol ( $\text{mg.100g}^{-1}$ ), umidade ( $\text{g.100g}^{-1}$ ) e lipídeo total ( $\text{g.100g}^{-1}$ ) em camarões ( <i>Litopenaeus vannamei</i> ) irradiados.....	83
Tabela 10 -	Perfil de ácidos graxos em camarões ( <i>Litopenaeus vannamei</i> ) submetido a diferentes doses de radiação gama.....	85



## SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO .....	19
Referências .....	22
2 REVISÃO DA LITERATURA .....	24
2.1 Consumo e produção de pescado .....	24
2.2 O valor nutritivo do pescado .....	27
2.3 Alergia Alimentar .....	29
2.4 Alérgeno em camarão .....	32
2.5 Diagnósticos <i>in vitro</i> .....	34
2.6 Irradiação de Alimentos .....	35
2.7 Efeito da radiação ionizante nos alimentos .....	38
2.8 Aplicação da radiação na inibição de alergia alimentar .....	41
Referências .....	44
3. EFEITO DA RADIAÇÃO GAMA NA REATIVIDADE ALERGÊNICA E NAS PROPRIEDADES SENSORIAIS E COR DE CAMARÃO ( <i>LITOPENAEUS VANAMMEI</i> ) .....	56
RESUMO .....	56
3.2 Material e Métodos .....	59
3.2.1 Preparo das amostras .....	59
3.2.2 Irradiação das amostras .....	59
3.2.3 ELISA Quimérico .....	60
3.2.4 Soros de pacientes .....	60
3.2.5 Preparo dos concentrados protéicos .....	60
3.2.6 Construção da curva controle .....	61
3.2.7 Determinação de anticorpos IgE específicos para alérgenos de camarão .....	61
3.2.8 Análise da cor .....	62
3.2.9 Análise sensorial .....	62
3.2.10 Análise estatística .....	63
3.3. Resultados e Discussão .....	63
3.3.1 ELISA Quimérico .....	63
3.3.2 Análise sensorial .....	65
3.3.3 Determinação da cor .....	67

3.4 Conclusões .....	69
Referências.....	69
4 EFEITO DA RADIAÇÃO GAMA NA FRAÇÃO LIPÍDICA E REATIVIDADE ALERGÊNICA A CAMARÃO ( <i>LITOPENAEUS VANNAMEI</i> ) .....	74
RESUMO .....	74
ABSTRACT.....	75
4.1 Introdução.....	76
4.2 Material e Métodos.....	78
4.2.1 Preparo das amostras .....	78
4.2.2 Irradiação das amostras .....	78
4.2.3 Preparo dos concentrados protéicos .....	78
4.2.4 Eletroforese e imunobloting.....	79
4.2.5 Análises químicas .....	79
4.3 Resultados e Discussão .....	80
4.3.1 Eletroforese .....	80
4.3.2 Imunobloting e densitometria .....	81
4.3.3 TBA, Colesterol, Umidade e Lipídeos Totais .....	83
4.3.4 Perfil de ácidos graxos .....	84
4.4 Conclusão.....	86
Referências.....	86
5 CONSIDERAÇÕES FINAIS .....	90

## 1 INTRODUÇÃO

A ocorrência de alergia alimentar apresentou grande crescimento nas últimas décadas. Estima-se que afete cerca de 4% da população mundial. Indivíduos alérgicos reagem negativamente à ingestão de alimentos e ingredientes que a maioria dos consumidores utiliza de forma segura. A exposição a um número maior de alérgenos alimentares exerce impacto negativo na qualidade de vida, tornando a alergia alimentar um problema de saúde pública em todo o mundo. As alergias do tipo imediato são mediadas pela produção de anticorpos IgE contra proteínas específicas presentes naturalmente nos alimentos alergênicos. Os sintomas vão desde erupções cutâneas leves a choque anafilático (TAYLOR, 2008, TAYLOR; HEFLE, 2001).

Anafilaxia é a mais grave das condições alérgicas observadas por alergologistas, podendo levar rapidamente a óbito indivíduos saudáveis. Segundo levantamento realizada pela Associação Brasileira de Alergologia e Imunopatologia (ASBAI) a ingestão de alimentos alergênicos é um dos principais desencadeantes de reações anafiláticas. Os alimentos mais alergênicos são o leite de vaca e clara de ovos na infância e os crustáceos em adultos (BERND et al., 2010).

O pescado é uma importante fonte de alimento em todo mundo e com o aumento do seu consumo, mais casos de reações adversas tem sido reportados. Alergias a peixes e crustáceos são comuns, sendo a tropomiosina (33-36 kDa) identificada como principal alérgeno em frutos do mar, especialmente em camarões (OSTERBALLE et al., 2005). A partir dos 6 anos de idade os crustáceos são a principal causa de reações alérgicas causadas por alimentos, atendidas em serviços de emergência nos Estados Unidos (ROSS et al. 2008).

As radiações ionizantes, em pequenas doses, são capazes de destruir contaminantes microbianos, incluindo os microorganismos de decomposição, aumentando a vida útil do pescado, diminuindo riscos à saúde, sem alterar drasticamente suas características organolépticas (MAYER, 2000; COZZO, 2003; GUIMARÃES-LOPES, 2006). Alguns autores associam o uso da radiação gama à redução do potencial alergênico de alguns alimentos, dentre eles o camarão (BYUN et al., 2000; BYUN et al., 2002, LEE et al., 2005; ZHENXING; CAOLIMIN; JAMIL, 2006 e ZHENXING et al., 2007).

Doses médias ou altas de radiação gama podem modificar a estrutura de alergênicos em alimentos. O emprego dessas doses em produtos com alta atividade de água como o camarão pode causar modificações importantes, principalmente em seus atributos sensoriais e porção lipídica. Sendo assim, o objetivo desta pesquisa foi identificar alterações na reatividade alergênica de camarões-branco-do-pacífico (*Litopenaeus vannamei*) (Figuras 1, 2 e 3), submetidos a diferentes doses de radiação gama ( $^{60}\text{Co}$ ) e avaliar as modificações físico-químicas e sensoriais no produto, induzidas por esse processo.

Essa pesquisa foi realizada no Centro de Energia Nuclear na Agricultura – CENA - USP, na Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” – ESALQ - USP, nas Faculdades de Medicina de São Paulo – FMSP - USP e de Medicina de Ribeirão Preto, FMRP – USP e Fundação Zerbini, Instituto do Coração - HCFMUSP. A irradiação das amostras foi realizada no Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, IPEN – USP.



Figura 1. Camarão-branco-do-pacífico (*Litopenaeus vannamei*).



Figura 2. Camarão-branco-do-pacífico (*Litopenaeus vannamei*) liofilizado sem o cefalotórax.



Figura 3. Camarão-branco-do-pacífico (*Litopenaeus vannamei*) descongelado sem o cefalotórax

## Referências

BERND, L.A.G.; FLEIG, F.; ALVES, M.B.; BERTOZZO, R.; COELHO, M.; CORREIA, J.; DI GESU, G.M.S.; DI GESU, R.; GELLER, M.; MAZZOLLA, J.; OLIVEIRA, C.H.; PEIXOTO, D.S.A.; SARINHO, E.; SILVA, E.G. Anafilaxia no Brasil: Levantamento da ASBAI. **Revista Brasileira de Alergia e Imunopatologia**, São Paulo, v. 33, n. 5, p. 190-198, 2010.

BYUN, M.W.; LEE, J.W.; YOON, H.S.; JO, C.R.; KIM, H.Y. Application of gamma irradiation for inhibition of food allergy. **Radiation Physics and Chemistry**, Oxford, v. 63, n. 3-6, p. 369-370, 2002.

BYUN, M.W.; KIM, J.H.; LEE, J.W.; PARK, J.W.; HONG, C.S.; KANG, I.J. Effects of gamma radiation on the conformational and antigenic properties of a heat-stable major allergen in brown shrimp. **Journal of Food Protection**, Ames, v. 63, n. 7, p. 940-944, 2000.

COZZO, A.Z.; OETTERER, M.; GALLO, C.R. Effects of irradiation and refrigeration on the nutrients and shelf-life of tilapia (*Oreochromis niloticus*). **Journal of Aquatic Food Product Technology**, New York, v. 12, n. 3, p. 85-102, 2003.

GUIMARÃES-LOPES, T.G. **Efeito sinérgico da radiação gama e da refrigeração na conservação do camarão-branco-do-pacífico (*Litopenaeus vannamei*)**. 2006. 93 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2006.

LEE, J.W.; SEO, J.H.; KIM, J.H.; LEE, S.Y.; KIM, K.S.; BYUN, M.W. Changes of the antigenic and allergenic properties of a hen's egg albumin in a cake with gamma-irradiated egg white. **Radiation Physics and Chemistry**, Oxford, v. 72, n.5, p. 645-650, 2005.

MAYER, M.D.B. **Alterações microbiológicas, físico-químicas e sensoriais durante a vida útil do camarão-rosa (*Penaeus brasiliensis* e *Penaeus paulensis*) submetidos à radiação gama**. 2000. 89 f. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2000.

OSTERBALLE, M.; HANSEN, T.K.; MORTZ, C.G.; HEST, A.; BINDSLEV-JENSEN, C. The prevalence of food hypersensitivity in an unselected population of children and adults. **Pediatric Allergy and Immunology**, Copenhagen, v. 16, n. 7, p. 567-573, 2005.

ROSS, M.P.; FERGUSON, M.; STREET, D.; KONTZ, K.; SCHROEDER, T.; LUCCIOLI, S. **The Journal of Allergy and Clinical Immunology**, St. Louis, v. 121, n. 1, p. 166-171, 2008.

TAYLOR, S.L. Molluscan shellfish allergy. **Advances in Food and Nutrition Research**, Lincoln, v. 54, p. 139-177, 2008.

TAYLOR SL, HEFLE SL. Ingredient and labeling issues associated with allergenic foods. **Allergy**, Copenhagen, v. 56, suppl. 67, p. 64-69, 2001.

ZHENXING, L.; CAOLIMIN, L.; JAMIL, K. Reduction of allergenic properties of shrimp (*Penaeus vannamei*) allergens by high intensity ultrasound. **European Food Research Technology**, Munchen, v. 223, n. 5, p. 639-644, 2006.

ZHENXING, L.; HONG, L.; LIMIN, C.; JAMIL, K. The influence of gamma irradiation on the allergenicity of shrimp (*Penaeus vannamei*). **Journal of Food Engineering**, London, v. 79, n.3, p. 945-949, 2007.

## 2 REVISÃO DA LITERATURA

### 2.1 Consumo e produção de pescado

O consumo mundial de pescado alcançou níveis históricos ao contabilizar um consumo médio de 17 quilos por pessoa em 2010. De acordo com estudo divulgado pelas Nações Unidas, para três milhões de pessoas o pescado representa 15% da dieta média de proteínas de origem animal (FAO, 2010a).

Nas duas últimas décadas observou-se aumento de consumo de cerca de 40% para pescado total e 59% para crustáceos (Gráfico 1). Os países com maior consumo *per capita*/ano de pescado são: Finlândia, Japão, Noruega, Portugal e Espanha. Os maiores consumidores de crustáceos são: Finlândia, Japão, EUA, Espanha e Austrália (Tabela 1).

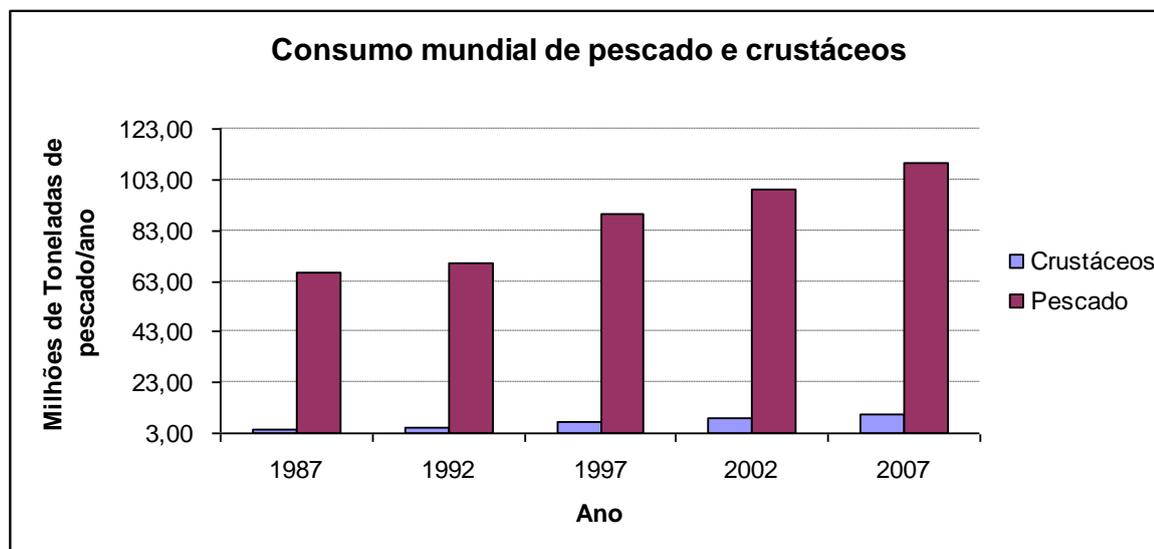


Gráfico 1 - Evolução mundial do consumo de pescado (toneladas de pescado/ano) (1997-2007). Elaborado de acordo com dados fornecidos por FAOSTAT - FAO Statistics Division (FAO, 2012b)

Tabela 1 - Consumo de pescado (peixes, frutos do mar e outros) e crustáceos no ano de 2007 (kg/per capita/ano)

<b>País</b>	<b>Pescado</b>	<b>Crustáceos</b>
Austrália	24,22	3,82
<b>Brasil</b>	<b>6,87</b>	<b>0,54</b>
Chile	20,07	0,53
Grécia	21,09	1,27
<b>Finlândia</b>	<b>87,40</b>	<b>17,44</b>
<b>Japão</b>	<b>60,78</b>	<b>9,77</b>
Portugal	54,82	2,19
Espanha	40,03	4,41
EUA	24,05	6,04
Noruega	51,43	4,92
Equador	4,40	0,04
Holanda	19,02	0,19
Peru	21,36	0,67
México	10,80	1,33

Fonte: FAO Statistics Division (FAO, 2012).

O consumo de pescado no Brasil é considerado modesto, quando comparado ao consumo de outros países (Tabela 1) e de outras fontes de proteína de origem animal (Gráfico 2). Este fenômeno está relacionado a diversos fatores, como a pesca, a baixa produção nacional e a distância entre os centros produtores e consumidores. Outras cadeias produtivas expandiram-se, ao contrário do pescado, que permaneceu estagnado por décadas. Enquanto os preços das carnes bovina e de frango caíram ao longo dos anos, o valor do pescado manteve-se constante, contribuindo para sua menor participação no mercado de proteínas de origem animal (SONODA, 2006).

Em 1987 consumiu-se 24,94 e 11,54 Kg/*per capita*/ano de carne bovina e de frango, respectivamente. Em 20 anos, registrou-se aumento de consumo de aproximadamente 49% e 174 % para as carnes bovina e de frango. Nesse mesmo período, observou-se decréscimo de 3,5 % para o consumo de pescado (Gráfico 2).

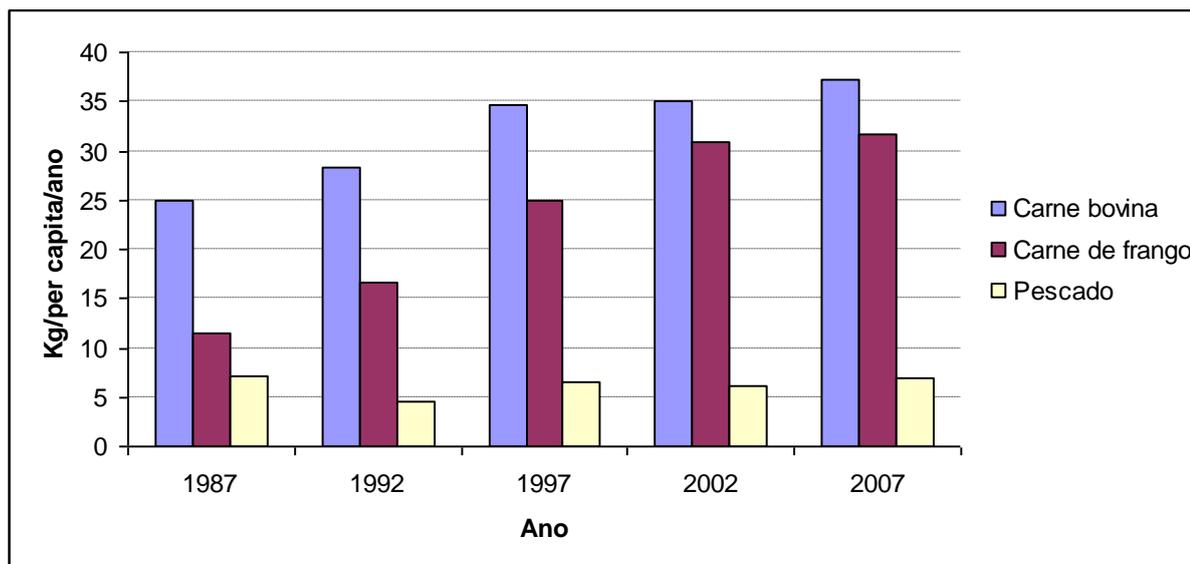


Gráfico 2 - Evolução do consumo (kg/per capita/ano) de pescado no Brasil (1997-2007). Elaborado de acordo com dados fornecidos por FAOSTAT - FAO Statistics Division (FAO, 2012 b)

Segundo estudo realizado pelo Ministério da Pesca e Agricultura, o consumo de pescado no Brasil aumentou 8% entre 2008 e 2009 (de 1,5 para 1,7 milhão de toneladas). Do total consumido pelos brasileiros (9 Kg/*per capita*/ano), 69,4% foi produzido no país e 30,6% vieram de países como Chile, Noruega e Argentina (BRASIL, 2010). Apesar disso, o consumo no país ainda está abaixo do patamar considerado ideal pela OMS (Organização Mundial de Saúde), que é de 12 quilos de pescado por pessoa ao ano (FAO, 2010b).

Os crustáceos representam cerca de 7 % da captura mundial. Desse grupo, os camarões e lagostas são as espécies de maior relevância, sendo capturadas em quase todo o mundo. Em 2009 foram capturados cerca de 11 milhões de toneladas de crustáceos. Desse total aproximadamente 60% eram camarões (FAO, 2008).

O cultivo de camarões tropicais está aumentando consideravelmente. A produção mundial de camarão-branco-do-pacífico (*Litopenaeus vannamei*) passou de pouco mais de 145 mil toneladas no ano 2000 para cerca de 2 milhões de toneladas em 2006 (FAO, 2008).

A demanda crescente por qualidade de alimentos vem impulsionando o desenvolvimento da aquicultura, uma vez que as capturas naturais apresentam sinais evidentes de esgotamento do estoque de recursos. Apesar da maior parte da produção de camarões marinhos concentrarem-se na Ásia, o Brasil apresenta condições naturais muito favoráveis à carcinicultura. A partir do ano de 2001, com o

aumento da produção de camarões, as exportações superaram as importações de pescado. No ano de 2003 o Brasil exportou 113.838 toneladas, arrecadando aproximadamente US\$ 428 milhões. Nesse mesmo ano, exportou-se cerca de 58.000 toneladas de camarões cultivados, que geraram US\$ 225 milhões. Nos anos seguintes, as exportações decresceram drasticamente, chegando em 2011 a apenas 108 toneladas (ABCC, 2011).

Atualmente a cadeia produtiva brasileira encontra-se em fase de organização. Esforços de instituições públicas e empresas privadas têm sido feitos para o melhoramento genético, produção de organismos livres de patógenos, desenvolvimento de novos equipamentos para a produção e processamento e elaboração de rações balanceadas com menor potencial poluidor. Os sistemas de certificação começam a surgir no país, favorecendo a conquista de novos mercados. A ocorrência de enfermidades e a sustentabilidade ambiental dos cultivos representam grandes desafios para o setor. A busca por policultivos, equipamentos que permitam melhorar a qualidade de água e o manejo de dejetos são esforços que estão sendo realizados nesse sentido (NATORI et al., 2011).

## **2.2 O valor nutritivo do pescado**

A proporção dos componentes do pescado depende da espécie, do sexo e do ciclo biológico do animal analisado e de fatores ambientais como a estação do ano, local, abundância de nutrientes, temperatura e salinidade da água. A composição da parte comestível do pescado varia entre 60 a 85% de umidade, aproximadamente 20% de proteína, 0,6 a 36 % de lipídeos, 0,3 a 1% de carboidrato e 1 a 2% de cinzas (OGAWA; MAIA, 1999).

Os óleos marinhos podem ser utilizados de diversas formas. Tradicionalmente são utilizados nas indústrias de verniz e pintura, nutrição animal e como fonte de energia de boa qualidade na indústria de alimentação humana e na preparação de produtos hidrogenados, tanto para uso doméstico como para uso industrial (VALENZUELA; SANHUEZA, 2009).

Ingredientes funcionais, incluindo os lipídeos, são recomendados por universidades, indústrias e órgãos governamentais em todo o mundo. Essas

recomendações baseiam-se na redução de gastos com a saúde através da prevenção de doenças crônicas (AKOH, 2006).

Os ácidos graxos que compõem os óleos em geral são ácidos graxos saturados (AGS) e insaturados (AGI). Os insaturados podem ser monoinsaturados (AGMI) ou poliinsaturados (AGPI). Do ponto de vista nutricional, os AGPI podem ser classificados em três importantes famílias. São elas: ômega-9, ômega-6 e ômega-3 (VALENZUELA; SANHUEZA, 2009).

Os AGPI reduzem o risco de doenças coronarianas, sendo os peixes e crustáceos marinhos, consumidores de plâncton, boas fontes de ômega-3. Segundo Heinzemann et al. (2000), o enriquecimento de alimentos com óleo de peixe é uma ferramenta importante para a promoção do aumento da ingestão de ômega-3.

Apesar de não serem totalmente conhecidos, os mecanismos de ação que envolvem o consumo de ômega-3 incluem a regulação de moléculas vasoativas, inibição plaquetária, reduzindo a inflamação e fatores de risco cardiovasculares, tais como a proteína C-reativa, a homocisteína, os triglicérides e o colesterol (BERRAZUETA; BERRAZUETA, 2007).

Recomenda-se o consumo de pescado para a prevenção e tratamento de acidentes cardio e cérebro-vasculares. Seu conteúdo lipídico exerce efeito positivo sobre diferentes aspectos relacionados com o metabolismo lipoprotéico, como por exemplo, na formação de placas ateromatosas e na possível função de alguns aminoácidos constituintes de sua proteína (lisina, metionina, tirosina, arginina, cistina, glicina e o coeficiente lisina/arginina) sobre o metabolismo do colesterol (VAZQUEZ; SÁNCHEZ-MUNIZ, 1994). Segundo Sierra et al. (2004), os ácidos graxos ômega-3 atuam como antiinflamatório e antialérgico, diminuindo agregação de placas e reduzindo a síntese de mediadores químicos da inflamação, ao mesmo tempo em que aumentam as defesas do organismo.

O consumo do ácido graxo eicosapentaenóico (EPA) está associado com a proteção à saúde cardiovascular por exercer efeitos hipotriglicéridicos, hipocolesterolêmicos e antiinflamatórios. O ácido graxo docosahexanóico (DHA) está associado com o desenvolvimento e as funções dos sistemas nervoso e visual (VALENZUELA, 2005).

Recomenda-se a ingestão de pescado com alto teor de lipídeos 2 a 3 vezes por semana e o consumo de óleos de pescado em doses moderadas (até 3 g/dia), como tratamento coadjuvante para diabéticos, hipertensos e hipertriglicéridicos. Já a

ingestão de doses elevadas de óleos de peixe pode ser prejudicial em relação à hipertensão e controle glicêmico, em indivíduos susceptíveis (NASIFF-HADAD; MERINO-IBARRA, 2003).

O aumento na insaturação dos ácidos graxos da membrana muscular está associada com a melhora da sensibilidade à insulina. A maior proporção de ômega-3 nos ácidos graxos podem ter efeitos anti-obesidade e na proteção contra as síndromes metabólicas e diabetes mellitus tipo 2 (SANTA-OLALLA; SÁNCHEZ-MUNIZ; VAQUERO, 2009).

Os crustáceos são boas fontes de ácidos graxos poliinsaturados ômega-3, possuem baixo teor de ácidos graxos saturados, porém apresentam alto teor de colesterol. Luzia (2000) encontrou em experimentos realizados com camarão-sete-barras (*Xiphopenaeus kroyeri*) os valores médios de colesterol de  $165,38 \text{ mg} \cdot 100\text{g}^{-1}$  no verão e  $164,82 \text{ mg} \cdot 100\text{g}^{-1}$  no inverno.

A alta porcentagem de colesterol nos camarões é compensada pelo seu baixo conteúdo de lipídios e presença de altos níveis de ácidos graxos poliinsaturados, especialmente EPA (20:5  $\omega$ 3) e DHA (22:6  $\omega$ 3), fazendo com que seja tolerado em dietas hipocolesterolêmicas (KIRZYNOWEK; PANUZIO, 1989, BRAGAGNOLO; RODRIGUEZ-AMAYA, 1997; MOURA; TENUTA-FILHO, 2002).

O consumo moderado de camarão por indivíduos normolipidêmicos não afeta o perfil total de lipoproteínas e pode ser incluído de acordo com orientações nutricionais em uma dieta saudável (OLIVEIRA-SILVA et al., 1996).

### **2.3 Alergia Alimentar**

As reações anormais que ocorrem após a ingestão de alimentos são denominadas reações adversas a alimentos (RAA). A alergia alimentar é uma RAA que envolve mecanismos imunológicos, resultando em manifestações clínicas como urticária, broncoespasmo e em alguns casos anafilaxia (JACOB; BRANDÃO; BECK, 2010).

As reações alérgicas resultam da produção de anticorpos IgE específicos, a partir da exposição a antígenos. Esses antígenos desencadeiam uma resposta  $T_H2$ , onde as células T alérgeno-específicas desenvolvem-se em células  $T_H2$  com o aumento inicial de IL-4, derivado de um subproduto especializado de células T. As

células  $T_{H2}$  alérgeno-específicas estimulam as células B alérgeno-específicas a produzirem IgE, que se ligam a receptores de alta afinidade para a IgE nos mastócitos, basófilos e eosinófilos ativados. A produção de IgE pode ser amplificada por essas células porque, no momento da ativação, elas produzem IL-4 e expressam CD40L. Quando a IgE é produzida em resposta a um alérgeno, a reexposição ao alérgeno desencadeia uma resposta alérgica (JANEWAY et al., 1999).

A alergia alimentar corresponde às reações imunológicas que podem ser mediadas por IgE (hipersensibilidade imediata) ou não mediadas por IgE. No caso do mecanismo IgE mediado, em pacientes geneticamente predispostos ocorre excessiva produção de anticorpos IgE específicos para um determinado alimento em decorrência da falha no desenvolvimento ou quebra do mecanismo de tolerância oral. Com a sensibilização e formação do IgE específico, ocorre sua ligação com receptores presentes em mastócitos e basófilos. Em um novo contato com o alérgeno, a ligação deste ao IgE que se ligou previamente aos mastócitos e basófilos, promoverá a liberação de mediadores como histamina, prostaglandinas e leucotrienos, que são os responsáveis pelas manifestações clínicas características do processo (Figura 4). O mecanismo não-IgE mediado é possivelmente mediado por células e geralmente se manifesta com sintomas gastrointestinais. O desenvolvimento de tolerância oral depende de fatores relacionados ao indivíduo, ao alérgeno e ao ambiente. A alteração em um desses fatores pode desencadear a alergia alimentar (YANG; POMIECINKI; MORATO-CASTRO, 2010).

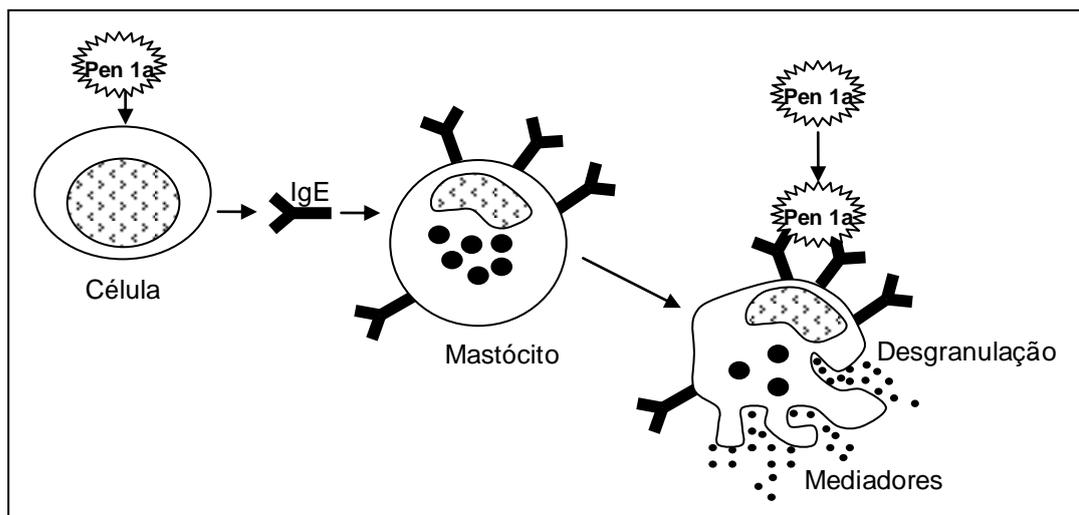


Figura 4 - Passando pela mucosa do trato gastrointestinal, o antígeno (Pen 1a) sensibiliza um linfócito B; este, por sua vez, desencadeia a produção de IgE. A IgE se fixa na superfície dos mastócitos, sensibilizando-os. Uma segunda exposição ao antígeno resulta na formação de ligações entre as moléculas de IgE e desencadeia a desgranulação dos mastócitos e a liberação de substâncias mediadoras que provocam os sintomas característicos da alergia

Observou-se, na última década, aumento considerável nos casos de alergia alimentar em decorrência provavelmente das mudanças no estilo de vida da população e na adoção de novos hábitos alimentares (JACOB; BRANDÃO; BECK, 2010).

Os hábitos alimentares inerentes a diferentes culturas são preponderantes para as manifestações alérgicas, porém estudos vem demonstrando que um grupo de oito alimentos é responsável por 80 a 90% das reações alérgicas. São eles: leite de vaca, ovo, trigo, soja, amendoim, castanhas, peixe e frutos do mar. Desconhece-se a prevalência da alergia alimentar, mas estima-se que afete 4% da população geral, oscilando em adultos entre 1,4 e 4 %, em crianças menores de três anos 6%, acometa 35% de pacientes com dermatite atópica e 6 a 8% das crianças asmáticas (SOLE; CAMELO-NUNES, 2010).

Chen et al. (2011) estimaram a prevalência e as características clínicas da alergia alimentar em bebês chineses. A prevalência geral de alergia alimentar em bebês de 0 a 2 anos de idade foi de 3,8%, com 2,5% e 1,3% de incidência de alergia a ovo e leite de vaca, respectivamente.

No Japão, o alimento mais comumente envolvido em anafilaxia é o leite, seguido por ovos e trigo, enquanto que nos EUA, o amendoim é o alérgeno mais comum, seguido por ovos, frutas, verduras, trigo e leite de vaca (WEISS; MUNOZ-FURLONG; ARBIT, 2004).

Osterballe et al. (2005) investigaram a ocorrência de alergia alimentar em crianças menores de 3 anos, com 3 anos, maiores de 3 anos e em adultos. Dentre a população estudada 16,6% dos indivíduos apresentaram reações alérgicas a alimentos. Os alimentos mais alergênicos foram o ovo de galinha (1,6% das crianças com até 3 anos apresentaram hipersensibilidade) e o amendoim (0,4% dos adultos apresentaram hipersensibilidade). Dos adultos pesquisados, 0,2% apresentaram alergia a bacalhau e 0,3% a camarão.

Estima-se que nos Estados Unidos ocorram cerca de 30 mil reações anafiláticas, 2 mil hospitalizações e 100 a 125 mortes por ano, sendo as reações ao amendoim e amêndoas as principais responsáveis por esses óbitos em decorrência de anafilaxia (SOLE; CAMELO-NUNES, 2010).

Na França as farinhas de amendoim e outras amêndoas, frutos do mar, tremoço e trigo contém os principais alérgenos responsáveis por anafilaxias graves. Na Alemanha, nozes, frutas, leite, vinho e vegetais são os maiores responsáveis por alergias alimentares (MONERET-VAUTRIN et al., 2004).

No Brasil grande parte das pesquisas publicadas sobre alimentos alergênicos referem-se apenas ao papel do leite de vaca como alérgeno alimentar (SOLE; CAMELO-NUNES, 2010).

## **2.4 Alérgeno em camarão**

Sob a definição de pescado, existem diferentes espécies de peixes, crustáceos e moluscos, sendo que muitas delas podem provocar reações alérgicas em seres humanos (LEHRER; AYUSO; REESE, 2003).

A alergia a pescado se manifesta tanto em consumidores como também em manipuladores. A sintomatologia ocorre após a exposição do indivíduo ao pescado e seus derivados. Os principais alérgenos em pescado são glicoproteínas estáveis ao calor (NASCIMENTO; PRADO FILHO; OETTERER, 1997).

A alergia a frutos do mar é muito comum e persistente e é uma importante causa de anafilaxia induzida por alimentos em crianças e adultos. A maioria das crianças alérgicas a frutos do mar têm sensibilidade a alérgenos de ácaros e de baratas (KANDYIL; DAVIS, 2009).

Pacientes com alergia alimentar podem apresentar reações a múltiplos alérgenos. A reatividade cruzada entre alérgenos alimentares, como caranguejo e camarão, foi amplamente demonstrada (YAN; HIROAKI; EINSIN, 2006; KONDO et al., 2005). Kanagawa et al. (2009) observaram que algumas combinações de alimentos alergênicos, como caranguejo-camarão, lula-camarão, camarão-caranguejo e salmão-cavala (*mackerel*), estão fortemente associadas.

De acordo com Jacob, Brandão e Beck (2010), a alergia a frutos do mar afeta 2 a 3% de adultos e aproximadamente 1% de crianças, estando entre as 6 alergias mais prevalentes nesse grupo. Entre os alimentos envolvidos estão peixes vertebrados como salmão, atum e bacalhau, crustáceos como camarões, lagostas, siris e caranguejos, e moluscos como ostras, mexilhões, lulas e polvos. Sendo que o padrão de consumo desses alimentos em diferentes populações influencia diretamente a prevalência dessas alergias alimentares.

Segundo Lopata e Lehrer (2009) na Ásia o pescado é um significativo sensibilizador em até 40% de crianças e 33% dos adultos. De acordo com Rahman et al. (2010), os crustáceos são a terceira causa mais comum de anafilaxia induzida por alimentos, estando apenas atrás de amendoins e nozes, sendo que a gravidade das reações dependem da sequência de aminoácidos que induz a produção de anticorpos IgE.

A alergia a pescado geralmente persiste ao longo da vida do paciente, entretanto o maior reconhecimento de epítomos de alérgenos de camarões por crianças do que por adultos, sugere que a sensibilização a camarão diminui com o aumento da idade (AYUSO et al., 2010).

Alguns indivíduos são alérgicos a um único tipo de peixe ou camarão e outros podem reagir a várias espécies. Jirapongsananuruk et al. (2008) identificaram em crianças, casos específicos de alergenidade a camarão de água salgada (*Penaeus monodon*) e camarão de água doce (*Macrobrachium rosenbergii*).

A identificação dos principais alérgenos é essencial para o diagnóstico e utilização adequada de agentes imunoterapêuticos. A tropomiosina (33-36 kDa) foi identificada como principal alérgeno em frutos do mar, especialmente em crustáceos e moluscos. O camarão é causa frequente de alergia alimentar compartilhando homologia a tropomiosina de outros crustáceos, ácaros, baratas e parasitas (YANG et al., 2010; RAHMAN et al., 2010; DAUL et al., 1994).

Regiões diferentes da tropomiosina de camarão (Pen 1a) ligam-se ao IgE, desencadeando a reação alérgica em indivíduos predispostos. (LEHRER; AYUSO; REESE, 2003; SHIMAKURA et al., 2005; ZHENXING et al., 2007).

Recentemente outros alérgenos como a miosina (*Light Chain*) (20 kDa) e a arginina quinase (40 kDa) também foram identificados como alérgenos em camarões (AYUSO et al., 2008; GARCIA-OROZCO et al., 2007; RAHMAN et al., 2010).

A tropomiosina como alérgeno termoestável mantém sua alergenicidade após o cozimento, enquanto outros alérgenos, pouco estáveis ao calor, podem estar presentes apenas em camarões crus. Essas diferenças podem explicar porque a inalação de vapor do cozimento causa sintomas em alguns pacientes alérgicos, enquanto outros toleram a ingestão de camarões processados térmicamente (LIMA; YANG, 2010).

## **2.5 Diagnósticos *in vitro***

O ensaio imunológico possivelmente mais utilizado é o teste de imunoabsorbância ligada à enzima (ELISA), devido a sua versatilidade, sensibilidade, especificidade e fácil automação. É capaz de detectar se uma proteína específica está presente em uma amostra de soro, ou pode determinar a fração de uma proteína alergênica conhecida que se liga a um anticorpo presente. Neste teste ocorre a sensibilização e imobilização dos antígenos em uma placa de 96 poços, seguidas da incubação do soro do paciente e detecção da interação antígeno-anticorpo. Em um ELISA indireto para a detecção de anticorpos específicos (IgE e IgG), as proteínas alergênicas são imobilizadas na placa, o soro contendo os anticorpos primários é adicionado e, os anticorpos secundários posteriormente acoplados à peroxidase (HRP). Um composto colorido é liberado e pode ser detectado em uma leitora de placas, após o substrato adicionado ser clivado por uma enzima. A intensidade da cor produzida é proporcional à quantidade de anticorpos primários específicos que se ligaram às proteínas imobilizadas na placa (SANTOS; KOKRON; PALMA, 2010).

Ensaio de ELISA podem ser utilizados para a determinação dos níveis de anticorpos IgE específicos para alérgenos de camarão, no soro de pacientes

alérgicos. O método ELISA quimérico, onde um anticorpo quimérico é usado para a construção de uma curva controle, permite a quantificação precisa dos níveis de IgE específica (ICHIKAWA et al., 1999; TROMBONE et al., 2002). Neste teste, o anticorpo monoclonal 1A6 (anti-tropomiosina de invertebrados) é utilizado para quantificar IgE anti-Per a 7 (WITTEMAN et al., 1994; SANTOS et al., 1999).

Testes como o ELISA são úteis para a quantificação dos níveis de antígenos ou anticorpos conhecidos, mas, para identificar e caracterizar bioquimicamente antígenos em misturas complexas, o “imunobloting” é mais indicado (SANTOS et al., 2010; ROITT; BROSTOFF; MALE, 1992).

Nessa técnica o antígeno é separado em um gel analítico ou de focalização isoeletrica. Após a separação das moléculas, estas são transferidas para uma membrana (blot) de nitrocelulose através de eletroforese. O blot é lavado após receber um anticorpo para um antígeno específico. Adiciona-se um conjugado radiomarcado para detectar os anticorpos que ficam ligados (mesmo princípio do ELISA). Após nova lavagem, a membrana é revelada através de um filme de raios X (ROITT; BROSTOFF; MALE, 1992).

A técnica de “imunobloting” mais utilizada é a proposta por Laemmli (1970), onde as proteínas do extrato de camarão são fracionadas por Eletroforese em gel de SDS-policrilamida, usando-se gel de empilhamento de 4,85% e de corrida de 10% de acrilamida.

## **2.6 Irradiação de Alimentos**

A irradiação de alimentos é um processo que utiliza raios eletromagnéticos ou elétrons capazes de preservar por um longo período a qualidade e a segurança dos alimentos. Os alimentos são irradiados através da exposição de forma controlada a uma fonte de radiação ionizante conhecida. São utilizados o Cobalto-60, o Césio-137 (emissores de raios gama) e os geradores de elétrons e raios X. O radionuclídeo mais utilizado nesse processo é o Cobalto-60, produzido a partir do bombardeamento com nêutrons do metal Cobalto-59 em um reator nuclear. O núcleo atômico do Cobalto-60 é altamente instável, desintegrando-se espontaneamente e emitindo raios gama, capazes de penetrar nas embalagens e nos alimentos, sem

deixar resíduos. A energia absorvida pelo alimento durante esse processo é denominada radiação, sendo atualmente expressa em Gray (Gy). Em termos de relações de energia, 1 Gy equivale a 1 Joule (J) de energia absorvida por quilo (kg) de alimento irradiado, sendo que 1 kGy equivale a 1000 Gy. Os principais processos de irradiação de alimentos são: radurização, radiciação e radapertização (OMS, 1995; FAO, 1999; ADA, 1996; FARKAS, 2006).

A radurização ou irradiação com baixa dose (até 1 kGy) reduz a contagem de microorganismos deteriorantes, elimina insetos e ácaros e elimina o brotamento de bulbos e tubérculos. A radiciação ou irradiação de dose média (1 a 10 kGy) elimina microorganismos patogênicos não formadores de esporos. A radapertização ou radiação de alta dose (acima de 10 kGy), proporciona resultados que se assemelham ao processo de esterilização comercial, eliminando microorganismos patogênicos formadores de esporos (ARTHUR, 1997; FAO, 1999; SPOTO, 2007).

Em 37 países, mais de 40 produtos alimentícios são irradiados e em alguns países europeus, a irradiação tem sido usada por décadas. Em 2005 foram irradiados cerca de 405.000 toneladas de alimentos, 46% para desinfecção de especiarias e legumes desidratados, 20% para desinfecção de grãos e frutas, 8% para desinfecção de carnes e peixes, 22% para inibir a germinação de alho e batata e 4% para desinfecção de outros alimentos, como cogumelos e mel (KUME et al., 2009).

A irradiação de alimentos é endossada pela Organização Mundial de Saúde, pela Associação Médica Americana e muitas outras entidades (FAO, 1999; USFDA, 2009). A Food & Drug Administration (USFDA), desde 1963, considera a irradiação de alimentos um processo seguro e uma ferramenta importante para a prevenção de intoxicações e infecções alimentares, aprovando a irradiação de carne e aves e permitindo seu uso para uma variedade de outros alimentos. O FDA aprovou a irradiação de carnes vermelhas, em 1997, depois de analisar vários estudos científicos realizados em todo o mundo. Outros exemplos de alimentos que podem ser irradiados incluem especiarias, aves e moluscos (como ostras, mariscos, mexilhões e vieiras) (Tabela 2). Segundo o FDA, o processo de irradiação reduz ou elimina microorganismos patogênicos, deteriorantes, insetos e parasitas, e, em algumas frutas e legumes, é capaz de inibir o brotamento e retardar o amadurecimento (OMS, 1995; SATIN, 1997; USFDA, 2008; 2012).

Tabela 2 - Alimentos permitidos para serem irradiados de acordo com o FDA

<b>Alimento</b>	<b>Propósito</b>	<b>Dose (kGy)</b>
Carne suína fresca, não aquecida	Controle de <i>Trichinella spiralis</i>	0,3 min. 1 max.
Alimentos frescos	Inibição de crescimento e maturação	1 max.
Alimentos	Desinfecção de artrópodes	1 max.
Preparações enzimáticas secas ou desidratadas	Desinfecção microbiana	10 max.
Temperos secos ou desidratados	Desinfecção microbiana	30 max.
Produtos avícolas frescos ou congelados, não cozidos	Controle de patógenos	3 max.
Carnes empacotadas congeladas (apenas para a NASA)	Esterilização	44 min.
Produtos de carne crua refrigerados	Controle de patógenos	4,5 max.
Produtos à base de carne, crus e congelados	Controle de patógenos	7 max.
Ovos frescos com casca	Controle de <i>Salmonella</i>	3 max.
Sementes para brotação	Controle de patógenos	8 max.
Moluscos frescos ou congelados	Controle espécies de <i>Vibrio</i> e outros agentes patogénicos de origem alimentar	5,5 max.
Alface e espinafre frescos	Controle de patógenos causadores, e extensão de vida de prateleira	4,0 max.

FDA, 2009

Na União Européia, a Directiva 1999/2/CE aborda as questões legislativas sobre alimentos e ingredientes tratados com radiação ionizante. A diretiva prevê uma série de especificações relativas às radiações ionizantes, que incluem o controle dos níveis de radiação permitida e os requisitos para a rotulagem do alimento. São também especificadas as condições de importação dos alimentos irradiados. Os países membros da União Européia, através do Conselho e do Parlamento Europeu aprovam a irradiação de ervas aromáticas desidratadas, especiarias e condimentos vegetais. Alguns países, como Bélgica, França e Holanda, são autorizados a tratar com radiação ionizante alimentos como peixes, crustáceos e moluscos, entre outros (PARLAMENTO EUROPEU, 2004; FOOD SAFETY, 2012).

A irradiação de alimentos é cada vez mais aceita nos países que compõem a região Pacífico-asiática. Para atender às crescentes exigências sanitárias e fitossanitárias do comércio internacional, 13 países, entre eles China, Malásia, Índia, Austrália e Nova Zelândia, desejam regulamentar a irradiação de alimentos de acordo com o *Codex Alimentarius Commission/FAO/OMS*. Na Austrália e Nova

Zelândia o *Food Standards Australia New Zealand* (FSANZ) regulamenta a irradiação de alimentos. Nesses países, ervas, especiarias e frutas tropicais podem ser irradiadas. A Malásia aprovou a irradiação como tratamento para mangas australianas, estabelecendo 300 Gy como sendo a dose mínima exigida para o controle de insetos e pragas. Em 2009 e 2010, a Austrália exportou 263 toneladas de mangas irradiadas para a Malásia. O resultado esperado com a adoção dessas medidas é um provável aumento no volume de alimentos irradiados na região Pacífico-asiática (LUCKMAN, 2002; FSANZ, 2011).

Na América do Sul, Brasil, Argentina e Chile possuem legislação para irradiação de alimentos (OLIVEIRA, 2000). De acordo com a legislação brasileira vigente, através da resolução ANVISA RDC 21/01, qualquer alimento pode ser tratado por radiação ionizante desde que a dose mínima absorvida seja suficiente para alcançar a finalidade pretendida e que a dose máxima absorvida seja inferior àquela capaz de comprometer as propriedades funcionais e ou atributos sensoriais do alimento (BRASIL, 2001). No Brasil são irradiados condimentos, em especial os que compõem formulações de grandes indústrias alimentícias.

Fatores econômicos e sociais como custo, disponibilidade, hábitos alimentares e outros fatores como legislação, aumento de refeições feitas fora de casa e o emprego de novas tecnologias, exercem influência sobre a escolha do consumidor. Em estudo conduzido por Ornellas et al. (2006), observou-se que 59,6% dos consumidores desconhecem que a irradiação é um método de conservação de alimentos e não sabem responder se consomem produtos irradiados, 16% acreditam que alimentos irradiados significam o mesmo que alimentos radioativos e 89% consumiriam alimentos irradiados se soubessem que a irradiação aumenta a segurança alimentar.

## **2.7 Efeito da radiação ionizante nos alimentos**

A radiação ionizante provoca alterações mínimas à composição química dos alimentos. Muitas dessas mudanças são semelhantes às formadas quando o alimento é submetido ao tratamento térmico ou de desidratação. A radiação gama, dependendo da dose, destrói contaminantes microbianos, incluindo os

microrganismos de decomposição, aumentando a vida útil do pescado, diminuindo os riscos à saúde humana (CHOULIARA et al., 2004; WANG et al., 2009; ABREU et al., 2009, ABREU et al., 2010). O  $^{60}\text{Co}$  produz raios gama que agem no DNA de parasitas e microrganismos (LACROIX; QUATTARA, 2000). Alterações na composição e população microbiana e parasitária dependem da dose de radiação, estocagem, temperatura, condições de embalagem e espécie de pescado. A radiólise pode causar a fragmentação e agregação de proteínas e a inativação de enzimas (ÖZDEN; INUGUR; ERKAN, 2007).

Camarões (*Penaeus monodon*) pré-cozidos, congelados e irradiados com 1,8 a 3,6 kGy, tiveram seu tempo de armazenamento baseado na quantificação de microorganismo mesófilos, estendido de 33 para 47 dias. Testes hedônicos demonstraram que os camarões irradiados mantiveram-se aceitáveis durante todo esse período (LACROIX et al., 1995).

Abreu et al. (2009) avaliaram os efeitos da radiação gama (2, 4 e 6 kGy) em camarões congelados (*Penaeus vannamei*) e embalados após inoculação de *Vibrio cholerae* O1 e *Salmonella*. A dose de 6 kGy inibiu os microorganismos inoculados e reduziu a oxidação lipídica durante o armazenamento. A textura do camarão não foi afetada pelas diferentes doses de radiação estudadas. A aceitação dos camarões irradiados com 6 kGy foi menor quando comparada aos resultados obtidos pelos camarões não irradiados e os irradiados com 2 kGy.

A oxidação lipídica é uma importante deterioração em pescado, definindo sua vida útil à medida que gera produtos indesejáveis e destrói vitaminas lipossolúveis e ácidos graxos essenciais (RAHARJO; SOFOS; SCHMIDT, 1992; TARLADGIS et al., 1960). É responsável pela incidência de “off-flavor”, “off-odor” e “warmed-over flavor” relacionados à oxidação lipídica em carnes (FERNÁNDEZ; PÉREZ-ÁLVAREZ; FERNÁNDEZ-LÓPES, 1997). O teste de rancidez oxidativa através de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBA) é um indicador de produtos secundários formados durante o processo oxidativo, quantificando o malonaldeído, um dos principais produtos de decomposição dos hidroperóxidos de ácidos graxos poliinsaturados (YERLIKAYA; GOKOGLU, 2010; RAHARJO; SOFOS; SCHMIDT, 1992; TARLADGIS et al., 1960). Níveis de TBARS mais elevados em amostras irradiadas em relação ao controle são reportados por diversos autores (ABREU et al., 2010; CHOULIARA et al., 2004; COZZO et al., 2003;

JEEVANANDAM, et al., 2001). Isso ocorre em função da formação de altas concentrações de radicais livres no substrato irradiado (CHOULIARA et al., 2004).

Normalmente são encontrados óxidos de colesterol em alimentos ricos em colesterol, como é o caso de camarões. Entre os fatores que normalmente ocasionam a formação dessas substâncias, está a radiação (SAVAGE; DUTTA; RODRIGUEZ-ESTRADA, 2002).

Apesar de se observar aumento dos valores dos ácidos mirístico e palmítico com as doses de 4 e 6 kGy e 2 e 6 kGy respectivamente, em comparação com a amostras não irradiadas, a irradiação em doses de até 6 kGy não afetou negativamente o perfil de ácidos graxos, o nível de colesterol e a estabilidade dos lipídeos e da cor de caudas de camarão (*Penaeus vannamei*) congeladas (ABREU et al., 2010).

Foram investigadas mudanças microbiológicas, físico-químicas e sensoriais em camarões (*Penaeus vannamei*) fritos e irradiados com 1, 3, 6 e 9 kGy. A dose de 6 kGy eliminou microrganismos deteriorantes sem afetar a qualidade sensorial do produto. Quanto aos parâmetros de cor, os valores de  $L^*$  aumentaram, enquanto valores de  $a^*$  decresceram com o aumento da doses de radiação. A irradiação não exerceu efeito significativo na textura do produto, no entanto a dose de 9 kGy ocasionou o aumento de componentes voláteis como alcoóis, cetonas, aldeídos, furans e óxidos. De acordo com a análise sensorial, os camarões irradiados até 6 kGy foram considerados aceitáveis para o consumo. Considerou-se a dose de 6 kGy adequada para a extensão da vida útil de camarões fritos (WANG et al., 2009).

Filés de salmão fresco (*Salmo salar*) foram tratados com diferentes doses de radiação (1; 1,5; 2 e 3 kGy) e estocados a 4° C por 6 dias. A cor (valores de  $a^*$ ) do salmão foi relacionada com o conteúdo de astaxantina, que decresceu com o aumento das doses de radiação. A dose de 1 kGy não causou modificações significativas na cor e nos níveis de astaxantina dos filés de salmão tratados (YAGIZA et al., 2010).

Sinanoglu et al. (2007) estudaram os efeitos da radiação gama (2,5 e 4,7 kGy) em moluscos (lulas e polvos) e crustáceos (camarões). A irradiação de camarão e lula com 2,5 ou 4,7 kGy reduziu a contaminação por bactérias mesófilas para níveis baixos ou não-detectável. A radiação gama não teve efeito significativo ( $P > 0,05$ ) no teor de lipídeos totais, ácidos graxos totais e  $\omega 3$  e  $\omega 6$ .

Segundo Uttara, Sabato e Lacroix (2001), a tecnologia de irradiação inibe bactérias aeróbicas, incluindo *P. Putida* e, como resultado, estende a vida útil de camarões (*Penaeus ssp*) cozidos, por 5 dias e por 11 dias, quando associada a uma cobertura à base de óleos essenciais.

Peixes (*Dicentrarchus labrax*) foram irradiados com Cobalto-60 (2,5 e 5 kGy) e armazenados de 2 a 4 °C. Foram encontradas diferenças significativas entre peixes não irradiados e irradiados quanto à umidade, proteína, gordura, cinzas e conteúdo de carboidratos. Observou-se aumento do total de ácidos graxos saturados, monoinsaturados e poliinsaturados em amostras irradiadas (ÖZDEN; ERKAN; 2010).

O efeito da radiação gama (1, 3 e 5 kGy) na qualidade microbiológica de filés de truta arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*) congelados (-20° C) foi estudado durante cinco meses. A radiação gama e o aumento do tempo de estocagem exerceram efeito significativo ( $P < 0,05$ ) na redução da população de microorganismos. A menor carga microbiana observada ao final do quinto mês de estocagem corresponde a amostras irradiadas com 3 kGy (2 Log CFC / g) (ORAEI et al., 2011).

## 2.8 Aplicação da radiação na inibição de alergia alimentar

Jankiewicz et al. (1997) estudaram a influência do processamento de alimentos sobre a estabilidade imunoquímica de alérgenos de aipo. Raízes de aipo foram processadas por irradiação, aquecimento em microondas, cozimento, secagem, alta pressão e impulso de alta tensão. A estabilidade imunoquímica de três conhecidos alérgenos de aipo foi testada com soros de pacientes alérgicos a aipo. Foram também utilizados anti-soros de coelho para detecção dos alérgenos profilina e Api g 1 através de “imunoblots”. A especificidade e reatividade de IgE do soro de pacientes foram investigados através de “imunoblotting”, teste imunológico EAST e por inibição de anticorpos IgE. Os três métodos indicaram a redução da reatividade alérgica do aipo através dos processos térmicos. O calor diminuiu a estabilidade dos alérgenos de aipo na seguinte ordem: epítopes de carboidratos > profilina > Api g 1. Em contraste, a alergenicidade foi apenas levemente reduzida pelos processos não-térmicos, incluindo o tratamento por radiação gama (10 kGy).

Sementes de castanha de caju foram submetidas a radiação gama, (1, 5, 10 e 25 kGy), autoclavagem (121 ° C por 5, 10, 20 e 30 min), branqueamento (100 ° C por 1, 4, 7 e 10 min), aquecimento em microondas (1 e 2 min cada em 500 e 100 W), tratamento térmico (140 ° C por 20 e 30 min; 170 ° C por 15 e 20 min; e 200 ° C por 10 e 15 min), e pH (1, 3, 5, 7, 9, 11 e 13). Utilizou-se para determinar a estabilidade dos alérgenos, anticorpos policlonais de coelhos e anticorpos monoclonais de ratos. Os resultados observados indicaram que Ana o 1, Ana o 2, e Ana o 3, principais alérgenos de castanha de caju, são estáveis, independentemente do método de processamento utilizado (VENKATACHALAM et al., 2008).

Técnicas de processamento de alimentos podem modificar proteínas alergênicas em pescado. Foram identificados mais de 100 alérgenos em peixes, mas conhece-se pouco sobre o efeito do processamento na sua reatividade alergênica. De acordo com Sletten et al. (2010), as mudanças na alergenicidade de um produto podem depender do efeito do processamento sobre os padrões de oligomerização da parvalbumina, que também pode variar em diferentes espécies de peixes.

Muitos pacientes alérgicos a camarões apresentam IgE específico para a tropomiosina, que, quando degradada em fragmentos peptídicos, pode ligar-se ao IgE através de epítopes. A irradiação pode ocasionar agregação de aminoácidos livres e proteínas, alterando os epítopes, gerando o não-reconhecimento da proteína pelos anticorpos IgE. (LACROIX; JOBIN; MEZGHENI, 1998, BYUN et al., 2002). A alergenicidade pode decrescer ou aumentar em alimentos processados com a destruição ou com a formação de novos epítopes (BESLER et al., 2001). O decréscimo da reatividade alergênica é mensurada com base na inibição do IgE pelas proteínas alergênicas presentes na amostra. A radiação gama pode ocasionar danos a proteínas, através da formação de radicais livres durante radiólise da água.

Byun et al. (2002) avaliaram a aplicação da irradiação de alimentos como método para a redução de alergias alimentares. Foram utilizadas beta-lactoglobulina do leite de vaca, albumina de ovo de galinha e tropomiosina de camarão, como modelos de alérgenos alimentares. Os resultados desse estudo demonstraram que a radiação gama, dependendo da dose, é capaz de reduzir a alergenicidade dos alimentos. Em outro experimento (BYUN et al., 2000), foi avaliada a performance da irradiação de alimentos como método para a redução da reatividade alergênica a camarões. A proteína isolada de camarões e camarões frescos foram irradiados com doses de 1, 3, 5, 7 e 10 kGy. Observou-se que a habilidade da imunoglobulina E em

ligar-se ao alérgeno do camarão irradiado decresce de acordo com o aumento da dose de radiação gama aplicada. Lee et al. (2005) também reportaram o efeito positivo da radiação gama na redução das propriedades alergênicas da albumina de ovo em bolos confeccionados com ovos irradiados.

Proteínas alergênicas não foram alteradas com a dose de radiação gama de 1,25 kGy em tomates cereja irradiados, apesar de essa exercer efeito positivo na redução da população de *Listeria monocytogenes*, previamente inoculada (TODORIKI et al., 2009). Silva et al. (2006), embora tenham observado através de SDS-PAGE e Urea IEF (CleanGel) pequenas alterações na estrutura protéica de peixe (*Trachurus trachuru*) irradiado (1,5 e 10 kGy) e armazenamento em gelo, essas não se mostraram significativas. Já o conteúdo de tropomiosina em moluscos e camarões irradiados foi reduzido pelo uso da radiação gama (2,5 e 4,7 kGy). Nesse trabalho, a dose 4,5 kGy inativou completamente os alérgenos, promovendo o aumento da segurança e manutenção da qualidade do produto (SINANOGLU et al., 2007).

Zhenxing et al. (2007) compararam o efeito da radiação gama (3 a 15 kGy) em extratos e músculo de camarão (*Penaeus vannamei*). Os resultados encontrados por esses autores sugerem que em extratos protéicos irradiados há o decréscimo da alergenicidade com o aumento da dose de radiação. Entretanto, nesse mesmo experimento, músculos de camarões irradiados exibiram aumento na alergenicidade com doses de radiação inferiores a 5 kGy, tendendo a decréscimo quando a dose excedeu 10 kGy. Leszcznska et al. (2003) estudaram a influência da radiação gama (2,2 a 12,8 kGy) sobre a imunorreatividade de gliadina e farinha de trigo. Nesse experimento, também se observou maior imunoreatividade com o aumento das doses de radiação.

Lee et al. (2007) compararam diferentes tipos de radiação (raios gama e elétrons acelerados) para a inativação ou redução da alergia à albumina de ovo de galinha (OVA). Através de SDS-PAGE e “imunobloting”, observaram que as bandas OVA desapareceram de acordo com a dose e não com o tipo de radiação. O mesmo efeito da radiação não foi observado por Harder (2009), através de teste ELISA e anticorpos policlonais, onde as doses de irradiação de 10, 20 e 30 kGy em ovos, não foram eficientes no controle do alérgeno ovomucóide.

Estudos recentes apontam a possibilidade de haver um novo emprego da irradiação de alimentos relacionada à alergia alimentar (SEO et al., 2007; OH et al., 2009). Os métodos para o tratamento de respostas alérgicas incluem inibição de células  $T_H2$  por citocinas do tipo  $T_H1$  ou CpG oligodeoxynucleotídeos, imunoterapia e uso de antihistamínicos como os glucocorticóides. Esses têm sido usados de forma clínica e experimental, sendo que a supressão da ativação das células  $T_H2$  e citocinas induzem a inibição de respostas alérgicas (BARNES, 1999; EPSTEIN, 2006). Na imunoterapia com alergênicos utilizam-se extratos de alérgenos e alérgenos modificados, incluindo peptídeos, alérgenos polimerizados ou vacinas de DNA de alérgenos (HAYGLASS; STEFURA, 1991; LARCHE; WRAITH, 2005; LI et al., 2005; EPSTEIN, 2006). Seo et al. (2007) relataram que a ovalbumina (OVA), uma das principais proteínas alergênicas em ovos, quando irradiada (50 a 100 kGy), reduz IgE e citocinas (ILs-4 e -5) que estão relacionadas com a resposta imune  $T_H2$  em camundongos OVA-alérgicos. Esses resultados sugerem que alérgenos modificados pela radiação gama podem suprimir o  $T_H2$  dominante. Oh et al. (2009) avaliaram a redução da alergenicidade de extrato de amendoim irradiado (10 e 50 kGy) usando ratos sensibilizados. Esses autores concluíram que o extrato de amendoim irradiado reduz citocinas (IL-4) relacionadas com a resposta imune  $T_H2$  em ratos sensibilizados. Esses resultados são preliminares, mas sugerem que alérgenos de amendoim e ovos modificados pela radiação gama podem ser empregados como imunógenos.

## Referências

ABREU, V.K.G.; PEREIRA, A.L.F.; VIDAL, T.F.; ZAPATA, J.F.F.; SOUZA-NETO, M.A.; FREITAS, E.R. Fatty acids, cholesterol, oxidative rancidity, and color of irradiated shrimp. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 30, n. 4, p. 969-973, 2010.

ABREU, V.K.G.; ZAPATA, J.F.F.; FIGUEIREDO, E.A.T.; GARRUTI, D.S.; FREITAS, E.R.; PEREIRA, A.L.F.; BRAGA, A.R.C. Gamma irradiation on frozen and packaged headed shrimp. **Journal of Food Quality**, Westport, v. 32, p. 425-435, 2009.

AKON, C.C. **Handbook of functional lipids**. Boca Raton: Taylor & Francis Group, 2006. 525 p.

AMERICAN DIETETIC ASSOCIATION - ADA. Position of the American Dietetic Association: food irradiation. **Journal of the American Dietetic Association**, Chicago, v. 96, n. 1, p. 69-72, 1996.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE CRIADORES DE CAMARÃO - ABCC. **Balança Comercial de Pescado 2011**. Natal, RN, 2012. Disponível em: <http://www.abccam.com.br/abcc/images/stories/balana%20comercial%20-%20ano%202011.pdf>. Acesso em: 8 mar. 2012.

ARTHUR, V. Controle de insetos pragas por radiações ionizantes. **O Biológico**, São Paulo, v. 59, n. 1, p. 77-79, 1997.

AYUSO, R.; GRISHINA, G.; BARDINA, L.; CARRILLO, T.; BLANCO, C.; IBÁÑEZ, M.D.; SAMPSON, H.A.; BEYER, K. Myosin Light Chain is a novel shrimp allergen, Lit v 3. **Journal of the Allergy and Clinical Immunology**, St. Louis, v. 122, n. 4, p. 795-802, 2008.

AYUSO, R.; SÁNCHEZ-GARCIA, S.; LIN, J.; FU, Z.; IBÁÑEZ, M.D.; CARRILLO, T.; BLANCO, C.; GOLDIS, M.; BARDINA, L.; SASTTRE, J.; SAMPSON, H.A. Greater epitope recognition of shrimp allergens by children than by adults suggest that shrimp sensitization decreases with age. **Journal Allergy and Clinical Immunology**, St. Louis, v. 125, n. 6, p. 1286-1293, 2010.

BARNES, P.J. Therapeutic strategies for allergic disease. **Nature**, London, v. 402, p. B31-B38, 1999.

BERRAZUETA, J.M.G.; BERRAZUETA, J.R. Consumo de pescado, Omega- 3 y factores de riesgo cardiovascular. **Revista de la Facultad de Medicina**, Bogotá, v. 15, n. 2, p. 218-224, 2007.

BESLER, M.; STEINHART, H.; PASCHKE, A. Stability of food allergens and allergenicity of processed foods. **Journal Chromatography B**, Amsterdam, v. 756, p. 207-228, 2001.

BRADFORD, M.M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, New York, v. 72, p. 248-254, 1976.

BRAGAGNOLO, N.; RODRIGUEZ-AMAYA, D.B. Total lipid, cholesterol, and fatty acids of farmed freshwater prawn (*Macrobrachium rosenbergii*) and wild marine shrimp (*Penaeus brasiliensis*, *Penaeus schimitti*, *Xiphopenaeus kroyeri*). **Journal of Food Composition and Analysis**, San Diego, v. 14, p. 359-369, 1997.

BRASIL. Ministério da Pesca e Aqüicultura. **Consumo de peixe no Brasil se aproxima do ideal estipulado pela OMS**. Brasília, DF, 2010. Disponível em: <http://blog.planalto.gov.br/consumo-de-peixe-no-brasil-se-aproxima-do-ideal-estipulado-pela-oms/>. Acesso em: 16 Mar. 2012.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência nacional da Vigilância Sanitária. Resolução nº 21, de 26 de Janeiro de 2001. Regulamento técnico para irradiação de alimentos. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 21 jan. 2001. Disponível em: [http://www.anvisa.gov.br/legis/resol/21\\_01rdc.htm](http://www.anvisa.gov.br/legis/resol/21_01rdc.htm). Acesso em: 21 mar. 2012.

BYUN, M.W.; LEE, J.W.; YOON, H.S.; JO, C.R.; KIM, H.Y. Application of gamma irradiation for inhibition of food allergy. **Radiation Physics and Chemistry**, Oxford, v. 63, n. 3-6, p. 369-370, 2002.

BYUN, M.W.; KIM, J.H.; LEE, J.W.; PARK, J.W.; HONG, C.S.; KANG, I.J. Effects of gamma radiation on the conformational and antigenic properties of a heat-stable major allergen in brown shrimp. **Journal of Food Protection**, Ames, v. 63, n. 7, p. 940-944, 2000.

BESLER, M.; STEINHART, H.; PASCHKE, A. Stability of food allergens and allergenicity of processed foods. **Journal Chromatography B**, Amsterdam, v. 756, p. 207-228, 2001.

CHEN, J.; HU, Y.; ALLEN, K.J.; HO, M.H.K.; LI, H. The prevalence of food allergy in infants in Chongqing, China. **Pediatric Allergy and Immunology**, Copenhagen, v. 22, p. 356-360, 2011.

CHOULIARA, I.; SAVVAIDIS, I.N.; PANAGIOLAKIS, N.; KONTOMINAS, M.G. Preservation of salted, vacuum-packaged, refrigerated sea bream (*Sparus aurata*) fillets by irradiation: microbiological, chemical and sensory attributes. **Food Microbiology**, London, v. 21, p. 351-359, 2004.

COZZO, A.Z.; OETTERER, M.; GALLO, C.R. Effects of irradiation and refrigeration on the nutrients and shelf-life of tilapia (*Oreochromis niloticus*). **Journal of Aquatic Food Product Technology**, London, v. 12, n. 3, p. 85-102, 2003.

DAUL, C.B.; SLATTERY, M.M.; REESE, G.; LEHRER, S.B. Identification of the major brown shrimp (*Penaeus aztecus*) allergen as the muscle protein tropomyosin. **International Archives of Allergy and Immunology**, Basel, v. 105, p. 49-55, 1994.

ELDERFIELD, A.J.; SCHUURMAN, J.; AALBERSE, R.; SMITH, A.; WOODCOCK, A.; CHAPMAN, M.D. Absolute quantitation of mite allergen-specific IgE antibody levels by ELISA using a chimeric mouse Fab/human Fc epsilon antibody to Der p 2 [abstract]. **Journal of Allergy and Clinical Immunology**, St. Louis, v. 97, p. 301, 1996.

EPSTEIN, M.M. Targeting memory Th2 cells for the treatment of allergic asthma. **Pharmacology and Therapeutics**, New York, v. 109, p. 107-136, 2006.

FAO. **Fatos sobre irradiação de alimentos**. Série de fichas descritivas do grupo consultivo Internacional sobre Irradiação de Alimentos (ICGFI). Vienna: Joint FAOWHO, 1999. 48 p.

FAO. **Fishery and Aquaculture Statistics**. Rome, 2008. Disponível em: <http://www.fao.org/docrep/013/i1890t/i1890t.pdf>. Acesso em: 14 out. 2011.

FAO. **World review of fisheries and aquaculture 2010**. Rome, 2010a. 197 p. Disponível em: <<http://www.fao.org/docrep/013/i1820e/i1820e.pdf>>. Acesso em: 23 mar. 2012.

FAO. **Joint FAO/WHO Expert consultation on the risks and benefits of fish consumption**. Executive summary. Rome, 2010b. Disponível em: <[ftp://ftp.fao.org/FI/DOCUMENT/risk\\_consumption/executive\\_summary.pdf](ftp://ftp.fao.org/FI/DOCUMENT/risk_consumption/executive_summary.pdf)>. Acesso em: 23 mar. 2012.

FAO. **FAOSTAT - Statistics Division 2012**. Fishery Statistical Collections Consumption of Fish and Fishery Products. Rome, 2012. Disponível em: <<http://www.fao.org/fishery/statistics/global-consumption/en>>. Acesso em: 16 mar. 2012.

FARKAS, J. Irradiation for better foods. **Trends in Food Science & Technology**, Amsterdam, v. 17, p. 148-152, 2006.

FERNÁNDEZ, J.; PÉREZ-ÁLVAREZ, J.A.; FERNÁNDEZ-LÓPES, J.A. Thiobarbituric acid test for monitoring lipid oxidation in meat. **Food Chemistry**, Barking, v. 59, n. 3, p. 345-353, 1997.

FOOD SAFETY – FROM THE FARM TO THE FORK, 2012. **Food irradiation – Community Legislation**. Paris: European Commission, Disponível em: <[http://ec.europa.eu/food/food/biosafety/irradiation/comm\\_legisl\\_en.htm](http://ec.europa.eu/food/food/biosafety/irradiation/comm_legisl_en.htm)>. Acesso em 29 Mar. 2012.

FOOD STANDARDS AUSTRALIA NEW ZELAND – FSANZ. **Food irradiation**. Consumer information. Canberra, 2011. Disponível em: <<http://www.foodstandards.gov.au/consumerinformation/foodirradiation.cfm>>. Acesso em: 29 mar. 2012.

GARCÍA-OROZCO, K.D.; AISPURO-HERNÁNDEZ E.; YEPIZ-PLASCENCIA G.; CALDERÓN-DE-LA-BARCA, A.M.; SOTELO-MUNDO, R.R. Molecular characterization of arginine kinase, an allergen from the shrimp *Litopenaeus vannamei*. **International Archives of Allergy and Immunology**, Basel, v. 144, n. 1, p. 23-28, 2007.

HARDER, M.N.C. **Efeito da radiação gama em proteína alergênica de ovos de galinha poedeira**. 2009. 61 p. Tese (Doutorado em Ciências) – Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2009.

HAYGLASS, K.T.; STEFURA, W.P. Antigen-specific inhibition of ongoing murine IgE response. II. Inhibition of IgE responses induced by treatment with glutaraldehyde-modified allergens is paralleled by reciprocal increases in IgG2a synthesis. **Journal of Immunology**, Baltimore, v. 147, p. 2455-2460, 1991.

HEINZELMAN, K.; FRANKE, K.; JENSEN, B.; HAAHR, AM. Protection of fish oil from oxidation by microencapsulation using freeze-drying techniques. **European Journal Lipid Science and Technology**, Weinheim, v. 102, n. 2, p. 114-121, 2000.

ICHIKAWA, K.; IWASAKI, E.; BABA, M.; CHAPMAN, M.D. High prevalence of sensitization to cat allergen among Japanese children with asthma, living without cats. **Clinical and Experimental Allergy**, Oxford, v. 29, p. 754-61, 1999.

JACOB, C.M.A. Alergia alimentar: definição. In: MORATO-CASTRO, F.F.; JACOB, C.M.A.; MOSCHIONE-CASTRO, A.P.B.; YANG, A.C. **Alergia alimentar**. Barueri: Editora Phadia Manole, 2010. cap. 1, p. 1-4.

JACOB, C.M.A.; BRANDÃO, A.C.; BECK, C.M. História natural da alergia alimentar. In: MORATO-CASTRO, F.F.; JACOB, C.M.A.; MOSCHIONE-CASTRO, A.P.B.; YANG, A.C. **Alergia alimentar**. Barueri: Editora Phadia Manole, 2010. cap. 7, p. 75-85.

JANEWAY, C.A.; TRAVERS, P.; WALPORT, M.; CAPRA, J.D. **Imunologia**: Os sistemas imunológicos na saúde e na doença. 4. ed. Porto Alegre: Artmed, 1999. 634 p.

JANKIEWICZ, A.; BALTES, W.; BÖGL, K.W.; DEHNE, L.I.; JAMIN, A.; HOFFMANN, A.; HAUSTEIN, D.; VIETHS, S. Influence of food processing on the immunochemical stability of celery allergens. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, London, v. 75, p. 359-370, 1997.

KANDRYIL, R.M.; DAVIS, C.M. Shellfish allergy in children. **Pediatric Allergy and Immunology**, Copenhagen, v. 20, p. 408-414, 2009.

JEEVANDAM, K.; KAKATKAR, A.; DOKE, S.N.; BONGIRWAR, D.R.; VENUGOPAL, V. Influence of salting and gamma irradiation on the shelf-life extension of threadfin bream in ice. **Food Research International**, Essex, v. 34, p. 730-746, 2001.

JEEVANDAM, K.; KAKATKAR, A.; DOKE, S.N.; BONGIRWAR, D.R.; KANDYIL, R.M.; DAVIS, C.M. Shellfish allergy in children. **Pediatric Allergy and Immunology**, Copenhagen, v. 20, p. 408-414, 2009.

JIRAPONGSANANURUK, O.; SRIPRAMONG, C.; PACHARN, P.; CHINRATANAPISIT, S.; PIBOONPOCANUN, S.; VISITSUNTHORN, N. Specific allergy to *Penaeus monodon* (seawater shrimp) or *macrobrachium rosenbergii* (freshwater shrimp) in shrimp-allergic children. **Clinical and Experimental Allergy**, Oxford, v. 38, p. 1038-1047, 2008.

KANAGAWA, Y.; MATSUMOTO, S.; KOIKE, S.; IMAMURA, T. Association analysis of food allergens. **Pediatric Allergy and Immunology**, Copenhagen, v. 20, n. 4, p. 347-352, 2009.

KANDYIL, R.M.; DAVIS, C.M. Shellfish allergy in children. **Pediatric Allergy and Immunology**, Copenhagen, v. 20, n. 5, p. 408-14, 2009.

KONDO, Y.; KAKAMI, M. KOYAMA, H.; YASUDA, T.; NAKAJIMA, Y.; Kawamura, M.; TOKUDA, R.; TSUGE, I.; URISU, A. IgE cross-reactivity between Fish Roe (Salmon, herring and Pollock) and chicken egg in patients anaphylactic to Salmon Roe. **Allergology International**, Tokyo, v. 54, p. 317-323, 2005.

KIRZYNOWEK, J.; PANUZIO, L.J. Cholesterol and fatty acids in several species of shrimp. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 54, p. 237-239, 1989.

KUME, T.; FURUTA, M.; TODIRIKI, S.; VENOYAMA, N.; KOBAYASHI, Y. Status of food irradiation in the world. **Radiation Physics and Chemistry**, Oxford, v. 78, n. 3, p. 222-229, 2009.

LACROIX, M.; OUATTARA, B. Combined industrial processes with irradiation to assure innocuity and preservation of food products - a review. **Food Research International**, Essex, v. 33, n. 9, p. 719-724, 2000.

LACROIX, M.L.; JOBIN, M.; LATREILLE, B.; NOUCHPRAMOOL, K.; GAGNON, M. the effect of gamma irradiation on physical and nutritional quality of *Penaeus monodon* shrimps. **Radiation Physics and Chemistry**, Oxford, v. 4, n. 6, p. 731-737, 1995.

LACROCROIX, M.; JOBIN, M.; MEZGHENI, M. Polymerization of calcium caseinates solutions induced by gamma irradiation. **Radiation Physics and Chemistry**, Oxford, v. 52, p. 1-6, 1998.

LAEMMLI, E.K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. **Nature**, London, v. 227, p. 680-685, 1970.

LARCHE, M.; WRAITH, D.C. Peptide-based therapeutic vaccines for allergic and autoimmune diseases. **Nature Medicine**, New York, v. 11, p. S69-S76, 2005.

LEE, J.W.; SEO, J.H.; KIM, J.H.; LEE, S.Y.; KIM, K.S.; BYUN, M.W. Changes of the antigenic and allergenic properties of a hen's egg albumin in a cake with gamma-irradiated egg white. **Radiation Physics and Chemistry**, Oxford, v. 72, p. 645-650, 2005.

LEE, J.W.; SEO, J.H.; KIM, J.H.; LEE, S.Y.L.; BYUN, M.W. Comparison of changes of the antigenicities of a hen's egg albumin by a gamma and an electron beam irradiation. **Radiation Physics and Chemistry**, Oxford, v. 76, p. 879-885, 2007.

LEHRER, S.B.; AYUSO, R.; REESE, G. Seafood allergy and allergens: a review. **Marine Biotechnology**, v. 5, n. 4, p. 339-348, 2003.

LESCZYNSKA, J.; LACKA, A.; SZEMRAJ, J.; LUKAMOWICZ, J.; ZEGOTA, H. The influence of gamma irradiation on the immunoreactivity of gliadin and wheat flour. **European Food Research Technology**, Berlin, v. 217, p. 143-147, 2003.

LI, G.P.; LIU, Z.G.; QIU, J.; RAN, P.X.; ZHONG, N.S. DNA vaccine encoding Der p 2 allergen generates immunologic protection in recombinant Der p 2 allergen-induced allergic airway inflammation mice model. **Chinese Medicine**, Beijing, v. 118, p. 534-540, 2005.

LIMA, C.M.F.; YANG, A.C. Alergia a peixes, crustáceos e moluscos. Alergia alimentar: Definição. In: MORATO-CASTRO, F.F.; JACOB, C.M.A.; MOSCHIONE-CASTRO, A.P.B.; YANG, A.C. **Alergia Alimentar**. Barueri, SP: Editora Phadia Manole, 2010. cap. 11, p. 123-137.

LOPATA, A.; LEHRER, S.B. New insights into seafood allergy. **Current Opinion in Allergy and Clinical Immunology**, Hagerstown, v. 9, n. 3, p. 270-277, 2009.

LUCKMAN, G.J. Food irradiation: regulatory aspects in the Asia and Pacific region. **Radiation Physics and Chemistry**, Oxford, v. 63, p. 205-288, 2002.

LUZIA, L.A. **Influência da sazonalidade no valor nutricional e perfil lipídico em cinco espécies populares de pescado**. 2000. 109 p. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) – Faculdade de Saúde Pública, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2000.

MONERET-VAUTRIN, D.A.; KANNY, G.; MORRISSET, M.; RANCE, F.; FARDEAU M.F.; BEAUDOUIN, E. Severe food anaphylaxis: 107 cases registered in 2002 by Allergy Vigilance network. **Allergy Immunology**, Philadelphia, v. 36, p. 46-51, 2004.

MOURA, A.F.P.; TENUTA-FILHO, A. Efeito do processamento sobre níveis de colesterol e 7-cetocolesterol em camarões-rosa. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 22, n. 2, p. 117-121, 2002.

NASCIMENTO, F.C.A.; PRADO FILHO, L.G.; OETTERER, M. Alérgenos em pescado. **Boletim da Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 31, n. 2, p. 207-213, 1997.

NASIFF-HADAD, A.; MERINO-IBARRA, E. Ácidos grasos omega – 3: pescados de carne azul y concentrados de aceites de pescado. Lo bueno y lo malo. **Revista Cubana Medicina**, La Itabana, v. 42, n. 2, p. 128-133, 2003.

NATORI, M.M.; SUSSEL, F.R.; SANTOS, E.C.B.; PREVIERO, T.C.; VIEGAS, E.M.M.; GAMERO, A.H. Desenvolvimento da carcinicultura marinha no Brasil e no mundo: Avanços tecnológicos e desafios. **Informações Econômicas**, São Paulo, v. 41, n. 2, p. 66-73, 2011.

OGAWA, M.; MAIA, E.L. Química do pescado. In:\_\_\_\_\_. **Manual de pesca: ciência e tecnologia do pescado**. São Paulo: Varela, 1999. cap. 4, p. 141-171.

OLIVEIRA, I.C. Present situation of food irradiation in South America and the regulatory perspectives for Brazil. **Radiation Physics and Chemistry**, Oxford, v. 57, p. 249-252, 2000.

OLIVEIRA-SILVA, E.R.; SEIDNAN, C.E.; TIAN, J.J.; HUDGINS, L.C.; SACKS, F.M.; BRESLOW, J.L. Effects of shrimp consumption on plasma lipoprotein. **The American Journal of Clinical Nutrition**, Bethesda, v. 64, p. 712-717, 1996.

OH, S.; JANG, D.I.; LEE, J.W.; KIM, J.H.; BYUN, M.W.; LEE, S.Y. Evaluation of reduced allergenicity of irradiated peanut extract using splenocytes from peanut-sensitized mice. **Radiation Physics and Chemistry**, Oxford, v. 78, p. 615-617, 2009.

ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD - OMS. **Inocuidad e idoneidad nutricional de los alimentos irradiados**. Geneva, 1995. 172 p.

ORAEI, M.; MOTALEBI, A.A.; HOSEINI, E.; JAVAN, S.; HEMMMASI, A.H. Effect of gamma irradiation on fatty acid composition of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fillets. **Iranian Journal of Fisheries Sciences**, Teerã, v. 10, n. 2, p. 276-282, 2011.

ORNELAS, C.B.D.; GONÇALVES, M.P.J.; SLVA, P.R.; MARTINS, R.T. Atitude do consumidor frente à irradiação de alimentos. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 26, n. 1, p. 211-213, 2006.

OSTERBALLE, M.; HANSEN, T.K.; MORTZ, C.G.; HEST, A.; BINDSLEV-JENSEN, C. The prevalence of food hypersensitivity in an unselected population of children and adults. **Pediatric Allergy and Immunology**, Copenhagen, v. 16, n. 7, p. 567-573, 2005.

OUATTARA, B.; SABATO, S.F.; LACROIX, M. Combined effect of antimicrobial coating and gamma irradiation on shelf life extension of pre-cooked shrimp (*Penaeus* spp.). **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v. 68, p. 1-9, 2001.

ÖZDEN, O.; ERKAN, N. Impacts of gamma radiation on nutrition on nutritional components of minimal processed cultured sea bass (*Dicentrarchus labrax*). **Iranian Journal of Fisheries Sciences**, Teerã, v. 9, n. 2, p. 265-278, 2010.

ÖZDEN, O.; INUGUR, M.; ERKAN, N. Effect of different dose gamma radiation and refrigeration on the chemical and sensory properties and microbiological status of aqua cultured sea bass (*Dicentrarchus labrax*). **Radiation Physics and Chemistry**, Oxford, v. 76, p. 1169-1178, 2007.

PARLAMENTO EUROPEU. Comissão do Meio Ambiente, da Saúde Pública e da Política do Consumidor. **Comissão relativa a alimentos e ingredientes alimentares autorizados para tratamento por radiação ionizante na comunidade europeia**. Bruxelas, Bélgica, 2004. Disponível em: [www.europarl.eu.int/meedocs/commettees/envi/20021104/470306pt.pdf](http://www.europarl.eu.int/meedocs/commettees/envi/20021104/470306pt.pdf). Acesso em: 7 jul. 2004.

RAHARJO, S.; SOFOS, J.N.; SCHMIDT, G.R. improved speed, specificity and limit of determination of an aqueous acid extraction thiobarbituric acid-C18 method for measuring lipid peroxidation in beef. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 40, n. 11, p. 2182-2185, 1992.

RAHMAN, A.M.A.; KAMATH, S.; LOPATA, A.L.; HELLEUR, R.J. Analysis of the allergenic proteins in black tiger prawn (*Penaeus monodon*) and characterization of the major allergen tropomyosin using mass spectrometry. **Rapid Communications in Mass-Spectrometry**, London, v. 24, p. 2462-2470, 2010.

ROITT, I.; BRUSTOFF, J.; MALE, D.K. **Imunologia**. 2. ed. São Paulo: Manole, 1992.

SANTA-OLALLA, M.; SÁNCHEZ-MUNIZ, L.F.J.; VAQUERO, M.P. N-3 fatty acids in glucose metabolism and insulin sensitivity. **Nutrición Hospitalaria**, Madrid, v. 24, n. 2, p. 113-127, 2009.

SANTOS, A.B.R.; CHAPMAN, M.D.; AALBERSE, R.C.; VAILES, L.D.; FERRIANI, V.P.L.; OLIVER, C.; RIZZO, M.C.; NASPITZ, C.K.; ARRUDA, L.K. Cockroach allergens and asthma in Brazil: Identification of tropomyosin as a major allergen with potential cross-reactivity with mite and shrimp allergens. **Journal Allergy and Clinical Immunology**, St. Louis, v. 104, p. 329-337, 1999.

SANTOS, K.S.; KOKRON, C.M.; PALMA, M.S. Diagnóstico *in vitro*. In: MORATO-CASTRO, F.F.; JACOB, C.M.A.; MOSCHIONE-CASTRO, A.P.B.; YANG, A.C. **Alergia alimentar**. Barueri, SP: Editora Phadia Manole, 2010. cap. 6, p. 53-74.

STATISTICAL ANALYSIS SYSTEM INSTITUTE. **Sas/Qc/Qc software**: usage and referente (version 6). 2. ed. Cary, NC, 1996. 1CD-ROM.

SATIN, M. **La irradiación de los alimentos**. Zaragoza: Acribia. 1997. 175 p.

SAVAGE, G.P.; DUTTA, P.C.; RODRIGUEZ-ESTRADA, M.T. Cholesterol oxides: their occurrence and methods to prevent their generation in foods. **Asia Pacific Journal Clinical Nutrition**, Taipei, Taiwan, v. 11, n. 1, p. 72-78, 2002.

SCHUURMAN, J.; LOURENS, T.E.; PERDOK, G.J.; PARREN, P.W.H.I.; AALBERSE, R.C. Mouse/human chimeric IgE antibodies directed to the house dust mite allergen Der p 2. **International Archives Allergy and Immunology**, Basel, v. 107, p. 465-471, 1995.

SCHUURMAN, J.; PERDOK, G.J.; LOURENS, T.E.; PARREN, P.W.H.I.; CHAPMAN, M.D.; AALBERSE, R.C. Production of a mouse/human chimeric IgE monoclonal antibody to the house dust mite allergen Der p 2 and its use for the absolute quantification of allergen-specific IgE. **Journal of Allergy and Clinical Immunology**, St. Louis, v. 99, p. 545-550, 1997.

SEO, J.H.; LEE, J.W.; KIM, J.H.; BYUN, E.B.; LEE, S.Y.; KANG, I.J.; BYUN, M.W. Reduction of allergenicity of irradiated ovalbumin in ovalbumin-allergic mice. **Radiation Physics and Chemistry**, Oxford, v. 76, p. 1855-1857, 2007.

SHIMAKURA, K.; TOMOMURA, Y.; HAMADA, Y.; NAGASHIMA, Y.; SHIOMI, K. Allergenicity of crustacean extractives and its reduction by protease digestion. **Food Chemistry**, Barking, v. 91, p. 247-253, 2005.

SIERRA, S.; LARA-VILLOSLADA, F.; OLIVARES, M.; JIMÉNEZ, J.; BOZA, J.; XAUS, J. La expresión de IL-10 interviene en la regulación de la respuesta inflamatoria por los ácidos grasos omega 3. **Nutrición Hospitalaria**, Madrid, v. 9, n. 6, p. 376-382, 2004.

SILVA, H.A.; MENDES, R.; NUNES, M.L.; EMPIS, J. Protein changes after irradiation and ice storage of horse mackerel (*Trachurus trachurus*). **European Food Research Technology**, Berlin, v. 224, p. 83-90, 2006.

SINANOGLU, V.J.; BATRINO, A.; KONTELES, S.; SFLOMOS, K. Microbial population, physicochemical quality, and allergenicity of molluscs and shrimp treated with cobalt-60 gamma radiation. **Journal of Food Protection**, Ames, v. 70, n. 4, p. 958-966, 2007.

SLETTEN, G.; VAN DO, T.; LINDVIK, H.; EGAAS, E.; FLORVAAG, E. Effects of Industrial processing on the immunogenicity of commonly ingested fish species. **Allergy and Immunology**, Philadelphia, v. 151, p. 223-236, 2010.

SPOTO, M.H.F. **Análise crítica de obra acadêmica: qualidade sensorial de frutas – laranja pêra (*Citrus sinensis*) da matéria-prima ao suco**. 2007. 187 f. Tese (Livre-Docente) – Escola superior de Agricultura “Luiz de Queiróz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2007.

SOLÉ, D.; CAMELO-NUNES, I.C. Epidemiologia da alergia alimentar. In: MORATO-CASTRO, F.F., JACOB, C.M.A., MOSCHIONE-CASTRO, A.P.B., YANG, A.C. **Alergia alimentar**. Barueri, SP: Editora Phadia Manole, 2010. cap. 2, p. 5-11.

SONODA, D.Y. **Demanda por pescados no Brasil entre 2002 e 2003**. 2006. 117 p. Tese (Doutorado em Ciências) - Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiróz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2006.

TARLADGIS, B.G.; WATTS, B.M.; YOUNATHAN, M.T.A. Distillation method for the quantitative determination of malonaldehyde in rancid foods. **The Journal of the American Oil Chemist's Society**, Champaign, v. 37, p. 44-48, 1960.

TODORIKI, S.; BARI, L.; KITTA, K.; OHBA, M.; ITO, Y.; TSUJIMOTO, Y.; KANAMORI, N.; YANO, E.; MORIYAMA, T.; KAWAMURA, Y.; KAWAMOTO, S. Effect of gamma-irradiation on the survival of *listeria monocytogenes* and allergenicity of cherry tomatoes. **Radiation Physics and Chemistry**, Oxford, v. 78, p. 619-621, 2009.

TROMBONE, A.P.; TOBIAS, K.R.; FERREANI, V.P.; SCHURIRMAN, J.J.; AALBERSE, R.C.; SMITH, A.M.; CHAPMAN, M.D.; ARRUDA, L.K. Use of a chimeric ELISA to investigate immunoglobulin E antibody responses to Der p1 and Der p2 in mite-allergic patients with asthma, wheezing and/or rhinitis. **Clinical and Experimental Allergy**, Oxford, v. 32, n. 9, p. 1323-8, 2002.

US FOOD AND DRUG ADMINISTRATION – FDA. **Irradiation**: A safe measure for safer iceberg lettuce and spinach. Silver Spring, MD, 2008. Disponível em: <<http://www.fda.gov/ForConsumers/ConsumerUpdates/ucm093651.htm>. Acesso em: 15 jan. 2012.

US FOOD AND DRUG ADMINISTRATION – FDA. **Foods Permitted to be irradiated under FDA Regulations (21 CFR 179.26)**. Silver Spring, MD, 2009. Disponível em: <<http://www.fda.gov/Food/FoodIngredientsPackaging/IrradiatedFoodPackaging/ucm074734.htm>>. Acesso em: 15 jan. 2012.

US FOOD AND DRUG ADMINISTRATION – FDA. **Irradiation and Food Safety: answers to frequently asked questions**. Washington, DC, 2012. Disponível em: [http://www.fsis.usda.gov/Fact\\_Sheets/Irradiation\\_and\\_Food\\_Safety/index.asp](http://www.fsis.usda.gov/Fact_Sheets/Irradiation_and_Food_Safety/index.asp). Acesso em: 15 jan. 2012.

VALENZUELA, A.; SANHUEZA, J.C. Aceites de origen marino; su importancia en la nutrición y en la ciencia de alimentos. **Revista Chilena de Nutrición**, Santiago, v. 36, n. 3, p. 246-257, 2009.

VALENZUELA, B.A. El salmon: banquete de salud. **Revista Chilena de Nutrición**, Santiago, v. 32, n.1, p. 8-17, 2005.

VÁZQUEZ, J.; SÁNCHEZ-MUNIZ, F.J. Revisión: proteína de pescado y metabolismo del colesterol. **Revista Española de Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Madrid, v. 34, n. 6, p. 589-608, 1994.

VENKATACHALAM M.; MONAGHAN, E.K.; KSHIRSAGAR, H.H.; ROBOTHAM, J.M.; O'DONNELL, S.E.; GERBER, M.S.; ROUX, K.H; SATHE, S.K.J. Effects of processing on immunoreactivity of cashew nut (*Anacardium occidentale L.*) seed flour proteins. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 56, n. 19, p. 8998-9005, 2008.

YAN, Z.; HIROAKI, M.; EISHIN, M. Cross-reactivity among shrimp, crab and scallops in a patient with a seafood allergy. **The Journal of Dermatology**, Tokyo, v. 33, p. 174-180, 2006.

YANG, A.C.; ARRUDA, L.K.; SANTOS, A.B.R.; BARBOSA, M.C.R.; CHAPMAN, M.D.; GALVÃO, C.E.S.; KALIL, J.; MORATO-CASTRO, F.F. Measurement of IgE antibodies to shrimp tropomyosin is superior to skin prick testing with commercial extract and measurement of IgE to shrimp for predicting clinically relevant allergic reactions after shrimp ingestion. **Journal Allergy and Clinical Immunology**, St. Louis, v.125, n.4., p. 872-878, 2010.

YANG, A.C.; POMIECINSKI, F.; MORATO-CASTRO, F.F. Mecanismos fisiopatológicos da alergia alimentar. In: MORATO-CASTRO, F.F., JACOB, C.M.A., MOSCHIONE-CASTRO, A.P.B., YANG, A.C. **Alergia alimentar**. Barueri, SP: Editora Phadia Manole, 2010. cap. 3, p. 13-25.

YAGIZA, Y.; KRISTINSSON, H.G.; BALABANC, M.O.; WELTD, B.A.; RAGHAVANA, S.; MARSHALLA, M.R. Correlation between astaxantin amount and a\* value in fresh Atlantic salmon (*Salmo salar*) muscle during different irradiation doses. **Food Chemistry**, Barking, v. 120, n. 1, p. 121-127, 2010.

YERLIKAYA, P.; GOKOGLU, N. Inhibition effects of green tea and grape seed extracts on lipid oxidation in bonito fillets during frozen storage. **International Journal of Food Science and Technology**, Malden, v.45, p. 252-257, 2010.

WANG, H.; YANG, R.; LIU, Y.; ZHANG, W.; ZHAO, W.; ZHANG, Y.; HUA, X. Effects of low doses gamma irradiation on microbial inactivation and physicochemical properties of fried shrimp (*Penaeus vannamei*). **International Journal of Food Science and Technology**, Malden, v. 45, p. 1088-1096, 2009.

WITTEMAN, A.M.; AKKERDAAS, J.H.; VAN LEEUWEN, J.; VAN DER ZEE, J.S.; AALBERSE, R.C. Identification of a cross-reactive allergen (presumably tropomyosin) in shrimp, mite and insects. **International Archives of Allergy and Immunology**, Basel, v. 105, n.1, p. 56-61, 1994.

WEISS, C.; MUNOZ-FURLONG, T.J.; ARBIT, J. Impact of food allergies on school nursing practice. **Journal of School Nursing**, Scarborough, v. 20, p. 268-278, 2004.

ZHENXING, L.; HONG, L.; LIMIN, C.; JAMIL, K. The influence of gamma irradiation on the allergenicity of shrimp (*Penaeus vannamei*). **Journal of Food Engineering**, London, v. 79, p. 945-949, 2007.

### 3. EFEITO DA RADIAÇÃO GAMA NA REATIVIDADE ALERGÊNICA E NAS PROPRIEDADES SENSORIAIS E COR DE CAMARÃO (*LITOPENAEUS VANAMMEI*)

#### RESUMO

O pescado é uma importante fonte de alimento em todo mundo. O consumo de camarão é causa frequente de alergia alimentar. A radiação gama, apesar de muito eficaz no aumento da vida útil e segurança dos alimentos, pode causar alterações capazes de afetar negativamente a aceitação do produto irradiado. O objetivo desse experimento foi avaliar o efeito da radiação gama na reatividade alergênica, na cor e na aceitação de camarões. Amostras de camarão-branco-do-pacífico (*Litopenaeus vannamei*), descongeladas e liofilizadas, foram irradiadas com doses de: 0 (test.), 5, 10 e 15 kGy. Utilizou-se para a irradiação um irradiador multipropósito, semi-industrial de  $^{60}\text{Co}$ . A taxa de dose empregada foi de 7,5 kGy/hora. Realizou-se reatividade IgE (ELISA quimérico), análise sensorial (teste hedônico) e determinação da cor instrumental (colorímetro Minolta CR-400). Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ). As doses de radiação gama aplicadas nesse experimento não alteraram, de forma significativa, a reatividade alergênica, a cor e a aceitação dos camarões estudados. A radiação gama nessas doses não pode ser indicada para o controle de alérgenos em camarões, por não ter modificado a estrutura protéica alergênica.

**Palavras-chaves:** Camarão. Radiação gama. Análise sensorial. Cor instrumental. Alergia alimentar.

## ABSTRACT

Seafood is an important source of food widely used in the world. The consumption of shrimp, however, is a frequent cause of food allergy. The gamma radiation, although very effective in increasing food shelf life and safety, can cause changes in the acceptance of irradiated products. This study investigated the effect of gamma irradiation on color, acceptance and allergenic reactivity of shrimp. Samples of white shrimp-Pacific (*Litopenaeus vannamei*) were thawed and freeze-dried, then, irradiated (Cobalt-60) with 0 (test.), 5, 10 and 15 kGy. The dose rate used was 7.5 kGy / hr. We performed the sensory analysis (hedonic testing), instrumental color determination (colorimeter Minolta CR-400) and IgE reactivity analysis (chimeric ELISA). The data were subjected to the variance analysis (ANOVA) and Tukey test ( $p \leq 0.05$ ). The doses of gamma radiation applied in this experiment did not significantly alter the color, consumers' acceptance and allergenic reactivity of shrimp. The gamma radiation at these doses is not indicated for the control of allergens in shrimp, because they did not change the allergenic protein structure.

**Key-words:** Shrimp. Gamma radiation. Sensory analysis. Instrumental color. Food allergy.

### 3.1 Introdução

Os crustáceos constituem um dos grupos mais importantes de organismos aquáticos, representando cerca de 7 % das capturas mundiais. Desse grupo, quase todas as espécies são consideradas de alto valor comercial. Porém, os camarões e lagostas são as espécies de maior relevância, sendo capturadas em quase todo o mundo. Em 2009 foram capturados cerca de 11 milhões de toneladas de crustáceos. Desse total aproximadamente 60% eram camarões. Além das capturas naturais, o cultivo de camarões tropicais está aumentando consideravelmente. A produção mundial de camarão-branco-do-pacífico (*Litopenaeus vannamei*) passou de pouco mais de 145 mil toneladas no ano 2000 para cerca de 2 milhões de toneladas em 2006 (FAO, 2008).

Sendo o camarão um produto altamente perecível, a conservação pós-abate é um dos pontos críticos da atividade. A indústria de alimentos, buscando atender às necessidades de redução das perdas alimentares e a diminuição de riscos a saúde humana, passou a investir em novos processos tecnológicos para conservação de seus produtos. A irradiação de alimentos é um tratamento que utiliza raios eletromagnéticos ou elétrons capazes de preservar por um longo período a qualidade e a segurança dos alimentos.

A radiação gama, dependendo da dose, destrói contaminantes microbianos, incluindo os microrganismos de decomposição, aumentando a vida útil do pescado, diminuindo os riscos à saúde humana (CHOULIARA et al., 2004; WANG et al., 2009; ABREU et al., 2009; ABREU et al., 2010). O  $^{60}\text{Co}$  produz raios gama que agem no DNA de parasitas e microrganismos (LACROIX; QUATTARA, 2000).

Alterações na composição e população microbiana e parasitária dependem da dose de radiação, estocagem, temperatura, condições de embalagem e espécie de pescado (ÖZDEN et al., 2007). O processo de irradiação também pode reduzir a reatividade alergênica de alimentos. O consumo de moluscos, como lulas e polvos, e crustáceos, como o camarão, é causa frequente de alergia alimentar. Estudos relatam que pacientes alérgicos a crustáceos apresentam anticorpos IgE específicos para a tropomiosina (Pen a1). A tropomiosina degradada em fragmentos peptídicos apresenta epítopes que se ligam a anticorpos previamente sensibilizados.

A maioria dos alérgenos são muito estáveis quando processados. Entretanto, a tecnologia de irradiação de alimentos é capaz de alterar a estrutura dos epítopes

presentes nos alérgenos de ovos, camarões, lulas, polvos, peixes e leite (BYUN et al., 2002; BYUN et al., 2000; LEE et al., 2005; SINANOGLU et al., 2007). O maior alérgeno em camarões é a tropomiosina, uma proteína muscular com peso molecular de cerca de 35 kDa (SHIMAKURA et al., 2005). Outras proteínas também foram identificadas como alérgenos (AYUSO et al., 2008). Esses alérgenos têm como característica em comum a alta estabilidade térmica e resistência à proteólise.

Apesar de muito eficaz no aumento da vida útil e segurança dos alimentos, a radiação gama, dependendo da dose, pode causar alterações indesejáveis nos alimentos. Essas mudanças podem afetar negativamente a aceitação do pescado irradiado. O objetivo desse experimento foi avaliar o efeito da radiação gama na reatividade alérgica a tropomiosina, cor instrumental e atributos sensoriais de camarões (*Litopenaeus vannamei*).

## **3.2 Material e Métodos**

### **3.2.1 Preparo das amostras**

As amostras foram adquiridas congeladas, diretamente de uma empresa distribuidora de pescado. Parte das amostras foi mantida sob refrigeração ( $\pm 7^{\circ}$  C) até o descongelamento e posterior irradiação e parte foi liofilizada (liofilizador EC Modulyo/EC Apparatus Inc.) e depois irradiada. Após a liofilização, houve perda de umidade no camarão de aproximadamente 76%.

### **3.2.2 Irradiação das amostras**

As amostras descongeladas foram transportadas em caixas isotérmicas com gelo e as liofilizadas em embalagens plásticas em temperatura ambiente até a planta de irradiação no Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares (São Paulo, Brasil), onde foram empregadas as doses de radiação de 5, 10 e 15 kGy, mantendo-se amostras sem irradiação-controle. Utilizou-se para a irradiação um irradiador multipropósito, semi-industrial de  $^{60}$  Co. A taxa de dose empregada foi de 7,5 kGy/hora.

### **3.2.3 ELISA Quimérico**

Ensaio ELISA foram utilizados para a determinação dos níveis de anticorpos IgE específicos para tropomiosina de camarão, no soro de pacientes alérgicos. Foi utilizado o método de ELISA quimérico, em que um anticorpo quimérico é usado para a construção de curva-controle, o que permite a quantificação precisa dos níveis de IgE específica (ICHIKAWA et al., 1999; TROMBONE et al., 2002). O anticorpo monoclonal 1A6 foi utilizado no ELISA para quantificar IgE anti-Per a 7. Esse anticorpo, anti-tropomiosina de invertebrados, foi gentilmente fornecido pelo Dr. Rob Alberse (Amsterdã, Holanda), através do Laboratório de Imunologia do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto – FMRP – USP.

### **3.2.4 Soros de pacientes**

Selecionaram-se no banco de soros do Laboratório de Imunologia do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto – FMRP – USP, 27 soros IgE positivos específicos para a tropomiosina, para serem utilizados no teste ELISA.

### **3.2.5 Preparo dos concentrados protéicos**

Pesaram-se aproximadamente 5g de camarão fresco e 15g de camarão liofilizado para cada tratamento. As amostras foram fervidas por 7 minutos em água Milli-Q e homogeneizadas (Politron PT) com 20 mL de PBS (20%), permanecendo sob agitação por uma noite a 4°C. Foram então centrifugadas por 15 minutos a 6000 rpm. Retiraram-se os sobrenadantes e submetem-se as amostras ao processo de Sonicação por 3 ciclos de 10 minutos para promover o rompimento de células e quebra de moléculas de DNA por meio de ondas sonoras de alta frequência. As amostras foram re-centrifugadas a 13200 rpm a 4°C por uma hora. Retirou-se novamente o sobrenadante e realizou-se quantificação de proteína pelo método de Bradford (BRADFORD, 1976).

### 3.2.6 Construção da curva controle

A curva controle foi construída utilizando anticorpo quimérico, caracterizado por apresentar porção Fab de camundongo e porção Fc de cadeia  $\epsilon$  humana. Esse anticorpo, direcionado contra Der p 2, alérgeno do grupo 2 de *D. pteronyssinus*, é constituído de domínios variáveis de cadeias pesadas e cadeias leves de um anticorpo monoclonal para Der p 2 (clone 2B12) e de domínios de cadeia pesada de IgE. O desenvolvimento desse anticorpo quimérico (2B12-IgE) foi descrito em detalhes (ELDERFIELD et al., 1996; SCHUURMAN et al., 1995; SCHUURMAN et al., 1997).

### 3.2.7 Determinação de anticorpos IgE específicos para alérgenos de camarão

Placas de polipropileno (Corning Incorporated, New York, USA) foram cobertas com 100 $\mu$ l de mAb 1A6 anti-tropomiosina em concentração de 10 $\mu$ g.mL<sup>-1</sup>, diluídos em tampão carbonato bicarbonato, pH 9,6, por 18h a 4°C. Após 3 lavagens com PBS-*Tween*, foi realizado bloqueio com 300 $\mu$ L.poço<sup>-1</sup> de 1% BSA-PBS-T durante 30 minutos, à temperatura ambiente, seguido de 3 lavagens com PBS-T. Posteriormente foram adicionados 100 $\mu$ l de extrato de camarão em concentração de (5 $\mu$ g.mL<sup>-1</sup>), diluídos em 1% BSA-PBS-T, por 1 hora, à temperatura ambiente. Após 5 lavagens com PBS-T, foram aplicados 100 $\mu$ l.poço<sup>-1</sup> de soro diluído 1:10 em 1% BSA-PBS-T, por 2 horas, à temperatura ambiente. Após 5 lavagens com PBS-T, foram adicionados 100 $\mu$ l.poço<sup>-1</sup> de anticorpo de cabra anti IgE humana biotilado (Kirkegaard & Perry Cat, Gaithersburg, USA) diluído 1:4000 em 1% BSA-PBS-T, por 1 hora, à temperatura ambiente. Após 5 lavagens com PBS-T, foram adicionados 100 $\mu$ L de streptavidina- peroxidase diluída (1:1000) em 1% BSA-PBS-T, por 30 minutos, à temperatura ambiente, seguida de 5 lavagens com PBS-T. A reação foi desenvolvida com 100 $\mu$ l.poço<sup>-1</sup> de ABTS/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (2,2'-azino-di-3 ethylbenzthiazoline sulfonic acid contendo H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 0,02%). A densidade óptica foi determinada por leitura em espectrofotômetro, em comprimento de onda de 405nm.

### 3.2.8 Análise da cor

A determinação da cor dos camarões foi realizada através de um colorímetro (Minolta CR-400), utilizando-se o sistema CIE L\*a\*b\*, em que L\*= luminosidade, a\*= intensidade vermelho/verde e b\*= intensidade amarelo/azul, pelo sistema Hunter Lab, com fonte iluminante D65, calibrando em porcelana branca com padrão de Y=93,7; x=0,3160 e y=0,3323. O croma (c) e o Hue-angle (H°) foram calculados através de fórmulas matemáticas (1 e 2).

$$c = \sqrt{a^2 + b^2} \quad \dots\dots (1)$$

$$H^\circ = \arctg. b^*/a^* \quad \dots\dots (2)$$

### 3.2.9 Análise sensorial

Selecionaram-se aleatoriamente 40 provadores não-treinados, consumidores de camarão, dentre uma população de adultos saudáveis (18 a 50 anos), de ambos os sexos. Foram realizados testes hedônicos para as características, aroma, aparência e sabor. Os provadores avaliaram sensorialmente o produto de acordo com metodologia proposta por Meilgaard, Civille e Carr (1999).

As amostras irradiadas e não-irradiadas foram testadas no primeiro dia de armazenamento sob refrigeração, para o produto preparado, cozido em água previamente fervida com 1% de NaCl de acordo com Kirschnik e Viegas (2004). Analisaram-se também amostras sem preparo quanto à aparência do produto.

No laboratório de análise sensorial com cabines individuais, os provadores receberam as amostras servidas em pratos brancos. Foram apresentadas quatro amostras (uma para cada tratamento: 0 (test.), 5, 10 e 15 kGy) codificadas com números de 3 dígitos. Solicitou-se aos provadores que analisassem cada uma das amostras, usando uma escala feita para esse propósito (com nove pontos). Para a segurança dos provadores participantes da análise sensorial, as amostras de camarões foram submetidas à análise microbiológica para a determinação da presença de *Salmonella* spp e das populações de Coliformes totais, *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus* (HORWITZ, 2005; ISSO 6888-1, 2003; ISSO 6579, 2002).

### 3.2.10 Análise estatística

Os dados obtidos após o processamento analítico das amostras foram submetidos à análise de variância (ANOVA). Para verificar quais tratamentos diferiram, foi aplicado o teste de Tukey (Teste T-Teste de mínima diferença estatística) para realizar comparações pareadas das médias dos tratamentos, estabelecendo-se o nível mínimo de significância de 5% ( $p \leq 0,05$ ). Foi utilizado o software SAS Institute (SAS INSTITUTE, 1996).

## 3.3. Resultados e Discussão

### 3.3.1 ELISA Quimérico

Apesar de trabalhos anteriores reportarem que a radiação gama pode reduzir a alergenicidade de camarões, ovos e leite, não se observou nesse experimento diferença estatística significativa ( $P > 0,05$ ) entre os tratamentos através do teste ELISA (Tabela 3). Alguns autores observaram a redução da reatividade IgE em alimentos com o aumento da dose de radiação, mas muitos deles submeteram a proteína alergênica, e não o alimento, à irradiação (LEE et al., 2007; BYUN et al., 2002; LEE et al., 2000). Proteínas alergênicas não foram alteradas com a dose de radiação gama de 1,25 kGy em tomates-cereja irradiados, apesar de essa exercer efeito positivo na redução da população de *Listeria monocytogenes* previamente inoculada (TODORIKI et al., 2009). Todavia, o conteúdo de tropomiosina em moluscos e camarões irradiados foi reduzido pelo uso da radiação gama (2,5 e 4,7 kGy). Nesse trabalho, a dose 4,5 kGy inativou completamente os alérgenos, promovendo o aumento da segurança e manutenção da qualidade do produto (SINANOGLU et al., 2007). Zhenxing et al. (2007) compararam o efeito da radiação gama (3 a 15 kGy) em extratos e músculo de camarão (*Penaeus vannamei*). Os resultados encontrados por esses autores sugerem que em extratos protéicos irradiados há o decréscimo da alergenicidade com o aumento da dose de radiação. Entretanto, nesse mesmo experimento, músculos de camarões irradiados exibiram

aumento na alergenicidade com doses de radiação inferiores a 5 kGy, tendendo a decréscimo quando a dose excedeu 10 kGy.

Muitos pacientes alérgicos a camarões apresentam IgE específico para a tropomiosina, que, quando degradada em fragmentos peptídicos, pode ligar-se ao IgE através de epítopes. A irradiação pode ocasionar agregação de aminoácidos livres e proteínas, alterando os epítopes, gerando o não-reconhecimento da proteína pelos anticorpos IgE. (LACROIX; JOBIN; MEZGHENI, 1998; BYUN et al., 2002). A alergenicidade pode decrescer ou aumentar em alimentos processados com a destruição ou com a formação de novos epítopes (BESLER et al., 2001). O decréscimo da reatividade alergênica é mensurada com base na inibição do IgE pelas proteínas alergênicas presentes na amostra. A radiação gama causa danos a proteínas através da formação de radicais livres durante radiólise da água. Provavelmente, em músculos de camarão, como é o caso do experimento realizado, outros componentes, como os lipídeos, minimizem os danos à tropomiosina (ZHENXING et al., 2007).

Modificações protéicas produzidas pela radiação ionizante incluem desaminação, descarboxilação, redução de ligações disulfito oxidação de grupos disulfídricos, quebra de ligações peptídicas e mudanças no estado de valência de íons metálicos em enzimas (GARRISON, 1987; NAWAR, 1986). Os resultados do experimento, quando analisados em conjunto com os demais resultados observados na literatura, sugerem que a radiação gama, quando utilizada em alimentos de origem animal ou tecidos vegetais, pode reduzir, aumentar, inativar ou não ser efetiva na reatividade alergênica de alimentos, como no caso dos camarões estudados. Isso se deve provavelmente aos diferentes compostos protetores presentes nos alimentos. De acordo com Sletten (2010), os mecanismos indutores de mudanças em proteínas imunogênicas em peixes dependem mais dos processos utilizados do que das espécies; entretanto, as respostas individuais podem ser muito variadas. Processos químicos podem causar a diminuição da capacidade de ligação do IgE ou provocar maior sensibilização de peptídeos modificados ou degradados. A composição físico-química e nutricional de pescado depende da espécie, sexo, nutrição, estágio de desenvolvimento e época do ano em que foi despedido. Provavelmente, quando a proteína alergênica é irradiada isoladamente, a interferência desses componentes é eliminada, favorecendo a modificação de sua conformação, o que não ocorre necessariamente no músculo irradiado.

Tabela 3 - Concentração ( $\mu\text{g/mL}$ ) de alérgenos por ELISA químérico em camarões irradiados, descongelados e liofilizados

Dose (kGy)	Descongelado	Liofilizado
NI*	21,67 <sup>a</sup> $\pm$ 37,01	15,58 <sup>a</sup> $\pm$ 34,30
5	17,36 <sup>a</sup> $\pm$ 35,98	35,95 <sup>a</sup> $\pm$ 64,12
10	17,95 <sup>a</sup> $\pm$ 36,71	27,33 <sup>a</sup> $\pm$ 59,55
15	16,51 <sup>a</sup> $\pm$ 35,60	38,62 <sup>a</sup> $\pm$ 77,92

\*Controle não irradiado

### 3.3.2 Análise sensorial

De acordo com os resultados obtidos, as amostras de camarões encontravam-se em conformidade com os padrões microbiológicos estabelecidos pela RDC N<sup>o</sup>12 de 02/01/2001 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), Grupo 7 (BRASIL, 2004) , não oferecendo risco aos provadores (Tabela 4).

Tabela 4 – Contagem de microorganismos no camarão (*Litopenaeus vannamei*)

Determinação	Resultado
<i>Salmonella</i> spp	ausente
Coliformes totais (UFC/g)*	1,1X10 <sup>2</sup> (est)**
<i>Escherichia coli</i> (UFC/g)*	<10
<i>Staphylococcus aureus</i> (UFC/g)*	<10 <sup>2</sup>

\* Unidades formadoras de colônia.

\*\*Contagem estimada, abaixo do limite de quantificação do método.

A aparência de camarões descongelados irradiados e não-irradiados não diferiu estatisticamente, embora maiores notas fossem atribuídas aos camarões não-irradiados. Resultado semelhante foi observado por Abreu et al., 2009. De acordo com a escala hedônica utilizada para essa análise, os provadores gostaram da aparência das amostras ligeiramente (nota 6) a moderadamente (nota 7). Os provadores gostaram (notas 6 e 7) do aroma das amostras não-irradiadas e irradiadas com 5 kGy e foram indiferentes ao aroma das demais amostras irradiadas (nota 5). Miyagusku et al. (2003) relataram que amostras de filé de frango irradiadas com 1,5; 3,0 e 7,0 kGy não sofreram rejeição pelos provadores em análise sensorial, apesar de apresentarem odor característico do processo ao longo do

armazenamento. Não houve diferença significativa entre o sabor de amostras irradiadas e não-irradiadas, apesar de maiores notas serem atribuídas às amostras não-irradiadas e irradiadas com 5 kGy. Apesar das doses elevadas de radiação empregadas nenhuma amostra foi rejeitada pelos provadores quanto à aparência, aroma e sabor (nota abaixo de 4) (Tabela 5).

Tabela 5 - Análise sensorial de camarão-branco-do-pacífico (*Litopenaeus vannamei*) descongelado e liofilizado submetido a doses de irradiação

Doses	Descongelado			Liofilizado		
	Aparência	Aroma	Sabor	Aparência	Aroma	Sabor
NI*	7,18 <sup>a</sup> ± 1,31	7,03 <sup>a</sup> ± 1,51	7,36 <sup>a</sup> ± 1,27	5,94 <sup>a</sup> ± 1,88	6,37 <sup>a</sup> ± 1,45	5,69 <sup>a</sup> ± 1,69
5 kGy	6,93 <sup>a</sup> ± 1,43	6,45 <sup>ba</sup> ± 1,03	6,87 <sup>a</sup> ± 1,62	5,48 <sup>a</sup> ± 1,88	5,28 <sup>ba</sup> ± 1,53	5,41 <sup>a</sup> ± 1,88
10 kGy	6,45 <sup>a</sup> ± 1,86	5,75 <sup>b</sup> ± 1,46	6,51 <sup>a</sup> ± 1,84	4,84 <sup>ba</sup> ± 1,75	4,88 <sup>b</sup> ± 1,43	4,94 <sup>a</sup> ± 1,81
15 kGy	6,78 <sup>a</sup> ± 1,35	5,75 <sup>b</sup> ± 1,77	6,27 <sup>a</sup> ± 1,67	4,09 <sup>b</sup> ± 1,40	4,50 <sup>b</sup> ± 1,78	4,50 <sup>a</sup> ± 2,02

\*Controle não-irradiado

Quattara, Sabato e Lacroix (2001) também não detectaram efeitos negativos produzidos pela radiação gama nos parâmetros organolépticos aparência, aroma e sabor, em estudo conduzido para avaliar o efeito da radiação gama e cobertura antimicrobiana na vida útil de camarão pré-cozido (*Penaeus spp*). Resultados obtidos por Lacroix et al. (1995) em camarões pré-cozidos (*Penaeus monodon*), congelados e armazenados a -18°C por 29 dias, demonstram que a combinação de tratamentos (congelamento e irradiação) pode ser utilizada para aumentar o tempo de estocagem, sem, contudo, afetar a aceitabilidade dos consumidores. De acordo com resultados apresentados por Abreu et al. (2008) em análise sensorial de pescado refrigerado (*Lophius gastrophysus*) e irradiado (3; 5 e 7 kGy), a amostra-controle apresentou sabor e aroma mais agradáveis que as amostras irradiadas e a dose de 5kGy de radiação foi a que apresentou melhor perfil de sabor e aroma, quando comparada com as amostras irradiadas a 3 e 7 kGy.

Os provadores foram indiferentes à aparência das amostras liofilizadas não-irradiadas e irradiadas com 5 kGy e desgostaram moderadamente das demais amostras. As amostras 0; 5 e 10 kGy não diferiram estatisticamente quanto ao atributo aparência. Quanto ao aroma, os provadores aprovaram a amostra não-irradiada, foram indiferentes à amostra 5 kGy e desgostaram ligeiramente das demais amostras. As notas atribuídas para o sabor de amostras não-irradiadas e irradiadas não diferiram estatisticamente. Menores notas foram atribuídas às

amostras liofilizadas em relação à amostra fresca, provavelmente pela falta de familiaridade dos provadores com o tratamento de liofilização.

De acordo com os resultados obtidos através da escala hedônica para camarões sem preparo, analisando-se numericamente, os provadores gostaram da aparência das amostras frescas, não-irradiadas e irradiadas com as doses de 5 e 10 kGy e foram indiferentes às amostras irradiadas com 15 kGy. Foram indiferentes também quanto à aparência das amostras liofilizadas não-irradiadas e irradiadas com 5 kGy e 15 kGy e desgostaram ligeiramente das demais amostras liofilizadas. Apesar desses resultados, não houve diferença estatística significativa entre os tratamentos de acordo com a dose de irradiação (Tabela 6). A radiação gama nas doses utilizadas não alterou a aparência do camarão-branco-do-pacífico (*L. vannamei*) liofilizado sem preparo.

Tabela 6 - Aparência de camarão-branco-do-pacífico (*Litopenaeus vannamei*) sem preparo, irradiado, fresco e liofilizado

Doses	Descongelado	Liofilizado
NI*	6,63 <sup>a</sup> ± 1,71	5,47 <sup>a</sup> ± 2,21
5 kGy	6,43 <sup>a</sup> ± 1,56	5,17 <sup>a</sup> ± 1,62
10 kGy	6,07 <sup>a</sup> ± 1,45	4,43 <sup>a</sup> ± 1,61
15 kGy	5,67 <sup>a</sup> ± 1,94	5,17 <sup>a</sup> ± 1,76

\*Controle não-irradiado

### 3.3.3 Determinação da cor

Foram encontrados, para o camarão descongelado, valores de 48,89 a 44,08 para L; -0,90 a 1,33 para a\*; - 1,03 a 2,50 para b\*; 1,34 a 2,84 para Croma e 118,68 a 215,69 para H<sup>o</sup> (Tabela 7). Foi observada coloração inicial cinza, tanto nos camarões irradiados como nos não irradiados. Não houve diferença estatística significativa entre os tratamentos para luminosidade. Amostras não-irradiadas apresentaram maior intensidade da tonalidade vermelha em comparação aos demais tratamentos (Tabela 7). Resultado diferente foi encontrado por Abreu et al. (2009) em camarão (*L. vannamei*) irradiado com 2; 4 e 6 kGy, onde se observou aumento do L\* e valores de a\* e b\* inalterados com o aumento da dose de radiação. Camarões fritos (*P. vannamei*) e irradiados com 1, 3, 6 e 9 kGy apresentaram

aumento do  $L^*$  e decréscimo dos valores de  $a^*$  com o aumento das doses de radiação (WANG et al., 2010).

O decréscimo dos valores de  $a^*$  nos camarões irradiados indica que os pigmentos presentes na amostra, em especial a astaxantina, foram sensíveis à radiação gama. Com o aumento da dose de radiação, ocorreu branqueamento das amostras indicando que o decréscimo dos valores de  $a^*$  pode estar associado com a degradação da astacina. Esses resultados também foram observados em filés de salmão do atlântico (*Salmo salar*) irradiados (1 a 3 kGy), onde se observaram menores valores de  $a^*$  com o aumento das doses de radiação e correlação positiva com o decréscimo da astaxantina (YAVUZ et al., 2010).

A radiação gama nas doses utilizadas, apesar de causar modificações significativas na intensidade das tonalidades vermelha, azul e amarela dos camarões descongelados, não alterou a coloração cinza característica do camarão-branco-do-pacífico (*L. vannamei*). Esses resultados são compatíveis com os resultados obtidos na análise sensorial do produto sem preparo para o atributo aparência, onde os provadores não encontraram diferença significativa na aparência dos camarões irradiados e não-irradiados. Nesse caso, a cor é um parâmetro essencial para o julgamento e consequente aceitação do produto.

Foram encontrados para o camarão liofilizado valores de 73,27 a 75,03 para  $L^*$ ; -0,29 a 1,52 para  $a^*$ ; 17,78 a 22,60 para  $b^*$ ; 17,80 a 22,66 para Cromo e 0,33 a 267,26 para  $H^0$  (Tabela 7). Foi observada coloração inicial cinza, tanto nos camarões irradiados como nos não-irradiados (Tabela 7). Não houve diferença estatística significativa entre os tratamentos para todos os parâmetros estudados.

A cor é um importante parâmetro para a determinação da qualidade do pescado. Quando o pescado é irradiado, pode ocorrer a formação de produtos radiolíticos, os quais podem causar oxidação, resultando em descoloração ou "off-flavor" (POOLE; MITCHELE; MAYSE, 1994). Contudo, no caso deste experimento, observa-se na Tabela 7 que as doses empregadas nos camarões liofilizados não afetaram a cor inicial dos camarões. A baixa porcentagem de umidade (5,15 a 5,56 %) presente no camarão liofilizado pode ter contribuído, nesse caso, para a redução dos efeitos da radiação gama na cor do camarão.

Tabela 7 - Cor instrumental em camarão-branco-do-pacífico (*Litopenaeus vannamei*) fresco e liofilizado submetido à radiação gama

Dose kGy	Parâmetros de cor instrumental									
	Camarão Descongelado					Camarão Liofilizado				
	L	a*	b*	Croma	H°	L	a*	b*	Croma	H°
NI*	46,24 <sup>a</sup>	1,32 <sup>b</sup>	2,50 <sup>a</sup>	2,84 <sup>a</sup>	118,68 <sup>a</sup>	73,50 <sup>a</sup>	-0,29 <sup>a</sup>	22,60 <sup>a</sup>	22,66 <sup>a</sup>	0,33 <sup>b</sup>
5	46,27 <sup>a</sup>	-0,97 <sup>a</sup>	0,91 <sup>a</sup>	1,34 <sup>b</sup>	136,61 <sup>a</sup>	73,83 <sup>a</sup>	0,20 <sup>a</sup>	17,78 <sup>a</sup>	17,80 <sup>a</sup>	196,71 <sup>a</sup>
10	48,89 <sup>a</sup>	-1,15 <sup>a</sup>	2,25 <sup>a</sup>	2,58 <sup>ab</sup>	119,89 <sup>a</sup>	75,63 <sup>a</sup>	0,92 <sup>a</sup>	19,19 <sup>a</sup>	19,21 <sup>a</sup>	267,26 <sup>a</sup>
15	44,27 <sup>a</sup>	-1,29 <sup>a</sup>	1,62 <sup>a</sup>	2,09 <sup>ab</sup>	128,30 <sup>a</sup>	73,27 <sup>a</sup>	1,52 <sup>a</sup>	21,38 <sup>a</sup>	21,44 <sup>a</sup>	265,94 <sup>a</sup>

\*Controle não-irradiado

### 3.4 Conclusões

As doses de radiação gama aplicadas nesse experimento não alteraram de forma significativa a reatividade alergênica, a cor e a aceitação dos camarões estudados. Novos testes devem ser realizados para se compreender os mecanismos de modificação protéica gerados pela irradiação de alimentos.

### Referências

ABREU, V.K.G.; PEREIRA, A.L.F.; VIDAL, T.F.; ZAPATA, J.F.F.; SOUZA NETO, M.A.; FREITAS, E.R. Fatty acids, cholesterol, oxidative rancidity, and color of irradiated shrimp. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 30, n. 4, p. 969-973, 2010.

ABREU, V.K.G.; ZAPATA, J.F.F.; FIGUEIREDO, E.A.T.; GARRUTI, D.S.; FREITAS, E.R.; PEREIRA, A.L.F.; BRAGA, A.R.C. Gamma irradiation on frozen and packaged headed shrimp. **Journal of Food Quality**, Westport, v. 32, p. 425-435, 2009.

ABREU, M.G.; FREITAS, M.Q.; OLIVEIRA DE JESUS, E.F.; SÃO CLEMENTE, S.C.; FRANCO, R.M.; BORGES, A. Caracterização sensorial e análise bacteriológica do peixe-sapo (*Lophuis gastrophysus*) refrigerado e irradiado. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 38, n. 2, p. 498-503, 2008.

AYUSO, R.; GRISHINA, G.; BARDINA, L.; CARRILLO, T.; BLANCO, C.; IBÁÑEZ, M.D.; SAMPSON, H.A.; BEYER, K. Myosin Light Chain is a novel shrimp allergen, Lit v 3. **Journal of Allergy Clinical and Immunology**, St. Louis, v. 122, n. 4, p. 795-802, 2008.

BESLER, M.; STEINHART, H.; PASCHKE, A. Stability of food allergens and allergenicity of processed oods. **Journal Chromatography B**, Amsterdam, v. 756, p. 207-228, 2001.

BRADFORD, M.M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, New York, v. 72, p. 248-254, 1976.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional da Vigilância Sanitária. Resolução - RDC nº 12, 2 de janeiro de 2001. Regulamento técnico sobre padrões microbiológicos em alimentos. **Diário Oficial da União. Poder Executivo**, Brasília, DF, 10 jan. 2001. Disponível em: [http://www.aguaseguas.com.br/index.php?option=com\\_content&view=article&id=292:resolucao-anvisa-rdc-no-12-de-2-de-janeiro-de-2001&catid=75:legislacao-anvisa-ms&Itemid=254](http://www.aguaseguas.com.br/index.php?option=com_content&view=article&id=292:resolucao-anvisa-rdc-no-12-de-2-de-janeiro-de-2001&catid=75:legislacao-anvisa-ms&Itemid=254). Acesso em: 5 dez. 2004.

BYUN, M.W.; LEE, J.W.; YOON, H.S.; JO, C.R.; KIM, H.Y. Application of gamma irradiation for inhibition of food allergy. **Radiation Physics and Chemistry**, Oxford, v. 63, n. 3-6, p. 369-370, 2002.

BYUN, M.W.; KIM, J.H.; LEE, J.W.; PARK, J.W.; HONG, C.S.; KANG, I.J. Effects of gamma radiation on the conformational and antigenic properties of a heat-stable major allergen in brown shrimp. **Journal of Food Protection**, Ames, v. 63, n. 7, p. 940-944, 2000.

CHOULIARA, I.; SAVVAIDIS, I.N.; PANAGIOLAKIS, N.; KONTOMINAS, M.G. Preservation of salted, vacuum-packaged, refrigerated sea bream (*Sparus aurata*) fillets by irradiation: microbiological, chemical and sensory attributes. **Food Microbiology**, London, v. 21, p. 351-359, 2004.

ELDERFIELD, A.J.; SCHUURMAN, J.; AALBERSE, R.; SMITH, A.; WOODCOCK, A.; CHAPMAN, M.D. Absolute quantitation of mite allergen-specific IgE antibody levels by ELISA using a chimeric mouse Fab/human Fc epsilon antibody to Der p 2 [abstract]. **Journal of the Allergy and Clinical Immunology**, St. Louis, v. 97, p. 301, 1996.

FAO. **Fishery and Aquaculture Statistics**. Rome, 2008. Disponível em: <http://www.fao.org/docrep/013/i1890t/i1890t.pdf>. Acesso em: 14 out. 2011.

GARRISON, W.M. Reaction mechanism in the radiolysis of peptides, polypeptides, and proteins. **Chemical Review**, London, v. 87, p. 381-393, 1987.

HORWITZ, W. **Official methods of analysis of AOAC International**. 18. ed. Gaithersburg, Maryland: AOAC International, 2005.

ICHIKAWA, K.; IWASAKI, E.; BABA, M.; CHAPMAN, M.D. High prevalence of sensitization to cat allergen among Japanese children with asthma, living without cats. **Clinical and Experimental Allergy**, Oxford, v. 29, p. 754-61, 1999.

ISO. **ISO 6579**. Microbiology of food and animal feeding stuffs – Horizontal method for the detection of *Salmonella* spp. 4. ed. Geneva, 2002. Amendment 1: 15/07/07.

ISO. **ISO 6888-1**. Microbiology of food and animal feeding stuffs – Horizontal method for enumeration of coagulase positive staphylococci (*Staphylococcus aureus* and other species) – Part 1: Technique using Baird-Parker Agar medium. 1. ed. Geneva, 1999. Amendment 1: 2003.

KIRSCHNIK, P.G.; VIEGAS, E.M.M. Alterações na qualidade do camarão de água doce *Macrobrachium rosenbergii* durante estocagem em gelo. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 24, n. 3, p. 407-412, 2004.

LACROIX, M.L.; JOBIN, M.; LATREILLE, B.; NOUCHPRAMOOL, K.; GAGNON, M. The effect of gamma irradiation on physical and nutritional quality of *Penaeus monodon* shrimps. **Radiation Physics and Chemistry**, Oxford, v. 4/6, p. 731-737, 1995.

LACROIX, M.; JOBIN, M.; MEZGHENI, M. Polymerization of calcium caseinates solutions induced by gamma irradiation. **Radiation Physics and Chemistry**, Oxford, v. 52, p. 1-6, 1998.

LACROIX, M.; OUATTARA, B. Combined industrial processes with irradiation to assure innocuity and preservation of food products - a review. **Food Research International**, Essex, v. 33, n. 9, p. 719-724, 2000.

LEE, J.W.; SEO, J.H.; KIM, J.H.; LEE, S.Y.L.; BYUN, M.W. Comparison of changes of the antigenicities of a hen's egg albumin by a gamma and an electron beam irradiation. **Radiation Physics and Chemistry**, Oxford, v. 76, p. 879-885, 2007.

LEE, J.W.; YOON, H.S.; LEE, K.H.; KIM, J.H.; KIM, W.J.; BYUN, M.W. Conformational changes of myosin by gamma irradiation. **Radiation physics and chemistry**, Oxford, v. 58, p. 271-277, 2000.

LEE, J.W.; SEO, J.H.; KIM, J.H.; LEE, S.Y.; KIM, K.S.; BYUN, M.W. Changes of the antigenic and allergenic properties of a hen's egg albumin in a cake with gamma-irradiated egg white. **Radiation Physics and Chemistry**, Oxford, v. 72, p. 645-650, 2005.

MEILGAARD, M.; CIVILLE, G.V.; CARR, G. **Sensory evaluation techniques**. 3. ed. Boca Raton: CRC Press, 1999. 281 p.

MIYAGUSKU, L.; CHEN, F.; LEITÃO, M.F.F.; BAFFA, O. Avaliação microbiológica e sensorial da vida-útil de cortes de peito de frango irradiado. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 23, p. 7-16, 2003.

NAWAR, W.W. Volatiles from food irradiation. **Food Reviews International**, London, v. 2, p. 45-78, 1986.

OUATTARA, B.; SABATO, S.F.; LACROIX, M. Combined effect of antimicrobial coating and gamma irradiation on shelf life extension of pre-cooked shrimp (*Penaeus* spp.). **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v. 68, p. 1-9, 2001.

ÖZDEN, O.; ERKAN, N. Impacts of gamma radiation on nutrition on nutritional components of minimal processed cultured sea bass (*Dicentrarchus labrax*). **Iranian Journal of Fisheries Sciences**, Teerā, v. 9, n. 2, p. 265-278, 2010.

ÖZDEN, O.; INUGUR, M.; ERKAN, N. Effect of different dose gamma radiation and refrigeration on the chemical and sensory properties and microbiological status of aqua cultured sea bass (*Dicentrarchus labrax*). **Radiation Physics and Chemistry**, Oxford, v. 76, p. 1169-1178, 2007.

POOLE, S.R.; MITCHELE, G.E.; MAYSE, J.L. Low-doses irradiation affects microbiological and sensory quality of subtropical seafood. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 59, p. 85-87, 1994.

SANTOS, A.B.R.; CHAPMAN, M.D.; AALBERSE, R.C.; VAILES, L.D.; FERRIANI, V.P.L.; OLIVER, C.; RIZZO, M.C.; NASPITZ, C.K.; ARRUDA, L.K. Cockroachallergens and asthma in Brazil: Identification of tropomyosin as a major allergen with potential cross-reactivity with mite and shrimp allergens. **Journal of Allergy and Clinical Immunology**, St. Louis, v. 104, p. 329-337, 1999.

SCHUURMAN, J.; LOURENS, T.E.; PERDOK, G.J.; PARREN, P.W.H.I.; AALBERSE, R.C. Mouse/human chimeric IgE antibodies directed to the house dust mite allergen Der p 2. **International Archives Allergy and Immunology**, Basel, v. 107, p. 465-471, 1995.

SCHUURMAN, J.; PERDOK, G.J.; LOURENS, T.E.; PARREN, P.W.H.I.; CHAPMAN, M.D.; AALBERSE, R.C. Production of a mouse/human chimeric IgE monoclonal antibody to the house dust mite allergen Der p 2 and its use for the absolute quantification of allergen-specific IgE. **Journal of Allergy and Clinical Immunology**, St. Louis, v. 99, p. 545-550, 1997.

SHIMAKURA, K.; TOMOMURA, Y.; HAMADA, Y.; NAGASHIMA, Y.; SHIOMI, K. Allergenicity of crustacean extractives and its reduction by protease digestion. **Food Chemistry**, Barking, v. 91, p. 247-253, 2005.

SLETTEN, G.; VAN DO, T.; LINDVIK, H.; EGAAS, E.; FLORVAAG, E. Effects of Industrial processing on the immunogenicity of commonly ingested fish species. **Allergy and Immunology**, Philadelphia, v. 151, p. 223-236, 2010.

SINANOGLU, V.J.; BATRINO, A.; KONTELES, S.; SFLOMOS, K. Microbial population, physicochemical quality, and allergenicity of molluscs and shrimp treated with cobalt-60 gamma radiation. **Journal of Food Protection**, Ames, v. 70, n. 4, p. 958-966, 2007.

STATISTICAL ANALYSIS SYSTEM INSTITUTE. **Sas/Qc/Qc software**: usage and reference (version 6). 2. ed. Cary, NC, 1996. 1CD-ROM.

TODORIKI, S.; BARI, L.; KITTA, K.; OHBA, M.; ITO, Y.; TSUJIMOTO, Y.; KANAMORI, N.; YANO, E.; MORIYAMA, T.; KAWAMURA, Y.; KAWAMOTO, S. Effect of gamma-irradiation on the survival of *listeria monocytogenes* and allergenicity of cherry tomatoes. **Radiation Physics and Chemistry**, Oxford, v. 78, p. 619-621, 2009.

TROMBONE, A.P.; TOBIAS, K.R.; FERREANI, V.P.; SCHURIRMAN, J.J.; AALBERSE, R.C.; SMITH, A.M.; CHAPMAN, M.D.; ARRUDA, L.K. Use of a chimeric ELISA to investigate immunoglobulin E antibody responses to Der p1 and Der p2 in mite-allergic patients with asthma, wheezing and/or rhinitis. **Clinical and Experimental Allergy**, Oxford, v. 32, n. 9, p. 1323-8, 2002.

YAVUZ, Y.; KRISTINSSON, H.G.; BALABANC, M.O.; WELTD, B.A.; RAGHAVANA, S.; MARSHALLA, M.R. Correlation between astaxantin amount and a\* value in fresh Atlantic salmon (*Salmo salar*) muscle during different irradiation doses. **Food Chemistry**, Barking, v. 120, n. 1, p. 121-127, 2010.

WANG, H.; YANG, R.; LIU, Y.; ZHANG, W.; ZHAO, W.; ZHANG, Y.; HUA, X. Effects of low doses gamma irradiation on microbial inactivation and physicochemical properties of fried shrimp (*Penaeus vannamei*). **International Journal of Food Science and Technology**, Malden, v. 45, p. 1088-1096, 2009.

WITTEMAN, A.M.; AKKERDAAS, J.H.; VAN LEEUWEN, J.; VAN DER ZEE, J.S.; AALBERSE, R.C. Identification of a cross-reactive allergen (presumably tropomyosin) in shrimp, mite and insects. **International Archives of Allergy and Immunology**, Basel, v. 105, n.1, p. 56-61, 1994.

ZHENXING, L.; HONG, L.; LIMIN, C.; JAMIL, K. The influence of gamma irradiation on the allergenicity of shrimp (*Penaeus vannamei*). **Journal of Food Engineering**, London, v. 79, p. 945-949, 2007.

#### 4 EFEITO DA RADIAÇÃO GAMA NA FRAÇÃO LIPÍDICA E REATIVIDADE ALERGÊNICA A CAMARÃO (*LITOPENAEUS VANNAMEI*)

##### RESUMO

A hipersensibilidade a alimentos é muito comum em crianças e adultos. O camarão, apesar de muito apreciado, é um alimento potencialmente capaz de desencadear reações alérgicas em indivíduos geneticamente predispostos. O principal alérgeno em camarão é a tropomiosina. O objetivo desse experimento foi avaliar o efeito de diferentes doses de radiação gama e reatividade alérgica a camarão-branco-do-pacífico (*L. vannamei*) e verificar se essas doses alteraram sua fração lipídica. As amostras foram constituídas de camarões descongelados e liofilizados, submetidos a diferentes doses de radiação gama (5; 10 e 15 kGy) e o controle sem irradiação. Determinou-se o peso molecular e a reatividade IgE através de eletroforese, “imunoblotting” e densitometria. Foram realizadas análises de teor total de lipídeos, colesterol e TBA. Os resultados observados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ). Observou-se redução da reatividade IgE em camarões descongelados, irradiados com as doses de 5 e 15 kGy. Camarões liofilizados tiveram reatividade IgE aumentada com as doses de 10 e 15 kGy. A radiação gama não causou modificações significativas no conteúdo de colesterol, total de lipídeos, umidade e oxidação lipídica, que compromettesse a qualidade do produto. Entretanto essas doses, não podem ser indicadas para o controle de alérgenos em camarões, por terem apresentado baixo impacto na modificação da estrutura protéica alérgica.

**Palavras-chaves:** camarão, irradiação de alimentos, raio gama, alergia alimentar camarão, irradiação de alimentos, raio gama, alergia alimentar.

## ABSTRACT

Hypersensitivity to food is very common in children and adults. The shrimp is highly appreciated, although potentially able to cause allergic reactions in genetically predisposed individuals. Tropomyosin is the major shrimp allergen. This study investigated the effects of different doses of gamma radiation on the lipid fraction and allergenic reactivity of the Pacific white shrimp (*L. vannamei*). The samples were composed of thawed and freeze-dried shrimp, subjected to different doses of gamma radiation (5.0, 10.0 and 15.0 kGy). The allergenic reactivity was determined by electrophoresis, immunoblotting and densitometry. We performed analysis of the total contents of lipids, cholesterol and thiobarbituric acid (TBA). Results were subjected to the variance analysis (ANOVA) and Tukey test ( $p \leq 0.05$ ). The gamma radiation at the doses applied caused no changes in the cholesterol content, total lipids, moisture and lipid oxidation that could compromise the quality of the product. There was a reduction in the IgE reactivity of thawed and irradiated shrimp with doses of 5 and 15 kGy. The IgE reactivity in freeze-dried shrimp increased with doses of 10 and 15 kGy. Gamma irradiation at these doses is not indicated for the control of allergens in shrimps, because they have low impact on the modification of the allergenic protein structure.

**Keywords:** shrimp, food irradiation, gamma ray, shrimp food allergy, food irradiation, food allergy.

## 4.1 Introdução

A irradiação de alimentos é um tratamento que utiliza raios eletromagnéticos ou elétrons capazes de preservar por um longo período a qualidade e a segurança dos alimentos. A radiação gama, dependendo da dose, destrói contaminantes microbianos, incluindo os microrganismos de decomposição, aumentando a vida útil do pescado, diminuindo os riscos à saúde humana (CHOULIARA et al., 2004; ABREU et al., 2009; ABREU et al., 2010).

O pescado é uma importante fonte de alimento em todo mundo, seu consumo tem sido recomendado para a prevenção e durante o tratamento de acidentes cardio e cérebro-vasculares. Essas recomendações fundamentam-se no papel benéfico da fração lipídica do pescado (rica em ácidos graxos polinsaturados da família  $\omega 3$ ) sobre diferentes aspectos relacionados com o metabolismo lipoprotéico, como na formação de placas ateromatosas. Também há a possível função de alguns aminoácidos constituintes de sua proteína (lisina, metionina, tirosina, arginina, cistina, glicina e o coeficiente lisina/arginina) sobre o metabolismo do colesterol. Os ácidos graxos  $\omega 3$  atuam como antiinflamatório e antialérgico, diminuindo a agregação de placas e reduzindo a síntese de mediadores químicos da inflamação, ao mesmo tempo em que aumentam as defesas do organismo (VAZQUEZ; SÁNCHEZ-MUNIZ, 1994; SIERRA et al., 2004).

A oxidação lipídica é uma significativa alteração em pescado, definindo sua vida útil à medida que gera produtos indesejáveis, destrói vitaminas lipossolúveis e ácidos graxos essenciais (RAHARJO; SOFOS; SCHMIDT, 1992; TARLADGIS et al., 1960). É responsável pela incidência de “off-flavor”, “off-odor” e “warmed-over flavor” relacionados à oxidação lipídica em carnes (FERNÁNDEZ; PÉREZ-ÁLVAREZ; FERNÁNDEZ-LÓPES, 1997). O teste de rancidez oxidativa pelas substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBA) é um indicador de produtos secundários formados durante o processo oxidativo, quantificando o malonaldeído, um dos principais produtos de decomposição dos hidroperóxidos de ácidos graxos poliinsaturados. A rancidez é o efeito sensorial mais perceptível quando lipídeos são irradiados na presença de oxigênio (YERLIKAYA; GOKOGLU, 2010; RAHARJO; SOFOS; SCHMIDT, 1992; TARLADGIS et al., 1960, VENUGOPAL; DOKE; THOMAS, 1999). Diversos fatores provocam a oxidação do colesterol e

consequente formação de óxidos de colesterol. Entre estes fatores, o calor, a luz, a radiação, o oxigênio, a umidade, o pH, agentes oxidantes e temperatura de estocagem podem favorecer a formação desses compostos. Processos como o pré-cozimento, liofilização, desidratação e irradiação também são reportados como causadores de óxidos de colesterol em alimentos (SAVAGE; DUTTA; RODRIGUEZ-ESTRADA, 2002).

Estima-se que aproximadamente de 3,5 a 4% da população mundial sofram de algum tipo de alergia alimentar. Com o aumento da produção e consumo de pescado, mais casos de reações adversas a esse produto têm sido reportados, exigindo diagnósticos e tratamentos mais específicos. Os crustáceos são a terceira causa de anafilaxia induzida por alimentos, estando atrás somente de amendoins e nozes (KANDYIL; DAVIS, 2009; RAHMAN et al., 2010).

A alergenicidade das proteínas depende da sequência de aminoácidos capaz de induzir a produção de anticorpos IgE. A tropomiosina é o principal alergênico em frutos do mar, especialmente em crustáceos e moluscos. Regiões diferentes da tropomiosina de camarão (aproximadamente 35 kDa) ligam-se a anticorpos IgE, desencadeando reações alérgicas em indivíduos predispostos. Outras proteínas, como a miosina (20 kDa) e a “arginine kinase” (40 kDa), também podem ser precursoras de respostas alérgicas (LOPATA; O’HEHIR; LEHRER, 2010, RAHMAN et al., 2010). A maioria dos alérgenos é muito estável quando processados. Entretanto, a tecnologia de irradiação de alimentos pode alterar a estrutura dos epítopes presentes nos alérgenos de ovos, camarões, lulas, polvos, peixes e leite (BYUN et al., 2002; BYUN et al., 2000; LEE et al., 2005; SINANOGLU et al., 2007).

Apesar de muito eficaz no aumento da vida útil e segurança dos alimentos, a radiação gama, dependendo da dose, pode causar alterações indesejáveis nos alimentos. O objetivo desse experimento foi avaliar os efeitos de diferentes doses de radiação gama na fração lipídica e reatividade alergênica de camarão-branco-do-pacífico (*Litopenaeus vannamei*).

## **4.2 Material e Métodos**

### **4.2.1 Preparo das amostras**

As amostras foram adquiridas congeladas, diretamente de uma empresa distribuidora de pescado. Parte das amostras foi mantida sob refrigeração ( $\pm 7^{\circ}$  C) até o descongelamento e posterior irradiação e parte foi liofilizada (liofilizador EC Modulyo/EC Apparatus Inc.) e depois irradiada. Após a liofilização, houve perda de umidade no camarão de aproximadamente 76%.

### **4.2.2 Irradiação das amostras**

As amostras descongeladas foram transportadas em caixas isotérmicas com gelo e as liofilizadas em embalagens plásticas em temperatura ambiente até a planta de irradiação, onde foram empregadas as doses de radiação de 5, 10 e 15 kGy, mantendo-se amostras-controle sem irradiação. Utilizou-se para a irradiação um irradiador multipropósito, semi-industrial de  $^{60}\text{Co}$ . A taxa de dose empregada foi de 7,5 kGy/hora.

### **4.2.3 Preparo dos concentrados protéicos**

Pesaram-se aproximadamente 5g de camarão fresco e 15g de camarão liofilizado para cada tratamento. As amostras foram fervidas por 7 minutos em água Milli-Q e homogeneizadas (Politron PT) com 20 mL de PBS (20%), permanecendo sob agitação por uma noite a  $4^{\circ}\text{C}$ . Foram então centrifugadas por 15 minutos a 6000 rpm. Os sobrenadantes foram retirados e as amostras submetidas ao processo de sonicação por 3 ciclos de 10 minutos para promover o rompimento de células e quebra de moléculas de DNA por meio de ondas sonoras de alta frequência. As amostras foram centrifugadas novamente a 13200 rpm a  $4^{\circ}\text{C}$  por uma hora. Retirou-se novamente o sobrenadante e realizou-se quantificação de proteína pelo método de Bradford (1976).

#### **4.2.4 Eletroforese e imunoblotting**

Utilizou-se para o “imunoblotting”, 6 soros de pacientes alérgicos a camarão provenientes do ambulatório de Alergia Alimentar do Serviço de Imunologia Clínica e Alergia do Hospital das Clínicas, da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (FMUSP). Os soros foram armazenadas a -20°C até serem utilizados. Os perfis protéicos obtidos foram transferidos para membranas de nitrocelulose (Hybond-C Extra, Amersham) durante 1 h à temperatura ambiente. As membranas foram bloqueadas com PBS contendo 0,5% de Tween 20 e incubadas durante a noite a 8 ° C com os soros diluídos em tampão de bloqueio (1:10). Após lavagem com PBS-0.1% Tween 20, as membranas foram incubadas com anticorpo secundário (mouse IgG antihuman IgE), conjugado com peroxidase (1:10000, Zymed) durante 1 h à temperatura ambiente. Foram adicionados à membrana reagentes de detecção de quimiluminescência (ECL Chemiluminescence Reagent Plus Western - GE Healthcare), de acordo com instruções do fabricante. A membrana foi incubada com Hyperfilm film (GE Healthcare) em um X-ray cassete e submetida a uma revelação fotográfica convencional. A intensidade das bandas dos blots foram mensuradas através de “scanning densitometry”.

#### **4.2.5 Análises químicas**

As análises químicas de teor de umidade e lipídeos totais foram realizadas de acordo com AOAC (1990). O colesterol foi determinado segundo AOCS (1998), o perfil de ácidos graxos de acordo com Hartman e Lago (1973) e o TBA de acordo com Tarladgis (1960).

#### **4.2.6 Análise estatística**

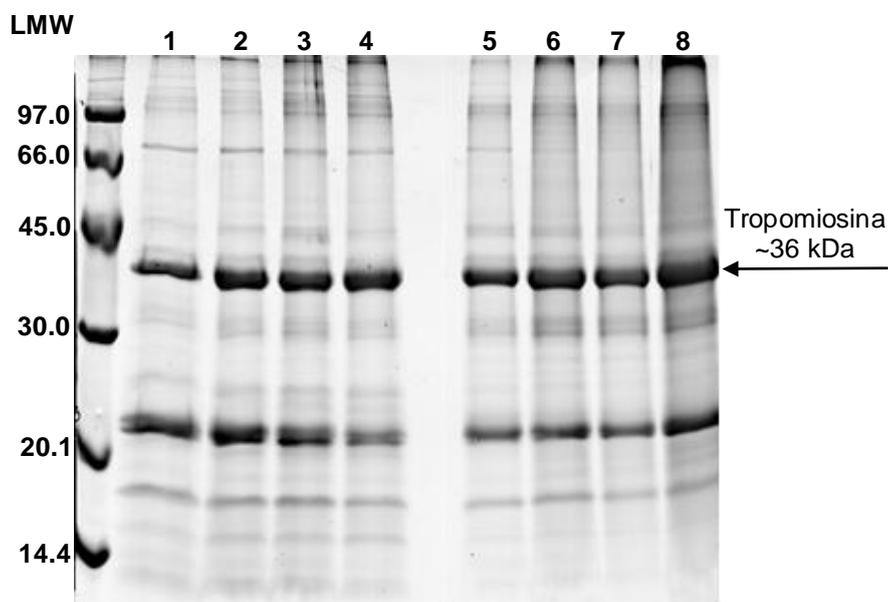
Os dados obtidos após o processamento analítico das amostras foram submetidos à análise de variância (ANOVA). Para verificar quais tratamentos, diferiram, foi aplicado o teste de Tukey (Teste T-Teste de mínima diferença

estatística) para realizar comparações pareadas das médias dos tratamentos estabelecendo-se o nível mínimo de significância de 5% ( $p \leq 0,05$ ). Foi utilizado o software SAS Institute (SAS INSTITUTE, 1996).

## 4.3 Resultados e Discussão

### 4.3.1 Eletroforese

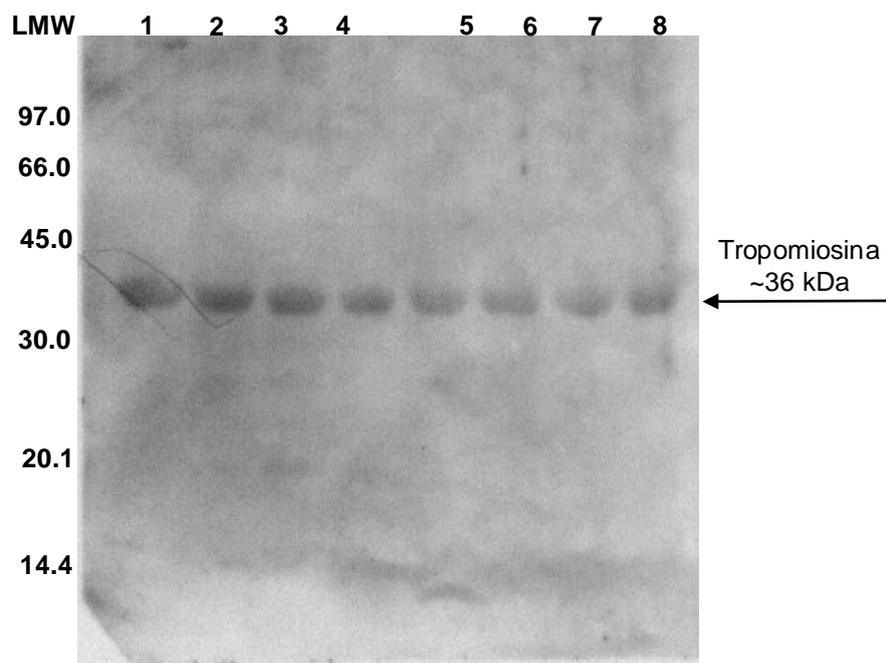
Através da eletroforese em gel 1D observou-se o peso molecular (KD) das bandas protéicas dos extratos brutos de *Litopenaeus vannamei*. Nota-se que a principal proteína observada foi a tropomiosina, com peso molecular aproximado de 36 kDa (Figura 5).



**Figura 5.** Peso molecular (KD) das bandas protéicas dos extratos brutos de *Litopenaeus vannamei*. 1: camarão *in natura* não irradiado, 2: camarão *in natura* irradiado com 5 kGy; 3: camarão *in natura* irradiado com 10 kGy; 4: camarão *in natura* irradiado com 15 kGy; 5: camarão liofilizado não irradiado; 6: camarão liofilizado irradiado com 5 kGy; 7: camarão liofilizado irradiado com 10 kGy; 8: camarão liofilizado irradiado com 15 kGy.

### 4.3.2 Immunoblotting e densitometria

Os extratos protéicos apresentaram alta reatividade imunológica para o IgE do soro dos pacientes em todos os tratamentos (Figura 6). Os blots foram então escaneados e tiveram a intensidade das bandas mensuradas por densitometria. O alérgeno teve sua capacidade de ligação com o IgE reduzida pela radiação gama dependendo do tratamento. Foram observadas maiores reduções em camarões descongelados, irradiados com as doses de 5 e 15 kGy. Nos camarões liofilizados, houve aumento da reatividade IgE com as doses de 10 e 15 kGy (Figura 6 e Tabela 8).



**Figura 6** - Resultados do imunoblot. 1: camarão descongelado não-irradiado, 2: camarão descongelado irradiado com 5 kGy; 3: camarão descongelado irradiado com 10 kGy; 4: camarão descongelado irradiado com 15 kGy; 5: camarão liofilizado não-irradiado; 6: camarão liofilizado irradiado com 5 kGy; 7: camarão liofilizado irradiado com 10 kGy; 8: camarão liofilizado

Tabela 8 - Alergenicidade de extracto de proteína de camarão tratado com radiação gama determinada por ensaio de imunoblot.

Soro	Doses de radiação gama (kGy) em camarão descongelado				Doses de radiação gama (kGy) em camarão liofilizado			
	NI	5	10	15	NI	5	10	15
1	100	84.38	97.65	94.16	119.93	116.06	146.49	171.68
2	100	82.04	82.53	83.44	78.82	74.55	89.09	85.76
3	100	60.64	103.72	68.06	97.27	83.06	94.26	89.08
4	100	77.99	89.75	75.11	67.67	65.63	92.17	99.51
5	100	95.52	84.61	72.39	97.60	71.27	91.11	127.96
6	100	89.50	111.42	94.71	132.45	135.31	103.00	92.87
Média	100 <sup>a</sup>	81.68 <sup>b</sup>	94.95 <sup>ab</sup>	81.40 <sup>b</sup>	98.97 <sup>a</sup>	90.98 <sup>b</sup>	102.69 <sup>b</sup>	111.14 <sup>b</sup>

NI: controle não-irradiado

Unidades obtidas por densitometria em scanner

A irradiação de alimentos, quando aplicada em camarões, demonstrou em alguns trabalhos ser efetiva na redução da reatividade IgE (BYUN et al., 2002; SINANOGLU et al., 2007). Em estudo realizado por Sinanoglou et al. (2007), após o tratamento com 4,7 kGy, a concentração do alérgeno diminuiu para níveis não detectáveis em lulas, polvos e camarões. Zhenxing et al. (2007) reportaram que a irradiação em extratos protéicos de camarão promoveu decréscimo na reatividade IgE, mensurada por “Imunoblotting” e Ci-ELISA, quanto maior a dose de radiação. Entretanto, esses mesmos autores observaram aumento da reatividade IgE com doses de radiação inferiores a 10 kGy em músculos de camarões.

Muitos pacientes alérgicos a camarões apresentam IgE específico para a tropomiosina, que pode ligar-se ao IgE através de epítopes. A irradiação pode ocasionar agregação de aminoácidos livres e proteínas, alterando os epítopes, gerando o não-reconhecimento da proteína pelos anticorpos IgE (LACROIX; JOBIN; MEZGHENI, 1998; BYUN et al., 2002). A reatividade IgE pode diminuir ou aumentar em alimentos processados com a destruição ou com a formação de novos epítopes (BESLER; STEINHART; PASCHKE, 2001). No caso dessa pesquisa, o emprego da radiação gama reduziu a reatividade IgE ( $p < 0,05$ ) nos camarões descongelados e em camarões liofilizados e irradiados com 5 kGy. Essa redução variou de 5,05 a 18,6 %, não se mostrando, portanto, ser uma tecnologia eficaz no controle de alérgenos em camarões.

### 4.3.3 TBA, Colesterol, Umidade e Lipídeos Totais

Em camarões descongelados e irradiados, observou-se maior concentração de malonaldeído em relação ao controle não-irradiado. Camarões liofilizados apresentaram aumento da oxidação lipídica com o aumento das doses de radiação gama (Tabela 9). Maiores valores de TBA em amostras irradiadas em relação ao controle são reportados por outros autores (CHOULIARA et al., 2004; COZZO; OETTERER; GALLO, 2003; JEEVANANDAM et al., 2001). Isso ocorre através da formação de altas concentrações de radicais livres no substrato irradiado (CHOULIARA et al., 2004). Os resultados encontrados (menos que 3 mg de malanoaldeído.kg<sup>-1</sup>) sugerem que a radiação gama nas doses aplicadas não causou oxidação lipídica que comprometesse a qualidade do produto (CADUN; KISLA; CAKLI, 2008).

Apesar do colesterol, como lipídeo insaturado, estar normalmente sujeito à oxidação em decorrência do processamento, não se observou nesse estudo diferença estatística significativa entre os tratamentos para camarões descongelados e liofilizados ( $p>0,05$ ) (Tabela 9). O mesmo ocorreu em relação ao conteúdo de umidade e lipídeo total das amostras. Esses resultados são semelhantes aos observados por Abreu et al. (2010) em camarões irradiados com 2, 4 e 6 kGy. Os óxidos de colesterol, apesar de nocivos à saúde humana, estão presentes em nossa dieta sendo identificados em alimentos com alto conteúdo de colesterol como é o caso dos camarões. As doses de radiação aplicadas nesse experimento não modificaram a quantidade de colesterol presente nas amostras, indicando que não houve a formação desses óxidos a partir desse lipídeo.

Tabela 9 - TBA (mg de malanoaldeído.kg<sup>-1</sup>), colesterol (mg.100g<sup>-1</sup>), umidade (g.100g<sup>-1</sup>) e lipídeo total (g.100g<sup>-1</sup>) em camarões (*Litopenaeus vannamei*) irradiados

Análise	Camarão descongelado – Dose (kGy)				Camarão liofilizado – Dose (kGy)**			
	NI*	5	10	15	NI*	5	10	15
TBA	0,12 <sup>b</sup>	0,17 <sup>a</sup>	0,16 <sup>a</sup>	0,18 <sup>a</sup>	0,15 <sup>d</sup>	0,30 <sup>c</sup>	0,49 <sup>b</sup>	0,61 <sup>a</sup>
Colesterol	105,00 <sup>a</sup>	98,00 <sup>a</sup>	103,00 <sup>a</sup>	96,67 <sup>a</sup>	89,00 <sup>a</sup>	100,00 <sup>a</sup>	93,00 <sup>a</sup>	82,67 <sup>a</sup>
Umidade	82,16 <sup>a</sup>	82,86 <sup>a</sup>	83,19 <sup>a</sup>	82,18 <sup>a</sup>	5,56 <sup>a</sup>	5,15 <sup>a</sup>	5,30 <sup>a</sup>	5,27 <sup>a</sup>
Lipídeo Total	0,40 <sup>a</sup>	0,44 <sup>a</sup>	0,45 <sup>a</sup>	0,53 <sup>a</sup>	0,68 <sup>a</sup>	0,66 <sup>a</sup>	0,71 <sup>a</sup>	0,58 <sup>a</sup>

\*Controle não-irradiado

\*\* Resultados de colesterol e lipídeos totais convertidos para amostra úmida

#### 4.3.4 Perfil de ácidos graxos

O ácido graxo saturado encontrado em maior quantidade na porção lipídica total dos camarões foi o palmítico, seguido do esteárico (Tabela 10). O mais abundante monoinsaturado encontrado foi o ácido oléico. Os ácidos eucosapentaenóico (EPA), docosahexaenóico (DHA), linoléico e araquidônico foram identificados como os ácidos graxos poliinsaturados encontrados em maior quantidade nos camarões estudados. Resultados semelhantes foram encontrados em moluscos e camarões irradiados com 2,5 e 4,7 kGy (SINANOGLU et al., 2007).

Para os camarões descongelados, foi encontrada diferença estatística significativa de acordo com as doses de radiação apenas nos ácidos palmítico, palmitoleico e t-vacênico. Nesse caso, o emprego de maiores doses de radiação ocasionou o aumento desses ácidos graxos. Nos camarões liofilizados, apenas os ácidos láurico, esteárico e behênico apresentaram diferença significativa entre os tratamentos. Observou-se maior valor de ácido láurico para a dose de 15 kGy e menores valores dos ácidos esteárico e behênico com o aumento da dose de radiação (Tabela 9). Abreu et al. (2010) também observaram maiores valores do ácido palmitoléico em camarões irradiados com 6 kGy. Observou-se aumento dos valores de ácidos graxos saturados a partir do emprego da dose de 10 kGy para os camarões descongelados. O mesmo não ocorreu no caso dos camarões liofilizados, devido às maiores alterações ocorrerem em alimentos com maior teor de umidade.

Não se observou modificações significativas no conteúdo total de ácidos graxos monoinsaturados e poliinsaturados, tanto nos camarões descongelados quanto nos liofilizados (Tabela 10). Sinanoglu et al. (2007) e Abreu et al. (2010) também não encontraram diferenças na quantidade de ácidos graxos  $\omega$ 3 e  $\omega$ 6 e na relação  $\omega$ 3: $\omega$ 6 em camarões irradiados com as doses de 2,5 e 4,7 kGy e 2, 4 e 6 kGy, respectivamente. O mesmo foi observado em mackerel (*Trachurus mediterraneus*) irradiado com 1 e 2 kGy (MBARKI; SADOK; BARKALLAH, 2009) e em truta (*Oncorhynchus mykiss*) irradiada com 1, 3 e 5 kGy (ORAEI et al., 2011). Özden e Erkan (2010) reportaram maiores valores do total de ácidos graxos poliinsaturados em amostras de “sea bass” (*Diacentrarchus labrax*) irradiadas (2,5 e 5 kGy) em relação ao controle não-irradiado.

Os crustáceos apresentam baixo conteúdo de ácidos graxos saturados e são boas fontes de  $\omega 3$ . O consumo de EPA está associado com a proteção à saúde cardiovascular por exercer efeitos hipotriglicéricos, hipocolesterolêmicos e antiinflamatórios. O DHA está associado ao desenvolvimento e às funções dos sistemas nervoso e visual (VALENZUELA, 2005; VALENZUELA; SANHUEZA, 2009). Sendo assim, os resultados encontrados nesse experimento (Tabela 10) sugerem que a radiação gama nas doses empregadas não afetou negativamente o perfil de ácidos graxos dos camarões estudados, não comprometendo as propriedades funcionais naturais do conteúdo lipídico desse produto.

Tabela 10 - Perfil de ácidos graxos em camarões (*Litopenaeus vannamei*) submetidos a diferentes doses de radiação gama

Ácido graxo mg.100g <sup>-1</sup> de amostra	Camarão descongelado – Dose (kGy)				Camarão liofilizado – Dose (kGy)**			
	NI*	5	10	15	NI*	5	10	15
Láurico	0,0 <sup>a</sup>	0,0 <sup>a</sup>	0,0 <sup>a</sup>	0,0 <sup>a</sup>	0,0 <sup>a</sup>	0,0 <sup>a</sup>	0,0 <sup>a</sup>	1,4 <sup>b</sup>
Mirístico	2,0 <sup>a</sup>	3,1 <sup>a</sup>	3,1 <sup>a</sup>	4,7 <sup>a</sup>	6,1 <sup>a</sup>	5,0 <sup>a</sup>	5,8 <sup>a</sup>	4,2 <sup>a</sup>
Pentadecanóico	1,2 <sup>a</sup>	1,2 <sup>a</sup>	1,3 <sup>a</sup>	1,7 <sup>a</sup>	2,6	2,4 <sup>a</sup>	2,7 <sup>a</sup>	3,1 <sup>a</sup>
Palmítico	50,2 <sup>c</sup>	60,7 <sup>b</sup>	62,0 <sup>b</sup>	76,8 <sup>a</sup>	105,5 <sup>a</sup>	99,3 <sup>a</sup>	109,4 <sup>a</sup>	92,2 <sup>a</sup>
Esteárico	32,3 <sup>a</sup>	34,6 <sup>a</sup>	41,4 <sup>a</sup>	44,6 <sup>a</sup>	66,3 <sup>a</sup>	57,0 <sup>ab</sup>	68,7 <sup>a</sup>	52,9 <sup>b</sup>
Araquídico	0,0 <sup>a</sup>	0,6 <sup>a</sup>	1,2 <sup>a</sup>	0,0 <sup>a</sup>	1,6 <sup>a</sup>	1,5 <sup>a</sup>	1,5 <sup>a</sup>	1,3 <sup>a</sup>
Behênico	0,0 <sup>a</sup>	0,0 <sup>a</sup>	0,0 <sup>a</sup>	0,0 <sup>a</sup>	1,3 <sup>a</sup>	0,0 <sup>b</sup>	0,0 <sup>b</sup>	0,0 <sup>b</sup>
SATURADOS	85,7 <sup>b</sup>	100,2 <sup>b</sup>	109,0 <sup>ba</sup>	127,9 <sup>a</sup>	183,5 <sup>ab</sup>	165,2 <sup>ac</sup>	188,1 <sup>a</sup>	155,1 <sup>c</sup>
Palmitoléico	4,5 <sup>a</sup>	5,0 <sup>a</sup>	4,3 <sup>a</sup>	7,5 <sup>b</sup>	7,6 <sup>a</sup>	9,2 <sup>a</sup>	10,4 <sup>a</sup>	6,7 <sup>a</sup>
Elaídico	0,9 <sup>a</sup>	3,6 <sup>a</sup>	10,4 <sup>a</sup>	6,0 <sup>a</sup>	4,5 <sup>a</sup>	2,1 <sup>a</sup>	3,7 <sup>a</sup>	3,6 <sup>a</sup>
t-vacênico	0,9 <sup>b</sup>	1,3 <sup>ba</sup>	2,1 <sup>a</sup>	1,9 <sup>ba</sup>	3,1 <sup>a</sup>	2,1 <sup>a</sup>	3,6 <sup>a</sup>	1,8 <sup>a</sup>
Oléico	62,2 <sup>a</sup>	76,0 <sup>a</sup>	85,6 <sup>a</sup>	92,4 <sup>a</sup>	122,4 <sup>a</sup>	116,8 <sup>a</sup>	146,6 <sup>a</sup>	91,7 <sup>a</sup>
Vacênico	6,6 <sup>a</sup>	7,6 <sup>a</sup>	7,1 <sup>a</sup>	8,6 <sup>a</sup>	10,5 <sup>a</sup>	11,0 <sup>a</sup>	11,2 <sup>a</sup>	9,3 <sup>a</sup>
Eicosanóico	2,2 <sup>a</sup>	2,1 <sup>a</sup>	2,5 <sup>a</sup>	3,0 <sup>a</sup>	3,7 <sup>a</sup>	4,0 <sup>a</sup>	3,5 <sup>a</sup>	2,6 <sup>a</sup>
MONOINSATURADOS	77,4 <sup>a</sup>	95,7 <sup>a</sup>	111,9 <sup>a</sup>	119,5 <sup>a</sup>	151,8 <sup>a</sup>	145,1 <sup>a</sup>	179,0 <sup>a</sup>	115,8 <sup>a</sup>
Linoléico	24,0 <sup>a</sup>	23,8 <sup>a</sup>	23,3 <sup>a</sup>	26,2 <sup>a</sup>	33,8 <sup>a</sup>	46,8 <sup>a</sup>	39,4 <sup>a</sup>	38,2 <sup>a</sup>
Alfa-linolênico	1,1 <sup>a</sup>	1,8 <sup>a</sup>	3,1 <sup>a</sup>	2,2 <sup>a</sup>	1,5 <sup>a</sup>	2,4 <sup>a</sup>	1,9 <sup>a</sup>	1,9 <sup>a</sup>
EPA	29,4 <sup>a</sup>	26,5 <sup>a</sup>	18,8 <sup>a</sup>	26,2 <sup>a</sup>	26,5 <sup>a</sup>	26,4 <sup>a</sup>	20,2 <sup>a</sup>	21,5 <sup>a</sup>
Araquidônico	7,5 <sup>a</sup>	6,7 <sup>a</sup>	5,1 <sup>a</sup>	7,3 <sup>a</sup>	9,7 <sup>a</sup>	10,4 <sup>a</sup>	8,7 <sup>a</sup>	8,8 <sup>a</sup>
DHA	27,9 <sup>a</sup>	23,4 <sup>a</sup>	16,5 <sup>a</sup>	21,1 <sup>a</sup>	21,4 <sup>a</sup>	22,7 <sup>a</sup>	17,5 <sup>a</sup>	17,1 <sup>a</sup>
POLIINSATURADOS	89,9 <sup>a</sup>	82,2 <sup>a</sup>	66,8 <sup>a</sup>	82,9 <sup>a</sup>	93,1 <sup>a</sup>	108,7 <sup>a</sup>	87,6 <sup>a</sup>	87,5 <sup>a</sup>
Total de $\omega 3$	58,4 <sup>a</sup>	51,7 <sup>a</sup>	38,4 <sup>a</sup>	49,4 <sup>a</sup>	49,5 <sup>a</sup>	51,5 <sup>a</sup>	39,6 <sup>a</sup>	40,5 <sup>a</sup>
Total $\omega 6$	31,5 <sup>a</sup>	30,6 <sup>a</sup>	28,4 <sup>a</sup>	33,5 <sup>a</sup>	43,6 <sup>a</sup>	57,1 <sup>a</sup>	48,1 <sup>a</sup>	47,0 <sup>a</sup>
$\omega 3:\omega 6$	1,85 <sup>a</sup>	1,69 <sup>a</sup>	1,35 <sup>a</sup>	1,47 <sup>a</sup>	1,14 <sup>a</sup>	0,90 <sup>a</sup>	0,82 <sup>a</sup>	0,86 <sup>a</sup>
Trans-isômeros	1,8 <sup>a</sup>	4,9 <sup>a</sup>	12,4 <sup>a</sup>	7,9 <sup>a</sup>	7,6 <sup>a</sup>	4,1 <sup>a</sup>	7,3 <sup>a</sup>	5,4 <sup>a</sup>
NÃO IDENTIFICADOS	27,0 <sup>a</sup>	29,9 <sup>a</sup>	27,3 <sup>a</sup>	40,7 <sup>a</sup>	47,2 <sup>a</sup>	42,3 <sup>a</sup>	42,2 <sup>a</sup>	47,6 <sup>a</sup>

\*Controle não-irradiado

\*\* Resultados convertidos para amostra úmida

#### 4.4 Conclusão

Os resultados obtidos nesse experimento indicam que a radiação gama, nessas doses, apesar de não causar modificações lipídicas que comprometam a qualidade do produto, não pode ser indicada para o controle de alérgenos em camarões, por ter apresentado baixo impacto na modificação da estrutura protéica alergênica de camarões.

#### Referências

ABREU, V.K.G.; ZAPATA, J.F.F.; FIGUEIREDO, E.A.T.; GARRUTI, D.S.; FREITAS, E.R.; PEREIRA, A.L.F.; BRAGA, A.R.C. Gamma irradiation on frozen and packaged headed shrimp. **Journal of Food Quality**, Westport, v. 32, p. 425-435, 2009.

ABREU, V.K.G.; PEREIRA, A.L.F.; VIDAL, T.F.; ZAPATA, J.F.F.; SOUZA NETO, M.A.; FREITAS, E.R. Fatty acids, cholesterol, oxidative rancidity, and color of irradiated shrimp. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 30, n. 4, p. 969-973, 2010.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists**. 15. ed. Arlington, 1990.

AMERICAN OIL CHEMISTS SOCIETY - AOCS. **Official methods and recommended practices of the American Oil Chemist's Society**. 5. ed. Champaign, 1998.

BRADFORD, M.M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, New York, v. 72, p. 248-254, 1976.

BYUN, M.W.; LEE, J.W.; YOON, H.S.; JO, C.R.; KIM, H.Y. Application of gamma irradiation for inhibition of food allergy. **Radiation Physics and Chemistry**, Oxford, v. 63, n. 3-6, p. 369-370, 2002.

BYUN, M.W.; KIM, J.H.; LEE, J.W.; PARK, J.W.; HONG, C.S.; KANG, I.J. Effects of gamma radiation on the conformational and antigenic properties of a heat-stable major allergen in brown shrimp. **Journal of Food Protection**, Ames, v. 63, n. 7, p. 940-944, 2000.

BESLER, M.; STEINHART, H.; PASCHKE, A. Stability of food allergens and allergenicity of processed foods. **Journal of Chromatography B.**, Amsterdam, v. 756, p.207-228, 2001.

CADUN, A.; KISLA, D.; CAKLI, S. Marination of deep-water pink shrimp with rosemary extract and the determination of its shelf-life. **Food Chemistry**, Barking, v. 109, p. 81-87, 2008.

CHOULIARA, I.; SAVVAIDIS, I.N.; PANAGIOLAKIS, N.; KONTOMINAS, M.G. Preservation of salted, vacuum-packaged, refrigerates sea bream (*Sparus aurata*) fillets by irradiation: microbiological, chemical and sensory attributes. **Food Microbiology**, London, v. 21, p. 351-359, 2004.

COZZO, A.Z.; OETTERER, M.; GALLO, C.R. Effects of irradiation and refrigeration on the nutrients and shelf-life of tilapia (*Oreochromis niloticus*). **Journal of Aquatic Food Product Technology**, New York, v. 12, n. 3, p. 85-102, 2003.

FERNÁNDEZ, J.; PÉREZ-ÁLVAREZ, J.A.; FERNÁNDEZ-LÓPEZ, J.A. Thiobarbituric acid test for monitoring lipid oxidation in meat. **Food Chemistry**, Barking, v. 59, n. 3, p. 345-353, 1997.

HARTMAN, L.; LAGO, R.C.A. Rapid preparation of fatty acids methyl esters. **Laboratory Practice**, London, v. 22, n. 8, p. 475-476, 1973.

JEEVANANDAM, K.; KAKATKAR, A.; DOKE, S.N.; BONGIRWAR, D.R.; VENUGOPAL, V. Influence of salting and gamma irradiation on the shelf-life extension of threadfin bream in ice. **Food Research International**, Essex, v. 34, p. 730-746, 2001.

JEEVANDAM, K.; KAKATKAR, A.; DOKE, S.N.; BONGIRWAR, D.R.; KANDYIL, R.M.; DAVIS, C.M. Shellfish allergy in children. **Pediatric Allergy and Immunology**, Copenhagen, v. 20, p. 408-414, 2009.

KANDYIL, R.M.; DAVIS, C.M. Shellfish allergy in children. **Pediatric Allergy and Immunology**, Copenhagen, v. 20, n. 5, p. 408-14, 2009.

LACROIX, M.; JOBIN, M.; MEZGHENI, M. Polymerization of calcium caseinates solutions induced by gamma irradiation. **Radiation Physics and Chemistry**, Oxford, v. 52, p. 1-6, 1998.

LEE, J.W.; SEO, J.H.; KIM, J.H.; LEE, S.Y.; KIM, K.S.; BYUN, M.W. Changes of the antigenic and allergenic properties of a hen's egg albumin in a cake with gamma-irradiated egg white. **Radiation Physics and Chemistry**, Oxford, v. 72, p. 645-650, 2005.

LOPATA, A.L.; O'HEHIR, R.; LEHRER, S.B. Shellfish allergy. **Clinical and Experimental Allergy**, Oxford, v. 40, p. 850-858, 2010.

ORAEI, M.; MOTALEBI, A.A.; HOSEINI, E.; JAVAN, S.; HEMMMASI, A.H. Effect of gamma irradiation on fatty acid composition of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fillets. **Iranian Journal of Fisheries Sciences**, Teerã, v. 10, n. 2, p. 276-282, 2011.

ÖZDEN, O.; ERKAN, N. Impacts of gamma radiation on nutrition on nutritional components of minimal processed cultured sea bass (*Dicentrarchus labrax*). **Iranian Journal of Fisheries Sciences**, Teerā, v. 9, n. 2, p. 265-278, 2010.

MBARKI, R.; SADOK, S.; BARKALLAH, I. Quality changes of the Mediterranean horse mackerel (*Trachurus mediterraneus*) during chilled storage: The effect of low-dose gamma irradiation. **Radiation Physics and Chemistry**, Oxford, v. 78, n. 4, p. 288-292, 2009.

RAHMAN, A.M.A.; KAMATH, S.; LOPATA, A.L.; HELLEUR, R.J. Analysis of the allergenic proteins in black tiger prawn (*Penaeus monodon*) and characterization of the major allergen tropomyosin using mass spectrometry. **Rapid Communications in Mass-Spectrometry**, London, v. 24, p. 2462-2470, 2010.

RAHARJO, S.; SOFOS, J.N.; SCHMIDT, G.R. Improved speed, specificity and limit of determination of an aqueous acid extraction thiobarbituric acid-C18 method for measuring lipid peroxidation in beef, **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 40, n. 11, p. 2182-2185, 1992.

STATISTICAL ANALYSIS SYSTEM INSTITUTE. **Sas/Qc/Qc software**: usage and referente (version 6). 2. ed. Cary, NC, 1996. 1 CD-ROM.

SAVAGE, G.P.; DUTTA, P.C.; RODRIGUEZ-ESTRADA, M.T. Cholesterol oxides: their occurrence and methods to prevent their generation in foods. **Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition**, Carlton South, v. 11, n. 1, p. 72-78, 2002.

SIERRA, S.; LARA-VILLOSLADA, F.; OLIVARES, M.; JIMÉNEZ, J.; BOZA, J.; XAUS, J. La expresión de IL-10 interviene en la regulación de la respuesta inflamatoria por los ácidos grasos omega 3. **Nutrición Hospitalaria**, Madrid, v. 9, n. 6, p. 376-382, 2004.

SINANOGLU, V.J.; BATRINO, A.; KONTELES, S.; SFLOMOS, K. Microbial population, physicochemical quality, and allergenicity of molluscs and shrimp treated with cobalt-60 gamma radiation. **Journal of Food Protection**, Ames, v. 70, n. 4, p. 958-966, 2007.

TARLADGIS, B.G.; WATTS, B.M.; YOUNATHAN, M.T.A. Destillation method for the quantitative determination of malonaldehyde in rancid foods. **The Journal of the American Oil Chemist's Society**, Champaign, v. 37, p. 44-48, 1960.

VALENZUELA, A.; SANHUEZA, J.C. Aceites de origen marino; su importancia en la nutrición y en la ciencia de alimentos. **Revista Chilena de Nutrición**, Santiago, v. 36, n. 3, p. 246-257, 2009.

VALENZUELA, B.A. El salmon: banquete de salud. **Revista Chilena de Nutrición**, Santiago, v. 32, n.1, p. 8-17, 2005.

VALENZUELA, A.; SANHUEZA, J.C. Aceites de origen marino; su importancia en la nutrición y en la ciencia de alimentos. **Revista Chilena de Nutrición**, Santiago, v. 36, n. 3, p. 246-257, 2009.

VÁZQUEZ, J.; SÁNCHEZ-MUNIZ, F.J. Revisión: proteína de pescado y metabolismo del colesterol. **Revista Española de Ciencia e Tecnología de Alimentos**, Madrid, v. 34, n. 6, p. 589-608, 1994.

VENUGOPAL, V. Influence of salting and gamma irradiation on the shelf-life extension of threadfin bream in ice. **Food Research International**, Essex, v. 34, p. 730-746, 2001.

VENUGOPAL, V.; DOKEA, S.N.; THOMAS, P. Radiation processing to improve the quality of fishery products. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, Palo Alto, v. 39, n. 5, p. 391-440, 1999.

VYNCKE, W. Direct determination of the thiobarbituric acid value in trichloroacetic acid extracts of fish as a measure of oxidative rancidity. **Fette, Seifen, Anstrichmittel**, New York, v. 72, p. 1084-1087, 1970.

YERLIKAYA, P.; GOKOGLU, N. Inhibition effects of green tea and grape seed extracts on lipid oxidation in bonito fillets during frozen storage. **International Journal of Food Science and Technology**, Malden, v. 45, p. 252-257, 2010.

ZHENXING, L.; HONG, L.; LIMIN, C.; JAMIL, K. The influence of gamma irradiation on the allergenicity of shrimp (*Penaeus vannamei*). **Journal of Food Engineering**, London, v. 79, p.945-949, 2007.

## 5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O pescado é uma importante fonte de alimento em todo mundo e com o aumento da sua produção e consumo mais casos de reações adversas tem sido reportados exigindo diagnósticos e tratamentos mais específicos.

Os resultados obtidos nessa pesquisa quando comparados aos resultados encontrados em literatura demonstram a necessidade da realização de novos estudos. Em trabalhos futuros são necessários novos testes com o extrato da proteína irradiada. Visando justamente a possível utilização da proteína modificada em imunoterapia. Durante a realização do projeto outros artigos científicos foram publicados sobre esse tema, mas esses ainda são insuficientes para a total compreensão dos efeitos da radiação gama na reatividade alergênica de camarões. A pesquisa contribuiu com a discussão do tema, uma vez que quando associado aos demais resultados encontrados em literatura sugere que ao irradiarmos um produto induzimos modificações ainda não totalmente compreendidas e controladas. Visto a gama de diferentes resultados encontrados nos artigos científicos publicados a partir de 2007. Quando se iniciou o projeto tinha-se em mente a elaboração de um produto livre de alergênicos, mas com a participação dos colaboradores das Faculdades de Medicina de São Paulo e Ribeirão Preto conseguimos vislumbrar a possibilidade e a importância de encontrarmos um novo imunógeno. Os resultados obtidos na pesquisa realizada e os observados na literatura demonstram que esse seria um caminho promissor para investigarmos os efeitos e aplicações das radiações ionizantes na alergia alimentar. Mais estudos com esse enfoque poderiam abrir uma nova e importante aplicação do uso da irradiação de alimentos relacionada à alergia alimentar, contribuindo para a promoção do uso da energia nuclear para fins pacíficos.

Esse projeto multidisciplinar proporcionou a utilização de métodos específicos para a determinação da tropomiosina nas amostras. O contato com os Professores Dr. Fabio Fernandes Morato Castro e Dr<sup>a</sup> Luisa Karla de Paula Arruda e Dr<sup>a</sup> Ariana Campos Yang nos permitiu a utilização de soros humanos na nossa pesquisa tornando nossos resultados mais condizentes com o nosso objetivo, facilitando a execução das análises e diminuindo o custo do projeto. O apoio dos nossos colaboradores da área médica nos fez compreender mais profundamente a questão

da alergia alimentar. Concluimos que é extremamente positivo unirmos as áreas de Alergia Alimentar e Ciência e Tecnologia de Alimentos. Esse foi um trabalho multidisciplinar realizado dessa forma por que contou com o apoio de pesquisadores extremamente capacitados e solícitos, que se dispuseram a me auxiliar nessa empreitada.