



AUTARQUIA ASSOCIADA À UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

**EFEITO DO PROCESSAMENTO POR IONIZAÇÃO, CALOR E
MICRO-ONDAS NA DEGRADAÇÃO DO ÁCIDO FÓLICO**

MICHEL MOZEIKA ARAÚJO

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

**Orientadora:
Profa. Dra. Anna Lucia Casañas Haasis Villavicencio**

**São Paulo
2012**

*Aos meus pais, João e Vera,
pelo amor eterno e apoio constante.*

AGRADECIMENTOS

À Dra. Anna Lucia C. H. Villavicencio por todos os ensinamentos, confiança e apoio durante esta longa jornada;

Ao Dr. Eric Marchioni por ter me recebido junto à “*Equipe de Chimie Analytique des Molécules Bioactives*” da Universidade de Strasbourg (UdS) e por ter contribuído enormemente no desenvolvimento deste projeto;

Ao Dr. Wilson Aparecido Parejo Calvo e a Dra. Margarida Hamada, pela presença constante e ajuda na resolução dos problemas do dia-a-dia;

Um “*merci*” especial à Martine Bergaentzlé e Minjie Zhao por compartilhar todo seu conhecimento e tempo e contribuir na conclusão deste trabalho;

Aos Drs. Françoise Bindler, Saïd Ennahar e Christophe Marcic pelo esclarecimento de dúvidas e constante troca de ideias;

Um “*merci*” também especial aos estagiários Emeline Hahn, Pierre Zimmermann, Thomas di Pascoli que me ajudaram tanto, tanto para o avanço da pesquisa;

Aos meus colegas de laboratório e amigos do lado brasileiro Patrícia, Renato, Gustavo, Flávio, Amanda, Eliana, Leila, Simone, Camilo, Priscila, Mariana pela presença diária e suporte quando precisei;

Aos meus amigos doutorandos do lado francês Etienne, Eli, Omar, Pierre, Celine, Erwann, Li, Matthieu, Remmelt e Gildas pelo constante suporte científico, pelos momentos de descontração passados juntos e lembranças que me deixam;

Aos meus também colegas de trabalho do lado francês Ali, Ines, Oscar Barbosa, Carole, Zhiang com quem compartilhei tantos momentos;

Aos alunos de iniciação científica que passaram pelo laboratório Citra, Tamime, Mathieu, Veronique, Myriam, Camille, Cyril pela compreensão e bom ambiente de trabalho;

À Aérial, em especial Florentz Kuntz, Alan Strasser e Dalal Aoude-Werner por cederem suas instalações para a realização das irradiações e Ludovic, Julie e Bernard por todo o suporte;

Aos secretários Marcos e Claudia e à “secrétaire” Myriam Benelhocibe pelo imprescindível auxílio nos assuntos administrativos;

À Divisão de Ensino do IPEN por ter ajudado a concretizar este projeto e viabilizar o doutorado sanduíche;

A todos os outros amigos que conquistei no IPEN e na UdS, importantes tanto nos momentos sérios como nos de descontração durante este período;

Aos demais profissionais do Centro de Tecnologia das Radiações, pós-graduandos e alunos de iniciação científica pelo convívio harmonioso e enriquecedor;

Aos meus pais, João e Vera, minha irmã Tamara, meu cunhado Lucas e minha *chérie* Fanny pelo constante apoio, paciência, estímulo e acima de tudo, pelo eterno amor incondicional;

À minha segunda família, Pascale, Jean-Marc, Claire, Karime, Paul-André por todo o suporte e por me fazer sentir “chez moi”;

Ao CNPq pela bolsa de doutorado concedida e auxílio que permitiram o desenvolvimento deste projeto;

À CAPES pela bolsa de doutorado sanduíche que permitiu um avanço substancial da minha pesquisa.

À todos os demais amigos, colegas e pessoas que me ajudaram neste caminho de forma direta ou indireta, um obrigado.

“O sucesso é o resultado do esforço e o esforço nos torna fortes”

(La réussite est au bout de l'effort et l'effort fait les forts)

Provérbio africano.

EFEITO DO PROCESSAMENTO POR IONIZAÇÃO, CALOR E MICRO-ONDAS NA DEGRADAÇÃO DO ÁCIDO FÓLICO

Michel Mozeika Araújo

RESUMO

Os folatos, vitaminas hidrossolúveis do grupo B estão envolvidos em importantes processos bioquímicos como a síntese e reparação de DNA. O metabolismo humano não é capaz de sintetizar folatos e necessita obtê-los da dieta. O ácido fólico (AF), vitâmero sintético e estável dos folatos, é usado para a fortificação de alimentos como farinha de trigo em função do baixo custo e grande biodisponibilidade. O AF compreende uma pterina, um ácido *p*-aminobenzóico e um ácido glutâmico. É um composto sensível, facilmente degradado em solução aquosa por luz ultravioleta e visível. O tratamento por ionização de alimentos elimina ou reduz patógenos e insetos, aumenta o tempo de estocagem e a vida de prateleira dos alimentos. A irradiação de alimentos utiliza elétrons acelerados, raios gama ou raios X. Os objetivos deste estudo foram avaliar os efeitos dos tratamentos com feixe de elétrons, térmico em estufa e em forno micro-ondas na degradação do AF em solução, suspensão e pó. Também foi desenvolvido um método de extração por solvente pressurizado do AF de farinha de trigo fortificada e de pães. Os diferentes processamentos degradaram o AF e os principais produtos de degradação foram identificados por LC/MS/MS como sendo: 6-carboxipterina (PCA), ácido *p*-aminobenzóico (PABA), *p*-aminobenzoil-L-ácido glutâmico (pABGA) e ácido pteróico (PA). Em soluções de AF irradiadas foram identificados novos radioprodutos: *n*-(4-nitrobenzoil)-L-ácido glutâmico (pNBGA), xantopterina (XA) e 2-amino-6-(hidroximetil)pteridina-4(1H)-one (AHMP). Uma extração completa do AF por solvente pressurizado foi realizada com sucesso em amostras de farinha de trigo fortificada e pães em apenas 15 minutos. A panificação reduziu em até 57% o teor de AF no produto final. Por outro lado, a irradiação de farinha de trigo fortificada com doses de radiação até 10 kGy não alterou o conteúdo de AF. Esta tecnologia mostrou-se eficaz para tratamento de farinha de trigo e poderia ser utilizada como medida fitossanitária.

IONIZING, HEAT AND MICROWAVE PROCESSING EFFECTS ON FOLIC ACID DEGRADATION

Michel Mozeika Araújo

ABSTRACT

Folates, water soluble vitamins of B group, are involved in important biochemical processes such as DNA synthesis and repair. The human metabolism is not able to synthesize folate and needs to get them from the diet. Folic acid, a synthetic and stable folate vitamer, is used in food fortification such as wheat flour due to the low cost and high bioavailability. Folic acid is composed of a pterin, the *p*-aminobenzoic acid and glutamate. This sensitive compound is easily degraded in aqueous solution by ultraviolet and visible light yielding various by-products. Ionizing radiation treatment of food reduces or eliminates pathogens and insects, increases food shelf life and storage. Irradiation is a food preserving process which uses accelerated electrons, gamma rays or X-rays. The objectives of this study were to evaluate the effects of electron beam treatment, heat treatment in oven and microwave in folic acid degradation in solution, in suspension and in powder. A pressurized solvent extraction method was also developed to folic acid fortified wheat flour and bread. The different processing degraded folic acid and the main degradation products were identified by LC/MS/MS as 6-carboxipterin (PCA), *p*-aminobenzoic acid (PABA), *p*-aminobenzoyl-L-glutamic acid (pABGA) and pteric acid (PA). In irradiated folic acid solutions were identified new radioproducts: *n*-(4-nitrobenzoyl)-L-glutamic acid (pNBGA), xanthopterin (XA) and 2-amino-6-(hydroxymethyl)-pteridine-4(1H)-one (AHMP). A complete extraction of folic acid by pressurized solvent extraction was successfully performed on samples of fortified wheat flour and bread in just 15 minutes. Bread manufacturing reduced up to 57% folic acid content in the final product. Irradiation up to 10 kGy did not alter folic acid content of fortified wheat flour. Irradiation technology proved to be effective for the treatment of fortified wheat flour and could be used as a phytosanitary measure.

SUMÁRIO

	Página
INTRODUÇÃO	17
CAPÍTULO 1: CONTEXTO DO ESTUDO	20
1.1 Ácido Fólico.....	20
1.1.1 Estrutura e Definição.....	20
1.1.2 Fontes Naturais de Folatos	22
1.1.3 Metabolismo e Biodisponibilidade	23
1.1.4 Ingestão Diária Recomendada.....	24
1.1.5 Deficiência de folatos	25
1.1.6 Fortificação de Alimentos com Ácido Fólico.....	26
1.1.7 Efeito dos Processamentos de Alimentos na Estabilidade do AF	28
CAPÍTULO 2: ESTUDO DOS EFEITOS DE DIFERENTES PROCESSAMENTOS DE ALIMENTOS NO ÁCIDO FÓLICO E ELUCIDAÇÃO DOS PRODUTOS DE DEGRADAÇÃO.....	33
1. MATERIAIS E MÉTODOS	33
1.1 Reagentes e Solventes	33
1.1.1 Reagentes.....	33
1.1.2 Solventes	33
1.1.3 Soluções estoque.....	34
1.2 Métodos	35
1.2.1 Processamento por radiação	35
1.2.2 Processamento por calor	35
1.2.3 Processamento por micro-ondas	35
1.3 Separações cromatográficas.....	36
1.3.1 Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (HPLC)	36
1.3.1.1 Análise Quantitativa do AF e de seus produtos de degradação.....	37
1.3.2 Cromatografia Líquida de Alta Eficiência para Coleção de Frações	38
1.3.3 Espectrometria de Massas.....	39
1.3.4 Espectrometria de Massas de Alta Resolução.....	40
2. RESULTADOS E DISCUSSÃO	42
2.1 Efeitos dos diferentes processamentos na degradação do AF	42
2.1.1 Efeito do processamento por radiação ionizante	42

2.1.2 Efeito do processamento por aquecimento em estufa	47
2.1.1 Efeito do processamento por micro-ondas.....	48
2.2. Identificação dos produtos de degradação do AF decorrente dos diferentes processamentos.....	51
2.2.1 Processamento por radiação ionizante	52
2.2.2 Processamento do AF em pó por aquecimento em estufa.....	77
2.2.3 Processamento por micro-ondas	81
2.2.4 Comparação entre os Diferentes Processamentos.....	84
2.3 Cinética de Degradação do AF	86
3. CONCLUSÕES	93
CAPÍTULO 3: DESENVOLVIMENTO DE UM MÉTODO DE EXTRAÇÃO POR SOLVENTE PRESSURIZADO DE ÁCIDO FÓLICO EM FARINHAS DE TRIGO FORTIFICADAS.....	94
1. MATERIAIS E MÉTODOS.....	96
1.1 Reagentes e Solventes	96
1.1.1 Reagentes.....	96
1.1.2 Solventes	96
1.1.3 Soluções Estoque	96
1.1.4 Amostras.....	96
1.2 Preparação <i>in-house</i> de Farinhas de Trigo Fortificadas	97
1.3 Extração do Ácido Fólico da Farinha de Trigo Fortificada.....	97
1.3.1 Extração Sólido/Líquido (ESL)	97
1.3.2 Extração por Solvente Pressurizado (ESP).....	98
1.4 Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (HPLC)	98
1.5 Análise Quantitativa de AF em Farinhas de Trigo Fortificadas	99
2. RESULTADOS E DISCUSSÃO	101
2.1 Análise Cromatográfica.....	101
2.2 Validação dos Resultados.....	104
2.3 Otimização da Extração por Solvente Pressurizado (ESP).....	104
2.4 Comparação da ESP e da ESL.....	109
2.5 Quantificação do AF em Farinhas de Trigo Fortificadas Comerciais	113
3. CONCLUSÕES	116

CAPÍTULO 4: QUANTIFICAÇÃO DO ÁCIDO FÓLICO EM FARINHAS DE TRIGO FORTIFICADAS IRRADIADAS E EM PÃES PRODUZIDOS COM FARINHAS DE TRIGO FORTIFICADAS IRRADIADAS.....	117
1. MATERIAIS E MÉTODOS	117
1.1 Reagentes e Solventes	117
1.1.1 Reagentes.....	117
1.1.2 Solventes	117
1.1.3 Soluções estoque.....	117
1.2 Preparação <i>in-house</i> de farinhas de trigo fortificadas	118
1.3 Titulação de Karl Fischer.....	118
1.4 Processamento por Radiação Ionizante	118
1.5 Fabricação do pão	119
1.6 Moagem Criogênica	119
1.7 Extração do AF de amostras de Farinha de Trigo Fortificada e de Pães	120
1.7.1 Extração Sólido/Líquido (ESL)	120
1.7.2 Extração por Solvente Pressurizado (ESP).....	120
1.8 Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (HPLC)	121
1.8.1 Análise Quantitativa de AF em farinhas de trigo fortificadas.....	121
2. RESULTADOS E DISCUSSÃO	122
2.1 Efeito do processamento por Radiação Ionizante em amostras de AF em pó e em amostras de farinhas de trigo fortificadas com AF	122
2.3 Quantificação do AF em Pães Fabricados com Farinha de Trigo Fortificada Irradiada.....	124
3. CONCLUSÕES	129
CONCLUSÕES GERAIS.....	130
PUBLICAÇÕES.....	Erro! Indicador não definido.
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	141

Gracias por visitar este Libro Electrónico

Puedes leer la versión completa de este libro electrónico en diferentes formatos:

- HTML(Gratis / Disponible a todos los usuarios)
- PDF / TXT(Disponible a miembros V.I.P. Los miembros con una membresía básica pueden acceder hasta 5 libros electrónicos en formato PDF/TXT durante el mes.)
- Epub y Mobipocket (Exclusivos para miembros V.I.P.)

Para descargar este libro completo, tan solo seleccione el formato deseado, abajo:

