

HALOGENÍOS E ENXOFRE EM CAMARÕES DA LAGOA DOS PATOS (RS): AVALIAÇÃO DA BIOACESSIBILIDADE E FRACIONAMENTO

FERNANDA P. BALBINOT¹; FILIPE S. RONDAN²; THAUANA HEBERLE³;
MARIANNE M. S. MELO⁴; THIAGO I. CALDEIRA⁵; MARCIA F. MESKO⁶.

¹Universidade Federal de Pelotas – fer.p.balbinot@gmail.com

²Universidade Federal de Pelotas – fsrondan@gmail.com

³Universidade Federal de Pelotas – thauana.heberle@hotmail.com

⁴Universidade Federal de Pelotas – marianne_msmelo@hotmail.com

⁵Universidade Federal de Pelotas – thiagoicaldeira@hotmail.com

⁶Universidade Federal de Pelotas – marciamesko@yahoo.com.br

1. INTRODUÇÃO

Os organismos classificados como camarões, pertencentes à classe dos crustáceos, é uma das *commodities* alimentícias e aquáticas mais comercializadas no mundo há vários anos. As localidades com maior produção desses organismos são América Latina e leste e sudeste Asiático. Ao mesmo tempo, o Brasil se destaca no cenário geral da aquicultura, sendo o país das Américas com o terceiro maior crescimento projetado desse setor até 2030 (FAO/UN, 2022). Frutos do mar, em geral, sempre foram reconhecidos por seu elevado valor nutricional. Entretanto, camarões possuem uma composição majoritária diferente dos outros frutos do mar devido à presença de sua carapaça comestível, que pode ser rica em minerais como Ca, Se e Zn (EFSA, 2014).

Todos estes fatores podem acarretar em diferentes proporções da quantidade de nutrientes e outros elementos, tanto majoritários quanto os minoritários, que é liberada da matriz para o meio gastrointestinal – ou seja, a sua bioacessibilidade. Dentre os elementos químicos minoritários presentes em camarões pode-se mencionar os halogênios e enxofre, para a dieta humana. Esses elementos, por sua vez, possuem elevada relevância metabólica e seu excesso ou deficiência podem estar associados a diversas disfunções no organismo (KIRK, 1991). Vale ressaltar que existem evidências na literatura de que o teor de Br e I em camarões com casca é maior do que apenas no camarão “limpo”, ou seja, no tecido muscular do animal (HARTWIG et al., 2014). Além disso, também é reportada a perda de até, aproximadamente, 40% do teor desses elementos após o cozimento do camarão (MESKO et al., 2016).

Desta forma, é necessário continuar essas avaliações levando em consideração também outros elementos bioquimicamente relevantes, e também com relação a bioacessibilidade desses elementos nas diferentes frações do camarão, antes e após tratamentos culinários. Para realizar avaliações da bioacessibilidade é comum a utilização de ensaios *in vitro* com modelos que simulam o trato gastrointestinal em um procedimento com três estágios (boca, estômago e intestino delgado) (VERSANTVOORT; ROMPELBERG, 2004). Esse tipo de ensaio apresenta diversas vantagens frente aos estudos *in vivo*, como maior rapidez, menores custos e não apresentar restrições éticas (MINEKUS et al., 2014).

Tendo em vista que não existe método universal de análise, é necessário avaliar ferramentas analíticas que forneçam resultados confiáveis, considerando todos os diferentes aspectos mencionados e que proporcionem analisar tanto a amostra inteira (sólida, no caso dos camarões) quanto sua fração bioacessível (líquida, mas de composição complexa). Uma alternativa é a utilização da combustão iniciada por micro-ondas (MIC) como método de preparo de amostras,

combinada com diferentes técnicas de determinação, como a cromatografia de íons (IC), acoplada à espectrometria de massa (IC-MS), ou a espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado (ICP-MS) (MESKO et al., 2016; SCAGLIONI et al., 2023).

Com base no exposto, o objetivo deste trabalho foi utilizar a combinação da MIC e IC ou ICP-MS para i) realizar a determinação da concentração total de flúor (F), cloro (Cl), enxofre (S), bromo (Br) e iodo (I) em camarões e suas frações, antes e após o cozimento, utilizando um método previamente otimizado; e ii) avaliar a fração bioacessível destes analitos comparando camarões inteiros e sem casca, antes e após o cozimento, realizando as otimizações pertinentes ao método.

2. METODOLOGIA

As amostras avaliadas correspondem a uma espécie de camarão que é comumente capturada na região de São Lourenço do Sul (RS), diretamente da Lagoa dos Patos, e foram adquiridas diretamente com pescadores locais logo após a pesca, sendo congeladas até o momento do pré-tratamento. Posteriormente, todos camarões foram descongelados, lavados abundantemente com água ultrapura e separados em duas grandes porções: camarões inteiros e camarões sem casca e cabeça. Cada uma destas frações foi dividida em outras duas para avaliação dos tratamentos culinários: metade das amostras foram mantidas cruas, e a outra metade das amostras foram cozidas por imersão em água ultrapura a 100 ± 5 °C. Todas as porções foram então secas em estufa (400/2ND, DeLeo, Brasil) a 60 °C e moídas em um moinho de bolas (Pulverisette 0, Fritsch, Alemanha).

A decomposição das amostras para posterior determinação da concentração total de F, Cl, S, Br e I foi realizada em um forno de micro-ondas (Multiwave 3000, Anton Paar, Áustria) por meio do método da MIC. Para isso, foram pesados 600 mg de cada amostra em triplicata, sobre filmes de polietileno (PP, 8 x 8 cm) que, por sua vez, foram fechados na forma de invólucros. Estes foram posicionados na base de suportes de quartzo sobre um disco de papel filtro umedecido com NH_4NO_3 6 mol L⁻¹. Estes suportes foram levados para o interior de frascos de quartzo a solução absorvedora (NH_4OH 250 mmol L⁻¹). O programa de aquecimento utilizado consistiu nas etapas de i) 1400 W/5 min e ii) 0 W/20 min.

A avaliação da bioacessibilidade dos analitos foi feita através da simulação *in vitro* da digestão humana, utilizando soluções contendo das frações inorgânica e orgânica/enzimática das etapas correspondentes à boca, estômago e intestino delgado. Para isso, foram utilizados 1000 mg, em triplicata, de cada amostra. A composição de cada solução, bem como o procedimento executado, foi adaptada de outros estudos presentes na literatura (VERSANTVOORT; ROMPELBERG, 2004). O sobrenadante obtido após a simulação da terceira fase da digestão foi coletado como fração bioacessível. O método para preparo de amostras da fração bioacessível por MIC está em desenvolvimento.

Todos digeridos obtidos após a realização da MIC foram avolumadas a 15 mL e analisadas por IC-MS (ICS 5000+, Dionex/Thermo Fisher Scientific, EUA) ou ICP-MS (Elan DRC II, Perkin-Elmer-SCIEX, Canadá). Todas as análises estatísticas foram realizadas utilizando o GraphPad Prism v.8.0.1 para Windows (GraphPad Software, EUA).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Primeiramente, foram determinados os teores de umidade e cinzas para cada uma das amostras. Como esperado, o camarão inteiro apresentou um menor teor de umidade e maior teor de cinzas quando comparado ao camarão “limpo”. Com casca e cabeça, o teor de umidade e cinzas apresentados pelas amostras foram de aproximadamente 77% e 4%, respectivamente. Por outro lado, apenas o tecido muscular das amostras de camarão apresentou valores de cerca de 81% e 1% de teores de umidade e cinzas, respectivamente.

Posteriormente, as amostras de tecido muscular de camarões e camarões inteiros, ambos crus e cozidos, foram analisadas por IC e ICP-MS. Os resultados estão detalhados na Tabela 1.

Tabela 1. Concentração total de F, Cl e S (determinação por IC), e Br e I (determinação por ICP-MS) em camarões e suas frações, antes e após cozimento (mg kg^{-1} , média \pm desvio padrão, $n = 3$).

Amostra de camarão	F	Cl	S	Br	I
Músculo cru	$11,4 \pm 0,4^{\text{Y}}$	$4108 \pm 183^{\text{Y}}$	$10271 \pm 713^{\text{Y}}$	$18,3 \pm 0,9^{\text{Y}}$	$0,67 \pm 0,01^{\text{Y}}$
Músculo cozido	$10,1 \pm 0,6^{\text{X}}$	$822 \pm 68^{\text{X}}$	$10708 \pm 578^{\text{Y}}$	$6,5 \pm 0,2^{\text{X}}$	$0,56 \pm 0,03^{\text{X}}$
Inteiro cru	$35,7 \pm 1,9^{\dagger}$	$4827 \pm 269^{\dagger}$	$9782 \pm 307^{\dagger}$	n.d.	n.d.
Inteiro cozido	$39,4 \pm 2,8^{\dagger}$	$1656 \pm 50^{\ddagger}$	$6694 \pm 321^{\ddagger}$	n.d.	n.d.

n.d.: não determinado.

Y, X, †, ‡: Indicadores iguais/diferentes denotam igualdade/diferença estatística entre os valores de concentração de um mesmo elemento antes e após o cozimento na mesma amostra (Teste *t* de Student, nível de confiança de 95%).

Com relação aos valores observados, primeiramente é válido ressaltar que os resultados apresentaram desvios padrão relativos (RSDs) $\leq 7\%$. Como é possível observar na Tabela 1, dentre os elementos avaliados, os mais abundantes nas amostras de camarão são Cl e S. Ambas as amostras apresentaram concentrações menores de Cl após o cozimento, porém a maior perda (80%) se deu na amostra sem casca, o que é considerado esperado, tendo em vista que a rigidez da casca do camarão impede que o meio de cozimento infiltre no tecido e lixívie alguns nutrientes. Porém, com relação ao S, o comportamento foi o oposto, isto é, apenas a amostra de camarão com casca apresentou perda significativa na concentração desse elemento (31%). Hipoteticamente, isso pode estar relacionado com a presença de diferentes espécies desses elementos nas frações avaliadas.

A respeito dos elementos presentes em menores concentrações nas amostras (F, Br e I), até o momento só foi possível realizar a comparação entre o tecido muscular e camarões inteiros em relação ao flúor. Foi observado que, de forma contrária ao comportamento do S, houve uma pequena perda de F (10%) após o cozimento apenas nas amostras sem casca – o que possivelmente também está associado às diferentes espécies deste analito que estão presentes nas frações e seus respectivos comportamentos químicos. Por fim, Br e I apresentaram uma diminuição de 64% e 16%, respectivamente, nos seus valores de concentração nas amostras de camarão sem casca após a cocção. As amostras de camarão com casca serão avaliadas posteriormente.

Em seguida, as amostras foram submetidas a ensaios *in vitro* para a determinação da bioacessibilidade de F, Br e I, antes e após a cocção. Vale ressaltar que essa avaliação não é possível de ser feita para os outros analitos, Cl e S, devido à sua presença na composição dos reagentes necessários para a simulação da digestão gastrointestinal. As frações bioacessíveis de cada amostra foram preparadas por MIC e analisadas por IC, aplicando-se condições otimizadas em outro trabalho (SCAGLIONI et. al., 2023). Entretanto, os analitos ficaram abaixo dos seus respectivos limites de quantificação (LOQs) nas amostras – 0,8 (F), 2,6 (Br) e 2,1 (I) mg kg⁻¹. Nesse sentido, novas avaliações estão em desenvolvimento para a otimização de condições que forneçam um método adequado, utilizando a combinação da MIC com a IC-MS, para a determinação da fração bioacessível de F, Br e I em camarões.

4. CONCLUSÕES

Os resultados apresentados indicam que a ingestão de elementos, como os halogênios e enxofre, após o consumo de camarões pode variar de acordo com a forma em que esse alimento se encontra, isto é, com ou sem a casca. A maior diferença observada foi a concentração total de flúor, cujo teor no camarão inteiro pode ser até quatro vezes maior do que apenas no músculo. Além disso, os resultados indicam que há uma influência significativa do processo de cocção na concentração desses elementos nas amostras, dependendo também da presença ou não da casca. Essas informações são relevantes do ponto de vista científico e nutricional, proporcionando um ganho no entendimento de como a forma de consumo dos alimentos pode impactar de maneiras diferentes na dieta.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- EFSA. Scientific Opinion on health benefits of seafood (fish and shellfish) consumption in relation to health risks associated with exposure to methylmercury. **EFSA Journal**, 12, n. 7, 2014.
- FAO/UN. FISHERY AND AQUACULTURE STATISTICS 2020. Roma, Itália. 2022.
- HARTWIG, C. A.; TORALLES, I. G.; CRIZEL, M. G.; MÜLLER, A. L. H.; PICOLATO, R. S.; FLORES, E. M. M.; MESKO, M. F. Determination of Bromine and Iodine in Shrimp and its Parts by ICP-MS after Decomposition using Microwave-Induced Combustion. **Analytical Methods (Print)**, v. 6, p. 7540-7546, 2014.
- KIRK, K. L. **Biochemistry of the elemental halogens and inorganic halides**. 1ª ed. Springer Science & Business Media, 1991.
- MESKO, M. F.; TORALLES, I. G.; HARTWIG, C. A.; COELHO JUNIOR, G. S.; MULLER, A. H.; BIZZI, C. A.; MELLO, P. A. Bromine and Iodine Content in Raw and Cooked Shrimp and its Parts. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 64, p. 1817-1822, 2016.
- MINEKUS, M.; ALMINGER, M.; ALVITO, P.; BALLANCE, S. et al. A standardised static in vitro digestion method suitable for food—an international consensus. **Food & function**, v. 5, n. 6, p. 1113-1124, 2014.
- SCAGLIONI, P. T.; BALBINOT, F. P.; RONDAN, F. S.; NOVO, D. L. R.; SILVA, A. A.; MESKO, M. F. New Analytical Strategy for Bioaccessibility Evaluation of Bromine and Iodine from Edible Seaweeds. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 71, n. 15, p. 6187-6196, 2023.
- VERSANTVOORT, C.; ROMPELBERG, C. Development and applicability of an in vitro digestion model in assessing the bioaccessibility of contaminants from food. 2004.