



**COMPARAÇÃO DE DIFERENTES MÉTODOS DE SECAGEM PARA
DETERMINAÇÃO DE ISÓTOPOS ESTÁVEIS EM CORVINAS
(*Micropogonias furnieri*)**

CHAGURI, Milena Penteadó¹; SANT'ANA, Léa Silvia^{1,2}; SANTIAGO, Debora Aparecida³; DUCATTI, Carlos³; MARQUES, António⁴; MAULVAULT, Ana Luísa⁴; NUNES, Maria Leonor⁴
¹Centro de Aquicultura da UNESP, Via de Acesso Prof. Paulo Donato Castellane, s/n, 18484-900 Jaboticabal, SP, Brasil (mpchaguri@ig.com.br).

²Faculdade de Ciências Agrônômicas, Rua José de Barros Barbosa, 1780, 18610-307 Botucatu, SP, Brasil.

³Centro de Isótopos Estáveis Ambientais, Unidade Auxiliar do Instituto de Biologia, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, SP, Brasil.

⁴Instituto Português do Mar e da Atmosfera, Avenida de Brasília, 1449-006 Lisboa – Portugal.

RESUMO: O objetivo deste trabalho foi comparar os diferentes métodos de secagem para determinação de isótopos estáveis na parte edível de corvinas. Foram utilizadas duas metodologias de secagem; secas em estufa a uma temperatura constante de aproximadamente 50 ° C, durante 48 h e liofilizadas a -40 °C durante 48 h em liofilizador. As amostras foram analisadas utilizando um espectrômetro de massa de razão isotópica. Houve diferença significativa nas médias de Nitrogênio ($\delta^{15}\text{N}$), sendo que as amostras secas em estufa apresentaram maior coeficiente de variação em relação às amostras liofilizadas, porém não houve diferença significativa para o Carbono ($\delta^{13}\text{C}$). O método de liofilização foi o mais adequado para a desidratação das amostras.

Palavras-chave: isótopos estáveis; métodos de secagem; *Micropogonias furnieri*.

ABSTRACT: The aim of this work was to compare the different drying methods for determination of stable isotopes. We used two methods of drying; oven dried at a temperature of about 50° C for 48 h and freeze dried at -40°C for 48 h. The samples were analyzed using a mass spectrometer for isotope ratio. There was significant difference in mean nitrogen ($\delta^{15}\text{N}$), while the samples dried in an oven showed higher coefficients of variation for samples freeze dried, but there was no significant difference for the carbon ($\delta^{13}\text{C}$). The freeze dried method was suitable for the dehydration of the samples.

Keywords: stable isotopes, drying methods, *Micropogonias furnieri*.



INTRODUÇÃO: A corvina, *Micropogonias furnieri*, é um peixe demersal e bentônico com distribuição no Golfo do México, Antilhas e Argentina. Esta espécie é muito comum na zona costeira do sul e sudeste do Brasil, tem importância comercial significativa e constitui uma parcela significativa do pescado desembarcado nos postos de toda a região (MENEZES & FIGUEIREDO, 1980).

O aumento da comercialização global possibilitou que peixes similares possam ser provenientes de diferentes pontos de origem o que aumenta a possibilidade de enganos não intencionais e fraudes na discriminação de espécies (BELL et al., 2007).

A espectrometria de massa de razão isotópica pode oferecer inequívoca evidência de adulteração de alimentos e, portanto, pode ser utilizado como uma prática ferramenta para o uso diário por laboratórios de controle e fiscalização agências no processo de comércio fraudulento (KELLY, 2003).

Os elementos C, N, S, H e O possuem mais que um isótopo, e para medir a composição isotópica natural dos materiais com elevada precisão utiliza-se espectrômetro de massa (DAWSON & BROOKS, 2001). Porém, existem grandes diferenças entre os métodos de processamento usados para preparar as amostras para determinação de isótopos (FRY & SMITH, 2002).

Para a determinação das razões isotópicas é necessário a desidratação da amostra. Isso pode ser feito de liofilização ou secagem a 40-70 ° C. O primeiro método fornecem uma extração de água total, intra e extra-celular, enquanto que o método de secagem não pode garantir a eliminação total da água (CARABEL et al., 2006).

O objetivo deste trabalho foi comparar os diferentes métodos de secagem para determinação de isótopos estáveis.

MATERIAIS E MÉTODOS: O experimento foi realizado no Centro de Isótopos Estáveis Ambientais, Instituto de Biociências de Botucatu.



As corvinas (*Micropogonias furnieri*) utilizadas foram capturadas em Santos-SP. A espécie foi caracterizada sob o ponto de vista morfológico, seguindo-se a remoção da parte comestível e homogeneização.

Foram utilizadas duas metodologias de secagem das amostras para a análise de isótopos estáveis; secas em estufa (Micronal, Piracicaba, Brasil), a uma temperatura constante de aproximadamente 50 ° C, durante 48 h e liofilizadas a -40 °C durante 48 h em liofilizador(Christ, Alpha 2-4 LD Plus, Munchen - Germany).

Após a secagem o material foi pulverizado até um pó fino usando um moinho criogênico (Spex Certipret) com nitrogênio líquido a -196 °C. Para a análise dos isótopos estáveis, foram pesados em balança (MX5, Mettler Toledo, Greifensee, Switzerland) cerca de 500 µg ($\delta^{15}\text{N}$) e 60 µg (para $\delta^{13}\text{C}$) do material pulverizado e estes foram acondicionados em cápsulas de estanho cilíndricas, com 5 x 9 mm. As amostras foram analisadas utilizando um espectrômetro de massa de razão isotópica, tipo Delta S (Finnigan Mat, Bremen, Alemanha), acoplado a um analisador elementar CHN (EA 1108 - CHN Elemental Analyzer Fisons).

As razões isotópicas das amostras, analisadas em duplicata, foram comparadas aos padrões internacionais estabelecidos para o carbono – PDB (Pee Dee Belemnite, um fóssil de Belemnitella americana da formação Pee Dee, da Carolina do Sul, EUA) – e para o nitrogênio – ar atmosférico (N_2). Esses valores, designados pela terminologia delta (δ), em unidade por mil (‰), foram calculados através da seguinte equação:

$$\delta_{\text{sample}} = [(R_{\text{sample}}/R_{\text{standard}}) - 1] \times 1000$$

Os dados foram comparados por análise de variância (ANOVA), através do Programa Statistic [8] e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de significância.

RESULTADOS E DISCUSSÃO: Na Tabela 1 estão presentes os valores de isótopos estáveis das amostras de corvinas secas pelo método de liofilização e estufa.



Houve diferença significativa nas médias de Nitrogênio ($\delta^{15}\text{N}$), sendo que as amostras secas em estufa apresentaram maior coeficiente de variação (3,74%) em relação às amostras liofilizadas (1,96%), porém não houve diferença significativa para o Carbono ($\delta^{13}\text{C}$).

Tabela 1: Médias e desvio padrão dos isótopos estáveis das amostras de corvina submetidas à secagem em estufa e liofilizadas.

Método	Elementos (‰)	
	Carbono ($\delta^{13}\text{C}$)	Nitrogênio ($\delta^{15}\text{N}$)
Liofilizado	-17,7±0,33 ^a	14,71±0,29 ^a
Estufa	-17,78±0,33 ^a	14,02±0,52 ^b

a,b Letras sobrescritas diferentes significam diferença significativa a 5% entre os tratamentos de acordo com o Teste Tukey.

Carabel et al. (2006) também observou diferença entre os mesmos métodos de secagem para o $\delta^{15}\text{N}$ em alguns constituintes da cadeia alimentar marinha. Segundo o autor, o método de liofilização foi o mais adequado para a desidratação inicial de amostras, exceto em amostras acidificadas que devem ser desidratadas por secagem em estufa. Outro fator importante, Segundo Tuck et al. (1997), é que as amostras liofilizadas podem ser utilizadas em outros tipos de análises, como por exemplo, análises bioquímicas. Através desses resultados podemos caracterizar com maior precisão o valor dos isótopos estáveis.

CONCLUSÃO: O método de secagem por liofilização apresentou menor variação do Nitrogênio para essas amostras em relação à secagem em estufas, sendo assim o método mais adequado para a análise de isótopos estáveis para a corvina (*Micropogonias furnieri*).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

-BELL, J.G.; PRESTON, T.; HENDERSON, R.J.; STRACHAN, F.; BRON, J.E. et al. Discrimination of wild and cultured European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) using chemical and isotopic analyses. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 55, p. 5934-5941, 2007.



- CARABEL, S.; GODÍNEZ-DOMÍNGUEZ, E.; VERÍSIMO, P.; FERNÁNDEZ, L.; FREIRE, J. An assessment of sample processing methods for stable isotope analyses of coastal food webs. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, v. 336, p. 254–261, 2006.
- DAWSON, T. E.; BROOKS, P. D. Fundamentals of stable isotope chemistry and measurement. In: Unkovich M. et al. (Ed.). *Stable isotope techniques in the study of biological processes and functioning of ecosystems*. Dordrecht: Kluwer Academic Publisher, 2001. cap. I, p. 1-18.
- FRY, B., SMITH, T.J. Stable isotope studies of red mangroves and filter feeders from the shark river estuary, Florida. *Bulletin of Marine Science*, v.70, p. 871-890, 2002.
- KELLY, S. D. (2003). Using stable isotope ratio mass spectrometry (IRMS) in food authentication and traceability. In M. Lees (Ed.), *Food authenticity and traceability*. Boca Raton: CRC Press.
- MENEZES, N.A.; FIGUEIREDO, J.L. (1980). *Manual de Peixes Marinhos do Sudeste do Brasil*. IV. Teleostei (3), Museu de Zoologia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 96 pp.
- TUCK, I.D., TAYLOR, A.C., ATKINSON, R.J.A., GRAMITTO, M.E., SMITH, C. Biochemical composition of *Nephrops norvegicus*: Changes associated with ovary maturation. *Marine Biology*, v. 129, p. 505-511, 1997.