

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP
CENTRO DE AQUICULTURA DA UNESP

**Rastreabilidade em pescado: Influência do grau
de domesticação, origem e sazonalidade na
diferenciação de peixes**

Milena Penteado Chaguri
Zootecnista

Jaboticabal, São Paulo

2013

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP
CENTRO DE AQUICULTURA DA UNESP

**Rastreabilidade em pescado: Influência do
grau de domesticação, origem e sazonalidade
na diferenciação de peixes**

Milena Penteado Chaguri

Orientadora: Prof. Dra. Léa Silvia SANT'ANA

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Aquicultura do Centro de Aquicultura da UNESP - CAUNESP, como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor.

Jaboticabal, São Paulo

2013

C433r Chaguri, Milena Penteado
Rastreabilidade em pescado: Influência do grau de domesticação, origem e sazonalidade na diferenciação de peixes. / Milena Penteado Chaguri. -- Jaboticabal, 2013
xix, 91 p. ; 28 cm

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Centro de Aquicultura, 2013
Orientador: Léa Silvia Sant'Ana
Banca examinadora: Cintia Labussière Nakayama, Juliana Célia Denadai, Maria Márcia Pereira Sartori, Marta Verardino de Stéfani
Bibliografia

1. Ácidos graxos. 2. Isótopos estáveis 3. Minerais. I. Título. II. Jaboticabal-Centro de Aquicultura da Unesp.

CDU 639.3.05

Ficha catalográfica elaborada pela Seção Técnica de Aquisição e Tratamento da Informação – Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação - UNESP, Câmpus de Jaboticabal.



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
REITORIA
CENTRO DE AQUICULTURA DA UNESP

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO: Rastreabilidade em pescado: Influência do grau de domesticação, origem e sazonalidade na diferenciação de peixes

AUTORA: MILENA PENTEADO CHAGURI

ORIENTADORA: Profa. Dra. LEA SILVIA SANTANA

CO-ORIENTADOR: Prof. Dr. CLAUDINEI DA CRUZ

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Doutor em Aquicultura, pela Comissão Examinadora:

Profa. Dra. LEA SILVIA SANTANA

Dep de Economia, Sociologia e Tecnologia / Faculdade de Ciências Agrônomicas de Botucatu

Profa. Dra. CINTIA LABUSSIÈRE NAKAYAMA

Laboratório de Aquicultura / Universidade Federal de Minas Gerais

Profa. Dra. MARTA VERARDINO DE STEFANI

Departamento de Zootecnia / Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal

Profa. Dra. MARIA MÂRCIA PEREIRA SARTORI

Departamento de Física e Biofísica / Instituto de Biociências de Botucatu

Profa. Dra. JULIANA CELIA DENADA

Departamento de Física e Biofísica / Instituto de Biociências de Botucatu

Data da realização: 24 de maio de 2013.

SUMÁRIO

Dedicatória	I
Agradecimentos	II
Apoio financeiro	V
Lista de Abreviaturas	VI
Resumo	1
Abstract	2
Capítulo I – Considerações Gerais	3
Introdução	4
Sistemas de produção.....	5
Sazonalidade.....	6
Origem e espécie	7
Composição Química.....	8
Minerais.....	9
Perfil de ácidos graxos	10
Isótopos estáveis.....	11
Corvina Portuguesa (<i>Argyrosomus regius</i>)	12
Corvina (<i>Micropogonias furnieri</i>).....	13
Bacalhau.....	14
Objetivos	17
Referências	18
Capítulo II - Rastreabilidade de peixes: Utilização de diferentes ferramentas para diferenciação de corvina portuguesa (<i>Argyrosomus regius</i>) selvagem e de aquicultura	25
Resumo	26
Abstract	27
1. Introdução	28
2. Material e Métodos	29
3. Resultados e discussão	33

4. Conclusões	43
Capítulo III - Rastreabilidade do bacalhau: Utilização de diferentes ferramentas para a autenticação de peixes salgados	47
Resumo	48
Abstract	49
1. Introdução	50
2. Material e métodos	52
3. Resultados e discussão	55
4. Conclusões	64
5. Referências	64
Capítulo IV - Utilização de diferentes ferramentas na identificação de origem geográfica e sazonalidade em corvina brasileira (Micropogonias furnieri)	68
Resumo	69
Abstract	70
1. Introdução	71
2. Material e métodos	73
3. Resultados e discussão	77
4. Conclusões	85
5. Referências	86
Considerações finais	91

Dedicatória

Ao meu grande Amor, Henrique,

Dedico

Agradecimentos

À Deus por sempre me conduzir ao caminho certo, por mais que às vezes não entenda.

Aos meus pais Evaldo e Magali pelo amor incondicional, educação e grande incentivo durante todas as fases da minha vida! Amo vocês!

Às minhas queridas irmãs Bia e Flávia, pela cumplicidade e amizade. Sinto muita a falta de vocês, desde quando sai de casa há dez anos e sempre sentirei!

Ao Henrique, meu grande amor, pelo companheirismo, incentivo, carinho, amor e muita, mais muita paciência que teve durante o mestrado e doutorado, principalmente nos momentos que fiquei ausente, em que tomou conta de tudo sozinho!

À todos meus familiares que sempre me apoiaram e deram força para seguir em frente.

À Prof.^a Léa Silvia Sant'Ana pela orientação, oportunidades e espelho de uma profissional ética e competente.

Ao Dr. António Marques pela orientação, paciência, ensinamentos e participação em todas as fases do meu doutorado, que mesmo do outro lado do oceano nunca deixou de me ajudar e incentivar. Foi um grande prazer trabalhar com uma pessoa tão doce, competente e amiga.

À Eng.^a Leonor Nunes pela recepção ao Instituto Português do Mar e Atmosfera - IPMA, ensinamentos e esforços feitos para que tudo corresse bem no meu doutorado. Sem dúvida, um exemplo de profissional a ser seguido.

Às minhas queridas amigas Ana Luísa, Patrícia Anacleto, Raquel e Sara Costa pela recepção, ajuda ensinamentos e grande amizade. Minha estadia em Portugal foi muito agradável graças à presença de vocês!

À todos os funcionários do IPMA, Mária, Júlia, Helena Lourenço, Suzana e Margarida que nunca negaram esforços para me ensinar e ajudar nas rotinas dos laboratórios.

Às Dras Amparo e Narcisa pela participação no projeto, ensinamentos e simpatia.

À Prof. Dra Maria Luísa Carvalho da Faculdade de Ciências de Lisboa pela disponibilização do laboratório e ajuda com o EDXRF.

À querida Maristela, pela amizade e agradável companhia durante as viagens e trabalho.

À minha querida amiga Ana Alexandrino, minha confidente e companheira, onde com ela pude dividir minhas aflições, saudades e momentos de felicidades e tristezas.

Às orientadas da prof. Léa, Eliriane Jamas, Gelcirene Costa, Grazielle Carvalho, Débora Santiago e Fabrizia Otani pela ajuda com as análises e momentos agradáveis durante congressos e visitas a Botucatu.

Ao prof. Dr. Pedro de Magalhães Padilha pela parceria no projeto, participação na qualificação e disponibilização do laboratório.

Ao Prof. Dr. Carlos Ducatti e todo Centro de Isótopos Estáveis - IB - UNESP Botucatu, pela parceria no projeto e análises desenvolvidas.

À Dra. Marta Verardino de Stéfani pelas sugestões, participação da banca e pela ajuda desde o início do mestrado.

À Dra. Juliana Denadai pela correção e ótimas sugestões na banca de qualificação e defesa.

Às Dras. Cintia Labussière Nakayama e Maria Márcia Pereira Sartori pelas correções, sugestões e participação da banca.

Aos meus amigos da Pousada da Juventude, Joaquim, António, Carlos, Teresa, Margarida e David, os brasileiros André, Ciro e Maurício, onde passei meus primeiros dias em Lisboa e desta pequena estadia nasceu uma grande amizade e carinho.

Às minhas amigas Letícia (Japa), Milena e Taís que tive o prazer de conviver em Jaboticabal durante o mestrado e que se tornaram minhas grandes amigas.

Aos meus amigos da ricultura, Marcio Reche e Cleber Mansano pela companhia, cafezinhos e momentos muito agradáveis que passo quando estou lá (apesar das rãs)!

À minha amiga, Josey pelos conselhos e amizade de uma vida inteira. Apesar da distância sempre está comigo em pensamento e no coração.

Aos funcionários do CAUNESP em especial, aos secretários de pós-graduação Veralice Capatto e David Lorente.

E a todos que de alguma forma contribuíram com este trabalho, **MUITO OBRIGADA!**

Apoio financeiro

Bolsa de doutorado no país: Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e tecnológico – CNPq. Processo: 140623/2010-8.

Bolsa de doutorado no exterior: Programa de Cooperação Internacional, Capes/FCT Portugal. Processo 1542-11-7.

Lista de Abreviaturas

ACP – Análise de Componentes Principais

AOAC – Association of Official Analytical Chemists Methods

ARA – Ácido Araquidônico

As – Arsênio

Br – Bromo

¹³C – Carbono – 13

Ca – Cálcio

Cd – Cádmió

Cl – Cloro

cm – Centímetro

CP – Componente Principal

CAG – Corvina Aquicultura Grande

CAP – Corvina Aquicultura Pequena

CSG – Corvina Selvagem Grande

CSP – Corvina Selvagem Pequena

CSD – Corvina Santos Dezembro

CSJ – Corvina Santos Julho

CPD – Corvina Parnaíba Dezembro

CPJ – Corvina Parnaíba Julho

DHA – Ácido Docosaheptaenóico

DL – Limite de Detecção

EDXRF – Espectrometria de Fluorescência de Raios-X por Energia Dispersiva

EPA – Ácido Eicosapentaenóico

eV –Elétron-volt

FAAS – Espectrometria de Absorção Atômica com Chama

Fe – Ferro

g – Grama

Hg – Mercúrio

IRMS – Espectrometria de Massa de Razão Isotópica

K – Potássio

keV – Quilo elétron-volt

Kg – Quilograma

Li – Lítio

L – Litro

uL – Microlitro

um – Micrômetro

m – Metro

mm – Milímetro

mg – Miligrama

mL – Mililitro

MUFA – Ácidos Graxos Monoinsaturados

¹⁵N – Nitrogênio - 15

n-3 – Ácidos Graxos Ômega-3

n-6 – Ácidos Graxos Ômega-6

Pb – Chumbo

PUFA – Ácidos Graxos Poli-insaturados

Rb - Rubídio

RSD – Desvio Padrão Residual

S – Enxofre

Se – Selênio

SFA – Ácidos Graxos Saturados

Si – Silício

Sr – Estrôncio

UE – União Europeia

Zn – Zinco

δ – Delta

‰ – Por mil

Resumo

A rastreabilidade é a capacidade de traçar a história, aplicação ou localização de um determinado produto e pode estar relacionada com a sua origem, história do processamento, distribuição e localização após a produção. A globalização do comércio de pescado aumentou a possibilidade de enganos não intencionais e fraudes na discriminação de espécies. Entre as diferentes questões relacionadas à rastreabilidade do pescado há necessidade de buscar metodologias químicas e físicas que sejam capazes de distinguir as diferentes espécies de pescado, a origem geográfica e o método de produção: cultivado ou selvagem. Os objetivos deste estudo foram diferenciar a corvina portuguesa (*Argyrosomus regius*) quanto ao sistema de produção e tamanho, a corvina brasileira (*Micropogonias furnieri*) quanto à sazonalidade e origem geográfica e o bacalhau (*Gadus mohrua*) de outras espécies com características similares. Para esta diferenciação foram utilizadas as técnicas de determinação da composição química, perfil de ácidos graxos, composição de minerais essenciais e não essenciais e isótopos estáveis de carbono e nitrogênio. Foi possível detectar diferenças significativas entre corvinas portuguesas de aquicultura e selvagem em diferentes tamanhos através da composição de lipídeos e umidade, alguns ácidos graxos, minerais e isótopos estáveis. Quanto à diferenciação do bacalhau, a espécie *Pollachius virens* apresentou as maiores diferenças no perfil de ácidos graxos e foi possível distinguir o gênero *Gadus* das demais espécies por níveis de 20:5 n-3, 18:3 n-3, Zn e Sr. A composição da corvina brasileira é diferente entre as origens geográficas e épocas do ano. As maiores partes das variações são provavelmente relacionadas à disponibilidade de alimentos e tipo de habitat. As corvinas brasileiras podem ser diferenciadas pelo teor de lipídeos totais, o teor de cinzas, a proporção de vários ácidos graxos, minerais e isótopos de carbono e nitrogênio.

Palavras-chave: ácidos graxos, isótopos estáveis, elementos essenciais e não essenciais.

Abstract

Traceability is the ability to trace the history, application or location of a particular product and may be related to their origin, history, processing, distribution and location after production. The fish trade globalization has increased the possibility of unintentional mistakes and frauds in species discrimination. Among the different issues related to fish traceability is necessary to seek physical and chemical methods that are able to distinguish the different fish species, geographical origin and production method: farmed or wild. The objectives of this study were to differentiate meagre (*Argyrosomus regius*) regarding system production and size, croaker (*Micropogonias furnieri*) regarding seasonal and geographical origin and cod (*Gadus mohrua*) of other species with similar characteristics. For this differentiation techniques were used to determine the chemical composition, fatty acid profile, essential and non-essential minerals and stable isotopes of carbon and nitrogen. It was possible to detect significant differences between aquaculture and wild meagre in different sizes through the composition of lipids and moisture, some fatty acids, minerals and stable isotopes. Differentiation of cod species, *Pollachius virens* showed the greatest differences in fatty acid profile and it was possible to distinguish the genus *Gadus* of other species by levels of 20:5 n-3, 18:3 n-3, zinc and Sr. The composition of croaker differs between geographical origins and seasons. Most of variations are probably related to the food availability and habitat type. The croakers can be differentiated by the total lipid content, ash content, the proportion of various fatty acids, minerals and carbon and nitrogen isotopes.

Key-words: fatty acids, stable isotopes, essential and nonessential elements.

Capítulo I – Considerações Gerais

Introdução

O hábito alimentar está entre as principais preocupações do ser humano, especialmente, no que se refere à qualidade dos alimentos, a ingestão de nutrientes para o bom funcionamento do organismo e a segurança dos alimentos a serem consumidos. O peixe é fonte de proteínas, vitaminas, minerais essenciais e ricos em ácidos graxos poli-insaturados de cadeia longa (PUFA) (SIMOPOULOS, 2002), que fornecem diversos benefícios à saúde (CASTRO-GONZALEZ; MENDEZ-ARMENTA, 2008), além de atuar na prevenção e tratamento de doenças cardiovasculares entre outras doenças (ARTS; ACKMAN; HOLUB, 2001; OKITA et al., 2002).

No entanto, devido à grande comercialização de alimentos no mundo é crescente preocupação com a qualidade destes produtos. Por isso, é importante que os órgãos competentes estabeleçam uma legislação clara em relação à comercialização para evitar possíveis fraudes (THOMAS; JASMIN; LEES, 2005). O comércio internacional de pescado atualmente é muito influenciado pelas normas de autenticação e segurança dos alimentos, e várias diretivas da União Europeia introduziram aspectos de qualidade e segurança nos padrões para comercialização de produtos da cadeia produtiva do pescado (BUSETTO et al., 2008).

Além da União Europeia, que desde 2005 exige informações básicas sobre o pescado como nome comercial e científico dos peixes, origem geográfica e o método de produção, leis similares no Japão (The Ministry of Agriculture, Forestry and Fisheries of Japan, 2004), e nos EUA (U.S. Food and Drug Administration, 2003) também são necessárias à comercialização do pescado.

Assim, para garantir a segurança do alimento, é necessário considerar todos os elos da cadeia produtiva levando em consideração o sistema de produção, a alimentação animal, a estocagem e venda do produto ao consumidor (REGULAMENTO CE n° 178/2002). A rastreabilidade é uma ferramenta capaz de identificar possíveis falhas em qualquer fase da cadeia produtiva.

A rastreabilidade é a capacidade de traçar a história, aplicação ou localização de um determinado produto e pode estar relacionada com a sua origem, história do processamento, distribuição e localização após a produção (REGULAMENTO CE n° 178/2002).

A regulamentação da União Europeia define a rastreabilidade de alimentos como a capacidade de seguir um alimento, ração, produtos da alimentação animal ou substância em todos os estágios da produção e distribuição (LARSEN, 2003).

Entretanto, a capacidade de rastrear o pescado é dificultada, pois as características morfológicas externas dos produtos processados (enlatados, filetados, defumados e salgados) são removidas, dificultando a identificação e possibilitando a substituição de pescado de maior valor por espécies de menor valor comercial (ASENSIO et al., 2008). O aumento da comercialização global possibilitou que peixes com características 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 composição química dos peixes pode ser influenciada por diversos parâmetros, incluindo fatores exógenos como espécie, localização, temporada de pesca, sexo, idade dos animais, nível de domesticação, disponibilidade e qualidade de alimentos, salinidade e temperatura (MAIRESSE et al., 2006; OLSSON et al., 2003; HAARD, 1992), e fatores endógenos por meio da mobilização de lipídeos e proteínas para as gônadas no período reprodutivo (TZIKAS et al., 2007).

Sistemas de produção

A população mundial está aumentando e conseqüentemente existe a necessidade do aumento da produção de alimentos. Atualmente os consumidores estão em busca de alimentos saudáveis e o consumo de peixe é associado ao teor de proteínas, ácidos graxos e minerais. No entanto, a pesca extrativista já ultrapassou os seus limites sustentáveis e cada vez mais o déficit da pesca vem sendo suprido pelos produtos da aquicultura (FAO, 2010). Segundo a FAO (2011), a produção mundial de pescado atingiu 62,7 milhões de toneladas em 2011, contribuindo com mais de 40% da produção total de peixes, por isso mais produtos provenientes da aquicultura estão disponíveis para os consumidores.

Informações corretas sobre o método de produção do pescado são importantes, pois tanto os organismos criados em cativeiro quanto os selvagens podem carregar diferentes tipos de riscos e, portanto, devem ser submetidos a diferentes regulamentações e controles analíticos. Assim como qualquer outra produção animal, os peixes são cultivados em densas populações. Isto pode ter

consequências na quantidade de agentes patogênicos produzidos e, conseqüentemente na proliferação de doenças (Krkošek, 2010). Por outro lado, peixes selvagens geralmente apresentam maiores concentrações de contaminantes como Hg e As e relação aos espécimes criados em cativeiro (Minganti et al., 2010). Segundo Sapkota et al. (2008) a avaliação destes contaminantes é essencial para a compreensão dos riscos à saúde humana associados ao consumo de peixes de aquicultura e selvagens.

A produção intensiva tem levantado preocupações sobre a qualidade do peixe cultivado em comparação ao peixe selvagem. Sabe-se também que a concentração lipídica varia entre peixes de aquicultura e selvagem da mesma espécie. Portanto, é de grande importância comparar a origem de produção destes em termos de sua composição química, perfil de ácidos graxos e minerais.

Sazonalidade

O interesse na composição do pescado é, principalmente, devido à sua importância nutricional na dieta humana. No entanto, sua composição não é constante, onde muitos fatores influenciam o produto final. A composição de diversas espécies de peixes varia de acordo com o seu ciclo natural, fase de maturidade e localização geográfica (HAARD, 1992).

A disponibilidade de alimento na natureza é o principal fator que atua na variação da composição química do pescado. Sabe-se que sua composição, tais como o teor de proteína, lipídeos e água estão sujeitos a variações sazonais que podem influenciar na qualidade do produto final. Mudança no ciclo reprodutivo também tem efeito marcante sobre a composição corporal, pois armazenam gordura para fornecer energia necessária durante a escassez de alimentos e na fase reprodutiva.

Muitos estudos observaram que a composição de peixe apresenta grandes variações no teor de gordura e composição de ácidos graxos de vários organismos marinhos durante o ano (BANDARRA et al., 1997; AIDOS et al., 2002; LUZIA et al., 2003).

Origem e espécie

A sobrepesca provocou o declínio dos estoques pesqueiros e essa situação tem causado aumento na comercialização de espécies alternativas para atender a demanda dos consumidores e aumentar a oferta de produtos.

Espécies com propriedades morfológicas e organolépticas similares podem ser comercializadas indevidamente em ações fraudulentas. Produtos de peixe são comercializados em muitas formas (salgado, em filés, sem pele) onde no processamento são removidas as características morfológicas externas, dificultando a identificação e possibilitando substituição por espécies de menor valor comercial (RASMUSSEN; MORRISSEY, 2009).

A origem do pescado também é outro fator importante na comercialização. A identificação da origem pode agregar valor ao produto, a exemplo de muitos queijos, vinhos e azeites. O *Gadus mohrua*, conhecido no Brasil como bacalhau do Porto, apresenta alto valor comercial, sendo muitas vezes substituído por outras espécies de valor e qualidade inferiores.

Pesquisa feita pelo Escritório Suíço Federal de Saúde Pública mostrou que a origem dos alimentos é importante para a decisão de compra de 82% dos clientes. Esta grande preocupação com a origem dos alimentos é devido principalmente a problemas com doenças como Salmonelose, gripe aviária e a EEB (encefalopatia espongiiforme bovina). A confirmação da origem geográfica do alimento pode evitar possíveis problemas de qualidade e aumentar a confiabilidade do consumidor (FRANKE et al., 2005).

Diretivas da UE introduziram normas de rotulagem exigindo que o peixe seja rotulado com informações como nome comum, espécie, origem geográfica e método de produção (CE, 2001). Neste sentido, o objetivo destas normas é determinar a rastreabilidade do pescado, para garantir a confiança dos consumidores e fornecer-lhes o mínimo de informações necessárias sobre a origem dos produtos.

Entre as diferentes questões relacionadas à rastreabilidade do pescado há necessidade de buscar metodologias químicas e físicas que sejam capazes de distinguir diferentes espécies, origem geográfica e o método de produção: cultivado ou selvagem (MORETTI et al., 2003).

Composição Química

O pescado é composto principalmente por água, proteínas, lipídeos e minerais. A composição química dos peixes varia de acordo com a espécie, idade, sazonalidade, origem geográfica, maturidade sexual, parte do corpo, tipo de músculo e, principalmente pela dieta (RASOARAHONA et al, 2005).

As propriedades organolépticas e o valor nutricional em conjunto com o frescor constituem a qualidade do pescado. Todas essas características dependem fortemente da composição química do peixe, que por sua vez depende de muitos fatores que afetam a qualidade, tais como as características intrínsecas do peixe, fatores ambientais e história de alimentação (GRIGORAKIS, 2007).

Diferenças na composição química do pescado também podem interferir no sabor de sua carne. Sabe-se que diferenças na quantidade de gordura e umidade na carne do peixe podem afetar as características sensoriais (TURCHINI et al., 2009). Os lipídeos são precursores dos compostos aromáticos e a oxidação dos ácidos graxos produz compostos voláteis que caracterizam o sabor do peixe (KAWAI, 1996). O teor de proteínas do músculo do peixe também contribui para a qualidade organoléptica nos casos de proteínas que interagem com a água, bem como em casos de longos períodos de jejum onde existe a redução da proteína do tecido muscular conjuntivo que altera sua textura (LOVE, 1992). Outros fatores como diferenças no perfil de ácidos graxos, processos de oxidação, ingredientes alimentares, minerais e teor de aminoácidos também podem ocasionar diferenças nas características sensoriais (HAARD, 1992).

O conteúdo bioquímico de organismos marinhos pode sofrer alterações devido à mudanças sazonais (ACKMAN, 1995). O teor de lipídeos de algumas espécies de peixes pode variar em cerca de 10%, de acordo com a época de captura (KRZYNOWEK, 1985). É esperada uma concentração maior de lipídeos totais no período do inverno que nas outras estações do ano (RAHMAN et al., 1995).

O teor de lipídeos é maior em peixes cultivados em relação às espécies selvagens devido a uma variedade de fatores, incluindo disponibilidade e tipo de alimento, ingredientes alimentares, consumo de energia (GRIGORAKIS et al., 2002) e possíveis períodos de fome encontrados pelos peixes selvagens (HAARD, 1992). Segundo Shearer (1994), existe uma relação inversa entre a água e o teor de

lipídeos nos peixes, quanto maior a quantidade de gordura, menor a umidade e vice-versa. Segundo Lie (2001), peixes de viveiro são menos firmes do que os peixes selvagens, fator este atribuído a um maior teor de gordura nos peixes de viveiro, bem como níveis mais elevados de atividade em peixes selvagens que podem melhorar a textura.

As cinzas são compostas por uma variedade de minerais e o total raramente ultrapassa 1-2% da carne do peixe (MURRAY; BURT, 1969). Os minerais são indispensáveis ao organismo dos peixes, pois são componentes da estrutura óssea, atuam na manutenção do sistema coloidal e regulação do equilíbrio ácido-base, além de constituir componentes importantes de hormônios, enzimas e ativadores de enzimas (LAL, 1995).

Minerais

O peixe é excelente fonte de minerais essenciais e a concentração desses elementos é influenciada por uma série de fatores, como diferenças sazonais e biológicas (espécie, tamanho, idade, sexo e maturidade sexual), fonte de alimentos e meio ambiente. Outras variações podem influenciar os resultados como: a variabilidade em processos de amostragem e os métodos empregados no processo de determinação e quantificação dos minerais (LAL, 1995).

Os consumidores estão interessados na concentração dos minerais do peixe devido a disponibilidade de minerais essenciais (P, Na, K, Mg, Ca, Fe, Zn, Se, Cr, Co, Cu, Mn e Zn), porém, há uma grande preocupação quanto à presença de metais potencialmente tóxicos em sua carne. Os metais tóxicos são considerados perigosos quando encontrados em altas concentrações, sendo o Cd, Pb e o Hg considerados os mais tóxicos em pescado (MARQUES et al., 2010).

Os metais potencialmente tóxicos, também chamados de elementos traço, são encontrados naturalmente no ambiente em pequenas concentrações, porém, as atividades industriais, agrícolas e os efluentes gerados aumentam o nível desses elementos no ambiente (STAFILOV; KARADJOVA, 2009). A contaminação dos ecossistemas aquáticos por elementos traço podem causar sérios problemas à saúde humana devido a sua toxicidade, longa persistência, bioacumulação e biomagnificação na cadeia alimentar (PAPAGIANNIS, et al., 2004).

Segundo Carpené et al. (1998) existem diferenças bioquímicas entre o músculo de peixes selvagens e cultivados em relação à quantidade de elementos traço. Assim, o músculo de peixes selvagens é significativamente mais rico em minerais não essenciais. Os cientistas deram três possíveis explicações para maiores concentrações de elementos traço no músculo peixes selvagens: A primeira explicação é que peixes selvagens recebem cátions da água e dieta e, possivelmente, seu ambiente natural é mais rico desses minerais, a segunda explicação é que peixes cultivados maior teor de lipídeos que apresenta uma menor afinidade para os metais. E a terceira explicação é que o maior exercício do peixe selvagem está ligado com o aumento da expressão da proteína que apresenta uma elevada afinidade aos elementos traço (Grigorakis, 2007).

A idade, tamanho, hábito alimentar do peixe e o tempo de contato com esses elementos que determina o acúmulo de metais tóxicos nestes organismos (AL-YOUSUF; EL-SHAHAWI; AL-GHAISC, 2000). Metais como Cu, Zn e Fe são essenciais para o metabolismo dos peixes, enquanto outros como, Hg, Cd e Pb não têm nenhum papel conhecido em seu sistema biológico, porém, a rota desses metais não essenciais é semelhante ao dos essenciais que também são transportados e acumulados nos tecidos (CANLI; ATLI, 2003).

Perfil de ácidos graxos

Os ácidos graxos são classificados em saturados (SFA), monoinsaturados (MUFA) e poli-insaturados (PUFA). O ácido palmítico (16:0) é o principal ácido graxo saturado em peixes, está presente na gordura animal e óleos vegetais utilizados na ração. Este ácido graxo representa aproximadamente 70% do total de SFA. O ácido oléico (18:1n-9) é o principal MUFA e sua fonte é proveniente da gordura animal e óleos vegetais como: óleo de oliva, canola e outras sementes. Os peixes são importantes fontes de ácido linoléico e o ácido α -linolênico, ácidos graxos essenciais, que não podem ser sintetizados pelos humanos e, portanto, devem ser obtidos através da dieta (CONNOR, 2000).

Entre os ácidos graxos poli-insaturados estão o ácido eicosapentaenóico (EPA, C20: 5n-3) e ácido docosahexanóico (DHA, C22: 6n-3) (ACKMAN, 1989). Estes ácidos graxos previnem doenças coronárias, doenças inflamatórias e arritmias (BELLUZZI, 2001). Estudos comprovaram que o EPA também é útil no tratamento de doenças cerebrais e câncer (FENTON; HIBBELN; KNABLE, 2000).

Estes ácidos graxos desempenham importantes papéis fisiológicos no peixe como depósito de energia, conformação das membranas celulares, sendo também precursores de substâncias, como as prostaglandinas, tromboxanos e leucotrienos (HARRIS, 1999).

Os peixes marinhos são caracterizados por apresentar uma relação n-3/n-6 alta (STEFFENS, 1997). Isto se deve ao alto conteúdo de EPA e DHA encontrados nos alimentos marinhos como algas, fitoplânctons e peixes. Geralmente, a proporção de ácidos graxos n-3 é superior aos ácidos graxos n-6 em alimentos marinhos (OLSEN, 1998).

Segundo Bell e Sargent (2003), as principais modificações quanto à constituição química do pescado, especialmente nos níveis de ácidos graxos é atribuído a qualidade e quantidade do fitoplâncton disponível no habitat, uma vez que estes representam a maior fonte de ácidos graxos do alimento, em especial os da série ômega-3.

O ácido araquidônico (ARA) também tem uma função vital como o principal precursor dos eicosanóides (BELL et al., 1994). O ARA é mediador de uma grande variedade de funções fisiológicas incluindo regulação osmótica, funções cardiovasculares, controle neural e a funcionalidade do sistema reprodutivo (SORBERA; ZANUY; CARRILLO, 1998).

Os ácidos graxos são os componentes que mais apresentam variações no pescado (MURRAY; BURT, 1969). A composição de ácidos graxos dos peixes pode diferir em função de uma variedade de fatores, incluindo espécie, idade, origem marinha ou água doce, sazonalidade (SAITO et al., 1999; ACKMAN, 1989; JUSTI et al., 2003) dieta e sistema de produção. A dieta representa o principal fator que influencia na composição de ácidos graxos (BANDARRA; BATISTA; NUNES, 2009).

Isótopos estáveis

A espectrometria de massa de razão isotópica (IRMS) é uma técnica capaz de diferenciar compostos quimicamente idênticos baseado em seu conteúdo isotópico (BRENNAN et al., 1997). Os elementos que constituem um material biológico podem ser determinados através da proporção de isótopos estáveis ($^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$, $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$, $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ e $^2\text{H}/^1\text{H}$) (LUYKX; RUTH, 2008).

A IRMS pode oferecer inequívoca evidência de adulteração em alimentos, e, portanto, pode ser uma ferramenta prática para o uso diário por laboratórios de controle e agências de aplicação no processo de comércio fraudulento (KELLY, 2003). Vários trabalhos têm usado a IRMS para rastrear diferenças entre peixes cultivados e selvagens (BUSETTO et al., 2008; THOMAS et al., 2008), sazonalidade (SANT'ANA; DUCATTI; RAMIRES, 2010) e espécie (OLIVEIRA et al., 2011).

Em geral, a composição isotópica depende de vários fatores, entre os mais importantes para o pescado estão os alimentos utilizados na dieta dos animais de criação e as variações sazonais (LUYKX; RUTH, 2008). Os isótopos estáveis mais utilizados em estudos biológicos são o carbono (^{13}C) e o nitrogênio (^{15}N) (MANETTA; BENEDITO-CECILIO, 2003).

Composição isotópica é determinada tanto pela dieta consumida, como pelo ambiente em que o peixe é cultivado (KELLY; HEATON; HOOGEWERFF, 2005). Os valores de ^{13}C refletem a ingestão de todas as fontes assimiladas pelos peixes selvagens, enquanto que esses valores em peixes cultivados estão relacionados com os ingredientes da ração utilizados na dieta. Segundo Morrison et al. (2007), a dieta afeta diretamente a concentração de ^{15}N nos peixes, e que a proporção isotópica de ^{15}N pode ser influenciada por série de fatores intrínsecos e extrínsecos, como maturidade, taxa de crescimento do animal e variações sazonais de ^{15}N no ambiente.

Corvina Portuguesa (Argyrosomus regius)

A corvina, *Argyrosomus regius*, é uma espécie carnívora pertencente à família Sciaenidae. Habita os mares Mediterrâneo, Negro e a costa Atlântica da Europa onde vive nas plataformas costeiras perto do fundo, bem como em superfície, a cerca de 15 a 200 m de profundidade (WHITEHEAD et al., 1986). A corvina apresenta cabeça relativamente grande e corpo alongado, podendo atingir até 2 m de comprimento e 50 kg de peso (Figura 1). Esta espécie adapta-se facilmente ao cativeiro atingindo altas taxas de crescimento, apresenta boa capacidade de tolerar amplas faixas de temperatura e salinidade. Sua carne é magra de alta qualidade lipídica (QUEMENER, 2002).

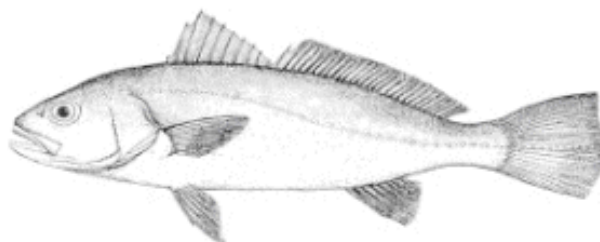


Figura 1: Representação de *Argyrosomus regius*.

Fonte: MONFORT, 2010.

A história da corvina na aquicultura é bastante recente. Sua produção começou simultaneamente na França e Itália na década de noventa. Os principais mercados tradicionais para a criação da corvina são a Itália e Espanha, e novos mercados estão sendo abertos a cada dia. A indústria de alimentação e muitos restaurantes olham com interesse crescente para esta espécie, e existem potencialidades para mais vendas neste segmento, na maioria dos países europeus. A produção de corvina teve um aumento significativo nos últimos anos, atingindo 13.742 toneladas em 2011 (FAO, 2010). Atualmente a corvina é um dos melhores candidatos a aquicultura em grande escala na Europa, devido às suas condições de produção favoráveis citadas anteriormente (MONFORT, 2010).

Corvina (Micropogonias furnieri)

Devido à sua abundância, a corvina (*Micropogonias furnieri*) é considerada uma das espécies mais tradicionais e importantes da pesca brasileira, argentina e uruguaia. *M. furnieri* é uma espécie demersal eurialina costeira, chegando a atingir até 70 cm de comprimento (ELSDON; GILLANDERS, 2002) (Figura 2). É uma espécie onívora com preferência em pequenos crustáceos como camarões e caranguejos, possui grande tolerância às variações de salinidade. Está distribuída a partir da Península Yucatán (México) ao sul do Caribe e ao leste da América do Sul até a costa do Golfo de San Matías, na Argentina (ISAAC, 1988).

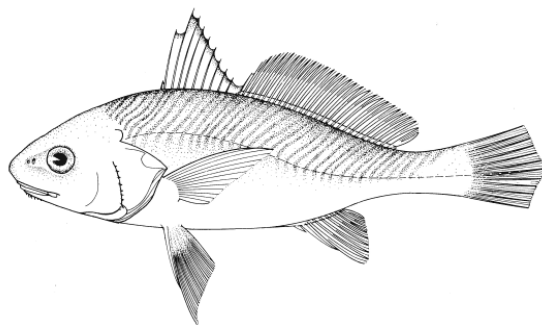


Figura 2: Representação de *Micropogonias furnieri*.

Fonte: FAO, 2011.

Em relação ao ciclo de vida, os indivíduos jovens migram para as zonas estuarinas enquanto que os adultos buscam o litoral para se reproduzir. Como consequência dessa migração e também da disponibilidade de alimentos existe uma variação da população de corvinas durante o ano (COSTA; ARAUJO, 2003).

A corvina constitui uma das espécies de maior captura do litoral do Atlântico Sul (BRASIL, 2005) e é geralmente é comercializada fresca e salgada. Segundo a FAO (2011) a captura total desta espécie em 2011 foi de 93.824 toneladas. Devido à grande disponibilidade desta matéria-prima e o baixo preço de mercado em relação às outras espécies regionais (principalmente as de menor tamanho), torna a corvina uma espécie com grande potencial para o consumo, principalmente no Brasil.

Bacalhau

O bacalhau é um peixe amplamente conhecido em todo o mundo. Habita águas frias e profundas ainda que possa viver em águas de superfície quando as condições hidrográficas são desfavoráveis (MANSO; CRUZ, 1984). A grande maioria dos Gadídeos vive em recifes continentais ao longo do Atlântico Norte, mas também habitam áreas do Pólo Sul e outros oceanos (COHEN et al., 1990).

O bacalhau do Atlântico tem sido explorado desde que o homem começou a pescar nos mares da Europa e é considerado um alimento nobre peixe quando salgado e seco. Atualmente, a captura de bacalhau vem diminuindo devido ao declínio dos estoques pesqueiros, mas ainda é a principal fonte de abastecimento do mercado com 1.049.666 toneladas em 2011, no entanto, a produção de bacalhau em cativeiro tem ganhado espaço. Sua produção teve início no final da década de

80 e a produção desta espécie totalizou 16.126 toneladas em 2011. A Noruega é o maior produtor e exportador de bacalhau salgado e seco. O preparo é feito a partir do peixe fresco decapitado, eviscerado e seco durante cerca de três meses. Finalmente, o produto é armazenado em lugar fresco e seco (LUCCIA et al., 2005).

A família Gadidae, pertencente à ordem Gadiformes, é formada por um grupo de aproximadamente 50 espécies, distribuídas em 3 sub-famílias: Gadinae, Lotinae e Phycinae. Segundo o Decreto-Lei n.º 25/2005, de 28 de Janeiro, de Portugal, existem apenas três espécies que podem ser consideradas bacalhau legítimo, o bacalhau do Atlântico (*Gadus mohrue*) (Figura 3), o bacalhau da Groenlândia (*Gadus ogac*) e o bacalhau do Pacífico (*Gadus macrocephalus*).



Figura 3: Representação do bacalhau do Atlântico (*Gadus mohrue*).

Fonte: <http://www.fishsource.com/species/show/1#>

O *Gadus mohrue* apresenta a carne mais branca entre os demais peixes pertencentes à família Gadidae, sendo um dos produtos tradicionais mais apreciados em todo o mundo, sobretudo, devido à estabilidade de armazenamento, sabor e alto valor nutricional (LAURITZSEN et al., 2004).

A substituição de espécies de pescado tornou-se uma preocupação significativa nos mercados internacionais e domésticos em todo o mundo, por isso a aplicação de métodos para garantir a autenticação é necessária. Vários métodos têm sido desenvolvidos para diversos tipos de aplicações, no entanto, algumas técnicas são demoradas e onerosas. Portanto, a combinação das técnicas de determinação da composição química, perfil de ácidos graxos, minerais e isótopos estáveis na autenticação de peixes pode ser uma ferramenta eficiente na autenticação do pescado. Diferenças quanto à origem geográfica, sistemas de produção, tamanho e sazonalidade afetam a qualidade, preço e a segurança do alimento. Com a utilização dessas técnicas na autenticação do pescado é possível

evitar fraudes, enganos e proporcionar aos consumidores um maior número de informações sobre o produto a ser consumido.

Objetivos

Geral

O objetivo deste estudo foi utilizar a composição química, elementos essenciais e não essenciais, perfil de ácidos graxos e isótopos estáveis, como ferramentas de rastreabilidade para avaliar o grau de domesticação, origem e sazonalidade de peixes.

Específico

- Diferenciar a corvina (*Argyrosomus regius*) quanto ao sistema de produção grau de domesticação e tamanho utilizando a composição química, perfil de ácidos graxos, minerais e isótopos estáveis.
- Utilizar a composição química, perfil de ácidos graxos, minerais e isótopos estáveis, como instrumentos de rastreabilidade para garantir a autenticidade do bacalhau do Atlântico (*Gadus morhua*) e outras espécies de peixes salgados e secos, de modo a que a fraude possa ser detectada.
- Utilizar a composição química, perfil de ácidos graxos, minerais e isótopos estáveis, como instrumentos de rastreabilidade para avaliar a origem geográfica e a sazonalidade da corvina (*Micropogonias furnieri*).

Referências

- AIDOS, I. Seasonal Changes in Crude and Lipid Composition of Herring Fillets, Byproducts, and Respective Produced Oils. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 50, p. 4589-4599, 2002.
- ACKMAN, R.G. Nutritional composition of fats in seafood. **Progress in food & nutrition science**, v. 13, p. 161-241, 1989.
- ACKMAN R.G. **Composition and nutritive value of fish and shellfish lipids**. In: Ruither A. **Fish and Fishery Products**. Oxford: CAB International, 1995, p. 117–156.
- AL-YOUSUF, M.H.; EL-SHAHAWI, M.S.; AL-GHAISC, S.M. Trace metals in liver, skin and muscle of *Lethrinus lentjan* fish species in relation to body length and sex. **The Science of the Total Environment**, v. 256, p. 87-94, 2000.
- ARTS, M. T.; ACKMAN, R. G.; HOLUB, B. J. “Essential fatty acids” in aquatic ecosystems: a crucial link between diet and human health and evolution. **Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences**, v.58, p. 122–137, 2001.
- ASENSIO, L. et al. Determination of food authenticity by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). **Food Control**, v.19, p. 1–8, 2008.
- BANDARRA, N. M. et al. Seasonal changes in lipid composition of sardine (*Sardina pilchardus*). **Journal of Food Science**, v. 62, p. 40-42, 1997.
- BANDARRA, N. M.; BATISTA, I.; NUNES, M. L. Chemical composition and nutritional value of raw and cooked black scabbardfish (*Aphanopus carbo*). **Scientia Marina**, Barcelona, v. 73, s. 2, p. 105-113, 2009.
- BELL, J.G.; SARGENT J.R. Arachidonic acid in aquaculture feeds: current status and future opportunities. **Aquaculture**, v. 218, p. 491-499, 2003.
- BELL, J.G. et al. Effect of supplementation with (20:3n-6), (20:4n-6) and (20:5n-3) on the production of prostaglandin-e and prostaglandin-f on the 1- series, 2-series and 3-series in turbot (*Scophthalmus maximus*) brain astroglial cells in primary culture. **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 1211, p. 335– 342, 1994.
- BELL, J.G. 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.
- BELLUZZI, A. N-3 and n-6 fatty acids for the treatment of autoimmune diseases. **European Journal of Lipid Science and Technology**, v. 103, p. 399–407, 2001.
- BRASIL. Ministério da Agricultura. Secretária Municipal do Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis. **Desembarque de Pescado no Rio Grande do Sul**. Rio Grande, IBAMA, 2005, 9 p.

- BRENNAN, J. T. et al. High-precision continuous-flow isotope ratio mass spectrometry. **Mass spectrometry reviews**, v. 16, n. 5, p. 227–258, 1997.
- BUSETTO, M.L. et al. Authentication of farmed and wild turbot (*Psetta maxima*) by fatty acid and isotopic analyses combined with chemometrics. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 56, p. 2742-2750, 2008.
- CANLI, M.; ATLI, G. The relationships between heavy metal (Cd, Cr, Cu, Fe, Pb, Zn) levels and the size of six Mediterranean fish species. **Environmental Pollution**, v. 121, p. 129–136, 2003.
- CARPENE, E.; MARTIN, B.; DALLA LIBERA, L. Biochemical differences in lateral muscle of wild and farmed gilthead sea bream (*Sparus aurata* L.). **Fish Physiology and Biochemistry**, v. 19, p. 229–238, 1998.
- CASTRO-GONZALEZ, M.; MENDEZ-ARMENTA, M. Heavy metals: Implications associated to fish consumption. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, v.26, p. 263–271, 2008.
- CE REGULAMENTO n.º 2065/2001 de outubro de 2001, que estabelece normas de execução do Regulamento (CE) n.º 104/2000 no que respeita informar os consumidores sobre pesca e da aquicultura.
- COHEN, D.M. et al. FAO species catalogue. Gadiform fishes of the world (Order Gadiformes). An annotated and illustrated catalogue of cods, hakes, grenadiers and other gadiform fishes known to date. Rome: **FAO Fisheries Synopsis**, v.10, p. 125- 242, 1990.
- CONNOR, W.E. Importance of n-3 fatty acids in health and disease. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 71(suppl), p. 171-175, 2000.
- COSTA, M.R.; ARAUJO, F. Use of a tropical bay in southeastern Brazil by juvenile and subadult *Micropogonias furnieri* (Perciforme, Sciaenidae). **Journal of Marine Science**, v.60, p. 268-277, 2003.
- Decreto-Lei n.º 25/2005, de 28 de Janeiro. Diário da República de Portugal, I Série-A, n.º 20: 696-703.
- ELSDON, T. S.; GILLANDERS B. M. Interactive effects of temperature and salinity on otolith chemistry: challenges for determining environmental histories of fish. **Journal of Fisheries and Aquatic Science**, v.59, p. 1796-1808, 2002.
- FAO, 2010. Cultured Aquatic Species Information Programme. *Argyrosomus regius*. Cultured Aquatic Species Information Programme. Text by Stipa, P.; Angelini, M. In: FAO Fisheries and Aquaculture Department [online]. Rome. Updated 10 February 2005. Disponível em: http://www.fao.org/fishery/culturedspecies/Argyrosomus_regius/en . Acesso em: 10 jun. 2013.

- FAO, 2011. Fisheries and Aquaculture Department. Species Fact Sheets. Disponível em: <http://www.fao.org/fishery/species/2351/en>. Acesso em: 15 Jan. 2013.
- FAO. **The state of world fisheries and aquaculture**. Rome, 2010. 145 p.
- Fishsource. Status and Environmental Performance of Fisheries Worldwide. Disponível em <http://www.fishsource.com/species/show/1#>. Acesso em: 15 jan. 2013.
- FENTON, W. S.; HIBBELN, J.; KNABLE, M. Essential fatty acids, lipid membrane abnormalities, and the diagnosis and treatment of schizophrenia. **Biological Psychiatry**, v. 47, n. 1, p. 8–21, 2000.
- FRANKE, B.M. et al. Geographic origin of meat-elements of an analytical approach to its authentication. **European Food Research and Technology**, v. 221, p. 493–503, 2005.
- GRIGORAKIS, K. et al. Comparison of wild and cultured gilthead sea bream (*Sparus aurata*): appearance and seasonal variations. **International Journal of Food Science and Technology and Analysis**, v. 37, p. 477-484, 2002.
- GRIGORAKIS, K. Compositional and organoleptic quality of farmed and wild gilthead sea bream (*Sparus aurata*) and sea bass (*Dicentrarchus labrax*) and factors affecting it: A review. **Aquaculture**, v. 272, p. 55–75, 2007.
- HAARD, N.F. Control of chemical composition and food quality attributes of cultured fish. **Food Research International**, v. 25, p. 289-307, 1992.
- HARRIS, W.S. Nonpharmacologic treatment of hypertriglyceridemia: focus on fish oils. **Clinical Cardiology**, v, 22, n. II, p. 40-43, 1999.
- ISAAC, V.J. Synopsis of biological data on the whitemouth croaker *Micropogonias furnieri* (Desmarest, 1823), FAO: **Fisheries Synopsis**, 1988, n. 150, 35 p.
- JUSTI, K. C. et al. The influence of feed supply time on the fatty acid profile of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) fed on a diet enriched with n-3 fatty acids. **Food Chemistry**, v. 80, p. 489-493, 2003.
- KAWAI, T. Fish flavor. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 36, p. 257–298, 1996
- KELLY, S. D. Using stable isotope ratio mass spectrometry (IRMS) in food authentication and traceability. In Lees, M. (Ed.) **Food authenticity and traceability**. Boca Raton: CRC Press., 2003.
- KELLY, S.; HEATON, K.; HOOGEWERFF, J. Tracing the geographical origin of food: The application of multi-element and multi-isotope analysis. **Trends Food Science Technology**, v. 16, p. 555–567, 2005.

- Krkošek, M. Host density thresholds and disease control for fisheries and aquaculture. **Aquaculture Environment Interactions**, v. 1, p. 21–32, 2010.
- KRZYNOWEK, J. Sterols and fatty acids in seafood. **Food Technology**, v. 39, p. 61–68, 1985.
- LAL, S. P. Macro and trace elements in fish and shellfish. In Ruitter, A. (Ed.), **Fish and fishery products: composition, nutritive properties and stability** (pp. 187–214). Wallingford: CAB International, 1995.
- LARSEN, E. Traceability in fish processing. In Lees, M. (ed.) **Food authenticity and traceability**. Woodhead Publishing Limited, Cambridge, 2003, p. 507-517.
- LAURITZSEN, K. et al. Physical and quality attributes of salted cod (*Gadus morhua* L.) as affected by the state of rigor and freezing prior to salting. **Food Research International**, v.37, n.7, p. 677-688, 2004.
- LIE, Ø., Flesh quality—the role of nutrition. **Aquacultural Research**, v. 32, p. 341–348, 2001.
- Love, R.M. Biochemical dynamics and the quality of fresh and frozen fish. In: Hall, G.M. (Ed.), **Fish Processing Technology**. Balckie Academic, NY, pp. 1–30, 1992.
- LUCCIA, A.D. et al. Effects of the hydration process on water-soluble proteins of preserved cod products. **Food Chemistry**, v. 93, n.3, p. 385-393, 2005.
- LUZIA, L. A. et al. The influence of season on the lipid profiles of five commercially important species of Brazilian fish. **Food Chemistry**, v. 83, p. 93–97, 2003.
- LUYKX, D.M.A.M; RUTH, S.M.V. An overview of analytical methods for determining the geographical origin of food products. **Food Chemistry**, v. 107, p. 897–911, 2008.
- MAIRESSE, G. et al. Effects of geographic source, rearing system, and season on the nutritional quality of wild and farmed *Perca fluviatilis*. **Lipids**, v. 41, p. 221-229, 2006.
- MANETTA, G. I.; BENEDITO-CECILIO, E. Aplicação da técnica de isótopos estáveis na estimativa da taxa de turnover em estudos ecológicos: uma síntese. **Acta Scientiarum: Biological Sciences**, v. 25, n. 1, p. 121-129, 2003.
- MARQUES, A. et al. Compositional characteristics of spider crab *Maja brachydactyla*: human health implications. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 23, p. 230–237, 2010.
- MANSO F., CRUZ O. **A epopeia dos Bacalhaus**. DistriEditora, Porto, 1984, 111 p.

- MINGANTI, V.; DRAVA, G.; DE PELLEGRINI, R.; SICCARDI, C. Trace elements in farmed and wild gilthead seabream, *Sparus aurata*. **Marine Pollution Bulletin**, v. 60, p. 2022–2025, 2010.
- MONFORT, M.C. Present market situation and prospects of meagre (*Argyrosomus regius*), as an emerging species in Mediterranean aquaculture. Studies and Reviews. General Fisheries Commission for the Mediterranean. FAO. Rome, n. 89, 2010, 28p.
- MORETTI, V.M. et al. Traceability Issues in Fishery and Aquaculture Products. **Veterinary Research Communications**, v. 27, n. 1, p. 497–505, 2003.
- MORRISON, D. J. et al. Authenticating production origin of gilthead sea bream (*Sparus aurata*) by chemical and isotopic fingerprinting. **Lipids**, v. 42, p. 537–545, 2007.
- MURRAY, J.; BURT, J. R. **The composition of fish. Torry Advisory Note, Torry Research Station**. Aberdeen, n. 38, 1969. Disponível em: <<http://www.fao.org/wairdocs/tan/x5916e/x5916e00.htm#Contents>> Acesso em: 10 ago. 2012.
- OLSEN, Y. Lipids and essential fatty acids in aquatic foods webs: what can freshwater ecologists learn from mariculture. In: Arts, M. T.; Wainman, B. C **Lipids in freshwater ecosystems**, 1998. cap. 8, p. 161–202.
- OKITA, M. et al. Habitual food intake and polyunsaturated fatty acid deficiency in liver cirrhosis. **Applied Nutritional Investigation**, v. 18, p. 304–308, 2002.
- OLIVEIRA, E.J.V.M. et al. The use of stable isotopes for authentication of gadoid fish species. **European Food Research and Technology**, v. 232, p. 97–101, 2011.
- OLSSON, G.B. et al. Seasonal variations in chemical and sensory characteristics of farmed and wild Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus*). **Aquaculture**, v. 217, p. 191–205, 2003.
- PAPAGIANNIS, I. et al. Copper and zinc in four freshwater fish species from Lake Pamvotis (Greece). **Environmental International**, v. 30, p. 357–362, 2004.
- QUÈMÈNER, L. **Le maigre commun (Argyrosomus regius). Biologie, pêche, marche et potentiel aquacole**. Editions Ifremer, Plouzané, France, 2002. 31 p.
- RAHMAN, S. A. et al. Fatty acid composition of some Malaysian freshwater fish. **Food Chemistry**, v. 54, p. 45–49, 1995.
- RASMUSSEN, R.S., MORRISSEY, M. Application of DNA-based method to identify fish and seafood substitution on the commercial market. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 8, p. 118–154, 2009.

- RASOARAHONA, J.R.E. et al. Influence of season on the lipid content and fatty acid profiles of three tilapia species (*Oreochromis niloticus*, *O. macrochir* and *Tilapia rendalli*) from Madagascar. **Food Chemistry**, v. 91, p. 683–690, 2005.
- REGULAMENTO (CE) n.º 178/2002 do Parlamento Europeu e do Conselho, de 28 de Janeiro de 2002. Jornal Oficial L 31 de 01/02/2002.
- SAITO, H. et al. Influence of diet on fatty acids of three subtropical fish, subfamily caesioninae (*Caesio diagramma* and *C. tile*) and family siganidae (*Siganus canaliculatus*). **Lipids**, v. 34, p. 1073–1082, 1999.
- SANT'ANA, L.S.; DUCATTI, C.; RAMIRES, D.G. Seasonal variations in chemical composition and stable isotopes of farmed and wild Brazilian freshwater fish. **Food Chemistry**, v. 122, p. 74–77, 2010.
- SAPKOTA, A.; SAPKOTA, A.R.; KUCHARSKI, M.; BURKE, J.; MCKENZIE, S.; WALKER, P.; LAWRENCE, R. Aquaculture practices and potential human health risks: current knowledge and future priorities. **Environment International**, v. 34, p. 1215–1226, 2008.
- SHEARER, K. D. Factors affecting the proximate composition of cultured fishes with emphasis on salmonids. **Aquaculture**, v. 119, p. 63–88, 1994.
- STAFILOV, T.; KARADJOVA, I. Atomic absorption Spectrometry in wine analysis – A review. **Macedonian Journal of Chemistry and Chemical Engineering**, v. 28, p. 17-31, 2009.
- SIMOPOULOS, P. The importance of the ratio of omega-6/omega-3 essential fatty acids. **Biomed Pharmacother**, v. 56, p. 365–379, 2002.
- SORBERA, L.A., ZANUY, S., CARRILLO, M. A role of polyunsaturated fatty acids and prostaglandins in oocyte maturation in the sea bass *Dicentrarchus labrax*. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 839, p. 535–537, 1998.
- STEFFENS, W. Effects of variation in essential fatty acids in fish feeds on nutritive value of freshwater fish for humans. **Aquaculture**, v. 151, p. 97–119, 1997.
- The Ministry of Agriculture, Forestry and Fisheries of Japan. As revised 2004a. The law concerning standardization and proper labeling of agriculture and forestry products. Law nr 175 of 1950. Disponível em: www.maff.go.jp. Acesso em: 27 Mar, 2005.
- THOMAS, F.; JASMIN, E.; LEES, M. Isotopic analysis of lipids as a mean of authenticating fish products. **Lipid Technology**, v. 17, n. 9, p. 204-208, 2005.
- THOMAS, F. et al. Determination of Origin of Atlantic Salmon (*Salmo salar*): The Use of Multiprobe and Multielement Isotopic Analyses in Combination with Fatty Acid Composition To Assess Wild or Farmed Origin. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 56, p. 989–997, 2008.

TURCHINI, G.M. et al. Traceability and discrimination among differently farmed fish: A case study on Australian Murray cod. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 57, p. 274–281, 2009.

TZIKAS, Z. et al. Seasonal variation in the chemical and microbiological condition of Mediterranean horse mackerel (*Trachurus mediterraneus*) muscle from the North Aegean Sea (Greece). **Food Control**, v. 18, p. 251-257, 2007.

U.S. Food and Drug Administration 21CFR101.9. **Nutrition labeling of food. Code of Federal Regulations 21**, Part 101, Section 101.9. Rockville, Md. 2003.

WHITEHEAD, P.J.P. et al. **Fishes of the North-eastern Atlantic and the Mediterranean**. UNESCO, Paris, 1986.

**Capítulo II - Rastreabilidade de peixes:
Utilização de diferentes ferramentas para
diferenciação de corvina portuguesa
(*Argyrosomus regius*) selvagem e de
aquicultura**

Resumo

A globalização do comércio permitiu a possibilidade de erros não intencionais e fraudes na discriminação de espécies de pescado. Portanto, existe uma necessidade urgente de desenvolver métodos físicos e químicos de baixo custo capazes de diferenciar espécies de forma inequívoca, bem como sua origem geográfica e método de produção. O objetivo deste estudo foi utilizar composição química, elementos essenciais e não essenciais, perfil de ácidos graxos e isótopos estáveis de carbono e nitrogênio como ferramentas de rastreabilidade para avaliar o sistema de produção e o tamanho das corvinas portuguesas (*Argyrosomus regius*). As corvinas de aquicultura apresentaram níveis mais elevados de lipídeos e menor teor de umidade que as selvagens. As corvinas de aquicultura tiveram maior proporção de 14:0, 18:1n-9, 18:2n-6, 18:3n-3, 20:1n-9, 22:1n-11 que as selvagens. Foram detectadas diferenças significativas entre corvinas de aquicultura e selvagem em Cl e Zn. Este estudo mostrou que a maior concentração de Rb foi encontrado nas corvinas maiores e menores concentrações de Br inferiores nas corvinas menores. Os isótopos de carbono foram estatisticamente diferentes entre as corvinas de aquicultura e selvagem. Os valores $\delta^{15}\text{N}$ de corvinas de aquicultura foram estatisticamente menores do que as selvagens. Valores isotópicos de nitrogênio só foram significativamente diferentes entre os tamanhos em corvinas selvagens. Assim, os isótopos estáveis, perfil de ácidos graxos e a composição mineral podem ser técnicas promissoras para a rastreabilidade de corvina portuguesa.

Palavras-chave: corvina (*Argyrosomus regius*), espectrometria de massa de razão isotópica, ácidos graxos, minerais e contaminantes.

Abstract

The global marketing has enabled the possibility of unintentional mistakes and frauds in the discrimination of seafood species. Therefore, there is an urgent need to develop cost-effective physical and chemical methods able to unequivocally distinguish the different seafood species, their geographical origin and production method. The aim of this study was to use proximate chemical composition, essential and non-essential elements, fatty acid profile and stable isotopes of carbon and nitrogen, as traceability tools to assess domestication level and size of meagre (*Argyrosomus regius*). Farmed meagre contained higher lipids and lower moisture content than its wild counterpart. Farmed meagre had higher proportion of 14:0, 18:1n-9, 18:2n-6, 18:3n-3, 20:1n-9, 22:1n-11 than wild ones. Significant differences were detected between farmed and wild meagre in Cl and Zn contents. This study showed that larger meagre was higher Rb contents and lower Br contents than smaller meagre. Carbon isotopic ratios were statistically different between farmed and wild meagre. $\delta^{15}\text{N}$ values of farmed meagre were statistically lower than wild counterparts. Nitrogen isotopic values were only significantly different between sizes in wild meagre. Thus, isotopic ratio, fatty acid and mineral composition and can be promising traceability techniques for meagre *A. regius*.

Keywords: meagre (*Argyrosomus regius*); isotope ratio mass spectrometry; fatty acids; macro and trace elements

1. Introdução

O aumento da globalização do comércio aumentou a possibilidade de erros não intencionais e fraudes na discriminação de espécies de pescado (Bell et al., 2007). Por isso, a União Europeia criou regulamentos que definem a rastreabilidade dos alimentos. A rastreabilidade é a capacidade de rastrear a história, aplicação ou localização de um determinado alimento, alimentação, produtos de alimentação animal ou substância em todas as fases de produção e distribuição (Larsen, 2003). O objetivo destas normas é garantir a confiança do consumidor e proporcionar-lhe o mínimo de informações necessárias sobre a origem dos produtos.

Vários métodos têm sido utilizados para distinguir as espécies de pescado, tais como a composição de ácidos graxos (Alasalvar et al., 2002; González et al., 2006; Thomas et al., 2008), a natureza dos carotenóides (Moretti et al., 2006), contaminantes (Fallah et al., 2011) e razões isotópicas (Bell et al., 2007; Busetto et al., 2008). Porém, é necessário o desenvolvimento de métodos físicos e químicos capazes de diferenciar inequivocamente as espécies, origem geográfica e método de produção: aquicultura ou selvagem. Molketin et al. (2007) mostraram que a combinação de diferentes técnicas (análise isotópica e composição de ácidos graxos) permitiu distinguir amostras de salmão de diferentes origens: cultivado, selvagem e cultivado organicamente.

A espectrometria de massa de razão isotópica (IRMS) é uma técnica capaz de distinguir os compostos quimicamente idênticos com base em seu conteúdo isotópico (Brenna et al., 1997) e tem sido utilizada para diferenciar origem de pescado (Bell et al., 2007; Molketin et al., 2007). Esta técnica pode oferecer evidências de adulteração de alimentos e, portanto, pode ser um instrumento prático para uso diário em laboratórios de controle e agências de aplicação no processo de comércio fraudulento (Kelly, 2003). Em geral, a composição isotópica depende de vários fatores, sendo que o mais importante é a ração utilizada na dieta dos animais de criação e as variações sazonais (Luykx & van Ruth, 2008).

A composição química dos peixes pode ser influenciada por diversos parâmetros, tais como fatores genéticos, origem geográfica, nível de domesticação, disponibilidade e qualidade do alimento e época de captura (Haard, 1992). Esta variação está intimamente relacionada com a ingestão de alimentos, migração e

variações sexuais relacionadas à desova (Tzikas et al., 2007). Peixes selvagens e cultivados têm dietas diferentes que conduzem a diferentes características de composição. Vários estudos têm mostrado que existem diferenças no perfil de ácidos graxos entre peixes selvagens e cultivados (Grigorakis et al., 2002; Fernandez-Jover et al., 2007; Busetto et al., 2008). Em todos os casos, foi encontrado concentração lipídica muito mais elevada nos peixes de aquicultura do que nos seus homólogos selvagens.

A corvina (*Argyrosomus regius*) é uma espécie carnívora, que habita os mares Mediterrâneo, Negro e a costa atlântica da Europa (Whitehead et al., 1986). Esta espécie se adapta facilmente ao cativeiro, apresenta elevadas taxas de crescimento e tem a capacidade de tolerar amplas variações de temperatura e salinidade. Sua carne é magra e muito apreciada devido à sua alta qualidade lipídica (Quéméner, 2002).

O objetivo deste estudo foi utilizar a composição química, elementos essenciais e não essenciais, o perfil de ácidos graxos e isótopos estáveis de carbono e nitrogênio, como ferramentas de rastreabilidade para avaliar o tamanho e o grau de domesticação da corvina (*Argyrosomus regius*).

2. Material e Métodos

2.1. Coleta e processamento das amostras

As amostras de corvina cultivada foram obtidas da estação de aquicultura do Instituto Português do Mar e da Atmosfera – IPMA, no Algarve, sul de Portugal, enquanto que exemplares selvagens foram adquiridos no mercado local, após verificação dos documentos de pesca. Em seguida, foi feita a biometria dos animais (Tabela 1). O número de amostras foi menor na corvina selvagem, devido ao pequeno número de amostras disponíveis no mercado. As amostras de músculo sem pele foram trituradas, homogeneizadas, congeladas e uma porção foi liofilizada durante 48 horas à temperatura de -40°C e a baixa pressão (cerca de 10^{-1} atm; Heto power dry LL 3000), e armazenada a -80°C sob condições de umidade controlada até as análises.

Tabela 1. Peso das corvinas de aquicultura e selvagens (média \pm desvio padrão).

Peso (kg)	CAG (n=13)	CAP (n=10)	CSG (n=5)	CSP (n=3)
Média	1,498 \pm 0,200	0,600 \pm 0,040	4,460 \pm 2,420	0,597 \pm 0,020
Mínimo	1,210	0,549	2,350	0,575
Máximo	1,820	0,694	7,200	0,615

CAG :Corvina de Aquicultura Grande; CAP: Corvina de Aquicultura Pequena; CSP: Corvina Selvagem Pequena; CSG: Corvina Selvagem Grande.

2.2. Composição química aproximada

Os teores de umidade, cinzas, proteína bruta e lipídeos foram determinados de acordo com a Association of Official Analytical Chemists methods (AOAC, 2005). O teor de umidade foi obtido por meio da secagem da amostra durante uma noite a 105°C (P-Selecta 207); as cinzas foram quantificadas após a combustão em mufla, durante 16 horas a 550°C (Heraeus Hanau, TYPMR170); a quantidade total de nitrogênio foi determinada pelo método de Kjeldahl (método 981,10), e os níveis de proteína foram estimados usando o fator de conversão 6,25. O conteúdo total de lipídeos foi determinado pelo método de extração de Soxhlet com éter etílico durante 7 horas (40 - 60°C; placa de aquecimento; SBS PC6L Instruments). Os resultados foram expressos em g por 100 g de peso seco.

2.3. Perfil de ácidos graxos

O perfil de ácidos graxos foi determinado em duplicata para cada amostra, e baseou-se no procedimento experimental de Cohen et al. (1988). Cada amostra (300 mg de peso seco) foi dissolvida em 5 mL de cloreto de acetilo / metanol (01:19 v / v; Merck), agitado, e aquecido (80°C, 1 h). Após o resfriamento, foram adicionados 1 mL de água ultra pura (Milli-Q) e 2 mL n-heptano (Merck). As amostras foram agitadas e centrifugadas (2000 g, 5 min, Sigma 2K15) até a separação das fases. A umidade da fase superior foi removida com sulfato de sódio anidro (Panreac). Uma alíquota (2 μ L) da fase superior foi injetada em cromatógrafo a gás (Varian Star 3800 Cp) equipado com um amostrador automático e com um detector de ionização de chama de 250°C. A separação foi feita com hélio como gás de arraste, com fluxo de 1 mL min⁻¹, em uma coluna capilar DB-WAX (30 m de comprimento 0,32 mm de diâmetro interno, 0,25 μ m de espessura do filme; Hewlett-Packard) programado a 180°C durante 5 min, aumentada para 220 a 4°C min⁻¹, e mantida a 220°C durante

25 min, com o injetor a 250°C. Os ácidos graxos foram identificados por comparação dos tempos de retenção com os de padrões Sigma. Os dados quantitativos foram calculados utilizando a relação de área de pico (percentagem de ácidos graxos totais) e o software Varian.

2.4. Minerais essenciais e não essenciais

A espectrometria de fluorescência de raios X por energia dispersiva (EDXRF) foi utilizada para quantificar os elementos S, Cl, K, Ca, Fe, Zn, As, Se, Br e Sr. O espectrômetro é um sistema auto-construído, utilizando o gerador de raios-X Philips (PW 1140/00/60 3 kV). A técnica de EDXRF consiste em um tubo de raios X equipado com um excitador de molibdênio secundário. As radiações características emitidas dos elementos da amostra foram detectados por lítio derivado de silício [Si (Li)] com 30 mm² de área ativa e janela de berílio de 8 µm. A resolução de energia foi de 135 eV em 5,9 keV. Cálculos quantitativos foram feitos pelo método dos parâmetros fundamentais (Custódio et al., 2003). O gerador de raios X foi operado a 50 kV, 20 mA e tempo de aquisição de 1000 s. Cada amostra liofilizada (1 g) foi prensada em pastilhas de 2 cm de diâmetro (n = 2), sem qualquer tratamento químico e coladas sobre filmes de Mylar em suportes de amostras e colocadas diretamente no feixe de raios X.

A espectrometria de absorção atômica com chama (FAAS; Varian SpectrAA 55B Sydney, Austrália) foi utilizada para quantificar Cd e Pb em cada amostra (n = 2), de acordo com os procedimentos descritos por Jorhem (2000). Em resumo, 10 g do músculo foram incinerados a 500°C e dissolvidos em 15% v / v de ácido nítrico. As concentrações de Pb e Cd foram encontrados por meio da calibração externa linear com soluções padrão: Cd (NO₃)₂ e de Pb (NO₃)₂ (Merck, 1 g L⁻¹ dissolvidos em 0,5 mol L⁻¹ HNO₃).

As concentrações de Hg total foram determinadas por espectrometria de absorção atômica utilizando analisador automático de Hg (aparelho AMA 254, LECO). O procedimento baseia-se na decomposição da amostra liofilizada (10 mg, n = 2 para cada amostra), por meio da combustão, e técnica de pré-concentração por amalgamação através da fusão com ouro e espectrometria de absorção atômica. As concentrações foram calculadas a partir de calibração linear com solução padrão de absorbância de Hg (1 g L⁻¹ dissolvidos em 0,5 mol L⁻¹ HNO₃; Merck).

A exatidão foi verificada por análise de material biológico certificado (Tabela 2).

Tabela 2. Concentração elementar (mg kg^{-1} DW) e limites de detecção (mg kg^{-1} , D.L.) de material de referência certificado (média \pm desvio padrão) analisados por FAAS e EDXRF.

Elemento	Técnica	D.L.	Material de referência certificado	Valor certificado	Presente trabalho
Hg	FAAS	0,02	Dogfish muscle (DORM-2)	4,64 \pm 0,26	4,68 \pm 0,17
Cd	FAAS	0,01	Lobster hepatopancreas (TORT-2)	27,00 \pm 1,00	27,00 \pm 0,00
Pb	FAAS	0,02	Lobster hepatopancreas (TORT-2)	0,35 \pm 0,13	0,35 \pm 0,06
As	EDXRF	0,7	Lobster hepatopancreas (TORT-2)	21,60 \pm 1,80	22,6 \pm 2,00
S	EDXRF	100	Oyster tissue (SRM 1566)	7600*	8200 \pm 500
Cl	EDXRF	100	Oyster tissue (SRM 1566)	10000*	10200 \pm 500
K	EDXRF	50	Oyster tissue (SRM 1566)	9690 \pm 50	10000 \pm 80
Ca	EDXRF	20	Oyster tissue (SRM 1566)	1500 \pm 50	1350 \pm 50
Fe	EDXRF	3	Dogfish muscle (DORM-2)	142 \pm 10	141,3 \pm 1,5
Cu	EDXRF	0,7	Oyster tissue (SRM 1566)	63,0 \pm 4,0	63,0 \pm 4,0
Zn	EDXRF	1	Dogfish muscle (DORM-2)	25,6 \pm 2,3	23,9 \pm 0,1
Se	EDXRF	1	Dogfish muscle (DORM-2)	1,4 \pm 0,09	1,2 \pm 0,1
			Freeze-dried animal blood (IAEA-		
Br	EDXRF	0.8	A-13)	22,0 \pm 3,0	22,0 \pm 2,0
Rb	EDXRF	1.1	Orchard Leaves (SRM-1571)	11,4 \pm 0,7	12,0 \pm 1,0

*Os valores não certificados foram fornecidos por United States National Bureau of Standards.

Os limites de detecção (DL) de cada um dos elementos foram determinados através de dois métodos: (1) EDXRF - com a abordagem de sinal-para-ruído, em que o equipamento compara o sinal de cada elemento com amostras em branco e estabelecido a concentração mínima à qual o elemento é detectado com segurança, e (2) FAAS - com o desvio-padrão residual (RSD) da resposta e o declive (S) da curva de calibração de cada solução padrão usada [DL = (3,3 x RSD) / S]. A concentração de todos os elementos foi expressa em miligramas por quilograma de peso em base seca (mg kg^{-1}).

2.5. Análise isotópica

A amostra liofilizada foi pulverizada usando um moinho criogênico (Spex Certipret) com nitrogênio líquido a -196°C , em seguida foram pesadas em balança

(MX5, Mettler Toledo, Greifensee, Switzerland) cerca de 500 µg (¹⁵N) e 60 µg (¹³C) do material pulverizado e estes foram acondicionados em cápsulas de estanho cilíndricas, com 5 x 9 mm. As cápsulas foram submetidas a combustão total sob fluxo contínuo de Hélio, a 1020° C, através do analisador elementar (EA 1108 – CHN Fisons Elemental Analyzer), acoplado ao espectrômetro de massa Delta S (Finnigan Mat, Bremen, Alemanha).

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 (N₂). Esses valores, designados pela terminologia delta (δ), em unidade por mil (‰), foram calculados através da seguinte equação:

$$\delta_{\text{amostra}} = [(R_{\text{amostra}} - R_{\text{padrão}}) - 1] \times 1000$$

2.6. Análise estatística

A análise de variância ANOVA, foi utilizada para detectar diferenças significativas entre o nível de domesticação e tamanho na composição química, perfil de ácidos graxos, minerais essenciais e não essenciais, e isótopos estáveis, seguidos pelo teste Unequal N HSD (variação do teste de Tukey) para identificar essas diferenças. Sempre que necessário, os dados foram transformados para satisfazer os requisitos de distribuição normal e homocedasticidade, seguido de análise de variância não paramétrica com comparações múltiplas (Kruskall-Wallis), se os dados transformados não atenderam a esses pressupostos. A análise Fatorial exploratória com extração de componentes principais foi também empregada para reduzir os conjuntos de dados multidimensionais dos vários elementos para dimensões menores, simplificando assim a apresentação e interpretação dos dados. Todas as análises estatísticas foram testadas no nível de 0,05 de significância com o software STATISTICA 8,0 © (Statsoft, Tulsa, OK, EUA).

3. Resultados e discussão

3.1. Composição química aproximada

A composição química aproximada das corvinas está apresentada na Tabela 3. Não foram observadas diferenças quanto à composição de cinzas entre o tamanho ou nível de domesticação. A corvina de aquicultura apresentou

significativamente maior teor de lipídeos e menor teor de umidade do que a corvina selvagem independentemente do tamanho. Em contraste, o teor total de proteína variou com o tamanho (maior nos exemplares grandes, embora apenas significativamente em corvinas de aquicultura), mas não com o nível de domesticação. Os resultados corroboram com outros trabalhos que compararam peixes selvagens e cultivados (Alasalvar et al, 2002; Grigorakis et al, 2002; González et al, 2006; Bell et al, 2007;. Fernandez-Jover et al, 2007; Busetto et al, 2008; Sant'Ana et al., 2010).

Tabela 3. Composição química aproximada ($\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$) de corvinas selvagens e de aquicultura com tamanhos diferentes.

Sistema/Tamanho	Umidade	Lipídeos	Cinzas	Proteína
CAG	75,17±0,65 ^b	1,53±0,30 ^a	1,31±0,03 ^a	21,23±0,15 ^a
CAP	76,28±0,35 ^b	1,35±0,15 ^a	1,29±0,02 ^a	19,57±0,36 ^b
CSG	78,69±0,56 ^a	0,51±0,14 ^b	1,25±0,06 ^a	18,97±0,55 ^{bc}
CSP	79,79±1,25 ^a	0,47±0,01 ^b	1,24±0,05 ^a	17,94±0,80 ^c

CAG: Corvina de Aquicultura Grande; CAP: Corvina de Aquicultura Pequena; CSP: Corvina Selvagem Pequena; CSG: Corvina Selvagem Grande. ^aMédia ± D.P. com letras diferentes na mesma coluna são significativamente diferentes pelo teste Unequal N HSD ($P \leq 0,05$).

As diferenças encontradas no teor de lipídeos dos peixes de aquicultura em relação ao seu homólogo selvagem devem-se provavelmente ao alto teor de lipídeos no alimento, reduzida atividade animal em peixes de viveiro e longos períodos de fome em peixes selvagens (Haard, 1992). Tais diferenças podem ser menores quando o peixe é alimentado com ração com baixos níveis de lipídeos. (Usydus et al., 2012). Apesar do conteúdo de lipídeos no músculo dos peixes geralmente aumentar com a idade e peso, não foi detectada diferença significativa neste estudo. Isso pode refletir o fato de que a gordura dietética tem maior influência no nível de gordura muscular, do que no tamanho e idade dos peixes (Bell et al., 2007). Assim, o conteúdo lipídico da carne poderia ser usado como um fator discriminante entre corvina selvagem e de criação.

3.2 Perfil de ácidos graxos

Os principais ácidos graxos saturados (SFA), monoinsaturados (MUFA) e poli-insaturados (PUFA) em todas as amostras foram, respectivamente, o ácido palmítico (16:0), ácido oléico (18:1 n-9) e DHA (22:6 n-3) (Tabela 4). O total de ácidos graxos saturados foram maiores nos peixes selvagens, particularmente nos exemplares

maiores. Resultados semelhantes também foram relatados em robalo (Alasalvar et al., 2002), perca amarela (González et al., 2006) e dourada (Grigorakis et al., 2002).

O perfil de ácidos graxos da corvina revelou diferenças de acordo com o nível de domesticação e tamanho dos peixes (Tabela 4). A corvina de aquicultura apresentou estatisticamente maiores proporções de 18:1 n-9 e 18:2 n-6, 18:3 n-3, 20:1 n-9, 22:1 n-11 e MUFA que a corvina selvagem, e os níveis de 18:0, 16:2 n-4, 16:4 n-3, 20:4 n-6, 22:5 n-6, 22:6 n-3 e ácidos graxos eicosapentaenóico + docosahexaenóico (EPA + DHA) foram sempre menores nas corvinas de aquicultura. Em geral, os ácidos graxos n-3, foram maiores nos peixes selvagens (exceto 18:3n-3), o que está de acordo com trabalhos anteriores realizados com outras espécies de peixes (Alasalvar et al, 2002;. Fuentes et al., 2010). Para o grupo PUFA da família n-6, o principal ácido graxo foi o ácido araquidônico (20:4 n-6, ARA) para o peixe selvagem e o linoléico (18:2 n-6) para peixe de aquicultura. Níveis mais elevados de ARA também foram encontrados em outras espécies de peixes selvagens, em concordância com os resultados encontrados em outros trabalhos (Alasalvar et al., 2002; Grigorakis et al., 2002). Vários estudos também relataram maiores concentrações de ácido linoléico em peixes de viveiro (Grigorakis et al, 2002; Fuentes et al, 2010). Esse ácido graxo é encontrado em grande quantidade em óleos de plantas utilizados na alimentação de peixes de aquicultura (Serot et al., 1998). O 22:1 n-11 está presente em peixes cultivados mas ausente nos espécimes selvagens. Este MUFA se origina a partir de óleos de peixe da dieta produzidos a partir de peixes do norte do Atlântico. É derivado de alcoóis graxos contidos nos copépodes calanóides em que estes peixes se alimentam (Henderson & Tocher, 1987). O 22:1 n-11 não é um constituinte normal dos lipídeos corporais de peixes de água quente, mas é depositado quando os peixes são alimentados com óleos contenham este ácido graxo (Grigorakis et al., 2002).

Em relação ao tamanho das corvinas, peixes menores apresentaram valores significativamente mais baixos de MUFA. Segundo Rodriguez et al. (2004) peixes jovens podem perder SFA, ácidos graxos n-6 e n-3, e acumular MUFA durante o crescimento.

Tabela 4. Concentração de ácidos graxos (%) de corvinas selvagens e de aquicultura em diferentes tamanhos.

Ácidos Graxos	CAG	CAP	CSG	CSP
14:0*	2,29±0,41 ^b	2,97±0,13 ^a	1,74±0,22 ^b	1,02±0,51 ^c
15:0***	0,49±0,02 ^b	0,58±0,02 ^a	1,17±0,57 ^a	0,64±0,14 ^{ab}
16:0**	19,82±0,60 ^{ab}	19,05±0,30 ^b	25,97±4,06 ^a	21,29±2,52 ^{ab}
16:1n-7+n-9**	4,81±0,35 ^a	4,47±0,10 ^{ab}	5,69±1,06 ^a	2,41±0,29 ^b
16:2n-4**	0,33±0,01 ^b	0,36±0,10 ^b	0,71±0,33 ^a	0,72±0,15 ^a
17:0**	0,58±0,02 ^b	0,73±0,03 ^{ab}	0,73±0,28 ^{ab}	1,34±0,28 ^a
16:3n-4**	0,32±0,03 ^a	0,31±0,09 ^a	0,38±0,19 ^a	0,52±0,17 ^a
17:1**	0,27±0,04 ^{ab}	0,18±0,03 ^{bc}	0,76±0,21 ^a	0,02±0,02 ^c
16:4n-3**	0,14±0,03 ^b	0,15±0,01 ^b	1,40±0,15 ^a	1,73±0,15 ^a
18:0*	5,72±0,13 ^c	5,53±0,19 ^c	8,28±0,19 ^b	9,49±0,48 ^a
18:1n-9*	19,80±0,50 ^a	16,38±0,21 ^a	8,39±1,59 ^b	7,29±1,16 ^b
18:1n-7*	2,57±0,07 ^a	2,58±0,08 ^a	2,71±0,15 ^a	2,34±0,34 ^a
18:2n-6*	875±0,17 ^b	9,96±0,28 ^a	1,30±0,28 ^c	1,22±0,21 ^c
18:3n-3***	1,10±0,06 ^a	1,16±0,05 ^a	0,47±0,18 ^b	0,21±0,14 ^b
20:1n-9*	3,25±0,19 ^b	3,51±0,09 ^a	0,43±0,17 ^c	0,25±0,19 ^c
20:4n-6**	1,30±0,09 ^b	1,33±0,09 ^b	4,55±0,73 ^a	3,77±0,39 ^a
20:5n-3**	482±0,14 ^a	4,78±0,17 ^a	6,24±1,91 ^a	5,27±1,11 ^a
22:1n-11**	2,30±0,20 ^a	2,81±0,27 ^a	0,00±0,00 ^b	0,00±0,00 ^b
22:4n-6**	0,18±0,11 ^b	0,19±0,07 ^b	0,81±0,56 ^b	1,36±0,46 ^a
22:5n-6*	0,57±0,06 ^b	0,58±0,04 ^b	1,49±0,34 ^a	1,72±0,53 ^a
22:5n-3**	1,42±0,09 ^b	1,49±0,04 ^{ab}	2,58±0,89 ^a	1,63±0,48 ^{ab}
22:6n-3**	13,90±1,32 ^c	14,54±0,74 ^c	18,23±0,64 ^b	29,22±2,14 ^a
SFA**	29,25±0,84 ^b	29,70±0,41 ^b	40,31±4,74 ^a	34,72±2,70 ^{ab}
MUFA*	33,59±0,93 ^a	31,24±1,47 ^b	18,77±0,84 ^c	13,55±1,46 ^d
PUFA**	34,51±1,22 ^b	37,32±0,83 ^{ab}	39,45±3,70 ^a	49,33±3,77 ^a
∑ n-3**	22,79±1,21 ^c	24,08±0,82 ^{bc}	29,55±2,88 ^b	39,12±1,73 ^a
∑ n-6**	10,46±0,16 ^b	12,44±0,24 ^a	8,51±1,50 ^b	8,70±2,66 ^b
∑ n-3/n-6**	2,18±0,13 ^{ab}	1,94±0,07 ^b	3,55±0,65 ^a	4,76±1,36 ^a
EPA+DHA*	18,72±1,26 ^c	19,32±0,81 ^c	24,46±2,28 ^b	34,49±1,98 ^a

CAG: Corvina Grande de Aquicultura; CAP: Corvina Pequena de Aquicultura; CSP: Corvina Selvagem Pequena; CSG: Corvina Selvagem Grande. SFA: Ácidos Graxos Saturados; MFA: Ácidos Graxos Monoinsaturados; PUFA: Ácidos Graxos Poli-insaturados; n-3: Ácidos Graxos Ômega 3; n-6: Ácidos Graxos Ômega 6; n-3/n-6: Proporção de Ácidos Graxos, EPA: Ácido Eicosapentaenóico, DHA: Ácido Docosahexaenóico. Diferentes letras sobrescritas em cada linha indicam diferenças significativas. * Diferenças significativas pelo teste Unequal N HSD ($P \leq 0,05$). ** e *** Diferenças significativas pelo teste não paramétrico Kruskal-Wallis, $P \leq 0,01$ e $P \leq 0,001$, respectivamente.

A variação na concentração de ácidos graxos da corvina de aquicultura e selvagem foi sobretudo devido às diferentes fontes de alimentos, porém, outros fatores também podem influenciar a sua composição de ácidos graxos, como tamanho, idade, estado reprodutivo, localização geográfica e sazonalidade (Saito et al., 1999). De acordo com Bell e Sargent (2003) as principais mudanças na composição dos peixes, especialmente nos níveis de ácidos graxos, é atribuído à qualidade e quantidade de fitoplâncton disponível no habitat, pois estes representam

a maior fonte de ácidos graxos no alimento, principalmente os da série ômega-3. Este fato mostra que o ambiente marinho proporciona uma fonte excelente de alimentos ricos em n-3.

A quantidade de PUFA n-3 em lipídeos de peixes marinhos de aquicultura é geralmente inferior à dos seus homólogos selvagens porque a alimentação comercial geralmente contém elevadas proporções de lipídeos ricos em SFA e MUFA, mas é deficiente em PUFA n-3, principalmente porque são derivados de fontes terrestres (óleo de plantas e gordura de animal terrestre). A menor proporção de PUFA n-3 em peixes de viveiro pode reduzir a qualidade nutricional dos seus componentes lipídicos (Ackman & Takeuchi, 1986). Mudanças na qualidade e quantidade dos lipídeos do peixe seriam esperadas se a fonte de alimentação terrestre fosse substituída por fontes de alimentos marinhos, isso possibilitaria o aumento dos níveis de n-3, especialmente de EPA e DHA.

3.3. Minerais essenciais e não essenciais

Os elementos foram divididos em dois grupos: essenciais (Tabela 5) e não-essenciais (Tabela 6). Os elementos do primeiro grupo são essenciais para o metabolismo de peixe, enquanto elementos não essenciais não têm nenhum papel conhecido no seu sistema biológico. No entanto, a via dos elementos não essenciais é semelhante a dos essenciais, sendo também transportado e acumulado nos tecidos dos peixes (Canli & Atli, 2003).

Os elementos essenciais, Cl, S e K foram os mais abundantes em todas as amostras. O sistema de produção e o tamanho tiveram influência no teor de minerais. Foram encontradas diferenças significativas entre corvina de aquicultura e selvagem apenas para o Cl e Zn. Com relação ao tamanho dos peixes, as corvinas maiores apresentaram concentrações mais elevadas de Rb e menores níveis de Br do que as corvinas menores. O teor de minerais dos peixes selvagens pode ser influenciado por uma série de fatores, incluindo sazonalidade, espécie, tamanho, tecido, idade, sexo, maturidade sexual, fonte de alimentação e ambiente (Lal, 1995).

Tabela 5. Conteúdo de minerais essenciais (mg kg⁻¹) de corvinas selvagens e de aquicultura em diferentes tamanhos.

Minerais	Sistema / Tamanho			
	CAG	CAP	CSG	CSP
S***	7138,31±787,61 ^{ab}	6446,07±549,27 ^b	9381,87±1569,35 ^a	9858,15±1136,38 ^a
Cl*	2084,39±259,16 ^c	3122,53±329,44 ^a	2546,80±483,48 ^b	2631,69±426,49 ^b
K*	18744,11±404,46 ^a	18899,72±58,34 ^a	19442,12±81,81 ^a	19820,64±79,92 ^a
Ca*	604,43±89,65 ^a	466,47±58,34 ^b	508,03±81,81 ^{ab}	612,31±79,92 ^a
Fe*	11,65±1,17 ^b	25,30±6,51 ^a	13,62±2,94 ^b	11,34±1,68 ^b
Cu*	3,06±0,17 ^a	2,98±0,23 ^a	2,68±0,30 ^b	2,92±0,31 ^a
Zn***	21,33±0,59 ^a	21,83±0,76 ^a	14,53±0,47 ^b	15,82±1,38 ^b
Se***	1,40±0,60 ^{ab}	0,94±0,12 ^b	2,05±0,21 ^a	2,30±0,89 ^a
Br*	13,74±0,86 ^b	20,35±1,39 ^a	16,14±2,38 ^b	19,57±2,20 ^a
Rb*	4,56±0,46 ^a	2,89±0,24 ^c	3,46±0,41 ^b	2,81±0,40 ^c

CAG: Corvina de Aquicultura Grande; CAP: Corvina de Aquicultura Pequena; CSP: Corvina Selvagem Pequena; CSG: Corvina Selvagem Grande. Diferentes letras sobrescritas em cada linha indicam diferenças significativas. * Diferenças significativas pelo teste Unequal N HSD ($P \leq 0,05$). ** e *** Diferenças significativas pelo teste não paramétrico Kruskal-Wallis, $P \leq 0,01$ e $P \leq 0,001$, respectivamente.

Em relação aos minerais não essenciais (Tabela 6), os elementos mais abundantes foram As e Hg. Os elementos não essenciais foram afetados apenas pelo tamanho das corvinas. As concentrações de Hg e As foram fortemente afetadas pelo tamanho nas corvinas selvagens (níveis mais elevados de Hg em peixes grandes e de As nos peixes menores), enquanto que não foram afetados pelo tamanho do peixe nas corvinas de aquicultura. As concentrações de Cd e Pb também foram afetadas pelo tamanho nas corvinas de aquicultura, sendo que foram maiores nas corvinas grandes. No entanto, de acordo com a Autoridade Europeia para a Segurança dos alimentos (EFSA, 2005) o consumo das corvinas tanto de aquicultura como as selvagens estão abaixo da ingestão semanal tolerável, não sendo assim considerado um risco para a saúde.

De acordo com Canli e Atli (2003), a acumulação de metais tóxicos em tecidos de peixes é principalmente dependente da condição animal (teor de gordura, idade, tamanho) e da concentração de metais na água e nos alimentos, embora outros fatores ambientais podem também desempenhar um papel na acumulação destes como: salinidade, temperatura, pH e dureza. (Orban et al., 2006).

Tabela 6. Conteúdo de minerais não essenciais (mg kg^{-1}) de corvinas selvagens e de aquicultura em diferentes tamanhos.

Contaminantes	Sistema/ Tamanho			
	CAG	CAP	CSG	CSP
Hg^{***}	0,82 ± 0,02 ^b	0,87 ± 0,02 ^b	1,66 ± 0,02 ^a	0,58 ± 0,22 ^c
Cd^{***}	0,05±0,02 ^a	0,01±0,00 ^b	0,02±0,01 ^a	0,02±0,01 ^a
Pb^{***}	0,14±0,02 ^a	0,07±0,01 ^b	0,12±0,05 ^{ab}	0,17±0,06 ^a
As[*]	10,55±1,10 ^{ab}	11,38±1,27 ^a	9,61±1,58 ^b	13,22±2,27 ^a

CAG: Corvina de Aquicultura Grande; CAP: Corvina de Aquicultura Pequena; CSP: Corvina Selvagem Pequena; CSG: Corvina Selvagem Grande. Diferentes letras sobrescritas em cada linha indicam diferenças significativas. * Diferenças significativas pelo teste Unequal N HSD ($P \leq 0,05$). ** e *** Diferenças significativas pelo teste não paramétrico Kruskal-Wallis, $P \leq 0,01$ e $P \leq 0,001$, respectivamente.

3.4. Análise isotópica

Os resultados das análises isotópicas de corvinas selvagens e de aquicultura estão apresentados na Tabela 7. As razões de isótopos de carbono foram estatisticamente diferentes entre o nível de domesticação, mas não entre os tamanhos. A corvina de aquicultura apresentou menores valores de ^{13}C do que as selvagens. A origem dos lipídeos da dieta em formulações de rações comerciais refletiu uma significativa assinatura de óleos de plantas terrestres e apareceu em grande parte ser de origem C_3 (plantas nas quais a fixação de dióxido de carbono segue o ciclo das pentoses ou ciclo de Calvin) susceptíveis de serem utilizadas em ração para a aquicultura (O'Leary, Madhavan & Paneth, 1992).

Tabela 7. Razão isotópica de carbono (^{13}C) e nitrogênio (^{15}N) de corvinas selvagens e de aquicultura.

Sistema/Tamanho	$\delta^{13}\text{C}$ (‰)	$\Delta^{15}\text{N}$ (‰)
CAG	-21,26±0,24 ^b	10,29±0,10 ^c
CAP	-21,23±0,17 ^b	10,43±0,13 ^c
CSG	-17,08±0,67 ^a	19,29±0,10 ^a
CSP	-18,05±0,55 ^a	15,45±0,14 ^b

CAG: Corvina de Aquicultura Grande; CAP: Corvina de Aquicultura Pequena; CSP: Corvina Selvagem Pequena; CSG: Corvina Selvagem Grande. ^aMédia ± D.P. com letras diferentes na mesma coluna são significativamente diferentes pelo teste Unequal HSD ($P \leq 0,05$).

Diferenças entre os peixes de aquicultura e selvagem está relacionada com o tipo de alimentação. Segundo Busetto et al. (2008), os músculos de peixes de aquicultura tem valores mais negativos de ^{13}C do que os selvagens devido a uma

dieta menos variável e mais rica em lipídeos. A dieta com alto teor de lipídeos dos peixes de aquicultura produz tecidos com teor lipídico superior, induzindo um maior fracionamento isotópico de ^{13}C do que o encontrado em peixes selvagens, que apresentam menor acúmulo de lipídeos nos tecidos. Bell et al. (2007), afirma que a dieta de peixes marinhos são mais pesadas devido à fonte de carbono inorgânico.

A diferença nos valores de ^{13}C e ^{15}N pode ser atribuída à fonte de alimentação, onde os habitats marinhos apresentam maior enriquecimento destes isótopos (Fry & Sherr, 1989). As razões isotópicas de nitrogênio foram estatisticamente menores em corvinas de aquicultura em comparação com as selvagens. A composição isotópica das corvinas de aquicultura é relativamente constante nos dois tamanhos, devido ao mesmo sistema de produção e composição da dieta. Por outro lado, diferenças podem ser observadas nos isótopos de nitrogênio para as amostras selvagem. A proporção de isótopos de nitrogênio depende da origem e tipo de proteínas na dieta. A corvina tem hábitos alimentares carnívoros, e sua composição pode variar de acordo com a disponibilidade de presas e a origem geográfica das áreas de pesca. Por esta razão, a variação dos valores de ^{15}N pode ser devido a diferenças entre os alimentos naturais e as rações (Busetto et al., 2008).

Valores de ^{15}N foram significativamente diferentes entre os tamanhos apenas na corvina selvagem, onde as corvinas menores tinham níveis mais baixos. Isto pode ser atribuído ao fato de que a proteína animal utilizada na aquicultura é proveniente de organismos que estão nos níveis mais baixos da cadeia alimentar do que os alimentos consumidos pelas corvinas selvagens. A proporção de ^{15}N também pode ter variado entre os tamanhos na corvina selvagem devido a diferentes hábitos alimentares e aspectos de migração. Os juvenis de corvinas selvagens alimentam-se de peixes demersais e pequenos crustáceos, enquanto que os adultos comem peixes pelágicos e cefalópodes (Monfort, 2010).

Na análise de componentes principais dos isótopos estáveis (Figura 1) é possível diferenciar a corvina de aquicultura da selvagem. A variável responsável primeiro componente foi o ^{15}N (0,946) e o ^{13}C responsável pelo segundo componente (0,946).

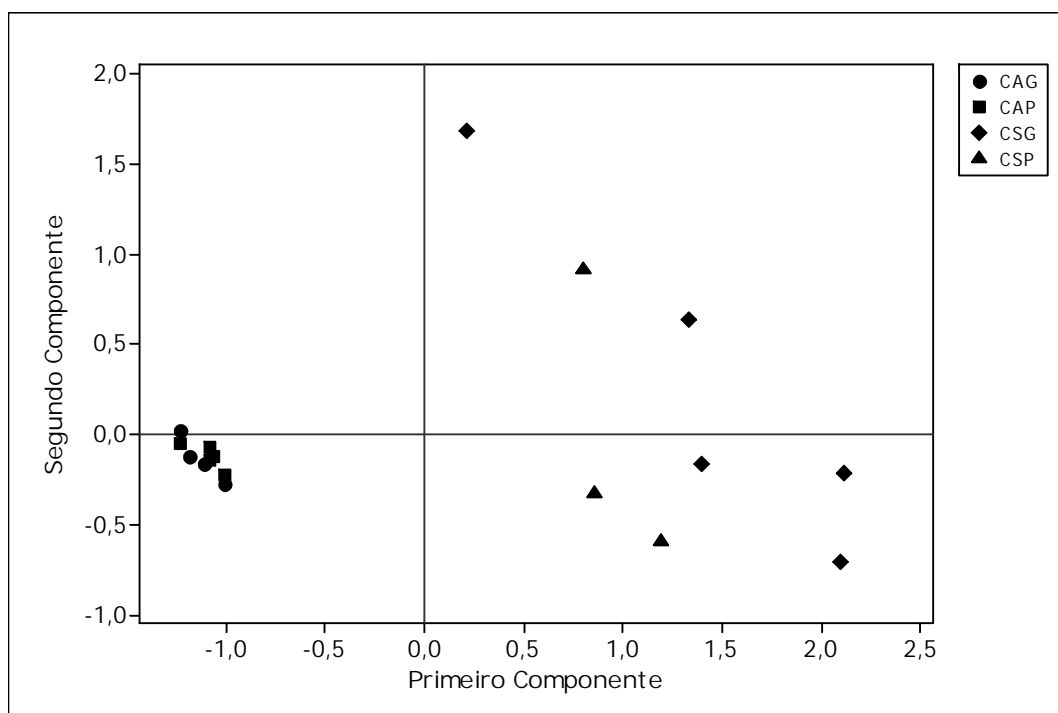


Figura 1. Análise de Componentes Principais dos isótopos estáveis de corvinas selvagens e de aquicultura de diferentes tamanhos.

3.5. Análise Fatorial Exploratória (AFE)

A AFE foi utilizada para fornecer uma visão geral da capacidade das variáveis de composição química, perfil de ácidos graxos, minerais e isótopos estáveis para discriminar as diferenças entre o nível de domesticação e tamanho. Depois de aplicar a AFE para o conjunto de dados, dois fatores foram extraídos. A percentagem de variância explicada por cada fator foi de 48,74% e 19,97%, respectivamente. As variáveis que melhor descrevem o primeiro fator são 20:1n-11, 20:1n-9, n-6 total, proteína e 17:0, e as principais variáveis do segundo fator são 22:5n-6, 22:6n-3 (DHA), EPA+DHA total e 20:4n-6 (ARA) (Tabela 8). A representação gráfica das amostras de corvinas (Figura 2) mostra clara diferenciação entre o nível de domesticação das corvinas, porém só foi possível a diferenciação do tamanho nas corvinas de aquicultura.

O aspecto inovador deste estudo foi avaliar o potencial do uso da composição química, ácidos graxos, minerais essenciais e não essenciais e os isótopos estáveis para rastrear o nível de domesticação de corvinas de aquicultura e selvagem. A eficiência dessas ferramentas para diferenciar o nível de domesticação e tamanho

das corvinas reforça a necessidade da realização de estudos futuros para avaliar a aplicabilidade destes métodos para uma variedade de amostras de pescado de diferentes regiões geográficas, espécies e níveis de domesticação para impedir a comercialização fraudulenta.

Tabela 8. Primeiro e Segundo fatores extraídos a partir da análise fatorial exploratória aplicado à todas as variáveis que foram estatisticamente diferentes quanto ao grau de domesticação e tamanho das corvinas.

Variável	Fator 1	Fator 2
Proteína	-0,96312	0,14517
17:00	0,96519	-0,03511
20:1n-11	0,98781	-0,06495
20:1n-9	-0,9775	0,09062
20:4n-6	-0,02937	-0,93889
22:5n-6	-0,02265	-0,97699
22:6n-3	0,18183	-0,96784
EPA+DHA	0,14206	-0,95111

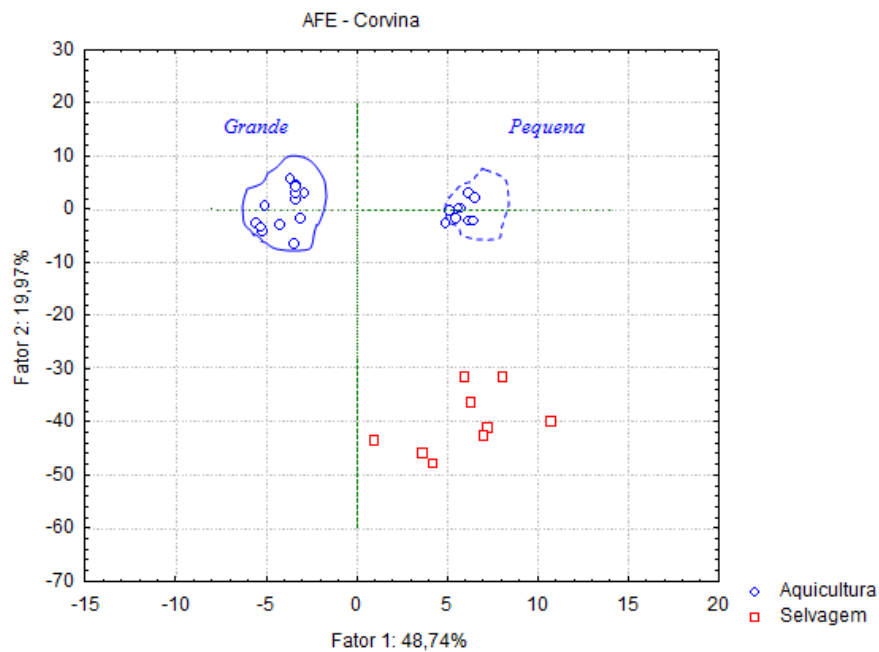


Figura 2. Análise Fatorial Exploratória de corvinas selvagens e de aquicultura de diferentes tamanhos.

4. Conclusões

As corvinas de aquicultura e selvagem podem ser diferenciadas utilizando o conteúdo total de lipídeos, proporção de vários ácidos graxos (16:2n-4, 16:4n-3, 18:0, 18:1n-9, 18:2n-6, 18:3n-3, 20:1n-9, 22:1n-11, MUFA, 20:4n-6, 22:5n-6, 22:6n-3 e EPA+DHA), alguns elementos essenciais (Cl e Zn), não essenciais (Hg) e isótopos de carbono e nitrogênio. A diferenciação quanto ao tamanho é mais difícil, porém alguns elementos, tais como Br, Rb, ^{15}N e MUFA foram eficazes para distinguir o tamanho das corvinas.

5. Referências

- AOAC (2005). Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists International, (18th ed). AOAC, Gaithersburg, MD, p. 473.
- Ackman, R.G. and Takeuchi, T. (1986). Comparison of fatty acid and lipids of smolting hatchery-fed and wild Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Lipids*, 21, 117–120.
- Alasalvar, C., Taylora, K.D.A., Zubcov, E., Shahidi, F. Alexis M. (2002) Differentiation of cultured and wild sea bass (*Dicentrarchus labrax*): total lipid content, fatty acid and trace mineral composition. *Food Chemistry*, 79, 145–150.
- Bell, J.G. and Sargent J.R. (2003). Arachidonic acid in aquaculture feeds: current status and future opportunities. *Aquaculture*, 218, 491-499.
- Bell, J.G., Preston, T. Henderson, R.J., Strachan, F. Bron, J.E., Cooper, K., Morrison, D.J. (2007). Discrimination of wild and cultured European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) using chemical and isotopic analyses. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55, 5934-5941.
- Brenna, J.T., Corso, T.N., Tobias, H.J., Caimi, R.J. (1997). High-precision continuous-flow isotope ratio mass spectrometry. *Mass Spectrometry Reviews*, 16 (5), 227–258.
- Busetto, M.L. Moretti, V.M., Moreno-Rojas, J.M., Caprino, F., Giani, I., Malandra, G., Bellagamba, F., Guillou, C. (2008). Authentication of farmed and wild turbot (*Psetta maxima*) by fatty acid and isotopic analyses combined with chemometrics. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56, 2742-2750.
- Canli, M., Atli, G. (2003). The relationships between heavy metal (Cd, Cr, Cu, Fe, Pb, Zn) levels and the size of six Mediterranean fish species. *Environmental Pollution*, 121, 129–136.

- Cohen, Z., Vonshak, A., Richmond, A. (1988). Effect of environmental conditions on fatty acid composition of the red algae *Porphyridium cruentum*: correlation to growth rate. *Journal of Phycology*, 24, 328–332.
- Custódio, P., Carvalho, M.L., Nunes F. (2003). Trace elements determination by energy dispersive X-ray fluorescence (EDXRF) in human placenta and membrane: A comparative study. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 375, 1101–1106.
- EFSA- Autoridade Europeia para a Segurança dos Alimentos (2005). Opinion of the scientific panel on contaminants in the food chain on a request from the European Parliament related to the safety assessment of wild and farmed fish. *EFSA Journal*, 236, 1–118.
- Fallah, A.A., Saei-Dehkordi, S.S., Nematollahi, A., Jafari, T. (2011). Comparative study of heavy metal and trace element accumulation in edible tissues of farmed and wild rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) using ICP-OES technique. *Microchemical Journal*, 98, 275–279.
- Fernandez-Jover, D., Jimenez, J.A.L., Sanchez-Jerez, P., Bayle-Sempere, J., Casaldueiro, F.G., Martinez Lopez, F.J., Dempster, T. (2007). Changes in body condition and fatty acid composition of wild Mediterranean horse mackerel (*Trachurus mediterraneus*, Steindachner, 1868) associated to sea cage fish farms. *Marine Environmental Research*, 63, 1–18.
- Fry, B., Sherr, E.B. (1989). ^{13}C measurements as indicators of carbon flow in marine and freshwater ecosystems. In: Rundel, P.W., Ehleringer, J.R., Nazy, K.A. (Eds.), *Stable Isotopes in Ecological Research*. Springer-Verlag, New York, pp. 196–229.
- Fuentes, A., Fernández-Segovia, I., Serra, J.A., Barat, J.M. (2010). Comparison of wild and cultured sea bass (*Dicentrarchus labrax*) quality. *Food Chemistry*, 119, 1514–1518.
- González, S., Flick, G. J., O'keefe S. F., Duncan, S. E., Mclean, E., Craig, S. R. (2006). Composition of farmed and wild yellow perch (*Perca flavensis*). *Journal of Food Composition and Analysis*, 19, 720-726.
- Grigorakis, K. Alexis, M. N., Taylor, K.D.A., Hole, M. (2002). Comparison of wild and cultured gilthead sea bream (*Sparus aurata*): appearance and seasonal variations. *International Journal of Food Science and Technology and Analysis*, 37, 477-484.
- Haard, N.F. (1992). Control of chemical composition and food quality attributes of cultured fish. *Food Research International*, 25, 289-307.
- Henderson, R.J. & Tocher, D.R. (1987). The lipid composition and biochemistry of freshwater fish. *Progress in Lipid Research*, 26, 281–347.
- Jorhem, L. (2000). Determination of metals in foods by atomic absorption spectrometry after dry ashing: NMKL collaborative study. *Journal of AOAC International*, 83, 1204–1211.

- 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.
- Lal, S.P. (1995). Macro and trace elements in fish and shellfish. In: A. Ruiter (Ed.), *Fish and fishery products: composition, nutritive properties and stability* (pp. 187–214). *Wallingford: CAB International*.
- Larsen, E. (2003). Traceability in fish processing. In: Michèle Lees (ed.) *Food authenticity and traceability*. (pp. 507-517). *Woodhead Publishing Limited, Cambridge*.
- Luykx, D.M.A.M., van Ruth, S.M. (2008). An overview of analytical methods for determining the geographical origin of food products. *Food Chemistry*, 107, 897–911.
- Molkentin, J., Meisel, H., Lehmann, I., Rehbein, H. (2007). Identification of organically farmed Atlantic salmon by analysis of stable isotopes and fatty acids. *European Food Research and Technology*, 224, 535–543.
- Monfort, M.C. (2010). Present market situation and prospects of meagre (*Argyrosomus regius*), as an emerging species in Mediterranean aquaculture. *Studies and Reviews*. General Fisheries Commission for the Mediterranean. No. 89. Rome, FAO. 28p.
- Moretti, V.M., Mentasti, T., Bellagamba, F., Luzzana, U., Caprino, F., Turchini, G.M., Giani, I., Valfrè, F. (2006). Determination of astaxanthin stereoisomers and colour attributes in flesh of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) as a tool to distinguish the dietary pigmentation source. *Food Additives & Contaminants*, 23, 1056–1063.
- Orban, E., Masci, M., Navigato, T., Di Lena, G., Casini, I., Caprino, R., Gambelli, L., Angelis, P.D., Rampacci, M. (2006). Nutritional quality and safety of whitefish (*Coregonus lavaretus*) from Italian lakes. *Journal of Food Composition and Analysis*, 19, 737–746.
- O'Leary, M.H., Madhavan, S., Paneth, P. (1992). Physical and chemical basis of carbon isotope fractionation in plants. *Plant, Cell & Environment*, 15, 1099-1104.
- Quèmèner, L. (2002). *Le maigre commun (Argyrosomus regius)*. Biologie, pêche, marche et potentiel aquacole. (31 pp). Editions Ifremer, Plouzané, France.
- Rodriguez, C., Acosta, C., Badia, P., Cejas, J.R., Santamaria, F.J., Lorenzo, A. (2004). Assessment of lipid and essential fatty acids requirements of black seabream (*Spondylisoma cantharus*) by comparison of lipid composition in muscle and liver of wild and captive adult fish. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B*, 139, 619–629.
- Saito, H., Yamashiro, R., Alasalvar, C., Konno, T. (1999). Influence of diet on fatty acids of three subtropical fish, subfamily Caesioninae (*Caesio diagramma* and *C. tile*) and family siganidae (*Siganus canaliculatus*). *Lipids*, 34, 1073–1082.

- Sant'Ana, L.S., Ducatti, C., Ramires, D.G. (2010). Seasonal variations in chemical composition and stable isotopes of farmed and wild Brazilian freshwater fish. *Food Chemistry*, 122, 74–77.
- Serot, T., Gandemer, G., Demaimay, M. (1998). Lipid and fatty acid compositions of muscle from farmed and wild adult turbot. *Aquaculture International*, 6, 331–343.
- Thomas, F., Jamin, E., Wietzerbin, K., Guérin, R., Lees, M., Morvan, E., Billault, I., Derrien, S., Moreno Rojas, J.M., Serra, F., Guillou, C., Aursand, M., Mcevoy, L., Prael, A., Robins, R.J. (2008). Determination of Origin of Atlantic Salmon (*Salmo salar*): The Use of Multiprobe and Multielement Isotopic Analyses in Combination with Fatty Acid Composition To Assess Wild or Farmed Origin. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56, 989–997.
- Tzikas, Z., Amvrosiadis, I., Soultos, N., Gregorakis, S.P. (2007). Seasonal variation in the chemical and microbiological condition of Mediterranean horse mackerel (*Trachurus mediterraneus*) muscle from the North Aegean Sea (Greece). *Food Control*, 18, 251-257.
- Usydus, Z., Szlifder-Richert, J., Adamczyk, M. (2012). Variations in proximate composition and fatty acid profiles of Baltic sprat (*Sprattus sprattus balticus*). *Food Chemistry*, 130, 97–103.
- Whitehead, P.J.P., Bauchot, M.-L., Hureau, J.-C., Nielsen, J., Tortonese, E. (1986). *Fishes of the North-eastern Atlantic and the Mediterranean*. UNESCO, Paris.

Capítulo III - Rastreabilidade do bacalhau: Utilização de diferentes ferramentas para a autenticação de peixes salgados

Resumo

O objetivo deste estudo foi utilizar o perfil de ácidos graxos, elementos essenciais e não essenciais, e isótopos estáveis de carbono e nitrogênio, como ferramentas de rastreabilidade para garantir a autenticidade de bacalhau do Atlântico (*Gadus mohrua*) e outras espécies de peixes salgados. *Pollachius virens* apresentou maior teor de lipídeos e menor teor de umidade e proteína. *Gadus mohrua* e *G. macrocephalus* foram diferentes quanto às proporções de 20:5 n-3, 18:3 n-3, Zn e Sr. Este estudo mostrou que *M. molva* apresentou os maiores teores de Hg e *G. macrocephalus* níveis mais elevados de Pb em relação às espécies similares. As razões isotópicas de carbono foram estatisticamente diferentes entre *G. macrocephalus*, *P. virens* e *M. molva*. O ^{15}N foi eficiente na diferenciação entre *G. macrocephalus*, *P. virens* e *G. mohrua*. A combinação de análises de isótopos estáveis de carbono, nitrogênio e alguns ácidos graxos da família ômega-3 foram eficientes na diferenciação de *G. mohrua* e *M. molva*.

Palavras-chave: *Gadus*; espectrometria de massa de razão isotópica; ácidos graxos; minerais essenciais; contaminantes.

Abstract

The aim of this study was to use, essential and non-essential elements, fatty acid profile and stable isotopes of carbon and nitrogen, as traceability tools to ensure the authenticity of Atlantic cod (*Gadus mohrua*) and other species of salted fish. *P. virens* contained higher fat and lower moisture and protein content. *G. mohrua* and *G. macrocephalus* were different in proportion of 20:5n-3, 18:3n-3, Zn and Sr. This study showed that *M. molva* was higher Hg contents and *G. macrocephalus* had higher Pb contents than others similar species. Carbon isotopic ratios were statistically different among *G. macrocephalus*, *P. virens* and *M. molva*. Nitrogen isotopic was efficient in differentiation among *G. macrocephalus*, *P. virens* and *G. mohrua*, but it was not possible to differentiate *G. mohrua* from *M. molva*.

Keywords: *Gadus*; isotope ratio mass spectrometry; fatty acids; macro and trace elements

1. Introdução

O Bacalhau (*Gadus mohrua*) é um dos produtos tradicionais mais apreciados em todo o mundo, principalmente devido à estabilidade de armazenamento, elevado valor nutritivo e sabor (Lauritzsen et al., 2004). No entanto, a sobrepesca tem provocado a diminuição dos estoques e limites de captura. Toda essa situação tem causado aumento da comercialização de espécies alternativas para atender a demanda dos consumidores e aumentar a oferta de produtos similares.

Espécies de peixes semelhantes ao bacalhau do Atlântico, como bacalhau do Pacífico (*Gadus macrocephalus*), bacalhau da Groenlândia (*Gadus ogac*), Lingue (*Molva molva*), Saithe (*Pollachius virens*), Zarbo (*Brosme brosme*) entre outros, podem ser normalmente comercializados indevidamente em ações fraudulentas como *G. mohrua*, pois apresentam características organolépticas e morfológicas similares (Herrero et al., 2010). Os produtos alimentares de peixes da família *Gadidae* são comercializados em várias formas (salgado, filés e sem pele) e no processo são removidas as características morfológicas externas dos produtos processados, dificultando a identificação e possibilitando a substituição por espécies de menor valor comercial (Rasmussen & Morrissey, 2009).

Atualmente, o comércio internacional de peixes é fortemente influenciado pela autenticidade de alimentos e normas de segurança e várias diretivas europeias introduziram aspectos relativos às normas de qualidade e segurança na cadeia produtiva do pescado. As diretivas da UE introduziram normas de rotulagem, que exige que informações como espécie, origem geográfica e método de produção sejam identificadas nos rótulos das embalagens de pescado (EC, 2001). Neste sentido, o objetivo destas normas é determinar a rastreabilidade do peixe, para garantir a confiança dos consumidores e fornecer-lhes o mínimo de informações necessárias sobre a origem dos produtos.

Pelas razões acima, é necessário o desenvolvimento de métodos que permitam a correta identificação das espécies presentes em todos os tipos de produtos transformados. Em estudos anteriores uma série de parâmetros intrínsecos tem sido utilizada para determinar a autenticidade de peixes. Diferentes espécies são caracterizadas pela alta variedade de perfil de ácidos graxos, em especial de EPA e DHA, que são particularmente benéficos para a saúde humana. A composição de ácidos graxos foi utilizada com sucesso para distinguir peixes

selvagens e cultivados (Bell et al, 2007; Busetto et al, 2008) e identificação de estoques de bacalhau (Joensen et al., 2000). A composição de ácidos graxos dos peixes é afetada por uma variedade de fatores, incluindo o metabolismo lipídico, sazonalidade, idade, tamanho e estágio de maturidade sexual e fatores ambientais (Sargent et al., 1999). Portanto, o uso do perfil de ácidos graxos para autenticar espécie pode ser uma técnica recomendada.

O peixe é uma excelente fonte de minerais essenciais e a concentração desses elementos é influenciada por uma série de fatores biológicos (espécie, tamanho, sexo, idade e maturidade sexual) e ambientais, tais como a oferta de alimentos, ambiente e sazonalidade. No entanto, estes fatores também determinam o acúmulo de metais pesados nestes organismos (Al-Yousuf et al., 2000). Os peixes expostos a contaminantes podem ser afetados negativamente em termos de qualidade da carne.

A técnica analítica com base na medição por espectrometria de massas de razões isotópicas (IRMS) tem sido proposta como ferramenta para autenticar os produtos de origem animal. A determinação de proporções de isótopos estáveis de elementos leves, principalmente carbono e nitrogênio, foi aplicada para distinguir peixes selvagens e de criação (Dempson & Power, 2004; Serrano et al, 2007), variações sazonais (Sant'Ana et al., 2010) e determinação da origem geográfica (Luykx & Ruth, 2008).

O problema da análise de alguns alimentos processados é que após a transformação o produto altera as suas propriedades físicas e químicas e características sensoriais. Por estes motivos, os isótopos estáveis podem ser mais adequados para a identificação de espécies de todos os tipos de produtos, independentemente dos processos aos quais foram submetidos.

O objetivo deste estudo foi utilizar o perfil de ácidos graxos, elementos essenciais e não-essenciais e isótopos estáveis de carbono e nitrogênio, como ferramentas de rastreabilidade para garantir a autenticidade do bacalhau do Atlântico (*Gadus mohrua*) e outras espécies de peixes salgados e secos, de modo que a fraude possa ser detectada.

2. Material e métodos

2.1. Coleta e processamento das amostras

As amostras de bacalhau do Atlântico (*Gadus mohrua*, n=6), bacalhau do Pacífico (*Gadus macrocephalus*, n=6), Lingue (*Molva molva*, n=6), Saithe (*Pollachius virens*, n=6) e Zarbo (*Brosme brosme*, n=6) foram obtidas de uma empresa portuguesa de importação de produtos da Noruega. Foi removido o excesso de sal da superfície dos peixes, em seguida, as amostras foram cortadas em pedaços de 2 cm e colocadas num recipiente com água à temperatura ambiente durante 24 horas. A água foi renovada duas vezes durante a dessalga. As amostras de músculo sem pele foram homogeneizadas, congeladas e uma porção foi liofilizada durante 48 horas à temperatura de -40°C e a baixa pressão (aproximadamente 10^{-1} atm; Heto power dry LL 3000), e armazenada a -80°C sob condições de umidade controladas até as análises.

2.2. Perfil de ácidos graxos

O perfil de ácidos graxos foi determinado em duplicata para cada amostra, e baseou-se no procedimento experimental de Cohen et al. (1988). Cada amostra (300 mg de peso seco) foi dissolvida em 5 mL de cloreto de acetilo / metanol (01:19 v / v; Merck), agitada, e aquecida (80°C, 1 h). Após o resfriamento, 1 mL de água ultra pura (Milli-Q) e 2 mL de n-heptano (Merck) foram adicionados e as amostras foram agitadas e centrifugadas (2000 g, 5 min, Sigma 2K15) até a separação de fases. A umidade da fase superior foi removida com sulfato de sódio anidro (Panreac). Uma alíquota (2 μ L) da fase superior foi injetada num cromatógrafo a gás (Varian Star 3800 Cp) equipado com amostrador automático e com detector de ionização de chama de 250°C. A separação foi feita com o hélio como gás de arraste, com fluxo de 1 mL min⁻¹, de uma coluna capilar DB-WAX (30 m de comprimento 0,32 mm de diâmetro interno, 0,25 μ m de espessura de filme; Hewlett-Packard) programado a 180°C durante 5 min, aumentada para 220 a 4°C min⁻¹, e mantida a 220°C durante 25 min, com o injetor a 250°C. Os ácidos graxos foram identificados por comparação dos tempos de retenção com os de padrões Sigma. Os dados quantitativos foram calculados utilizando a relação da área de pico (percentagem de ácidos graxos totais) e o software Varian.

2.3. Elementos essenciais e não-essenciais

A espectrometria de fluorescência de raios X por energia dispersiva (EDXRF) foi utilizada para quantificar os elementos S, Cl, K, Ca, Fe, Zn, As, Se, Br e Sr. O espectrômetro utiliza um gerador de raios-X Philips (PW 1140/00/60 3 kV). A técnica de EDXRF consiste em um tubo de raios-X equipado com um excitador de molibdênio secundário. As radiações características emitidas dos elementos da amostra foram detectados por lítio derivado de silício [Si (Li)] com 30 mm² de área ativa e janela de berílio de 8 µm. A resolução de energia foi de 135 eV em 5,9 keV. Cálculos quantitativos foram feitos pelo método dos parâmetros fundamentais (Custódio, Carvalho & Nunes, 2003). O gerador de raios X foi operado a 50 kV, 20 mA e tempo de aquisição de 1000 s. Cada amostra liofilizada (1 g) foi prensada em pastilhas de 2 cm de diâmetro (n = 2), sem qualquer tratamento químico e coladas sobre filmes de Mylar em suportes de amostras e colocada diretamente no feixe de raios X.

A espectrometria de absorção atômica com chama (FAAS; Varian SpectrAA 55B Sydney, Austrália) foi utilizada para quantificar Cd e Pb em cada amostra (n = 2), de acordo com os procedimentos descritos por Jorhem (2000). Em resumo, 10 g do músculo seco foram incinerados a 500°C e dissolvidos em 15% v / v de ácido nítrico. As concentrações de Pb e Cd foram encontradas por meio da calibração externa linear com soluções padrão: Cd (NO₃)₂ e de Pb (NO₃)₂ (Merck, 1 g L⁻¹ dissolvidos em 0,5 mol L⁻¹ HNO₃).

As concentrações de Hg total foram determinadas por espectrometria de absorção atômica utilizando analisador automático de Hg (aparelho AMA 254, LECO). O procedimento baseia-se na decomposição da amostra liofilizada (10 mg, n = 2 para cada amostra), por meio da combustão, e técnica de pré-concentração por amalgamação através da fusão com ouro e espectrometria de absorção atômica. As concentrações foram calculadas a partir de calibração linear com solução padrão de absorbância de Hg (1 g L⁻¹ dissolvidos em 0,5 mol L⁻¹ HNO₃; Merck).

A exatidão foi verificada por análise de material biológico certificado (Tabela 1). Os limites de detecção (DL) de cada um dos elementos foram determinados através de dois métodos: (1) EDXRF - com a abordagem de sinal-para-ruído, em que o equipamento compara o sinal de cada elemento com amostras em branco e é estabelecida a concentração mínima à qual o elemento é detectado com segurança,

e (2) FAAS - com o desvio-padrão residual (RSD) da resposta e o declive (S) da curva de calibração de cada solução padrão usada [$DL = (3,3 \times RSD) / S$]. A concentração de todos os elementos foi expressa em miligramas por quilograma de peso em base seca ($mg\ kg^{-1}$).

Tabela 1. Concentração elementar ($mg\ kg^{-1}$ DW) e limites de detecção ($mg\ kg^{-1}$, D.L.) de material de referência certificado (média \pm desvio padrão) analisados por FAAS e EDXRF.

Elemento	Técnica	D.L.	Material de referência certificado	Valor certificado	Presente trabalho
Hg	FAAS	0,02	Dogfish muscle (DORM-2)	4,64 \pm 0,26	4,68 \pm 0,17
Cd	FAAS	0,01	Lobster hepatopancreas (TORT-2)	27,00 \pm 1,00	27,00 \pm 0,00
Pb	FAAS	0,02	Lobster hepatopancreas (TORT-2)	0,35 \pm 0,13	0,35 \pm 0,06
As	EDXRF	0,7	Lobster hepatopancreas (TORT-2)	21,60 \pm 1,80	22,6 \pm 2,00
S	EDXRF	100	Oyster tissue (SRM 1566)	7600*	8200 \pm 500
Cl	EDXRF	100	Oyster tissue (SRM 1566)	10000*	10200 \pm 500
K	EDXRF	50	Oyster tissue (SRM 1566)	9690 \pm 50	10000 \pm 80
Ca	EDXRF	20	Oyster tissue (SRM 1566)	1500 \pm 50	1350 \pm 50
Fe	EDXRF	3	Dogfish muscle (DORM-2)	142 \pm 10	141,3 \pm 1,5
Cu	EDXRF	0,7	Oyster tissue (SRM 1566)	63,0 \pm 4,0	63,0 \pm 4,0
Zn	EDXRF	1	Dogfish muscle (DORM-2)	25,6 \pm 2,3	23,9 \pm 0,1
Se	EDXRF	1	Dogfish muscle (DORM-2)	1,4 \pm 0,09	1,2 \pm 0,1
			Freeze-dried animal blood (IAEA-		
Br	EDXRF	0.8	A-13)	22,0 \pm 3,0	22,0 \pm 2,0
Rb	EDXRF	1.1	Orchard Leaves (SRM-1571)	11,4 \pm 0,7	12,0 \pm 1,0

*Os valores não certificados foram fornecidos por United States National Bureau of Standards.

2.4. Análise isotópica

A amostra liofilizada foi pulverizada usando moinho criogênico (Spex Certipret) com nitrogênio líquido a $-196^{\circ}C$, em seguida foram pesadas em balança (MX5, Mettler Toledo, Greifensee, Switzerland) cerca de 500 μg para $\delta^{15}N$ e 60 μg para $\delta^{13}C$ do material pulverizado e estes foram acondicionados em cápsulas de estanho cilíndricas, com 5 x 9 mm. As cápsulas foram submetidas a combustão total sob fluxo contínuo de Hélio, a $1020^{\circ}C$, através do analisador elementar (EA 1108 – CHN Fisons Elemental Analyzer), acoplado ao espectrômetro de massa Delta S (Finnigan Mat, Bremen, Alemanha).

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 (N₂). Esses valores, designados pela terminologia delta (δ), em unidade por mil (‰), foram calculados através da seguinte equação:

$$\delta_{\text{amostra}} = [(R_{\text{amostra}} - R_{\text{padrão}}) - 1] \times 1000$$

2.5. Análise estatística

A análise de variância ANOVA, foi utilizada para detectar diferenças significativas entre bacalhau e espécies de peixes similares quanto ao perfil de ácidos graxos, minerais essenciais e não essenciais e isótopos estáveis, seguido pelo teste Unequal N HSD (variação do teste de Tukey) para identificar essas diferenças. Sempre que necessário, os dados foram transformados para satisfazer os requisitos de distribuição normal e homocedasticidade, seguido de análise de variância não-paramétrica com comparações múltiplas (Kruskall-Wallis), se os dados transformados não atendem a esses pressupostos. A Análise Fatorial Exploratória (AFE) com extração de componentes principais também foi empregada para reduzir os conjuntos de dados multidimensionais dos vários elementos para dimensões menores, simplificando assim a apresentação e interpretação dos dados. Todas as análises estatísticas foram testadas no nível de 0,05 de significância com o software STATISTICA 8,0 © (Statsoft, Tulsa, OK, EUA).

3. Resultados e discussão

3.1. Perfil de ácidos graxos

A composição de ácidos graxos revelou diferenças significativas entre as espécies (Tabela 2). Os principais ácidos graxos saturados (SFA) e monoinsaturados (MUFA) foram o 16:0 (ácido palmítico) e 18:1 n-9 (ácido oléico), respectivamente, em todas as espécies, sendo que *P. virens* teve o maior valor de 18:1. Os mais proeminentes ácidos graxos poli-insaturados (PUFA) foram 22:6 n-3, ácido docosahexaenóico (DHA) e 20:5 n-3, ácido eicosapentaenóico (EPA), respectivamente. *Molva molva* apresentou o maior valor de 22:5 n-3 e *B. brosme* apresentou o maior valor de DHA, ao passo que as outras espécies apresentaram valores semelhantes. *Gadus mohrua* e *G. macrocephalus* tiveram maiores níveis de

20:5 n-3 do que *P. virens*, *M. molva* e *B. brosme*. *Pollachius virens* apresentou as maiores diferenças no perfil de ácidos graxos. Esta espécie teve níveis mais elevados de MUFA e menores níveis de PUFA n-3, n-6 e EPA + DHA.

Tabela 2. Percentual de ácidos graxos de bacalhau e espécies similares.

Ácido graxo	<i>G. mohrua</i>	<i>G. macrocephalus</i>	<i>Pollachius virens</i>	<i>Molva molva</i>	<i>Brosme brosme</i>
$\Sigma 14:0^*$	2,06±0,67 ^{ab}	1,61±0,36 ^{bc}	2,72±0,87 ^a	1,73±0,49 ^b	0,61±0,11 ^c
$\Sigma 15:0^*$	0,43±0,10 ^a	0,44±0,10 ^a	0,52±0,14 ^a	0,57±0,33 ^a	0,20±0,03 ^b
$\Sigma 16:0^*$	23,47±3,20 ^a	22,33±3,08 ^a	20,65±2,09 ^a	22,46±2,11 ^a	21,82±1,63 ^a
16:1n-7+n-9*	2,20±0,57 ^{ab}	2,83±0,25 ^a	2,88±0,99 ^a	1,62±0,49 ^b	1,38±0,07 ^b
16:2n-4- fit**	0,32±0,21 ^a	0,10±0,02 ^b	0,20±0,08 ^{ab}	0,26±0,11 ^a	0,26±0,05 ^a
$\Sigma 17:0^*$	0,42±0,08 ^a	0,44±0,07 ^a	0,47±0,09 ^a	0,46±0,07 ^a	0,45±0,08 ^a
16:3n-4*	0,13±0,03 ^b	0,20±0,03 ^{ab}	0,27±0,08 ^a	0,21±0,04 ^a	0,29±0,05 ^a
16:4n-3*	0,07±0,04 ^b	0,05±0,03 ^b	0,06±0,01 ^b	0,49±0,13 ^a	0,51±0,12 ^a
18:0*	4,80±0,52 ^{bc}	4,31±0,36 ^c	4,98±0,54 ^{abc}	5,38±0,33 ^{ab}	5,71±0,32 ^a
$\Sigma 18:1$	12,69±1,77 ^c	13,89±0,42 ^{bc}	19,25±3,05 ^a	12,51±1,24 ^c	16,54±1,87 ^{ab}
18:2n-6*	1,17±0,32 ^a	0,74±0,13 ^b	1,15±0,13 ^a	1,00±0,13 ^{ab}	0,92±0,15 ^{ab}
18:3n-3*	0,23±0,04 ^b	0,21±0,06 ^b	0,60±0,16 ^a	0,37±0,04 ^{ab}	0,20±0,05 ^b
18:4n-3*	0,45±0,11 ^{ab}	0,40±0,16 ^{bc}	0,65±0,07 ^a	0,59±0,12 ^{ab}	0,20±0,14 ^c
20:1n-11*	2,76±0,69 ^{bc}	2,68±0,82 ^c	7,54±0,95 ^a	4,20±0,42 ^b	2,37±0,27 ^c
20:4n-6*	1,74±0,35 ^b	2,27±0,38 ^a	0,97±0,29 ^c	1,73±0,11 ^b	0 ^d
20:5n-3***	14,52±2,64 ^a	15,89±0,63 ^a	7,19±0,48 ^b	8,49±0,62 ^b	7,09±1,21 ^b
22:1n-11*	0,47±0,16 ^c	0,24±0,10 ^c	2,92±1,11 ^a	1,10±0,49 ^b	0,86±0,08 ^c
22:5n-3*	0,86±0,26 ^b	1,23±0,31 ^{ab}	0,90±0,19 ^b	1,41±0,38 ^a	1,23±0,15 ^{ab}
22:6n-3*	24,52±2,55 ^c	25,67±3,27 ^{bc}	23,31±5,76 ^c	32,15±3,46 ^{ab}	34,05±2,80 ^a
24:1n-9*	0,51±0,13 ^a	0,38±0,07 ^{ab}	0,28±0,11 ^b	0,50±0,08 ^a	0 ^c
SFA*	31,21±3,97 ^a	29,23±3,57 ^a	29,46±2,59 ^a	30,66±2,56 ^a	29,41±2,04 ^a
MUFA*	18,09±2,44 ^b	19,80±1,01 ^b	33,35±2,38 ^a	19,43±1,82 ^b	21,10±2,43 ^b
PUFA*	43,87±4,66 ^a	45,80±3,44 ^a	34,29±4,79 ^b	46,41±3,43 ^a	48,57±3,23 ^a
n3*	41,81±5,00 ^a	44,20±3,46 ^a	32,30±4,58 ^b	44,31±3,44 ^a	43,99±3,30 ^a
n6*	3,23±0,56 ^{ab}	3,52±0,38 ^a	2,45±0,51 ^b	3,38±0,41 ^a	3,92±0,64 ^a
N3/n6*	11,69±1,49 ^a	12,62±0,77 ^a	13,59±2,80 ^a	13,75±1,54 ^a	11,48±2,21 ^a
EPA+DHA*	38,50±3,75 ^a	41,56±3,34 ^a	29,30±4,42 ^b	40,74±3,24 ^a	41,14±3,42 ^a

SFA: Ácidos Graxos Saturados; MFA: Ácidos Graxos Monoinsaturados; PUFA: Ácidos Graxos Poli-insaturados; n-3: Ácidos Graxos Ômega 3; n-6: Ácidos Graxos Ômega 6; n-3/n-6 Proporção De Ácidos Graxos, EPA: Ácido Eicosapentaenóico, DHA: Ácido Docosahexaenóico. Diferentes letras sobrescritas em cada linha indicam diferenças significativas. * Diferenças significativas pelo teste Unequal N HSD ($P \leq 0,05$). ** e *** Diferenças significativas pelo teste não paramétrico Kruskal-Wallis, $P \leq 0,01$ e $P \leq 0,001$, respectivamente.

Foi possível diferenciar o *G. mohrua* do *M. molva* pela concentração de vários ácidos graxos n-3 (16:4n-3, 20:5n-3, 22:5n-3 e 22:6n-3). Assim, pode-se observar

que houve diferenças específicas entre as espécies quanto à composição de ácidos graxos.

Para o grupo de PUFA n-6, o principal ácido graxo foi o ácido araquidônico (20:4 n-6, ARA), exceto para *P. virens* e *B. brosme* que tinham níveis mais elevados de ácido linoléico (18:2 n-6). Diferenças também foram encontradas em outros ácidos graxos, tais como o 16:3n-4, 16:4n-3, 18:3n-3, 20:1n-11 and 22:1n-11.

Segundo Ackman (1989), fatores intrínsecos, como sexo, idade ou desenvolvimento gonadal não mostraram diferenças notáveis na composição de ácidos graxos em uma grande variedade de peixes e mariscos, mas fatores exógenos tais como temperatura, salinidade, e especialmente a nutrição podem ter mais influencia. De acordo com Joensen e Grahl-Nielsen (2000), o perfil de ácidos graxos pode ser espécie específica, apesar da variabilidade individual considerável e grandes diferenças nos tecidos. Este método poderia ser utilizado para identificar espécies, mesmo quando são provenientes de diferentes locais, pois os ácidos graxos que contribuem para a distinção entre as espécies variam de acordo com a origem geográfica. Isto sugere que a composição de ácidos graxos pode ser população-dependente em algumas espécies (Martínez, 2009).

3.2. Elementos essenciais e não essenciais

As concentrações dos elementos essenciais e não essenciais de bacalhau e de espécies de peixes similares são apresentadas na Tabela 3. Todas as concentrações dos minerais foram determinadas em base seca. Os resultados mostraram que *B. brosme* apresentou concentrações de Cl significativamente maiores em comparação com as outras espécies.

Os maiores teores de K foram encontrados em *M. molva* e *B. brosme*. Neste estudo não foram encontradas diferenças significativas nos níveis de S, Ca, Fe e Cu entre o *G. mohrua* e as demais espécies, no entanto, foram observadas diferenças no teor de S entre *G. macrocephalus* e *B. brosme* e no teor de Ca entre *M. molva* e *B. brosme*. Estes elementos são essenciais para o crescimento, reprodução e metabolismo energético em todos os organismos vivos (Yildiz, 2008). *Brosme brosme* apresentou a maior concentração de Br.

Tabela 3. Conteúdo de elementos essenciais e não essenciais (mg kg^{-1}) de bacalhau e espécies similares.

Minerais	<i>G. mohrua</i>	<i>G. macrocephalus</i>	<i>Pollachius virens</i>	<i>Molva molva</i>	<i>Brosme brosme</i>
S*	7.772,18±1440,77 ^{ab}	7.826,35±689,35 ^a	7496,47±780,96 ^{ab}	7011,18±327,14 ^{ab}	6032,82±1102,40 ^b
Cl*	61.729,82±19293,77 ^d	114.913,94±13580,96 ^{bc}	82.907,75±10588,30 ^{cd}	128.423,04±13257,83 ^b	201.368,45±15385,30 ^a
K**	1.465,54±332,35 ^{ab}	1.303,40±350,39 ^b	1.623,72±89,07 ^{ab}	2.122,35±382,86 ^a	2.396,38±477,76 ^a
Ca*	1.119,66±309,72 ^{ab}	1.161,24±264,55 ^{ab}	955,61±172,18 ^{ab}	788,01±106,45 ^b	1.683,56±526,10 ^a
Fe*	13,11±5,32 ^a	14,20±1,42 ^a	15,93±4,00 ^a	12,03±3,59 ^a	10,36±2,53 ^a
Cu*	4,23±1,19 ^a	4,02±0,50 ^a	4,50±0,55 ^a	3,61±0,44 ^a	4,26±0,90 ^a
Zn*	25,86±4,13 ^a	22,15±4,48 ^{ab}	19,92±2,76 ^b	17,73±2,31 ^b	11,38±0,53 ^c
Br*	35,08±12,61 ^c	56,98±7,92 ^b	66,78±6,08 ^b	38,25±3,71 ^c	161,73±33,11 ^a
Sr*	19,17±6,06 ^a	18,67±2,89 ^a	15,97±6,59 ^{ab}	10,45±2,51 ^b	18,39±2,97 ^{ab}
Hg*	0,296±0,156 ^{bc}	0,122±0,042 ^c	0,195±0,056 ^{bc}	0,428±0,137 ^b	0,705±0,293 ^a
Cd*	0,011±0,004 ^{bc}	0,016±0,006 ^{bc}	0,025±0,007 ^a	0,020±0,006 ^{ab}	0,006±0,004 ^c
Pb*	0,083±0,014 ^b	0,318±0,056 ^a	0,127±0,076 ^b	0,178±0,047 ^b	0,122±0,047 ^b
As*	9,19±0,31 ^b	10,36±0,98 ^a	8,34±0,76 ^{ab}	11,02±1,70 ^a	7,07±0,89 ^b

Diferentes letras sobrescritas em cada linha indicam diferenças significativas. . * Diferenças significativas pelo teste Unequal N HSD ($P \leq 0,05$). ** Diferenças significativas pelo teste não paramétrico Kruskal-Wallis, $P \leq 0,01$.

As espécies de gênero *Gadus* apresentaram níveis mais elevados de Zn e Sr que as espécies similares. O Zn é um mineral essencial, sendo responsável por algumas funções biológicas importantes e necessário em nível relativamente elevado para manter-las, além de ser componente de muitas enzimas. Diferenças nas concentrações de Zn foram encontradas entre as espécies de habitats diferentes (fundos de areia / lama, pelágico, de fundo arenoso / barrento) (Carvalho et al., 2005). Os mesmos autores também encontraram diferenças significativas na concentração de Sr entre indivíduos da mesma espécie e entre espécies e concluíram que a concentração de Sr diferiu significativamente devido habitats diferentes. A concentração de minerais pode variar devido a uma série de fatores, tais como condições ambientais (temperatura, salinidade, pH, etc), as variações biológicas (espécie, sexo, tamanho e idade), fontes de alimentação e mudanças sazonais (Zeynali, et al., 2009) .

A maior concentração de Hg foi encontrada em *B. brosme*, enquanto que a maior concentração de Pb foi encontrada em *G. macrocephalus*. A concentração mais elevada de Cd foi encontrada em *P. virens*, enquanto que a concentração mais baixa deste metal tóxico foi encontrada em *B. brosme*. Concentrações de As variaram entre os peixes, onde o *G. macrocephalus* e *M. molva* apresentaram os maiores valores e *B. brosme* e *G. Mohrua* apresentaram os menores níveis, no entanto, a concentração desses contaminantes para todas as amostras analisadas estão abaixo dos níveis aceitáveis estabelecidos pela Organização Mundial da Saúde (WHO, 1996).

Diferenças de concentrações de metais entre as espécies são encontradas devido a diferentes hábitos alimentares, ambientes aquáticos e o nível de poluição da água (Papagiannis et al., 2004). Por isso, é importante determinar as concentrações de metais pesados em peixes comerciais, a fim de avaliar potenciais riscos associados ao consumo de peixe (Pérez Cid et al., 2001).

3.3. Isótopos estáveis

Os valores médios dos sinais isotópicos de $\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^{15}\text{N}$ de bacalhau e espécies similares podem ser vistos na Tabela 4. $\delta^{13}\text{C}$ foi significativamente maior em *G. macrocephalus* e *B.brosme* e os menores valores foram os de *G. mohrua* e *P. virens*. O valor de $\delta^{15}\text{N}$ foi significativamente maior em *G. macrocephalus* que

para as outras espécies e *P. virens* apresentou o menor valor de $\delta^{15}\text{N}$. No que se refere ao valor $\delta^{13}\text{C}$, foi possível diferenciar *G. macrocephalus*, *P. virens* e *M. molva*, mas não foi possível diferenciar *G. mohrua* de *P. virens* e *M. molva* e *G. macrocephalus* de *B. brosme*.

Tabela 4. Proporção de isótopos estáveis de carbono ($\delta^{13}\text{C}$) e nitrogênio ($\delta^{15}\text{N}$) de bacalhau e espécies similares.

Espécie	$\delta^{13}\text{C}$ (‰)		$\Delta^{15}\text{N}$ (‰)	
	Média	DP	Média	DP
<i>Gadus mohrua</i>	-21,41 ^{bc}	0,14	14,99 ^b	0,32
<i>Gadus macrocephalus</i>	-20,08 ^a	0,31	18,35 ^a	0,64
<i>Pollachius virens</i>	-21,79 ^c	0,34	13,69 ^c	0,82
<i>Molva molva</i>	-21,23 ^b	0,21	15,06 ^b	0,35
<i>Brosme brosme</i>	-19,96 ^a	0,25	15,79 ^b	1,05

^aDiferentes letras sobrescritas em cada coluna indicam diferenças significativas pelo teste Unequal HSD ($P \leq 0,05$).

Em relação aos valores $\delta^{15}\text{N}$, *G. mohrua* diferiu significativamente de *G. macrocephalus* e *P. virens*. No entanto, *G. mohrua*, *M. molva* e *B. brosme* foram estatisticamente semelhantes. *Gadus macrocephalus* mostrou maior enriquecimento em $\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^{15}\text{N}$. *Pollachius virens* apresentou os menores valores em ambos os isótopos. A diferença entre essas espécies foi de 4,66 ‰ e 1,71 ‰ para $\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^{15}\text{N}$, respectivamente. Estas diferenças podem ser atribuídas a dois fatores, a alimentação e origem geográfica. Estas espécies estão dispostas em regiões muito distantes, onde o *Gadus macrocephalus* habita o Pacífico Norte, do Estreito de Bering até o sul de Los Angeles, enquanto que o *P. virens* habita o sudoeste da Groenlândia, Islândia e o Atlântico ocidental. Quanto à alimentação também apresentam grandes diferenças, pois o *G. macrocephalus* alimenta-se de peixes (salmão, sardinhas, arenques, etc), polvos, crustáceos e animais bentônicos, como o caranguejo Kamchatka e camarões, e a alimentação do *P. virens* consiste em crustáceos e pequenos peixes na fase de crescimento e quando adultos alimentam-se principalmente de peixes (FAO, 1990).

Peterson e Fry (1987) estabeleceram que valores entre 3-5 ‰ de enriquecimento em $\delta^{15}\text{N}$ estariam em diferentes níveis tróficos. Para valores de $\delta^{13}\text{C}$, o enriquecimento é de cerca de 1 ‰ por nível trófico (Wada et al. 1991).

Na análise de componentes principais dos isótopos estáveis (Figura 1), não foi possível diferenciar apenas o *M. molva* do *G. mohrua*. A variável responsável pelo primeiro componente foi o $\delta^{13}\text{C}$ e o $\delta^{15}\text{N}$ foi responsável pelo segundo componente.

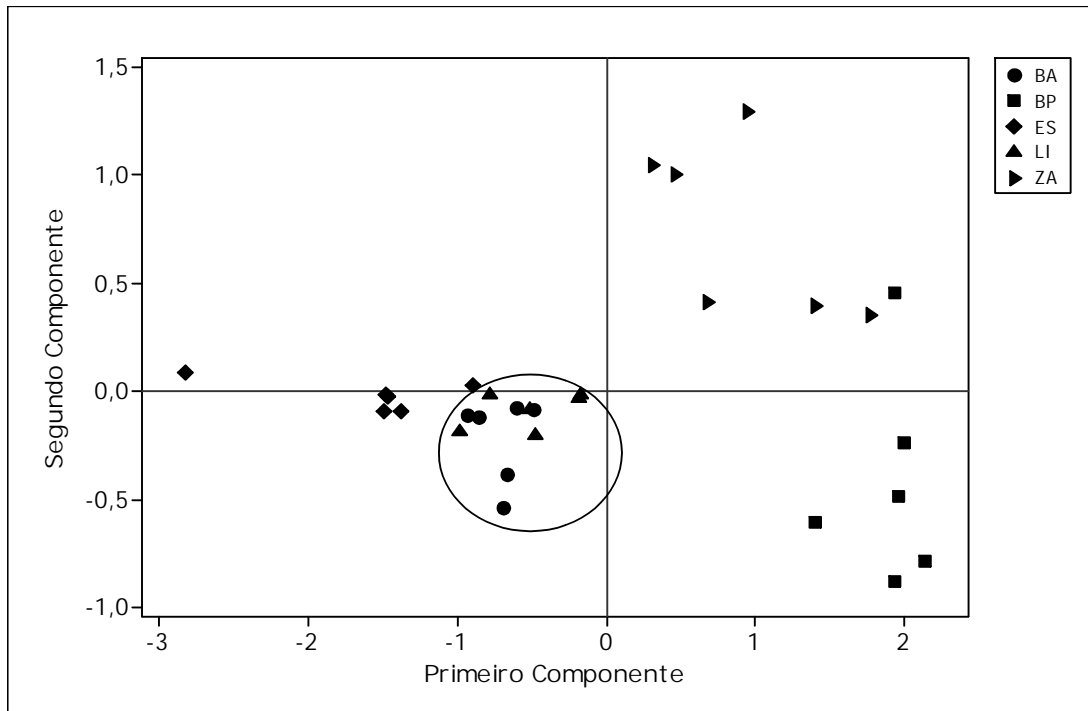


Figura 1. Análise de Componentes principais do bacalhau e espécies afins.

Como não foi possível diferenciar o *G. mohrua* do *M. molva* apenas pela análise de isótopos foi feita a análise de componentes principais (ACP) com a combinação dos isótopos estáveis de carbono, nitrogênio e alguns ácidos graxos da família ômega-3 que apresentaram diferença significativa para estas duas espécies. Na Figura 2, podemos identificar as duas espécies a partir dessa combinação. A análise de componentes principais com base nos ácidos graxos selecionados e os isótopos estáveis mostraram uma melhoria na separação entre as espécies.

As diferenças quanto aos valores de ^{13}C e ^{15}N são atribuídas principalmente à dieta dos animais. *Gadus mohrua* e o *M. molva* são mais parecidos isotopicamente, pois apresentam hábito alimentar semelhantes (peixes, crustáceos, cefalópodes e equinodermos) (FAO, 1990).

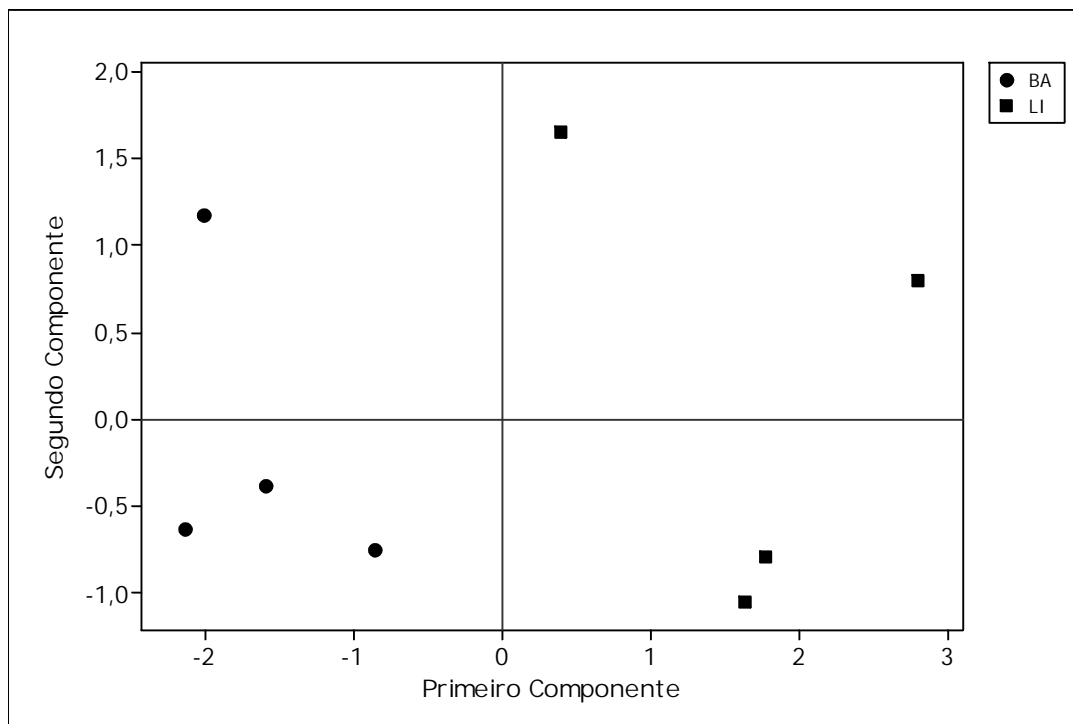


Figura 2. Análise de Componentes principais do *G. mohrua* e *M. molva*.

3.4. Análise Fatorial Exploratória (AFE)

Pela análise individual dos elementos é impossível obter a diferenciação de todas as espécies. Assim, para comparar as espécies, foi realizada uma análise multivariada com base em todas as variáveis que apresentaram diferenças significativas.

A AFE foi utilizada para avaliar a estrutura multivariada do conjunto de dados do bacalhau e espécies semelhantes. A Figura 3 indica que os dois primeiros fatores foram responsáveis por 55,14% da variabilidade nos dados. O fator 1 versus o fator 2 foi capaz de diferenciar apenas *P. virens* das outras espécies. As variáveis que melhor descrevem o primeiro fator são n-6, n-3, PUFA, EPA + DHA e 20: 4n-3, e as principais variáveis que descrevem o segundo fator são 14:0, 16:1 n-9, Sr e cinzas. (Tabela 7)

Tabela 7. Primeiro e segundo fatores extraídos a partir da análise fatorial exploratória aplicado à todas as variáveis que foram estatisticamente diferentes entre o bacalhau e espécies afins.

Variável	Fator 1	Fator 2
Cinzas	-0,41349	0,82114
Sr	0,17602	0,84501
14:0	0,13197	-0,86576
16:1n-7+9	0,07137	-0,84552
20:4n-3	0,96744	0,14013
PUFA	-0,94487	0,0477
EPA+DHA	-0,87946	0,00143
n-3	-0,95135	0,04674
n-6	0,95789	0,17231

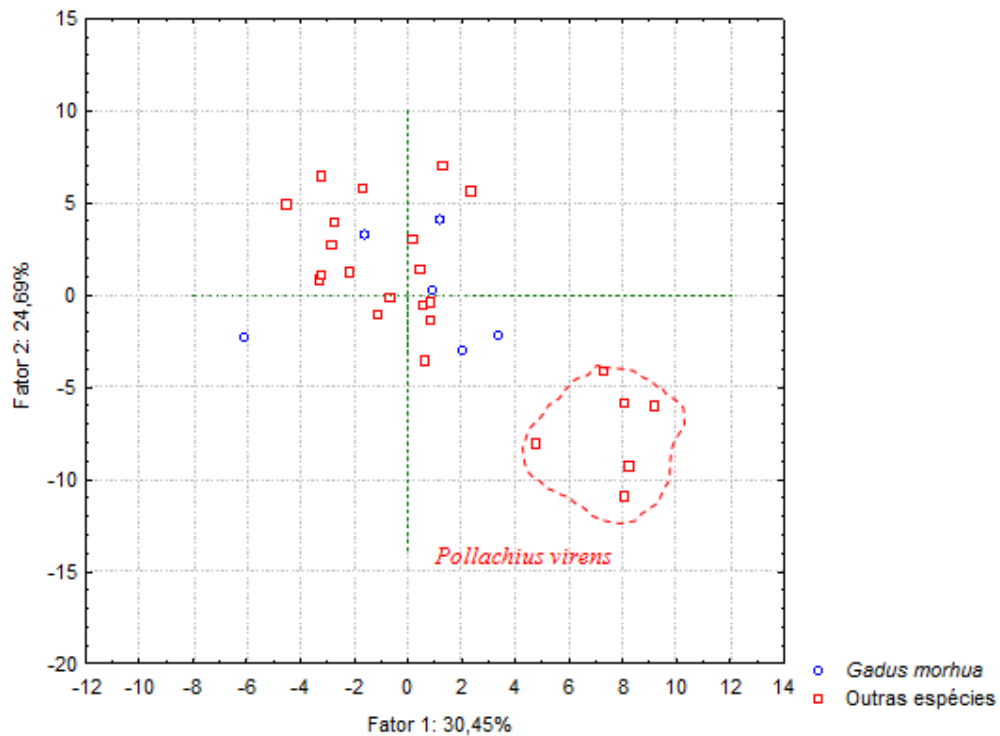


Figura 3. Análise Fatorial Exploratória de bacalhau e espécies afins.

4. Conclusões

Pollachius virens apresenta as maiores diferenças no perfil de ácidos graxos. É possível distinguir o gênero *Gadus* das demais espécies por níveis de 20:5 n-3, 18:3 n-3, Zn e Sr.

Os métodos utilizados são capazes de identificar as diferentes espécies de peixes salgados e secos, com destaque para os ácidos graxos e os isótopos estáveis de carbono e nitrogênio que foram as ferramentas mais adequadas para estes tipos de diferenciação.

Esta identificação é importante, pois estas espécies diferem do ponto de vista da qualidade e, conseqüentemente, têm preços de mercado diferentes, sendo que o *G. mohrua* apresenta o maior valor econômico.

A utilização dessas técnicas em conjunto com outras, como por exemplo, os isótopos estáveis de oxigênio e hidrogênio talvez possam permitir melhor caracterização da espécies de peixes salgados e secos.

5.

6. Referências

- Ackman, R.G. (1989). Nutritional composition of fats in seafood. *Progress in food & nutrition science*, 13, 161-241.
- Al-Yousuf, M.H., El-Shahawi, M.S., Al-Ghaisc, S.M. (2000). Trace metals in liver, skin and muscle of *Lethrinus lentjan* fish species in relation to body length and sex. *The Science of the Total Environment*, 256, 87-94.
- Bell, J.G., Preston, T. Henderson, R.J., Strachan, F. Bron, J.E., Cooper, K., Morrison, D.J. (2007). Discrimination of wild and cultured European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) using chemical and isotopic analyses. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55, 5934-5941.
- Busetto, M.L. Moretti, V.M., Moreno-Rojas, J.M., Caprino, F., Giani, I., Malandra, G., Bellagamba, F., Guillou, C. (2008). Authentication of farmed and wild turbot (*Psetta maxima*) by fatty acid and isotopic analyses combined with chemometrics. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56, 2742-2750.
- Carvalho, M. L., Santiago. S., Nunes, M. L. (2005). Assessment of the essential element and heavy metal content of edible fish muscle. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 382, 426-432.

- Cohen, Z., Vonshak, A., Richmond, A. (1988). Effect of environmental conditions on fatty acid composition of the red algae *Porphyridium cruentum*: correlation to growth rate. *Journal of Phycology*, 24, 328–332.
- Custódio, P., Carvalho, M.L., Nunes F. (2003). Trace elements determination by energy dispersive X-ray fluorescence (EDXRF) in human placenta and membrane: A comparative study. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 375, 1101–1106.
- Dempson, J.B., Power, M. (2004). Use of stable isotopes to distinguish farmed from wild Atlantic salmon, *Salmo salar*. *Ecology of Freshwater Fish*, 13, 176–184.
- EC Commission Regulation No. 2065/2001 of October 2001 laying down detailed rules for the application of Council Regulation (EC) No. 104/2000 as regards informing consumers about fishery and aquaculture products.
- FAO species catalogue. Vol.10. Gadiform Fishes of the world (Order Gadiformes). An Annotated and Illustrated Catalogue of Cods, Hakes, Grenadiers and other Gadiform Fishes Known to Date. Daniel M. Cohen Tadashi Inada Tomio Iwamoto Nadia Scialabba 1990. FAO Fisheries Synopsis. No. 125, Vol.10. Rome, FAO. 1990. 442p.
- Herrero, B., Madrinán M., Vieites, J.M. & Espineira, M. (2010). Authentication of Atlantic Cod (*Gadus morhua*) Using Real Time PCR. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58, 4794–4799.
- Joensen, H., Grahl-Nielsen, O. (2000). Discrimination of *Sebastes viviparus*, *S. marinus* and *S. mentella* from Faroe Islands by chemometry of the fatty acid profile in heart and gill tissues and in the skull oil. *Comparative Biochemistry and Physiology*, Part B 126, 69–79.
- Joensen, H., Steingrund, P., Fjallstein, I. Grahl-Nielsen, O. (2000). Discrimination between two reared stocks of cod (*Gadus morhua*) from the Faroe Islands by chemometry of the fatty acid composition in the heart tissue. *Marine Biology*, 136, 573-580.
- Jorhem, L. (2000). Determination of metals in foods by atomic absorption spectrometry after dry ashing: NMKL collaborative study. *Journal of AOAC International*, 83, 1204–1211.
- Lauritzsen, K., Akse, L., Johansen, A., Joensen, S., Sorensen, N.K., Olsen, R.L. (2004). Physical and quality attributes of salted cod (*Gadus morhua* L.) as affected by the state of rigor and freezing prior to salting. *Food Research International*, 37 (7), 677-688.

- Luykx, D.M.A.M., Ruth S.M.V. (2008). An overview of analytical methods for determining the geographical origin of food products. *Food Chemistry*, 107, 897–911.
- Martinez, I., Authenticity assessment based on other principles: Analysis of lipids, stable isotopes and trace elements, in *Fishery Products: Quality, Safety and Authenticity*, Oehlenschläger, J., and Rehbein, H., Eds., Blackwell Publishing, p. 388, 2009.
- Oliveira, E.J.V.M., Sant'Ana, L.S., Ducatti, C., Denadai, J.C., Kruliski, C.R.S. (2011). The use of stable isotopes for authentication of gadoid fish species. *European Food Research and Technology*, 232, 97–101.
- Papagiannis, I., Kagalou, I., Leonardos, J., Petridis, D., & Kalfakaou, V. (2004). Copper and zinc in four freshwater fish species from Lake Pamvotis (Greece). *Environmental International*, 30, 357–362.
- Pérez Cid, B.; Boia, C.; Pombo, L.; Rebelo, E. (2001). Determination of trace metals in fish species of the Ria de Aveiro (Portugal) by electrothermal atomic absorption spectrometry. *Food Chemistry*, 15(3), 403-408.
- Peterson, B.J., Fry, B. (1987). Stable isotopes in ecosystem studies. *Annual Reviews in Systems*, 8, 293-320.
- Rasmussen, R.S., Morrissey, M. (2009). Application of DNA-based method to identify fish and seafood substitution on the commercial market. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 8, 118–154.
- Sant'Ana, L.S., Ducatti, C., Ramires, D.G. (2010). Seasonal variations in chemical composition and stable isotopes of farmed and wild Brazilian freshwater fish. *Food Chemistry*, 122, 74–77.
- Sargent, J., Bell, G., Mcevoy, L., Tocher, D., Estevez, A. (1999). Recent developments in the essential fatty acids nutrition of fish. *Aquaculture*, 177, 191–199.
- Serrano, R., Blanes, M.A., Orero, L. (2007). Stable isotope determination in wild and farmed gilthead sea bream (*Sparus aurata*) tissues from the western Mediterranean. *Chemosphere*, 69, 1075–1080.
- Yildiz, M. (2008). Mineral composition in fillets of sea bass (*Dicentrarchus labrax*) and sea bream (*Sparus aurata*): a comparison of cultured and wild fish. *Journal of Applied Ichthyology*, 24, 589–594.

Wada, E.; Mizutani, H.; Minagawa, M. (1991). The use of stable isotopes for food web analysis. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 30(3), 361-371.

WHO. (1996). Trace Elements in Human Nutrition and Health (Geneva: World Health Organisation).

Zeynali, F., Tajik, H., Asri-Rezaei, S., Meshkini, S., Fallah, A.A., Rahnama, M. (2009). Determination of copper, zinc and iron levels in edible muscle of three commercial fish species from Iranian coastal waters of the Caspian Sea. *Journal of Animal and Veterinary Advances*, 8, 1285–1288.

**Capítulo IV - Utilização de diferentes
ferramentas na identificação de origem
geográfica e sazonalidade em corvina
brasileira (*Micropogonias furnieri*)**

Resumo

O objetivo deste estudo foi utilizar composição química, elementos essenciais e não essenciais, perfil de ácidos graxos e isótopos estáveis como ferramentas de rastreabilidade para avaliar a origem geográfica e a sazonalidade da corvina (*Micropogonias furnieri*). A corvina de Parnaíba apresentou maior teor de cinzas e menor teor de gordura que a corvina de Santos. A corvina de Santos teve estatisticamente maior proporção de 14:0, 16:1 n-9 +16:1 n-7, 20:1 n-11, 20:1 n-9, ácidos graxos monoinsaturados e razão n-3/n-6 de corvina de Parnaíba. Quanto à sazonalidade, as corvinas capturadas em julho apresentaram valores significativamente mais elevados de 14:0, 15:0, 16:1n-9 +16:1n-7 e ácidos graxos saturados do que corvina capturada em dezembro. Foram detectadas diferenças significativas entre a sazonalidade para Cl, Ca, Fe, Sr e S e para a origem geográfica apenas para o K. Os valores de $\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^{15}\text{N}$ foram estatisticamente diferentes entre origens geográficas, ao passo que as diferenças entre as estações só foram encontrados em relação ^{15}N de corvina de Santos. Os ácidos graxos, minerais e isótopos estáveis são métodos eficazes para rastrear a origem geográfica e a sazonalidade da corvina (*Micropogonias furnieri*).

Palavras-chave: *Micropogonias furnieri*; espectrometria de massa de razão isotópica; rastreabilidade; ácidos graxos; minerais; contaminantes

Abstract

The aim of this study was to use proximate chemical composition, essential and non-essential elements, fatty acid profile and stable isotopes as traceability tools to assess geographic origin and seasonality of croaker (*Micropogonias furnieri*). Croaker from Parnaíba contained higher ash and lower fat content than croaker from Santos. Croaker from Santos had statistically higher proportion of 14:0, 16:1n-9+16:1n-7, 20:1n-11, 20:1n-9, monounsaturated fatty acids and n-3/n-6 ratio than croaker from Parnaíba. Concerning seasonality, croaker caught in July had significantly higher amounts of 14:0, 15:0, 16:1n-9+16:1n-7 and saturated fatty acids than croaker caught in December. Significant differences were detected between season for Cl, Ca, Fe, Sr and S and only for K. $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$ were statistically different between geographic origins, whereas differences between seasons were only found in $\delta^{15}\text{N}$ ratio of croaker from Santos. Fatty acids, minerals and stable isotope are effective method to trace geographic origin and seasonality of croaker (*Micropogonias furnieri*).

Keywords: (*Micropogonias furnieri*); isotope ratio mass spectrometry; traceability; fatty acids; macro and trace elements

1. Introdução

Os consumidores estão cada vez mais conscientes dos efeitos benéficos da ingestão de pescado para saúde humana, o que tem aumentado o consumo desses produtos (Mazzeo et al., 2008). Como resultado, o comércio de uma maior variedade de peixes e produtos processados tem aumentado. Atualmente, os consumidores não estão interessados apenas na composição ou qualidade dos produtos, mas também na sua origem e como eles foram manuseados, processados, armazenados e também nas questões de autenticidade quando o produto é processado como os filés, onde a distinção da origem do produto ou a determinação da espécie pode ser dificultada (Herrero, 2008).

A adulteração do pescado pode causar diversos prejuízos aos consumidores, como a aquisição de produtos rotulados erroneamente ou potencialmente nocivos, além de reduzir a eficácia da conservação marinha (Civera, 2003). Assim, a avaliação da autenticidade das espécies e da origem são requisitos importantes para garantir a qualidade, possibilitam controles adequados de segurança e o desenvolvimento de regulamentações eficientes.

A autenticação de alimentos é a parte da rastreabilidade que compreende a identificação dos componentes de alimentos para verificar a conformidade com a rotulagem para evitar a fraude. Com relação à rastreabilidade, vários aspectos são de extrema importância ao longo da cadeia produtiva. A autenticação deve fornecer informações sobre a espécie, origem, idade e sistemas de produção (Schwagele, 2005).

A identificação convencional de peixes é feita pelo exame das suas características anatômicas e morfológicas. No entanto, a identificação torna-se complicada em alimentos processados, como filés congelados e mariscos pré-cozidos, onde estas características morfológicas são removidas (Moran et al., 2006). Portanto, há uma necessidade de métodos de identificação rápidos e confiáveis que possam fornecer às autoridades e indústrias de pescado as ferramentas necessárias para cumprir os requisitos de rotulagem e de rastreabilidade, garantindo assim a qualidade do produto e proteção ao consumidor (Carrera et al., 2012).

O uso de técnicas analíticas para diferenciar a origem geográfica dos produtos alimentares é a melhor maneira de evitar a adulteração. A cromatografia gasosa (Busetto et al., 2008; Thomas et al., 2008), espectroscopia (Cordella et al., 2003) e a IRMS (Thomas et al., 2005) têm sido propostas para a autenticidade de alimentos, a fim de identificar a presença dos principais componentes da amostra ou alguns compostos que podem ser característicos de um determinado alimento.

A espectrometria de massa de razão isotópica (IRMS) é uma ferramenta poderosa para a detecção de produtos alimentares adulterados e falsificados (Calderone et al., 2009) e é reconhecida como um método oficial para garantir a autenticidade destes produtos (Martin & Martin, 1995). A IRMS foi aplicada para a atribuição de origem geográfica de cordeiro (Piasentier et al., 2003), carne bovina (Heaton et al., 2008), carne de frango e carne seca (Franke et al., 2007), porém existem poucos estudos em pescado.

Sabe-se que o teor de minerais e elementos traço em produtos alimentares refletem claramente o tipo de solo e as condições ambientais que o alimento está inserido. Devido a isso, a avaliação do teor de minerais tem sido proposta para assegurar a origem geográfica das amostras de alimentos. Assim, técnicas como a espectrometria de absorção atômica (FAAS) foram empregadas com sucesso na autenticação de alimentos (Gonzalvez et al., 2009).

A determinação do perfil de ácidos graxos é outra ferramenta muito utilizada na diferenciação de estoques (Joensen et al., 2000), sistemas de produção (Alasalvar et al., 2002), sazonalidade (Rasoarahona et al., 2005), bem como a origem geográfica (Çelik et al., 2005). Estas diferenças encontradas são atribuídas principalmente à dieta. Assim, a utilização das técnicas de determinação do perfil de ácidos graxos, minerais em conjunto com isótopos estáveis pode ser um método promissor para a autenticação de pescado.

A cidade de Santos se destaca como um dos principais centros econômicos do Brasil, que abriga o maior porto da América Latina, além dos pólos petroquímico e metalúrgico. O rápido desenvolvimento da região resultou na degradação do meio ambiente. Em contraste, Parnaíba é uma cidade menor, onde as principais economias não são dependentes do ambiente marinho (como a produção de óleo de babaçu, cera de carnaúba, algodão, etc.). Ambas as

idades têm condições ambientais distintas quanto à qualidade da água, contaminantes, tipo e disponibilidade de alimentos, temperatura e precipitação ao longo do ano. Santos apresenta clima tropical litorâneo úmido, com verões quentes e úmidos e invernos com temperaturas amenas e menor incidência de chuvas. Diferentemente, Parnaíba apresenta clima tropical semi-úmido com chuvas de grande porte entre janeiro e junho. Este estudo avaliou a rastreabilidade de corvinas (*Micropogonias furnieri*) de duas regiões distintas, Santos e Parnaíba como estudo de caso. Diferentes ferramentas de rastreabilidade foram utilizadas para avaliar a origem geográfica e a sazonalidade de *M. furnieri*, como a composição química aproximada, elementos essenciais e não essenciais, perfil de ácidos graxos e isótopos estáveis de carbono e nitrogênio.

2. Material e métodos

2.1. Coleta e processamento das amostras

As corvinas foram capturadas em duas regiões distintas do litoral brasileiro, em Santos/SP e Parnaíba/PI em julho (inverno) e dezembro (verão) de 2011. Os dados biométricos das corvinas foram coletados (Tabela 1).

Tabela 1. Peso e comprimento (média \pm desvio padrão) de corvinas capturadas em Santos e Parnaíba, em diferentes épocas do ano

Localidade/ Sazonalidade	Peso (g)	Comprimento (cm)
	Média \pm DP	Média \pm DP
CSJ (n = 10)	1188,5 \pm 186,8	39,9 \pm 2,0
CSD (n = 10)	712,5 \pm 90,2	39,5 \pm 1,5
CPJ* (n = 10)	244,1 \pm 142,2	27,1 \pm 4,9
CPD (n = 10)	985,6 \pm 104,1	45,8 \pm 2,1

CSJ: Corvina Santos Julho; CSD: Corvina Santos Dezembro; CPJ: Corvina Parnaíba Julho; CPD: Corvina Parnaíba Dezembro. * peso eviscerado.

Após a captura, os peixes foram enviados para o Laboratório de Tecnologia de Pescado, FCA / UNESP, onde as amostras foram processadas, homogeneizadas e congeladas. Uma parte de cada amostra congelada foi liofilizada durante 48 horas à temperatura de -40°C (Christ, Alpha 2-4 LD Plus, Munchen - Germany) e armazenada a -80°C sob condições de umidade controlada até o início das análises.

2.2. *Composição química aproximada*

As análises de umidade e cinzas foram feitas em estufa de secagem a 105°C (método 950,46) e mufla a 550°C (método 938,08), respectivamente. O nível total de nitrogênio foi determinado pelo método de Kjeldahl (método 981,10), e os níveis de proteína foram estimados usando o fator de conversão de 6,25. O conteúdo total lipídicos foi determinado pelo método de extração em Soxhlet com éter etílico (40–60°C; 7 h; heater plate SBS Instruments PC6L) (AOAC, 2005).

2.3. *Perfil de ácidos graxos*

As análises de ácidos graxos foram realizadas no Instituto Português do Mar e da Atmosfera - IPMA. O perfil de ácidos graxos foi determinado em duplicata para cada amostra, e baseou-se no procedimento experimental de Cohen et al. (1988). Cada amostra liofilizada (300 mg de peso seco) foi dissolvida em 5 mL de cloreto de acetilo / metanol (01:19 v / v; Merck), agitada, e aquecida (80°C, 1 h). Após o resfriamento, 1 mL de água ultra pura (Milli-Q) e 2 mL de n-heptano (Merck) foram adicionados e as amostras foram agitadas e centrifugadas (2000 g, 5 min, Sigma 2K15) até a separação de fases. O teor de umidade da fase superior foi removido com sulfato de sódio anidro (Panreac). Uma alíquota (2 µL) da fase superior foi injetada num cromatógrafo a gás (Varian Star 3800 Cp) equipado com um amostrador automático e com um detector de ionização de chama de 250°C. A separação foi feita com o hélio como gás de arraste, com fluxo de 1 mL min⁻¹, de uma coluna capilar DB-WAX (30 m de comprimento 0,32 mm de diâmetro interno, 0,25 µm de espessura de filme; Hewlett-Packard) programado a 180°C durante 5 min, aumentada para 220 a 4°C min⁻¹, e mantida a 220°C durante 25 min, com o injetor a 250°C. Os ácidos graxos foram identificados por comparação dos tempos de retenção com os de padrões Sigma. Os dados quantitativos foram calculados utilizando a relação de área de pico, percentagem de ácidos graxos totais e o software Varian.

2.4. *Elementos essenciais e não essenciais*

A espectrometria de fluorescência de raios X por energia (EDXRF) foi utilizada para quantificar os elementos S, Cl, K, Ca, Fe, Zn, As, Se, Br e Sr. O espectrômetro é um sistema auto-construído, utilizando um gerador de raio X Philips (PW 1140/00/60 3 kV). A técnica de EDXRF consiste em um tubo de raios

X equipado com um excitador de molibdênio secundário. As radiações características emitidas dos elementos da amostra foram detectados por lítio derivado de silício [Si (Li)] com 30 mm² de área ativa e janela de berílio de 8 µm. A resolução de energia foi de 135 eV em 5,9 keV. Cálculos quantitativos foram feitos pelo método dos parâmetros fundamentais (Custódio et al.,2003). O gerador de raios X foi operado a 50 kV, 20 mA e tempo de aquisição de 1000 s. Cada amostra liofilizada (1 g) foi prensada em pastilhas de 2 cm de diâmetro (n = 2), sem qualquer tratamento químico e coladas sobre filmes de Mylar em suportes de amostras e colocada diretamente no feixe de raios X.

A espectrometria de absorção atômica com chama (FAAS; Varian SpectrAA 55B Sydney, Austrália) foi utilizada para quantificar Cd e Pb em cada amostra (n = 2), de acordo com os procedimentos descritos por Jorhem (2000). Em resumo, 10 g do músculo seco foram incinerados a 500°C e dissolvidos em 15% v / v de ácido nítrico. As concentrações de Pb e Cd foram encontradas por meio da calibração externa linear com soluções padrão: Cd (NO₃)₂ e de Pb (NO₃)₂ (Merck, 1 g L⁻¹ dissolvidos em 0,5 mol L⁻¹ HNO₃).

As concentrações de Hg total foram determinadas por espectrometria de absorção atômica utilizando um analisador automático de Hg (aparelho AMA 254, LECO). O procedimento baseia-se na decomposição da amostra liofilizada (10 mg, n = 2 para cada amostra), por meio da combustão, e técnica de pré-concentração por amalgamação através da fusão com ouro e espectrometria de absorção atômica. As concentrações foram calculadas a partir de calibração linear com solução padrão de absorbância de Hg (1 g L⁻¹ dissolvidos em 0,5 mol L⁻¹ HNO₃; Merck).

A exatidão foi verificada por análise de material biológico certificado (Tabela 2). Os limites de detecção (DL) de cada um dos elementos foram determinados através de dois métodos: (1) EDXRF - com a abordagem de sinal-para-ruído, em que o equipamento compara o sinal de cada elemento com amostras em branco e é estabelecida a concentração mínima à qual o elemento é detectado com segurança, e (2) FAAS - com o desvio-padrão residual (RSD) da resposta e o declive (S) da curva de calibração de cada solução padrão usada [DL = (3,3 x RSD) / S]. A concentração de todos os elementos foi expressa em miligramas por quilograma de peso em base seca (mg kg⁻¹).

Tabela 2. Concentração elementar (mg kg^{-1} DW) e limites de detecção (mg kg^{-1} , D.L.) de material de referência certificado (média \pm desvio padrão) analisados por FAAS e EDXRF.

Elemento	Técnica	D.L.	Material de referência certificado	Valor certificado	Presente trabalho
Hg	FAAS	0,02	Dogfish muscle (DORM-2)	4,64 \pm 0,26	4,68 \pm 0,17
Cd	FAAS	0,01	Lobster hepatopancreas (TORT-2)	27,00 \pm 1,00	27,00 \pm 0,00
Pb	FAAS	0,02	Lobster hepatopancreas (TORT-2)	0,35 \pm 0,13	0,35 \pm 0,06
As	EDXRF	0,7	Lobster hepatopancreas (TORT-2)	21,60 \pm 1,80	22,6 \pm 2,00
S	EDXRF	100	Oyster tissue (SRM 1566)	7600*	8200 \pm 500
Cl	EDXRF	100	Oyster tissue (SRM 1566)	10000*	10200 \pm 500
K	EDXRF	50	Oyster tissue (SRM 1566)	9690 \pm 50	10000 \pm 80
Ca	EDXRF	20	Oyster tissue (SRM 1566)	1500 \pm 50	1350 \pm 50
Fe	EDXRF	3	Dogfish muscle (DORM-2)	142 \pm 10	141,3 \pm 1,5
Cu	EDXRF	0,7	Oyster tissue (SRM 1566)	63,0 \pm 4,0	63,0 \pm 4,0
Zn	EDXRF	1	Dogfish muscle (DORM-2)	25,6 \pm 2,3	23,9 \pm 0,1
Se	EDXRF	1	Dogfish muscle (DORM-2)	1,4 \pm 0,09	1,2 \pm 0,1
Br	EDXRF	0.8	Freeze-dried animal blood (IAEA-A-13)	22,0 \pm 3,0	22,0 \pm 2,0
Rb	EDXRF	1.1	Orchard Leaves (SRM-1571)	11,4 \pm 0,7	12,0 \pm 1,0

*Valores não certificados foram fornecidos por United States National Bureau of Standards.

2.5. Análise isotópica

A amostra liofilizada foi pulverizada usando um moinho criogênico (Spex Certipret) com nitrogênio líquido a -196°C , em seguida foram pesadas 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 cápsulas foram submetidas a combustão total sob fluxo contínuo de Hélio, a 1020°C , através do analisador elementar (EA 1108 – CHN Fisons Elemental Analyzer), acoplado ao espectrômetro de massa Delta S (Finnigan Mat, Bremen, Alemanha).

As razões isotópicas das amostras, analisadas em duplicata, foram comparadas aos padrões internacionais estabelecidos para o carbono – PDB

(Pee Dee Belemnite, um fósil de Belemnitella americana da formação Pee Dee, da Carolina do Sul, EUA) – e para o nitrogênio – ar atmosférico (N₂). Esses valores, designados pela terminologia delta (δ), em unidade por mil (‰), foram calculados através da seguinte equação:

$$\delta_{\text{amostra}} = [(R_{\text{amostra}} - R_{\text{padrão}}) - 1] \times 1000$$

2.6. Análise estatística

A análise de variância ANOVA, foi utilizada para detectar diferenças significativas entre origem geográfica e sazonalidade em todas as avaliações, seguido pelo teste Unequal N HSD (variação do teste de Tukey) para identificar essas diferenças. Sempre que necessário, os dados foram transformados para satisfazer os requisitos de distribuição normal e homocedasticidade, seguido de análise de variância não-paramétrica por comparações múltiplas (Kruskall-Wallis), se os dados transformados não atendem a esses pressupostos. A análise fatorial exploratória com extração de componentes principais também foi empregada para reduzir os conjuntos de dados multidimensionais dos vários elementos para dimensões menores, simplificando assim a apresentação e interpretação dos dados. Todas as análises estatísticas foram testadas no nível de 0,05 de significância com o software STATISTICA 8,0 © (Statsoft, Tulsa, OK, EUA).

3. Resultados e discussão

3.1. Composição química aproximada

Os resultados de composição química das corvinas de Santos e de Parnaíba em julho e dezembro estão na Tabela 3. Apenas o teor de cinzas da corvina capturada em Parnaíba foi estatisticamente diferente da corvina capturada em Santos. Em relação à época do ano, teores significativamente maiores de cinzas foram encontrados em corvinas capturadas em Parnaíba no mês de julho em relação a dezembro. Ao contrário, o teor de lipídeos foi maior na corvina de Santos em comparação com as corvinas de Parnaíba e foi encontrada diferença quanto à sazonalidade entre as corvinas capturadas no período de dezembro, onde a corvina de Parnaíba apresentou o menor teor de lipídeos. Luzia et al. (2003) mostraram grandes variações de gordura em corvina durante diferentes estações do ano (verão = 0,60%) e (inverno = 3,29%). O teor de lipídeos de

algumas espécies de peixes pode variar cerca de 10%, de acordo com a época de captura (Krzynowek, 1985). Segundo a Stamatis e Arkoudelos (2007), as variações na composição química de peixes marinhos estão intimamente relacionadas com a nutrição, localidade, tamanho dos peixes, temporada de captura, temperatura e salinidade da água, variações sexuais e sazonais e outras condições ambientais.

Tabela 3. Composição química aproximada ($\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$) de corvinas capturadas em Santos e Parnaíba em diferentes épocas do ano.

Localidade/Sazonalidade	Umidade	Proteína	Cinzas	Lipídeos
CSJ	78,86±0,50	18,33±0,25	1,20±0,03 ^b	1,57±0,19 ^a
CSD	79,05±0,42	18,36±0,36	1,20±0,06 ^b	1,68±0,29 ^a
CPJ	78,63±0,77	17,50±0,55	1,32±0,05 ^a	1,18±0,15 ^{ab}
CPD	80,63±0,93	17,48±1,18	1,01±0,03 ^c	0,79±0,10 ^b

CSJ: Corvina Santos Julho; CSD: Corvina Santos Dezembro; CPJ: Corvina Parnaíba Julho; CPD: Corvina Parnaíba Dezembro. ^aMédia ± D.P. com letras diferentes na mesma coluna são significativamente diferentes pelo teste Unequal N HSD ($P \leq 0,05$).

3.2. Perfil de ácidos graxos

O perfil de ácidos graxos das corvinas revelou diferenças estatísticas de acordo com a origem geográfica e a sazonalidade (Tabela 4). A corvina de Santos teve estatisticamente menor proporção de 21:0 e n-6 do que corvina de Parnaíba. Em relação à sazonalidade, corvinas de Santos capturadas em julho apresentaram valores significativamente mais elevados de 14:0, 16:1 n-9 +16:1 n-7, 18:3 n-4 do que corvinas de Santos capturadas em dezembro, porém os níveis mais baixos de 16:3 n-4, 18:2 n-6, 20:0, 20:2 n-6, 21:0 foram encontrados em Julho. Em contraste, as corvinas de Parnaíba capturadas em Julho apresentaram quantidades significativamente maiores de 15:0, 16:1 n-9 +16:1 n-7, 17:0, 16:4 n-3, 18:1 n-7, 19:0, 20: 2n-6, 22:4 n-6 do que as corvinas de Parnaíba capturadas em dezembro. No entanto, os níveis de 16:2 n-4, 16:3 n-3, 20:0, 20:4 n-3, 20:5 n-3, 22:5 n-6, 22:5 n-3, 22:6 n-3, PUFA n-3, EPA + DHA foram maiores nas corvinas de Parnaíba capturadas em dezembro.

Tabela 4. Perfil de ácidos graxos (%) de corvinas capturadas em Santos e Parnaíba em diferentes épocas do ano.

Ácidos Graxos	CSJ	CSD	CPJ	CPD
14:0	2,11±0,50 ^a	1,01±0,31 ^b	1,09±0,25 ^b	0,61±0,19 ^b
15:0	0,84±0,12 ^a	0,67±0,26 ^{ab}	0,85±0,28 ^a	0,30±0,05 ^b
16:0	21,37±2,02 ^a	20,06±4,07 ^a	25,36±2,96 ^a	21,80±0,63 ^a
16:1n-9+16:1n-7	6,95±0,73 ^a	4,98±1,48 ^b	4,08±1,01 ^b	1,98±0,42 ^c
17:0 isobr	0,57±0,09 ^a	0,73±0,29 ^a	0,41±0,24 ^{ab}	0,19±0,05 ^b
16:2n-4- Fit	0,14±0,04 ^b	0,41±0,06 ^{ab}	0,17±0,08 ^b	1,19±0,28 ^a
17:0	0,76±0,08 ^b	0,74±0,18 ^b	1,35±0,29 ^a	0,52±0,16 ^b
16:3n-4	0,20±0,04 ^b	0,52±0,10 ^a	0,83±0,08 ^a	0,42±0,13 ^{ab}
16:3n-3*	0,58±0,34 ^{bc}	0,99±0,32 ^b	0,23±0,05 ^c	1,86±0,29 ^a
16:4n-3*	0,13±0,04 ^b	0,13±0,05 ^b	1,41±0,06 ^a	0,18±0,04 ^b
18:0**	8,61±1,05 ^a	7,84±1,42 ^a	9,52±0,33 ^a	9,78±0,64 ^a
18:1n-9*	7,81±1,47 ^a	8,26±1,76 ^a	7,06±1,60 ^a	6,75±0,55 ^a
18:1n-7*	2,70±0,37 ^a	2,34±0,72 ^a	2,48±0,42 ^a	1,51±0,29 ^b
18:2n-6***	0,80±0,07 ^b	1,53±0,36 ^a	1,75±0,32 ^a	1,12±0,08 ^{ab}
19:0*	0,32±0,03 ^b	0,27±0,06 ^b	0,46±0,08 ^a	0,33±0,03 ^b
18:3n-4**	0,26±0,06 ^a	0,10±0,02 ^b	0,18±0,04 ^{ab}	0,41±0,17 ^a
20:0**	0,00±0,00 ^b	0,22±0,04 ^a	0,00±0,00 ^b	0,29±0,13 ^a
20:1n-11**	0,78±0,28 ^a	0,65±0,22 ^a	0,44±0,15 ^{ab}	0,20±0,02 ^b
20:1n-9**	0,36±0,01 ^{ab}	0,60±0,13 ^a	0,25±0,04 ^b	0,27±0,06 ^b
20:2n-6*	0,31±0,04 ^{bc}	0,56±0,08 ^a	0,40±0,07 ^b	0,19±0,03 ^c
21:0*	0,15±0,08 ^c	0,29±0,02 ^b	0,55±0,07 ^a	0,60±0,10 ^a
20:4n-6*	7,11±2,00 ^{bc}	6,42±2,21 ^c	11,52±2,98 ^{ab}	12,03±1,46 ^a
20:4n-3*	0,35±0,10 ^b	0,23±0,04 ^b	0,25±0,05 ^b	0,58±0,08 ^a
20:5n-3*	8,83±1,19 ^a	6,75±1,46 ^{ab}	5,00±0,42 ^b	8,49±1,76 ^a
22:4n-6**	1,69±0,13 ^b	2,16±0,54 ^b	3,91±1,01 ^a	2,92±1,02 ^b
22:5n-6*	1,44±0,26 ^b	1,76±0,71 ^b	1,98±0,53 ^b	4,26±0,52 ^a
22:5n-3*	3,82±0,30 ^b	3,11±0,52 ^b	3,30±0,63 ^b	4,60±0,44 ^a
22:6n-3*	12,05±2,37 ^a	12,07±3,70 ^a	7,29±2,11 ^b	13,47±1,34 ^a
SFA**	34,98±2,89 ^{ab}	31,86±5,45 ^b	40,33±3,42 ^a	34,94±0,63 ^{ab}
MUFA*	19,75±4,02 ^a	18,40±4,86 ^a	14,51±2,11 ^{ab}	11,70±2,71 ^b
PUFA*	38,31±4,55 ^b	37,71±9,11 ^b	36,12±6,90 ^b	51,53±3,48 ^a
n3*	26,19±2,79 ^a	23,48±5,81 ^{ab}	17,52±3,31 ^b	29,18±2,72 ^a
n6*	11,52±2,38 ^b	13,20±3,46 ^b	19,33±4,93 ^a	20,56±2,25 ^a
n3/n6	2,33±0,39 ^a	1,93±0,19 ^{ab}	1,19±0,34 ^b	1,43±0,18 ^b
EPA+DHA	20,88±2,73 ^a	18,82±4,79 ^{ab}	12,29±2,36 ^b	21,96±2,65 ^a

CSJ: Corvina Santos Julho; CSD: Corvina Santos Dezembro; CPJ: Corvina Parnaíba Julho; CPD: Corvina Parnaíba Dezembro. SFA: ácidos graxos saturados; MUFA: ácidos graxos monoinsaturados; PUFA: ácidos graxos poli-insaturados; n-3: ácidos graxos ômega 3; n-6: ácidos graxos ômega 6; n-3/n-6 proporção de ácidos graxos, EPA: ácido eicosapentaenóico, DHA: ácido docosahexaenóico. Diferentes letras sobrescritas em cada linha indicam diferenças significativas. * Diferenças significativas pelo teste Unequal N HSD ($P \leq 0,05$). ** e *** Diferenças significativas pelo teste não paramétrico Kruskal-Wallis, $P \leq 0,01$ e $P \leq 0,001$, respectivamente.

O ácido palmítico foi o principal ácido graxo saturado (SFA) para as corvinas capturadas em diferentes épocas e origens geográficas. Segundo Bandarra et al. (1997) a percentagem de SFA foi relativamente constante ao longo do ano para as sardinhas e não parecia ser influenciada pela dieta. Da

mesma forma, não foram detectadas diferenças estatísticas nos níveis de SFA para as corvinas entre estações e origens geográficas.

O ácido oléico foi identificado como o principal MUFA em todas as amostras. No geral, MUFA foi maior nas corvinas de Santos do que de Parnaíba, embora nem sempre significativas, e não diferiram quanto à sazonalidade. Maiores níveis de C20: 1n-9 foram encontrados nas corvinas de Santos em comparação com os espécimes de Parnaíba, embora não significativo. Este ácido graxo está associado aos zooplânctons e as variações destes níveis podem refletir na variação do consumo de zooplâncton na dieta (Budge et al., 2002).

O DHA (22:6 n-3) foi o PUFA básico para todas as amostras. Foi relatado que o DHA é o principal constituinte de PUFA em peixes marinhos (Alasalvar et al, 2002; Orban et al., 2003). As percentagens de PUFA, tais como EPA e DHA, na musculatura de peixes são principalmente dependentes de dieta (Arts et al., 2001) e a composição de ácidos graxos pode variar devido às mudanças nos hábitos nutricionais do peixe (Norrobin et al., 1990). O baixo teor de PUFA nas corvinas capturadas em Parnaíba no mês de Julho (inverno) pode ser atribuído às mudanças nos hábitos nutricionais.

3.3. *Elementos essenciais e não essenciais*

O conteúdo de minerais de corvina de diferentes origens geográficas e sazonalidade estão apresentados na Tabela 5. Não houve diferença estatisticamente significativa nas concentrações de Zn e Br em corvina de diferentes origens geográficas e épocas do ano. Os conteúdos de S (Parnaíba), Cl (Santos), Ca (Parnaíba), Fe (ambos os locais), Se (Parnaíba), Rb (Parnaíba), Sr (ambos os locais), Pb (Santos) e As (Parnaíba) foram significativamente maiores em julho do que em dezembro. Em contraste, os níveis de Hg, Cd e Pb nas corvinas de Parnaíba foram estatisticamente maiores em dezembro em relação a julho. Quanto à origem geográfica, os níveis de K foram estatisticamente superiores nos exemplares de Santos quando comparados aos da Parnaíba. A função metabólica de Sr e Rb nos organismos é desconhecida, portanto são considerados como elementos não-essenciais. O Se é um elemento essencial e age como antioxidante, anticarcinogênico, regulador do metabolismo hormonal da tireóide e agente antagonista dos efeitos toxicológicos do Hg (Khan

et al., 1987). Neste estudo foi possível observar o antagonismo entre Hg e Se em corvinas de Parnaíba capturadas em julho, que apresentaram níveis significativamente mais baixos de Hg do que as outras amostras, contrastando com os níveis estatisticamente maiores de Se.

Tabela 5. Elementos essenciais e não essenciais (mg kg^{-1}) de corvinas capturadas em Santos e Parnaíba em diferentes épocas do ano.

Mineral	CSJ	CSD	CPJ	CPD
S*	11.748,79±537,25 ^a	11.299,06±891,39 ^a	11.895,54±1478,63 ^a	8.693,01±334,37 ^b
Cl*	8.073,50±765,36 ^a	4.857,83±1148,07 ^b	6.475,96±635,00 ^{ab}	4.503,41±521,02 ^b
K*	18.886,00±472,10 ^a	17.856,86±1539,46 ^a	11.399,29±240,66 ^b	12.431,58±664,64 ^b
Ca*	891,94±109,72 ^{ab}	715,28±12,13 ^b	1.437,75±240,66 ^a	536,63±27,47 ^b
Fe*	24,41±0,80 ^a	15,41±0,74 ^b	27,53±1,32 ^a	15,61±1,37 ^b
Cu**	2,92±0,06 ^{ab}	2,56±0,26 ^b	5,53±1,12 ^a	3,42±0,18 ^{ab}
Zn*	19,87±1,08 ^a	18,16±1,15 ^a	18,49±0,79 ^a	18,72±0,79 ^a
Se*	2,67±0,32 ^b	3,18±0,77 ^b	8,02±1,85 ^a	3,94±1,04 ^b
Br*	26,72±1,64 ^a	22,54±0,71 ^a	25,38±1,67 ^a	26,54±2,66 ^a
Rb*	2,42±0,17 ^b	2,32±0,17 ^b	3,46±0,52 ^a	2,60±0,20 ^b
Sr*	3,19±0,12 ^b	1,69±0,51 ^c	5,60±0,47 ^a	3,64±0,23 ^b
Hg*	0,60±0,10 ^a	0,68±0,01 ^a	0,09±0,00 ^b	0,84±0,10 ^a
Cd*	N.D.	N.D.	0,01±0,01 ^b	0,02±0,00 ^a
Pb*	0,16±0,03 ^b	N.D.	0,15±0,04 ^b	0,27±0,02 ^a
As*	13,59±1,48 ^b	11,69±0,18 ^b	24,15±3,85 ^a	10,69±0,39 ^b

CSJ: Corvina Santos Julho; CSD: Corvina Santos Dezembro; CPJ: Corvina Parnaíba Julho; CPD: Corvina Parnaíba Dezembro. N.D.: Não detectado. Diferentes letras sobrescritas em cada linha indicam diferenças significativas. * Diferenças significativas pelo teste Unequal N HSD ($P \leq 0,05$). ** Diferenças significativas pelo teste não paramétrico Kruskal-Wallis, $P \leq 0,01$.

O Hg é um dos metais mais estudados devido à sua elevada toxicidade (Carvalho et al., 2002). A concentração máxima, $0,84 \text{ mg kg}^{-1}$ (peso seco), foi encontrada na corvina capturada em Parnaíba em dezembro, enquanto que a concentração mais baixa de Hg foi observada em corvina de Parnaíba em Julho ($0,09 \text{ mg kg}^{-1}$).

Os resultados obtidos para os elementos não essenciais, tais como As, Hg, Pb e Cd, refletem uma influência exógena que podem estar relacionados com a poluição ambiental (Carvalho et al., 2005), porém, a concentração desses contaminantes para todas corvinas analisadas estavam abaixo dos níveis aceitáveis estabelecidos pela Organização Mundial da Saúde (WHO, 1996).

As variações na composição mineral de alimentos marinhos estão intimamente relacionadas com diferenças sazonais e biológicas (espécie, tamanho, idade, sexo e maturidade sexual), área de captura, método de processamento, fonte de alimento e as condições ambientais (qualidade da água, temperatura, salinidade e nível de contaminação) (Alasalvar et al., 2002).

3.4. Isótopos estáveis

Os resultados da análise isotópica de corvinas de diferentes origens geográficas e época do ano estão apresentados na Tabela 6. As razões isotópicas de carbono e nitrogênio foram estatisticamente diferentes entre as origens geográficas. A corvina de Santos apresentou valores mais negativos de ^{13}C do que os espécimes de Parnaíba. Segundo Busetto et al. (2008), este fato pode ser atribuído ao alto conteúdo lipídico, que induz um maior fracionamento isotópico de ^{13}C .

Tabela 6. Razão isotópica de carbono (^{13}C) e nitrogênio (^{15}N) de corvinas capturadas em Santos e Parnaíba em diferentes épocas do ano.

Localidade/Sazonalidade	$\delta^{15}\text{N}$ (‰)	$\delta^{13}\text{C}$ (‰)
CSJ	14,02±0,55 ^a	-17,78±0,35 ^b
CSD	13,12±0,74 ^b	-17,84±0,48 ^b
CPJ	11,52±0,22 ^c	-16,72±0,67 ^a
CPD	11,45±0,66 ^c	-16,10±0,39 ^a

CSJ: Corvina Santos Julho; CSD: Corvina Santos Dezembro; CPJ: Corvina Parnaíba Julho; CPD: Corvina Parnaíba Dezembro. ^aMédia ± D.P. com letras diferentes na mesma coluna são significativamente diferentes pelo teste Unequal N HSD ($P \leq 0,05$).

Em contraste, as corvinas de Santos apresentaram valores mais elevados de ^{15}N do que as de Parnaíba. As diferenças nos valores de ^{15}N estão na quantidade e principalmente na origem e tipo de proteína ingerida através da dieta de ambos os peixe (Busetto et al., 2008). A dieta alimentar da corvina consiste principalmente de invertebrados bentônicos e peixes pequenos (Soares et al., 2006) que varia de acordo com a disponibilidade de presas e a origem geográfica das zonas de pesca.

A corvina de Parnaíba mostrou enriquecimento de ^{13}C de 1‰ comparado a corvina de Santos. As assinaturas de isótopos estáveis de carbono tem enriquecimento de menos de 1‰ por nível trófico e o fracionamento é muitas vezes insignificante (Vander Zanden & Rasmussen, 2001). Portanto, os valores

de ^{13}C são mais indicativos de habitat ou fonte de carbono (Hecky & Hesslein, 1995).

Quanto à sazonalidade, diferenças foram encontradas somente na relação ^{15}N das corvinas de Santos, onde os exemplares capturados em julho tiveram maior enriquecimento ^{15}N . Diferenças sazonais na composição isotópica de peixes podem estar relacionadas às mudanças em suas preferências alimentares e disponibilidade de presas (Vizzini & Mazzola, 2003). A razão isotópica dos animais é determinada principalmente pela dieta, que indiretamente pode refletir a sua origem (De Niro & Epstein, 1978). Durante os períodos de escassez de alimentos, o peixe usa as reservas acumuladas em seu corpo. Consequentemente, são observados valores mais positivos em nitrogênio e valores menos negativos em carbono.

Garcia et al. (2007) encontraram resultados semelhantes em corvina da Lagoa dos Patos ($^{13}\text{C} = -17,97\text{‰} \pm 1,1\text{‰}$ e $^{15}\text{N} = 14,39\text{‰} \pm 0,3\text{‰}$). As razões isotópicas neste estudo foram superiores aos encontrados por Corbisier et al. (2006) em águas de São Flamengo, Ubatuba ($-14,3\text{‰}$ para ^{13}C e $12,0\text{‰}$ para ^{15}N). Molkentin et al. (2007) avaliaram as diferenças isotópicas em salmão de aquicultura e selvagem em diferentes regiões, e encontraram diferenças entre salmão de aquicultura em diferentes regiões, mas não para o salmão selvagem de diferentes regiões. Isto implica que existe uma variação considerável na composição da alimentação utilizada pelas pisciculturas que dificulta a determinação da sua origem geográfica por IRMS. Portanto, os resultados indicaram que $\delta^{15}\text{N}$ é um melhor indicador para a identificação de corvinas.

Em geral, as composições de isótopos de carbono e nitrogênio estão relacionadas com os sistemas de produção, e não especificamente a origem geográfica. Eles podem, no entanto, ser úteis como uma indicação indireta de proveniência geográfica se usado em combinação com outros isótopos estáveis, tais como o hidrogênio e oxigênio. Estes elementos são especialmente interessantes com relação à origem geográfica, condições climáticas, porque são fortemente dependentes latitude, mas também são afetados pela altitude e sazonalidade (Vinci et al., 2012)

3.5. Análise Fatorial Exploratória (AFE)

A AFE foi utilizada para fornecer uma visão geral da capacidade das variáveis de composição química, perfil de ácidos graxos, minerais e isótopos estáveis para discriminar as diferenças entre a origem geográfica e sazonalidade. Foram extraídos dois fatores, onde a percentagem de variância explicada por cada fator foi de 45,72% e 23,50%, respectivamente. As variáveis que melhor descrevem o primeiro fator são Fe, Pb, Sr, Cl, Ca, e os ácidos graxos 20:0 e 20:2n-6, e as principais variáveis do segundo fator são PUFA, n-3 total, EPA+DHA, 22:6n-3 e 22:5n-6 (Tabela 7). A representação gráfica das amostras de corvinas (Figura 1) mostra clara diferenciação entre as origens geográficas e sazonalidade.

Tabela 7. Primeiro e Segundo fatores extraídos a partir da análise fatorial exploratória aplicado à todas as variáveis que foram estatisticamente diferentes quanto ao sazonalidade e origem geográfica das corvinas.

Variável	Fator 1	Fator 2
Cl	-0,96275	-0,001281
Ca	-0,959449	-0,035074
Fe	-0,99204	-0,032728
Sr	-0,964725	-0,105949
Pb	-0,988468	-0,039765
20:0	0,971276	-0,05408
20:2n-6	0,93636	-0,287387
22:5n-6	0,331321	0,869749
22:6n-3	0,106614	0,864283
PUFA	-0,09774	0,964332
n-3	-0,266893	0,925873
EPA+DHA	-0,227668	0,925762

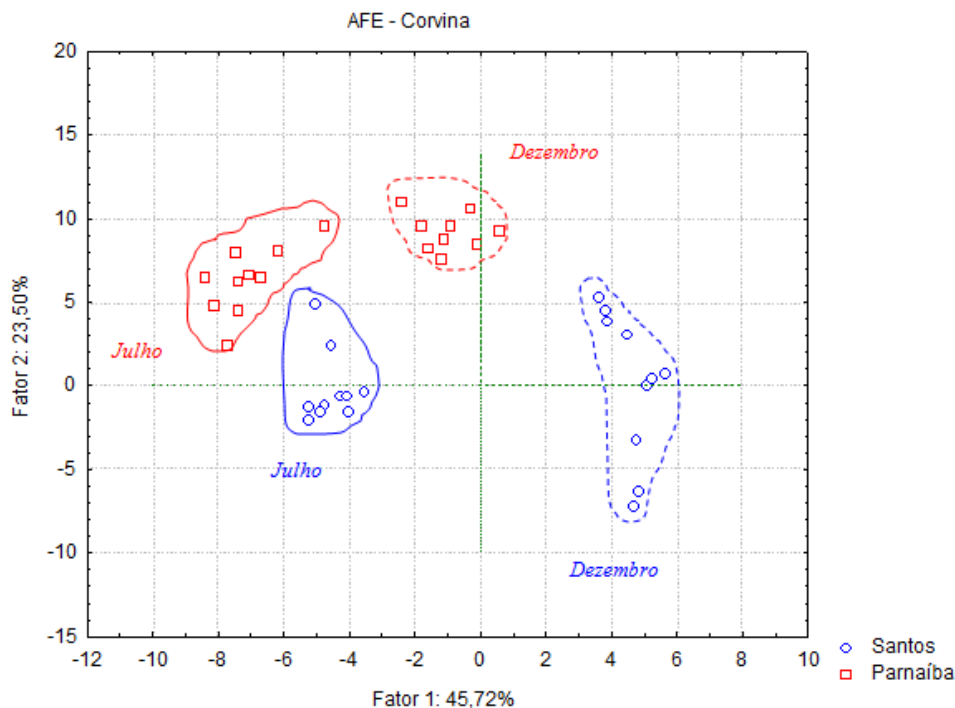


Figura 1. Análise Fatorial Exploratória de corvinas capturadas em Santos e Parnaíba em diferentes épocas do ano.

4. Conclusões

A composição da corvina é diferente entre as origens geográficas e épocas do ano. A maior parte das variações são provavelmente relacionada à disponibilidade de alimentos e tipo de habitat. As corvinas de diferentes origens geográficas podem ser diferenciadas pelo teor de lipídeos totais, o teor de cinzas, a proporção de vários ácidos graxos (14:0, 17:0, 21:0, 16:1 n-9 +16:1 n-7, 20:1 n-11, 20:1 n-9, 20:4 n-6, 22:04 n-6, MUFA, n-6 e proporção de n-3/n-6), elemento essencial (K), e isótopos de carbono ou nitrogênio. No que diz respeito à época do ano, sua diferenciação pode ser alcançada através de vários ácidos graxos (14:0, 15:0, 21:00, 16:1 n-9 +16:1 n-7, 16:2 n-4 fit, 16:3 n-3 e SFA), elementos como Cl, Ca, Fe, Sr e S, e o isótopo ^{15}N .

As análises de ácidos graxos, minerais e de isótopos estáveis, combinadas com a análise estatística multivariada é um método eficaz promissor para a autenticação e rastreabilidade de peixes.

Estudos futuros poderiam investigar o uso de outras ferramentas como por exemplo, os isótopos estáveis de oxigênio e hidrogênio.

5. Referências

- Alasalvar, C., Taylora, K.D.A., Zubcov, E., Shahidi, F. Alexis M. (2002). Differentiation of cultured and wild sea bass (*Dicentrarchus labrax*): total lipid content, fatty acid and trace mineral composition. *Food Chemistry*, 79, 145–150.
- AOAC (2005). Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists International, (18th ed). AOAC, Gaithersburg, MD, p. 473.
- Arts, M. T., Ackman, R. G., & Holub, B. J. (2001). “Essential fatty acids” in aquatic ecosystems: a crucial link between diet and human health and evolution. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 58, 122–137.
- Bandarra, N.M., Batista, I., Nunes, M.L., Empis, J.M., Christie W.W. (1997). Seasonal Changes in Lipid Composition of Sardine (*Sardina pilchardus*). *Journal of Food Science*, V. 62(1), 40-43.
- Budge, M.S., Iverson, J.S., Bowen, D.W., Ackman, G. (2002). Among and within-species variability in fatty acid signatures of marine fish and invertebrates on the Scotian Shelf, George Bank, and southern Gulf of St. Lawrence. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 59, 886–898.
- Busetto, M.L. Moretti, V.M., Moreno-Rojas, J.M., Caprino, F., Giani, I., Malandra, G., Bellagamba, F., Guillou, C. (2008). Authentication of farmed and wild turbot (*Psetta maxima*) by fatty acid and isotopic analyses combined with chemometrics. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56, 2742-2750.
- Calderone G, Serra F, Lees M, Mosand A, Reniero F, Guillou C, Moreno-Rojas JM (2009) Inter-laboratory comparison of elemental analysis and gas chromatography/ combustion/isotope ratio mass spectrometry. II. 15N measurements of selected compounds for the development of an isotopic Grob test. Rapid Communication. *Journal of Mass Spectrometry*, 23:963–970.
- Carrera, M., Cañas, B., Gallardo, J.M. (2012). Proteomics for the assessment of quality and safety of fishery products. *Food Research International*, in press.
- Carvalho, M.L., Pereira, R.A., Brito, J. (2002). Heavy metal in soft tissues *Tursiops truncatus* and *Delphinus delphis* from West Atlantic Ocean by X-ray spectrometry. *Science of the Total Environment*, 292, 247–254

- Carvalho, M. L., Santiago, S., Nunes, M. L. (2005). Assessment of the essential element and heavy metal content of edible fish muscle. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 382, 426–432.
- Çelik, M., Diler, A., Kuçukgulmez, A. (2005). A comparison of the proximate compositions and fatty acid profiles of zander (*Sander lucioperca*) from two different regions and climatic conditions. *Food Chemistry*, 92, 637–641.
- Civera, T. (2003). Species identification and safety of fish products. *Veterinary Research Communications*, 27, 481–489.
- Cohen, Z., Vonshak, A., Richmond, A. (1988). Effect of environmental conditions on fatty acid composition of the red algae *Porphyridium cruentum*: correlation to growth rate. *Journal of Phycology*, 24, 328–332.
- Corbisier, T.N., Soares, L.S.H., Petti, M.A.V, Muto, E.Y., Silva, M.H.C., McClell, J. Valiela, I. (2006). Use of isotopic signatures to assess the food web in a tropical shallow marine ecosystem of Southeastern Brazil. *Aquatic Ecology* 40:381–390.
- Cordella, C.B.Y., Faucon, J.P., Cabrol-Bass, D., Sbirrazzuoli, N. (2003) Application of Differential Scanning Calorimetry as a Tool for Honey Floral Species Characterization and Adulteration Detection. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, 71, 279-290.
- Custódio, P., Carvalho, M.L., Nunes F. (2003). Trace elements determination by energy dispersive X-ray fluorescence (EDXRF) in human placenta and membrane: A comparative study. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 375, 1101–1106.
- De Niro, J. M.; Epstein, S. (1978). Influence of diet on the distribution of carbon isotopes in animals. *Geochem. Cosmochem. Acta*, 42, 495–506.
- Franke, B., Koslitz, S., Micaux, F., Maury, V., Pfammatter, E., Wunderli, S., Gremaud, G., Bosset, J.-O., Hadorn, R., Kreuzer, M. (2007). Tracing the geographic origin of poultry meat and dried beef with oxygen and strontium isotope ratios. *European Food Resource Technology*, 266, 761-769.
- Garcia, A.M. Hoeninghaus, D.J., Vieira, J.P., Winemiller, K.O. (2007). Isotopic variation of fishes in freshwater and estuarine zones of a large subtropical coastal lagoon. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 73, 399-408.
- Gonzalez, A., Armenta, S., de la Guardia, M.. (2009). Trace-element composition and stable-isotope ratio for discrimination of foods with Protected Designation of Origin. *Trends in Analytical Chemistry*, 28 (11), 1295-1311.

- Heaton, K., Kelly, S. D., Hoogewerff, J., & Woolfe, M. (2008). Verifying the geographical origin of beef: The application of multi-element isotope and trace element analysis. *Food Chemistry*, 107, 506–515.
- Hecky, R.E., Hesslein, R.H., 1995. Contributions of benthic algae to lake food webs as revealed by stable isotope analysis. *Journal of the North American Benthological Society*, 14, 631–653.
- Herrero, A.M. (2008). Raman spectroscopy a promising technique for quality assessment of meat and fish: A review. *Food Chemistry*, 107, 1642–1651.
- Joensen, H., Steingrund, P., Fjallstein, I. Grahl-Nielsen, O. (2000). Discrimination between two reared stocks of cod (*Gadus morhua*) from the Faroe Islands by chemometry of the fatty acid composition in the heart tissue. *Marine Biology*, 136, 573-580.
- Jorhem, L. (2000). Determination of metals in foods by atomic absorption spectrometry after dry ashing: NMKL collaborative study. *Journal of AOAC International*, 83, 1204–1211.
- Khan, A.H., Ali, M., Biaswas, S.K., Hadi, D.A. (1987). Trace elements in marine fish from the Bay of Bengal. *Science Total Environment*, 61, 121–130.
- Krzymowek, J. (1985). Sterols and fatty acids in seafood. *Food Technology*, 39, 61–68.
- Luzia, L. A., Sampaio, G. R., Castellucci, C. M. N., & Toreres, E. A. F. S. (2003). The influence of season on the lipid profiles of five commercially important species of Brazilian fish. *Food Chemistry*, 83, 93–97.
- Martin, G. J., & Martin, M. L. (1995). Stable isotope analysis of food and beverages by nuclear magnetic resonance. In G. A. Webb (Ed.), Annual reports on NMR spectroscopy (Vol. 31, pp. 81–104). London: Academic press.
- Mazzeo, M.F., Giulio, B., Guerriero, G., Ciarcia, G., Malorni, A. Russo, G.L., Siciliano, R.A. (2008). Fish Authentication by MALDI-TOF Mass Spectrometry. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56, 11071–11076.
- Molkentin, J., Meisel, H., Lehmann, I., Rehbein, H. (2007). Identification of organically farmed Atlantic salmon by analysis of stable isotopes and fatty acids. *European Food Research and Technology*, 224, 535–543.
- Moran, P., Garcia-Vazquez, E. (2006). Identification of highly prized commercial fish using a PCR-based methodology. *Biochemistry and Molecular Biology Education*, 34(2), 121–124.

- Norrobin, M. F., Olsen, R. E., & Tande, K. S. (1990). Seasonal variation in lipid class and fatty acid composition of two small copepods in Balsfjorden, northern Norway. *Marine Biology*, 105, 205–211.
- Orban, E., Nevigato, T., Di Lena, G., Casini, I. & Marzetti, A. (2003). Differentiation in the lipid quality of wild and farmed seabass (*Dicentrarchus labrax*) and Gilthead sea bream (*Sparus aurata*). *Journal Food Science*, 68, 128-132.
- Piasentier, E., Valusso, R., Camin, F., Versini, G. (2003). Stable isotope ratio analysis for authentication of lamb meat. *Meat Science*, 64, 239–247.
- Rasoarahona, J.R.E., Barnathan, G., Bianchini, J.P., Gaydou, E.M. (2005). Influence of season on the lipid content and fatty acid profiles of three tilapia species (*Oreochromis niloticus*, *O. macrochir* and *Tilapia rendalli*) from Madagascar. *Food Chemistry*, 91, 683–694.
- Schwagele, F. (2005). Traceability from a European perspective. *Meat Science*, 71, 164–173.
- Stamatis, N., & Arkoudelos, J. (2007). Quality assessment of *Scomber colias japonicus* under modified atmosphere and vacuum packaging. *Food Control*, 18, 292–300.
- Soares L.S.H., Muto E.Y., Gasparro M.R. and Rossi- Wongtschowski C.L.D.B.2006. Organização Trófica dos Peixes. In: Pires-Vanin A.M.S. (ed.), *Oceanografia de um Ecosistema Tropical: Plataforma Interna de São Sebastião*. EDUSP, São Paulo.
- Thomas, F.; Jasmin, E.; Lees, M. (2005). Isotopic analysis of lipids as a mean of authenticating fish products. *Lipid Technology*, 17, 9, 204-208.
- Thomas, F., Jamin, E., Wietzerbin, K., Guérin, R., Lees, M., Morvan, E., Billault, I., Derrien, S., Moreno Rojas, J.M., Serra, F., Guillou, C., Aursand, M., Mcevoy, L., Prael, A., Robins, R.J. (2008). Determination of Origin of Atlantic Salmon (*Salmo salar*): The Use of Multiprobe and Multielement Isotopic Analyses in Combination with Fatty Acid Composition To Assess Wild or Farmed Origin. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56, 989–997.
- Vander Zanden, M.J., Rasmussen, J.B. (2001). Variation in $\delta^{15}\text{N}$ and $\delta^{13}\text{C}$ trophic fractionation: implications for aquatic food web studies. *Limnology and Oceanography*, 46, 2061–2066.
- Vinci, G., Preti, R., Tieri, T., Vieri, S. (2012). Authenticity and quality of animal origin food investigated by stable-isotope ratio analysis. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 93 (3), 439-448.

Vizzini, S., & Mazzola, A. (2003). Seasonal variations in the stable carbon and nitrogen isotope ratios ($^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ and $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$) of primary producers and consumers in a western Mediterranean coastal lagoon. *Marine Biology*, 142, 1009–1018.

WHO, 1996, Trace Elements in Human Nutrition and Health (Geneva: World Health Organisation).

Considerações finais

Os métodos utilizados são capazes de diferenciar peixes selvagens de cultivados, diferentes espécies, sazonalidade e origem geográfica, com destaque para os ácidos graxos e os isótopos estáveis de carbono e nitrogênio que foram as ferramentas mais adequadas para estes tipos de diferenciação. Assim como em outros trabalhos citados podemos atribuir essas diferenças principalmente aos componentes da dieta.

As técnicas são eficientes e podem ser utilizadas como ferramentas para evitar fraudes, enganos e proporcionar aos consumidores um maior número de informações sobre o produto a ser consumido. Este trabalho é uma ferramenta que pode ajudar os órgãos de controle e fiscalização a fazer a melhor escolha da técnica de acordo com seus objetivos, pois ainda não existem métodos oficiais para a diferenciação de pescado. Atualmente, existem apenas métodos indiretos que muitas vezes são acoplados a outros para aumentar a sua precisão.

A utilização dessas técnicas em conjunto com outras, como por exemplo, os isótopos estáveis de oxigênio e hidrogênio talvez possam permitir uma melhor caracterização da origem do pescado.