

DETERMINAÇÃO DE ELEMENTOS ESSENCIAIS EM ALGAS MARINHAS COMESTÍVEIS POR ANÁLISE POR ATIVAÇÃO NEUTRÔNICA

Cassio Bessa Lima Alves e Vera Akiko Maihara

Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares (IPEN- CNEN/SP)
Laboratório de Análise por Ativação Neutrônica
Av. Professor Lineu Prestes 2242
05508-000 São Paulo, SP, Brasil
cassio_men@hotmail.com
vmaihara@ipen.br

RESUMO

Algas marinhas comestíveis estão ganhando amplo comércio mundial, não apenas devido ao sabor, mas também à qualidade nutricional que elas apresentam. São ricas em proteínas, fibras, vitaminas e são excelentes fontes de elementos essenciais devido à sua capacidade de absorver substâncias estocando-as em seus organismos. Sua composição química varia de acordo com a espécie, habitat, maturidade e condições ambientais as quais estão submetidas. O método de Análise por Ativação com Nêutrons foi utilizado para determinação dos elementos essenciais Cl, K, Mg, Mn e Na presentes em algas marinhas comestíveis de diferentes países, que são comercializadas na cidade de São Paulo. Foram analisadas um total de 6 amostras de algas marinhas comestíveis, sendo 4 da espécie Nori (*Porphyra umbilicates*) provenientes da China, Coréia, Japão e USA; 1 da espécie Hijiki (*Hijikia fusiforme*) do Japão; e 1 da espécie Kombu (*Laminaria sp.*) da Coréia do Sul. Para validação da metodologia foi usado o material de referência NIST SRM 1577b Bovine Liver. As concentrações variam de 5265-11775 µg/g para o Cl; de 14413-90261 µg/g para K; de 3007-7091 µg/g para Mg; de 2,3-33,8 µg/g para Mn e de 5161-24973 µg/g para Na.

1- INTRODUÇÃO

A cultura japonesa vem se destacando cada vez mais na realidade de todo o mundo, e no Brasil não é diferente devido à grande influência dos ancestrais japoneses que migraram para o país no início do século XX, trazendo consigo um pouco do Oriente, principalmente para a gastronomia, que consequentemente proporcionou um aumento considerável de restaurantes japoneses por todo Brasil. Na culinária japonesa, é perceptível a presença de algas marinhas como componentes de muitos dos pratos oferecidos.

Algas Marinhas são organismos autótrofos e fotossintetizantes que diferem das plantas por não formarem tecidos nem órgãos ordenados, podendo ser unicelular ou pluricelular [1].

As algas marinhas são fontes de oxigênio devido à fotossíntese que promovem [1]. É também a base da cadeia alimentar de muitos sistemas, servindo como alimento para o zooplâncton, que são microorganismos heterótrofos presentes no plâncton, sendo esses, base da alimentação para animais maiores. Assim, essas algas possuem papel fundamental na manutenção da vida no planeta.

Espécies específicas de algas marinhas vêm sendo usadas como alimento durante anos. São largamente consumidas na Ásia, Europa e América, tendo suas composições químicas apresentadas de acordo com a espécie, habitat, maturidade e condições ambientais nas quais estão submetidas [2]. São excelentes fontes de minerais devido à capacidade destas em absorver

substâncias inorgânicas do ambiente e armazená-las em seus organismos, sendo usadas assim como indicadores biológicos por pesquisadores em muitas regiões do planeta [3-4].

Nos últimos anos, as algas vêm ganhando mercado por causa da grande característica de ingrediente funcional para formulação de comidas saudáveis, ajudando na alimentação de veganos para melhorar a nutrição destes, devido à falta de proteína de sua alimentação. A produção de carnes contendo algas marinhas abre novas perspectivas para o uso destas algas, incluindo até a possibilidade de superar problemas tecnológicos associados a produtos com baixo sal [3].

Na área científica existe concordância com o fato das algas marinhas serem eficazes para uso medicinal, sendo que estas são usadas na cultura milenar para a cura e prevenção de doenças por muitos países, como China, Coréia e Japão. Pesquisas vêm sendo realizadas para analisar a eficácia dessas algas no tratamento alternativo de várias doenças, como doenças cardiovasculares, devido às suas propriedades anti-oxidantes [5-6]. Já se sabe que as algas marinhas apresentam vitaminas e em particular, apresentam altas concentrações de ácidos graxos de longas cadeias poli-insaturadas de ômega-3, que reduzem o risco de aterosclerose, doenças inflamatórias e no coração [7].

As algas também ganham importância em estudos sob o ponto de vista toxicológico, uma vez que contém elementos que apresentam alta toxicidade, como As e Hg [3,5].

Das algas marinhas comestíveis comercializadas na cidade de São Paulo, foram analisadas: Hijiki, que é uma alga escura e comprida, com sabor muito forte, apresentando grande quantidade de cálcio e ferro [8]; a alga Kombu, também escura, é larga e espessa, e também é excelente para fazer caldos de legumes e sopas, bastante ricas em cálcio e magnésio [9]; e a Nori, que apresenta cor entre o verde vivo e o roxo e de folhas finas, é utilizada como invólucro do sushi e é particularmente rica em ferro, potássio, iodo e proteínas, contendo também cálcio [3].

Neste trabalho, o método de Análise por Ativação com Nêutrons (INAA) foi utilizado para determinar os elementos essenciais Cl, K, Mg, Mn e Na em diversas espécies de algas marinhas comestíveis. Este método tem importância na área da pesquisa dos alimentos, fornecendo resultados confiáveis para um determinado número de elementos que apresentam grande importância nutricional [10].

2. OBJETIVO

O objetivo principal do estudo é a determinação de elementos essenciais Cl, K, Mg, Mn e Na presentes em diversas amostras de alga marinha comercializadas na cidade de São Paulo, para verificar se há diferenças entre as espécies e sua origem para posterior comparação com outros estudos.

3. PARTE EXPERIMENTAL

3.1– Coleta e preparação das amostras de algas marinhas para análise:

Foram adquiridas seis amostras de espécies distintas de algas marinhas comercializadas na cidade de São Paulo, provenientes de diferentes países. As amostras foram trituradas e homogeneizadas,

utilizando um liquidificador doméstico, adaptado com lâmina de titânio, até que adquirissem uma consistência de pó. A Tabela 1 mostra as diferentes espécies de alga marinha e suas procedências.

Tabela 1: Identificação das algas e suas respectivas procedências

Código da amostra	Espécie de alga marinha	Procedência
AG-1	Nori	China
AG-2	Nori	Coréia
AG-3	Nori	Japão
AG-4	Nori	U.S.A.
AG-5	Hijiki	Japão
AG-6	Kombu	Coréia do Sul

3.2– Analise por ativação com nêutrons instrumental (INAA):

O método da análise por ativação instrumental consiste na excitação dos átomos perante irradiação nuclear, transformando-os em radioisótopos que irão se de-excitar emitindo um raio γ característico do elemento. Neste estudo foram analisados os espectros de raio gama para os elementos Cl, K, Mg, Mn e Na.

3.3.1– Preparação dos padrões dos elementos a serem determinados:

Soluções certificadas dos elementos de interesse foram pipetadas em papel de filtro com pipetas volumétricas calibradas, secos em luz de infravermelho e armazenados em invólucros de polietileno previamente limpos com Extran, solução de ácido nítrico e água Milli-Q. As massas dos elementos pipetados estão apresentadas na Tabela 2.

Tabela2: Elementos pipetados e suas respectivas massas

Elementos	Massa (μg)
Cloro	246,6
Magnésio	995,39
Potássio	994,2
Manganês	4,976
Sódio	994,2

3.3.2– Preparação das amostras de algas marinhas e do material de referência para irradiação:

Foram pesadas aproximadamente 100 mg das amostras de algas marinhas e do material de referência NIST 1557^b Bovine Liver em pequenos invólucros de polietileno, previamente limpos com Extran, solução de ácido nítrico e água Milli-Q. Após a pesagem, os invólucros foram selados e envolvidos por outro invólucro de polietileno para maior proteção e preservação do material interno.

3.4– Irradiação das amostras e padrões:

O procedimento de INAA consistiu em irradiações de curta duração, onde as amostras, materiais de referência e padrões sintéticos foram irradiados simultaneamente no sistema pneumático por 20 segundos sob um fluxo de nêutrons térmicos de $6,6 \times 10^{12} \text{ cm}^{-2} \text{ s}^{-1}$ no reator de pesquisa nuclear IEA-R1 do IPEN-CNEN/SP.

3.5– Equipamento de contagem:

Após a irradiação, os espectros de raios gama foram obtidos após dois períodos de decaimento: imediatamente após a irradiação, onde as amostras e os padrões foram analisados por 300 segundos para a determinação dos radioisótopos ^{38}Cl e ^{27}Mg . Após 1,5h à irradiação, as amostras e padrões foram analisados por 1 hora cada para a determinação dos ^{42}K , ^{56}Mn e ^{24}Na . Os espectros gama foram obtidos em um sistema de contagem composto por detector de alta resolução HPGe da EG & G Ortec, modelo com eficiência 20% e resolução de 1.90keV para o pico de 1333keV do ^{60}Co e eletrônica associada.

4. RESULTADOS E DISCUSSÕES

4.1-Resultados dos Materiais de referência:

Para o controle da qualidade dos resultados o material de referência NIST SRM 1577b Bovine Liver foi analisado.

A Tabela 3 apresenta os resultados do material de referência Bovine Liver -NIST SRM 1557^b para os elementos determinados nas irradiações curtas.

Tabela 3: Resultados da concentração obtida para comparação com o valor certificado do material de referência SRM 1557^b Bovine Liver

Elementos	Média \pm DP ^a ($\mu\text{g/g}$)	Valor certificado ($\mu\text{g/g}$)	DPrel %	Erro Relativo%
Cl	2618 \pm 106	2780 \pm 60	4,1	5,8
K	9707 \pm 297	9940 \pm 20	3,1	2,3
Mg	442 \pm 95	601 \pm 28	22	26
Mn	11 \pm 2	10,5 \pm 1,7	18	4,8
Na	2369 \pm 162	2420 \pm 60	6,8	2,1

^a Média e desvio padrão de quatro determinações individuais

Os resultados do desvio padrão relativo mostrou que este estudo forneceu boa precisão para os elementos Cl, K, e Na, com valores de DP relativos menores que 7%, enquanto que para Mg e Mn os valores apresentados foram em torno de 20%. No entanto, os valores de erro relativo foram menores que 6%, exceto para o Mg.

4.2-Resultados das Análises das Algas Marinhas Comestíveis

Os resultados das concentrações dos elementos essenciais determinados nas amostras de algas marinhas encontram-se na Tabela 4.

Tabela 4: Valores de concentrações dos elementos essenciais nas algas marinhas:

Amostras	(Média ± Desvio padrão) ^a µg/g				
	Cl	K	Mg	Mn	Na
AG1	7121 ± 831	14413 ± 1593	3813 ± 200	27,5 ± 1,4	8537 ± 701
AG2	5265 ± 612	16654 ± 1952	3413 ± 184	33,8 ± 4,3	7034 ± 951
AG3	11775 ± 1343	27661 ± 1093	3007 ± 144	13,41 ± 0,47	5161 ± 357
AG4	8846 ± 414	19243 ± 1799	3749 ± 386	32,8 ± 2,4	7720 ± 275
AG5	8538 ± 840	35445 ± 1648	7091 ± 686	20,53 ± 0,33	10119 ± 369
AG6	75815 ± 11745	90261 ± 9324	3643 ± 518	2,30 ± 0,33	24973 ± 2220

a: Média e desvio padrão de quatro determinações individuais

De acordo com Dawczynski et al [3] (2007), as concentrações dos elementos diferem nas algas marinhas conforme os ambientes aquáticos em que elas se desenvolvem. Os resultados obtidos no presente estudo mostram esse comportamento, pois estas apresentaram concentrações variáveis para uma mesma espécie, porém de procedência de diferentes regiões.

Pode-se notar que a concentração do Cl variou de 5265-11775 µg/g referentes à espécie Nori de origens coreana e japonesa, respectivamente. As concentrações de Cl nas espécies Hijiki e Kombu ficaram dentro deste intervalo.

Já a concentração do K variou, para a espécie Nori, de 14413-27661 µg/g referentes à China e Japão, respectivamente. A concentração deste elemento obtida para a espécie Kombu foi elevada, apresentando valor de 90261 µg/g para este elemento. No entanto, houve certa discrepância com o estudo de Rupérez et al [11], que obteve 35000 µg/g para a espécie Nori. Já Dawczynski et al [3] obteve valores entre 27200-29000 µg/g para a espécie Nori.

Para o elemento Mg, a variação da concentração foi de 3007-3813 µg/g referentes as algas Nori japonesa e chinesa. A espécie Kombu apresentou uma concentração próxima às da Nori. Já a Hijiki obteve grande diferença, apresentando 7091 µg/g de Mg. Rupérez et al [11] obteve concentração de 5650 µg/g referentes a espécie Nori, mas este estudo obteve valores muito próximo ao estudo de Dawczynski et al [3], que obteve concentração 3500 µg/g para este elemento para a espécie Nori.

A alga Kombu proveniente da Coréia do Sul apresentou a menor concentração de Mn. As algas da espécie Nori apresentaram extremos de 13,41 µg/g do Japão e 33,80 µg/g da Coréia. Já a Hijiki apresentou concentrações de 20,53 µg/g. Dawczynski et al [3] obteve concentrações variação de 31,2 µg/g a 54,6 µg/g para a espécie Nori.

A presença do Na é acentuada para a alga Kombu que obteve uma média de 24973 µg/g, apresentando assim as maiores concentrações, seguida da espécie Hijiki com 10119 µg/g. Já as concentrações de Na nas algas da espécie Nori, se encontraram em um intervalo de 5161 µg/g e 8537 µg/g japonesa e chinesa, respectivamente. As concentrações obtidas foram inferiores em relação ao obtido por Rupérez et al [11] de 36270 µg/g determinadas para a espécie Nori. A concentração obtida por Dawczynski et al [3] de 5870-7060 µg/g foi próxima a obtida por

este estudo.

De acordo com Dawczynski et al [3], o consumo de alimentos com relação Na/K elevada causa alta pressão sanguínea. Em alimentos como carne e salsicha a relação Na/K é de 2,9 e 7,5, respectivamente. No presente estudo, a relação Na/K variou de 0,19 para a alga Nori japonesa a 0,59 para a Nori chinesa. Para as espécies Hijiki e Kombu, a relação foi de 0,29 e 0,28, respectivamente. Esses resultados indicam que as algas marinhas, apesar de algumas apresentarem altos teores de Na, podem não representar riscos à saúde humana.

5. CONCLUSÃO

A análise do MRC Bovine Liver indicou boa precisão e exatidão dos resultados, demonstrando a viabilidade da aplicação do procedimento da INAA na análise dos elementos essenciais Cl, K, Mg, Mn e Na nas amostras de algas marinhas comestíveis. Com os resultados obtidos, observou-se que as algas marinhas apresentam as concentrações dos elementos variáveis de acordo com a região de origem, justificada pela diferença de habitat e condições ambientais nas quais são submetidas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Vidotti, E. C., Rollemberg, M. C. E., “Algas: da Economia nos Ambientes Aquáticos à Bioremediação e à Química Analítica” *Quim. Nova*, **27**, pp. 139-145 (2004).
2. Kuda. T., Tsunekawa. M., Goto. H., Araki. Y., “Antioxidant Properties of Four Edible Algae Harvested in the Noto Peninsula” *Journal of Food Composition and Analysis*, **18**, pp. 625-633 (2005).
3. Dawczynski, C., Schäfer, U., Leiterer, M. and Jahreis, G., “Nutritional and Toxicological Importance of Macro, Trace, and Ultra-Trace Elements in Algae Food Products” *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **55**, pp.10470-10475 (2007).
4. Rocha, S. R., Sanchez-Muniz, F.J.Gómez-Juaristi, Marín, M.T. L., “Trace elements determination in edible seaweeds by an optimized and validated ICP-MS method”, *Journal of Food Composition and Analysis*, **22**, pp. 330–336 (2009).
5. Ku, C.K., Yang, Y., Park, Y., Lee, J., “Health Benefits of Blue-Green Algae: Prevention of Cardiovascular Disease and Nonalcoholic Fatty Liver Disease” *Jornal of Medicinal Food*, **16**, pp. 103-111 (2013).
6. Shalaby, E., “Algae as promising organisms for environment and health” *Plant Signaling & Behavior*, **6**, pp. 1338-1350 (2011)
7. S.Cofrades, I. López-López, L. Bravo, C. Ruiz-Capillas, S. Bastida, M.T. Larrea and F. Juménez-Colmenero, “Nutritional and Antioxidant Properties of Different Brown and Red Spanish Edible Seaweeds” *Food Sci Tech Int*, **16**, pp. 361-370 (2010).
8. Nakamura. Y., Nakamura. T., Yoshinaga. J., “Cancer Risk to Japanese Population from the Consumption of Inorganic Arsenic in Cooked Hijiki” *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **56**, pp. 2536-2540 (2008).
9. Kolb. N., Vallorani. L., Milanovic. N., Stocchi. V., “Evaluations of Marine Algae Wakame (*Undaria pinnatifida*) and Kombu (*Laminaria digitata japonica*) as Food Supplements” *Food Technol. Biotechnol.*, **42**, pp.57-61 (2004).
10. Avegliano, R.P, Maihara, V.A.,Silva,F.F. A., “Brazilian Total Diet Study: Evaluation of essential elements” *Journal of Food Composition and Analysis*, **24**, pp.1000-1016 (2011).
11. Rupérez, P., “Mineral content of edible marine seaweeds”, *Food Chemistry*, **79**, pp. 23-26 (2002).