



## A RMN como ferramenta analítica na caracterização do perfil químico do pirarucu e diferenciação de seus produtos fresco e curado

Flávio Ricardo Mendonça de Moura<sup>1</sup> (IC)\*, Jaqueline de Araújo Bezerra<sup>2</sup> (PQ), Marcos Batista Machado<sup>3</sup> (PQ,) Alan Diego da Conceição Santos<sup>4</sup> (PQ)

\*flavio.ufam.edu@gmail.com

**Palavras Chave:** *Arapaima gigas*, salga, RMN.

### Introdução

O pirarucu (*Arapaima gigas* Schi.) é uma espécie de peixe encontrada na bacia amazônica. Sua carne pode ser facilmente encontrado na forma fresca ou curada (salgado-seca) em feiras livres de Manaus/AM. O produto curado é obtido através da técnica de salga e posterior secagem, que é considerado uma técnica semipreservativa de alimentos proporcionando o aumento da durabilidade do produto. Apesar de eficiente, o processo de salga do pirarucu ainda não é devidamente padronizado, o que impacta diretamente na qualidade final do produto. Mesmo bastante apreciado e, portanto, ter um potencial econômico promissor, o pirarucu é pouco estudado do ponto de vista químico, nutricional e carece de estudos que abram a discussão sobre o controle de qualidade<sup>1</sup>. A Ressonância Magnética Nuclear de alto campo tem sido utilizada para monitorar os efeitos das diferentes técnicas de salga em peixes e pode ser uma ferramenta que auxilie na melhora do processo de salga. Neste trabalho, objetivou-se investigar a viabilidade da RMN em diferenciar o perfil químico do pirarucu fresco e salgado através da análise de microextratos adquiridos diretamente em solvente deuterado e identificar os compostos que podem servir como sonda para discutir o processo de salga e a qualidade dessas matrizes. Além disso, foi necessário investigar quais solventes melhor se adequam à proposta do trabalho. Alguns trabalhos na literatura<sup>2,3,4</sup> já demonstram uso de solventes comuns em extrações como D<sub>2</sub>O e MeOD, bem como CDCl<sub>3</sub>. Duas sequências de pulso foram empregadas nessas análises (ZGPR e NOESYPR1D).

### Material e Métodos

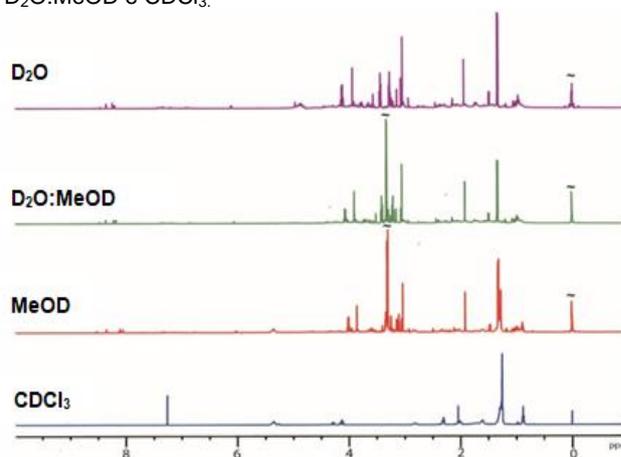
As amostras de pirarucu fresco e de pirarucu curado foram adquiridas na Feira do Peixe e Feira do Parque 10 de Novembro, respectivamente. Foram estudadas as técnicas de extração que melhor se adequam às propostas do trabalho através da consulta à literatura. As amostras foram homogeneizadas e alíquotas 50 mg foram selecionadas em triplicata. Microextração direta foi utilizando 550 µL de solvente deuterado. A primeira extração foi com CDCl<sub>3</sub>. As segundas extrações foram feitas com MeOD, D<sub>2</sub>O e uma mistura de 1:1 (v/v) de D<sub>2</sub>O:MeOD. Em cada processo de microextração direta, a amostra foi agitada em banho ultrassônico (30 min). Após esse processo, o solvente com os extratos foi retirado utilizando algodão como filtro e transferido para tubo de RMN. Para realização dos experimentos de RMN, foram avaliadas duas sequências de pulso: ZGPR e NOESYPR1D. Para a caracterização química, foram

observados os espectros de <sup>1</sup>H-RMN obtidos nos solventes já mencionados, bem como espectros RMN 2D de correlação homonuclear (COSY) e heteronuclear (HSQC e HMBBC) utilizando o software Bruker TopSpin versão 4.1.0, consultando estudos publicados<sup>5,6</sup> e base de dados de RMN para atribuição dos sinais

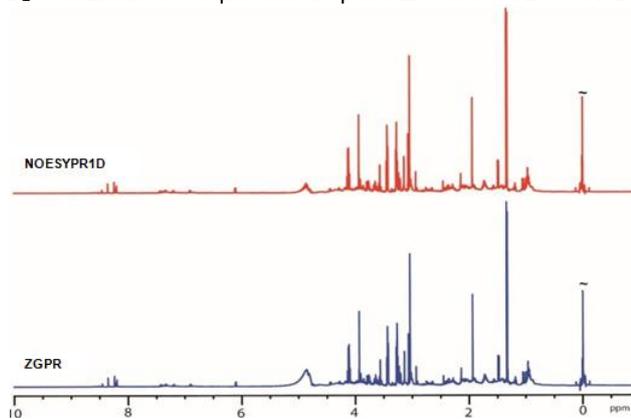
### Resultados e Discussão

A partir da leitura de trabalhos publicados na literatura, foi possível observar os solventes mais utilizados em se tratando de matriz animal. Com base na literatura, a técnica de microextração direta com solvente deuterado vem sendo empregada com menos frequência. Foram adquiridos os espectros com os solventes anteriormente citados e através da análise visual comparativa (Figura 1), foi possível determinar que a água deuterada pode ser utilizada como solvente extrator da porção polar sem perda significativa de informação química da amostra. A comparação entre as sequências de pulso pode ser visualizada na Figura 2. É possível observar que ambas fornecem informações semelhantes, dessa forma, é conveniente dizer que a sequência de pulso ZGPR (de menor complexidade) pode ser utilizada para obtenção dos futuros espectros em detrimento do uso da sequência de pulso mais complexa NOESYPR1D. Foi possível ainda determinar as diferenças entre os perfis químicos do pirarucu salgado-seco e do pirarucu fresco (Figura 3) principalmente quando o aspecto quantitativo é levado em consideração.

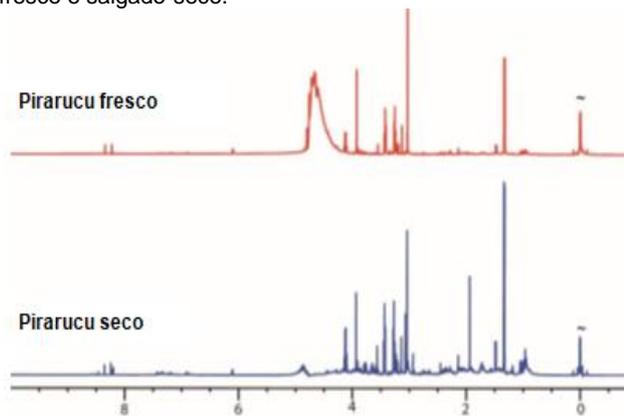
**Figura 1.** Comparação dos espectros de <sup>1</sup>H dos extraídos do pirarucu utilizando os solventes MeOD, D<sub>2</sub>O, 1:1 (v/v) de D<sub>2</sub>O:MeOD e CDCl<sub>3</sub>.



**Figura 2.** Espectro de  $^1\text{H}$  do extrato do pirarucu seco em  $\text{D}_2\text{O}$  utilizando as sequências de pulso ZGPR e NOESYPR1D

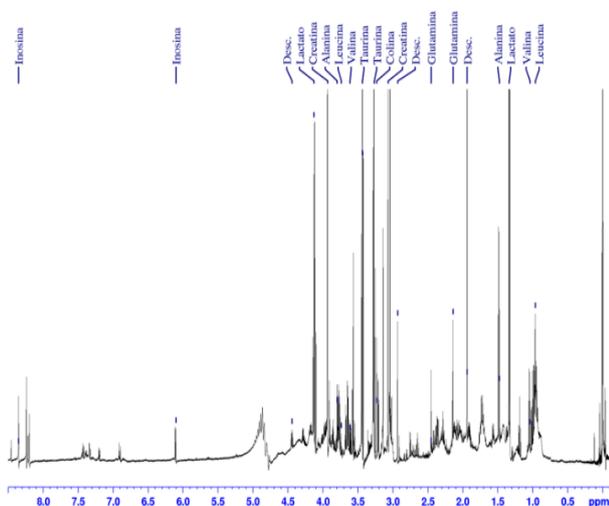


**Figura 3.** Comparação dos espectros de  $^1\text{H}$  de pirarucu fresco e salgado-seco.

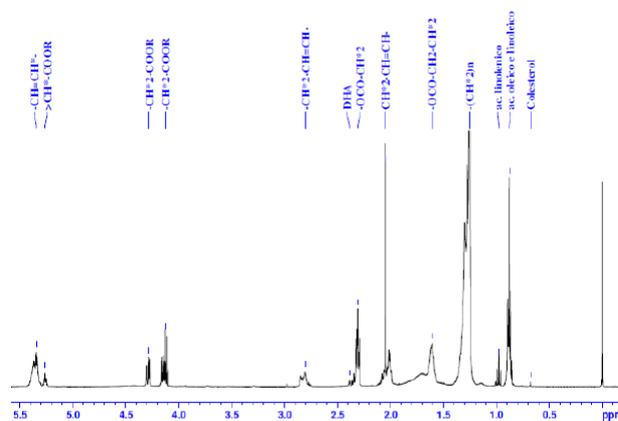


Através da atribuição de sinais, foi possível identificar nove (9) substâncias no extrato polar aquoso (Figura 4): ácido láctico, alanina, colina, taurina, glutamina, inosina, valina, leucina e creatina, além de dois (2) sinais intensos e desconhecidos. No extrato lipídico (Figura 5) foi possível identificar cinco (5) compostos: colesterol, ácidos oleico, linoleico, linolênico e docosaenoico. Ao total, quatorze (14) substâncias foram identificadas. Importante destacar que dentre as substâncias identificadas, a creatina, taurina, os ácidos graxos oleico, linoleico, linolênico e docosaenoico são frequentemente reportados como benéficos à saúde humana, em especial os ácidos graxos no combate a inflamações e a doenças do coração.

**Figura 4.** Perfil químico do pirarucu obtido por microextração direta com  $\text{D}_2\text{O}$ .



**Figura 5.** Perfil químico do pirarucu obtido por microextração direta por  $\text{CDCl}_3$ .



## Conclusões

Foi possível elaborar um método de extração simples, rápido e reprodutível, capaz de fornecer informações relevantes para inferir as principais mudanças nos perfis químicos do pirarucu fresco e salgado-seco. O trabalho apresenta, pela primeira vez, o perfil químico de RMN de  $^1\text{H}$  do pirarucu baseado na atribuição de 14 compostos, alguns deles com valor nutricional, e poderão ser associados à qualidade do produto com o decorrer do estudo. Os próximos passos consistem na avaliação de amostras comerciais e produzidas em laboratório para avaliar qualitativa e quantitativamente as transformações químicas através de técnicas quimiométricas. Será necessário avaliar a robustez do método e, se necessário, realizar ajustes. Com este trabalho, espera-se fornecer uma nova perspectiva em relação ao consumo de pirarucu tanto na região Norte quanto no restante do Brasil, incentivando a busca por um produto de qualidade em sabor e em valor nutricional, bem como contribuindo para o desenvolvimento sustentável da Amazônia.

## Agradecimentos

CNPQ, FINEP, CAPES e FAPEAM

<sup>1</sup> OLIVEIRA, P. R. Qualidade do Pirarucu (*Arapaima gigas*, Schinz 1822) procedente de piscicultura, estocado em gelo, congelado e de seus produtos derivados. Tese de Doutorado. Instituto Nacional de Pesquisa da Amazônia/ Universidade Federal do Amazonas, 2007.

<sup>2</sup> WU, H.; SOUTHAN, A. D.; HINES, A.; VIANT, M. R. High-throughput tissue extraction protocol for NMR and MS-based metabolomics. *Analytical Biochemistry*, v.372, p.204–212, 2008.v

<sup>3</sup> LIN, C. Y.; WU, H.; TJEERDEMA, R.S.; VIANT, M.R. Evaluation of metabolite extraction strategies from tissue samples using NMR metabolomics. *Metabolomics*, Vol. 3, NO. 1, 2007.

<sup>4</sup> MANNINA, L.; SOBOLEV, A. P.; CAPITANI, D.; IAFFALDANO, N.; ROSATO, M. P.; RAGNI, P.; REALE, A.; SORRENTINO, E.; D'AMICO, I.; COPPOLA, R. NMR metabolic profiling of organic and aqueous sea bass extracts: Implications in the discrimination of wild and cultured sea bass. *Talanta*, v. 77, p. 433-444, 2008.

<sup>5</sup> PICONE, G.; ENGELSEN, S. B.; SAVORANI, F.; TESTI, S.; BADIANI, A.; CAPOZZI, F. Metabolomics as a powerful tool for molecular quality assessment of the fish *Sparus aurata*. *Nutrients*, 3, p. 212-227, 2011.

<sup>6</sup> VIDAL, N. P.; GOICOECHEA, E.; MANZANOS, M. J.; GUILLEN, M. D.  $^1\text{H}$  NMR study of the changes in brine- and dry-salted sea bass lipids under thermo-oxidative conditions: Both salting methods reduce oxidative stability. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.*, 117, n. 4, p. 440-449. 2015