



**Aplicação da Ressonância Magnética Nuclear de Baixo Campo para estudo da mobilidade da água em sardinhas salgadas (*Sardinella brasiliensis*) durante o armazenamento**

CARNEIRO, C. S.<sup>1</sup>; MÁRSICO, E. T.<sup>2</sup>; RIBEIRO, R. O. R.<sup>2</sup>; CONTE JÚNIOR, C. A.<sup>2</sup>; AUGUSTO, C. J. C.<sup>3</sup>; JESUS, E. F. O.<sup>4</sup>; FERREIRA, M. S.<sup>2</sup>; AZEVEDO, P.L.<sup>2</sup>; ALVA, C.V.\*<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Departamento de Produtos Naturais e Alimentos, Universidade Federal do Rio de Janeiro, 21941-590, Rio de Janeiro, Brasil; <sup>2</sup> Departamento de Tecnologia de Alimentos, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal Fluminense, Vital Brasil Filho 64, 24230-340, Niterói, RJ, Brasil; \*e-mail: [camila\\_cva@hotmail.com](mailto:camila_cva@hotmail.com); <sup>3</sup> Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento, Brasil; <sup>4</sup> Laboratório de Instrumentação Nuclear, Universidade Federal do Rio de Janeiro, 68509, 21941-972

**RESUMO**

O objetivo do presente estudo foi avaliar a mobilidade de água no músculo de sardinhas salgadas (*Sardinella brasiliensis*) em diferentes dias de armazenamento por Ressonância Magnética Nuclear de baixo do campo (RMN). O ajuste exponencial da relaxação transversal de dados ( $T_2$ ) revelou três componentes de água:  $T_{2b}$  (11,2-17,5 ms),  $T_{21}$  (35,3-44,7 ms) e  $T_{22}$  (161,7-256,5 ms). Estes resultados referem-se principalmente à degradação das proteínas que ocorrem durante o armazenamento do produto, alterando a dinâmica e organização das moléculas de água. Os resultados sugerem que RMN é uma ferramenta útil para avaliar a qualidade pescado salgado e pode ser um substituto adequado para as medições físico-químicas tradicionais que são demoradas e destrutivas.

**Palavras-chave:** LF<sup>1</sup>H RMN, peixe salgado, armazenamento, tempo de relaxação.

**ABSTRACT**

The present study investigated the water mobility in muscle salted sardines (*Sardinella brasiliensis*) on different days of storage by Low Field Nuclear Magnetic Resonance (LF <sup>1</sup>H NMR). The exponential fitting of the transverse relaxation ( $T_2$ ) data revealed three components:  $T_{2b}$ , with a relaxation time of 11.2 to 17.5 ms,  $T_{21}$ , ranging from 35.3 to 44.7 ms and  $T_{22}$ , with relaxation times in the range of 161.7 to 256.5 ms. These results relate primarily to protein degradation that occurs during storage of the product, altering the dynamics and organization of water molecules. The results suggest that LF <sup>1</sup>H NMR is a useful tool to evaluate fish quality and can



be a good replacement for the time-consuming and sample-destructive traditional physicochemical measurements.

**Keywords:** LF - NMR, salt fish, storage, relaxation time.

## INTRODUÇÃO

O pescado submetido ao processo de salga possui um prazo de validade mais extenso quando comparado ao pescado fresco, embora, também susceptível à deterioração durante o armazenamento. As alterações físico-químicas e enzimáticas de deterioração que ocorrem durante o armazenamento, afetam a estrutura proteica e, desta forma, interferem diretamente na mobilidade da água presente no alimento (interação água-proteína). O conteúdo de água presente no músculo do pescado pode ser separado em grupos diferentes de acordo com a mobilidade e a ligação das moléculas de água com a estrutura muscular (AURSAND et al., 2009). Sendo assim, ressalta-se a importância do desenvolvimento de estudos sobre a distribuição da água na estrutura muscular, quando se deseja obter dados sobre a estabilidade durante armazenamento.

A técnica espectroscopia de prótons ( $^1\text{H}$ ) por Ressonância Magnética Nuclear (RMN) de baixo campo tem sido largamente utilizada para obter uma visão mais aprofundada sobre o comportamento das moléculas de água presentes em tecidos musculares (GUDJÓNSDÓTTIR et al., 2011). Neste contexto, o presente artigo objetivou investigar a mobilidade da água na porção muscular de sardinhas (*Sardinella brasiliensis*) salgadas (salga úmida) em diferentes dias de armazenamento através de medições da relaxação transversal por RMN de baixo campo, assim como correlacionar os resultados com possíveis processos de degradação de proteína, indicados por análises físico-químicas.

## MATERIAL E MÉTODO

Foram utilizadas amostras de sardinha evisceradas e descabeçadas (*Sardinella brasiliensis*), processadas por salga úmida. Cerca de 3Kg de amostras foram adquiridas em uma empresa processadora de pescado salgado no Estado do Paraná/Brasil. Os intervalos estabelecidos para a realização dos



procedimentos analíticos por RMN variaram de acordo com as alterações nos padrões de deterioração observadas nos resultados analíticos físico-químicos obtidos semanalmente. Sendo assim, os dias das análises por RMN a partir dos resultados obtidos nas análises físico-químicas convencionais foram: 15<sup>o</sup>, 40<sup>o</sup>, 83<sup>o</sup>, 114<sup>o</sup> e 143<sup>o</sup> dia de armazenamento a partir da data de fabricação. Como a análise por RMN não é destrutiva, as medidas foram realizadas em cada dia com três repetições autênticas para cada uma das 30 amostras (n=30).

### Ressonância Magnética Nuclear de baixo campo (<sup>1</sup>H)

As medidas por RMN foram realizadas em instrumento MARAN DXR 2® (Oxford Instruments), com frequência de trabalho de 13 MHz. Para aquisição dos espectros foram utilizados 12 gramas de amostra, que foram inseridas em um cilindro de vidro com 50 mm e mantidas em temperatura controlada (25°±1°C). O tempo de relaxação transversal (T<sub>2</sub>) foi medido com uma sequência de pulsos CPMG (Carr–Purcell–Meiboom–Gill) (CARR; PURCELL, 1954), com 12 varreduras, 2048 pontos, 3,5 segundo entre as varreduras, 300µs entre pulsos de 90° e 180°. A curva de relaxação de RMN foi ajustada como uma curva multiexponencial com o software RI WINFIT® (versão 2.5, Oxford instrumentos), indicando que três exponenciais foram necessários para descrever o sistema, resultando na obtenção dos componentes T<sub>2b</sub>, T<sub>21</sub> e T<sub>22</sub>.

### RESULTADOS E DISCUSSÃO

O tempo de relaxação transversal T<sub>2</sub> apresentou comportamento multiexponencial (T<sub>2b</sub>, T<sub>21</sub> e T<sub>22</sub>). Na literatura, este comportamento sugere a divisão espacial ou anatômica da água no tecido muscular em três populações (AURSAND et al., 2009). Os valores obtidos para os componentes de relaxação podem ser observados na **Tabela 1**.

Tabela 1. Dados de relaxação transversal obtidos por RMN <sup>1</sup>H de baixo campo (T<sub>2b</sub>, T<sub>21</sub> e T<sub>22</sub>) em amostras de sardinha (*Sardinella brasiliensis*), processadas por salga úmida durante o armazenamento nos dias 15, 40, 83, 114, 143.

Data RMN	Dia 15	Dia 40	Dia 83	Dia 114	Dia 143
T <sub>2b</sub> (ms)	17.5 ± 1.2 <sup>a</sup>	14.6 ± 0.5 <sup>b</sup>	13.2 ± 0.5 <sup>c</sup>	11.5 ± 0.1 <sup>d</sup>	11.2 ± 0.1 <sup>d</sup>



	(15.8-20.4)	(13.3-15.7)	(12.4-14.6)	(11.2-11.8)	(11.0-11.5)
<b>T<sub>21</sub>(ms)</b>	35.3 ± 0.8 <sup>a</sup> (34.0-36.8)	39.7 ± 0.8 <sup>b</sup> (38.1-42.1)	42.8 ± 6.0 <sup>c</sup> (41.6-44.2)	44.7 ± 12 <sup>d</sup> (43.0-48.1)	44.7 ± 6.0 <sup>d</sup> (43.7-46.1)
<b>T<sub>22</sub>(ms)</b>	161.7 ± 2.8 <sup>a</sup> (161.7-175.1)	171.9 ± 11.4 <sup>b</sup> (140.0-189.6)	246.4 ± 16.5 <sup>c</sup> (242.5-248.6)	249.3 ± 6.7 <sup>c</sup> (247.3-250.5)	256.5 ± 1.6 <sup>d</sup> (252.5-258.9)

<sup>a, b, c, d</sup> Diferentes letras sobrescritas entre as linhas indicam diferença significantes entre os resultados ( $p < 0.05$ ) (ANOVA).

As variações nos tempos de relaxação observadas no decorrer do tempo são esperadas tendo em vista à modificação na estrutura proteica durante a deterioração. O tempo de relaxação mais curto  $T_{2b}$  variou de 11.2 a 17.5 ms. Este representa a fração de água fortemente ligada que se modifica muito pouco com o processamento e a degradação. Os tempos de relaxação mais rápidos,  $T_{21}$  (que apresentou valores entre de 35.3 a 44.7 ms) e  $T_{22}$  (entre 161.7 a 256.6 ms) representam a água fracamente ligada e a água livre, respectivamente.  $T_{21}$  relaciona-se com a água localizada no interior das estruturas proteicas organizadas e, o  $T_{22}$  representa a água no espaço entre as miofibrilas (extracelular), que pode ser mobilizado com maior facilidade, por gotejamento ou exsudação, sendo assim podem ser mais afetados pela deterioração do pescado (ERIKSON et al., 2004).

A variação dos valores de  $T_2$ , divididos em suas frações, evidencia uma mudança no parâmetro de qualidade do produto. Para os valores de  $T_{21}$  foram observadas variações significativas entre o 15<sup>o</sup>, 40<sup>o</sup>, 83<sup>o</sup> e 114<sup>o</sup> dia de armazenamento do pescado; entre os dias 114<sup>o</sup> e 143<sup>o</sup> não houve diferença. Os valores de  $T_{22}$  variaram significativamente entre o 15<sup>o</sup>, 40<sup>o</sup> e 83<sup>o</sup> dia e entre o 114<sup>o</sup> e o 143<sup>o</sup> dia de armazenamento, entre o 83<sup>o</sup> e 114<sup>o</sup> dia não houve variação significativa, acompanhando as mudanças que ocorreram no estado de conservação do produto.

A variação de  $T_{22}$  permanece, de um modo geral, com tendência ascendente até o último dia do período de estocagem. É importante registrar que possíveis variações nos valores das componentes de  $T_2$  podem sugerir degradação de proteína no tecido muscular. Isto pode ser evidenciado por um discreto aumento do valor de  $T_{21}$ , relacionado a uma população de água miofibrilar e, a uma variação mais intensa de  $T_{22}$ , que se relaciona à água livre nos espaços extracelulares, que em substratos onde há degradação de proteína apresenta



aumento pela perda da capacidade de retenção de água do tecido. Com relação aos valores de relaxação de  $T_{2b}$  que estão associados à parcela de água intracelular (fortemente ligada), estes apresentaram a menor variação.

## CONCLUSÃO

A partir dos dados obtidos destaca-se a viabilidade da aplicação da espectroscopia de prótons ( $^1\text{H}$ ) por RNM de baixo campo como ferramenta para análise e controle de qualidade do pescado salgado durante o armazenamento.

## AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pelo suporte financeiro.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

- AURSAND, I. G.; VELIYULIN, E.; BÖCKER, U.; OFSTAD, R.; RUSTAD, T.; ERIKSON, U. Water and salt distribution in Atlantic salmon (*Salmo salar*) studied by low-field  $^1\text{H}$  NMR,  $^1\text{H}$  and  $^{23}\text{Na}$  MRI and light microscopy: Effects of raw material quality and brine salting. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57, 46–54, 2009.
- CARR, H. Y.; PURCELL, E. M. (1954). Effects of diffusion on free precession in nuclear magnetic resonance experiments. *American Journal of Physiology*, 94, 630–638.
- ERIKSON, U.; VELIYULIN, E.; SINGSTAD, T. E.; AURSAND, M. Salting and desalting of fresh and frozen-thawed cod (*Gadus morhua*) fillets: a comparative study using  $^{23}\text{Na}$  MRI, low-field  $^1\text{H}$  NMR, and physicochemical analytical methods. *Journal of Food Science*, 69, 107–114, 2004.
- GUDJÓNSDÓTTIR M.; ARASON, S.; RUSTAD, T. The effects of pre-salting methods on water distribution and protein denaturation of dry salted and rehydrated cod – A low-field NMR study. *Journal of Food Engineering*, v.104, p. 23-29, 2011.