



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
INSTITUTO DE CIÊNCIAS DO MAR
CURSO DE OCEANOGRAFIA**

ANDRÉA DA CONSOLAÇÃO DE OLIVEIRA CARVALHO

**COMPARAÇÃO DOS TEORES DE SELÊNIO TOTAL EM TECIDOS DE
CAMARÃO SELVAGEM E DE CULTIVO EXPERIMENTAL PARA AVALIAÇÃO
COMO MATÉRIA-PRIMA PARA ALIMENTO FUNCIONAL.**

FORTALEZA

2012

ANDRÉA DA CONSOLAÇÃO DE OLIVEIRA CARVALHO

COMPARAÇÃO DOS TEORES DE SELÊNIO TOTAL EM TECIDOS DE CAMARÃO
SELVAGEM E DE CULTIVO EXPERIMENTAL PARA AVALIAÇÃO COMO
MATÉRIA-PRIMA PARA ALIMENTO FUNCIONAL.

Monografia apresentada ao Curso de graduação em Oceanografia do Instituto de Ciências do Mar (LABOMAR) da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para obtenção do Título de Bacharel em Oceanografia.

Orientador: Prof^a. Dr^a. Rozane Valente Marins
Coorientador: Prof. Dr. Alberto J. P. Nunes

FORTALEZA

2012

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Biblioteca Rui Simões de Menezes

-
- C321c Carvalho, Andréa da Consolação de Oliveira
Comparação dos teores de selênio total em tecidos de camarão selvagem e de cultivo experimental para avaliação como matéria-prima para alimento funcional / Andréa da Consolação de Oliveira Carvalho. – 2012.
45 f. : il. color., enc. ; 30 cm.
- Monografia (graduação) – Universidade Federal do Ceará, Instituto de Ciências do Mar, Curso de Oceanografia, Fortaleza, 2012.
Orientação: Profa. Dra. Rozane Valente Marins.
1. Carcinicultura. 2. Micronutrientes. I. Título.

ANDRÉA DA CONSOLAÇÃO DE OLIVEIRA CARVALHO

COMPARAÇÃO DOS TEORES DE SELÊNIO TOTAL EM DIFERENTES TECIDOS DE
CAMARÃO SELVAGEM E DE CULTIVO EXPERIMENTAL PARA AVALIAÇÃO
COMO MATÉRIA-PRIMA PARA ALIMENTO FUNCIONAL.

Monografia submetida à Coordenação do
Curso de Oceanografia, da Universidade
Federal do Ceará, como requisito para
obtenção do grau em Oceanografia.

Aprovada em ____/____/____.

BANCA EXAMINADORA

Prof^a. Dr^a. Rozane Valente Marins (Orientadora)
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof. Dr. Alberto J.P. Nunes (Coorientador)
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Msc. Regina Célia Barbosa de Oliveira
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Dr. Rodrigo Roubach
Coordenação de Aquicultura Marinha (MPA)

A Deus.

Aos meus pais, Tarcísio e Júlia, e irmãs.

AGRADECIMENTOS

A Deus, pela vida e pelas inúmeras bênçãos a mim concedidas ao longo desses anos.

Aos meus amados pais, Tarcísio e Júlia, e irmãs Tatiana, Juliana e Renata, pelo apoio e amor incondicional. Aos cunhados Francisco, Gustavo e Marcelo, à querida sobrinha Cecília e a todos os familiares e amigos que sempre torceram pelo meu sucesso.

Aos amigos Maria Isabel, Sarah, Thércia, Raquel, Talita, Raíssa, Atalane, Jorge, Natália, Flávio, Wally, Neto, Thaís e Felipe, presentes em todos os momentos.

À família que a Oceanografia me presenteou, pela amizade e por terem tornado esses quatro anos especiais e inesquecíveis: Andréa Franco, Bruno Catunda, Bruno Moreira, Cecília Perdigão, Clarissa Dantas, José Gabriel, Ítalo Góis, Jaílton Nogueira, José Filho, Liana Bittencourt, Lucas Antunes, Pedro Paulo, Pedry Frederico, Rayza Araruna e Rodolfo Alves.

À Professora Dr^a Rozane Valente Marins pela oportunidade de aprender através de suas lições, orientação e pela contribuição e incentivo à minha formação profissional.

Ao Professor Dr. Luiz Drude pelos ensinamentos e conhecimentos compartilhados.

Ao Professor Dr. Alberto J. P. Nunes pela coorientação e apoio neste trabalho, e ensinamentos ao longo da formação acadêmica.

À amiga Regina Célia Barbosa de Oliveira, pela contribuição essencial para a realização das análises deste trabalho, pela disponibilidade e apoio em todos os momentos.

A todos do Laboratório de Biogeoquímica Costeira, pelo companheirismo, auxílio e colaboração: Isabelle, Edvar, Tiago, Breno, Talita, Roseline, Louize, Regina, Rafaela, Franzé, Júnior, Moisés, Karen, Janaína, Naiane, Ingra, Mariany, Fernanda, Beatriz, Pedro e Vitor.

Aos membros do LANOA (Laboratório de nutrição de organismos aquáticos), em especial ao Pesquisador Hassan Sabry Neto pela colaboração para a realização desse trabalho.

Aos professores do curso de Oceanografia da UFC pela dedicação e ensinamentos.

A todos os professores, pesquisadores e funcionários do Instituto de Ciências do Mar-LABOMAR pela dedicação e ensinamentos.

Aos membros da banca examinadora pelas contribuições.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pelo fomento através da concessão de bolsa de Iniciação Científica.

A todos que mesmo não tendo sido mencionados de alguma forma contribuíram para esta conquista, minha sincera gratidão!

*"La mer est un miroir qui nous renvoie à notre
propre ignorance."*

Anita Conti (1899-1997)

RESUMO

O selênio (Se) é um elemento essencial à saúde humana, pois se trata de um micronutriente constituinte de várias enzimas. Conhecido por exercer importante efeito antioxidante, protegendo as células contra os efeitos dos radicais livres oriundos do metabolismo do oxigênio, é também essencial para o normal funcionamento do sistema imunológico e do metabolismo. A dieta é a principal via de incorporação de selênio pela maioria dos organismos. Em várias regiões do planeta, a ingestão de selênio encontra-se abaixo dos níveis requeridos para a adequada expressão das selenoproteínas. Por esse motivo, existe interesse em estudar alimentos funcionais, possuidores de benefícios para a saúde, enriquecidos neste elemento. Os alimentos de origem marinha estão entre as principais fontes de selênio na dieta. Com a sobre exploração dos recursos pesqueiros naturais, a aquicultura surge como poderosa ferramenta para o desenvolvimento destes alimentos. Desse modo, é importante pesquisar o teor de selênio existente em pescados de alto consumo da região Nordeste, como as espécies de camarões selvagens encontradas naturalmente no ambiente marinho e a espécie de camarão marinho cultivado *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931), que são possíveis fontes de selênio para a população, em virtude do crescimento acentuado da atividade de carcinicultura no Estado do Ceará nos últimos anos. No presente estudo foi feita a análise do teor de Se total nos tecidos muscular e exoesqueleto de camarões selvagens, capturados do ambiente marinhos e de camarões cultivados em tanques do Laboratório de Nutrição de Organismos Aquáticos - LANOA (CEAC/LABOMAR). As amostras foram levadas ao Laboratório de Biogeoquímica Costeira (LABOMAR/UFC), onde foi empregada a técnica analítica conhecida como espectrometria de massa com fonte de plasma indutivo acoplado (ICP-MS), que é considerada sensível e específica para análise de selênio em matrizes complexas como os organismos estudados. Foram encontrados teores de selênio mais elevados nos camarões selvagens em comparação com os cultivados, entretanto as concentrações de selênio em ambos foram altas o suficiente para garantir um bom suprimento desse micronutriente para a dieta humana e os dois grupos analisados apresentaram diferentes idade, peso e tamanho. Os teores encontrados nos músculos dos camarões selvagens ao longo dos grupos de amostras compostas, de acordo com o peso dos organismos, foram de 3,46 a 5,16 $\mu\text{g.g}^{-1}$ e nos do cultivo em torno de 1,76 a 4,29 $\mu\text{g.g}^{-1}$. Para o exoesqueleto, os valores encontrados nos organismos selvagens foram de 9,44 a 11,51 $\mu\text{g.g}^{-1}$ e nos do cultivo de 4,07 a 5,36 $\mu\text{g.g}^{-1}$. Maiores quantidades de selênio encontradas no exoesqueleto sugerem um mecanismo de detoxificação para liberação do micronutriente em excesso durante o processo de muda. A ração utilizada no cultivo apresentou valores altos de selênio ($2,11 \pm 0,34 \mu\text{g.g}^{-1}$), similares aos mais elevados encontrados no plâncton marinho, e o processo de detoxificação apresentado sugere que o aumento deste teor não seria medida estratégica para o aumento dos teores de selênio nos organismos cultivados, mas sim o manejo do peso do organismo para despesca. O exoesqueleto dos camarões selvagens e cultivados é uma matéria-prima rica em selênio para alimentos funcionais.

Palavras-chave: Espécies marinhas. ICP-MS. Micronutriente. Carcinicultura.

ABSTRACT

Selenium (Se) is an essential element to human health, because it is a micronutrient constituent of many enzymes. Known to exert a significant antioxidant effect, protecting cells against the effects of free radicals from the metabolism of oxygen, it is also essential for normal functioning of the immune system and metabolism. The diet is the main source of selenium intake for most organisms. In several regions of the planet, selenium intake is below the levels required for proper expression of selenoproteins. For this reason, there is interest in studying functional foods, owners of health benefits, enriched in this element. Seafood is among the main source of dietary selenium. With the overexploitation of the natural resources, aquaculture has become a powerful tool for the development of these foods. Thus, it is important to find the selenium content in an existing high consumption fisheries from the Northeast region, such as shrimp and cultured shrimp species *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931), which are possible sources of selenium to the population due the marked growth of shrimp farming activity in the state of Ceará in recent years. In the present study, the analysis of total Se content was performed in muscle and exoskeleton of shrimp captured from the native environment and marine shrimp grown in tanks at the Laboratory of Aquatic Animal Nutrition – LANOA (CEAC/LABOMAR). The samples were brought to the Laboratory of Coastal Biogeochemistry (LABOMAR/UFC) where it was used the analytical technique known as inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS), which is considered sensitive and specific for selenium analysis in complex matrices such as the organisms studied. Higher levels of selenium were found in wild shrimps in comparison with the cultivated ones, although selenium concentrations in both were high enough to ensure a good supply of this micronutrient in the human diet and there were differences in the age, weight and size between the groups (wild and cultivated shrimps). Concentrations found in the muscles of shrimps over the groups in accordance with the size of the organisms were $3,46 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ to $5,16 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ for the wild species and $1,76 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ to $4,29 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ from shrimp cultivated. The values found for the exoskeleton of wild species were $9,44 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ to $11,51 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ and $4,07 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ to $5,36 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ for shrimps cultivated. Larger amounts of selenium found in the exoskeleton suggests a mechanism of detoxification that transfers the excess to the exoskeleton so that it can be released during molting. The aquafeed used in the experiment showed high levels of selenium though ($2,11 \pm 0,34 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$), similar to the highest values found in marine plankton, and the detoxification process presented suggests that the increase of the Se level would not be strategic to the extent of selenium levels in organisms grown, but the management of body weight for harvest. The exoskeleton from wild species and from shrimp cultivated is a raw material rich in selenium for functional foods.

Keywords: Marine species. ICP-MS. Micronutrient. Shrimp farming.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Esquema representativo das fontes de Se para o ambiente.....	13
Figura 2 - Esquema representativo do ciclo biogeoquímico do Se no sistema aquático.....	15
Figura 3-Ciclo de vida dos camarões peneídeos.	19
Figura 4- <i>Litopenaeus vannamei</i> (Boone,1931).....	20
Figura 5 - Desempenho da Carcinicultura Brasileira no período de 1999 a 2010.....	20
Figura 6-Gráfico do desempenho das exportações de camarão cultivado JAN-MAR: Volume 2003-2012.....	21
Figura 7- Vista aérea do CEAC.....	24
Figura 8- Camarões marinhos oriundos da pesca.....	24
Figura 9-Despesca de camarões cultivados no CEAC	25
Figura 10- Quantidade de ração ofertada por período do dia ao longo do cultivo do camarão <i>L.vannamei</i>	26
Figura 11 – Média do peso úmido individual dos camarões selvagens e de cultivo de cada classe (P,M,G).	27
Figura 12- Diagrama esquemático ICP-MS	29
Figura 13-Equipamento ICP-MS (VARIAN 820MS) em funcionamento no Laboratório de Biogeoquímica Costeira (LABOMAR/UFC) em sala limpa classe 1000.	29
Figura 14- Mecanismo de funcionamento da CRI.	31
Figura 15-Gráfico das Concentrações de Se Muscular em Camarão Selvagem.	35
Figura 16-Gráfico das Concentrações de Se em Camarão Selvagem- Exoesqueleto.....	36
Figura 17-Gráfico das Concentrações de Se muscular em camarão cultivado.....	37
Figura 18-Gráfico das Concentrações de Se no exoesqueleto de camarões cultivados	38

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Teores de Selênio total (SeT) em diferentes matrizes encontrados por vários autores.....	14
Tabela 2- Média do peso úmido individual dos camarões selvagens e de cultivo de cada classe (P,M,G)..	27
Tabela 3-Condições de operação do equipamento	30
Tabela 4-Isótopos de Se e interferentes corrigidos na análise.....	31
Tabela 5-Média da Concentração de Se em cada amostra composta ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$).....	33

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	12
1.1	Fontes e distribuição do Selênio no ambiente.....	12
1.2	Ciclo Biogeoquímico	15
1.3	Selênio e a saúde: deficiência e toxicidade.....	16
1.4	Efeito Protetor	17
1.5	Selênio e os organismos marinhos.....	18
1.6	Carcinicultura: ferramenta para a produção de alimento funcional.....	21
2	OBJETIVOS.....	23
2.1	Objetivo Geral.....	23
2.2	Objetivos Específicos	23
3	MATERIAL E MÉTODOS.....	24
3.1	Amostragens.....	24
3.2	Preparação das amostras	26
3.3	Determinação de Selênio Total.....	28
3.3.1	<i>Otimização do método.....</i>	<i>30</i>
3.3.2	<i>Correção de Interferências</i>	<i>30</i>
3.4	Reagentes e soluções	31
3.5	Limite de detecção.....	32
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	33
4.1	Concentração de Selênio em Camarão Selvagem.....	34
4.1.1	<i>Músculo</i>	<i>34</i>
4.1.2	<i>Exoesqueleto</i>	<i>36</i>
4.2	Concentração de Selênio em Camarão de Cultivo.....	37
4.2.1	<i>Músculo</i>	<i>37</i>
4.2.2	<i>Exoesqueleto</i>	<i>38</i>
4.2.3	<i>Ração.....</i>	<i>38</i>
5	CONCLUSÃO	40
	REFERÊNCIAS.....	42

1 INTRODUÇÃO

O selênio (Se), elemento de número atômico 34, é classificado como metalóide pertencente ao grupo VI da tabela periódica, localizado entre o enxofre e o telúrio, elementos com os quais apresenta semelhanças nas propriedades químicas e físicas (OMS, 1987).

Conhecido por ser um micronutriente essencial para a maioria dos organismos, o selênio é necessário em concentrações traço para promover o normal crescimento e desenvolvimento dos organismos, quando presente em concentrações moderadas, pode ser armazenado e ajudar na manutenção das funções homeostáticas. Entretanto, em concentrações elevadas pode causar efeitos tóxicos (HAMILTON, 2004).

Na dieta humana, dentre os elementos traço, o selênio possui um dos mais estreitos limites entre a deficiência nutricional (Limite Superior Tolerável de Ingestão <40µg/dia) e o nível tóxico (>400µg/dia) (FLOOR e ROMÁN-ROSS, 2012), sendo o valor de Ingestão Dietética Recomendada em média 55µg/dia para homens e mulheres adultos (INSTITUTE OF MEDICINE, 2000), podendo variar de acordo com a região geográfica (LENZ e LENS, 2008). Esse elemento traço essencial é obtido principalmente através da dieta e incorporado a proteínas para a fabricação das selenoproteínas que atuam em diversos processos metabólicos, sendo o mais conhecido o da glutathione peroxidase, que catalisa a destruição de peróxidos que causam danos às células vivas (PEDRERO e MADRID, 2009).

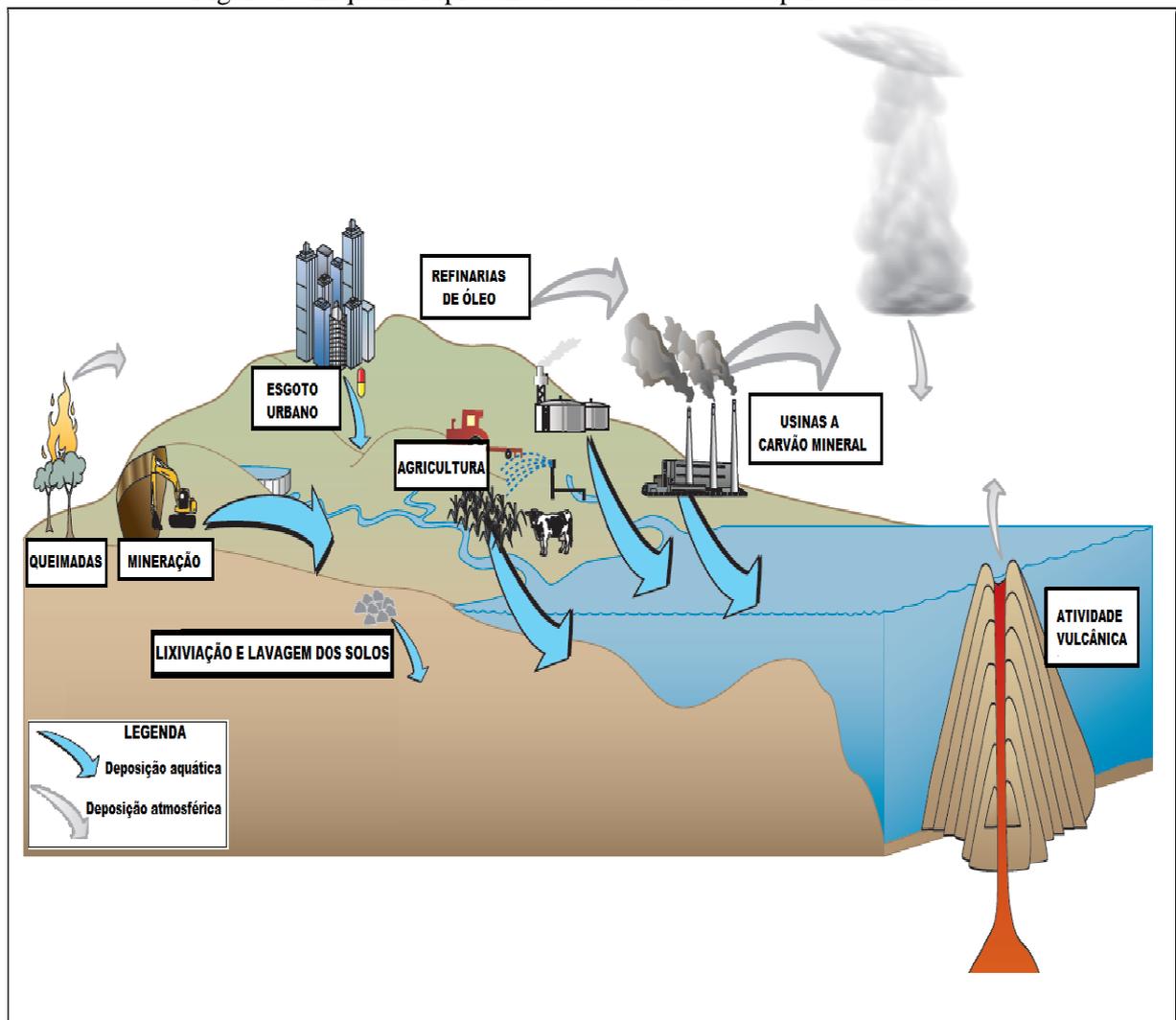
Mudanças de perspectiva quanto ao papel do selênio no ambiente e principalmente na saúde humana foram responsáveis por um aumento nas pesquisas a respeito deste elemento, que também foram favorecidas pelo aparecimento de técnicas analíticas, como o ICP-MS, que abriu possibilidades de uma determinação acurada, a níveis traço, em amostras ambientais complexas (D'ULIVO, 1997). No entanto, ainda são poucas as informações a respeito deste elemento em organismos e no ambiente de regiões costeiras tropicais. Há, portanto necessidade de pesquisas para melhor compreender o comportamento do Se na costa brasileira (SEIXAS *et al.*, 2007).

1.1 Fontes e distribuição do Selênio no ambiente

O selênio presente no ambiente (FIGURA 1) é proveniente de fontes naturais (processos geofísicos e biológicos) e de algumas atividades antrópicas (processos industriais e agricultura) que são responsáveis pelo aumento da sua liberação e pela sua redistribuição no ambiente (OMS 1987).

Apesar de ser considerado um elemento ubíquo, sua distribuição na crosta terrestre não é homogênea. Isso pode ser evidenciado em casos de países como o Brasil e a China que apresentam regiões com solos deficientes em selênio ($<0.1\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) separadas por pequenas distâncias de outras com solos cujos teores de selênio são elevados ($>0.5\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) (DHILLON e DHILLON, 2003).

Figura 1 - Esquema representativo das fontes de Se para o ambiente.



Fonte: Adaptado de CHAPMAN *et al.* (2009).

As concentrações de selênio nas águas dos rios, oceanos, crosta terrestre, solos, sedimentos marinhos e biota marinha apresentam valores que variam de $4 \times 10^{-5} \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ a milhares de $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ (KÖLBL, 1995) (TABELA 1).

A biogeoquímica do Se na superfície dos oceanos é complexa, sendo a produção e volatilização de espécies de Se gasoso, provavelmente, relacionadas à dinâmica populacional dos plânctons e microbianas. (AMOUROUX *et al.*, 2001). Supõe-se que a maior fonte de

selênio para a atmosfera é o ambiente marinho. Via deposição úmida e seca, a atmosfera transfere o selênio para a superfície terrestre (SEIXAS e KERIG, 2007).

Tabela 1 - Teores de Selênio total (SeT) em diferentes matrizes encontrados por vários autores.

MATRIZ	SeT	Referências
Crosta Terrestre	0,05 - 0,09 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$	McNeal e Balistrieri, 1989 Maier <i>et al.</i> , 1987
Solos		
Seleníferos	1 - 1200 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$	McNeal e Balistrieri, 1989
Não Seleníferos	<0,1 - 2,0 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$	Maier <i>et al.</i> , 1987
Água de rio	$1\cdot 10^{-4}$ - $4\cdot 10^{-4}$ $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$	Maier <i>et al.</i> , 1987
Água do mar		
Pacífico Norte		Aono <i>et al.</i> , 1991
Superfície	$4\cdot 10^{-5}$ - $8\cdot 10^{-5}$ $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$	
6000m	$2\cdot 10^{-4}$ $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$	
Atlântico Norte		Tamari, 1979
Superfície	0,08 - 0,11 $\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$	
Fundo	0,07 - 0,10 $\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$	
Sedimentos Marinhos		
Pacífico (34°54'N, 151°55'E a 6000m)*	0,05 - 0,4 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$	Tamari, 1979
Concreções marinhas ferro manganês*	0,02 - 1,2 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$	Takematsu <i>et al.</i> , 1990
Porto de Nagoya	0,1 - 11 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$	Itoh <i>et al.</i> , 1987
Plâncton		
Fitoplâncton marinho*	0,5 - 2,7 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$	Liu <i>et al.</i> , 1987
Fitoplâncton (Baía de Guanabara, Brasil)*	0,02 - 0,05 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$	Kehrig <i>et al.</i> , 2009
Zooplâncton (Baía de São Francisco, USA)*	1,0 - 6,1 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$	Purkerson <i>et al.</i> , 2003
Zooplâncton (Baía de Guanabara, Brasil)*	0,03 - 0,07 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$	Kehrig <i>et al.</i> , 2009
Mamíferos Marinhos		
Fígado*	3,2 - 11,1 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$	Seixas <i>et al.</i> , 2007
Rim*	7,0 - 8,8 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$	Seixas <i>et al.</i> , 2007
Peixe Marinho		
Músculo*	0,9 - 4,0 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$	Liu <i>et al.</i> , 1987
Fígado*	1,4 - 28,3 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$	Liu <i>et al.</i> , 1987
Ostra*		
Tecidos Moles (Baía de Sepetiba, Brasil)	1,5 - 5,1 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$	Kehrig <i>et al.</i> , 2006
Mexilhão*		
Tecidos Moles (Baía de Sepetiba, Brasil)	3,0 - 3,6 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$	Kehrig <i>et al.</i> , 2006
Aves Marinhas*		
Fígado	6,9 - 13,6 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$	Kehrig <i>et al.</i> , 2009
Rim	10,2 - 22,0 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$	Kehrig <i>et al.</i> , 2009
Pena	0,7 - 1,4 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$	Kehrig <i>et al.</i> , 2009

*Concentrações em massa seca

A atividade antrópica (combustão de carvão e óleo, mineração, fertilizantes agrícolas) interfere no ciclo global do selênio influenciando-o de maneira crucial. Estima-se que entre 37,5% e 40,6% do total de emissões de selênio para a atmosfera são devido a essas atividades (WEN e CARIGNAN, 2007).

A atividade vulcânica é responsável pela liberação de cinzas enriquecidas em selênio. Como produto da liberação de larvas vulcânicas há a formação de solos ricos em Se, uma ou até duas ordens de magnitude acima da média mundial (0,4 mg/Kg), porém com baixa

mobilidade. A deposição atmosférica do Se presente nos gases vulcânicos também pode representar um fluxo importante de Se para os solos (FLOOR e ROMÁN-ROSS, 2012).

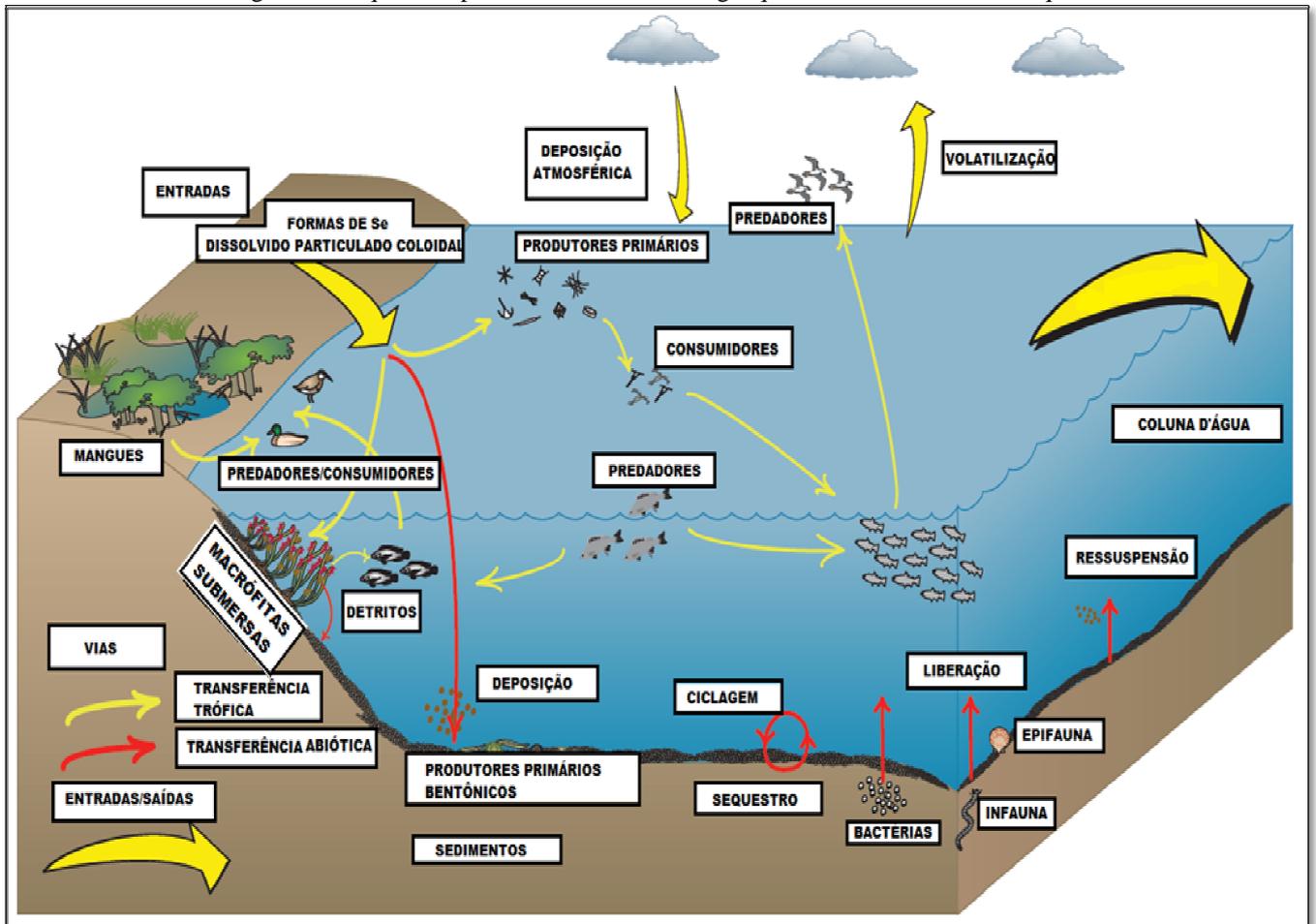
Para a biota pelágica, uma das principais fontes de selênio é o plâncton marinho. Entretanto, os resultados para a costa Brasileira Nordeste Oriental são desconhecidos.

1.2 Ciclo Biogeoquímico

O teor de Se presente nos solos reflete, até certo ponto, a concentração de Se nas rochas que o originaram. Revisões sobre a geoquímica do Se apontam que rochas ígneas apresentam níveis baixos de Se em sua composição (< 1 mg/kg) assim como ocorre em rochas metamórficas, já as rochas sedimentares contêm de < 1 a 100 mg/kg (OMS, 1987).

Dos solos, o selênio chega ao ambiente aquático por processos físicos, químicos e biológicos, onde pode ser absorvido ou ingerido pelos organismos, pode ligar-se ou complexar-se ao material particulado ou à superfície do sedimento e pode ainda permanecer livre em solução (FIGURA 2).

Figura 2 - Esquema representativo do ciclo biogeoquímico do Se no sistema aquático.



Fonte: Adaptado de CHAPMAN *et al.* (2009).

Mesmo tendo sido cessados os lançamentos, o Se pode permanecer, por longos períodos, dissolvido no sistema aquático, pois possui um alto tempo de residência (LEMLY, 1999).

A remoção do Se da coluna d'água pode ocorrer pela redução química e microbiana, seguido pela adsorção ao material particulado. A maior parte do selênio total no sistema aquático encontra-se nos sedimentos (BOWIE *et al.*, 1998). Processos de oxidação e metilação do selênio inorgânico o tornam disponível para a biota. A bioturbação realizada por invertebrados bentônicos e consequente oxidação dos sedimentos também o biodisponibiliza (SEIXAS e KERIG, 2007). Processos de perturbação química e física pela própria circulação da água e a oxidação por plantas fotossintéticas também mobilizam o selênio do sedimento possibilitando que este entre na cadeia alimentar através dos níveis tróficos primários (comunidade fitoplanctônica) e seja então transferido ao longo da cadeia trófica podendo sofrer processos de bioacumulação e biomagnificação (LEMLY, 2004).

1.3 Selênio e a saúde: deficiência e toxicidade

Na década de 1930, os primeiros casos de efeitos tóxicos relacionados ao selênio foram relatados e esse elemento passou a ser visto como uma substância perigosa e prejudicial. No entanto, por volta de 1957, os estudos de Schwartz e Foltz comprovaram o efeito sinérgico do selênio com a vitamina E, trazendo uma nova percepção a respeito do selênio (FLOOR e ROMÁN-ROSS, 2012). Na década seguinte, outros estudos revelaram o potencial de ação desse nutriente no combate a alguns tipos de câncer, e na década de 90, o selênio passou a ser visto como elemento essencial para o metabolismo, atuando como peça chave para a conversão de hormônios da tireoide, T_4 a T_3 (OLIVIERI *et al.*, 1995).

Hoje o comportamento do selênio nos organismos é alvo de estudos nas áreas ambientais, da nutrição e da medicina, onde se relaciona este elemento à prevenção de doenças cardiovasculares e alguns tipos de câncer (PEDRERO e MADRID, 2009; RAYMAN, 2000). Atualmente, reconhece-se a importância em pesquisar e conhecer os importantes efeitos fisiológicos e toxicológicos relacionados ao Se por se tratar de um elemento bastante ambíguo do ponto de vista biológico, uma vez que ao mesmo tempo em que é considerado essencial, dependendo da sua concentração e da forma química, o seu acúmulo no organismo pode também torná-lo uma toxina (CUTTER e CUTTER, 2004).

No homem, a deficiência de selênio causa deficiências musculares e cognitivas, e doenças endêmicas de regiões com solos pobres em selênio como a doença de Keshan (KSD),

uma cardiomiopatia, e a doença de Kaschin-Beck, síndrome que afeta o tecido cartilaginoso principalmente na pré-adolescência. Já a toxicidade por selênio (selenose), de acordo com revisões sobre o assunto (SARMENTO, 2006), leva aos seguintes sinais e sintomas: cansaço, náuseas, vômitos, diarreia, odor de alho na boca, dor abdominal, espasmos musculares e arritmias e a toxicidade crônica pode levar à queda de cabelo, unhas quebradiças, reações de pele e alterações no sistema nervoso central.

A biota aquática pode absorver o selênio pelas brânquias, diretamente da água ou pode incorporá-lo via dieta. No primeiro caso, o Se circularia por todos os tecidos do animal antes de chegar ao fígado, no segundo caso, após absorção intestinal, o selênio iria todo para o fígado, resultando em acúmulo neste órgão e toxicidade (HODSON, 1988). Em concentrações maiores que $3 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$, foram observados efeitos negativos no potencial reprodutivo de peixes (HODSON e HILTON, 1983). Em excesso, ele pode substituir erroneamente o enxofre nas proteínas e provocar a inativação das mesmas. Concentrações elevadas podem se depositar em ovos contaminando as larvas prejudicando a sua formação causando deformidades teratogênicas (LEMLY, 1993). Níveis tóxicos de selênio podem também causar anomalias reprodutivas, anemia, retardos de crescimento e redução na sobrevivência de embriões ocasionando o declínio nas populações de peixes (HAMILTON, 2004).

1.4 Efeito Protetor

Os mecanismos de interação do selênio com outras substâncias como sulfatos, fosfatos, mercúrio, arsênio, cádmio e outros podem afetar mutuamente sua distribuição no organismo, retenção e toxicidade (DIPLOCK e HOEKSTRA, 1976). Um desses mecanismos cuja interação parece já estar mais esclarecida é o efeito antagônico que o selênio exerce sobre o comportamento tóxico do mercúrio (Hg). Estudos recentes (RALSTON e RAYMOND, 2010) apontam que dietas enriquecidas em selênio podem não apenas prevenir a toxicidade por metilmercúrio (MeHg), mas podem ainda reverter rapidamente a maioria de seus sintomas. Estudos recentes em camarões cultivados mostraram que estes podem apresentar aumento dos teores de metais traço, principalmente devido ao uso de rações feitas com farinha de peixes (SOARES *et al.*, 2011).

Um estudo feito em mamíferos marinhos (WAGEMANN *et al.*, 1998) demonstrou, através de um mecanismo hipotético, que na presença de selenoproteínas no fígado dos organismos ocorre a reação de demetilação do metilmercúrio (MeHg) e resulta na formação de partículas inertes de seleneto mercúrio (HgSe). Outro estudo (ANAN *et al.*,

2011), feito em espécies de tartarugas marinhas (*E. imbricata* e *C. mydas*) demonstrou que esses organismos apresentam um mecanismo específico para o metabolismo hepático do selênio que resulta no acúmulo somente de Se e não de Hg.

A relação do selênio com elementos também essenciais como o cobre (Cu), zinco (Zn) e com não essenciais como a prata (Ag), mercúrio (Hg) e o cádmio (Cd) em tecidos de diferentes espécies de baleias e golfinhos da costa brasileira (SEIXAS *et al.*, 2009) revelou correlações entre Ag, Hg e Se no fígado de golfinhos estuarinos, enquanto que o Cd e Cu hepáticos não foram associados com nenhum outro elemento traço.

Todos esses estudos enfatizam a importância e a necessidade de se buscar entender os mecanismos de atuação do selênio nos organismos e no ambiente.

1.5 Selênio e os organismos marinhos

Os organismos marinhos são capazes de concentrar os elementos-traço em várias ordens de grandeza acima das concentrações encontradas na coluna d'água, o que os tornam excelentes biomonitores de selênio no ambiente (CHATTERJEE *et al.*, 2001; HAMILTON, 2004; MESTRE *et al.*, 2012; YANG *et al.*, 2007, GAY e MAHER, 2002).

Além disso, os organismos marinhos consumidos pelo homem podem ajudá-lo a garantir um bom suprimento deste micronutriente na dieta, uma vez que os alimentos de origem animal, sobretudo os pescados, apresentam teores mais elevados de Se quando comparados aos alimentos de origem vegetal (FERREIRA *et al.* 2002).

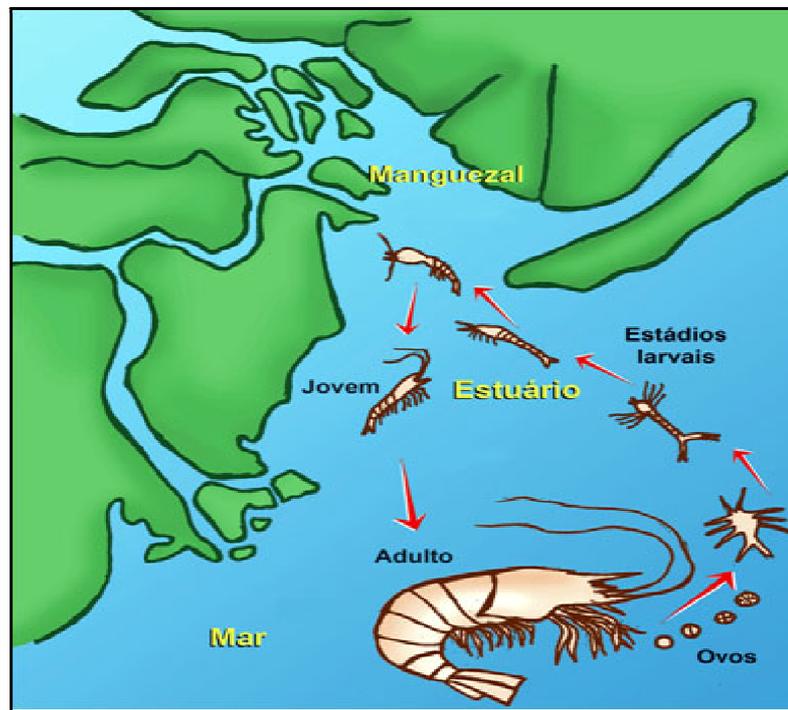
Os organismos utilizados neste estudo foram espécies de camarão encontradas naturalmente no ambiente marinho e a principal espécie de camarão marinho cultivada na região Nordeste do Brasil.

As principais espécies de camarão encontradas na costa Brasileira são: *Farfantepenaeus subtilis*, *Litopenaeus schimitti*, *F. brasiliensis* e *F. paulensis*, *Penaeus subtilis*, *P. schimitti* e *P. brasiliensis*. Neste estudo não foi feita a identificação das espécies provenientes do ambiente natural, possivelmente a amostra capturada do ambiente marinho poderia conter uma ou mais espécies que foram citadas e ainda outras possíveis invasoras.

Na natureza, os ovos e larvas, planctônicos, liberados pelos indivíduos adultos no ambiente marinho são carregados em direção à costa. No estágio de pós-larva, o camarão deixa de ser planctônico passando a ser bentônico e deixa o ambiente tipicamente marinho para terminar o seu desenvolvimento em zonas estuarinas.

Os juvenis crescem quase exclusivamente nessas zonas costeiras (em manguezais, baías e lagoas), reconhecidas por serem regiões de berçário, pois servem de abrigo, e possuem fonte abundante de alimento (pequenos invertebrados, detritos animais e vegetais). Ao se aproximarem da maturidade sexual, os indivíduos começam a migrar para mar aberto, local onde ocorre a maturação sexual e reprodução concluindo seu ciclo de vida (FIGURA 3). Os camarões adultos maiores não retornam ao ambiente estuarino permanecendo em águas marinhas onde são capturados (BARBIERI e OSTRENSKY, 2001).

Figura 3-Ciclo de vida dos camarões peneídeos.



Fonte: Ilustração de Stephanie Loss.

(Disponível em:< <http://conexaomanguezal.blogspot.com.br>>. Acesso em 6/4/12).

Foram analisadas também neste estudo amostras da espécie exótica mais comumente cultivada no Brasil (*Litopenaeus vannamei* Boone, 1931) (FIGURA 4). A introdução do camarão branco do Pacífico, *L. vannamei*, se deu na década de 80 e representou um marco na carcinicultura no Brasil, sendo responsável por grande parte da produção mundial de camarões nas décadas seguintes (BARBIERI e OSTRENSKY, 2001).

Figura 4- *Litopenaeus vannamei* (Boone,1931).

Fonte: A. M. Arias. (Disponível em:< www.ictioterm.es> Acesso em: 3/4/12).

Os anos de 1999 a 2003 representaram um período de crescimento na atividade de carcinicultura brasileira. No entanto, a partir de 2004, o País enfrentou uma crise no mercado devido a diversos fatores como: doenças nos organismos, queda do câmbio, períodos climáticos desfavoráveis com excesso de chuvas, concorrência com países asiáticos pela produção do *L. vannamei* e outros. Atualmente, o direcionamento da produção para o mercado interno, que em 2010 absorveu 97,1% da produção nacional resultou na queda de preço, provocando mudança no perfil de consumo nacional, que apresentou crescimento de 0,06kg em 1999 para 0,402 kg em 2010 (Figura 5).

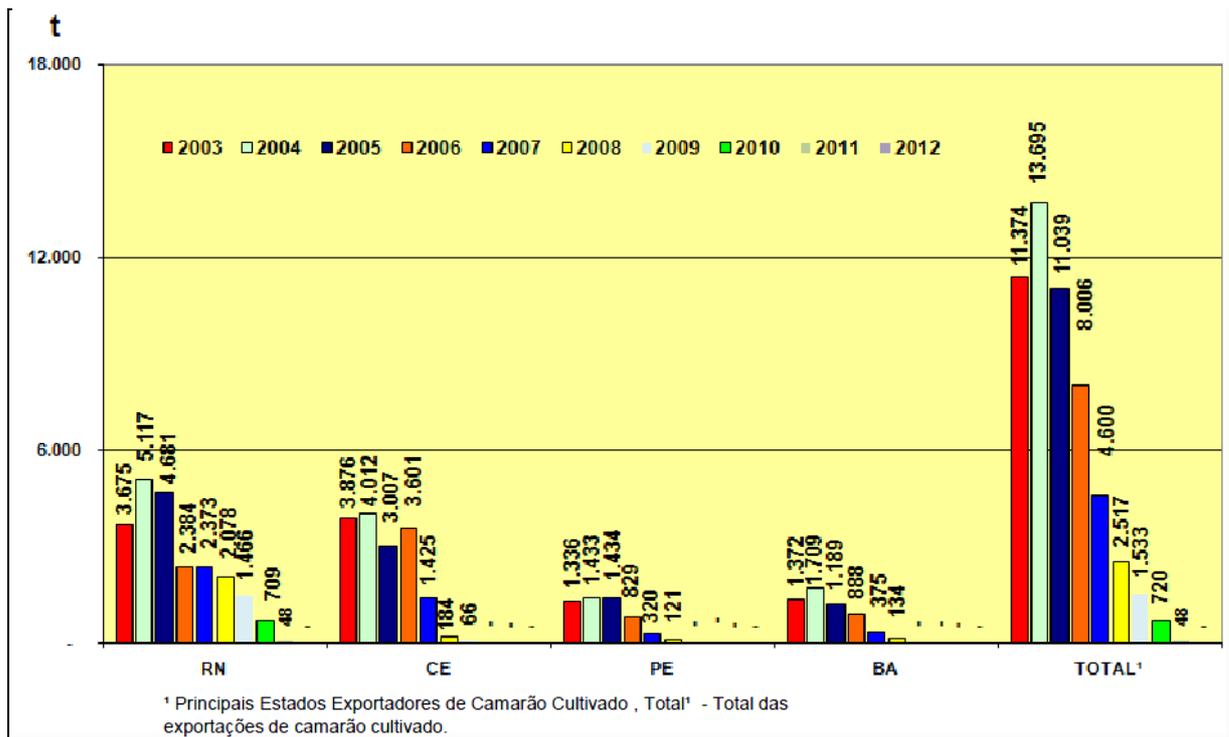
Figura 5 - Desempenho da Carcinicultura Brasileira no período de 1999 a 2010.

Ano	Produção (P) (mil t)	Exportação (E)			Importação		Consumo doméstico aparente <i>per capita</i> (kg)	E/P (%)
		Mil t	US\$ (milhões)	US\$/KG	KG	US\$		
1999	15,00	4,88	40,75	8,36	14.208	79.700,00	0,060	67,59
2000	25,39	13,26	105,58	7,96	14.208	77.890,00	0,071	47,82
2001	40,00	23,46	129,75	5,53	-	-	0,095	41,35
2002	60,25	40,07	175,46	4,38	-	-	0,114	33,50
2003	90,19	60,87	244,81	4,02	-	-	0,164	32,51
2004	75,90	54,49	219,37	4,03	8	22,00	0,118	28,22
2005	63,13	85,03	366,52	4,25	-	-	-0,119	28,63
2006	65,00	94,85	399,40	4,55	-	-	-0,161	47,69
2007	65,00	71,66	294,04	4,35	-	-	-0,035	73,51
2008	70,00	10,94	56,49	5,16	-	-	0,311	84,36
2009	65,00	6,42	29,51	4,60	-	-	0,306	90,12
2010	80,00	2,29	15,50	6,76	-	-	0,402	97,14

Fonte: ABCC(2011).

Dentre os estados da região Nordeste, o Ceará e Rio Grande do Norte são os de maior destaque, com maior número de fazendas de cultivo e produtividade (FIGURA 5).

Figura 6-Gráfico do desempenho das exportações de camarão cultivado JAN-MAR: Volume 2003-2012.



Fonte: ABCC, 2012.

1.6 Carcinicultura: ferramenta para a produção de alimento funcional

Devido à existência de solos pobres em selênio e à constatação de que uma grande quantidade de pessoas possui uma dieta pobre neste nutriente, aumentou-se o interesse em produzir alimentos funcionais enriquecidos em selênio (HAWKESFORD e ZHAO, 2007).

Alimentos funcionais podem ser definidos como sendo qualquer alimento fresco ou processado com potencial de promover benefícios à saúde e/ou com propriedades que promovem a prevenção de doenças além dos seus benefícios nutricionais básicos (PEDRERO e MADRID, 2009).

Em virtude do crescimento da atividade de cultivo de camarão na região nordeste do Brasil, é interessante avaliar o teor de selênio nesta fonte, uma vez que os pescados são reconhecidos por serem ricos em selênio, porém os organismos cultivados, dependendo do tipo e da quantidade de alimento ofertado, podem sofrer depleção ou enriquecimento desse nutriente.

O cultivo de camarões é realizado, principalmente, com a utilização de rações, muitas das quais são ricas em diversos componentes nutricionais, como é o caso do selênio, o que pode levar a uma maior absorção e enriquecimento dos organismos com determinados elementos culminando para a produção de alimentos funcionais. Uma vez que a ração

representa grande parte dos custos da cadeia produtiva da carcinicultura, a adequada formulação e o balanceamento das rações são fundamentais para garantir o sucesso dessa atividade.

Assim, conhecer o teor de Se na ração utilizada no cultivo pode auxiliar a compreensão de que mecanismo pode ser utilizado para controle do teor de Se nos organismos do cultivo.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Quantificar o teor de selênio presente em diferentes tecidos (músculo e exoesqueleto) de camarões oriundos da pesca de arrasto na região do litoral leste do Ceará e de camarões de cultivo experimental desenvolvido no CEAC/LABOMAR UFC (Centro de Estudos Ambientais Costeiros).

2.2 Objetivos Específicos

- Determinar o teor de selênio total presente no camarão e avaliar se o organismo estudado (camarão) pode ser considerado como alimento funcional rico em selênio, tendo em vista os benefícios nutricionais atribuídos a este elemento.
- Comparar se os teores de Se são significativamente diferentes entre organismos cultivados e selvagens.
- Identificar padrões de bioacumulação de selênio de acordo com o peso do organismo nos diferentes tecidos.
- Investigar a influência da ração no teor de selênio acumulado pelos organismos cultivados.

3 MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi desenvolvido no Laboratório de Biogeoquímica Costeira – LABOMAR/ UFC e no Centro de Estudos Ambientais Costeiros/ CEAC- LABOMAR/UFC, situado no estuário do rio Pacoti (FIGURA 6).

Figura 7- Vista aérea do CEAC



Fonte: Disponível em: <<https://www.mar.mil.br/nomaronline/noticias/15032012/06.html>>

3.1 Amostragens

As amostras de camarão selvagem (FIGURA 7) foram obtidas por pescadores na região do litoral leste do Estado do Ceará (Quixaba- Aracati).



Fonte: o autor.

Para a obtenção das amostras de cultivo (FIGURA 8), foi realizado um cultivo monitorado por um período de aproximadamente dois meses no CEAC/LABOMAR-UFC.

Figura 9-Despesca de camarões cultivados no CEAC

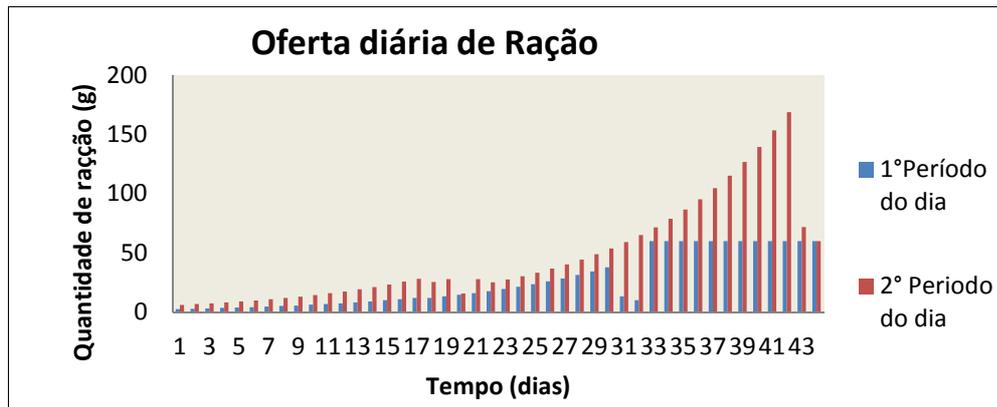


Fonte: o autor.

Foram povoados 4 tanques (capacidade de 1000L/tanque) com 80 pós-larvas em cada. As pós-larvas foram obtidas do tanque berçário do próprio CEAC.

Durante todo o cultivo foi ministrada ração comercial, em duas doses diárias. Diariamente, uma determinada quantidade de ração era pesada, com cálculos para a necessidade alimentar de cada fase (de acordo com a biomassa) e horário do dia, uma vez que estudos determinaram que, de uma maneira geral, as atividades comportamentais de *L. vannamei* sofrem influência da presença do alimento artificial, variando em função da fase do dia, do horário de oferta e do tempo de exposição da ração (PONTES e ARRUDA, 2005). As sobras de ração nas bandejas eram pesadas e era recalculado um novo valor a ser fornecido para o cultivo de maneira que fosse ofertada uma quantidade ideal de ração (FIGURA 9), suficiente para promover o máximo crescimento dos organismos.

Figura 10- Quantidade de ração ofertada por período do dia ao longo do cultivo do camarão *L.vannamei*.



Fonte: o autor.

O excesso de ração significa aumento do teor de nutrientes na água e pode provocar acidificação do meio pelo aumento da atividade de micro-organismos decompositores que alteram ainda o teor de oxigênio dissolvido na água, causando mortalidade dos organismos, o que é indesejável no cultivo, portanto deve ser evitado.

Além do monitoramento do consumo de alimento artificial através dos comedouros (bandejas), a troca d'água periódica e o uso de oxigenação artificial permitiram o controle dos parâmetros de qualidade da água com a finalidade de manter os níveis ótimos de oxigênio dissolvido, matéria orgânica, pH e salinidade para garantir uma alta taxa de sobrevivência da espécie cultivada e, conseqüentemente, o sucesso do cultivo. No momento do povoamento, foi realizada uma primeira amostragem dos camarões. Após um mês de cultivo foi realizada a despesca de um tanque. A segunda despesca foi realizada no 55º dia de cultivo, completando um ciclo de aproximadamente 2 meses de cultivo.

Foi também coletada amostra da ração administrada aos organismos cultivados.

3.2 Preparação das amostras

As amostras foram levadas ao Laboratório de Biogeoquímica Costeira - LABOMAR/UFC onde foram realizadas pesagens de cada indivíduo (FIGURA 10) em balança analítica.

Figura 11 – Média do peso úmido individual dos camarões selvagens e de cultivo de cada classe (P,M,G).



Fonte: O autor.

Posteriormente, os indivíduos foram separados em 3 classes de acordo com o peso (camarões pequenos, médios e grandes) (TABELA 2).

Tabela 2- Média do peso úmido individual dos camarões selvagens e de cultivo de cada classe (P,M,G)..

Classe (n)	Peso (g)
Camarões selvagens	
Grupo P (30)	5,5±0,37
Grupo M (30)	10,24±0,76
Grupo G (16)	41,49±1,63
Camarões Cultivados	
Grupo P (30)	1,17±0,22
Grupo M (30)	8,59±0,43
Grupo G (30)	13,47±0,42

Fonte: o autor.

Cada classe de peso foi subdividida em 3 amostras compostas por 5 a 10 indivíduos de cada classe resultando num total de 18 amostras compostas. Em seguida, foi feita a separação dos tecidos (músculo e exoesqueleto) dos indivíduos de cada grupo e foram preparadas 18 amostras compostas de cada tecido (muscular e exoesqueleto), as quais foram novamente pesadas e, em seguida, congeladas. Ao total foram preparadas 36 amostras compostas das quais 9 foram de músculo de camarão selvagem, 9 de músculo de camarão de cultivo, 9 de exoesqueleto de camarão selvagem e 9 de cultivo.

As amostras compostas de tecidos foram congeladas e em seguida passaram pelo processo de liofilização (Liofilizador L101-LIOTOP) para a retirada da água da amostra, seguido de novas pesagens para obtenção do peso seco.

As amostras secas foram maceradas e foi pesado entre aproximadamente 0,1 a 0,2g de cada amostra em tubos de Teflon PFA aos quais foram adicionados 10 mL de ácido nítrico HNO₃ concentrado (65% v/v) bidestilado em destilador de sub-ebulição em quartzo modelo MA075 (Marconi). Os tubos, contendo ácido e amostra, permaneceram semiabertos em capela de exaustão por aproximadamente 1 hora em um processo de pré-digestão. Em seguida, os tubos foram levados ao forno de micro-ondas (Mars-Xpress CEM) por 30 minutos atingindo temperatura máxima de 200°C e potência máxima de 800W.

3.3 Determinação de Selênio Total

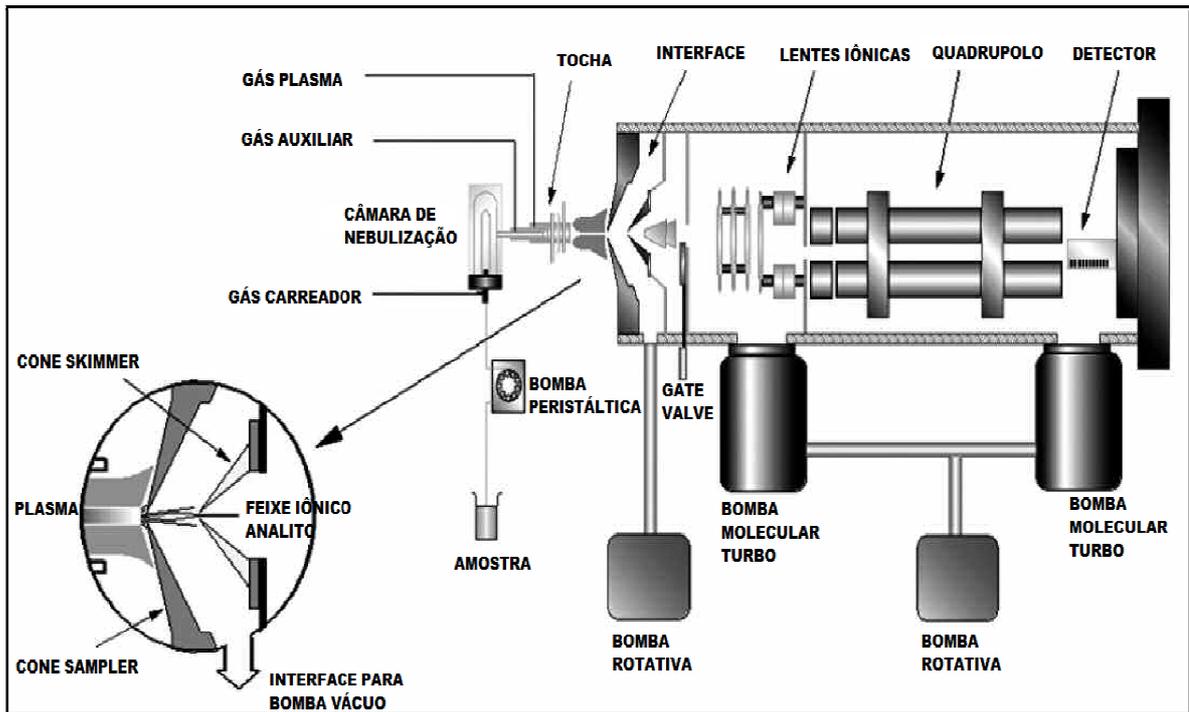
Existem vários métodos capazes de determinar traços de selênio ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) em amostras ambientais e biológicas. A escolha do método analítico depende de fatores como: disponibilidade do equipamento, o tempo e a complexidade do processamento das amostras, a reprodutibilidade, a sensibilidade e o limite de detecção (OMS, 1987).

Dentre os métodos existentes, os mais encontrados na literatura para análise de Se são a Análise por ativação de nêutrons (NAA), a Absorção atômica no forno de grafite (GF-AAS) ou por geração de hidretos (HG-AAS), a Espectrometria de massa com fonte de plasma induzido acoplado (ICP-MS), a Cromatografia gasosa (GC) e outros.

O método analítico empregado para esta análise de selênio total em amostras biológicas foi o da espectrometria de massa com fonte de plasma indutivamente acoplado (ICP-MS) (FIGURA 11) pela disponibilidade do equipamento no Laboratório de Biogeoquímica Costeira, oferecer baixo limite de detecção e se adequar às exigências do tipo de matriz biológica utilizada nesta análise.

A técnica de ICP-MS é conhecida por possibilitar análise multielementar (e isotópica) sequencial com rapidez e alta sensibilidade. Utiliza como fonte de ionização um plasma de argônio de energia de ionização de até 1,5 kW, e como detector, um espectrômetro de massa alta ou baixa resolução (setores magnético e elétrico, ou quadrupolo). Cerca de 90% dos elementos da tabela periódica podem ser determinados, com limites de detecção na ordem de 0,001 a 0,1 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ (CHAVES, 2008). A análise foi feita em sala limpa Classe 1000 do Laboratório de Biogeoquímica Costeira (LABOMAR/UFC) onde se encontra instalado o equipamento ICP-MS (VARIAN 820MS) (FIGURA 12).

Figura 12- Diagrama esquemático ICP-MS



Fonte: Adaptado de Agilent Technologies. (Disponível em: <<http://www.chem.agilent.com>> Acesso em: 2 mai.2012).

Figura 13-Equipamento ICP-MS (VARIAN 820MS) em funcionamento no Laboratório de Biogeoquímica Costeira (LABOMAR/UFC) em sala limpa classe 1000.



Fonte: o autor.

3.3.1 Otimização do método

Os parâmetros de operação do equipamento estabelecidos para esta análise a fim de garantir uma boa sensibilidade e resposta do equipamento estão expostos na Tabela 3.

Tabela 3-Condições de operação do equipamento

Fluxo de Gás do Plasma	15.00 L. min ⁻¹
Fluxo de Gás Auxiliar	1.80 L.min ⁻¹
RF Potência	1.35 kW
Frequência da bomba	3 rpm
Gás CRI Skimmer cone	H ₂
Fluxo do Gás H ₂	70 ml.min ⁻¹

Fonte: o autor.

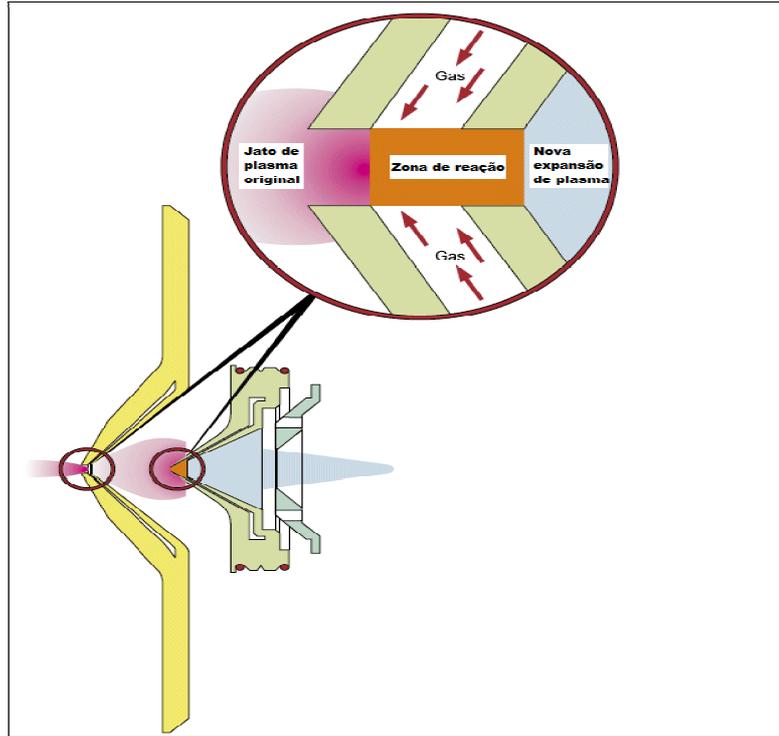
3.3.2 Correção de Interferências

A análise de Se via ICP-MS em matrizes biológicas é considerada bastante delicada, pois pode apresentar interferências que se classificam em dois tipos de acordo com a origem: interferências espectrais e interferências não espectrais. As interferências espectrais são as que ocorrem devido a sobreposições dos sinais espectrais entre íons com razões m/z que diferem em menos de 1 unidade de massa atômica, uma vez que a resolução do quadrupolo não é suficiente para identificar espécies atômicas e moleculares de mesma massa (GOOSSENS *et al.*, 1993). As interferências espectrais podem ser divididas em duas categorias, dependendo de sua origem: interferências causadas por sobreposições de sinais de isótopos de diferentes elementos com a mesma m/z nominal (isobáricas) ou podem ser causadas pela formação de íons com carga dupla ou íons contendo mais de um átomo. As interferências não espectrais são as que ocorrem devido a fatores que afetam o processo de transporte da amostra, a eficiência de produção de íons no plasma ou que alteram a extração e condução dos íons para o analisador de massas.

Visando eliminar problemas causados por interferências espectrais, foram desenvolvidos dispositivos com celas ou interfaces que promovem colisões e/ou reações em fase gasosa para garantir a resolução necessária à determinação. Nesta análise, por se tratar de uma matriz biológica complexa podendo conter diversos íons capazes de reagir formando compostos interferentes, foi utilizada a interface de colisão/reação (CRI) para a determinação de Se por ICP-MS. A tecnologia da CRI (*collisional reaction interface*) (FIGURA 13), presente nos equipamentos ICP-MS VARIAN 820 MS, tem provado ser um método efetivo para atenuar interferências de massa causadas por espécies atômicas ou poliatômicas contendo a mesma razão massa/carga que o analito (D'ILIO *et al.* 2011).

Nestas análises, foi utilizada a injeção do gás reacional hidrogênio (H_2) diretamente no plasma. Este gás é um dos mais utilizados nas análises de Se por reagir com o Argônio (Ar) impedindo a formação de dímeros ($^{40}Ar^{38}Ar$, $^{38}Ar^{38}Ar$, $^{36}Ar^{40}Ar$, $^{40}Ar^{40}Ar$) que constituem um dos principais interferentes deste método e de outros compostos (GOOSSENS *et al.*, 1993).

Figura 14- Mecanismo de funcionamento da CRI.



Fonte: Adaptado de Bruker Daltonics Inc.(Disponível em:< www.bruker.com/chemicalanalysis> Acesso em: 2 mai. 2012).

À medida que o H_2 flui através do cone *skimmer*, são induzidas reações que promovem a destruição dos íons poliatômicos. Na tabela 6, estão especificados os compostos interferentes para a análise dos isótopos ^{78}Se e ^{76}Se que foram corrigidos nessa análise.

Tabela 4-Isótopos de Se e interferentes corrigidos na análise.

Espécie	Abundância(%)	Interferentes
^{78}Se	23.5	$^{40}Ar^{38}Ar$, $^{62}Ni^{16}O$, $^{60}Ni^{18}O$, $^{38}Ar^{40}Ca$
^{76}Se	9.02	$^{38}Ar^{38}Ar$, $^{36}Ar^{40}Ar$, $^{60}Ni^{16}O$, $^{58}Ni^{18}O$, $^{59}Co^{17}O$

Fonte: o autor.

3.4 Reagentes e soluções

Todas as soluções foram preparadas com água ultrapura (18M Ω cm) obtida pelo sistema de destilação Milli-Q. Inicialmente, foi preparada solução de ácido nítrico HNO_3 bidestilado (65% v/v) 2% que serviu de solvente das demais soluções.

A solução padrão multi elementar (AccuTrace Standard™) contendo Se na concentração 1000ppb em matriz HNO₃ 2% foi usada para preparação da solução Se 100ppb. A partir da solução de 100 ppb foram feitas as diluições necessárias para obtenção dos pontos da curva de calibração.

Foi preparada solução Tuning 5 ppb a partir da solução multi elementar (Varian Tuning Solution- MassSpec) contendo vários elementos como Ba, Be, Ce, Co, In, Pb, Mg, Th, Tl. A solução Tuning permite avaliação da sensibilidade do equipamento e realização da calibração de massas antes do início da análise, possibilitando a correção dos sinais do equipamento, permitindo assim a obtenção de melhor desempenho analítico.

Como padrão interno, foi utilizada a solução contendo Ítrio (Y³⁹ m=89) (AccuTrace™). A solução de padrão interno promove as equalizações dos efeitos de transporte e de matriz, ou seja, as interferências não espectrais, possibilitando a calibração em meio aquoso. O uso de padrão interno é amplamente aplicado nas análises em ICP-MS baseado no fato de que o analito e o elemento adicionado como padrão interno sofrem variações de mesma intensidade relativa do sinal. No entanto, variações do sinal induzidas pela matriz analisada são reconhecidamente dependentes do número de massa do analito, de modo que muitos pesquisadores defendem a importância do uso de padrões internos com massa próxima ao analito (GOOSSENS *et al.*, 1993). O Ítrio e os isótopos de selênio analisados apresentam razão massa/carga próximas Y⁸⁹, Se⁷⁸ e Se⁷⁶, essa aproximação foi buscada a fim de obter melhores respostas do padrão interno.

3.5 Limite de detecção

O limite de detecção do método foi medido pelo cálculo do desvio da leitura de sete brancos de amostra multiplicado por 3,14 (STANDARD METHODS, 2005).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

O limite de detecção do método utilizado foi de $0,12 \mu\text{g.L}^{-1}$, valor adequado para o estudo proposto.

Os teores de Se encontrados nos organismos selvagens do ambiente marinho foram maiores que os encontrados para os organismos cultivados tanto para tecido muscular como para o exoesqueleto (Tabela 5).

Tabela 5-Média da Concentração de Se em cada amostra composta ($\mu\text{g.g}^{-1}$).

AMOSTRA	P1*	P2*	P3*	M1*	M2*	M3*	G1*	G2*	G3*
Camarão Selvagem (n= 76)									
Músculo	5,35	4,26	5,86	3,63	3,34	3,80	3,62	3,75	3,02
Médias	5,16±0,82			3,59±0,23			3,46±0,39		
Exoesqueleto	7,15	10,82	10,34	10,51	10,15	11,02	7,46	12,61	14,48
Médias	9,44±1,99			10,56±0,44			11,52±3,63		
Camarão do Cultivo (n=90)									
Músculo	2,52	7,16	3,19	2,01	1,83	2,17	2,17	1,53	1,59
Médias	4,29 ± 2,51			2,01±0,17			1,76±0,35		
Exoesqueleto	3,45	3,88	4,89	4,25	4,73	6,03	6,07	5,00	5,03
Médias	4,07±0,74			5,00±0,92			5,37 ±0,61		

* Valor da média da duplicata (P=Pequeno, M=Médio, G=Grande)

Fonte: O autor

O plâncton concentra Se diretamente da água do mar, aproximadamente 3 a 4 ordens de magnitude (LIU *et al*, 1987) e como visto na tabela 1, o plâncton muito provavelmente é a principal fonte de Se para os organismos marinhos. A diferença de acúmulo de Se entre as duas espécies pode ser explicada pelas diferentes condições de hábitat e diferenças nas quantidades e qualidades de alimento ingeridas, pois o ambiente natural está mais exposto a fontes antrópicas de selênio como práticas agrícolas, pesca, navegação, processos industriais, liberação de efluentes.

Tanto nos organismos marinhos como nos cultivados, os valores encontrados para a concentração do selênio nos exoesqueletos foi maior que os encontrados nos músculos. Em experimentos feitos com auxílio do radioselênio Se^{75} na água de cultivo de camarões (*Lysmata seticaudata*) foram encontradas maiores concentrações de selênio no exoesqueleto que em músculos e vísceras, o que foi atribuído em parte, devido a uma grande quantidade relativa de selênio adsorvida na superfície exterior. Ao quantificar o teor do isótopo Se^{75} nas ecdises liberadas pelos camarões ao longo de seu crescimento, foi constatado que as mudas continham de 60 a 90% do total de Se^{75} da carga corporal. Indivíduos que tinham realizado a ecdise, analisados após 20 dias, apresentaram menores concentrações de selênio no exoesqueleto e em outros tecidos (FOWLER e BENAYOUN, 1976). Estudos feitos para a

determinação de metais (Cu, Zn, Cd e Pb) em camarão, os quais apresentaram comportamento semelhante, apresentando concentrações mais elevadas desses metais no exoesqueleto que na musculatura, sugeriram que poderia estar ocorrendo um transporte ativo de transferência do excesso desses metais do tecido muscular para o exoesqueleto, para serem liberados com a ecdise, caracterizando um processo de detoxificação no organismo (KETELES e FLEEGER, 2001; TORRES, 2009). Portanto, o comportamento do selênio nesse estudo pode ser indicativo de que as concentrações desse micronutriente no meio devem estar mais elevadas que o necessário para os organismos, ocorrendo assim, a transferência do excesso para o exoesqueleto, para que este seja liberado no processo de muda.

Em ambos os organismos, selvagens e cultivados, foi observada a tendência de aumento das concentrações de selênio no exoesqueleto com o crescimento dos organismos. Já nos músculos, foi observada a tendência à diminuição com o aumento do peso dos indivíduos. No entanto, ao somar o valor das concentrações determinadas para músculo e para o exoesqueleto, em ambos os organismos os valores se mantiveram próximos entre os grupos de diferentes classes (pequenos, médios e grandes). A média da concentração de selênio total entre os grupos de camarões selvagens resultou em valores torno de $14,58 \pm 0,42 \mu\text{g.g}^{-1}$ e para os de cultivo em torno de $7,5 \pm 0,75 \mu\text{g.g}^{-1}$, somando o valor encontrado no músculo e no exoesqueleto. Portanto, apesar de os crustáceos serem conhecidos por rapidamente bioacumular Se (PELLETIER, 1986) provavelmente, não deve estar ocorrendo bioacumulação de selênio nos organismos de uma mesma origem (selvagem ou de cultivo), pois os valores totais se mantiveram próximos ao longo dos grupos de diferentes pesos de mesma origem. Como o tamanho e peso da fase P no camarão marinho não corresponde ao tamanho da fase P do cultivo, esses grupos não podem ser comparados diretamente, servindo apenas para identificar a tendência da concentração de selênio nos tecidos com o peso nos organismos selvagens e cultivados.

4.1 Concentração de Selênio em Camarão Selvagem

As médias de concentrações de selênio encontradas entre os grupos de camarão selvagem foram em torno de $4,07 \pm 0,94 \mu\text{g.g}^{-1}$ para os tecidos musculares e em torno de $10,5 \pm 1,04 \mu\text{g.g}^{-1}$ para o exoesqueleto.

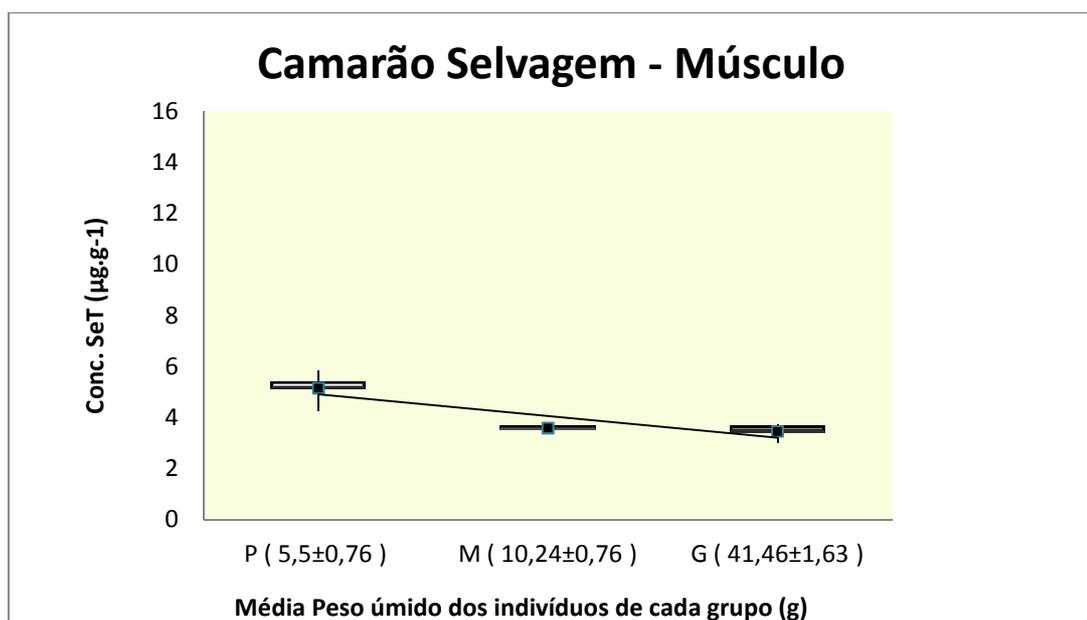
4.1.1 Músculo

As médias dos teores de selênio no tecido muscular dos grupos de amostras compostas de músculo de camarão marinho, ao longo dos grupos, variaram de $5,16 \pm 0,82$

$\mu\text{g.g}^{-1}$ nos organismos pequenos, $3,59 \pm 0,23 \mu\text{g.g}^{-1}$ nos organismos de peso intermediário e $3,46 \pm 0,39 \mu\text{g.g}^{-1}$ nos organismos maiores. Esses teores foram semelhantes aos encontrados para crustáceos ($3,1 - 6 \mu\text{g.g}^{-1}$) no Lago Wallace na Austrália, onde as concentrações de selênio na biota foram consideradas abaixo das reportadas para outros ecossistemas considerados contaminados (JASONSMITH *et al.* 2008). O valor proposto nos Estados Unidos como critério para a proteção da vida aquática para selênio baseado em tecidos foi $4 \mu\text{g.g}^{-1}$ (HAMILTON,2002). Portanto, de acordo com esse critério, alguns valores determinados nesta análise para músculo de organismos marinhos maiores estão acima do considerado seguro. No entanto, ainda há controvérsias a respeito desse valor. DeForest *et al.*(1999) propôs o valor de $10 \mu\text{g.g}^{-1}$ de Se na dieta e $9 \mu\text{g.g}^{-1}$ de Se corporal para peixes de águas quentes e $11 \mu\text{g.g}^{-1}$ de Se na dieta e $6 \mu\text{g.g}^{-1}$ de Se corporal para peixes de águas frias. Organismos planctônicos e invertebrados, de baixo nível trófico, podem acumular altas concentrações de selênio ($100 \mu\text{g.g}^{-1}$) sem exibirem efeitos tóxicos observáveis (LEMLY, 1993), porém o consumo desses organismos pode afetar predadores pela transferência ao longo da cadeia trófica (JASONSMITH *et al.* 2008). A concentração em que a toxicidade será observada variará com o organismo, por exemplo: invertebrados ($0,07\text{-}200\text{mg/L}$) e vertebrados ($0,09\text{-}82\text{mg/L}$) (MAIER *et al.* 1987).

A Figura 14 representa o gráfico das concentrações de Se muscular encontradas nas amostras de camarão selvagem. Nele, é observada a tendência de decréscimo da concentração de selênio muscular com o aumento do peso.

Figura 15-Gráfico das Concentrações de Se Muscular em Camarão Selvagem.

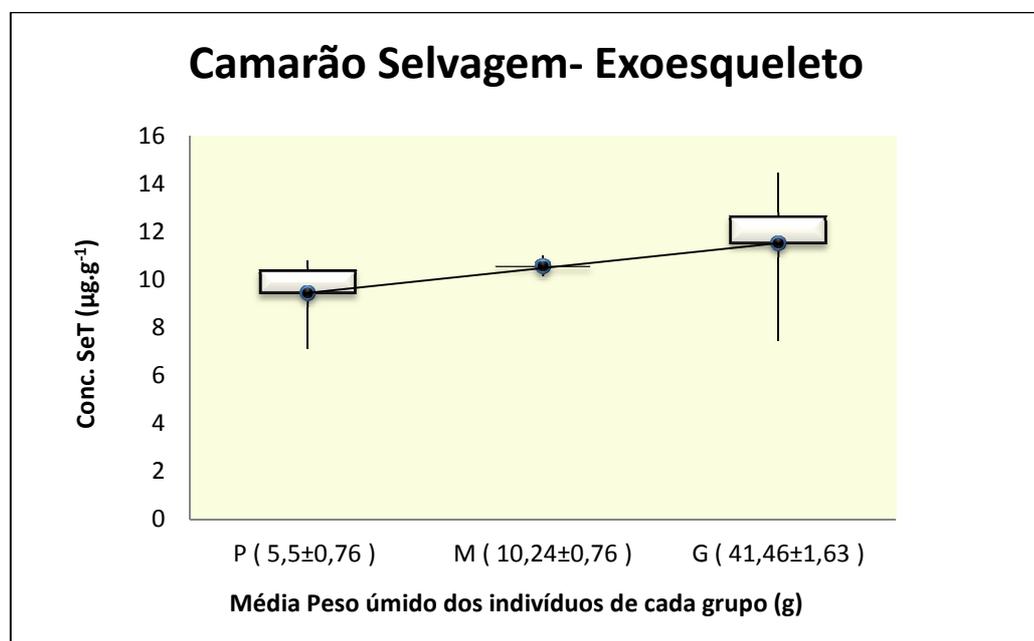


Fonte: o autor.

4.1.2 Exoesqueleto

As médias dos valores encontrados para as concentrações de selênio presentes nas amostras compostas de exoesqueleto de camarão marinho variaram ao longo dos grupos apresentando concentração média igual a $9,44 \pm 1,99 \mu\text{g.g}^{-1}$ nos grupos de indivíduos menores, $10,56 \pm 0,44 \mu\text{g.g}^{-1}$ nos organismos de peso médio e $11,52 \pm 3,63 \mu\text{g.g}^{-1}$ nos camarões maiores. A Figura 15 apresenta o gráfico elaborado para representação das concentrações de Se no exoesqueleto dos camarões selvagens que demonstram a tendência de aumento das médias das concentrações com o crescimento dos organismos.

Figura 16-Gráfico das Concentrações de Se em Camarão Selvagem- Exoesqueleto.



Fonte: o autor.

Esses valores corroboram com os apresentados por Hamilton (2001) para o conteúdo de Se encontrado nos músculos, fígado, rins e gônadas de uma espécie de peixe bentônico (*Xyrauchen texanus*) coletado em região selenífera do rio Colorado-EUA.

A tendência à diminuição dos teores de Se com o aumento do peso dos organismos pode ser indicativo de uma transferência do Se muscular para o exoesqueleto ao longo do período entre as mudas. Fato sugerido pelo aumento dos teores no exoesqueleto com o aumento de peso, ou seja, mais selênio deve estar sendo transferido para o exoesqueleto com o crescimento do indivíduo, aumentando o valor no exoesqueleto e diminuindo no músculo.

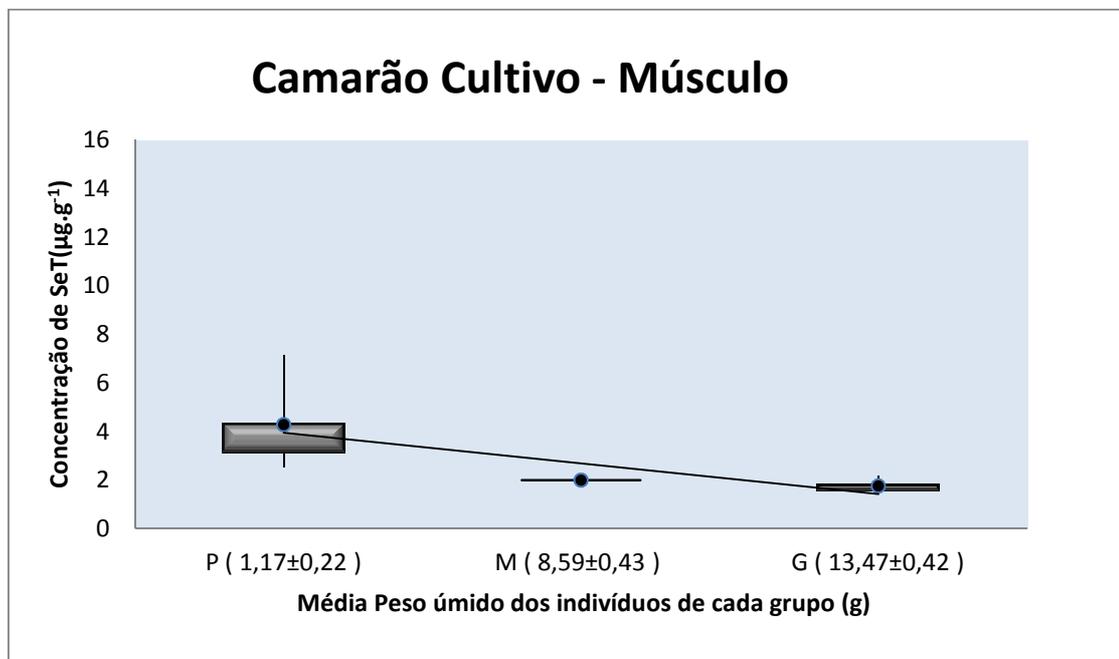
4.2 Concentração de Selênio em Camarão de Cultivo

Os valores encontrados para os organismos cultivados foram significativamente menores quando comparados aos encontrados nos camarões marinhos devido, provavelmente, ao reflexo da dieta alimentar à base de ração com níveis de Se possivelmente menores que os encontrados no ambiente natural ou devido ao fato de os camarões selvagens serem espécies de tamanho superior. Entretanto, os valores encontrados nos camarões cultivados são ainda considerados altos o suficiente para fornecer um bom suprimento de Se para a dieta humana, pois foram ainda maiores que os encontrados por Tenuta Filho, Macedo e Favaro (2010) em outros organismos marinhos como peixes ósseos (corvina, peixe-porco, pescada branca e sardinha) que foram em média de $0,48 \pm 0,18 \mu\text{g.g}^{-1}$ e de $0,36 \pm 0,07 \mu\text{g.g}^{-1}$ para peixes cartilagosos (cação-anjo, cação-cambeva, cação-machote e cação-mangona).

4.2.1 Músculo

O valor médio de concentração de selênio nos músculos da amostra composta por organismos considerados pequenos foi de $4,29 \pm 2,51 \mu\text{g.g}^{-1}$ e esse valor diminuiu para $2,01 \pm 0,17 \mu\text{g.g}^{-1}$ nos organismos de peso médio e para $1,76 \pm 0,35 \mu\text{g.g}^{-1}$ nos de peso grande (FIGURA 16).

Figura 17-Gráfico das Concentrações de Se muscular em camarão cultivado.



Fonte: o autor.

Esses valores são maiores que os encontrados por Guérin *et al.*, (2011) para crustáceos coletados em um mercado costeiro da França que variaram de $1-1,28 \mu\text{g.g}^{-1}$ e

foram semelhantes aos encontrados por Dietz *et al.*(1996) em duas espécies diferentes de camarão da Groenlândia que apresentaram médias variando entre $1,23 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ e $3,20 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$.

Esses valores estão abaixo ou próximos ao valor seguro para tecidos de organismos aquáticos segundo proposto por Hamilton (2002) que foi de $4 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$.

4.2.2 Exoesqueleto

A tendência apresentada pelo exoesqueleto foi a de aumento das concentrações de Se com o crescimento do grupo, iniciando com concentrações de $4,07 \pm 0,74 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ nos pequenos, passando para $5,00 \pm 0,92 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ nos médios e chegando a $5,37 \pm 0,61 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ nos grandes e está representada pelo gráfico elaborado a partir das concentrações de Se no exoesqueleto dos camarões cultivados (FIGURA 17).

A tendência de comportamento dos tecidos observada no camarão selvagem foi semelhante à observada nos cultivados. Com o aumento do peso do grupo, o Se diminui no tecido muscular e aumenta no exoesqueleto.



Fonte: o autor .

4.2.3 Ração

O valor de selênio encontrados para a ração utilizada no cultivo experimental foi de $2,11 \pm 0,34 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$.

Pesquisas recentes em uma espécie de pós-larvas de camarão amazônico testaram varias composições de Se e vitamina E na ração e concluiu-se que a ração fornecida deveria conter 200mg vitamina E/Kg e 0,5mg de selênio/Kg para proporcionar um melhor desempenho produtivo (SAMPAIO *et al.*,2004). Portanto, o valor encontrado é maior que $0,5\text{mg.Kg}^{-1}$, o que sugere que a quantidade fornecida pela ração é alta, no entanto não se sabe o teor de vitamina E, a qual possui efeito sinérgico com o selênio, como foi apresentado no tópico 1.3 deste trabalho. No entanto, vale ressaltar que o camarão amazônico apresenta exigências nutricionais diferentes dos camarões marinhos.

A concentração de Se encontrada na análise da ração esta contida no intervalo encontrado para concentração de SeT no fitoplâncton marinho ($0,5\text{-}2,7\ \mu\text{g.g}^{-1}$) e é menor que a encontrada para SeT em zooplâncton marinho ($2,2\text{-}6,3\ \mu\text{g.g}^{-1}$) por Liu *et al.*,(1987), que são alimentos para o camarão selvagem e isso pode explicar a diferença encontrada entre as duas espécies.

O acúmulo de Se na biota apresenta amplo espectro de variações, apresentando padrões temporais, órgão específicos e interespecíficos (CHATTERJEE *et al.*, 2001).

No ambiente natural, em regiões estuarinas e costeiras, onde habitam os camarões selvagens nos estágios juvenis do seu ciclo de vida, sedimentos de fundo atuam como depósitos de vários metais e elementos traço como o selênio e os mesmos servem como fonte desses elementos para os bentos e as águas adjacentes (CHATERJEE *et al.*, 2000), possivelmente, influenciando na maior disponibilidade de selênio para os organismos selvagens.

Provavelmente, o cultivo também afeta a bioquímica de acumulação e detoxificação do Se nos organismos. Como as curvas de tendência da concentração de Se são distintas, os mecanismos de incorporação e detoxificação devem também ser diferentes. A variável avaliada que mais alterou as concentrações de Se nos organismos entre as espécies nativas e cultivadas foi, para este estudo, a variação do peso do indivíduo.

5 CONCLUSÃO

Os camarões, tanto os selvagens como os cultivados, podem ser considerados matéria-prima para a produção de alimento funcional, por representarem potenciais fontes de selênio para a alimentação humana. Ambos apresentaram níveis apreciáveis de concentração desse elemento em seus tecidos.

Foram observados teores mais elevados nos organismos selvagens em relação aos cultivados, provavelmente como resultado de variações de peso e idade. É importante salientar ainda que esses valores variam de acordo com a região geográfica, no caso do ambiente natural, uma vez que foram constatadas regiões mais ricas em selênio e regiões deficientes neste elemento no mundo. Já nos organismos cultivados, isso vai depender do tipo de ração oferecida, pois a dieta é a principal via de obtenção desse micronutriente, porém aumentar os teores nas rações não parece ser uma estratégia relevante uma vez que os organismos apresentaram características de processos de detoxificação desde as fases pós-larvais até a despesca.

Foram também observadas diferenças nas concentrações e nos padrões de concentração nos diferentes tecidos analisados em todos os organismos. De acordo com o aumento do peso do organismo, puderam ser observados padrões de aumento de concentração no exoesqueleto com o aumento do organismo e diminuição no tecido muscular indicando um possível mecanismo de detoxificação para liberação de excessos nas ecdises.

Os teores de Se nos exoesqueletos dos organismos cultivados podem ser manejados de forma a atingirem níveis adequados ao uso como matéria-prima para alimentos funcionais. No caso do uso dos exoesqueletos como matéria-prima para alimento funcional, será necessário avaliar teores de outros metais que podem apresentar características de elevada toxidez mesmo a baixas concentrações, visto que o mecanismo de detoxificação de Se é similar ao de outros metais como Hg, Cu e outros.

Os resultados apresentados neste estudo estão em processo de certificação para validação da metodologia apresentada.

Os resultados obtidos no presente estudo foram diferentes dos obtidos em estudos anteriores realizados com amostras de camarão marinho selvagem e de viveiro compradas em Agosto de 2010 no mercado da Praia do Mucuripe (Fortaleza-CE). Os teores de Se foram em média de 0,92 a 1,54 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ($1,28 \pm 0,29 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) nos músculos e 0,57 a 1,01 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ($0,74 \pm 0,19 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) nos exoesqueletos, sendo maiores nos camarões selvagens em comparação aos

cultivados. Estes valores são inferiores aos encontrados no atual estudo. Diferenças sazonais das amostragens e de localização geográfica podem afetar significativamente os teores de selênio no ambiente e conseqüentemente sua disponibilidade para a biota aquática e podem justificar estas diferenças.

REFERÊNCIAS

- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE CRIADORES DE CAMARÃO. Informações estatísticas 2011. Disponível em: <<http://www.abccam.com.br/abcc/estatisticas>>. Acesso em: 21 jun. 2012.
- ANAN, Y. *et al.* Speciation and identification of low molecular weight selenium compounds in the liver of sea turtles. **J. Anal. At. Spectrom.**, Cambridge, v.26, n.1, p.80–85, 2011. Disponível em: <<http://pubs.rsc.org/en/content/articlelanding/2011/ja/c0ja90032j/unauth>>. Acesso em: 30 jan. 2011.
- AONO, T.; NAKAGUCHI, Y.; HIRAKI, K. Vertical profiles of dissolved selenium in the North Pacific. **Geochemical Journal**, 25:45-55, 1991. Disponível em: <<http://svr4.terrapub.co.jp/journals/GJ/pdf/2501/25010045.PDF>>. Acesso em: 4 out. 2011.
- AMOUROUX, D. *et al.* Role of oceans as biogenic sources of selenium. **Earth and planetary science letters**, 189, p.277-283.2001. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com>>. Acesso em: 20 set.2011.
- BARBIERI JUNIOR, R.C.; OSTRENSKY NETO, A. **Camarões marinhos: Reprodução, maturação e larvicultura**. Viçosa: Aprenda Fácil, 2001. 352p.
- BOWIE, G.L., *et al.* Assessing selenium cycling and accumulation in aquatic ecosystems. **WATER, AIR, AND SOIL POLLUTION**, n.1-2, v.90, p.93-104. 1996.
- CHAPMAN, P.M. *et al.* 2009. Ecological Assessment of Selenium in the Aquatic Environment : Summary of a SETAC Pellston Workshop. Disponível em: <<http://www.setac.org/sites/default/files/SELSummary.pdf>>. Acesso em: 28 abr. 2012.
- CHATTERJEE, A.; BHATTACHARAYA, B.; DAS, R. Temporal and organ-specific variability of selenium in marine organisms from the eastern coast of India. **Advances in Environmental Research**, v.5, p. 167-74, 2001. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com>>. Acesso em: 26 mar.2011.
- CHAVES, E.S. *et al.* Determination of Co, Cu, Fe, Mn, Ni and V in diesel and biodiesel samples by ETV-ICP-MS. **J. Environ. Monit.**, n.10, p.1211-1216, 2008.
- CUTTER, G.A.; CUTTER, L.S. Selenium biogeochemistry in the San Francisco Bay estuary: changes in water column behavior. **Estuarine, Coastal and Shelf Science**, n.61, p. 463-476, 2004. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com>>. Acesso em: 3 jun.2011.
- D'ILIO, S. *et al.* Dynamic reaction cell ICP-MS for determination of total As, Cr, Se and V in complex matrices: Still a challenge? A review. **Analytica Chimica Acta**, n. 698, p. 6-13, 2011. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com>>. Acesso em: 13 fev.2012.
- D'ULIVO, A. Critical Review. Determination of Selenium and Tellurium in environmental samples. **Analyst**, n.122, p.117R-144R, 1997.
- DHILLON K.S.; DHILLON S.K. Distribution and management of seleniferous soils. **Advances in agronomy**, v.79, p.119-84, 2003.

DIETZ,R.; RIGET,F; JOHANSEN,P. Lead, cadmium, mercury and selenium in Greenland marine animals. *The Science of the total environment* v.186, p.67-93.1996

DIPLOCK, A.T.; HOEKSTRA, W.G. Metabolic Aspects of selenium action and toxicity. **Critical Reviews in Toxicology**, v. 4, n°. 3, p. 271-329,1976.

FERREIRA, K.S. *et al.* Concentração de selênio em alimentos consumidos no Brasil. **Rev Panam Salud Publica/Pan Am J Public Health** 11(3), p. 172-177. 2002.

FLOOR, G.H.; ROMÁN-ROSS, G. Selenium in volcanic environments: A Review. **Applied Geochemistry**, n. 27, p. 517-531, 2012.

FOWLER, S.W.; BENAYOUN, G. Accumulation and distribution of selenium in mussel and shrimp tissues. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 16, p. 339-346, 1976.

GAY, D.; MAHER, W. Natural variation of copper, zinc, cadmium and selenium concentrations in *Bembicium nanum* and their potencial use as a biomonitor of trace metals. **Water Research**, v.37 ,p.2173-2185, 2003.

GOOSSENS, J.; VANHAECKE, F.; MOENS, L.; DAMS R. Elimination of interferences in the determination of arsenic and selenium in biological samples by inductively coupled plasma mass spectrometry. **Analytica Chimica Acta**, Elsevier Science Publishers B.V., Amsterdam, v. 280, p. 137-143, 1993.

GUÉRIN, T. *et al.* Determination of 20 trace elements in fish and other seafood from French market. **Food Chemistry**, v.127, p.934-942, 2011.

HAMILTON, S.J. *et al.* The evaluation of contaminant impacts on razorback sucker held in flooded bottomland sites near Grand Junction, Colorado-1996.**US Geological Survey**, Yankton, SD. Report to the Upper Colorado River Endangered Fish Recovery Program, Denver, CO, p.302, 2001.

HAMILTON, S.J. Rationale for a tissue-based selenium criterion for aquatic life. **Aquatic toxicology**, n.57, p.85-100, 2002.

HAMILTON, S.J. Review of selenium toxicity in the aquatic food chain. **Science of the total environment**, v.326, p.1-31, 2004.

HAWKESFORD, M.J. ;ZHAO, F. Strategies for increasing the selenium content of wheat. **Journal of Cereal Science**, n. 46, p.282-292, 2007.

HODSON, P.V. The effect of metal metabolism on uptake, disposition and toxicity in fish. **Aquatic Toxicology**, n.11, p.3-18, 1988.

HODSON, P.V.; HILTON, J.W. The nutritional requirements and toxicity to fish of dietary and waterborne selenium. **Ecological Bulletins**, n.35, p.335-340, 1983.

INSTITUTE OF MEDICINE (USA). DRI – **Dietary reference intakes for vitamin C, vitamin E, selenium and carotenoids: a report of the panel on dietary antioxidants and**

related compounds. Washington: National Academy, 2000. 506p. Disponível em: <http://www.nap.edu/openbook.php?record_id=9810&page=284>. Acesso em: 22 abr. 2012.

JASONSMITH, J.F. Selenium bioaccumulation and biomagnifications in Lake Wallace, New South Wales, Australia. **Marine and Freshwater Research**, v.59, p.1048-1060, 2008. Disponível em: <www.publish.csiro.au/journal/mfr>. Acesso em: 12 fev. 2012.

KEHRIG, H.A.; SEIXAS, T.G.; MOREIRA, I. & MALM, O. Bioacumulação de metais pesados e metalóides por bivalvos. *In* : Encontro Nacional de Química Ambiental, Cabo Frio, Rio de Janeiro, Brasil, 3., 2006. **III Encontro Nacional de Química Ambiental**, 2006.

KEHRIG, H.A.; SEIXAS, T.G.; PALERMO, E.A. ; BAETA, A.P. ; CASTELO-BRANCO, C.W. ; MALM, O. & MOREIRA, I. The relationships between mercury and selenium in plankton and fishes along a tropical food web. **Environmental Science Pollution Research**. v.16, n.1, p.10-24, 2009.

KETELES, K.A.; FLEEGER, J.W. The contribution of ecdysis to the fate of copper, zinc and cadmium in grass shrimp, *Palaemonetes pugio* Holthius. **Marine Pollution Bulletin**, v.42, p.1397-1402, 2001.

KÖLB, G. Concepts for the identification and determination of selenium compounds in the aquatic environment. **Marine Chemistry**, v.48, p.185-197. 1995

LEMLY, A.D. Teratogenic effects of selenium in natural populations of freshwater fish. **Ecotoxicology and Environmental safety**, v.26, p.181-204, 1993.

LEMLY, A.D. A Teratogenic Deformity Index for Evaluating Impacts of selenium on Fish Populations. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, n.37, p.259-266, 1997.

LEMLY, A.D. Selenium Transport and Bioaccumulation in Aquatic Ecosystems: A Proposal for Water Quality Criteria Based on Hydrological Units. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 42, n. 2, p. 150-156, 1999 .

LEMLY, A.D. Aquatic selenium pollution is a global environmental safety issue. **Ecotoxicology and Environmental safety** , v.59, p. 44-56, 2004.

LENZ, M.; LENS, P. N. L.. The essential toxin: The changing perception of selenium in environmental sciences. **Science of the total environment**, v.407, p.3620-3633, 2009. Disponível em: <www.science direct.com>. Acesso em: 23 jan. 2012.

LIU, D.L.; YANG, Y.P.; HU, M.H.; HARRISON, P.J. ;PRICE, N.M. Selenium content of marine food chain organism from the coast of China. **Marine Environmental Research**, v.22, p.151-165 ,1987.

MAIER, K.J.; FOE, C.; OGLE, R.S., WILLIAMS, M.J.; KNIGHT, A.W., KIFFNEY, P. & MELTON, L.A. The dynamics of selenium in aquatic ecosystems. **Trace Substances in Environmental Health**, v.21, p.361-408, 1987.

MCNEAL, J.M.; BALISTRIERI, L.S.. Geochemistry and occurrence of selenium: An overview. p 1-13. In: L.W. Jacobs, (ed.), SSSA Spec. Publ., 23. **Selenium Agric. Environ., Madison, WI.** 1989.

MESTRE, C. *et al.* Sponges as sentinels: Patterns of spatial and intra-individual variation in trace metal concentration. **Marine Pollution Bulletin**, v. 64,p. 80-89, 2012.

OLIVIERI ,O. *et al.* Low selenium status in the elderly influences thyroid hormones. **Clin Sci (Cholch)**, v.89,n.6,p.637-642, 1995.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE. Selenium.Environmental Health Criteria N°58. **World Health Organization.** Geneva Switzerland. 1987.

PEDRERO, Z.; MADRID, Y. Novel approaches for selenium speciation in foodstuffs and biological specimens: A review. **Analytica Chimica Acta**, v.634,p.135-152, 2009.

PELLETIER,E. Mercury-Se interactions in aquatic organisms: A review. **Marine Environmental research.** v.18,p.111-132, 1986.

PONTES, C.S. e ARRUDA, M. de F. Comportamento de *Litopenaeus vannamei* (Boone,1931) (Crustacea, Decapoda, Penaeidae) em função da oferta do alimento artificial nas fases clara e escura do período de 24 horas. **Rev. Bras. Zool.** ,v.22 ,n.3, Curitiba, 2005.

PURKERSON, D.G.; DOBLIN, M.A.; BOLLENS, S.M.; LUOMA, S.N.; CUTTER, G.A. Selenium in San Francisco Bay Zooplankton: Potential Effects of hydrodynamics and food web interactions. **Estuaries**,v.26,n.4A,p.956-969,2003.

RALSTON, N.V.C. e RAYMOND, L.J. Dietary selenium's protective effects against methylmercury toxicity. **Toxicology**, 278, 112-123, 2010.

RAYMAN, M.P. The importance of selenium to human health: Review. **The Lancet**, v.356, p.233-241, 2000.

SAMPAIO,F.G. et al. Níveis de vitamina E e de selênio para pos-larvas de *Macrobrachium amazonicum*. **Acta Scientiarum.** Animal Sciences. Maringá, v. 26, n.1, p. 129-135, 2004.

SARMENTO, R.F.O. **Revisões Sistemáticas em Terapia Intensiva - Suplementação de Selênio**, Medicina Perioperatória, p.903-912, 2006. Disponível em: <<http://www.saj.med.br/uploaded/File/artigos/Revisoes.pdf>>. Acesso em: 24 mar. 2012.

SCWARTZ, K.; FOLTZ, C.M. Selenium as an integral part of factor 3 against dietary necrotic liver degeneration. **Journal of the American Chemistry Society**, v.79,p. 3292-3293,1957.

SEIXAS, T.G., *et al.* Essencial(Se,Cu) and non-essencial (Ag,Hg,Cd) elements: What are their relationships in liver of *Sotalia guianensis* (Cetacea,Delphinidae)? **Marine Pollution Bulletin**,v. 58,p. 601-634, 2009.

SEIXAS, T.G. *et al.* Distribuição de Selênio em organismos marinhos na Baía de Guanabara/RJ. **Quim. Nova**, São Paulo, v.30, n.3, p.554-559, 2007.

SEIXAS,T.G.; KERIG,H.A. O Selênio no ambiente. **Oecol. Bras.**, v.11,n.2, p. 264-276, 2007.

SOARES, T.M., *et al.* Mercury accumulation and metallothionein expression from aquafeeds by *Litopenaeus vannamei* Boone, 1931 under intensive aquaculture conditions. **Braz. J. Biol.**, v. 71, n. 1, p. 131-137, 2011.

STANDARD METHODS for the Examination of Water and Wastewater, 20^a Ed., USA, APHA, 2005;

TAKEMATSU, N. *et al.* Uptake of selenium and other oxoanionic elements in marine ferromanganese concretions of different origin. **Marine Chemistry**,v. 31,p.271-283,1990.

TAMARI, Y. Neutron activation analysis of selenium and 17 elements in sediment. **Radioisotopes**,v. 28,p.1-6,1979.

TENUTA FILHO,A.; MACEDO,L.F.L.;FAVARO,D.I.T. Concentração e retenção do selênio em peixes marinhos. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, Campinas, v.30(Supl.1),p.210-214, 2010.

TORRES, R.F. **Disponibilidade dos metais cobre e chumbo em um canal de maré receptor de efluentes da carcinicultura.** Dissertação (Mestrado em ciências marinhas tropicais) – Instituto de Ciências do Mar-LABOMAR,Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2009.

WAGEMANN, R. *et al.* Methylmercury and total mercury in tissues of arctic marine mammals. **Science of the total environment**, v.218, p.19-31,1998.

WEN,H.;CARIGNAN,J. Review on atmospheric selenium: Emissions,speciation and fate. **Atmosferic Environment** v.41, p.7151-7165.2007.Disponível em: <www.sciencedirect.com>. Acesso em: 22 mar. 2012.

YANG, K.X.; SWAMI, K. Determination of metals in marine species by microwave digestion and inductively coupled plasma mass spectrometry analysis. **Spectrochimica Acta Part B** v.62, p. 1177-1181, 2007.