

## Efeito do congelamento sobre a concentração de retinol em fígado de codorna

### Effect of freezing procedure on the retinol concentration in liver quail

RIALA6/1370

Roberto DIMENSTEIN<sup>1\*</sup>, Márcia Marília Gomes DANTAS<sup>1</sup>, Videanny Videnov Alves dos SANTOS<sup>1</sup>, Heryka Myrna Maia RAMALHO<sup>2</sup>

\*Endereço para correspondência: <sup>1</sup>Departamento de Bioquímica da Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Av. Senador Salgado Filho, 3.000, Lagoa Nova, Natal/RN, Brasil. CEP 59072-970. E-mail: rdimenstein@gmail.com.

<sup>2</sup>Universidade Potiguar – Laureate International Universities

Recebido: 26.08.2010 – Aceito para publicação: 29.05.2011

#### RESUMO

A deficiência de vitamina A tem sido caracterizada como problema de saúde pública nos países em desenvolvimento. Contudo, a ingestão de alta quantidade de vitamina A pode resultar em efeitos tóxicos e teratogênicos. Neste estudo foi analisado o efeito do congelamento sobre os níveis de retinol em fígado de codorna, utilizando-se a cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE). Avaliou-se, também, sua contribuição para a ingestão dietética recomendada a crianças, homens e mulheres. Os valores médios de retinol nas amostras frescas e congeladas de fígado de codorna foram, respectivamente, de 6145,7 µg/100g e 5105,5 µg/100g. O congelamento do fígado causou redução significativa nos níveis de retinol, com perda de 17%. Quanto à ingestão dietética de referência (DRI) de retinol para crianças de 1 a 3 anos e de 4 a 8 anos, um fígado de codorna, que equivale a 6 g, contribui, respectivamente, com 123% e 92%, o que mostra que o consumo de um fígado de codorna ultrapassa os limites de ingestão diária dessa população. Em indivíduos adultos, esse alimento contribuiu com 41% das necessidades diárias para homens e com 52% para mulheres, o que indica que o fígado de codorna representa ótima fonte de vitamina A.

**Palavras-chave.** congelamento, retinol, fígado, codorna.

#### ABSTRACT

Vitamin A deficiency has been characterized as a public health issue in developing countries. Otherwise, an intake of large doses of vitamin A may cause toxic and teratogenic effects. This study analyzed the effect of freezing procedure on the retinol contents in quail liver by means of high performance liquid chromatography (CLAE). It was also evaluated the contribution to dietary intake in children ranging from 1 to 8 years old, men and women. The average contents of retinol found in the fresh and frozen samples were 6145.7 µg/100g and 5105.5 µg/100g, respectively. The freezing process on the liver caused a significant reduction on retinol contents, with a loss of 17%. Concerning the retinol dietary reference intakes (DRI) for children from 1 to 3 years old and from 4 to 8 years old, one quail liver, which is equivalent to 6 g, provides 123% and 92% of retinol, respectively, showing that the consumption of one quail liver exceeds the limits of daily intake in children from 1 to 3 years old. In adults, the quail liver provides 41% of the required amount to men and 52% to women. This product shows to be a suitable source of vitamin A.

**Keywords.** freezing, retinol, liver, quail.

## INTRODUÇÃO

A vitamina A é um álcool (retinol) isoprenóide, lipossolúvel e insaturado, encontrado em alimentos de origem animal na forma esterificada<sup>1</sup>. Este micronutriente necessário em pequenas quantidades é fornecido pelos alimentos e, em condições normais, cerca de 90% é armazenado no fígado. Ela se origina de dois grupos de compostos: os retinóides, que correspondem à vitamina A pré-formada e são encontrados na natureza exclusivamente em alimentos de origem animal, e os carotenóides, que são encontrados principalmente em vegetais de coloração amarelo-alaranjado e vegetais folhosos verde-escuros<sup>1</sup>.

A vitamina A é essencial para o organismo humano por desempenhar funções no metabolismo geral de lipídios e proteínas, crescimento celular, visão, desenvolvimento embrionário, reprodução e proliferação celular<sup>2</sup>.

Atualmente a deficiência de vitamina A tem sido caracterizada como um problema de saúde pública nos países em desenvolvimento e leva à queratinização de epitélios, afetando os olhos e o revestimento dos tratos gastrointestinal, respiratório e do aparelho geniturinário, afetando também a integridade do sistema imune<sup>3</sup>. Sarni et al.<sup>4</sup> enfatizam que a deficiência de vitamina A é ainda a principal causa de cegueira evitável no mundo, estando também associada a 23% das mortes por doença diarreica em crianças. Essa deficiência também contribui para o aumento significativo dos índices de morbi-mortalidade infantis associados a processos infecciosos.

O combate à deficiência de vitamina A nas áreas reconhecidas como endêmicas pode ser feito através de medidas que garantam a segurança alimentar e nutricional da população, como o enriquecimento de alimentos e o estímulo à produção e consumo de fontes alimentares de vitamina A e seus precursores.

Em contrapartida, uma alta ingestão de vitamina A pode resultar em efeitos tóxicos e teratogênicos, tais como distúrbios de diferenciação celular<sup>5</sup>. Em humanos, há evidências de má-formação em crianças, quando as mães consomem altas doses de vitamina A durante a gestação (>750 µg /dia)<sup>6</sup>. Segundo Majchrzak et al.<sup>7</sup>, uma excessiva ingestão de vitamina A é usualmente resultado do consumo de altos níveis de suplementos, mas é também associada ao consumo de fígado. O limite superior tolerável de segurança de ingestão de vitamina A, segundo a ingestão dietética de referência

(DRI)<sup>8</sup>, é de 3000 µg/dia, independentemente da fonte dessa vitamina.

São raras as pesquisas sobre o conteúdo de retinol em fígado de codorna. Apenas um estudo realizado por Karadas et al.<sup>9</sup> verificou um valor médio de retinol em fígado de codornas adultas de 4787 µg/100g.

Tendo em vista a escassez de trabalhos que determinem a quantidade de retinol em fígado de codornas e a estabilidade desse micronutriente durante o seu processamento, seria interessante investigar os níveis de retinol no fígado dessa ave, bem como o efeito do congelamento sobre esses níveis. Esses dados possibilitariam a complementação de bases de dados nacionais sobre o valor nutritivo de alimentos que podem integrar a dieta da população. Além disso, avaliamos qual seria a contribuição do consumo desse alimento para a ingestão dietética recomendada às crianças na faixa etária de 1 a 8 anos, homens e mulheres.

## MATERIAL E MÉTODOS

### Material Biológico

No presente estudo, foram utilizados seis fígados de codornas da espécie *Coturnix coturnix japonica* com 29 semanas de idade. Todas as aves usadas neste estudo receberam uma dieta basal, conforme recomendações do National Research Council<sup>10</sup> para codornas em postura, composta por 20% de proteína, 2% de gordura, 2,5% de cálcio e 0,6% de fósforo, com níveis de vitaminas A e E de 10.000UI e 0,6 mg, respectivamente.

Os fígados das aves abatidas comumente por dessensibilização foram diretamente coletados na Escola Agrícola de Jundiá, Macaíba/RN, Brasil (entre novembro/2006 e dezembro/2006) e transportados ao Laboratório de Bioquímica da Nutrição da Universidade Federal do Rio Grande do Norte.

### Preparo das amostras

No Laboratório, os fígados de codorna foram primeiramente pesados, em seguida realizado um *pool* dessas amostras para a realização de dois tipos de análises: das amostras frescas e com sessenta dias de congelamento. A cada amostra foi adicionada quantidade equivalente ao seu peso de solução salina a 0,9% e, em seguida, homogeneizada com um mix triturador, formando assim um homogeneizado de fígado a 50%, do qual foram retiradas cinco alíquotas de 1 mL de fígado.

### Hidrólise alcalina e extração do retinol

Todas as alíquotas foram extraídas segundo Gebre-Medhin e Valquist<sup>11</sup>, como descrito a seguir: em 1 mL de homogenado foram adicionados 1 mL de etanol (95%) e 0,5 mL de hidróxido de potássio (50%). A mistura foi agitada e levada ao banho-maria, na temperatura de 45 °C durante duas horas. Em seguida, foram adicionados 3 mL de hexano e, após agitação, o tubo foi centrifugado por dez minutos (500xg). A camada hexânica foi removida e a operação repetida mais uma vez, sendo as fases hexânicas reunidas em outro recipiente. O extrato hexânico foi evaporado sob atmosfera de nitrogênio, em banho-maria a 37 °C, e posteriormente ressuspensionado em 2,0 mL de etanol absoluto.

### Determinação do retinol por CLAE

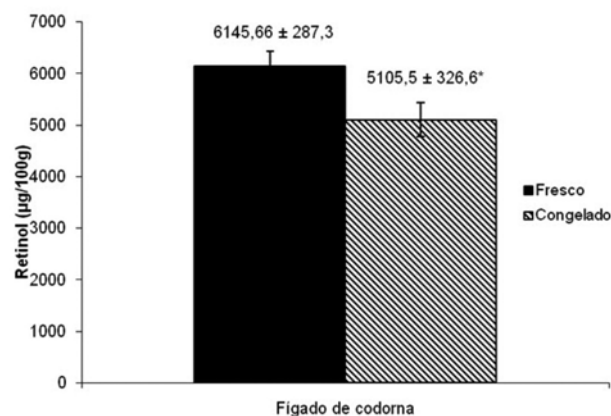
A concentração de retinol das amostras foi determinada pela Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) em cromatógrafo LC-10 AD Shimadzu, acoplado a um detector SPD-10 A Shimadzu UV-VIS e integrador Chromatopac C-R6A Shimadzu, com uma coluna e pré-coluna CG nucleosil C<sub>18</sub> de 4,6 mm x 25 cm. Foram injetados 20 µL da amostra e o cromatograma evoluiu nas seguintes condições: fase móvel metanol 100% e fluxo 1,0 mL/min.

A identificação e a quantificação do retinol nas amostras foram estabelecidas por comparação com o tempo de retenção e a área do respectivo padrão de all-trans retinol – SIGMA. As concentrações dos padrões foram confirmadas pelo coeficiente de extinção específico (E1%, 1 cm = 1850) em etanol absoluto a 325 nm para retinol<sup>12</sup>.

Para testar as diferenças entre as médias dos dados foi utilizado o Test-t Student em amostras pareadas. As diferenças foram consideradas significativas quando  $p < 0,05$ .

## RESULTADOS

O valor médio de retinol encontrado nas amostras frescas de fígado de codorna foi de  $6145,7 \pm 287,3$  µg/100g. Após um período de 60 dias de congelamento, o valor médio atingiu  $5105,5 \pm 326,6$  µg/100g, demonstrando uma diferença estatisticamente significativa ( $p < 0,05$ ), representando uma redução de 17% nos níveis de retinol nos fígados de codorna após 60 dias de congelamento. As concentrações de retinol nos fígados de codornas frescos e congelados são mostradas na Figura 1.



\* Diferença estatisticamente significativa do fígado fresco ( $p < 0,05$ )

**Figura 1.** Níveis de retinol em fígado de codornas, em momentos distintos de 60 dias

**Tabela 1.** Contribuição do fígado de codorna para as necessidades diárias de retinol

Idade	Recomendação diária	Porcentagem de cobertura*	
		Fresco	Congelado
1 – 3	300µg	123%	102%
4 – 8	400µg	92%	76%
Mulheres > 14	700µg	52%	43%
Homens > 14	900µg	50%	34%

\*Considerando a quantidade de ingestão equivalente a 6 g de fígado de codorna.

Considerando a recomendação diária de retinol equivalente para crianças na faixa de 1 a 3 anos de 300 µg; 400 µg/dia para crianças entre 4 e 8 anos; adultos de 900 µg para homens e 700 µg para mulheres<sup>8</sup> e, levando-se em consideração os níveis de retinol encontrados nos fígados de codorna frescos e congelados do presente estudo, verificou-se que o consumo de um fígado de codorna, que equivale a 6 g, pode cobrir em torno de 123 e 102% das recomendações diárias de retinol equivalente para crianças na faixa de 1 a 3 anos, 92 e 76% para crianças entre 4 a 8 anos, 41 e 34% para homens, e 52 e 43% para mulheres (Tabela 1).

## DISCUSSÃO

Em estudo realizado com fígado de diferentes animais, Majchrzak et al.<sup>7</sup> observaram nível médio de retinol no fígado de galinha (5600 µg/100g) semelhante ao encontrado no presente estudo.

Os níveis de retinol dos fígados frescos de codorna encontrados neste estudo foram superiores aos

encontrados por Karadas et al.<sup>9</sup>, que também analisaram o nível de retinol em fígado de codorna, encontrando uma concentração de 4787 µg/100g.

Em estudo realizado com leite, Vidal-Valverde et al.<sup>13</sup> observaram perdas significativas no conteúdo de retinol após um período de 4 a 8 meses de congelamento.

Ao comparar os resultados obtidos com os apresentados em tabelas de alimentos para retinol no fígado de frango e galinha, observou-se que a média de retinol encontrada neste estudo para os fígados frescos de codorna (6145,66 µg/100g) foi superior ao da tabela americana USDA<sup>14</sup> para fígado de galinha (3290 µg/100g) e a da TACO<sup>15</sup> para fígado de frango (3683 µg/100g).

Os valores encontrados demonstram que o fígado de codorna é uma excelente fonte de vitamina A. No entanto, para que o seu consumo seja incentivado como medida de combate à deficiência de vitamina A, alguns critérios devem ser considerados, como: o hábito alimentar da população, o custo e a disponibilidade desse alimento na região. O fígado de codorna atende a estes critérios, além de ser um produto alimentício pouco aproveitado por criadores de codorna, visto que não apresenta valor comercial.

É necessário ressaltar que em populações que apresentam um bom estado nutricional em vitamina A, a ingestão desse alimento deve ser moderada, principalmente por mulheres em idade gestacional, devido aos efeitos tóxicos e teratogênicos de uma ingestão excessiva de vitamina A.

## CONCLUSÃO

Verificou-se uma significativa redução nos níveis de retinol no fígado de codorna após 60 dias de congelamento, ocasionando uma perda de 17% nesses níveis. Porém, os fígados de codorna analisados apresentaram uma alta concentração de retinol, mostrando que esse alimento é uma importante fonte de vitamina A, sendo uma boa alternativa para a alimentação da população, combatendo a deficiência dessa vitamina. Entretanto, seu consumo deve ser moderado, especialmente por mulheres em período gestacional e que possuam um bom estado nutricional para vitamina A.

A partir dos resultados deste estudo sugerimos o aproveitamento do fígado de codorna desperdiçado pela indústria de alimentos no enriquecimento de preparações utilizadas na dieta habitual da população, principalmente aquela localizada em áreas de risco de desenvolvimento de deficiência de vitamina A. Essa utilização pode ser semanal, na quantidade de 12 g *per capita*.

## REFERÊNCIAS

1. Mahan LK, Escott-Stump S. Krause: Alimentos, nutrição e dietoterapia, 8ª ed., São Paulo: Ed. Roca; 1998.
2. Dimenstein R, Nascimento THCR, Melo ILP, Ribeiro KDS. Avaliação dos níveis de retinol no colostro humano e sua relação com o estado nutricional materno em vitamina A. *Rev Bras Med*. 2006;65(5):206-10.
3. Geraldo RRC, Paiva SAR, Pitas AMCS, Godoy I, Campana AO. Distribuição da hipovitaminose A no Brasil nas últimas quatro décadas: ingestão alimentar, sinais clínicos e dados bioquímicos. *Rev Nutr*. 2003;16(4):443-60.
4. Sarni RS, Kochi C, Ramalho RA, Schoeps DO, Sato K, Mattoso LCQ et al. Vitamina A: nível sérico e ingestão dietética em crianças e adolescentes com déficit estatural de causa não hormonal. *Rev Assoc Med Bras*. 2002;48(1):48-53.
5. Vliet TV, Boelsma E, Vries AJ, Berg HVD. Retinoic acid metabolites in plasma are higher after intake of liver paste compared with a vitamin A supplement in women. *J Nutr*. 2001;131:3197-203.
6. Organização Mundial da Saúde. Vitamina A na gestação e na lactação: recomendações e relatório de uma consultoria. Recife: A Organização; 2001.
7. Majchrzak D, Fabian E, Elmadfa I. Vitamin A content (retinol and retinyl esters) in livers of different animals. *Food Chem*. 2005;98(4):704-10.
8. Institute of Medicine. Dietary reference intakes for vitamin A, vitamin K, arsenic, boron, chromium, copper, iodine, iron, manganese, molybdenum, nickel, silicon, vanadium, and zinc. Washington, DC: National Academy Press; 2001.
9. Karadas F, Surai PF, Sparks NHC, Grammenids E. Effects of maternal dietary supplementation with three sources of carotenoids on the retinyl esters of egg yolk and developing quail liver. *Comp Biochem Physiol*. 2005;140(4):430-5.
10. National Research Council. Nutrients requirements of poultry. Washington DC: National Academy of Sciences; 1994.
11. Gebre-Medhin M, Vahlquist, A. Vitamin A Nutrition in the Human Fetus: a comparison in Sweden and Ethiopia. *Acta Paediatr Scand*. 1984;73:333-40.
12. Nierenberg DW, Nann SL. A method for determining concentration of retinol, tocopherol, and five carotenoids in human plasma and tissue samples. *Am J Clin Nutr*. 1992;56:417-26.
13. Vidal-Valverde C, Ruiz R, Medrano A. Stability of retinol in milk during frozen and other storage conditions. *Eur Food Res Technol*. 1992;6:562-5.
14. USDA. National Nutrient Database for Standard Reference, Release 19 2007. [acesso 08 fev 2007]. Disponível em: [http://www.nal.usda.gov/fnic/foodcomp/cgi-bin/list\_nut\_edit.pl].
15. TACO-Tabela Brasileira de Composição de Alimentos/NEPA – UNICAMP-Versão II. Campinas: NEPA-UNICAMP; 2006.