

## AVALIAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DE RETINOL EM LEITE UHT (“ULTRA HIGH TEMPERATURE”) COMERCIALIZADO EM NATAL, RIO GRANDE DO NORTE

Fernanda Barros Soares, Juliana Morais de Sousa e Roberto Dimenstein\*

Departamento de Bioquímica, Centro de Biociências, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Av. Senador Salgado Filho, 3000, 59072-970 Natal – RN, Brasil

Recebido em 4/1/07; aceito em 24/8/07; publicado na web em 19/12/07

EVALUATION OF THE RETINOL CONCENTRATION IN UHT MILK COMMERCIALIZED IN NATAL, RN. Deficiency of micronutrients is a public health problem. Cow milk is a source of retinol. The objective of this study is to evaluate the retinol concentration in milk commercialized in Natal/RN. Ten samples were taken of each brand of UHT milk. Vitamin content was determined by HPLC using the Shimadzu LC-10 AD Chromatograph, coupled to the Shimadzu SPD 10 A UV-VIS Detector and the Shimadzu C-R6A Chromatopac Integrator with Shim-pack CLC-ODS (M) column, measuring 4.6 mm x 25 cm. The mobile phase was 100% methanol, with a flow of 1 mL/min. The mean retinol concentration varied between  $22.7 \pm 4.9 \mu\text{g}/100 \text{ mL}$  and  $44.1 \pm 4.1 \mu\text{g}/100 \text{ mL}$ , with the differences statistically significant ( $p < 0.001$ ). Only one of the 7 brands had retinol concentration below the normal requirements for human consumption.

Keywords: milk; cow; retinol.

### INTRODUÇÃO

A deficiência de micronutrientes é considerada hoje um dos problemas de saúde pública de maior relevância, podendo ser resolvida através da educação alimentar, diversificação alimentar, enriquecimento de alimentos ou suplementação alimentar<sup>1</sup>. A hipovitaminose A é a principal causa de cegueira permanente acompanhada de morte entre crianças de países em desenvolvimento, contribuindo também para o aumento significativo dos índices de morbidade e mortalidade infantil associada a processos infecciosos<sup>2</sup>.

A vitamina A é um micronutriente essencial nos processos como crescimento, diferenciação e manutenção da integridade epitelial<sup>3</sup>. Dimenstein<sup>4</sup>, com base em diversos autores, ressaltou que esta vitamina está envolvida em vários processos de importância biológica, como a reprodução, o ciclo visual e a diferenciação celular, que por sua vez afetam processos fisiológicos como o crescimento, o desenvolvimento fetal e a integridade do sistema imunológico. Esta vitamina lipossolúvel é encontrada na natureza na forma livre ou esterificada e encontra-se nos alimentos de origem animal em áreas de armazenamento como o fígado ou associada à gordura do leite<sup>1,5</sup>.

O leite constitui um alimento básico na alimentação humana especialmente para crianças, contribuindo com os nutrientes que estas requerem de maneira essencial para seu crescimento e desenvolvimento<sup>6,7</sup>. O leite de vaca é um dos alimentos considerados fonte de vitamina A, sendo muito apreciado e acessível à população, além de ser rico em proteínas e outros nutrientes<sup>8</sup>. Este tipo de leite sofre processamentos como pasteurização ou esterilização e, posteriormente, são embalados em recipientes para serem comercializados.

O leite UHT (“Ultra High Temperature”) ou UAT (Ultra Alta Temperatura) é o leite homogeneizado submetido à temperatura de 130 a 150 °C por 2 a 4 s, mediante processo térmico de fluxo contínuo, imediatamente resfriado a temperatura inferior a 32 °C e envasado sob condições assépticas em embalagens estéreis e hermeticamente fechadas<sup>9</sup>.

De acordo com a “Dietary Reference Intakes (DRIs)” de 2001<sup>10</sup>,

a ingestão recomendada de vitamina A para crianças de zero a 6 meses de idade é de 400 µg diariamente, no entanto concentrações ≤30 µg/dL são consideradas como indicativas de baixa concentração de retinol no leite<sup>11</sup>.

Existem poucos trabalhos que avaliem o retinol no leite e sua relação com a nutrição humana. No Brasil pode-se citar o trabalho de Bianchini e Pentead<sup>12</sup>, Flores e Abreu<sup>13</sup> na Venezuela e Hulshof *et al.*<sup>14</sup> na Holanda. Outros trabalhos focam mais a importância do retinol para o próprio animal<sup>15</sup> ou a distribuição do retinol nos glóbulos de gordura<sup>16</sup>. Com isso, o objetivo deste trabalho foi avaliar a concentração de retinol em leite de vaca integral UHT comercializado em Natal/RN.

### PARTE EXPERIMENTAL

As marcas utilizadas neste trabalho foram adquiridas através de seleção aleatória, em supermercados da cidade de Natal/RN. Foram analisadas 7 marcas de leite integral esterilizado (longa vida) em recipiente de 1 L, sendo um lote de cada marca e todas dentro do prazo de validade, tomando-se o cuidado de evitar amostras com prazo superior a 30 dias da data inicial de validade. De cada recipiente foram retiradas dez alíquotas, cada qual contendo 1 mL de leite. A extração foi realizada segundo Giuliano *et al.*<sup>17</sup>, modificada, como descrito a seguir. Após quantificar o volume de leite coletado foram acrescentados nas amostras hidróxido de potássio 50% v/v (Vetec) e álcool etílico 95% (Vetec), para a etapa de hidrólise alcalina. A proporção destes reagentes foi para cada 1 mL de leite foram adicionados 2 mL de KOH 50% e 1 mL de álcool etílico 95%. Em seguida, as amostras foram homogeneizadas durante 1 min e submetidas ao banho-maria sob agitação a 45 °C por 2 h. Utilizou-se como reagente extrativo 2 mL de hexano (Merck), repetindo-se o processo três vezes. Após cada adição de hexano, as amostras foram agitadas durante 1 min, centrifugadas a 4000 rpm por 10 min e a camada hexânica removida para outro tubo. O extrato hexânico foi evaporado sob atmosfera de nitrogênio, em banho-maria a 37 °C.

Para a análise bioquímica do retinol, o extrato seco foi suspenso em 1000 µL de metanol (Vetec) em grau de pureza para cromatografia

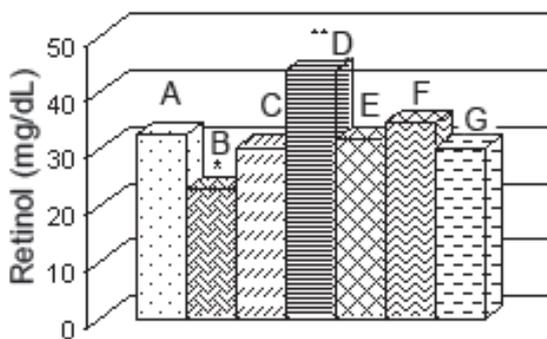
\*e-mail: rdimen@uol.com.br

líquida de alta eficiência (CLAE). A concentração de retinol das amostras foi determinada por 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 LC Shim-pack CLC-ODS (M) 4,6 mm x 25 cm. O cromatograma evoluiu nas seguintes condições: fase móvel metanol 100% e fluxo 1,0 mL/min. A identificação e quantificação do retinol nas amostras foram estabelecidas por comparação com o tempo de retenção e a área do respectivo padrão. A concentração do padrão foi confirmada pelo coeficiente de extinção específico ( $\epsilon_{1\%, 1\text{ cm}} = 1780$ ) em etanol absoluto e comprimento de onda de 325nm<sup>18</sup>.

Os valores de retinol foram expressos como média  $\pm$  desvio padrão. Para análise estatística utilizou-se o teste de ANOVA e para a diferença entre as médias individuais o teste de Tukey. Foi adotado nível de significância menor que 5% ( $p < 0,05$ ).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

As concentrações médias de retinol nas amostras de leite UHT das marcas A, B, C, D, E, F e G foram, respectivamente, em  $\mu\text{g/dL}$ ,  $32,5 \pm 4,4$ ;  $22,7 \pm 4,9$ ;  $30,3 \pm 1,9$ ;  $44,1 \pm 4,1$ ;  $31,7 \pm 4,6$ ;  $34,7 \pm 3,7$  e  $30,3 \pm 2,2$  (Figura 1). As médias B ( $p < 0,001$ ) e D ( $p < 0,0001$ ) foram estatisticamente diferentes das demais, enquanto as outras cinco não foram estatisticamente diferentes entre si ( $p > 0,05$ ).



**Figura 1.** Concentração de retinol nas marcas selecionadas  
\*estatisticamente diferente das outras médias (valor de  $p < 0,001$ ); \*\* estatisticamente diferente das outras médias (valor de  $p < 0,0001$ )

Estudos que demonstrem a concentração de retinol em leites integrais esterilizados são escassos, no entanto, tabelas de composição nutricional afirmam que a concentração desta vitamina no leite de vaca integral é de  $21 \mu\text{g/dL}$ <sup>19</sup>, já outra fonte afirma que a concentração é de 31 Retinol Equivalente/dL ( $31 \mu\text{g/dL}$ )<sup>20</sup>, enquanto a tabela americana assegura uma concentração de  $28 \mu\text{g/dL}$ <sup>21</sup>.

De acordo com Pereda<sup>22</sup> a concentração normal de retinol no leite bovino é de aproximadamente  $40 \mu\text{g/dL}$ . Bianchini<sup>12</sup> encontrou uma média de  $29,16 \mu\text{g/dL}$  de leite integral, enquanto Guzmán<sup>6</sup> encontrou  $31,3 \mu\text{g/dL}$ . Esses dados demonstram que os valores de retinol em leites integrais esterilizados são bem próximos, porém existe uma falta de padronização e consenso em relação à concentração normal de vitamina A no leite bovino.

Os resultados encontrados no presente estudo mostram que houve uma grande variação entre a maior e menor média ( $44,1$  e  $22,7 \mu\text{g/dL}$ ) e este fato pode ter ocorrido devido a características específicas do processamento de cada fabricante, como o manuseio do operador do maquinário, as oscilações de temperatura ou outros fatores que podem ter ocorrido durante o processamento objetivando aumentar o tempo de prateleira.

Das 7 marcas estudadas, uma estava acima da média, 5 não apresentaram diferenças entre as suas médias, mas uma apresentou média de retinol abaixo das outras. Considerando que para o consumo humano a concentração normal seja de  $30 \mu\text{g/dL}$ <sup>11</sup>, pode-se afirmar que apenas uma marca ( $14,3\%$  do total) não atende o mínimo desejável.

Ressaltamos, porém, que apesar de quatro marcas de leite estarem dentro da normalidade, os níveis de retinol foram limítrofes e que providências, tais como obrigatoriedade de enriquecimento dos leites com esta vitamina, deveriam ser tomadas para garantir um aporte regular e satisfatório de vitamina A para a população e, assim, diminuir o risco do desenvolvimento de sua deficiência.

## REFERÊNCIAS

- Penteado, M. D.; *Vitaminas: aspectos nutricionais, bioquímicos, clínicos e analíticos*, Ed. Manole: Barueri, 2003.
- Mclaren, D. S.; Frigg M.; *Manual de ver y vivir sobre los transtornos por deficiencia de vitamina A (VADD)*, Organizacion Panamericana de La Salud: Washington, 1999.
- Saunders, C.; Ramalho, R. A.; Leal, M. C.; *Rev. Bras. Saúde Materno-Infantil* **2001**, 1, 21.
- Dimenstein, R.; *Tese de Doutorado*, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Brasil, 1999.
- Mahan, L. K.; Escott-Stump, S.; *Krause: Alimentos, nutrição e dietoterapia*, 10ª ed., Ed. Roca: São Paulo, 2002.
- Guzmán, C.; Ernesto, de P. V.; Saturnino, Y. G.; Carmen, G.; *Rev. chil. pediat.* **2003**, 74.
- Ferreira, I. M.; *Br. J. Nutr.* **2003**, 90, 127.
- Veloso, A. C. A.; Teixeira, N.; Ferreira, I. M. P. L. V. O.; Ferreira, A. M.; *Quim. Nova* **2002**, 25, 609.
- Ministério da Agricultura, Abastecimento e Reforma Agrária; Portaria nº 146, de 07/03/1996.
- Trumbo, P.; Schlicker, S.; Yates, A. A.; Poos, M.; *J. Am. Diet. Assoc.* **2002**, 102, 1621.
- World Health Organization (WHO); *Indicator for assessing vitamin A deficiency and their application in monitoring and evaluating intervention programmes*, WHO: Geneva, 1996.
- Bianchini, R.; Penteado, M. V. C.; *Ciênc. Tecnol. Aliment.* **1999**, 19, 349.
- Flóres, A. E.; Abreu, E. O.; *Interciência* **2003**, 28, 75.
- Hulshof, P. J. M.; Roekel-Jansen, V. T.; Bovenkamp, V. de P.; West, C. E.; *J. Food Compos. Anal.* **2006**, 19, 67.
- Weiss, W. P.; *J. Dairy Sci.* **1998**, 81, 2493.
- Zahar, M.; Smith, D. E.; Martin, F.; *J. Dairy Sci.* **1995**, 78, 498.
- Giuliano, A. R.; Neilson, E. M.; Kelly, B. E.; *Methods Enzymol.* **1992**, 213, 391.
- Nierenberg, R. D.; Namm, S. L.; *Am. J. Clin. Nutr.* **1992**, 56.
- TACO; *Tabela Brasileira de Composição de Alimentos*, 2ª ed., Ed. Nepa-Unicamp: Campinas, 2004, p. 44.
- Philippi, S. T.; *Tabela de Composição de Alimentos: Suporte para decisão nutricional*, 2ª ed., Ed. Coronário: São Paulo, 2002, p. 55.
- [http://www.nal.usda.gov/fnic/foodcomp/cgi-bin/list\\_nut\\_edit.pl](http://www.nal.usda.gov/fnic/foodcomp/cgi-bin/list_nut_edit.pl), acessada em Outubro 2006.
- Pereda, J. A. O.; *Tecnologia dos Alimentos – Alimentos de Origem Animal*, Artmed Ed. S. A: Porto Alegre, 2005.