



GOVERNO DO ESTADO DE SÃO PAULO  
SECRETARIA DE ESTADO DA SAÚDE  
COORDENAÇÃO DOS INSTITUTOS DE PESQUISA  
INSTITUTO ADOLFO LUTZ  
SÃO PAULO, SP - BRASIL

REVISTA  
do  
INSTITUTO  
ADOLFO LUTZ



GOVERNO DO ESTADO DE SÃO PAULO  
SECRETARIA DE ESTADO DA SAÚDE  
COORDENAÇÃO DOS INSTITUTOS DE PESQUISA  
INSTITUTO ADOLFO LUTZ  
SÃO PAULO, SP-BRASIL.

## INSTITUTO ADOLFO LUTZ

---

### DIRETOR RESPONSÁVEL

LILIAN MARIA DE CASTILHO  
Diretora Geral do Instituto Adolfo Lutz

### COMISSÃO DE REDAÇÃO

JOSÉ EDUARDO TOLEZANO, Presidente  
CARMO ELIAS ANDRADE MELLES  
JÚLIA MARIA MARTINS DE SOUZA FELIPPE  
DILMA SCALA GELLI  
HEIDI PINTO MARTINS  
ALICE MOMOYO ATA SAKUNA  
PAULO TIGLEA

---

Endereço/address

Biblioteca do Instituto Adolfo Lutz  
Av. Dr. Arnaldo, 355 — Caixa Postal 7027  
01246-902 — São Paulo, SP - Brasil

Publicação semestral / *Bi-annual publication*  
Solicita-se permuta / *Exchange desired*

(\*)

REVISTA DO INSTITUTO ADOLFO LUTZ.  
(Secretaria de Estado da Saúde) São Paulo, SP — Brasil, 1941—

1941 — 1993, 1-53

1994, 54 (1)

ISSN 0073-9855  
RIALA6

CDD<sub>18</sub> 614.07205

(\*) ASSOCIAÇÃO PAULISTA DE BIBLIOTECÁRIOS. Grupo de Bibliotecários Biomédicos. *Normas para catalogação de publicações seriadas nas bibliotecas especializadas*. São Paulo, Ed. Polígono, 1972.

Os artigos publicados na REVISTA DO INSTITUTO ADOLFO LUTZ são indexados por Abstracts on Higiene and Communicable Diseases, AGRINDEX, Analytical Abstracts, Bibliografia Brasileira de Medicina Veterinária e Zootécnica, Biological Abstracts, Chemical Abstracts, Food Science and Technology Abstracts, Index Medicus Latino-americano, LILACS, SP: Saúde Pública, Microbiology Abstracts, Sumários Correntes Brasileiros, Toxicology Abstracts, Tropical Diseases Bulletin, Virology Abstracts e outros.

# REVISTA DO INSTITUTO ADOLFO LUTZ

ISSN 0073-9855

RIALA6

---

*Rev. Inst. Adolfo Lutz, 54(1): 1-68, JAN./JUN., 1994.*

---

## SUMÁRIO/CONTENTS

### Artigos

- 753 Incidência de aflatoxinas em amendoim e produtos derivados consumidos na Cidade de Recife, no período de 1989 a 1991.  
Incidence of aflatoxinas in peanut and peanut products consumed in Recife City, for the period 1989-1991.  
COLAÇO, W.; FERRAZ, U. & ALBUQUERGUE, R.L. .... 1-4
- 754 Avaliação da eficiência de antioxidantes em óleo de carne de Curimatá (*Prochilodus Scrofa*) separada mecanicamente através do Rancimat.  
Avaliation in the oxydants efficiency in meet oil of Curimbata (*Prochilodus Scrofa*) by Rancimat mechanical separation.  
MORAIS, C. de; CARVALHO, J.B. de; TAVARES, M.; GONÇALVES, L.A.G. & CAVALETTI, R.N. .... 5-10
- 755 Presença de ácaros em doces de amendoim e de leite vendidos por ambulantes na cidade de São Paulo.  
Presence of mites in bars of peanuts sweet and milk sweet, sold by stree's marchant in the city of São Paulo.  
FRANZOLIN, M.R.; BAGGIO, D.; CORREIA, M.; RODRIGUES, R.M.M.S. .... 11-5
- 756 Níveis de cádmio e chumbo em fígado e rins de bovinos.  
Cadmium and lead levels in catle's liver and kidney.  
ARANHAS.; NISHIKAWA, A.M.; TAKA, T. & SALIONI, E.M.C. .... 16-20
- 757 Sardinhas em óleo comestível. Parte II. Estudo da interação entre os cálcios graxos do peixe e do óleo de cobertura.  
Sardine in comestible oil. Part II. Study of interation between fish's fathyacids and covering oil.  
BADOLATO, E.S.G.; PIMENTEL, S.; TAVARES, M.;MORAES, C. .... 21-6
- 758 Composição centesimal, de ácidos graxos e valor calórico de cinco espécies de peixes marinhos nas diferentes estações do ano.  
Centesimal composition of fatty acids and caloricvalue of five marine fish speciesin the differents seasons.  
BADOLATO, E.S.G.; CARVALHO, J.B. de; AMARAL MELLO, M.R.P. do; TAVARES, M.; CAMPOS, N.C.; AUED-PIMENTEL, S. MORAIS, C. de..... 27-35
- 759 Dietilpropiona, femproporex, diazepam e fenolfaleína; determinação em formulações para emagrecimento.  
Diethylpropion, Femproporex, Diazepam and Phenolphthalein - determination in formulation for slim.  
CHAVES, M.A.; AKATUKA, A.S. & TRUJILLO, L.M. .... 36-43

760	Sardinhas em óleo comestível. I. Avaliação do parâmetros físico-químicos oficiais relacionados com o exame microbiológico e estudo da compatibilidade produto-embalagem em relação a compostos migrados. Sardines in edible oil. I. Evaluation of official physical-chemical parameters related with the microbiological examination and study of product-packaging compatibility in relation to migrated compounds. BACETTI, L.B.; TAVARES, M.; PASCUET, N.S.; TIGLEA, P.; GELLI, D.S. LOBANCO, C.M. & MORAIS, C. ....	44-50
761	Colesterol: modificações da metodologia oficial do Instituto Adolfo Lutz e sua quantificação em massas alimentícias. Cholesterol: modifications in official methodology in the Adolfo Lutz Institute and its quantification in the food paste. MARSIGLIA, D.A.P.; GARBELOTTI, M.L.; FLORA, C.; ZENEBO, O. & LEONARDO, M.V. ....	51-4
762	Estudo morfológico de aspirados de medula óssea em pacientes com síndrome da Imunodeficiência Adquirida. Morphological study of bone marrow aspirates in patients with AIDS. BARRETO, J.A. & MUNHOZ, M.A.G. ....	55-63
763	Influência da concentração do inóculo de cepas de <i>Haemophilus influenzae</i> em testes de sensibilidade a antimicrobianos. Influence of Inoculum Concentration of <i>Haemophilus influenzae</i> strains in the antimicrobial susceptibility tests. CASAGRANDE, S.T.; VIEIRA, M.P.F.; LANDGRAF, I.M.; ANTUNES, J.L.F. ....	64-8

## AOS COLABORADORES

A REVISTA DO INSTITUTO ADOLFO LUTZ tem por finalidade a divulgação de trabalhos especialmente relacionados com as atividades laboratoriais em Saúde Pública.

Os artigos destinados à Revista somente serão recebidos se redigidos de acordo com as seguintes normas:

## NORMAS PARA PUBLICAÇÃO

Os originais deverão ser redigidos na ortografia oficial, apresentados em duas vias (original e primeira cópia), datilografados com duplo entrelinhamento em folhas de papel tamanho ofício, com margens de 3 cm de cada um dos lados, numeradas com algarismos arábicos no ângulo superior direito. Evitar dividir as palavras no fim da linha, mesmo que a margem fique irregular, e nunca usar com este propósito barras ou sinais tipográficos para encher o espaço. No caso de ser utilizada máquina elétrica, usar a esfera de caracteres tipo redondo para o texto, reservando a esfera tipo itálico para palavras latinas ou de língua estrangeira.

No preparo do original, será observada, sempre que possível, a seguinte estrutura:

### *Página de rosto*

Título do artigo  
Nome do(s) autor(es)  
Filiação científica

### *Texto*

Introdução  
Material e Métodos  
Resultados  
Discussão  
Conclusões  
Agradecimentos (se for o caso)

### *Material de referência*

Resumos (em português e em inglês)  
Descritores  
Referências bibliográficas

**TÍTULO** — Deverá ser curto e específico, indicando precisamente o conteúdo do artigo; no caso de ser necessário título longo, recorrer a subtítulo.

**ABREVIATURAS** — Não serão empregadas nos títulos ou nos resumos. No texto, serão evitadas ou usadas apenas as oficiais, já consagradas.

**UNIDADES DE MEDIDA E SEUS SÍMBOLOS** — Deverão ser usadas somente as unidades legais de medir do Sistema Nacional de Metrologia (BRASIL. Leis, decretos etc. — Resolução nº 11, de 12 de outubro de 1988, do Conselho Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial. *Diário Oficial*, Brasília, 21 out. 1988. Seção 1, pt. 1, p. 20524-32. Aprova a Regulamentação Metrológica que com esta baixa e revoga a Resolução nº 01/82, de 27 de abril de 1982).

**TABELAS** — Serão numeradas consecutivamente, com números arábicos e encabeçadas pelo respectivo título, que deverá indicar claramente o conteúdo. Os dados apresentados em tabela não deverão ser repetidos em gráfico, a não ser em casos especiais. Na montagem das tabelas, seguir as normas brasileiras para apresentação tabular (FUNDAÇÃO INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA — Normas de apresentação tabular. Rio de Janeiro, IBGE, 1979. 22 p.).

Na ausência de um dado numérico, empregar os seguintes sinais convencionais:

— quando, pela natureza do fenômeno, não puder existir o dado;  
Z quando o dado for rigorosamente zero;  
... quando não se dispuser do dado;  
0,0 quando a aplicação dos critérios de arredondamento não permitir alcançar, respectivamente, os valores 1; 0,1; 0,01 etc.;  
X quando o dado for omitido para evitar a individualização da informação.

**ILUSTRAÇÕES** (fotografias, gráficos, desenhos, mapas, etc.) — Serão designadas no texto como "figuras": terão numeração única e seguida, em algarismos arábicos.

Todas as ilustrações deverão ser identificadas com: número, nome do autor, título do artigo e número da página do texto onde serão inseridas; deverão ser tão claras que permitam sua reprodução com redução de 6,5 cm no sentido da largura, sem perda de nitidez ou legibilidade; as respectivas legendas deverão estar escritas fora da área de reprodução.

Os gráficos, mapas, desenhos deverão ser feitos a nanquim preta, em papel vegetal, com letras e números escritos com normógrafo.

As fotografias deverão ser nítidas e de bom contraste. No caso de dispositivos, estes deverão ser apresentados e não fotografias dos mesmos.

RESUMOS - Serão apresentados um em português, antecedendo o texto, outro em inglês (encabeçado pelo título do artigo), no final, antes das referências bibliográficas. Não deverão exceder 200 palavras. O estilo será claro e conciso, pondo em relevo, de forma precisa, os fatos observados e os elementos novos essenciais à conclusão. Serão redigidos pelo próprio autor ou com a colaboração deste, observando-se recomendações da UNESCO (*Bol. UNESCO Bibl.* 23: 72-7, 1969). A fim de facilitar a indexação, o resumo deverá conter:

*Descritores* - Palavras ou expressões que identificam o conteúdo do artigo. Os três principais *descritores* serão escritos em primeiro lugar, por ordem de importância. Recomenda-se para a escolha dos descritores usar o vocabulário próprio do campo especializado.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS - Deverão ser mencionadas somente as de trabalhos consultados diretamente ligados ao assunto.

*No texto* - Serão citadas por meio de número índice correspondente ao da lista de referências, e escritas em versal; assim, para um autor... TAUNAY<sup>31</sup> verificou...; para dois autores... LEME & CARRIJO<sup>19</sup>, pesquisando...; para mais de dois autores: No trabalho de TSUNODA *et alii*<sup>6</sup>; ou ainda... segundo vários autores<sup>1,3,7,8</sup>.

Na lista de referências - Terão numeração consecutiva e serão ordenadas alfabeticamente pelo último sobrenome do autor (regra geral). Todos os autores do artigo deverão ser citados.

Para artigos periódicos

Último sobrenome do(s) autor(es) seguido das iniciais dos outros componentes do nome, título do artigo, título do periódico abreviado (WORLD list of scientific periodicals, published in the years 1900-1960; edited by Peter Brown and George Burder Stratton. 4 ed. London, Butterworths 1963-1965, 3 v.) em grifo, nº do volume, nº do fascículo (quando a numeração não for continuada), páginas inicial e final do artigo, data publicação do volume de fascículo.

Ex.:

MORENO, G.; LOPES, C.A.M.; BELLOUMINI, H.E.; PESSOA, G.V.A.; BIASI, P. & ANDRADE, J.C.R. Enterobactérias isoladas de anfíbios e répteis. *Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo*, 15: 122-126, 1973.

Para livros

Último sobrenome do(s) autor(es) seguido das iniciais dos outros componentes do nome, título da obra (em grifo), nº da edição (se não for a primeira), local de publicação, editor (quando não coincidir com o autor), ano de publicação, nº de páginas, ou volumes (ou nº da página consultada).

Ex.:

CANTAROW, A. & SHEPARTZ, B. - Bioquímica 3ª ed. Guanabara, Atheneu, 1968. p. 325.

## DA PUBLICAÇÃO

1. Os trabalhos destinados à publicação na *Revista do Instituto Lutz* deverão ser encaminhados à Biblioteca do Instituto Adolfo Lutz.
2. A publicação de artigos na Revista está condicionada à aprovação da Comissão de Redação, que poderá sugerir ao autor - alterações do original. Este original só será aceito quando tiver o visto da Comissão de Redação.
3. Todo trabalho entregue para publicação deverá ser assinado pelo autor e trazer endereço para correspondência. No caso de mais de um autor, deverá ser expressamente indicado o responsável pela publicação.
4. Os trabalhos serão publicados em ordem cronológica de recebimento, salvo o caso especial de nota prévia, que terá prioridade.
5. A data de recebimento do artigo constará obrigatoriamente no final do mesmo.

6. A primeira prova tipográfica será revisada pelo redator-secretário e conferida pelo autor, que a rubricará.
7. Os originais de trabalhos aceitos para publicação não serão devolvidos aos autores.
8. Os autores terão direito a 50 separatas; quando desejarem maior número, deverão entender-se com o redator-secretário da Revista.
9. É permitida a reprodução, no todo ou em parte, de artigos publicados na *Revista do Instituto Adolfo Lutz*, desde que sejam indicados a origem e o nome do autor, na conformidade da legislação sobre Direitos Autorais.

#### **DA DISTRIBUIÇÃO**

*A Revista do Instituto Adolfo Lutz* é distribuída gratuitamente a entidades governamentais, culturais, ou em permuta com periódicos nacionais ou estrangeiros.



---

**ERRATA**

Revista volume 53(1/2): 55-8, 1993.

Artigo: "In vitro" de diferentes drogas sobre *Mycobacterium Kansasii*.

Substituir o último parágrafo da introdução por:

"Com o objetivo de conhecer o grau de susceptibilidade do *M. Kansasii* frente às drogas antituberculosas os autores determinaram a concentração inibitória mínima e a concentração bactericida mínima de cada droga para cepas isoladas de pacientes com comprometimento pulmonar".

---

## INCIDÊNCIA DE AFLATOXINAS EM AMENDOIM E PRODUTOS DERIVADOS CONSUMIDOS NA CIDADE DE RECIFE, NO PERÍODO DE 1989 A 1991\*

Waldêny COLAÇO \*\*  
Ulisses FERRAZ \*\*  
Leonardo R. ALBUQUERQUE \*\*

RIALA6/753

COLAÇO, W.; FERRAZ, U. & ALBUQUERQUE, R.L. - Incidência de aflatoxinas em amendoim e produtos derivados consumidos na Cidade de Recife, no período de 1989 a 1991. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 54(1): 1-4, 1994.

**RESUMO:** Aflatoxinas foram evidenciadas em amendoim e produtos derivados expostos ao consumo na Cidade de Recife. Determinadas através de cromatografia em camada delgada foram detectadas aflatoxinas em 9 (21%) das 43 amostras analisadas. Uma das amostras apresentou níveis de aflatoxinas de  $25\mu\text{g.kg}^{-1}$ , enquanto as outras apresentaram níveis superiores a  $30\mu\text{g.kg}^{-1}$ , que é a máxima concentração tolerada pela legislação brasileira. Os resultados obtidos chamam a atenção para a necessidade de controle eficaz e efetivo sobre os níveis de aflatoxinas destes produtos.

**DESCRITORES:** aflatoxinas em amendoim e produtos de, determinação; amendoim, aflatoxinas em, determinação; cromatografia em camada delgada.

### INTRODUÇÃO

As micotoxinas são produtos metabólicos produzidos pelos fungos e que quando ingeridos causam alterações biológicas prejudiciais aos seres humanos e outros animais.

Eles podem estar contidos no interior dos esporos de fungos em seus micélios ou então ser liberados no alimento contaminado por estes microrganismos.

As micotoxinas são importantes por ocorrerem principalmente em cereais e sementes oleaginosas como amendoim, arroz, milho, etc, que têm participação na alimentação humana.

Algumas micotoxinas evidenciam toxicidade crônica podendo ser carcinogênicas, atuando mais frequentemente como hepatotoxinas como é o caso da aflatoxina B<sub>1</sub><sup>2,7</sup>.

O estudo da incidência das micotoxinas destaca-se como um fator de grande importância em saúde pública pelo risco que realmente apresenta o consumo dos alimentos por elas contaminados.

As aflatoxinas são micotoxinas identificadas em alimentos produzidas pelos fungos *Aspergillus flavus* e *Aspergillus parasiticus* existindo 4 tipos principais com estruturas químicas diversas; B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, G<sub>1</sub> e G<sub>2</sub>.

Há várias medidas de prevenção a serem utilizadas no controle dos níveis de aflatoxinas, entre as quais a redução da atividade de água (A<sub>w</sub>) que possibilita a inibição dos fungos micotoxigênicos e a secagem rápida dos alimentos seguida de um armazenamento sob condições controladas de umidade relativa; entretanto, a secagem posterior não afeta o teor de aflatoxinas já produzido, pois elas resistem às condições de secagem e até mesmo ao processo de torração<sup>2</sup>.

\* Realizado no Departamento de Bromatologia e Química do Laboratório Central de S.Pública "Dr. Milton Bezerra Sobral" Recife, PE.

\*\* Do Laboratório Central de S. Pública Dr. Milton Bezerra Sobral.

A legislação brasileira fixa o limite máximo de tolerância para a presença de aflatoxinas em alimentos no valor de 30 ppb<sup>1</sup>.

A incidência de hepatoma humano em zonas tropicais do Kênia, Moçambique, Tailândia, etc., foi evidenciada por terem seus habitantes o hábito cultural de se alimentarem de produtos contaminados com fungos (milho, arroz, etc., embolorados)<sup>1,7</sup>.

Observou-se entretanto, que houve uma diminuição de carcinoma hepatocelular entre os habitantes da África do Sul quando foi reduzido o consumo dos alimentos contaminados por micotoxinas<sup>7</sup>.

O desenvolvimento de fungos em alimentos não apenas tem importância quanto a deterioração a ele causada, mas particularmente pela importância que representam na elaboração de alimentos ricos em proteínas que têm por base cacau, semente de algodão, amendoim, soja e outros, usados para aliviar a má nutrição protéica no mundo<sup>4</sup>.

O amendoim, importante fonte de proteínas, é consumido em grande escala em países em desenvolvimento, onde seus produtos derivados são bastante usados.

O Brasil por ter um clima tropical e ser um país ainda em desenvolvimento apresenta condições de plantio, colheita, secagem e armazenamento dos produtos agrícolas bastante deficientes, propiciando condições favoráveis à proliferação de fungos produtores de aflatoxinas. Isto constituiu um grande problema na produção de amendoim que a partir dos anos 70 declinou sensivelmente com o incentivo do governo ao cultivo da soja e assim, a sua produção passou a ser praticamente realizada por pequenos produtores, com sistema rudimentar de colheita<sup>7,9</sup>.

O Laboratório Central de Saúde Pública "Dr. Milton Bezerra Sobral", preocupado com a preservação da saúde da população decidiu conhecer os índices

de contaminação existentes em amendoim e produtos derivados expostos ao consumo. Foi realizado o levantamento dos dados obtidos nas análises laboratoriais, objetivando levar ao conhecimento dos poderes governamentais a ocorrência de aflatoxinas nesses produtos.

## MATERIAL E MÉTODO

Foram analisadas 43 amostras de amendoim e produtos derivados, durante o período de março de 1989 a maio de 1991 para determinar aflatoxinas.

As amostras foram remetidas para análise pela DICONA - Divisão de Controle de Alimentos da Diretoria Executiva de Vigilância Sanitária do Estado de PE, tendo sido colhidas em supermercados na Cidade de Recife.

Uma das amostras foi remetida ao Laboratório Central por empresa particular para análise de orientação.

A metodologia empregada está descrita nas Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz volume 1, 3ª edição<sup>6</sup>.

O extrato clorofórmico final obtido foi usado para identificar e quantificar as aflatoxinas por cromatografia em camada delgada.

A quantificação em cromotoplasmas foi por comparação visual das intensidades de fluorescência entre os padrões das aflatoxinas e o extrato da amostra.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos encontram-se demonstrados na tabela 1, onde se verifica a ocorrência de aflatoxinas em várias amostras.

Das 43 amostras analisadas expostas ao consumo, 9 (21%) apresentaram contaminações por aflatoxi-

TABELA 1

Níveis de aflatoxinas em amendoim e derivados consumidos em Recife no período de 1989 à 1991

Ano	Nº total amostras	Nº amostras N.D.*	Nº amostras >30 µg/kg**	Nº amostras <30 µg/kg**	Média das amostras	Variação	
						mín. µg/kg	máx. µg/kg
1989	18	13	5	-	281,5	45	518
1990	23	20	2	1	271,0	25	485
1991	2	1	1	-	85	85	85
Total	43	34	8	1			

\* N.D. = Não detectado.

\*\* 30 µg/kg (ppb) = Limite máximo tolerado na legislação brasileira (B<sub>1</sub> + G<sub>1</sub>).

nas, sendo que uma delas apresentou contaminação por aflatoxina G1 (60 ppb).

Das 9 amostras contaminadas uma apresentou teor de aflatoxina baixo (25 ppb), inferior a 30 µg/kg.

Em 8 (18,6%) das amostras analisadas foram evidenciadas aflatoxinas B1.

Os teores de aflatoxinas foram expressos em µg/kg (ppb) e o não aparecimento de fluorescência no cromatograma foi representado pela abreviatura N.D. (não detectado).

Na literatura existem dados sobre a ocorrência de aflatoxinas em produtos brasileiros, tendo sido observados em 68,75% das amostras analisadas níveis de contaminação por aflatoxinas superiores a 30 µg/kg, acima do limite máximo tolerado pela legislação brasileira<sup>9</sup>.

O amendoim transporta na casca grande quantidade de inóculo de *A. flavus* a partir do contato íntimo com o solo e a deterioração da vagem possibilita a penetração do fungo aumentando mais ainda o risco de uma posterior contaminação da semente pela aflatoxina.

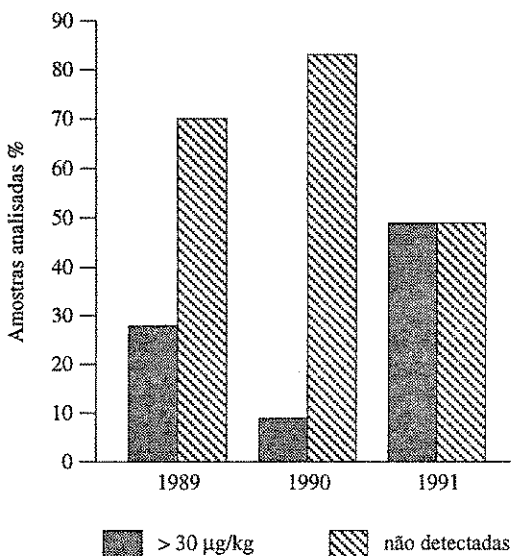


FIGURA 1

Relação entre a percentagem de amostras contendo aflatoxinas acima de 30 µg/kg e amostras onde não foram detectadas aflatoxinas, no período de 1989 a 1991

Após a colheita são realizadas operações de secagem extremamente importantes na limitação dos níveis de aflatoxinas nas sementes. Quando estas operações são retardadas aumentam os riscos de crescimento de fungos formadores de micotoxinas.

O problema de contaminação de um alimento por aflatoxina é realmente uma preocupação para a saúde pública.

O levantamento dos dados aqui apresentados demonstra a preocupação do laboratório de saúde pública local, que pela primeira vez realiza um trabalho neste sentido.

A figura apresenta a relação da percentagem entre o número de amostras onde não foram detectadas aflatoxinas e o número de amostras contendo teores acima de 30 µg/kg.

## CONCLUSÕES

O presente levantamento demonstra a importância da necessidade de uma monitoração sistemática e contínua sobre os níveis de aflatoxinas existentes em amendoim e produtos derivados consumidos na cidade de Recife.

Os resultados apresentados mostram que aflatoxinas foram evidenciadas em diversas amostras analisadas no laboratório de saúde pública local, não sendo possível assegurar o grau satisfatório de qualidade desses produtos.

Apresentados sob diversas formas de comercialização (torrado, moído, em pasta, etc) o amendoim é consumido em larga escala pela população local sem controle higiênico-sanitário adequado, comprovando a carência nas ações de vigilância sanitária sobre esses alimentos.

Há necessidade de um controle eficaz, através de uma vigilância constante sobre os níveis de aflatoxinas nos alimentos, não só para proteção a saúde pública como também para orientar as ações governamentais.

Precisamos conscientizar os órgãos públicos sobre os efeitos tóxicos causados pela ingestão de produtos contaminados por micotoxinas.

O levantamento dos dados analíticos servirá para que se desenvolvam programas de prevenção, evitando assim o aparecimento de danos à saúde, que por não se manifestarem de imediato poderão se tornar irreparáveis.

RIALA6/753

COLAÇO, W.; FERRAZ, U. & ALBUQUERQUE, R.L. Incidence of aflatoxins in peanut and peanut products consumed in Recife City, for the period 1989-1991. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 54(1): 1-4, 1994.

ABSTRACT: Aflatoxins was employed in samples of peanut and peanut products exposed for consumption in Recife City. Determined through thin-layer-chromatography were detected aflatoxins in 9 (21%) of the 43 analysed samples. In one of these samples the amount of aflatoxins was found to be  $25\mu\text{g.kg}^{-1}$ . The others had more than  $30\mu\text{g.kg}^{-1}$  which is the maximum concentration tolerated by pertinent brazilian legislation. The results call the attention for need of continued and effective control on the levels of aflatoxin in these productions.

DESCRIPTORES: aflatoxins in peanut and peanut products, determination; peanut, aflatoxins in, determination, thin-layer-chromatography.

#### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. BRASIL. Leis, decretos, etc. - Resolução nº 34/76 da Comissão Nacional de Normas e Padrões para Alimentos. Diário Oficial, Brasília, 19 jan. 1977. Seção I, pt.I, p.710. Fixa padrões de tolerância para as aflatoxinas em alimentos.
2. ENCONTRO NACIONAL DE ANALISTAS DE ALIMENTOS, I. (Brasília:1984) memória Brasília, Secretaria de Saúde Pública do Distrito Federal. Instituto de saúde pública do Distrito Federal, p. 88-99, 1984.
3. LEITÃO, MAURO FABER DE FREITAS et al. Tratado de Microbiologia: microbiologia de alimentos, microbiologia sanitária, microbiologia industrial, São Paulo, Manole, 1988. v. 1, p. 49-52.
4. ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE. Importância de la inocuidad de los alimentos para la salud y el desarrollo. Ginebra: OMS, 1984., p. 21-25, (série de informes técnicos, 705).
5. PREGOLATTO, W. & SABINO, M. - Pesquisa e dosagem de aflatoxinas em amendoim e derivados e em outros cereais. *Rev. Instituto Adolfo Lutz*, 29/30: 65-71, 1969/70.
6. SÃO PAULO. Instituto Adolfo Lutz - Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz. v.1: Métodos químicos e físicos para análise de alimentos. 3ª edição. São Paulo, 1985, p. 439-435.
7. SABINO, M.; LAMARDO, L.C.A.; INOMATA, E.I.; ICHIKAWA, A.H. & GIANNATTASIO, C.M.D. - Ocorrência de aflatoxina B1 em produtos alimentícios e rações animais, consumidos no Estado de São Paulo e em várias outras regiões do Brasil, no período de 1980 a 1987. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 48, 1/2: 81-85, 1988.
8. SABINO, M. - Variações dos níveis de aflatoxina B1 em alimentos e rações animais no período de 1971 a 1979. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 40 (2): 153-158, 1980.
9. SABINO, M.; ZORZETTO, M.A.P.; PEDROSO, M.O. & MILANEZ, T.V. - Incidência de aflatoxinas em amendoim e produtos derivados consumidos na Cidade de São Paulo, no período de 1980 a 1987. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 49 (1): 41-44, 1989.

Recebido para publicação: 28.05.92

## AVALIAÇÃO DA EFICIÊNCIA DE ANTIOXIDANTES EM ÓLEO DE CARNE DE CURIMBATÁ (*Prochilodus Scrofa*) SEPARADA MECANICAMENTE ATRAVÉS DO RANCIMAT\*

Cleso de MORAIS \*\*  
José Byron de CARVALHO \*\*\*  
Mário TAVARES \*\*\*  
Lireny Aparecida Guaraldo GONÇALVES \*\*\*\*  
Rosana Nogueira CAVALETTI \*\*\*\*

RIALA6/754

MORAIS, C. de; CARVALHO, J.B. de; TAVARES, M.; GONÇALVES, L.A.G. & CAVALETTI, R.N. — Avaliação da eficiência de antioxidantes em óleo de carne de Curimatá (*Prochilodus scrofa*) separada mecanicamente através do Rancimat. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 54(1): 5-10, 1994.

**RESUMO:** A finalidade deste estudo foi avaliar, através do Rancimat, a eficiência relativa de vários antioxidantes adicionados à fase oleosa obtida de carne de curimatá (*Prochilodus scrofa*), separada mecanicamente. Além disso, obter informações adicionais sobre o efeito protetor do óleo de alecrim (OR) comercial, em mistura com butil-hidroxianisol (BHA) e terc-butil-hidroquinona (TBHQ), pois, aparentemente, não há na literatura especializada trabalhos relativos ao seu uso em pescado. O melhor resultado obtido com o uso de apenas um antioxidante foi com TBHQ a 0,02% (período de indução a 98°C igual a 22 horas e 15 minutos). O TBHQ apresentou aumento de 15 vezes o período de indução em relação à estabilidade oxidativa do grupo-controle, dados estes confirmados na literatura para o óleo de tubarão azul (*Prionace glauca*). O emprego de três antioxidantes (TBHQ + BHA + OR) melhorou em cerca de 10% a estabilidade oxidativa, o que não justifica a sua aplicação.

**DESCRIPTORIOS:** curimatá (*Prochilodus scrofa*), carne separada mecanicamente, antioxidantes, óleo de peixe, Rancimat, oxidação lipídica.

### INTRODUÇÃO

Em anos recentes, a carne de curimatá separada mecanicamente (CCSM) tem sido utilizada no processamento de produtos alimentícios (MORAIS e col., 1988). Um grande problema com tais tipos de produtos é a perda da qualidade atribuída à rancidez oxidativa (DENG *et alii*, 1977). Este problema está se tornando especialmente importante com o advento da carne de pescado separada mecanicamente (SILBERSTEIN *et alii*, 1978). A forma com que esta carne é submetida durante a separação mecânica, bem como

sua composição natural (partículas ósseas, pigmentos, sangue, lípidos, etc.) contribuem para seu alto potencial de oxidação lipídica (MORAIS e col., 1981).

A presença de fragmentos de pele e de peritônio pode dar à carne de pescado separada mecanicamente (CPSM) um aspecto pouco homogêneo e catalizam reações de escurecimento e de degradação de proteínas e de lipídeos. A oxidação deteriorativa em peixes foi estudada por TAPPEL (1962), que atribuiu aos compostos prematínicos localizados na linha lateral do músculo um importante papel na catálise da

\* Realizado na Seção de Pescado e Recursos Marinhos do Instituto de Tecnologia de Alimentos, Guarujá, SP, na Seção de Óleos, Gorduras e Condimentos do Instituto Adolfo Lutz, São Paulo, SP, e no Laboratório de Óleos e Gorduras da Faculdade de Engenharia de Alimentos da UNICAMP, Campinas, SP. Apresentado no 8º Encontro Nacional de Análises de Alimentos, Porto Alegre, RS, 1993.

\*\* Do Instituto de Tecnologia de Alimentos.

\*\*\* Do Instituto Adolfo Lutz.

\*\*\*\* Da Faculdade de Engenharia de Alimentos da UNICAMP.

oxidação. Este estudo foi confirmado por outros pesquisadores que, analisando peixes com alto teor de prematina, observaram a grande suscetibilidade destas espécies à rancidez oxidativa. Compostos prematínicos (premaglobina, mioglobina, citocromos) e premoproteínas liberados durante o processo de separação mecânica contribuem bastante para as reações de oxidação. Assim, o efeito disruptivo de separação mecânica, em conjunto com a temperatura, constitui condição ideal para a oxidação de lipídeos.

Ressalte-se que os lipídeos de pescado contêm uma elevada proporção de ácidos graxos polinsaturados, principalmente o eicosapentaenóico e o docosahexaenóico (STANSBY, 1981), o que lhes confere grande importância nutricional, porém uma instabilidade e rápida oxidação das duplas ligações das moléculas dos triglicerídeos (YI *et alii*, 1991; VALENZUELA *et alii*, 1991). Tal oxidação é um processo complexo que pode levar à formação dos mais variados produtos de decomposição, notadamente aldeídos, cetonas, álcoois e ácidos carboxílicos (FRANK *et alii*, 1992). Esses produtos tanto podem causar a perda das qualidades organolépticas dos alimentos pela produção de aromas e sabores estranhos como podem reagir com proteínas, vitaminas e outros componentes, diminuindo assim suas qualidades nutricionais e limitando seu uso para consumo humano (KAREL, 1973; CASTELL, 1974; LILLARD, 1983; VALENZUELA *et alii*, 1991).

Com a finalidade de prevenir a autooxidação de lipídeos da CPSM, têm sido empregados vários antioxidantes fenólicos sintéticos. Os mais comuns são o butil-hidroxi-anisól (BHA), o butil-hidroxi-tolueno (BHT) e, mais recentemente, o terc-butil-hidroquinona (TBHQ) (MOLEDINA *et alii*, 1977; LICCIARDELLO *et alii*, 1982).

Compostos com propriedades antioxidantes, como o extrato de alecrim ("rosemary extracts") têm sido reportados (RAC *et alii*, 1955). Tal extrato foi testado por SHUN *et alii* (1992) como um sinergista (óleo e carne). Esses autores observaram claramente o efeito sinérgico do referido extrato, o qual aumentou sobremaneira a atividade antioxidante do alfa-tocoferol.

A tendência, nos últimos anos, de se empregar antioxidantes naturais, preferencialmente nos alimentos, em substituição aos químicos sintéticos, tem motivado o estudo e uso do óleo de alecrim ("oleoresin rosemary", OR) em produtos à base de carnes bovinas e de aves (LIU *et alii*, 1992). Assim sendo, HOULIHAN *et al* (1985) relatam que o OR contém um número de componentes que possui atividade antioxidante similar ou maior que o BHA e igual ou ligeiramente inferior àquela do BHT.

BARBUT *et al* (1985) reportaram que o óleo de alecrim possui atividade antioxidante comparável à

mistura comercial de BHA/BHT/ácido cítrico na supressão da oxidação lipídica em salsicha de peito de peru mantida sob refrigeração. Por sua vez, KORCZAK *et alii* (1988) constataram um efeito antioxidante pronunciado daquele óleo em produtos pré-cozidos à base de carne bovina separada mecanicamente.

Existem diferenças significativas entre os antioxidantes com respeito à eficácia em diferentes alimentos e sob diferentes condições de processamento e manuseio. Logo, torna-se imprescindível o levantamento de informações concernentes à potência relativa de antioxidantes e de suas combinações antes dos mesmos serem aplicados, com sucesso, em alimentos (SWEET, 1973).

Com o propósito de determinar a resistência de alimentos processados contra a oxidação, diversos métodos analíticos têm sido desenvolvidos. Um dos que tem apresentado maiores vantagens, por permitir a contínua medida da estabilidade oxidativa, sem determinações analíticas periódicas e apreciável economia de tempo e trabalho, é aquele conhecido por "Rancimat". Desenvolvido por Hadorn e Zurcher, o equipamento Rancimat 617-Metrohm baseia-se no princípio da detecção condutométrica dos produtos voláteis de oxidação, principalmente ácido fórmico (FRANK *et alii*, 1992; LAUBLI *et alii*, 1986; HASENHUETTL *et alii*, 1992; BARRERA-ARELLANO, 1992, 1993).

A finalidade deste estudo foi avaliar, através do Rancimat, a eficiência relativa de vários antioxidantes na estabilização do óleo da carne de curimatá (*Prochilodus scrofa*), separada mecanicamente. Os resultados obtidos para a fase oleosa, conforme sistemas já estudados, serviram como parâmetros para avaliar indiretamente a estabilidade da carne, quando a esta se adicionou um determinado antioxidante que apresentou bons resultados naquela fase. Pretendeu-se obter informações adicionais sobre o efeito protetor do óleo de alecrim comercial, em mistura com BHA e TBHQ pois, aparentemente, não há na literatura especializada trabalhos relativos ao seu uso em pescado.

## MATERIAL E MÉTODOS

### Matéria-Prima

Utilizou-se neste trabalho a carne proveniente de um lote de 10 kg de curimatás (*Prochilodus scrofa*), que apresentavam características organolépticas próprias da espécie. Os peixes foram doados pela Seção de Hidrologia e Aquicultura da Estação Experimental de Piscicultura das Centrais Elétricas de São Paulo S/A. (CESP), localizada em Salto Grande, Estado de São Paulo.

O transporte dos peixes até a Seção de Pescado e Recursos Marinhos do Instituto de Tecnologia de Alimentos, em Guarujá, SP, foi feito logo após a

despesca, em caixas de isopor contendo gelo britado comercial, até o momento de serem processados.

#### *Obtenção da Carne de Curimatá Separada Mecanicamente (CCSM)*

Após a remoção do gelo de refrigeração, por meio de jatos d'água, os peixes foram eviscerados, descabeçados e espalmados com o uso de facas.

Os peixes espalmados foram lavados com água clorada, contendo 5 ppm de cloro residual e submetidos à ação da máquina separadora de carne e osso, marca Bibun, modelo SDX-13, com perfurações no cilindro de 5mm de diâmetro, sendo aplicada força máxima na correia tensora, a fim de se obter maior rendimento cárneo. A CCSM, assim obtida, foi dividida em lotes, conforme os sistemas de antioxidantes.

#### *Sistemas de Antioxidantes*

Todos os antioxidantes utilizados, de diferentes procedências, apresentavam grau analítico P.A.

Foram selecionados para este estudo os seguintes tratamentos com antioxidantes:

- 1) Grupo-controle;
- 2) 0,02% TBHQ;
- 3) 0,05% OR;
- 4) 0,02% TBHQ + 0,05% OR;
- 5) 0,02% BHA + 0,02% ácido cítrico;
- 6) 0,02% TBHQ + 0,02% BHA;
- 7) 0,02% TBHQ + 0,02% ácido cítrico;
- 8) 0,02% BHA + 0,05% OR;
- 9) 0,02% TBHQ + 0,02% BHA + 0,05% OR;
- 10) 0,02% "Embanox 2" (BHA + BHT em propileno glicol).

#### *Preparo das Soluções Antioxidantes*

As concentrações dos antioxidantes empregados, com base no teor de matéria graxa da CCSM (6,7%), não ultrapassaram ao limite máximo permitido para óleos e gorduras comestíveis na legislação brasileira (BRASIL, 1988).

Os antioxidantes fenólicos (BHA, BHT, TBHQ), bem como o extrato de alecrim (OR), nas quantidades necessárias, foram primeiramente emulsionados em uma mistura de propileno glicol e água destilada (1:3), por meio de um misturador (LICCIARDELLO *et alii*, 1982). O antioxidante solúvel em água foi dissolvido em água destilada.

No tratamento de número 5, o BHA dissolvido em pequena quantidade de etanol, foi adicionado à água destilada (80 ml) contendo o ácido cítrico.

As soluções de antioxidantes, assim preparadas, foram aplicadas na CCSM.

#### *Aplicação das Soluções de Antioxidantes na CCSM*

As soluções de antioxidantes foram dissolvidas em água destilada (80 ml) e borrifadas sobre 2 kg de CCSM, com auxílio de um "spray", por um período de dois minutos, em um batedeira tipo Hobart, operando com velocidade 2 (média) (MOLEDINA *et alii*, 1977).

Um controle, contendo 80 ml de água destilada, foi preparado da mesma forma mencionada anteriormente.

Após os tratamentos, a CCSM foi acondicionada como amostras de 500 g, em sacos plásticos individuais de polietileno e imediatamente estocada a -40°C até o momento de serem analisadas, em duplicata.

#### *Extração do Óleo da CCSM*

Todas as amostras foram encaminhadas, sempre congeladas a -40°C, à Seção de Óleos, Gorduras e Condimentos do Instituto Adolfo Lutz, em São Paulo, SP, onde o óleo das mesmas foi extraído, após o descongelamento até a temperatura ambiente, pelo método de BLIGH & DYER (1959).

#### *Determinação do Índice de Peróxido*

No óleo extraído das amostras de CCSM foi determinado, logo após essa operação, o índice de peróxido pelo método AOCS Cd 8-53 (AOCS, 1990).

#### *Determinação da Eficiência dos Antioxidantes Pelo Rancimat*

O óleo restante da determinação do índice de peróxido foi estocado em frascos de vidro, com tampa, estéreis, protegidos da luz. Cada frasco foi identificado e, sob refrigeração a cerca de -18°C, enviado de imediato ao Laboratório de Óleos e Gorduras da Faculdade de Engenharia de Alimentos da Universidade Estadual de Campinas, em Campinas, SP. No citado laboratório, a eficiência dos diferentes sistemas de antioxidantes foi determinada através do Rancimat 617-Metrohm, a temperatura de 60, 80 e 98°C, utilizando-se 2,5 g de óleo e fluxo de ar de 8,3 L/h como condição padrão para o Rancimat.

O período de indução foi obtido graficamente através das tangentes à parte linear das curvas. A distância em cm, convertido em horas de oxidação no cruzamento das tangentes com as retas iniciais, dá o valor exato do período de indução (OOSTEN, 1981).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

A tabela 1 mostra os resultados obtidos para o índice de peróxido e o período de indução, determinado pelo Rancimat, a 80 e a 98°C. A temperatura de 60°C foi desprezada já que forneceu períodos de



TABELA 1

Estabilidade oxidativa, determinada pelo Rancimat, para os antioxidantes adicionados à carne de curimatá separada mecanicamente

Sistemas de antioxidantes	Determinações		
	Índice de peróxido (meq O <sub>2</sub> /1000g)	Período de indução (h)	
		a 80°C	a 98°C
Grupo-controle	7,2	17	1 h 30'
0,02% TBHQ	3,0	>96	22 h 15'
0,05% OR	4,0	17	1 h 30'
0,02% TBHQ + 0,05% OR	6,0	76	11 h 30'
0,02% BHA + 0,02% AcC	3,7	96	18 h
0,02% TBHQ + 0,02% BHA	3,2	>96	n.d.+
0,02% TBHQ + 0,02% AcC	6,0	19 h 15'	2 h
0,02% BHA + 0,05% OR	5,6	n.d.	10 h
0,02% TBHQ + 0,02% BHA + 0,05% OR	3,6	n.d.	25 h
0,02% "Embanox 2"	5,4	n.d.	1 h 30'

n.d. = não determinado  
 (+) = período de indução estimado igual a 25 h.  
 TBHQ = terc-butil-hidroquinona  
 OR = óleo de alecrim  
 BHA = butil-hidroxianisol  
 AcC = ácido cítrico  
 "Embanox 2" = BHA + BHT em propileno glicol  
 BHT = butil-hidroxitolueno

indução muito elevados, sem condições de determinação de tangente à curva.

Como se pode observar, algumas amostras, a 80°C, após 96 horas de testes, apresentaram apenas estágios iniciais de oxidação. Para avaliar melhor estas amostras, a temperatura de 98°C trouxe maiores elucidações, retardando em menor grau as reações oxidativas.

O fato acima verificado com a temperatura de 80°C deveu-se, provavelmente, a um aumento na atividade antioxidante, a qual depende da temperatura e pode estar associada à observação de que o alfatocoférol e os fosfolipídeos, antioxidantes naturais presentes na carne do pescado, tenham reagido sinergisticamente com outros antioxidantes. Os fosfolipídeos ocorrem em todos os tecidos e têm sido largamente reconhecidos pela ação como sinergistas de antioxidantes (OLCOTT, 1962). Cabe aqui lembrar que uma das vantagens do método de extração de lipídeos de Bligh and Dyer é a extração, principalmente, de fosfolipídeos presentes na amostra. Já a provável formação de ácidos graxos livres, com o decorrer do tempo, pode ter contribuído para o retardamento de reações oxidativas, pois tais ácidos, no músculo do pescado, retardam a rancidez induzida por compostos prematínicos, localizados na linha lateral do músculo (TAPPEL, 1962).

O melhor resultado obtido com o uso de apenas um antioxidante foi com o sistema de número 2, ou seja, TBHQ, com 22 horas e 15 minutos de período de indução a 98°C. A adição de ácido cítrico ao

TBHQ afetou negativamente a estabilidade oxidativa, diminuindo o período de indução de 22 para 2 horas. Este comportamento foi observado nas duas temperaturas testadas, o que sugere um estudo à parte. Já o óleo de alecrim não apresentou atividade antioxidante quando utilizado sozinho e mostrou-se um próoxidante forte quando usado em conjunto com TBHQ, para testes a 98°C, pois fez o período de indução do óleo de curimatá cair à metade.

O emprego de três antioxidantes (TBHQ + BHA + OR) melhorou em apenas 10% a estabilidade, dado este que não justifica a sua aplicação.

Por seu turno, o "Embanox 2" não apresentou qualquer atividade antioxidante. O efeito sinergista observado em banha, na mistura de BHA e BHT, não se aplica a óleo de pescado neste caso. Na verdade, BHT apresenta grupo estericamente impedido na reatividade do grupo fenólico, com substituintes presentes na posição orto no anel aromático (ANTUNES e col., 1983).

Ácido cítrico e TBHQ têm sido utilizados como sinergistas para óleo de dendê (SANG, 1984), efeito totalmente oposto ao aqui detectado para ácidos graxos altamente insaturados. Resultados semelhantes foram obtidos por PACHECO (1991) e CHAINE *et alii.* (1974).

O TBHQ, considerado neste estudo como o melhor antioxidante, apresentou aumento de 15 vezes

em relação à estabilidade oxidativa do grupo-controle. Este aumento de estabilidade foi confirmado em outros níveis para óleo de tubarão azul (PACHECO, 1991), bem como para outros óleos de peixe e de origem vegetal (INCENHOUR *et alii*, 1991; CHU, 1991; KAITARANTA, 1992).

### CONCLUSÕES

A utilização do equipamento Rancimat mostrou-se adequada para determinar a estabilidade oxidativa

de vários antioxidantes empregados na estabilização de óleo da carne de curimatá separada mecanicamente, em especial à temperatura de 98°C.

O uso de uma mistura de três antioxidantes não se justificou, visto que não melhorou significativamente a estabilidade oxidativa do produto em estudo.

O melhor antioxidante, dentre os testados, foi TBHQ, confirmando o apregoado na literatura, tanto para óleos de peixe como para óleos vegetais.

RIALA6/670

MORAIS, C. de; CARVALHO, J.B. de; TAVARES, M.; GONÇALVES, L.A.G. & CAVALETTI, R.N. — Avaliação in the oxydants efficiency in meet oil of Curimbata (*Prochilodus Scrofa*) by Rancimat mechanical separation. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 54(1): 5-10, 1994.

**ABSTRACT:** The aim of this study was to evaluate, according to Rancimat method, the effectiveness of several antioxidants alone and in combination in retarding the development of rancidity in mechanically deboned curimatá (*Prochilodus scrofa*) meat. In addition, the antioxidants properties of an extract of rosemary (OR) alone and in combination with tert-butylhydroquinone (TBHQ) and butyl-ated hydroxyanisole (BHA) were determined by their addition as solutions to curimatá flesh. Apparently there is no report in the scientific literature on the efficiency of OR for minimizing effects of lipid oxidation in minced fish flesh. The most effective treatment in order to extend the induction period through the use of one antioxidant was with TBHQ at 0,02% w/w (induction period at 98°C was 22 h and 15 min). Using TBHQ the induction period increased 15 times as compared to control-group. From the literature, a similar result was obtained with blue shark (*Prionace glauca*) oil. The use of TBHQ + BHA + OR improved the lipid stabilization by retarding the development of rancidity in order of 10%. Such result doesn't recommend its applications at the technical and economical point-of-view.

**DESCRIPTORS:** curimatá (*Prochilodus scrofa*), mechacically debones meat, antioxidants, fish oil, Rancimat, lipid oxidation.

### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ANTUNES, A.J. & CANHOS, V.P. - *Aditivos em alimentos*. São Paulo, Secretaria da Indústria, Comércio, Ciência e Tecnologia. Coordenadoria da Indústria e Comércio. (1983). p. 116.
2. AMERICAN OIL CHEMISTS' SOCIETY. *Official methods and recommended practices of the American Oil Chemists' Society*. 4th ed. Champaign, A.O.C.S., 1990. (A.O.C.S. Official method Cd 8-53).
3. BARBUT, S.; JOSEPHSON, D.B. & MAURER, A.J. - Antioxidant properties of rosemary oleoresin in turkey sausage. *J. Food Sci.*, 50(5):1356-9, 1985.
4. BARRERA-ARELLANO, D. & ESTEVES, W. - Oxidative stability of potato chips determined by Rancimat. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 69(4):335-7, 1992.
5. BARRERA-ARELLANO, D.; BERTON-ORSI, M.A. & ESTEVES, W. - Determinação do período de indução de óleos vegetais pelo Rancimat. *Óleos & Grãos*, 11:12-5, 1993.
6. BLIGH, E.G. & DYER, W.J. - A rapid method of total lipid extraction and purification. *Can. J. Biochem. Physiol.*, 37(8):911-7, 1959.
7. BRASIL. Leis, decretos, etc. - Resolução nº 04/88 do Conselho Nacional de Saúde. *Diário Oficial*, Brasília, 19 dez. 1988, Seção I, p. 24.716. Aprova a revisão das Tabelas I, III, IV e V, referentes a aditivos intencioanis e anexos I, II, III, IV e VII, todos do Decreto nº 55.871 de 26.03.65.
8. CASTELL, C.H. - Interaction of lipids with non-lipid components of fish muscle during storage. *Am. Chem. Soc.*, 167, AGDF 38, 1974.
9. CHAINE, M.H. & MAC NEILL, R.F. - Effect of stabilization of crude whale oil with tertiary butil hidroquinons and other antioxidants upon keeping quality of resultant deodorized oil. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 51(3):37-41, 1974.

- MORAIS, C. de; CARVALHO, J.B. de; TAVARES, M.; GONÇALVES, L.A.G. & CAVALETTI, R.N. — Avaliação da eficiência de antioxidantes em óleo de carne de Curimatá (*Prochilodus scrofa*) separada mecanicamente através do Rancimat. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 54(1): 5-10, 1994.
- 
10. CHU, YH. - A comparative study of analytical methods for evaluation of soybean oil quality. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 68 (6):379-84, 1991.
11. DENG, J.C.; MATHEUS, R.F. & WATSON, C.M. - Effect of chemical and physical treatment on rancidity development of frozen mullet (*Mugil cephalus*) fillet. *J. Food Sci.*, 42:344, 1977.
12. FRANK, J.; GEIL, J.V. & FREASO, R. - Automatic determination of oxidation stability of oil and fatty products. *Food Technol.*, 36(6):71-6, 1982.
13. HOULIHAN, C.M. & HO, C.T. - Natural antioxidants. In: MIN, D.B. & SNOUSE, T.H. ed. - Flavor chemistry of fats and oils. A.O.C.S., Champaign, 1985. p. 140.
14. HASENHUETTL, G.L. & WAN, P.J. - Temperature effects on the determination of oxidative stability with Metrohm Rancimat. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 69 (6):525-7, 1992.
15. ICENHOUR, T.P. & DOLAH, F.M.V. - A rapid method for analysis of tert-butyl hydroquinone (TBHQ) in ethyl esters of fish oil. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 68 (9):659-61, 1991.
16. KAITARANTA, J.K. - Control of lipid oxidation in fish oil with various antioxidative compounds. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 69(8):810-3, 1992.
17. KAREL, M. - Protein lipid interaction. *J. Food Sci.*, 38 (5):756-63, 1973.
18. KORCZAK, J.; FLACZYK, E. & PAZOLA, Z. - Effects of spices on stability of minced meat products kept in cold storage. *Fleischwurchaf*, 68:64, 1988.
19. LÄBLI, M.W. & BRUTTEL, P.A. - Determination of the oxidative stability of fats and oils: comparison between the active oxygen method (AOCS Cd 12-57) and the Rancimat method. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 63(6):792-5, 1986.
20. LICCIARDELLO, J.J.; RACESI, E.M. & ALLSUP, M.G. -- Stabilization of the flavor of frozen minced whiting. I. Effect of various antioxidants. *Marine Fisheries Rev.*, 44(8):15-21, 1982.
21. LILLARD, D.A. — Effect of processing on chemical and nutritional changes in food lipids. *J. Food Protect.*, 46(1):61-7, 1983.
22. LIU, H.F.; BOOREN, A.M.; GRAY, J.I. & CRACKEL, R.L. -- Antioxidant efficacy of oleoresin rosemary and sodium tripolyphosphate in restructured pork steaks. *J. Food Sci.*, 57(4):803-6, 1992.
23. MOLEDINA, K.H.; REGENSTEIN, J.M.; BAKER, R.C. & STEINKRAUS, K.H. -- Effects of antioxidants and chelators on the stability of frozen stored mechanically deboned flounder meat from racks after filleting. *J. Food Sci.*, 42 (3):759-64, 1977.
24. MORAIS, C. de & MARTINS, J.F.P. -- Considerações sobre o aproveitamento de sobras da industrialização de pescado na elaboração de produtos alimentícios. *Bol. ITAL*, 18(3):253-81, 1981.
25. MORAIS, C. de; LIGORI, A. GALVÃO, M.T.E.L. & MARTINS, S.N. - *Estudo do aproveitamento industrial da carne de curimatá, Prochilodus scrofa, separada mecanicamente.* [Trabalho apresentado no Curso de Pós-Graduação em Tecnologia do Pescado. FEA/UNICAMP, outubro, 1988].
26. OLCOTT, H.S. - Oxidation of fish lipids. In: HEEN, E. & KREUZEN, R. (eds.), *Fish in nutrition*, London, 1962.
27. OOSTEN, C. W. van; POOT, C. & HENSEN, A.C. - The precision of the Swift stability test. *Fette Seifen Anstr.*, 83(4):133-5, 1981.
28. PACHECO, M.T.B. - *Obtenção e fracionamento do óleo de fígado de tubarão azul (Prionace glauca).* Campinas, 1991. p. 88. [Tese - Mestrado - Faculdade de Engenharia de Alimentos da UNICAMP].
29. RAC, M. & OSFRIC, B. - The properties of rosemary as an antioxidant. *Rev. Franc. Corps Gras.*, 2:196, 198, 1955.
30. SANG, L.A. - A review of the use of citric acid in the processing of oils and fats. *Oléagineux*, 39(2):89-95, 1984.
31. SHUN, W. & FANG, X. - The synergistic antioxidant effect of rosemary extract and -tocopherol in sardine oil model system and frozen-crushed fish meat. *J. Food Proc. and Preserv.*, 16(4):263-74, 1992.
32. SILBERSTEIN, D.A. & LILLARD, D.A. -- Factors affecting the antioxidation of lipids mechanically deboned fish. *J. Food Sci.*, 42:764, 1977.
33. STANSBY, M.E. - Reliability of fatty acids values purporting to represent composition of oil from different species of fish. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 58(1):13-6, 1981.
34. SWEET, C.W. - Activity of antioxidants in fresh fish. *J. Food Sci.*, 38(7):1250-1, 1973.
35. TAPPEL, A.L. - Hematin compounds and lipoxidase as biocatalists. In: SCHULTZ, H.W.; DAY, E.A. & SINHUBEN, E.O. (eds.), *Symposium on foods: lipids and their oxidation*, p. 122-138, Westport, 1962.
36. VALENZUELA, A.; NIETO, S. CASSELS, B.K. & SPEIKY, H. - Inhibitory effect of boldine on fish oil oxidation. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 68(12):935-7, 1991.
37. YI, O-S; DAESEOK, H. & SHIN, H-K. - Synergistic antioxidative effects of tocopherol and ascorbic acid in fish oil/lecithin/water system. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 68(11):881-3, 1991.

Recebido para publicação em 02 de setembro de 1993.

## PRESENÇA DE ÁCAROS EM DOCES DE AMENDOIM E DE LEITE VENDIDOS POR AMBULANTES NA CIDADE DE SÃO PAULO \*

Márcia Regina FRANZOLIN \*\*  
Domingos BAGGIO \*\*  
Marlene CORREIA \*\*\*  
Regina Maria Morelli Silva RODRIGUES \*\*\*

RIALA6/755

FRANZOLIN, M.R.; BAGGIO, D.; CORREIA, M.; RODRIGUES, R.M.M.S. - Presença de ácaros em doces de amendoim e de leite vendidos por ambulantes na cidade de São Paulo. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 54(1): 11-5, 1994.

**RESUMO:** No período de Janeiro/1992 a Janeiro/1993 foram analisadas 351 amostras de doce de amendoim em tablete e 157 amostras de doce de leite em tablete adquiridas mensalmente em dez barracas de ambulantes de doces, distribuídas em 4 regiões da cidade de São Paulo, para avaliar a situação de contaminação dos doces pelos ácaros, durante as 4 estações do ano. Estas amostras foram examinadas sob microscópio estereoscópico, percorrendo toda a superfície da amostra, no ato da aquisição, e semanalmente até completar 28 dias, mantidas em ambiente e em estufa BOD a 25°C e 75% U.R.A.. Outra parte da amostra foi selada em saco plástico e analisada após 90 dias de armazenamento. Cerca de 18,2% das amostras de doce de amendoim e 13,5% das amostras de doce de leite foram encontradas parasitadas por ácaros. Das espécies encontradas, 98,9% foram *Tyrophagus putrescentiae* Schrank, 0,9% *Blattisocius tarsalis* Berlese, 0,2% *Blomia tropicalis* Bronswijk, Cock e Oshima e 0,04% *Suidasia pontifica* Oudemans. Quando em ambiente, as amostras de doce de amendoim tiveram um número médio de 0,3 ácaros, e em estufa 4,4; enquanto que, para as amostras de doce de leite, 4,5 ácaros em média em ambiente e 3,1, em estufa. Os ácaros foram encontrados em número maior no 21° e 28° dias de análise, sendo que o exame no ato foi negativo, o que indica que havia ovos na amostra, e que com o tempo e em condições ótimas, vieram a se desenvolver, salientando a importância da incubação de uma amostra para exclusão da hipótese da presença de ácaros. As amostras de 90 dias de armazenamento apresentaram um número médio de ácaros bem elevado: 7,4 ácaros para doce de amendoim, e 19,9 ácaros para doce de leite, mostrando assim que um longo armazenamento é propício para que haja um aumento populacional de ácaros a partir de ovos presentes na amostra. As épocas do ano que apresentaram maior percentual de amostras positivas para ácaros foram: inverno: 34,9% e verão: 18,8%. No inverno, a percentagem deveria ser menor, pois as condições de temperatura e umidade são desfavoráveis para o crescimento dos mesmos, podendo-se, então, deduzir que essas amostras foram armazenadas por tempo prolongado, e que os ovos remanescentes das demais estações, mais favoráveis para proliferação acariana, eclodiram e se desenvolveram no inverno.

**DESCRITORES:** ácaros, análise microscópica, doce de leite, doce de amendoim.

### INTRODUÇÃO

A presença de ácaros em alimentos consumidos "in natura" tem grande importância médica pois

estes podem veicular fungos patogênicos produtores de micotoxinas, podendo assim causar sensibilização e intoxicar gravemente o homem. Quando em contato com a epiderme, podem produzir dermatoses nos

\* Realizado no Departamento de Parasitologia do ICB/USP

\*\* Do Departamento de Parasitologia do ICB/USP

\*\*\* Da Seção de Microscopia Alimentar do Instituto Adolfo Lutz

manipuladores de alimentos. As partículas fecais possuem substâncias tóxicas e antigênicas capazes de produzir enterites agudas, ocorrendo o mesmo na ingestão do ácaro vivo. A inalação das partículas fecais pode produzir fenômenos respiratórios como asma brônquica e rinite alérgica<sup>6</sup>. Os ácaros acarretam prejuízos econômicos, pois quando estão em grande concentração elevam a temperatura e umidade do meio contribuindo para o crescimento de outros microrganismos, tais como fungos, bactérias e leveduras, que alteram as características organolépticas dos alimentos, conspurcando-os<sup>2,4</sup>.

No Brasil, são escassos os estudos referentes a ácaros em alimentos. Um trabalho pioneiro sobre ácaros em doces foi feito por ROMANO et alii<sup>4</sup>, onde se pesquisou ácaros em alimentos derivados do leite e do cacau (sólidos), comercializados na Cidade de São Paulo, S.P., durante o ano de 1988, detectando-se a presença de ácaros.

Devido às consequências prejudiciais à saúde de os doces, quando contaminados, podem acarretar ao homem, e visto que tais doces são comercializados popularmente em grande número em vários pontos da cidade, realizou-se o presente estudo para verificar o grau de contaminação por ácaros, as espécies predominantes e as estações do ano em que ocorrem maior proliferação de ácaros nesses alimentos.

## MATERIAL E MÉTODOS

No período de janeiro de 1992 a janeiro de 1993 foram analisadas 351 amostras de doces de amendoim em tablete (doce de amendoim, paçoca de amendoim, paçoca cilíndrica e pé-de-moleque) e 157 amostras de doce de leite em tablete (doce de leite, doce de leite pingo e doce de leite e coco).

Foram escolhidos os seguintes locais de São Paulo: Largo de Pinheiros (duas barracas), Av. Dr. Enéas de Carvalho Aguiar (HC) (três barracas), Lapa (duas barracas) e Santo Amaro (três barracas), onde coletou-se mensalmente amostras de cada tipo dos doces.

O método de análise utilizado foi o de BAGGIO et alii<sup>1</sup>, com modificações. Cada amostra foi dividida em quatro partes iguais (meio tablete cada), sendo que a primeira parte foi analisada no ato de entrada no Laboratório; a segunda parte foi mantida em frasco plástico hermético, de capacidade 100 ml com tampa perfurada, e incubada a 25°C e 75% de U.R.A. em estufa B.D.O., durante 28 dias e examinada semanalmente. A terceira parte foi mantida no mesmo tipo de frasco por 28 dias à temperatura ambiente e examinada semanalmente. A quarta parte foi selada em saco plástico, mantida em temperatura ambiente, e analisada após 90 dias de armazenamento.

No ato da análise, cada amostra foi examinada sob microscópio estereoscópico, aumento de 25 a 40 x, percorrendo toda a superfície da amostra com auxílio de estilete. Foi identificada e quantificada cada espécie de ácaro encontrada, segundo a Classificação Sistemática de HUGHES<sup>2</sup>.

## RESULTADOS

Na Tabela 1, estão apresentados o total de amostras analisadas e número e percentual de amostras positivas para ácaros conforme o tipo de doce. Verificou-se a presença de ácaros em 18,2% das amostras de doce de amendoim e 13,4% das de doce de leite.

TABELA 1

Total de amostras e amostras positivas para ácaros, segundo tipo de doce.

Tipo de doce	Amostras		
	total	positivas	%
Paçoca cilíndrica	86	23	26,7
Paçoca amendoim	79	16	20,2
Doce de amendoim tablete	124	25	20,2
Pé-de-moleque	62	0	0,0
<b>Total</b>	<b>351</b>	<b>64</b>	<b>18,2</b>
Doce de leite	80	8	10,0
Doce de leite e coco	46	12	26,1
Doce de leite pingo	31	1	3,2
<b>Total</b>	<b>157</b>	<b>21</b>	<b>13,4</b>

A Tabela 2 mostra o número e a percentagem das espécies de ácaros presentes nos doces analisados durante o período de 28 dias. Os ácaros identificados pertenciam a quatro espécies diferentes: *Tyrophagus putrescentiae* Schrank, *Blomia tropicalis* Bronswijk, Cock e Oshima, *Suidasia pontifica* Oudemans e *Blattisocius tarsalis* Berlese.

A Tabela 3 apresenta o número total e a média de ácaros por tipo de ambiente, segundo os períodos de observações das amostras. Verifica-se que, exceto no

TABELA 2

Frequência de ácaros, segundo espécie, por tipo de doce.

Espécie	Tipo de doce				Total	
	Amendoim		Leite		nº	%
	nº	%	nº	%		
<i>T. putrescentiae</i>	1618	98,4	1173	99,5	2791	98,9
<i>B. tarsalis</i>	22	1,3	4	0,3	26	0,9
<i>B. tropicalis</i>	3	0,2	2	0,2	5	0,2
<i>S. pontifica</i>	1	0,1	0	0,0	1	0,0
<b>Total</b>	<b>1644</b>	<b>100,0</b>	<b>1179</b>	<b>100,0</b>	<b>2823</b>	<b>100,0</b>

TABELA 3

Distribuição do número de ácaros por tipo de doce e de ambiente, segundo o dia de análise.

Dia de análise	Doce de amendoim				Doce de leite			
	Ambiente		Estufa		Ambiente		Estufa	
	nº	X*	nº	X*	nº	X*	nº	X*
no ato	0	0	0	0	0	0	0	0
7º	40	0,1	40	0,1	27	0,2	18	0,1
14º	32	0,1	240	0,1	114	0,7	82	0,5
21º	20	0,1	595	1,7	270	1,7	279	1,8
28º	20	0,1	657	1,9	287	1,8	102	0,2
Total	112	0,3	1532	4,4	698	4,5	481	3,1
90º	2607	7,4			3126	19,9		

\*X = número de ácaros / total de amostras

TABELA 4

Número de amostras positivas para ácaros por tipo de doce e estações do ano.

Estações	Amostras								
	Doce de amendoim			Doce de leite			Total		
	Total	Positivas	%	Total	Positivas	%	Total	Positivas	%
Primavera	97	3	3,1	41	1	2,4	138	2	2,9
Verão	80	19	23,7	37	3	8,1	117	22	18,8
Outono	84	11	13,1	40	3	7,5	124	14	11,3
Inverno	90	31	34,4	39	14	35,9	129	45	34,9
Total	351	64	18,2	157	21	13,4	508	85	16,7

1º dia de análise, foram encontrados ácaros em todos os dias de análise e que as amostras de doce de leite apresentaram um número médio de ácaros maior do que as amostras de doce de amendoim, tanto em ambiente quanto em estufa; assim como as amostras de 90 dias de armazenamento.

A frequência de ácaros nos doces em função das estações do ano está indicado na Tabela 4, verificando-se a variação da sua presença em função das estações do ano.

## DISCUSSÃO E CONCLUSÕES

A constatação de maior percentagem de amostras de doce de amendoim (18,2%) contaminadas com ácaros em relação as amostras de doce de leite (13,4%) (Tabela 1), indica que a manipulação e armazenamento das amostras de doce de amendoim foram executados em piores condições ou que os ácaros tiveram uma certa preferência por este tipo de doce.

Das amostras de doces analisadas, somente as de pé-de-moleque foram negativas para ácaros (Tabela 1), devido ao açúcar caramelado presente entre os grãos de amendoim, que não permitiu a movimen-

tação dos ácaros e, conseqüentemente, seu desenvolvimento.

De todas as espécies de ácaros encontradas, *Tyrophagus putrescentiae* foi a que ocorreu quase que com exclusividade (98,9%) (Tabela 2), independente do tipo de doce, pois é muito comum em produtos armazenados, aparecendo geralmente em quantidades explosivas, sendo altamente adaptável<sup>5</sup>.

As demais espécies de ácaros identificadas, apresentaram uma baixa frequência (Tabela 2) nos produtos analisados: *Blomia tropicalis* (0,2%), *Suidasia pontifica* (0,1%) e a espécie predadora *Blattisocius tarsalis* (0,9%) e também são comuns em ambientes de produtos armazenados<sup>5</sup>.

O maior número de ácaros presentes nas amostras de doce de leite em relação às de doce de amendoim, em ambiente, em estufa e com 90 dias de armazenamento (Tabela 3), deve-se ao alto grau de contaminação do doce de leite com coco (Tabela 1), cujo teor protéico e de gordura permitiu o crescimento explosivo de populações de ácaros. O mesmo não ocorreu nos demais tipos de doce de leite, onde o número médio de ácaros foi menor do que nas amostras de doce de amendoim. O longo armazenamento (90

dias) propiciou o aumento populacional de ácaros a partir de ovos que aí se encontravam, mostrando assim a importância de se ter um prazo de validade e de consumo dos doces (Tabela 3).

Os ácaros foram encontrados em número maior no 21º e 28º dias de observações, enquanto que todas as amostras foram negativas para ácaros no 1º dia da análise (Tabela 3), indicando que estavam contaminadas por ovos e que o armazenamento por um certo período e em condições ambientais adequadas, permitiu o desenvolvimento dos ovos e a proliferação dos ácaros. Isso salienta a importância de se incubar uma amostra por no mínimo 21 dias, em condições ótimas, para exclusão da hipótese da presença de ácaros.

O período de observação de 28 dias foi baseado na biologia dos ácaros contaminantes ambientais, cujo ciclo evolutivo leva 21 a 28 dias para ser completado<sup>2</sup>.

As amostras de doce de amendoim mantidas em estufa apresentaram um número médio de ácaros superior ao das mantidas em ambiente (Tabela 3), pois as condições de temperatura e URA mais favoráveis para o desenvolvimento dos ácaros foram mantidas constantes. O mesmo deveria ocorrer para as amostras de doce de leite, porém, em condições ambientais o número médio foi superior ao da estufa, podendo ser devido à composição química do alimento ou aumento

do teor de umidade do doce de leite, com consequente amolecimento do produto e liberação de líquido no meio, dificultando o desenvolvimento dos ácaros.

As estações do ano que apresentaram maior percentual de amostras positivas para ácaros foram: inverno, sendo 34,4% para doce de amendoim e 35,9% para doce de leite, e verão, 23,8% para doce de amendoim e 8,1% para doce de leite (Tabela 4). Supõe-se que no inverno a positividade deveria ser menor do que nas outras estações, pois as condições ambientais de temperatura e umidade não são muito favoráveis para o crescimento acariano. Tal fato sugere que essas amostras foram armazenadas por um período de tempo maior, e que os ovos remanescentes das demais estações, favoráveis para a proliferação acariana, eclodiram e se desenvolveram no inverno.

A presença de ácaros nesses doces sugere manipulação e armazenagem inadequadas, bem como falta de higiene, configurando, assim, em um problema de Saúde Pública, visto que esses doces serão consumidos "in natura".

Devido à grande presença de ácaros ou de seus ovos, que eclodiram após incubação, nos doces de leite e de amendoim em tablete, deve-se tomar medidas profiláticas quanto ao tipo e ao período de armazenamento desses produtos, para se evitar possíveis prejuízos, tanto de ordem médico-sanitária como econômica.

RIALA6/755

FRANZOLIN, M.R.; BAGGIO, D.; CORREIA, M.; RODRIGUES, R.M.M.S. - Presence of mites in bars of peanuts sweet and milk sweet, sold by street's marchant in the city of São Paulo. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 54(1): 11-5, 1994.

ABSTRACT: In the period from January 1992 to January 1993, 351 samples of peanut sweet and 157 samples of milk sweet were analysed to study the mite contamination. This samples were microscopically analyzed once a week in 28 days at environment temperature, and in the same way other portion kept in an oven with 25°C and 75% U.R.A.. 18,2% of peanut swett and 13,5% of milk sweet was contaminated with the species: *Tyrophagus putrescentiae* (S.), *Blattisocius tarsalis* (B.), *Blomia tropicalis* (B.C.O.) and *Suidasia pontifica* (O.). The mites were found in larger numbers in the 21º and 28º days of analyses indicating the presence of eggs, which hatched when in good conditions for mite development. The mite population presented large numbers of positive samples in the winter and in the summer, deducting that the samples were stored for a long period, and the eggs remaining of the others seasons, hatch and development in the winter.

DESCRIPTORS: mites, microscopic detection of mites, bars of milk sweet, bars of peanut sweet.

#### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. BAGGIO et alii - Avaliação da presença de ácaros em cereais armazenados na Grande São Paulo. *Anais da*

*E.S.A. "Luis de Queirós"*, Piracicaba, SP, 44: 617-26, 1987.

2. HUGHES, A.M. - *Mites of stored food and houses*. 2nd.

ed., Techn. Bull. 9, Mini. Agric. Fish. Food., London, H.M.S.O., 400 p., 1976.

3. KRANTZ, G.W. - The biology and ecology of granary mites of the Pacific Northwest I. Ecological considerations. *Ann. Entomol. Soc. Amer.*, 54: 169-74, 1961.
4. ROMANO, N.S.; BAGGIO, D.; CARVALHO, J.P.P.; FLECHTMAN, C.H.W. - Ácaros contaminantes de ambiente, encontrados em doces derivados do leite e do chocolate, a venda em pequenos estabelecimentos da cidade de São Paulo, SP. *In: JORNA-*

DA FARMACÊUTICA DE RIBEIRÃO PRETO, 11., Ribeirão Preto, 1989. Resumo. p.24.

5. SINHA, R.N. - Role of Acarina in the stored grain ecosystem. *In: RODRIGUES, J.G. (ed.) Recent Advances in Acarology*, I: 263-72, 1979.
6. TERBUSH, L.E. - The medical significance of mites of stored food. *FDA-by lines*, 3(2): consecutive n° 5, 57-70, 1972.

Recebido para publicação: 03.09.93



## NÍVEIS DE CÁDMIO E CHUMBO EM FÍGADO E RINS DE BOVINOS

Schubert ARANHA \*  
Amélia Mitico NISHIKAWA \*  
Tsuyoshi TAKA \*  
Elizabete Maia Cordeiro SALIONI \*

RIALA6/756

ARANHA, S.; NISHIKAWA, A.M.; TAKA, T.; SALIONI, E.M.C. - Níveis de cádmio e chumbo em fígado e rins de bovinos. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 54(1): 16-20, 1994.

**RESUMO:** Com objetivo de evidenciar os níveis de chumbo e cádmio foram analisadas 317 amostras, sendo 61 de fígado e 256 de rins de bovinos por espectrofotometria de absorção atômica com chama. As amostras procedentes de várias Unidades da Federação foram oriundas de frigoríficos sob Inspeção Federal. Deste total, 67 amostras apresentaram traços de chumbo (06 no fígado e 61 nos rins) e 187 traços de cádmio (02 no fígado e 185 nos rins). Somente 02 amostras ultrapassaram os níveis de ação para cádmio (0,8%). Os dados revelaram que os resíduos de cádmio ocorrem com maior frequência e se concentram preferentemente no rim. As concentrações médias de cádmio e chumbo em fígado foram 0,05 ppm e 0,12 ppm e nos rins 0,23 ppm e 0,13 ppm, respectivamente.

**DESCRITORES:** Metais pesados em fígado e rins de bovinos, elementos traços, espectrofotometria de absorção atômica com chama.

### INTRODUÇÃO

A presença de elementos metálicos nos alimentos varia amplamente, dependendo de numerosos fatores associados a condições ambientais, assim como as práticas tecnológicas e uso indiscriminado de produtos químicos<sup>11</sup>.

Os traços destes metais nos mais diversos alimentos têm sido detectados em níveis prejudiciais à saúde humana, daí a razão da preocupação das autoridades sanitárias em estabelecer teores máximos para estes elementos<sup>2,21</sup>.

Alguns desses elementos metálicos desempenham, em pequenas concentrações, funções biológicas essenciais para o homem, e a sua deficiência acarreta distúrbios no crescimento e metabolismo<sup>1,2,11</sup>.

Outros, como cádmio e o chumbo, apresentam sérios problemas pela sua comprovada toxicidade para o

organismo vivo, ainda que em concentrações baixas, mas cuja presença nos alimentos deve ser controlada.

Estes elementos são geralmente considerados contaminantes acidentais e são translocados através da cadeia alimentar para o homem e animais.

O cádmio é tido como um dos elementos mais perigosos para alimentação humana, particularmente pelo seu caráter acumulativo, e a sua presença tende a aumentar dia a dia em consequência da contaminação ambiental, pela manipulação e refinação do metal, assim como por seus múltiplos usos industriais em pigmentos no processo de cadmiagem galvânica, elaboração de substâncias plásticas vinílicas, fertilizantes, etc. A sua ocorrência na natureza é na forma de mineral raro, a greenockita (CdS); também acompanha muitos minérios de zinco com blenda e a calamita. Contudo, a contaminação ambiental oriunda de erosões é insignificante, se comparado com as atividades humanas como fonte de poluição<sup>1,2,11</sup>.

\* Farmacêuticos-bioquímicos do Laboratório de Referência Animal - LARA/CAMPINAS - Ministério da Agricultura, do Abastecimento e da Reforma Agrária - Rodovia Heitor Penteado, Km. 3,5 - Campinas/SP, São Paulo/Brasil.

O cádmio se acumula no homem com a idade, sendo praticamente inexistente em recém-nascidos e atingindo cerca de 30 mg aos 50-60 anos. Após a absorção, concentra-se particularmente nos rins e no fígado e a sua ação tóxica se deve ao efeito bloqueador sobre agrupamento sulfidríla (-SH) de proteíñas, competindo com os metais essenciais como o zinco na ação enzimática(1).

O chumbo é um elemento amplamente difundido na natureza, sendo encontrado em concentrações mais elevadas que o cádmio.

No organismo humano, o chumbo é eliminado parcialmente, portanto a contínua ingestão pelo homem mesmo que em baixas concentrações pode resultar no acúmulo em um nível suficiente para manifestar sua ação tóxica, cuja forma mais conhecida, o "saturnismo", é caracterizada por convulsões, ataxia, vômitos persistentes e irritabilidade<sup>11</sup>.

O chumbo se acumula no homem com a idade e depois de absorvido se distribui, principalmente para os ossos, fígado, rins e o trato respiratório superior. Sua toxicidade é atribuída a combinação com os grupamentos sulfidríla (-SH) de aminoácidos e proteíñas, resultando na inibição de enzimas. Estudos indicam que um dos primeiros sinais de intoxicação por chumbo é a porfirúria<sup>1</sup>.

É geralmente aceito que os níveis de contaminantes metálicos em alimentos depende das condições naturais (solo, clima, propriedades genéticas das plantas e animais), da composição química dos fertilizantes e rações e da poluição ambiental. Portanto, os níveis podem variar de uma região para outras e conseqüentemente há necessidade de controle estrito destes elementos nos alimentos.

Diante disso, a Coordenação Geral de Laboratório Animal, órgão do Ministério da Agricultura, do Abastecimento e da Reforma Agrária através do Laboratório de Referência Animal tem realizado análises sistemáticas de cádmio e chumbo, dentre outros contaminantes, objetivando o acompanhamento dos níveis em que ocorrem nos tecidos pesquisados.

O intuito da presente pesquisa é evidenciar os níveis de cádmio e chumbo no fígado e rins de bovinos.

## MATERIAIS E MÉTODOS

Foram analisadas 317 unidades amostrais, sendo 61 amostras de fígado e 256 de rins de bovinos, provenientes de estabelecimentos inspecionados pelo Governo Federal de diversas Unidades da Federação, durante o período compreendido de janeiro de 1991 a dezembro de 1992.

Do total de 317 amostras em que foram pesquisa-

dos cádmio e chumbo, 153 foram provenientes do Estado de São Paulo, 75 de Goiás, 34 de Minas Gerais, 24 do Mato Grosso do Sul, 12 do Rio Grande do Sul, 7 do Mato Grosso, e os Estados de Paraná, Pará, Espírito Santo e Tocantins com três amostras cada.

As amostras foram colhidas a partir de um sorteio dos lotes de animais abatidos no dia da coleta, de forma aleatória. Foram constituídas de aproximadamente 500 (quinhentos) gramas de fígado e rins. Em seguida foram embaladas, congeladas e acondicionadas em caixas de isopor contendo solução refrigerante, lacradas e encaminhadas ao laboratório, devidamente identificadas.

No laboratório, as amostras foram cortadas em cubos e trituradas no liquidificador, formando uma massa homogênea. A razão de se analisar preferentemente amostras de rim baseia-se na probabilidade de traços de metais serem encontrados em maiores concentrações.

As amostras assim preparadas foram analisadas segundo "Métodos de Análise de Resíduos Biológicos em Produtos de Origem Animal" que é o mesmo adotado pelo Departamento de Agricultura dos Estados Unidos<sup>6,9</sup>.

O método consiste na destruição da matéria orgânica com auxílio de nitrato de magnésio e posterior tratamento em forno mufla a alta temperatura. A cinza é dissolvida em meio clorídrico e a solução obtida é analisada por espectrofotometria de absorção atômica.

O equipamento utilizado foi o espectrofotômetro de absorção atômica "Perkin-Elmer", modelo 2380, dotado de queimador de fenda única para aracetileno e as condições instrumentais foram: para chumbo, comprimento de onda - 283.3 nm; fenda - 0,7 nm; fonte - lâmpada de descarga de chumbo e para cádmio, comprimento de onda - 228.8 nm; fenda - 0,7 nm e fonte: lâmpada de descarga de cádmio.

Foram preparadas soluções padrões de chumbo e cádmio nas concentrações de 1,00/2,00/4,00 ppm e 0,50/1,00/2,00 ppm respectivamente. Posteriormente foram efetuadas as leituras das absorbâncias das soluções padrões e valores calculados por comparação das leituras das soluções das amostras em relação à curva padrão.

Paralelamente a cada grupo de amostras foram efetuadas as fortificações com soluções padrões de chumbo e cádmio e as recuperações oscilaram de 92 à 105% (para chumbo) e 91 à 110% (para cádmio) e os limites de detecção foram de 0,20 e 0,10 ppm respectivamente.

O Programa Nacional de Controle de Resíduos Biológicos em Carnes estabelece os seguintes níveis

de ação em fígado e rim de bovinos: 1,00 ppm para cádmio e 2,00 ppm para chumbo<sup>5</sup>. Os níveis de ação aqui abordados correspondem aos mesmos conceitos de limite de tolerância.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Do total de 317 amostras analisadas, sendo 61 de fígado e 256 de rins de bovinos, 67 amostras apresentaram resíduos de chumbo (06 no fígado e 61 nos rins) e 189 resíduos de cádmio (04 no fígado e 185 nos rins). (TABELAS 1, 2, 3, 4, 5).

TABELA 1

Frequência de traços de chumbo em fígado de bovinos provenientes de estabelecimento inspecionados, segundo a Unidade da Federação de origem, 1992.

Unidade da federação	Nº Amostras	Com resíduo		Acima níveis de ação	
		Nº	%	Nº	%
São Paulo	23	04	17,4	z	z
Goiás	17	01	5,9	z	z
Minas Gerais	10	z	z	z	z
Mato Grosso do Sul	05	01	20,0	z	z
Rio Grande do Sul	02	z	z	z	z
Mato Grosso	01	z	z	z	z
Pará	01	z	z	z	z
Espírito Santo	01	z	z	z	z

TABELA 2

Frequência de traços de chumbo em fígado de bovinos provenientes de estabelecimento inspecionados, segundo a Unidade da Federação de origem, 1992.

Unidade da federação	Nº Amostras	Com resíduo		Acima níveis de ação	
		Nº	%	Nº	%
São Paulo	130	33	25,4	z	z
Goiás	58	11	19,0	z	z
Minas Gerais	24	07	29,2	z	z
Mato Grosso do Sul	19	05	26,3	z	z
Rio Grande do Sul	10	z	z	z	z
Mato Grosso	06	02	33,3	z	z
Tocantins	03	0	33,3	z	z
Pará	02	z	z	z	z
Paraná	02	z	z	z	z
Espírito Santo	02	02	100,0	z	z

Levando-se em consideração o nível de ação de acordo com o Programa Nacional de Controle de Resíduos Biológicos em Carnes, 02 unidades amostrais ultrapassaram os limites previstos para o cádmio no rim, perfazendo 0,8%. (TABELA 5).

TABELA 3

Frequência de traços de chumbo em fígado de bovinos provenientes de estabelecimento inspecionados, segundo a Unidade da Federação de origem, 1992.

Unidade da federação	Nº Amostras	Com resíduo		Acima níveis de ação	
		Nº	%	Nº	%
São Paulo	23	02	8,7	z	z
Goiás	17	z	z	z	z
Minas Gerais	10	z	z	z	z
Mato Grosso do Sul	05	z	z	z	z
Rio Grande do Sul	02	01	50,0	z	z
Espírito Santo	01	z	z	z	z
Mato Grosso	01	z	z	z	z
Pará	01	01	100,0	z	z
Paraná	01	z	z	z	z

TABELA 4

Frequência de traços de chumbo em fígado de bovinos provenientes de estabelecimento inspecionados, segundo a Unidade da Federação de origem, 1992.

Unidade da federação	Nº Amostras	Com resíduo		Acima níveis de ação	
		Nº	%	Nº	%
São Paulo	130	101	77,7	z	z
Goiás	58	40	69,0	z	z
Minas Gerais	24	16	66,7	z	z
Mato Grosso do Sul	19	12	63,1	z	z
Rio Grande do Sul	10	09	90,0	z	z
Mato Grosso	01	02	33,0	z	z
Tocantins	03	02	66,7	z	z
Espírito Santo	02	01	50,0	z	z
Pará	02	01	50,0	z	z
Paraná	02	01	50,0	z	z

TABELA 5

Frequência de traços de chumbo e cádmio em amostras de fígado e rins de bovinos, segundo o elemento pesquisado, 1992.

Elemento	Tecido	Nº de amostras	Com resíduo		Ac. níveis de ação	
			Nº	%	Nº	%
chumbo	fígado	61	06	9,8	z	z
	rim	256	61	23,8	z	z
cádmio	fígado	61	04	6,5	z	z
	rim	256	185	72,3	02	0,8

Nos rins foram detectados traços de cádmio em 185 (72,3%) amostras e em 61 (23,8%) de chumbo. No fígado, a frequência foi inferior, ocorrendo em 06 (9,8%) das amostras analisadas para o chumbo e em 04(6,5) amostras para cádmio.

TABELA 6

Concentrações de cádmio e chumbo em fígado e rins de bovinos em ppm, segundo o elemento pesquisado, 1992.

Elemento	Tecido		Com resíduo		Ac. níveis	
	Intervalo	Nº de fígado média	Intervalo	rim média	Intervalo	rim média
chumbo	ND - 0.13	0.05	ND - 1.59	0.23		
cádmio	ND - 0.70	0.12	ND - 1.06	0.15		

Considerando a Unidade da Federação de origem, os Estados de São Paulo e Goiás foram os que apresentaram teor de cádmio acima dos níveis de ação, com uma amostra cada. (TABELA 4). Estes níveis foram de 1,59 ppm e 1,43 ppm respectivamente.

Tratando-se do limite de detecção, em 57 unidades amostrais de fígado e 196 de rins foram detectados traços de chumbo e em 59 amostras de fígado e 71 de rim, não foram encontrados o elemento cádmio.

As concentrações médias de cádmio detectadas no fígado foi de 0,05 ppm e 0,23 ppm no rim. Para o chumbo os níveis médios foram da ordem de 0,12 ppm no fígado e 0,15 ppm no rim. Estes valores foram calculados baseando-se que amostras com resíduos não detectáveis apresentaram 50% do limite de detecção.

TOLEDO et alii<sup>8</sup>, analisando 161 amostras de peixes e outras espécies marinhas coletados no Estuário de Santos, Baía de Todos os Santos, verificaram que 90% apresentaram teor de cádmio abaixo de 0,03 mg/Kg e em 31 amostras não foram detectados traços desse elemento.

VERMA et alii<sup>10</sup> examinando 400 amostras de produtos cárneos enlatados, verificam a presença de chumbo em concentrações inferiores a 2,5 ppm em todas as amostras. Nossos estudos também indicaram que nenhuma amostra ultrapassou o referido teor e nem o nível de ação recomendado pelo Programa Nacional de Controle de Resíduos Biológicos, que prevê no máximo 2,00 ppm para chumbo.

Pesquisa realizada por LARA et alii<sup>4</sup>, que se analisaram 71 amostras de alimentos infantis compreendendo sucos, frutas, cremes, frutas em conserva, pudins, sopas etc., na cidade de São Paulo, constatou níveis de chumbo que variaram de 0,02 mg/kg a 0,37 mg/kg e nonagésimo percentil de 0,20 mg/kg.

Em estudo realizado por CANTONI et alii<sup>2</sup>, em 468 amostras de alimentos de origem animal compreendendo pescado, carne fresca de bovino, suíno, queijo, iogurtes, produtos de salsicharia, etc., o teor de cádmio oscilou de 0,01 à 1,34 ppm, sendo este encontrado em um produto de salsicharia. Analisando nossos dados,

verificamos a mesma tendência, sendo que somente duas amostras ultrapassaram os níveis de ação.

YBANEZ et alii<sup>11</sup> pesquisaram resíduos de cádmio e chumbo em produtos cárneos cozidos do mercado espanhol, como presunto cozido, fiambre, salsicha, mortadela e pasta de fígado e verificaram que as concentrações médias de cádmio foram inferiores a 0,05 ppm, com valores ligeiramente superiores para presunto cozido. Com relação ao chumbo, as concentrações médias são inferiores a 0,5 ppm em todos os produtos analisados, excetuando a pasta de fígado. Os dados fornecidos pelo nosso trabalho revelaram concentrações médias de 0,05 ppm e 0,23 ppm para cádmio no fígado e no rim respectivamente. Para chumbo, a nossa pesquisa mostra a mesma tendência.

FLANJAK & LEE<sup>3</sup>, analisando amostras de fígado e rins de bovinos oriundos de oito diferentes locais de New South Wales, verificaram que a média da concentração de cádmio foi de 0,08 ppm (ND - 0,80) e para chumbo 0,14 ppm (ND - 0,85). Nossa pesquisa indica níveis ligeiramente superiores quando consideramos o intervalo de variação.

SALISBURY et alii<sup>7</sup> analisando resíduos de 7 elementos dentre os quais cádmio e chumbo em fígado e rim de 5 espécies animais no período de 1982 e 1989 no Canadá, verificaram que resíduos de cádmio em aproximadamente 10% dos rins de bovinos foram detectados em concentrações superiores a 2 ppm; entretanto, em 70% das amostras foram detectados resíduos deste elemento. Comparando os dados obtidos na nossa pesquisa, nota-se uma diferença significativa quanto ao número de amostras em que resíduos de cádmio e chumbo foram detectados, que poderá ser atribuída ao nível de detecção do equipamento utilizado naquela pesquisa um vez que os limites de detecção do presente trabalho foram de 0,10 ppm para cádmio e 0,20 ppm para chumbo. O nosso estudo apresenta menor número de amostras que ultrapassaram o nível de ação para cádmio e em nenhuma amostra os limites se excederam para chumbo.

## CONCLUSÕES

Baseando-se nos resultados das análises efetuadas, conclui-se:

1. Traços de chumbo e cádmio apresentam maior incidência no rim do que no fígado;
2. Traços de cádmio ocorrem com maior frequência nos dois órgãos analisados se comparado com o chumbo;
3. Somente duas amostras de rim apresentaram resíduos de cádmio acima dos níveis de ação pro-

posto pelo Programa Nacional de Controle de Resíduos Biológicos em carnes;

4. O percentual de amostras que ultrapassaram os limites previstos é muito reduzido e parece-nos não constituir problema do ponto de vista de saúde pública na espécie analisada.

## AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao Dr. José Guedes Déak - Chefe do Laboratório de Referência Animal - LARA/Campinas, pelas oportunas sugestões e facilidades proporcionadas.

RIALA6/756

ARANHA, S.; NISHIKAWA, A.M.; TAKA, T. & SALIONI, E.M.C. - Cadmium and lead levels in cattle's liver and kidney. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 54(1): 16-20, 1994.

**ABSTRACT:** Results for the levels of lead and cadmium determined by atomic absorption spectrophotometry, in the livers and kidneys of 317 cattle from several States of Brazil are presented. The samples were collected in slaughterhouses by Federal Government. In 67 samples were found lead (06 in liver, 61 in kidneys) and for cadmium in 187 samples (02 in liver, 185 in kidneys). Only two samples (0,8%) were detected levels of cadmium above the action level. The mean for cadmium and lead in livers, in ppm were: 0.05 and 0.12 and in kidneys 0.23 and 0.15, respectively. The results showed that trace of cadmium occur with more frequency and highest concentration in the kidneys.

**DESCRIPTORS:** Heavy metals in liver and kidneys of cattle, trace metals, atomic absorption spectrophotometry.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. BASTOS, L.M.B.R. Determinação de metais tóxicos em fígado de aves, 1977. (Dissertação de Mestrado - Universidade Federal Fluminense/RJ).
2. CANTONI, C.; RENON, P. & D'AUBERT, S. II Cádmio negli alimenti di origine animale. *Industria Alimentari*, 481 - 4, 1979.
3. FLANJAK, J. & LEE, H.Y. Trace metal content of livers and kidneys of cattle, *J. Sci. Food Agric.*, 30:503-7, 1979.
4. LARA, W. H., SAKUMA, A. M. & YABIKU, H.Y. Níveis de chumbo em alimentos infantis. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 42 (1/2): 35-8, 1982.
5. MINISTÉRIO DA AGRICULTURA. Novo Programa Nacional de Controle de Resíduos Biológicos em Carnes, 1991.
6. MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, DO ABASTECIMENTO E DA REFORMA AGRÁRIA. Métodos analíticos Oficiais para Controle de Produtos de Origem Animal - Métodos de Análise de Resíduos Biológicos em Produtos de Origem Animal, pag. 47-49 - 2ª revisão, 1992.
7. SALISBURY, C.D.C., CHAN, W. & SASCHENBRECKER, P.W. Multielement concentrations in liver and kidney tissues from five species of Canadian Slaughter Animals. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, 74 (4): 587-91, 1991.
8. TOLEDO, M. de, SAKUMA, A.M. & PREGNOLATTO, W. Aspectos de contaminação por cádmio em produtos de mar coletados no Estuário de Santos, Baía de Guanabara e Baía de Todos os Santos. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 43 (1/2):15-24, 1983.
9. UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE. Food Safety and Inspection Service. Determination of trace elements in animal tissue by atomic absorption spectrophotometry. Chemistry Laboratory Guidebook, section 5.010, 1987.
10. VERMA, M.M.; ADINARAYANAIH, L., SHARMA, B.T., KUMAR, B.T.A., SAXENA, V. & MATHEW, T.V. Trace elements in some canned meat products. *J. Food Sci. Technol.*, 20 (july/august): 153-4, 1983.
11. YBANEZ, N., MONTORO, R., CATALÀ, R. & FLORES, J. Contenido en cádmio, plomo y cobre de productos carnicos. *Rev. Agroquim. Tecnol. Aliment.*, 22 (3):419-25, 1982.

Recebido para publicação: 13.09.93

## SARDINHAS EM ÓLEO COMESTÍVEL. PARTE II. ESTUDO DA INTERAÇÃO ENTRE OS ÁCIDOS GRAXOS DO PEIXE E DO ÓLEO DE COBERTURA \*

Elza Schwarz Gastaldo BADOLATO \*\*  
Sabria AUED-PIMENTEL \*\*  
Mário TAVARES \*\*  
Cleso de MORAIS \*\*\*

RIALA6/757

BADOLATO, E.S.G.; AUED-PIMENTEL, S.; TAVARES, M.; MORAES, C. — Sardinhas em óleo comestível. Parte II. Estudo da interação entre os ácidos graxos do peixe e do óleo de cobertura. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 54(1): 21-6, 1994.

**RESUMO:** Foi avaliada, no período de um ano, a interação entre os ácidos graxos do óleo de sardinha (*Sardinha pilchardus*) e do óleo de cobertura (soja), em conservas de sardinha em óleo vegetal, especialmente elaborada. Os ácidos graxos foram determinados a partir de seus ésteres metílicos, segundo as "Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz" (1985), por cromatografia em fase gasosa, sendo separados em coluna capilar de sílica fundida de 25m, Carbowax 20M. Observou-se que, imediatamente após o enlatamento da sardinha com óleo de soja, houve um intercâmbio lipídico e predominância da composição do óleo de soja no perfil de ácidos graxos do óleo extraído das sardinhas. Apesar da grande variedade de ácidos graxos presentes no óleo das sardinhas frescas (matéria-prima), isto é, de C14:0 a C22:6 foram encontradas quantidades muito pequenas dos ácidos característicos, como C20:5 (eicosapentaenóico, EPA) e C22:6 (docosahexaenóico, DHA), após um ano do enlatamento, no óleo extraído das sardinhas. Após o citado período, os ácidos graxos encontrados em maior proporção, tanto no óleo de cobertura como no extraído daquele peixe, foram C16:0 e C18:2, todos característicos do óleo de soja, e pequenos teores de ácidos graxos do óleo de sardinha. Verificou-se uma maior facilidade de migração do EPA do que do DHA, do óleo de sardinha para o de cobertura. Os resultados obtidos mostraram que para os diferentes produtos, ou seja, sardinha fresca e sardinha em óleo comestível, existiu grande diferença no balanço dos ácidos graxos da série ômega-6, especialmente C18:2, e ômega-3, principalmente EPA e DHA, importante do ponto-de-vista nutricional.

**DESCRITORES:** sardinhas enlatadas; óleo de cobertura; composição em ácidos graxos, modificação na, interação, estocagem.

### INTRODUÇÃO

O pescado é um alimento de grande valor nutricional, apresentando em sua composição química proteínas de alta qualidade, lipídios, vitaminas e sais minerais<sup>7</sup>.

Além do consumo no estado fresco, o pescado pode ser consumido ainda na forma de conservas,

possibilitando seu armazenamento por um longo período. Enquanto que o pescado fresco é um produto altamente perecível, com uma vida-de-prateleira de 5 a 15 dias, sob refrigeração, as conservas podem ser estocadas a temperatura ambiente por um período mínimo de 2 anos<sup>4</sup>.

Entre as conservas de pescado, destacam-se as de sardinhas em óleo, visto ser esta espécie disponível du-

\* Realizado na Seção de Óleos, Gorduras e Condimentos e no Laboratório da Divisão de Bromatologia e Química do Instituto Adolfo Lutz, São Paulo, SP, e na Seção de Pescados e Recursos Marinhos do Instituto de Tecnologia de Alimentos, Guarujá, SP. Apresentado no Encontro Nacional de Analistas de Alimentos, 8º, Porto Alegre, RS, 1993.

\*\* Do Instituto Adolfo Lutz.

\*\*\* Do Instituto de Tecnologia de Alimentos.

rante todas as épocas do ano e a mais comercializada, no Brasil, no maior entreposto terminal (CEAGESP)<sup>2,15</sup>. Por razões econômicas, emprega-se, em nosso país, o óleo de soja, predominantemente, nas referidas conservas. Ressalta-se que, a indústria de conservas de sardinha tem se constituído num importante segmento da indústria brasileira de alimentos processados<sup>18</sup>.

Nos lipídios de pescado, destaca-se a presença de ácidos graxos polinsaturados, principalmente o eicosapentaenóico (EPA) e o docosahexaenóico (DHA), da série ômega-3, referidos como produtores de efeitos benéficos ao organismo humano<sup>1,14,19</sup>. O consumo destes ácidos resulta num decréscimo nos níveis de triacilglicerol e colesterol séricos, em contraste com os da série ômega-6, que baixam apenas o colesterol sérico<sup>5</sup>. Nesta última série destaca-se o ácido linoléico, ácido graxo essencial, presente em grande proporção no óleo de soja.

No caso das sardinhas em óleo comestível, a literatura reporta a ocorrência de migração dos ácidos graxos entre a gordura do pescado e o óleo de cobertura<sup>6,8,12,13</sup>, o qual nem sempre é ingerido totalmente pelo consumidor, podendo, assim, haver desequilíbrio na relação dos ácidos ômega-3 e ômega-6, em prejuízo da saúde do mesmo<sup>17,19</sup>.

Este trabalho teve como objetivo o estudo sobre a interação dos ácidos graxos entre o peixe e o óleo de cobertura, no período de um ano, de sardinhas enlatadas em óleo de soja.

## MATERIAL E MÉTODOS

### Material

Para a elaboração das amostras das sardinhas em óleo de soja, foram utilizadas sardinhas (*Sardinha pilchardus*), adquiridas junto a uma indústria de conservas de pescado, localizada na cidade de Santos (SP). Procediam de um único lote, tendo sido capturadas em águas do mar do Saara, Marrocos, por barco russo. As sardinhas congeladas, em blocos de 10 kg, foram acondicionadas a bordo em caixas de papelão (30kg).

O sal não iodado e o óleo de soja refinado foram adquiridos no comércio local.

Para o enlatamento, foram empregadas latas retangulares de chapa cromada, com capacidade para 130 gramas do produto (peso líquido) e revestidas internamente com uma camada de verniz epóxi-fenólico.

## MÉTODOS

### Processamento

As conservas de pescado (sardinhas em óleo de soja) foram elaboradas conforme processo industrial

convencional de esterilização e enlatamento<sup>18</sup>. Para tanto o descongelamento foi procedido mantendo-se o pescado em câmara a 0°C, durante a noite, aproximadamente 12 horas, após o que as sardinhas foram processadas.

### Determinação de lipídios

Na sardinha fresca, foi determinado o teor de lipídios pelo método de Bligh & Dyer<sup>3</sup>.

### Determinação dos ácidos graxos

Para a realização das análises nas conservas, as sardinhas foram separadas do óleo de cobertura, logo após a abertura das latas, através de filtração, deixando-se escorrer o óleo por cerca de 30 minutos.

Após o procedimento acima descrito, os lipídios das sardinhas foram extraídos conforme o método de Stansby & Lemon<sup>(16)</sup>, com as seguintes modificações: pesar cerca de 40g de sardinha, transferir para um frasco Erlenmeyer de 500 ml e adicionar 50g de sulfato de sódio anidro e 200 ml de éter etílico. Agitar por 60 minutos. Decantar e filtrar para um balão de fundo chato de 300 ml, com boca esmerilhada. Evaporar o filtrado num evaporador rotativo e filtrar, obtendo-se o óleo para execução das análises dos ácidos graxos.

Para a determinação do perfil de ácidos graxos do óleo de cobertura e do óleo extraído das sardinhas, foi feita metilação e análise dos ésteres metílicos, segundo as técnicas descritas nas "Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz"<sup>(10)</sup>, foi usado um cromatógrafo a gás, com detector de ionização de chama, acoplado a um integrador. Os componentes foram separados em coluna capilar de sílica fundida Carbowax 20M, de 25 metros. Foram observadas as seguintes temperaturas de operação: injetor, 260°C; detector, 260°C, coluna, programada de 150 a 260°C.

Para a identificação dos ácidos graxos utilizou-se de padrões de ésteres metílicos dos ácidos graxos puros, além de um padrão qualitativo de mistura de ésteres metílicos dos ácidos graxos polinsaturados "PUFA-1 SUPELCO", de origem marinha, especialmente para a identificação dos ácidos C20:5 (EPA) e C22:6 (DHA).

A quantificação dos ácidos graxos foi feita por normalização de área.

As determinações acima citadas foram realizadas também na sardinha fresca eviscerada e descabeçada, empregada no processamento da conserva, e nas sardinhas em óleo já enlatadas, antes da esterilização.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

As tabelas 1A e 1B apresenta a composição de ácidos graxos para o óleo extraído da sardinha fresca

TABELA 1A

Composição em ácidos graxos do óleo de sardinha fresca e do óleo de soja refinado, antes do processamento da conserva e até 7 dias após o enlatamento (% do total de ácidos graxos)

Ácidos graxos Amostra N°	01	02	03	04	05	06	07	08	09	10	10
	SFED	OSR	OSNP	OSE 1º dia	OSRC 1º dia	OSE 2º dia	OSR 2º dia	OSE 4º dia	OSRC 4º dia	OSE 7º dia	OSRC 7º dia
C 14:0	8,4	-	2,1	4,5	-	2,8	-	4,2	0,7	3,9	0,8
C 16:0	19,1	11,6	13,9	16,3	12,0	14,3	12,4	16,7	12,2	14,8	12,0
C 16:1	10,1	-	2,5	4,7	-	3,6	-	4,5	0,9	4,6	0,9
N.I	1,0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
N.I	1,5	-	-	-	-	0,5	-	-	-	0,7	-
C 17:0	1,6	-	-	-	-	0,5	-	0,7	-	0,8	-
N.I.	2,9	-	0,6	1,1	-	0,7	-	1,2	-	1,2	-
C18:0	2,6	2,8	3,2	3,4	2,7	3,0	2,7	3,3	2,7	3,2	3,5
C 18:1	7,9	22,1	19,8	18,2	21,5	19,3	20,9	18,4	21,9	17,8	23,5
C 18:2 W-6	1,6	54,2	36,9	31,7	54,9	38,0	54,9	30,5	53,2	33,4	50,7
C 18:3 W-3	3,7	7,5	4,7	4,8	7,1	4,8	7,5	5,0	7,0	5,9	6,0
C 20:1	0,9	-	-	0,9	-	0,6	-	0,8	-	-	0,5
C 20:4 W-6	2,0	-	0,5	-	-	-	-	-	-	-	-
C 20:5 W-3	19,7	-	4,6	6,6	-	5,5	-	8,0	1,2	9,2	1,5
N.I.	0,9	-	0,6	-	-	0,6	-	-	-	-	0,5
C 22:5 W-3	2,8	-	1,7	2,7	0,7	0,6	0,9	1,0	-	1,1	-
C 22:6 W-3	10,3	-	3,8	3,7	-	3,0	-	5,3	-	3,3	-

N.I. = não identificado  
 SFED = sardinha fresca eviscerada e descabeçada  
 OSR = óleo de soja refinado  
 OSNP = óleo de sardinha não processada termicamente  
 OSE = óleo de sardinha enlatada  
 OSRC = óleo de soja refinado (cobertura)  
 W-6 = ômega-6  
 W-3 = ômega-3

eviscerada e descabeçada (n°1), para o óleo de soja refinado (óleo de cobertura) (n°2) e para os óleos de sardinha e de cobertura, por diferentes períodos após o enlatamento (n° 3 a 23).

Observou-se que o óleo de sardinha fresca apresentou uma grande quantidade de ácidos graxos, variando de C14:0 a C22:6, onde os principais foram C14:0 (mirístico), C16:0 (palmitico), C16:1 (palmítico), C18:1 (oléico), C20:5 (eicosapentaenico, EPA) e C22:6 (docosahexaenico, DHA). Muitos dos ácidos encontrados foram polinsaturados, especialmente C:20:5 (19,7%) e C22:6 (10,3%), enquanto que o óleo de soja refinado apresentou 5 ácidos principais, com proporções consideráveis de C18:2, linoléico (54,2%) e C18:1 oléico (22,1%). No óleo de sardinha, estes ácidos apresentaram teores menores, isto é, ác. oléico, 7,9% e ac. linoléico 1,6%, conforme pode ser verificado na tabela 1A e 1B.

A amostra de n°3 refere-se ao óleo extraído da sardinha, logo após o enlatamento em óleo de soja, antes da esterilização. Observou-se, já nesta amostra, uma alteração considerável nas proporções relativas dos ácidos graxos. Houve um aumento apreciável dos ácidos C18:1 (36,9%) e C18:2 (19,8%) e uma diminuição de C20:5 (4,6%) e C22:6 (3,8%),

além de uma diminuição de C14:0 e C16:1, presentes em quantidades expressivas na sardinha fresca, e não encontrado no óleo de soja usado como óleo de cobertura.

A observação acima mostra a rápida migração do óleo de cobertura para a sardinha e mistura dos óleos, ou melhor, ocorreu um intercâmbio que, segundo PALLES e colaboradores<sup>13</sup>, tem sua intensidade influenciada pela quantidade de óleo de cobertura e da sardinha. Com relação aos ácidos graxos presentes em quantidades menores, apesar da boa separação através da coluna capilar, alguns ácidos não foram identificados por falta de padrões adequados, como está indicado na tabela 1A e 1B. A separação dos ácidos graxos e a ordem de eluição destes depende das condições cromatográficas empregadas, especialmente das fases estacionárias<sup>12</sup>.

No óleo de sardinha não processada termicamente, mas já com óleo de cobertura (n° 3), os ácidos graxos minoritários, presentes no óleo da sardinha fresca, não foram detectados ou apresentaram porcentagens ainda menores.

De acordo com a tabela 1A e 1B, o óleo extraído da sardinha, após determinados períodos de enlata-



TABELA 1B

Composição em ácidos graxos do óleo de sardinha fresca e do óleo de soja refinado, entre 30 e 360 dias após o enlatamento (% do total de ácidos graxos)

Ácidos graxos	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	22
	Amostra Nº 30º dia	OSE OSRC 30º dia	OSE OSRC 120º dia	OSE OSRC 150º dia	OSE OSRC 180º dia	OSE OSRC 180º dia	OSE OSRC 270º dia	OSE OSRC 270º dia	OSE OSRC 330º dia	OSE OSRC 330º dia	OSE OSRC 360º dia	OSE OSRC 360º dia
C 14:0	3,6	-	3,5	1,0	3,0	0,8	3,6	1,4	2,5	1,0	2,2	2,2
C 16:0	15,7	11,7	17,4	13,7	14,5	12,8	14,9	12,5	15,9	13,5	15,1	15,1
C 16:1	3,9	-	4,7	1,2	3,2	1,1	3,8	1,5	3,2	1,5	2,9	2,9
N.I.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
N.I.	0,6	-	0,7	-	0,6	-	0,6	-	-	-	-	-
C 17:0	0,6	-	0,7	-	-	-	0,4	-	-	-	-	-
N.I.	1,2	-	1,3	-	0,5	-	0,9	0,5	-	-	-	-
C18:0	3,2	0,6	3,3	3,0	3,3	3,2	3,0	2,8	3,6	3,2	3,1	3,1
C 18:1	18,0	21,2	17,2	24,6	18,9	21,8	19,3	20,5	21,1	23,7	22,7	22,7
C 18:2 W-6	35,1	54,3	33,8	45,6	37,8	51,7	33,5	47,5	41,9	48,6	51,0	51,0
C 18:3 W-3	6,3	7,5	6,1	6,5	7,3	6,9	5,2	8,0	4,6	5,3	6,0	6,0
C 20:1	0,5	-	1,6	1,5	1,5	0,4	2,0	1,5	0,7	0,5	0,7	0,7
C 20:4 W-6	0,5	-	0,6	-	-	-	0,5	-	0,9	0,6	-	-
C 20:5 W-3	6,6	0,5	7,1	1,4	5,6	1,3	6,4	2,3	3,8	1,0	1,2	1,2
N.I.	-	-	1,2	0,7	1,1	0,4	0,9	0,8	-	-	-	-
C 22:5 W-3	0,7	-	0,9	-	-	-	0,8	-	-	-	-	-
C 22:6 W-3	3,2	-	3,7	-	2,4	0,4	4,2	0,7	1,4	-	-	-

N.I. = não identificado  
 OSE = óleo de sardinha enlatada  
 OSRC = óleo de soja refinado (cobertura)  
 W-6 = ômega-6  
 W-3 = ômega-3

mento, mostrou a tendência em apresentar um perfil de ácidos graxos semelhantes ao do óleo de soja no produto final (conserva de sardinha), em quantidades maiores do que o óleo da própria sardinha. Aliás, a sardinha é um peixe que pode apresentar um teor de lipídios de 1 a 20%, dependendo de diversos fatores, como variações sazonais, riqueza planctônica, entre outros<sup>12</sup>. No presente trabalho, a sardinha marroquina estudada continha 15,0% de lipídios. Considerando que o produto final apresentava, em média, 100g de sardinha e 35 g de óleo de cobertura, este, portanto, estava presente em proporção aproximadamente duas vezes maior ao óleo de sardinha.

Assim sendo, após um ano de enlatamento, o óleo extraído da sardinha apresentou uma composição de ácidos graxos com a predominância de C18:1 e C18:2, com pequenas proporções dos ácidos EPA e DHA, se comparado ao óleo de sardinha original (amostra nº 1).

Com relação ao óleo de cobertura, após o 4º dia do enlatamento, notou-se a migração do ácido C20:5 (amostra nº 9), que foi detectado em todas as amostras do óleo posteriormente analisadas. No caso do DHA, só depois de 280 dias do enlatamento da conserva é que foi observada a sua presença no óleo de cobertura, porém, em quantidades muito pequenas, indicando uma maior facilidade de migração do ácido C20:5 (EPA), como o observado

por FOGERTY & SVORONOS em trabalho semelhante<sup>6</sup>. Constatou-se também a presença dos componentes minoritários nos ácidos graxos do óleo de sardinha após o 7º dia do enlatamento.

As últimas amostras do óleo de sardinha (nº20 e 22) e de óleo de cobertura (nº 21 e 23) analisadas, ou seja, após 330 e 360 dias do enlatamento, respectivamente, apresentaram composição em ácidos graxos bastante semelhantes, onde o óleo de cobertura e o extraído da sardinha mostraram composição predominante de óleo de soja, com alguns ácidos graxos próprios do óleo de sardinha, em pequena proporção (C14:0, C16:1, C20:4 e C20:5).

Os dados obtidos revelaram que houve grande variação no balanço dos ácidos graxos das séries ômega-6 (W-6), principalmente o linoléico, e ômega-3 (W-3), especialmente EPA e DHA, da sardinha fresca para a conserva de sardinha em óleo vegetal (óleos de sardinha e de cobertura), fato esse importante do ponto-de-vista nutricional<sup>5,9,11</sup>. A razão entre as séries de ácidos graxos W-3/W-6 para as diversas espécies de peixes pode variar de aproximadamente 5 a 14<sup>15</sup>, sendo que existem evidências que o balanço ótimo destas duas famílias de ácidos graxos deva ser ao redor de 5 para que ocorra a devida metabolização do colesterol<sup>17</sup>. No caso do óleo de soja este balanço é bastante inferior a 5.

## CONCLUSÕES

O óleo de sardinha fresca apresentou uma grande variedade de ácidos graxos, de C14:0 a C22:6, com destaque para os da série ômega-3, C20:5 eicosapentaenóico (EPA) e C22:6 docosahexaenóico (DHA).

O óleo de soja apresentou predominância em sua composição do ácido graxo linoléico (C18:2), da série ômega-6.

Observou-se uma rápida migração do óleo de co-

bertura para a sardinha, após o enlatamento, e predominância do perfil de ácidos graxos do óleo de soja no produto resultante.

Assim, houve grande variação na razão dos ácidos graxos das séries ômega-3 e ômega-6 (W-3/W-6), balanço importante do ponto-de-vista nutricional, para os diferentes alimentos, isto é, sardinha fresca e conserva de sardinha em óleo de soja. Da sardinha fresca para a conserva houve diminuição da razão W-3/W-6, o que pode ser prejudicial em termos de qualidade lipídica nutricional.

RIALA6/670

BADOLATO, E.S.G.; PIMENTEL, S.; TAVARES, M.; MORAES, C. — Sardine in comestible oil. Part II. Study of interaction between fish's fatty acids and covering oil. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 54(1): 21-6, 1994.

**ABSTRACT:** Interaction between the fatty acids of the sardine (*Sardina pilchardus*) oil and of the covering oil from canned sardines specially elaborated with soybean oil, was studied for one year. Composition in fatty acids have been determined by gas-liquid chromatography, on a Carbowax 20 M fused silica capillary column. Just after the canning with soybean oil, it observed a lipidic interchange and predominance of the soybean oil fatty acids composition on the oil extracted from the sardines. In spite of the great variety of fatty acids presents in the oil from the fresh sardines (raw material), from C14:0 to C22:6, very small amounts of characteristics acids were found, such as C20:5 (eicosapentaenoic, EPA) and C22:6 (docosahexaenoic, DHA), in the oil extracted from sardines, one year after canning. At the close of that period, the fatty acids found in the greatest proportion, as in the covering oil as in the oil extracted from that fish, were C16:0 and C18:2, both characteristics of the soybean oil, and small contents of fatty acids of the sardine oil. EPA presented higher facility of migration than DHA, from the sardine oil to the covering oil. The experimental results showed, for the different products (fresh sardines and canned sardines in vegetable oil), a big difference on the ratio of the ômega-6 fatty acids, especially C18:2, and ômega-3, principally EPA and DHA, that is important of the nutritional point of view.

**DESCRIPTORS:** Canned sardines; covering oil; fatty acids composition, modification in, interaction, storage.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ACKAMN, R.G. & McLEOD, C. - Total lipids and nutritionally important fatty acids of some Nova Scotia fish and shellfish products. *Can. Inst. Food Sci. Technol.* 21 (4):390-8, 1988.
2. ANDRADE, M.O. de. - Fish overview in Brazil. *Bol. SBCTA.* 23 (3/4):169-78, 1989.
3. BLIGH, E.G. & DYER, W.J. - A rapid method of total lipid extraction and purification. *Can. J. Biochem. Physiol.*, 37(8):911-7, 1959.
4. CABRAL, A.C.D. & FERNANDES, M.H.C. - Aspectos gerais sobre a vida-de-prateleira de produtos alimentícios. *Bol. ITAL.* 17 (4):371-439, out/ dez. 1980.
5. FORGERTY, A.C. Dietary fatty acids and blood lipids. *Food. Res. Q.*, 49 (3/4):36-45, 1989.
6. FOGERTY, A.C. & SVORONOS, D. -- Fatty acids in canned fish. *CSIRO Food Res. Q.* 47:12-21, 1987.
7. GARCIA-ARIAS, M.T.; CASTRILLON, A.M. & NAVARRO, M.P. - Modificaciones en la grasa del atun blanco (*Thunnus alalunga*) debidas a la fabricacion y almacenamiento de su conserva. *Grasas y Aceites*, 42 (3):179-86, 1991.
8. HALE, M.B. & BROWN, T. - Fatty acids and lipid classes of three underutilized species and changes due to canning. *Marine Fishers Review*, 45 (4/6):45-8, 1983.
9. HEARN, T.L.; SGOUTAS, S.A.; HEARN, J.A. & SGOUTAS, D.S. - Polysaturated fatty acids and fat in fish flesh for selecting species for health benefits. *J. Food Sci.* 52 (5):1209-11, 1987.
10. INSTITUTO ADOLFO LUTZ, São Paulo - *Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz*, 3ª ed. São Paulo, IAL, 1985, v.1., p.245-66, 274-7.

11. MINAZZI-RODRIGUES, R.S. & PENTEADO, M. de V.C. - Importância dos óleos de peixe em nutrição e fisiologia humana. *Cad. Nutr.* 3:41-97, 1991.
12. PALLES, C.V.; HELLIN, L.C. & MIRANDA, M.P.G. - Contribucion al studio de la grasa se sardinas del mercado espanol y del aceite de cobertura de sus conservas. I Composicion en acidos graxos de la sardina en conserva. *Anal. Bromatol.* 35(2):263-85, 1983.
13. PALLES, C.V. HELLIN, L.C. & MIRANDA, M.P.G. - Contribucion al estudio de la grasa de sardinas del mercado espanol y del aceite de cobertura de sus conservas. II. Composicion en acidos grasos del aceite de cobertura. *Anal. Bromatol.*, 36 (1):165-84, 1984.
14. POURCHET-CAMPOS M.A. - *Os lipídios na alimentação: uma benção e um desafio.* (Apresentado ao V Encontro Nacional de Analistas de Alimentos - ENAAL), Salvador, BA, 1989.
15. SILVA, S.M.C.S. - *Efeito do processamento sobre ácidos graxos polinsaturados da fração lipídica de duas espécies de peixes.* São Paulo, 1992, 135 p. Tese-Mestrado-Faculdade de Ciências Farmacêuticas da USP.
16. STANSBY, M.E. & LEMON, J.M. -- Quantitative determination of oil in fish flesh. *Ind. Eng. Chem*, 9 (7):341-3, 1937.
17. SUGANO, M. & LEE, J.H. - Nutritional and physiological significance of lipids. *J. Dispersion Sci. Technol.*, 10 (4/5): 643-65, 1989.
18. VITALI, A.A.; TEIXEIRA NETO, R.O.; JARDIM, D.C.P., GONÇALVES, J.R. & MORELLI, W.S. - Otimização do processo de esterilização de sardinha em óleo comestível enlatada. *Bol. ITAL.* 23(1):127-40, jan/mar. 1986.
19. WANG, Y.J.; MULLER, L.A.; PERREN, M. & ADDIS, P.B. - Omega-3 fatty acids in Lake Superior fish. *J. Food Sci.*, 55 (1):71-3,76, 1990.

Recebido para publicação: 28.09.1993.

## COMPOSIÇÃO CENTESIMAL, DE ÁCIDOS GRAXOS E VALOR CALÓRICO DE CINCO ESPÉCIES DE PEIXES MARINHOS NAS DIFERENTES ESTAÇÕES DO ANO\*

Elza Schwarz Gastaldo BADOLATO \*\*  
José Byron de CARVALHO \*\*  
Márcia Regina P. do AMARAL MELLO \*\*  
Mário TAVARES \*\*  
Norberto Camilo CAMPOS \*\*  
Sabria AUED-PIMENTEL \*\*  
Cleso de MORAIS \*\*\*

RIALA6/758

BADOLATO, E.S.G.; CARVALHO, J.B. de; AMARAL MELLO, M.R.P. do; TAVARES, M.; CAMPOS, N.C.; AUED-PIMENTEL, S.; MORAIS, C. de. — Composição centesimal, de ácidos graxos e valor calórico de cinco espécies de peixes marinhos nas diferentes estações do ano. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 54(1): 27-35, 1994.

**RESUMO:** Foi estudada a influência da variação sazonal na composição centesimal, de ácidos graxos e no valor calórico de 20 amostras de filés e 20 de carnes separadas mecanicamente (polpas) das seguintes espécies de peixes marinhos dentre as mais comercializadas no Estado de São Paulo, Brasil: corvina (*Micropogon furnieri*), goete (*Cynoscion petranus*), peixe-porco (*Balistes carolinensis*), sardinha-verdadeira (*Sardinella brasiliensis*) e tainha (*Mugil spp*). As amostras foram constituídas de 500 g de filés sem pele e de 500 g de polpas de cada peixe, sendo 50 indivíduos por espécie em cada estação do ano, procedentes da mesma área de captura. Do ponto-de-vista nutricional, os maiores teores de lipídios e valor calórico foram apresentados pelos filés e polpas de sardinha-verdadeira no inverno, ao passo que os valores mais altos de protídios foram verificados nos filés e polpas de tainha, no inverno e no outono, respectivamente. Já os menores valores nestes três parâmetros foram obtidos com os filés e polpas de corvina, principalmente na primavera. Quanto à umidade, as maiores porcentagens foram encontradas nos filés e polpas de corvina; com relação às cinzas, os maiores teores foram apresentados pelos filés e polpas de sardinha-verdadeira, em todos os casos na primavera. Em nenhuma das amostras analisadas foi detectada a presença de carboidratos, confirmando o referido na literatura. Relativamente aos ácidos graxos, foi observada a presença de um grande número deles, superior a 20, em todas as espécies estudadas, variando de C 12:0 a C 22:6, sete dos quais responsáveis por mais de 50% do total (C 16:0, C 16:1, C 18:0, C 18:1, C 20:4, C 20:5 e C 22:6). De um modo geral, não houve variação significativa na composição dos ácidos graxos que diferenciasse os filés das polpas. Para cada espécie analisada ocorreram variações nas porcentagens dos ácidos graxos nas diferentes estações do ano; entretanto, não foi observado um comportamento padrão para estação. Tendo em vista os benefícios atribuídos à ingestão dos ácidos eicosapentaenóico (C 20:5) e docosaheptaenóico (C 22:6) na terapia de doenças cardiovasculares, foi destacada a presença de ambos nos óleos das espécies estudadas. O peixe-porco apresentou a maior somatória dos dois ácidos (filé, de 27,6 a 37,0 g/100 g; polpa, de 33,0 a 36,5 g/100g), seguido da sardinha-verdadeira (filé, de 23,7 a 33,3 g/100g; polpa, de 24,1 a 34,1 g/100g).

**DESCRIPTORIOS:** Peixes marinhos, filés, carne mecanicamente separada (polpas), composição centesimal, composição em ácidos graxos, variação sazonal.

\* Realizado na Seção de Óleos, Gorduras e Condimentos e no Laboratório da Divisão de Bromatologia e Química do Instituto Adolfo Lutz, São Paulo, SP, e na Seção de Pescado e Recursos Marinhos do Instituto de Tecnologia de Alimentos, Guarujá, SP. Apresentado no Encontro Nacional de Analistas de Alimentos, 8º, Porto Alegre, RS, 1993.

\*\* Do Instituto Adolfo Lutz.

\*\*\* Do Instituto de Tecnologia de Alimentos.

## INTRODUÇÃO

Os peixes são um importante constituinte da dieta humana de inúmeros grupos populacionais, já que representam uma fonte de diversos componentes com significativo valor nutricional, como os protídios, além de serem a maior reserva de ácidos graxos polinsaturados, especialmente o eicosapentaenóico e o docosahexaenóico, da série ômega-3, aos quais são atribuídos numerosos benefícios ao organismo humano<sup>3, 17, 27</sup>.

Embora extremamente variável, a composição química da carne de pescado, particularmente dos peixes, aproxima-se bastante da composição dos animais terrestres<sup>10</sup>. Seu principal componente é a água, cuja proporção, na parte comestível, pode variar de 64 a 90%, seguido pelos protídios, de 8 a 23% e pela gordura, de 0,5 a 25%<sup>12, 27</sup>. Entre os constituintes minoritários dos pescados encontram-se os sais minerais, cujo teor varia de 1 a 2%, os carboidratos, que, no caso dos peixes, não chegam a representar 1% da sua composição, e as substâncias nitrogenadas não-protéicas, sem importância nutricional, que não atingem a 0,5% na carne dos pescados frescos. Dever ser ressaltado que a carne de pescado apresenta a mesma proporção de protídios que a carne bovina, suína e de aves, porém de qualidade superior devido ao fato de conter menor teor de tecido conectivo - constituído de protídios de baixa qualidade - do que as outras<sup>10</sup>.

Diversos fatores contribuem para a grande variação na composição da parte comestível dos peixes, tais como espécie, sexo e grau de maturidade sexual, tamanho, local de captura, temperatura da água, natureza da alimentação e estação do ano<sup>1, 6, 7, 28, 30</sup>.

Com relação aos ácidos graxos, a variação apresentada em relação à sua composição é explicada pela flutuação na qualidade e quantidade de alimentos, especialmente fitoplâncton, disponíveis aos peixes. Esses alimentos são a maior fonte de diversos ácidos graxos, principalmente os da série ômega-3<sup>26</sup>. Por esta razão, a espécie dos peixes passa a ser um fator secundário no mecanismo de formação dos ácidos graxos.

Em termos de processamento do peixe "in natura", a carne separada mecanicamente (polpa) vem se constituindo numa nova técnica de sua utilização em países ocidentais. Uma vantagem importante desta técnica é a maior flexibilidade de processamento, visto que propicia um controle da textura, sabor, aroma e estabilidade da polpa, conforme o tipo de produto desejado e de pescado utilizado, além de proporcionar maior rendimento de carne comestível do que por filetagem<sup>18, 19</sup>.

Apesar do enorme valor nutritivo do pescado e, em particular, dos peixes, poucas informações se acham disponíveis sobre a sua composição química,

principalmente quanto a peixes brasileiros, prejudicando o estabelecimento de dietas balanceadas para diversas coletividades e deixando de proporcionar também importantes subsídios à indústria de processamento de pescado e à piscicultura intensiva<sup>15, 21</sup>. No Brasil, aliás, apesar da extensa costa marítima, a contribuição do pescado como fonte alimentícia tem sido pouco significativa<sup>24</sup>.

Assim sendo, este trabalho teve como objetivo estudar a influência da variação sazonal na composição centesimal, de ácidos graxos e valor calórico de filés e polpas de cinco espécies de peixes marinhos nacionais, dentre os mais comercializados no Estado de São Paulo.

## MATERIAL E MÉTODOS

### *Matéria-Prima*

No presente estudo, foram utilizadas as seguintes espécies de peixes: corvina (*Micropogon furnieri*), goete (*Cynoscion petranus*), peixe-porco (*Balistes carolinensis*), sardinha-verdadeira (*Sardinella brasiliensis*) e tainha (*Mugil spp*). À exceção desta última, as demais espécies foram coletadas no pier de indústria pesqueira, em Guarujá - SP, no momento da chegada de barcos pesqueiros comerciais da área de Santos - SP. Foram mantidas no gelo, desde o manuseio a bordo, segundo condições habituais, até o momento de serem processadas, enquanto que a tainha foi transportada do Centro de Pesquisa em Maricultura do Instituto de Pesca, em Cananéia - SP, na forma congelada, em caixas de isopor.

### *Amostragem*

Na amostragem, realizada no período compreendido entre o inverno de 1992 e o outono de 1993, uma vez a cada estação, não foram levados em consideração o sexo das espécies, fatores fisiológicos e diferenças anatômicas. Assim sendo, tomou-se cuidado na escolha de peixes adultos, sendo 50 indivíduos por espécie em cada estação, procedentes da mesma área de captura.

### *Preparo das Amostras*

As espécies foram levadas à Usina-Piloto de Processamento de Pescado do Instituto de Tecnologia de Alimentos (ITAL), em Guarujá - SP, onde foram evisceradas. Após a evisceração, parte de cada lote de cada espécie foi filetada manualmente, enquanto o restante de cada lote foi submetido à ação mecânica da máquina separadora de carne e osso, com perfurações no cilindro de 5 mm, sendo aplicada força máxima na correia tensora da máquina, a fim de se obter o maior rendimento cárneo das espécies. Em seguida, as amostras, assim preparadas, foram congeladas e acondicionadas em sacos plásticos

de polietileno e estocadas a  $-20^{\circ}\text{C}$  até o momento de serem analisadas.

As amostras para fins de análises foram constituídas de 500 g de filés sem pele e de 500 g de polpa de cada espécie, devidamente homogeneizadas, e encaminhadas à Seção de Óleos, Gorduras e Condimentos e ao Laboratório da Divisão de Bromatologia e Química do Instituto Adolfo Lutz, em São Paulo - SP.

#### *Determinação da Composição Centesimal e Cálculo do Valor Calórico*

Em todas as amostras de filés e polpas de peixe, obtidas a partir de amostragem por espécies e por estação do ano, de 40 kg de pescado, foram determinados, em duplicata, os teores de substâncias voláteis a  $105^{\circ}\text{C}$  (umidade), resíduo mineral fixo (cinzas), protídios e carboidratos, segundo os métodos descritos nas "Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz"<sup>14</sup>, enquanto que a de lipídios foi realizada conforme o método de Bligh & Dyer<sup>5</sup>. O valor calórico foi calculado pelos fatores de Atwater<sup>8</sup>, ou seja, protídios, 4,0, carboidratos, 4,0, lipídios, 9,0.

#### *Determinação dos Ácidos Graxos*

Cerca de 25 mg dos lipídios extraídos para cada amostra, conforme o método acima citado, foram utilizados para a determinação do perfil de ácidos graxos, sendo a metilação e a análise dos ésteres metílicos efetuadas de acordo com as técnicas descritas nas normas referidas anteriormente. Foi usado um cromatógrafo a gás, com detector de ionização de chama, acoplado a um integrador.

Os componentes foram separados em coluna capilar de sílica fundida Carbowax 20 M, de 25 metros, tendo sido observadas as seguintes temperaturas de operação: injetor,  $260^{\circ}\text{C}$ ; detector,  $260^{\circ}\text{C}$ ; coluna, programada, de 150 a  $260^{\circ}\text{C}$ .

Para a identificação dos ácidos graxos utilizou-se de padrões de ésteres metílicos de ácidos graxos puros, além de um padrão qualitativo de mistura de ésteres metílicos dos ácidos graxos polinsaturados "PUFA-1 SUPELCO", de origem marinha, especialmente para a identificação dos ácidos eicosapentaenóico (C 20:5) e docosahexaenóico (C 22:6). A quantificação dos ácidos graxos foi feita por normalização de área.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

As tabelas 1 e 2 apresentam os valores obtidos, por estação do ano, para a composição centesimal (umidade, cinzas, lipídios e protídios) e valor calórico dos filés e polpas das espécies de peixes estudadas.

Confirmando o apregoado na literatura<sup>10</sup>, em nenhuma das amostras foi detectada a presença de carboidratos, lembrando que neste trabalho foi utilizado o método titulométrico de Fehling, considerado oficial.

Em relação à umidade, todos os valores encontrados estiveram dentro da faixa referida para os peixes marinhos, que é de 64 a 90%<sup>12</sup>, sendo as maiores porcentagens verificadas com a corvina, tanto para filé como para polpa, ambas na primavera. A estação do ano afetou o conteúdo de umidade das polpas de todos os peixes analisados, o que, diga-se de passagem, já havia sido constatado em experimentos semelhantes<sup>15,21</sup>, mas sem obedecer a uma constância no caso presente.

Com respeito às cinzas, a maioria das amostras esteve dentro da faixa de 1 a 2% referida na literatura. A sardinha-verdadeira foi a espécie que apresentou os maiores teores nesse parâmetro, tanto para o filé como para a polpa, ambos na primavera. Tendo em vista a similaridade verificada entre os conteúdos de cinzas dos filés e das polpas, deduz-se que a separação mecânica para obtenção destas últimas não fez a incorporação de partículas ósseas, que poderiam aumentar consideravelmente seus teores de cinzas<sup>20</sup>.

No que concerne aos lipídios, os valores encontrados estiveram compreendidos na faixa de 0,5 a 5,9%, estando de acordo com o previsto para a fração comestível dos peixes<sup>27</sup>. Da mesma forma que nas cinzas, a sardinha-verdadeira foi a que mostrou maior conteúdo lipídico, em termos de filé e de polpa, só que no inverno. Ressalte-se que apenas os filés e as polpas da citada espécie experimentaram uma variação no teor de lipídios em função da estação do ano, fato este que já havia sido relatado para a mesma em estudo semelhante. Destaque-se que a quantidade de lipídios das polpas foi, na maioria dos casos, ligeiramente superior à dos filés, provavelmente pela passagem de parte da gordura da camada subepitelial e da medula durante a separação mecânica<sup>2</sup>.

No tocante aos protídios, todas as amostras analisadas apresentaram valores compreendidos dentro dos limites teóricos de 8 a 23%<sup>12</sup>. Tanto no caso dos filés como das polpas, os maiores teores foram verificados com a tainha, no inverno e no outono, respectivamente.

Considerando a significativa correlação entre o conteúdo de lipídios e o valor calórico<sup>23</sup>, a sardinha-verdadeira foi a espécie que apresentou este último valor mais elevado, tanto no caso do filé como da polpa, no inverno. Esta observação vem a reforçar a afirmação de que há uma relação inversa entre os conteúdos de umidade e de lipídios<sup>4</sup>. Já os valores verificados para a tainha vieram a confirmar a hipótese de que existe uma relação também inversa entre a umidade e os protídios<sup>6</sup>.

TABELA I

Composição centesimal e valor calórico de filés de peixes marinhos por estação do ano (inverno de 1992 a outono de 1993)

Espécies de peixes	Estação do ano	Composição centesimal (g/100g)				Valor calórico (Kcal/100g)
		Umidade	Cinzas	Lipídios	Protídios	
Corvina ( <i>Micropogon furnieri</i> )	I	77,9	1,0	0,7	19,8	85
	P	83,8	1,0	0,5	14,5	63
	V	79,5	0,9	0,5	18,9	80
	O	77,2	1,4	0,8	20,7	90
Goete ( <i>Cynoscion petranus</i> )	I	76,3	1,1	1,1	21,6	96
	P	79,4	1,0	1,3	17,7	82
	V	80,6	0,7	0,8	17,4	77
	O	77,7	1,3	0,6	20,7	88
Peixe-porco ( <i>Balistes carolinensis</i> )	I	77,8	1,2	0,7	19,8	85
	P	78,8	1,3	0,6	19,9	85
	V	79,3	0,9	0,8	19,6	85
	O	77,0	1,2	0,5	21,5	91
Sardinha-verdadeira ( <i>Sardinella brasiliensis</i> )	I	75,5	1,5	3,4	20,2	111
	P	73,8	1,8	1,4	22,4	102
	V	75,2	1,6	1,1	21,6	95
	O	75,6	1,7	1,0	21,3	95
Tainha ( <i>Mugil spp</i> )	I	75,0	0,6	0,9	23,7	103
	P	80,9	1,3	0,7	17,7	78
	V	76,4	1,1	0,8	21,4	93
	O	77,0	1,3	0,5	21,8	80

I = inverno;

P = primavera;

V = verão;

O = outono

Com base na discussão anterior, pode-se afirmar que a estação do ano não afetou de forma sistemática e regular a sua composição centesimal e valor calórico, embora deva ser ressaltada a flutuação nos valores obtidos para cada parâmetro de estação para estação e entre si.

A comparação dos resultados ora obtidos com aqueles já publicados por outros autores ficou em parte prejudicada pela não citação, em vários casos, do nome científico e sim do nome vulgar da espécie estudada, assim como pelo pequeno número de artigos disponíveis sobre a composição química de algumas das cinco espécies constantes deste trabalho, principalmente com relação à polpa. Só para se dar um exemplo, na família Clupeidae, à qual pertence a sardinha-verdadeira, existem no mínimo cinco espécies de água doce e nove de água salgada<sup>22</sup>. De qualquer forma, essa discussão será feita a seguir, preferencialmente dentro da mesma espécie de cada peixe.

Quanto à sardinha-verdadeira, dois trabalhos podem ser utilizados para comparação<sup>15,24</sup>. Um deles<sup>15</sup>, que abrangia toda a composição química, permitiu uma melhor comparação pois os peixes foram capturados também na costa de Santos. Neste trabalho, os teores de umidade estiveram aci-

ma dos valores médios verificados naquele, por estação do ano. Os percentuais de cinzas e de protídios foram semelhantes àqueles, ao passo que os de lipídios só foram mais elevados para a polpa, no inverno. Por seu lado, o trabalho que não enfocou a variação sazonal da composição química<sup>24</sup> mas que, de qualquer maneira, ofereceu dados relativos à umidade, lipídios e protídios de sardinha-verdadeira e tainha filetadas, capturadas em águas paranaenses, mostrou que a primeira espécie apresentou maior teor de lipídios e protídios do que os filés e polpas presentemente estudados e umidade assemelhada. No tocante à tainha, revelou um teor de lipídios superior e de umidade e de protídios mais baixos do que os referidos filés e polpas, cabendo lembrar que as espécies eram diferentes, embora capturadas em regiões próximas.

No que concene à corvina, dois trabalhos podem servir para discussão de resultados<sup>20,30</sup>. Um deles<sup>30</sup>, usando-se filés de corvina, foi verificado que somente a faixa de valores de umidade foi semelhante à encontrada neste trabalho, enquanto que os demais parâmetros revelaram valores mais altos. No outro, também utilizando-se filés, apresentou só a umidade mais elevada do que a presente, já que os conteúdos de cinzas, de lipídios e, principalmente, de protídios foram mais baixos.

TABELA 2

Composição centesimal e valor calórico de polpas de peixes marinhos, por estação do ano (inverno de 1992 a outono de 1993)

Espécies de peixes	Estação do ano	Composição centesimal (g/100g)				Valor calórico (Kcal/100g)
		Umidade	Cinzas	Lipídios	Protídios	
Corvina ( <i>Micropogon furnieri</i> )	I	81,6	0,7	1,1	16,2	74
	P	83,1	0,1	0,6	16,5	72
	V	79,7	1,4	1,4	16,7	80
	O	77,0	1,3	1,3	20,1	92
Goete ( <i>Cynoscion petranus</i> )	I	78,3	0,8	2,2	19,6	98
	P	80,4	1,2	1,1	17,8	82
	V	78,7	0,9	1,4	18,4	86
	O	78,5	1,4	1,1	18,9	85
Peixe-porco ( <i>Balistes carolinensis</i> )	I	78,2	1,0	1,0	20,5	91
	P	78,0	0,8	0,7	19,8	85
	V	81,0	1,0	0,6	17,0	74
	O	77,8	1,3	0,7	20,5	88
Sardinha-verdadeira ( <i>Sardinella brasiliensis</i> )	I	71,8	1,6	5,9	21,3	138
	P	79,2	1,9	1,9	16,5	83
	V	77,1	1,7	0,9	19,6	93
	O	76,5	1,5	1,2	20,7	93
Tainha ( <i>Mugil spp</i> )	I	78,5	1,1	0,8	19,2	84
	P	79,8	0,4	2,3	17,1	89
	V	76,1	1,4	1,0	21,5	99

I = inverno; P = primavera; V = verão; O = outono

Por sua vez, o peixe-porco, que também foi analisado naquele último artigo na forma de filé, apresentou maiores teores de umidade, menores de protídios e semelhantes quanto às cinzas e lipídios.

Relativamente à goete, um trabalho citado anteriormente<sup>30</sup> permitiu a verificação de que os conteúdos de umidade, de cinzas e de protídios no filé da mesma forma semelhantes aos atuais, enquanto que os de lipídios e calorías foram maiores.

Ainda no que se relaciona aos lipídios, a literatura<sup>1</sup> refere que os peixes de águas tropicais costumam apresentar teores bem mais baixos do que aqueles do hemisfério norte, o que realmente foi constatado neste trabalho, pelo menos no caso da sardinha-verdadeira e da tainha em comparação com peixes da mesma família capturados na área de Atlanta, Estados Unidos<sup>13</sup>. Cabe destacar também que a metodologia adotada constitui-se numa das causas da variação do teor de lipídios em peixes<sup>9</sup> e, assim, pode ter influenciado nos resultados obtidos neste e nos outros experimentos.

Um ponto que igualmente deve ser ressaltado é o fator convencionalmente usado para conversão de nitrogênio em protídios, ou seja, 6,25, e uma possível discrepância na soma da composição cen-

temal em peixes<sup>16</sup>. De fato, isto foi verificado em parte das amostras ora analisadas, quando tal somatória ultrapassou ligeiramente os 100%. Entretanto, aqueles autores não indicam um fator específico para o caso, ponderando apenas que deveria ser próximo de 6, em função da miosina ser a proteína majoritária nos peixes. É claro que, nesse contexto, não deve ser descartado o erro experimental.

Do ponto-de-vista nutricional, pode-se dizer que os resultados de lipídios e protídios permitiram classificar as cinco espécies de peixes estudadas nas categorias A, isto é, baixo teor de gordura (abaixo de 5%) e alto conteúdo protéico (de 15 a 20%) ou D, ou seja, baixo teor de gordura e muito alto conteúdo protéico (acima de 20%), sendo esta especialmente preferida em certas dietas<sup>27</sup>. Na primeira categoria, predominaram a corvina, a goete e o peixe-porco, enquanto que na outra se enquadraram a sardinha-verdadeira e a tainha. Aquele autor observa que algumas espécies ora estão numa ora noutra categoria, conforme a variação sazonal, o que foi verificado presentemente.

Por outro lado, considerando-se o expressivo conteúdo de minerais referido para os peixes<sup>24</sup>, seria interessante a realização de um estudo complementar nesse sentido com as cinco espécies aqui envolvidas,



TABELA 3

Composição em ácidos graxos de filés de peixes marinhos por estação do ano (inverno de 1992 a outono de 1993), g/100g de ácidos graxos.

Esp. de peixes Ácidos graxos	Corvina ( <i>Micropogon furnieri</i> )				Goete ( <i>Cynoscion petranus</i> )				Peixe-porco ( <i>Balistes carolinensis</i> )				Sardinha-verdadeira ( <i>Sardinella brasiliensis</i> )				Tainha ( <i>Mugil spp</i> )					
	Estação do ano	I	P	V	O	I	P	V	O	I	P	V	O	I	P	V	O	I	P	V	O	
C12:0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1,7	-	-	-	1,3	-	-	-	-	-	-	-	-
C14:0	2,1	2,0	-	2,1	2,3	4,6	1,4	2,4	-	1,0	-	-	6,9	4,5	5,8	4,6	2,2	-	3,5	2,8	-	
C16:0	24,6	29,1	22,0	24,2	24,8	29,1	14,2	27,8	15,6	17,0	16,4	17,5	31,3	27,7	26,5	28,4	20,3	18,2	25,4	23,0	-	
C16:1 W7	11,0	12,3	4,2	0,4	6,6	11,2	10,3	8,0	4,5	2,4	1,8	1,6	6,9	4,5	6,6	6,6	5,4	2,7	5,2	6,7	-	
C17:0	-	1,5	1,4	1,5	0,8	-	-	1,1	0,9	1,3	1,0	1,0	-	1,9	1,3	2,3	2,5	-	1,4	1,1	-	
C18:0	7,3	10,1	12,0	9,6	7,1	7,2	9,2	9,7	13,3	15,3	12,4	11,1	6,3	7,4	6,2	10,7	10,5	11,7	8,5	10,4	-	
C18:1(W9+W7)	-	17,2	17,0	11,1	19,0	21,1	28,0	17,1	16,5	16,6	12,0	13,3	12,0	7,6	7,3	9,1	8,5	9,8	9,3	9,2	-	
13,9 C18:2 W6	1,7	-	1,3	1,2	1,2	1,0	-	-	-	-	0,8	1,8	1,5	1,4	1,4	1,8	-	-	2,2	1,6	-	
C18:3 W3	2,8	-	-	-	-	-	1,7	-	-	-	-	-	1,5	-	-	-	-	-	-	5,7	-	
C20:1	-	2,3	-	1,6	1,4	1,3	-	1,0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
C20:4 W6	6,0	3,7	9,7	5,9	2,7	1,3	4,2	2,6	5,7	7,8	8,0	6,1	1,1	2,6	2,5	2,7	7,9	6,4	3,4	6,3	-	
C20:5 W3(EPA)	8,6	3,9	8,0	9,2	3,5	2,7	6,7	2,7	4,4	4,4	6,6	5,6	9,9	6,0	8,7	9,4	10,8	9,0	6,2	9,6	-	
C22:5 W3	3,0	1,3	3,5	4,0	1,1	1,5	3,1	1,3	2,1	2,6	2,7	1,8	-	1,5	1,1	3,4	11,2	8,1	3,5	7,2	-	
C22:6 W3(DHA)	15,1	5,0	18,8	15,2	26,4	10,6	19,5	21,3	30,6	23,2	29,7	31,4	21,6	27,2	24,6	14,7	10,1	8,1	13,8	13,8	-	
EPA + DHA	23,7	8,9	26,8	24,4	29,9	13,3	26,2	24,0	35,0	27,6	36,3	37,0	31,5	33,2	33,3	24,1	20,9	17,1	20,0	23,4	-	

I = inverno  
 P = primavera  
 O = outono  
 V = verão  
 EPA = ácido eicosapentaenóico  
 DHA = ácido docosahexaenóico

face aos teores de cinzas - onde estão contidos os minerais - ora verificados, principalmente no caso da sardinha-verdadeira.

As tabelas 3 e 4 apresentam a composição dos principais ácidos graxos das cinco espécies de peixes estudadas, filés e polpas, respectivamente.

Foi verificada a presença de uma grande variedade de ácidos graxos de 12 a 22 átomos de carbono. Para os filés e polpas de todas as espécies, os principais ácidos graxos saturados identificados foram palmítico (C 16:0) e esteárico (C 18:0), sendo que a soma deles, para a maioria das amostras, atingiu a 30% do total de ácidos graxos. Dentre as espécies analisadas, o peixe-porco foi a que apresentou as menores porcentagens de C 16:0 e as maiores de C 18:0. Para quase todas as espécies, foi constatada a presença de quantidades consideráveis de ácido mirístico (C 14:0).

Entre os ácidos graxos monoinsaturados, o palmitoléico (C 16:1) e o oléico (C 18:1, W-7 + W-9) foram os mais encontrados. Para o peixe-porco foram observados os menores teores de C 16:1, quando comparados às outras espécies.

Os principais ácidos graxos polinsaturados encontrados foram o araquidônico (C 20:4, w-6), o eicosapentaenóico (C 20:5, w-3) e o docosahexaenóico (C 22:6, W-3).

Em função dos inúmeros benefícios à saúde humana atribuídos à ingestão de C 20:5 e C 22:6, foi determinada a sua soma para o óleo das diferentes espécies de peixes estudadas, visando avaliar a qualidade nutricional lipídica dos mesmos. O peixe-porco apresentou a maior somatória de ambos, isto é, 27,6 a 37,0 g por 100 g de ácidos graxos, para o filé, e 33,9 a 36,5 para a polpa; a seguir, veio a sardinha-verdadeira, com 23,7 a 33,3 g por 100 g de ácidos graxos, para o filé, e 24,1 a 34,1 para a polpa.

Foi observada uma quantidade considerável do ácido araquidônico em todas as espécies em estudo, especialmente no peixe-porco e na tainha, reforçando as verificações feitas em outros trabalhos de que peixes de águas tropicais contêm maiores níveis de ácidos graxos insaturados da série ômega-6, principalmente o eicosatetraenóico (C 20:4) do que os de águas temperadas<sup>11,25</sup>.

Na tainha foi detectada a presença de razoáveis quantidades do ácido docosapentaenóico (C 22:5, W-3), sendo para a maioria das amostras superior a 5% (faixa de 3,5 a 11,2%). Já para as outras espécies, o teor encontrado não superou a 4%.

Por sua vez, os ácidos graxos láurico (C 12:0), margárico (C 17:0), linoléico (C 18:2), linolênico (C 18:3), e eicosenóico (C 20:1) não foram detectados

TABELA 4

Composição em ácidos graxos de polpas de peixes marinhos por estação do ano (inverno de 1992 a outono de 1993), g/100g de ácidos graxos

Esp. de peixes Ácidos graxos	Corvina ( <i>Micropogon furnieri</i> )				Goete ( <i>Cynoscion petranus</i> )				Peixe-porco ( <i>Balistes carolinensis</i> )				Sardinha-verdadeira ( <i>Sardinella brasiliensis</i> )				Tainha ( <i>Mugil spp</i> )				
	I	P	V	O	I	P	V	O	I	P	V	O	I	P	V	O	I	P	V	O	
C12:0	-	-	-	-	-	-	-	-	4,0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
C14:0	2,3	-	5,9	3,3	3,2	3,6	3,7	2,3	-	-	-	-	8,8	4,9	4,6	4,6	5,9	4,4	8,6	5,3	
C15:0	-	-	1,1	1,1	-	-	-	-	-	-	-	-	1,2	1,0	-	1,0	1,7	2,8	2,2	1,5	-
C16:0	28,2	21,3	25,0	25,7	26,3	24,8	27,5	29,1	15,5	17,3	17,5	17,0	24,2	29,6	26,9	28,4	18,3	22,9	23,8	28,4	
C16:1 W7	8,5	4,4	6,4	12,7	12,9	12,1	10,7	9,5	3,1	1,1	1,5	1,7	13,8	5,9	5,6	6,6	8,4	8,8	12,1	14,0	
C17:0	-	-	1,3	1,6	-	-	1,0	-	1,1	1,1	1,1	1,2	1,0	1,7	1,5	1,3	2,0	1,4	2,9	1,9	
C18:0	9,9	10,3	5,7	9,3	6,4	7,8	7,3	8,3	11,2	13,2	12,4	10,0	4,6	7,2	7,2	10,7	7,2	8,3	5,9	7,1	
C18:1 (W9+W7)	15,6	12,5	6,9	15,6	22,0	23,2	22,6	19,4	14,4	12,7	13,8	12,9	9,2	7,7	8,8	9,1	9,1	18,2	8,5	11,5	
C18:2 W6	-	-	1,5	1,2	-	-	1,1	0,7	-	-	0,8	1,0	1,2	1,3	1,6	1,2	-	4,4	1,5	1,1	
C18:3 W3	-	-	0,9	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1,1	-	-	-	-	2,5	1,5	
C20:1 W9	-	2,0	-	3,7	-	1,3	1,2	0,8	-	-	-	-	-	1,8	-	-	1,1	-	-	1,7	
C20:4 W6	6,8	8,1	2,6	4,8	2,6	2,2	2,0	2,5	10,1	12,7	7,3	8,3	1,3	2,8	2,5	2,4	7,0	5,1	3,1	3,1	
C20:5 W3(EPA)	8,9	8,6	10,9	7,3	6,4	4,6	4,7	3,7	7,3	7,7	6,0	5,8	13,4	8,1	7,0	4,8	13,7	5,7	8,7	5,2	
C22:5 W3	3,3	3,2	1,3	3,2	1,5	1,8	1,6	1,5	2,6	3,2	3,2	1,9	1,0	1,1	1,3	-	9,0	5,6	5,5	3,6	
C22:6 W3(DHA)	12,4	15,0	28,0	8,9	17,4	16,5	16,7	22,0	29,1	28,8	28,1	28,1	14,2	26,0	25,5	19,3	10,4	6,3	6,8	4,3	
EPA + DHA	21,3	23,6	38,9	16,2	13,8	21,1	21,4	25,7	36,4	36,5	34,1	33,9	27,6	34,1	32,5	24,1	24,1	12,0	15,5	9,5	

I = inverno

P = primavera

O = outono

V = verão

EPA = ácido eicosapentaenóico

DHA = ácido docosahexaenóico

em todas as amostras, apresentando-se em pequena proporção naquelas onde foram encontrados. Outros ácidos graxos também foram detectados em pequena proporção, porém não identificados.

De uma maneira geral, não houve variação significativa na composição dos ácidos graxos que diferenciasse os filés das polpas. Em cada espécie analisada ocorreram variações nas porcentagens dos ácidos graxos nas diferentes estações do ano, entretanto, não foi observado um comportamento padrão para cada estação. Ressalte-se que, numa mesma espécie de peixe, o perfil de ácidos graxos pode sofrer grandes variações, que dependerão, principalmente, da flutuação na disponibilidade de alimentos, a qual pode ser diferente de ano para ano na mesma estação<sup>24,28</sup>.

Para a avaliação de uma espécie de peixe como fonte de ácidos graxos polinsaturados, visando benefícios à saúde humana, é necessário o conhecimento de dois aspectos da composição dos peixes: perfil de ácidos graxos, especialmente os polinsaturados, e o teor de lipídios da espécie<sup>21</sup>. Apesar dos peixes estudados terem apresentado valores elevados da somatória dos ácidos eicosapentaenóico (EPA) e docosahexaenóico (DHA), especialmente o peixe-porco e a sardinha-verdadeira, além de outros ácidos graxos polinsaturados importantes do ponto-de-vista nutri-

cional, como o araquidônico<sup>29</sup>, quase todas as amostras foram classificadas como peixes de baixo teor lipídico (<5% de gordura)<sup>27</sup>.

Desta forma, para se atingir os efeitos benéficos relativos à ingestão daqueles PUFAs, seria necessário um consumo considerável de peixes das espécies estudadas. Para a corvina e o peixe-porco os teores lipídicos foram os mais baixos. A sardinha-verdadeira, no inverno, foi a que apresentou os teores mais elevados de gordura, além de proporções consideráveis de EPA e de DHA, sendo, das espécies avaliadas, a mais recomendada na composição de dietas onde os peixes são o principal componente.

## CONCLUSÕES

De uma maneira geral, a composição centesimal e de ácidos graxos nas cinco espécies de peixes estudadas não variou significativamente para filés e polpas e não foi afetada sistematicamente pela estação do ano, apesar de terem ocorrido flutuações nos resultados para cada parâmetro.

O conteúdo de cinzas dos filés e das polpas foi semelhante indicando a não incorporação de partículas ósseas no processamento das polpas, enquanto que o

teor de lipídios, na maioria dos casos, foi ligeiramente superior nos filés, possivelmente pela passagem de matéria graxa da camada subepitelial e da medula durante a separação mecânica da carne.

Do ponto-de-vista nutricional, os maiores teores de lipídios e valor calórico foram observados para a sardinha-verdadeira (filés e polpas), no inverno. Já para os protídios, a tainha apresentou os maiores valores para filés e polpas, no inverno e outono, respectivamente.

Os principais ácidos graxos encontrados para todas as espécies foram: saturados, palmítico (C16:0) e esteárico (C18:0); monoinsaturados, palmitoléico (C16:1) e oléico (C18:1); polinsaturados, eicosapentaenóico (EPA, C20:5), docosahexaenóico (DHA, C 22:6) e araquidônico (AA, C20:4).

Os maiores valores da soma de EPA e DHA, ácidos graxos importantes nutricionalmente, foram obtidos para o peixe-porco e a sardinha-verdadeira.

A sardinha-verdadeira, dentre as espécies estudadas, mostrou-se a mais indicada para a elaboração de dietas à base de peixe, em função do teor lipídico e dos ácidos graxos EPA e DHA.

Os resultados obtidos indicam que seria necessário um consumo considerável de peixes das espécies estudadas para se atingir os efeitos benéficos da ingestão dos ácidos polinsaturados (PUFAs), já que todas as espécies em questão revelaram baixo teor lipídico (menor do que 5% de gordura), apesar das proporções de PUFAs terem sido consideráveis.

RIALA6/758

BADOLATO, E.S.G.; CARVALHO, J.B. de; AMARAL MELLO, M.R.P. do; TAVARES, M.; CAMPOS, N.C.; AUED-PIMENTEL, S.; MORAIS, C. de. — Centesimal composition of fatty acids and caloric value of five marine fish species in the different seasons. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 54(1): 27-35, 1994.

**ABSTRACT:** The influence of season upon proximate composition, caloric value and fatty acid composition was studied in mechanically-separated meat (pulp) and fillets of the following Brazilian marine fish species, among the most commercialized in São Paulo State: *Micropogon furnieri*, *Cynoscion petranus*, *Balistes carolinensis*, *Sardinella brasiliensis* and *Mugil spp.* Under the nutritional point of view, fillets and pulps of *Sardinella brasiliensis* presented the higher content of lipids and caloric value, in the winter, while the greatest protein contents were verified in fillets and pulps of *Mugil spp.* in the winter and in the autumn, respectively. Concerning the moisture, the higher percentages were found in fillets and pulps of *Micropogon furnieri*, in the spring, and the higher ash contents were presented by fillets and pulps of *Sardinella brasiliensis*, also in the spring. In none of the samples was detected carbohydrate, confirming the literature reported. More than 20 fatty acids were detected in all the species, varying from C12:0 to C22:6, seven of them representing more than 50% of the total (C16:0, C16:1, C18:0, C18:1, C20:4, C20:5 and C22:6). There were no noticeable differences in fatty acids profile, between fillets and pulps. Each specie presented seasonal variations in the fatty acids contents, however it was not observed a standard behaviour for each station year. Considering the benefits attributed to the eicosapentaenoic (C20:5) and docosahexaenoic (C22:6) acids in prevention and treatment of certain cardiovascular diseases, it was detected their presence in the lipids of the studied species. *Balistes carolinensis* presented higher sum of the C20:5 and C22:6 (fillet, from 27,6 to 37,0 g/100 g; pulp, from 33,9 to 36,5 g/100 g), followed by *Sardinella brasiliensis* (fillet, from 23,7 to 33,3 g/100 g; pulp, from 24,1 to 34,1 g/100g).

**DESCRIPTORS:** Marine fishes, fillets, mechanically-separated meat (pulp), proximate composition, fatty acid composition, seasonal variation.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ARMSTRONG, S.G.; LEACH, D.N. & WYLLIE, S.G. - Nutritional evaluation of lipids in fish from temperate Australian waters. *J. Food Sci.*, 56(4):1111-2, 1991.
2. BANDARRA, N.M.; NUNES, M.L.; CAMPOS, R.M. de; MENDES, R. & GONÇALVES, J. - Efeito da variação sazonal e da armazenagem em gelo nos lipídios das polpas e surimi de sardinha. - *Relat. Téc. Cient. INIP*, 31(10):1-22, 1990.
3. BELDA, M.C.R. & POURCHET-CAMPOS, M.A. - Ácidos graxos essenciais em nutrição: uma visão atualizada. *Ciênc. Tecnol. Aliment.*, 11(1):3-4, 1991.
4. BHUIYAN, A.K.M.A.; RATNAYKE, W.M.N. & ACKMAN, R.G. - Effect of smoking on the proxi-

- mate composition of Atlantic mackerel (*Scomber scombrus*). *J. Food Sci.*; 51:2, 1986
5. BLYTH, E.G. & DYER, W.J. - A rapid method of total lipid extraction and purification. *Can. J. Biochem. Physiol.*, 37(8):911-7, 1959.
6. BOTTA, J.R.; KENNEDY, K. & SQUIRES, B.E. - Effect of method of catching and time of season on the composition of Atlantic cod (*Gadus morhua*). *J. Food Sci.*, 52(4):922-4, 927, 1986.
7. CASTRO, L.A.B. de - Bioquímica do pescado. I - Composição química. *Bol. Téc. Inst. Pesca*, 2(2):1-16, 1988.
8. DE ANGELIS, R.C. - *Fisiologia da nutrição: fundamentos para nutrição e para desnutrição*. São Paulo, EDART/Ed. da Universidade de São Paulo, 1977. v.1, p. 44.
9. FERREIRA, M.S. - *Efeitos do processo da salga sobre a fração lipídica do pacu (Colossoma mitrei - BERG, 1895)*. Recife, 1987. p. 13. Tese - Mestrado - Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco.
10. GEROMEL, E.J. & FORSTER, R.J. - *Princípios fundamentais em tecnologia de pescados*. São Paulo, Secretaria da Indústria, Comércio, Ciência e Tecnologia. Coordenadoria da Indústria, e Comércio, s.d., p. 1-9 (Série Tecnologia Agroindustrial, 11).
11. GIBSON, R.A. - Australian fish - an excellent source of both arachidonic acid and w-3 polyunsaturated fatty acids. *Lipids*, 18 (11):743-52, 1983.
12. HART, F.L. & FISHER, H.J. - *Análisis moderno de los alimentos*. Zaragoza, Acribia, 1971. cap. 10, p. 249.
13. HEARN, T.L.; SGOUTAS, S.A.; HEARN, J.A. & SGOUTAS, D.S. - fatty acids and fat in fish flesh for selecting species for health benefits. *J. Food Sci.*, 52(5):1209-11, 1987.
14. INSTITUTO ADOLFO LUTZ, São Paulo. - *Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz*. 3ª ed. São Paulo, IMESP, 1985. v. 1, p. 21-54, 266.
15. ITÔ, Y.; SANCHES, L. & SILVA, D. R. da - Seasonal variation of the chemical composition of sardine. *Construções Inst. Oceanogr. Univ. S. Paulo*, (6):1-18, 1969. (Série Tecnologia).
16. KIRK, R.S. & SAWYER, R. - *Pearson's composition and analysis of foods*. 9th ed. Harlow Essex, Longman, 1981. cap. 13, p. 504-18.
17. MINAZZI-RODRIGUES, R.S. & PENTEADO, M. de V.C. - Importância dos óleos de peixe em fisiologia e nutrição humana. *Cad. Nutr.*, 3:41-97, 1991.
18. MORAIS, C. de - Algumas observações sobre nova técnica de utilização do pescado. *Bol. ITAL*, 48:53-63, 1976.
19. MORAIS, C. de & MARTINS, J.F.P. - Considerações sobre o aproveitamento de sobras de industrialização de pescado na elaboração de produtos alimentícios. *Bol. ITAL*, 18(3):253-81, 1981.
20. MORAIS, C. de; MANTOVANI, D.M.B. & CARVALHO, C.R.L. - Rendimento cárneo e composição química da ictiofauna acompanhante na captura do camarão-sete-barbas (*Xiphopenaeus kroyeri*, HELLER, 1982). *Colet. ITAL*, 22(1):62-72, 1992.
21. MUSTAFA, F.A. & MEDEIROS, D.M. - Proximate composition, mineral content and fatty acids of catfish (*Ictalurus punctatus*, Rafinesque) for different seasons and cooking methods. *J. Food Sci.*, 50:585-8, 1985.
22. NOMURA, H. - *Dicionário dos peixes do Brasil*. Brasília, Editerra, 1984. p.22.
23. ROCHA, Y.R. da; AGUIAR, J.P.L.; MARINHO, H.A. & SHRIMPTON, R. - Aspectos nutritivos de alguns peixes da Amazônia. *Acta Amazônica*, 12 (4):787-94, 1982.
24. SILVA, S.M.C.S. da - *Efeito do processamento sobre ácidos graxos polinsaturados da fração lipídica de duas espécies de peixes*. São Paulo, 1992. 136 p. (Tese - Mestrado - Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo).
25. SINCLAIR, A.J.; O'DEA, K & NAUGHTON, J.M. - Elevated levels of arachidonic acid in fish from northern Australian coastal waters. *Lipids*, 18 (12):877-81, 1983.
26. STANSBY, M.E. - Nutritional properties of fish oils. *World Rev. Nutr. Diet.*, 11:46-105, 1969.
27. STANSBY, M.E. - Polysaturates and fat in fish flesh. *J. Am. Diet. Ass.*, 63:625-30, 1973.
28. STANSBY, M.E. - Reliability of fatty acids values purporting to represent composition of oil from different species of fish. *J. Am. Oil. Chem. Sci.*, 58 (1):13-6, 1981.
29. SUGANO, M. & LEE, J.H. - Nutritional and physiological significance of lipids. *J. Dispersion Sci. Technol.*, 10(4/5):643-65, 1989.
30. ZAMBONI, C. de Q. - Estudo sobre a composição de 12 espécies de peixes nacionais - I. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 21: 65-82, 1961.

Recebido para publicação: 21.10.1993.

## DIETILPROPIONA, FEMPROPOREX, DIAZEPAM E FENOLFTALEÍNA: DETERMINAÇÃO EM FORMULAÇÕES PARA EMAGRECIMENTO.\*

Maria Auxiliadora CHAVES \*\*  
Amélia Shioko AKATUKA \*\*  
Luz Marina TRUJILLO \*\*

RIALA6/759

CHAVES, M.A.; AKATUKA, A.S. & TRUJILLO, L.M. - Dietilpropiona, femproporex, diazepam e fenolftaleína: determinação em formulações para emagrecimento. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 54(1): 36-43, 1994.

**RESUMO:** Com o objetivo de analisar dietilpropiona, femproporex, diazepam e fenolftaleína em formulações para regime de emagrecimento, foi desenvolvido um método de separação e determinação destas substâncias, utilizando procedimentos volumétricos e espectrofotométricos nas regiões do ultravioleta e visível.

**DESCRIPTORIOS:** dietilpropiona; femproporex; diazepam; fenolftaleína; formulações.

### INTRODUÇÃO

As formulações para regime de emagrecimento são preparações farmacêuticas manipuladas segundo prescrição médica para o tratamento dos diversos tipos de obesidade. Tais formulações apresentam características individuais quanto a composição e quantidade dos princípios ativos afim de atender às necessidades particulares de cada caso.

Dentre as formulações mais frequentemente preparadas em farmácias de manipulação, destacamos a seguinte combinação de princípios ativos: dietilpropiona (anorexígeno), femproporex (anorexígeno), diazepam (ansiolítico)<sup>1,5,6,9</sup> e fenolftaleína (laxante)<sup>6,9,13</sup>.

A dispensação destas fórmulas exige total profissionalismo, por se tratar da manipulação de princípios ativos que causam dependência física e psíquica<sup>1,5,6,9,11</sup> e reações de intoxicação<sup>11</sup>; sendo, ainda, substâncias sob controle de Órgãos de Fiscalização.

Os princípios ativos dietilpropiona e femproporex, derivados da beta-feniletilamina, são classificados farmacologicamente como drogas simpato-

tomiméticas<sup>6,9,11</sup> que em virtude de características estruturais e propriedades físicas exercem efeito estimulante significativo no Sistema Nervoso Central (SNC)<sup>13</sup>, à nível dos nervos hipotalâmicos<sup>1</sup>. São considerados agentes anorexígenos pois atuam na supressão do apetite<sup>6,9,13</sup> e sensação de fome<sup>13</sup>; daí serem utilizados como auxiliares no tratamento da obesidade.

O princípio ativo diazepam, um benzodiazepínico, é classificado farmacologicamente como droga depressora do SNC<sup>1,13</sup> com os seguintes principais efeitos terapêuticos: hipnótico/sedativo, ansiolítico, relaxante muscular e anticonvulsivante<sup>1,6,11</sup>. Sendo um agente ansiolítico é utilizado na terapia medicamentosa de estados de ansiedade<sup>5,6,9</sup> característicos em certos casos de pacientes obesos.

O princípio ativo fenolftaleína, substância derivada do difenilmetano, é classificado farmacologicamente como estimulante laxativo<sup>6,9,13</sup>, pois provoca o acúmulo de água e eletrólitos no lúmen do cólon e, também, aumenta a motilidade intestinal<sup>6</sup>. O efeito laxante da fenolftaleína contribui como adjuvante na diminuição do peso corpóreo.

\* Realizado na Seção de Química Farmacêutica do Instituto Adolfo Lutz, São Paulo, SP.

\*\* Do Instituto Adolfo Lutz.

O controle de qualidade desses medicamentos abrange todos os princípios que devem ser seguidos pelos fabricantes, responsáveis técnicos e autoridades governamentais para garantir a eficácia e inocuidade desses produtos. Sabe-se que toda substância farmacologicamente ativa apresenta ao lado do efeito desejado o perigo da toxicidade<sup>10</sup>.

Muitas vezes, por motivos diversos, o consumidor é lesado, tendo o seu tratamento comprometido pelo fato destas fórmulas manipuladas não corresponderem à prescrição médica.

Diante das atribuições deste Instituto em Vigilância Sanitária, especificamente de medicamentos, vimos a necessidade da elaboração de um método analítico para a determinação quantitativa dos princípios ativos citados.

O presente trabalho introduz um método analítico para a determinação dos princípios ativos dietilpropiona, femproporex, diazepam e fenoltaleína em quatro formulações distintas, quanto a proporção dos mesmos, utilizando padrões de referência na reconstituição das fórmulas.

## MATERIAL E MÉTODO

O método desenvolvido foi aplicado em formulações reconstituídas com padrões de referência em quatro proporções diferentes dos princípios ativos.

As quatro fórmulas estudadas estão apresentadas no quadro seguinte:

Quantidade (em miligramas) dos princípios ativos segundo a fórmula

Princípio Ativo	Fórmula (mg)			
	A	B	C	D
Dietilpropiona, cloridrato	75	50	30	25
Femproporex, cloridrato	30	25	20	20
Diazepam	10	05	05	03
Fenoltaleína	30	30	30	30

O procedimento geral deste método é constituído de quatro etapas, estando o esquema de separação dos componentes da fórmula resumido na Figura 1.

### 1ª Etapa:

Determinação quantitativa do total dos princípios ativos cloridrato de dietilpropiona, cloridrato de femproporex e diazepam.

### Material:

Bequer de 250 ml  
Bureta de 10 ml  
Funil de separação de 250 ml  
Funil de vidro  
Pipetas graduadas de 1 e 5 ml  
Proveta graduada de 50 ml

### Reagentes:

Clorofórmio pa  
Solução de ácido perclórico 0,1N SV  
Solução de cristal violeta SI  
Solução de hidróxido de sódio 10% SR  
Sulfato de sódio anidro pa

### Procedimento:

Determinar o peso do conteúdo médio de vinte cápsulas.

Pesar exatamente uma quantidade de amostra equivalente a 50 mg de cloridrato de dietilpropiona, 25 mg de cloridrato de femproporex e 5 mg de diazepam. Transferir para funil de separação de 250 ml com o auxílio de 5 ml de água e adicionar 3 ml de solução de hidróxido de sódio 10%. Extrair sucessivamente com quatro porções de 30 ml de clorofórmio. Filtrar os extratos de clorofórmio combinados através de 1g de sulfato de sódio anidro sobre algodão pré-lavados com o solvente. Recolher o filtrado em bequer de 250 ml. Adicionar 2 gotas de solução de cristal violeta e titular, imediatamente, com solução de ácido perclórico 0,1N até o ponto de viragem de coloração verde esmeralda. Efetuar um branco e fazer a correção necessária. Cada ml de solução de ácido perclórico 0,1N equivale a 23,84 mg do total de cloridrato de dietilpropiona, cloridrato de femproporex e diazepam.

### 2ª Etapa:

Determinação quantitativa dos princípios ativos cloridrato de dietilpropiona e diazepam.

### Equipamentos:

Espectrofotômetro de absorção na região do ultravioleta e visível (Hewlett Packard 8451A) Diode Array

Rotaevaporador (Fisatom 802)

### Material:

Balão de fundo chato de 300 ml  
Balão volumétrico de 100 ml  
Funil de separação de 250 ml  
Funil de vidro  
Pipeta graduada de 5 ml  
Pipetas volumétricas de 2 e 15 ml  
Proveta graduada de 50 ml

Reagentes:

Clorofórmio pa  
Padrão de referência de cloridrato de dietilpropiona  
Padrão de referência de diazepam  
Solução de ácido clorídrico 0,1 N SR  
Solução de ácido sulfúrico etanólico 0,1 N SR  
Solução de hidróxido de sódio 10% SR

Procedimento:

Pesar exatamente uma quantidade de amostra equivalente a 50 mg de cloridrato de dietilpropiona, 25 mg de cloridrato de femproporex e 5 mg de diazepam.

Transferir para um funil de separação com o auxílio de 5 ml de água e adicionar 3 ml de solução de hidróxido de sódio 10%. Extrair sucessivamente com quatro porções de 30 ml de clorofórmio, recolhendo os extratos em um segundo funil de separação de 250 ml.

Extrair as fases clorofórmicas combinadas com quatro porções de 20 ml de solução de ácido clorídrico 0,1 N recolhendo os extratos ácidos em um balão volumétrico de 100 ml. Adicionar solução de ácido clorídrico 0,1 N, completar o volume e agitar.

Reservar a fase clorofórmica para a determinação do diazepam.

Da solução ácida pipetar 2 ml para um balão volumétrico de 100 ml. Adicionar solução de ácido clorídrico 0,1N, completar o volume e agitar. Preparar uma solução padrão de cloridrato de dietilpropiona de concentração conhecida de aproximadamente 10 ug por ml em solução de ácido clorídrico 0,1N. Concomitantemente, determinar as absorvâncias das soluções da amostra e do padrão em cubetas de 1 cm a um comprimento de onda de 254 nm em espectrofotômetro, usando solução de ácido clorídrico 0,1 N como branco. Calcular a quantidade de cloridrato de dietilpropiona na amostra através da fórmula seguinte:

$$Ca = \frac{Aa \times Cp \times D \times M}{Ap \times T \times 1000}$$

Onde,

Ca = Quantidade de cloridrato de dietilpropiona em mg por conteúdo médio.  
Aa = Absorvância da amostra  
Ap = Absorvância do padrão  
Cp = Concentração do cloridrato de dietilpropiona em ug por ml na solução padrão.  
D = Fator de diluição  
T = Tomada de ensaio em mg.  
M = Peso do conteúdo médio da amostra em mg.

Recolher a solução clorofórmica em um balão de fundo chato de 300 ml, filtrando através de 1 g de sulfato de sódio anidro sobre algodão pré-lavados com o solvente. Evaporar o solvente em rotaevaporador à uma temperatura de  $40 \pm 5^\circ\text{C}$ . Dissolver o resíduo com várias pequenas porções de solução de ácido sulfúrico etanólico 0,1 N, transferindo para um balão volumétrico de 100 ml. Adicionar solução de ácido sulfúrico etanólico 0,1 N, completar o volume e agitar. Desta solução pipetar 15 ml para um balão volumétrico de 100 ml. Adicionar solução de ácido sulfúrico etanólico 0,1 N, completar o volume e agitar. Preparar uma solução padrão de diazepam de concentração conhecida de aproximadamente 15 ug por ml em solução de ácido sulfúrico etanólico 0,1 N. Concomitantemente, determinar as absorvâncias das soluções da amostra e padrão em cubetas de 1 cm a um comprimento de onda de 284 nm em espectrofotômetro, usando solução de ácido sulfúrico etanólico 0,1 N como branco. Calcular a quantidade de diazepam na amostra através da fórmula seguinte:

$$Ca = \frac{Aa \times Cp \times D \times M}{Ap \times T \times 1000}$$

Onde,

Ca = Quantidade de diazepam em mg por conteúdo médio.  
Aa = Absorvância da amostra  
Ap = Absorvância do padrão  
Cp = Concentração do diazepam em ug por ml na solução padrão.  
D = Fator de diluição  
T = Tomada de ensaio em mg.  
M = Peso do conteúdo médio da amostra em mg.

3ª Etapa:

Determinação quantitativa do princípio ativo cloridrato de femproporex.

Procedimento:

A partir dos resultados obtidos na primeira e segunda etapas, calcular, por diferença, a quantidade de cloridrato de femproporex. O cálculo está expresso na fórmula seguinte:

$$F = Q - (P + Z)$$

Onde,

F = Quantidade de cloridrato de femproporex em mg por conteúdo médio.  
Q = Quantidade total de cloridrato de dietilpropina, cloridrato de femproporex e diazepam em mg por conteúdo médio.  
P = Quantidade de cloridrato de dietilpropiona em mg por conteúdo médio.  
Z = Quantidade de diazepam em mg por conteúdo médio.

4ª Etapa:

Determinação quantitativa do princípio ativo fenoltaleína.

Equipamentos:

Espectrofotômetro de absorção na região do ultravioleta e visível (Hewlett Packard 8451A) Diode Array

Material:

Balões volumétricos de 50 e 100 ml  
Funil de vidro  
Pipetas volumétricas de 1 e 2 ml  
Proveta graduada de 50 ml

Reagentes:

Etanol pa  
Padrão de referência de fenoltaleína  
Solução de hidróxido de sódio 0,1 N SR

Procedimento:

Pesar exatamente uma quantidade de amostra equivalente a 30 mg de fenoltaleína. Transferir para um balão volumétrico de 100 ml com o auxílio de 20 ml de etanol. Adicionar etanol, completar o volume e agitar. Filtrar esta solução através de papel de filtro Watmann nº 40.

Preparar uma solução padrão de fenoltaleína de concentração conhecida de aproximadamente 250 ug por ml em etanol.

Pipetar 2 ml da solução da amostra e solução padrão para 2 balões volumétricos de 50 ml. Adicionar a cada um dos frascos 23 ml de etanol e 1 ml de solução de hidróxido de sódio 0,1 N. Completar o volume com água e agitar. Concomitantemente, determinar as absorbâncias da amostra e padrão em cubetas de 1 cm a um comprimento de onda de 556 nm em espectrofotômetro, usando etanol como branco. Calcular a quantidade de fenoltaleína na amostra através da fórmula seguinte:

$$Ca = \frac{Aa \times Cp \times D \times M}{Ap \times T \times 1000}$$

Onde,

Ca = Quantidade de fenoltaleína em mg por conteúdo médio.  
Aa = Absorbância da amostra  
Ap = Absorbância do padrão  
Cp = Concentração de fenoltaleína em ug por ml na solução padrão.  
D = Fator de diluição  
T = Tomada de ensaio em mg  
M = Peso do conteúdo médio da amostra em mg

RESULTADOS

Para cada fórmula estudada foram executadas seis determinações de cada etapa do procedimento geral descrito.

Os resultados obtidos são apresentados na Tabela 1:

TABELA 1

Quantidade (em miligramas) dos princípios ativos segundo a fórmula

Princípio ativo	Fórmula (mg)			
	A	B	C	D
Dietilpropiona, cloridrato	76,34	51,25	31,47	25,77
	75,90	50,70	30,90	25,57
	75,61	50,65	30,76	25,53
	75,47	50,58	30,64	25,17
	75,47	50,38	30,57	25,14
	75,32	49,90	30,57	24,86
Femproporex, cloridrato	32,25	25,51	21,24	19,99
	33,03	26,15	19,92	20,19
	33,46	24,98	20,33	19,65
	32,47	25,07	20,15	20,12
	30,12	25,35	19,95	20,22
	30,55	24,66	19,72	20,59
Diazepam	10,46	4,87	5,47	3,19
	10,12	4,78	5,32	3,19
	9,98	4,78	4,95	3,16
	9,88	4,76	4,95	3,05
	9,78	4,68	4,91	2,98
	9,50	4,63	4,84	2,89
Fenoltaleína	31,38	30,38	30,45	29,30
	31,38	30,17	30,31	29,30
	31,04	30,03	30,10	29,10
	30,70	29,96	30,03	29,00
	30,43	29,96	29,82	28,70
	29,60	29,89	29,61	28,60

TABELA 2

Medidas da variabilidade da quantidade total (em miligramas) dos princípios ativos cloridrato de dietilpropiona, cloridrato de femproporex e diazepam segundo a fórmula

Medidas da variabilidade	Fórmula			
	A	B	C	D
X	117,62	80,61	56,11	48,54
S	3,24	0,84	1,17	0,10
s	1,80	0,92	1,08	0,32
CV	1,53	1,14	1,93	0,65

X = média aritmética (mg)  
S = variância (mg<sup>2</sup>)  
s = desvio padrão (mg)  
CV = coeficiente de variação (por cento)



Os resultados obtidos nas quatro etapas do procedimento geral foram submetidos à tratamento estatístico. As medidas da variabilidade destes resultados são apresentados nas Tabelas 2 e 3.

TABELA 3

Medidas de variabilidade da quantidade (em miligramas) dos princípios ativos segundo a fórmula

Medidas da variabilidade	Fórmula (mg)			
	A	B	C	D
<b>Dietilpropiona cloridrato</b>				
X	75,69	50,58	30,82	25,34
S	0,14	0,19	0,12	0,11
s	0,38	0,44	0,34	0,34
CV	0,50	0,86	1,11	1,34
<b>Femproporex, cloridrato</b>				
X	31,98	25,29	20,22	20,13
S	1,82	0,27	0,29	0,09
s	1,35	0,52	0,54	0,31
CV	0,70	2,04	2,68	1,53
<b>Diazepam</b>				
X	9,95	4,75	5,07	3,08
S	0,11	0,01	0,07	0,02
s	0,32	0,08	0,26	0,12
CV	3,26	1,77	5,07	4,05
<b>Fenolftaleína</b>				
X	30,76	30,07	30,05	29,00
S	0,46	0,03	0,10	0,09
s	0,68	0,18	0,31	0,30
CV	2,21	0,50	1,03	1,02

X = média aritmética (mg)  
 S = variância (mg<sup>2</sup>)  
 s = desvio padrão (mg)  
 CV = coeficiente de variação (por cento)

TABELA 4

Média (em porcentagem) da recuperação do método para cada princípio ativo segundo a fórmula

Princípio ativo	Fórmula (por cento)			
	A	B	C	D
Dietilpropiona, cloridrato	110,92	101,16	102,73	101,36
Femproporex, cloridrato	106,60	101,15	101,10	100,65
Diazepam	99,50	95,00	101,40	102,67
Fenolftaleína	102,53	100,23	100,17	99,67

Os resultados obtidos no procedimento geral foram utilizados na avaliação da recuperação do método. Os percentuais da recuperação do método são apresentados na Tabela 4.

## DISCUSSÃO E CONCLUSÃO

O presente trabalho introduz um método analítico destinado ao estudo de formulações para regime de emagrecimento, que podem representar quase todo o universo das prescrições médicas mais solicitadas e manipuladas em farmácias magistrais nos últimos dez anos.

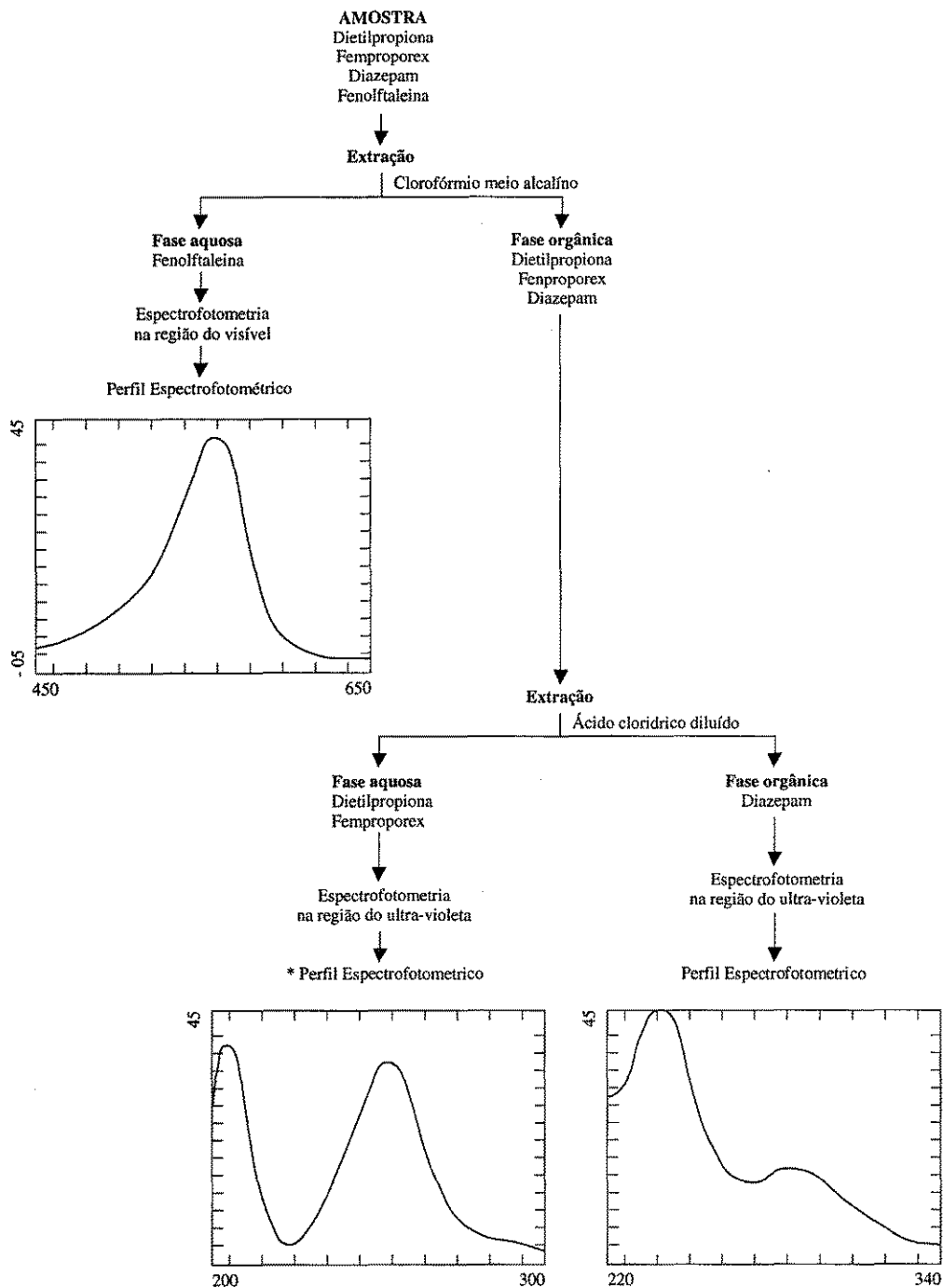
A primeira etapa do procedimento, na qual determina-se a quantidade total dos princípios ativos cloridrato de dietilpropiona, cloridrato de femproporex e diazepam, é importante por duas razões principais:

- Análise prévia das condições gerais da amostra; pois, fornece a quantidade total da maioria dos componentes da fórmula e, ainda, propõe um indicativo de procedimentos na etapa seguinte.
- O resultado obtido é utilizado, posteriormente, no cálculo da quantidade de cloridrato de femproporex.

O procedimento desta etapa é constituído de duas operações analíticas, extração e titulação, sendo, deste modo, mínima a perda durante sua execução. Não ocorre interferência por parte dos excipientes mais comumente utilizados nestas formulações, como amido, lactose, talco e carboximetilcelulose, porque estas substâncias além de não serem extraídas pelo solvente em meio alcalino, também não reagem com a solução titulante. Como observa-se na Tabela 2, o valor máximo de coeficiente de variação é de 1,93.

A segunda etapa do procedimento consiste na determinação da quantidade de cloridrato de dietilpropiona e diazepam. É a etapa mais importante, pois nesta ocorre a separação dos componentes da fórmula, com exceção do cloridrato de femproporex.

Sabe-se na teoria e na prática que substâncias de diferentes fontes podem interferir na determinação espectrofotométrica da substância analisada. Estes interferentes podem ser originários de excipientes, impurezas da manipulação, produtos de decomposição e, ainda, outros componentes da formulação que absorvem em regiões próximas ao comprimento de onda de máxima absorção do composto analisado<sup>2</sup>. Neste trabalho, observa-se que o cloridrato de femproporex é extraído juntamente com o cloridrato de dietilpropiona. Porém, verifica-se que no doseamento do cloridrato de dietilpropiona, por espectrofo-



\* O FEMPROPOREX não interfere na determinação da DIETILPROPIONA por apresentar valor pouco significativo de absorvância nesta faixa de comprimento de onda.

FIGURA 1

Esquema geral da separação dos componentes da fórmula

tometria na região do ultravioleta, mesmo na presença de cloridrato de femproporex como substância que absorve a um comprimento de onda próximo à 254 nm (comprimento de onda de máxima absorção do cloridrato de femproporex é 252, 258 e 264 nm), não há interferência na leitura. Isto justifica-se porque a máxima absorção do cloridrato de femproporex na concentração da solução da amostra é suficientemente pequena (solução ácida, 258 nm - E1% = 8) que o seu produto pode ser ignorado<sup>2</sup>.

O diazepam apresenta máxima absorção em dois comprimentos de onda, 240 e 284 nm. Utiliza-se o comprimento de onda de 284 nm, pois nesta faixa de trabalho, não há, seguramente, desvio do espectro de absorção ocasionado por possível interferência dos demais componentes da fórmula.

O procedimento dessa etapa é constituído de várias operações analíticas e, ainda, trabalha-se com quantidades mínimas dos princípios ativos; do que decorre a possibilidade de erros maiores durante sua execução. Desta forma, a habilidade do analista e o cumprimento rigoroso da técnica descrita são de suma importância para obtenção de resultados satisfatórios.

Observando-se a Tabela 3, os valores máximos de coeficiente de variação para cloridrato de dietilpropiona e diazepam são de 1,34 e 5,07, respectivamente.

A terceira etapa é a determinação da quantidade de cloridrato de femproporex, calculada a partir da diferença dos resultados obtidos nas duas etapas anteriores. O valor máximo de coeficiente de variação é de 2,68, como mostra a Tabela 3.

Na quarta etapa, determina-se a quantidade de fenolfaleína por espectrofotometria na região do visível, através de reação química, resultando em composto colorido<sup>8</sup> facilmente caracterizado. Esta reação é muito importante, porque pode ser utilizada na pesquisa prévia da presença ou não da fenolfaleína na formulação. Outro fator a considerar re-

ferre-se ao fato de que nas formulações desta natureza somente a fenolfaleína apresenta estrutura química capaz de promover alteração em sua molécula, com formação de composto colorido, na presença de solução alcalina, mesmo bastante diluída. Em decorrência desta propriedade química da fenolfaleína, pode-se utilizar este procedimento em qualquer formulação que a contenha. O valor máximo de coeficiente de variação é de 2,21, como observa-se na Tabela 3.

Observando-se a Tabela 3, tem-se os seguintes valores máximos de coeficiente de variação para cada um dos princípios ativos: cloridrato de dietilpropiona, 1,34; cloridrato de femproporex, 2,68; diazepam, 5,07 e fenolfaleína, 2,21. Sendo o coeficiente de variação, em termos estatísticos, uma medida de dispersão, definida como o desvio padrão expresso em porcentagem da média<sup>3</sup>, conclui-se que no método apresentado para cada um dos princípios ativos, a variabilidade relativa dos resultados não excede o limite percentual de 5,07.

Observando-se a Tabela 4, tem-se os seguintes valores percentuais mínimo e máximo da recuperação do método: 99,64 e 102,38, respectivamente.

Estatisticamente, é prática considerar satisfatórios aqueles resultados compreendidos entre 90 e 110% em relação ao valor declarado dos princípios ativos em produtos acabados

Avaliando-se os resultados de coeficiente de variação e porcentagem de recuperação do método, assegura-se a eficiência e confiabilidade dos procedimentos analíticos apresentados.

Define-se o método estudado neste trabalho como sendo aceitável e aplicável aos serviços de rotina do laboratório. Isto porque comparando os erros analíticos observados, estimados por tratamento estatístico a partir dos resultados experimentais, com os limites de erro permitidos e definidos, verifica-se que os erros observados são menores que os erros permitidos<sup>12</sup>.

RIALA6/759

CHAVES, M.A.; AKATUKA, A.S. & TRUJILLO, L.M. - Diethylpropion, Fenproporex, Diazepam and Phenolphthalein - determination in formulation for slim.. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 54(1): 36-43, 1994.

ABSTRACT: In order to analyse diethylpropion, fenproporex, diazepam and phenolphthalein in formulas for slim, a method of isolation and determination of these substances was developed, making use of volumetric and ultraviolet visible spectrophotometric procedures.

DESCRIPTORS: diethylpropion; fenproporex; diazepam; phenolphthalein; formulations.

#### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ASHTON, H. - Brain Function and Psychotropic Drugs. Oxford University Press, 1992. p. 55-68, 75-7, 105.
2. BECKETT, A.H. & STENLAKE, J.B. - Practical Pharmaceutical Chemistry. 4th ed., London, The Athlone Press, 1988. p. 2, 281-2.
3. BERQUÓ, E.S.; SOUZA, J.M.P. & GOTLIEB, S.L.D. - Bioestatística. 1ª ed. rev., São Paulo, Editora Pedagógica e Universitária Ltda, 1981, p. 69-98.
4. CLARKE'S - Isolation and Identification of Drugs. 2nd ed., London, The Pharmaceutical Press, 1986, p. 526-7, 538-9, 617, 885.
5. GARATTINI, S.; MUSSINI, E. & RANDALL, L.O. - The Benzodiazepines. New York, Raven Press, 1973. p. 22-4, 545.
6. GOODMAN AND GILMAN'S - The Pharmacological Basis of Therapeutics. 8th ed., New York, Pergamon Press, 1990, p. 187-218, 428-9, 920-1.
7. GUEDES, M.L.S. & GUEDES, J.S. - Bioestatística para Profissionais de Saúde, 1ª ed., Rio de Janeiro, Ao Livro Técnico S.A., 1988. p. 68-77.
8. LEBEAU, P. & JANOT, M.M. - Traité de Pharmacie Chimique. 4eme ed., Paris, Libraires de L'Academie de Medecine, 1955-56. p. 1128-32.
9. MARTINDALE - The Extra Pharmacopoeia. 29th ed., London, The Pharmaceutical Press, 1989. p. 728-31, 1102-3, 1144, 1441-2.
10. SANTORO, M.I.R.M. - Introdução ao Controle de Qualidade de Medicamentos. São Paulo, Editora da Universidade de São Paulo, 1988, p. 4-9, 16-9.
11. SCHVARTSMAN, S. - Intoxicações Agudas. 4ª ed., São Paulo, Sarvier Editora de Livros Médicos Ltda, 1991. p. 34. 75-6, 84-5.
12. TIETZ, N.W. - Fundamentals of Chemical Chemistry. 3rd ed., Philadelphia, W.B. Saunders Company, 1987. p. 230.
13. WILSON, C.O.; GISVOLD, O. & DOERG, R.F. - Textbook of Organic Medicinal and Pharmaceutical Chemistry. 7th ed. Philadelphia, J.B. Lippincott Company, 1977. p. 374-7, 416-20, 952-4.

Recebido para publicação: 26.10.93

## SARDINHAS EM ÓLEO COMESTÍVEL. I. AVALIAÇÃO DOS PARÂMETROS FÍSICO-QUÍMICOS OFICIAIS RELACIONADOS COM O EXAME MICROBIOLÓGICO E ESTUDO DA COMPATIBILIDADE PRODUTO-EMBALAGEM EM RELAÇÃO A COMPOSTOS MIGRADOS \*

Liliana Brancacio BACETTI\*\*  
Mario TAVARES\*\*  
Neus Sadocco PASCUET\*\*  
Paulo TIGLEA\*\*  
Dilma Scala GELLI\*\*  
Cassia Maria LOBANCO\*\*  
Cleso de MORAIS\*\*\*

RIALA6/760

BACETTI, L.B.; TAVARES, M.; PASCUET, N.S.; TIGLEA, P.; GELLI, D.S. LOBANCO, C.M. & MORAIS, C. - Sardinhas em óleo comestível. I. Avaliação dos parâmetros físico-químicos oficiais relacionados com o exame microbiológico e estudo da compatibilidade produto-embalagem em relação a compostos migrados. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 54(1): 44-50, 1994.

**RESUMO:** Neste trabalho são relatados os resultados de determinações físico-químicas e microbiológicas, segundo a legislação brasileira, durante um ano, em amostras de sardinha (*Sardina pilchardus*) enlatadas em óleo de soja, especialmente elaboradas. Foi avaliada a compatibilidade do produto com a embalagem (folha cromada revestida com verniz epoxi-fenólico) quanto aos compostos migrados. A embalagem mostrou-se adequada para este tipo de produto. Os níveis de ferro e cromo encontrados sugerem que estes metais, presentes no alimento, não provêm da embalagem. A análise microbiológica do produto apresentou resultados de acordo com a legislação vigente. O teor de bases voláteis totais (BVT), a partir do primeiro dia após o processamento, foi superior ao limite máximo permitido (0,030 g/100g). A reação de Éber para gás sulfídrico (H<sub>2</sub>S) mostrou-se inconclusiva, não demonstrando correlação com os níveis de BVT e/ou exame microbiológico. Tais resultados sugerem revisão do limite estabelecido para BVT, bem como o estudo de outros parâmetros de avaliação da qualidade de pescado, pois o teor de BVT e/ou a reação de H<sub>2</sub>S, isoladamente, não asseguram a avaliação eficiente deste tipo de produto.

**DESCRIPTORIOS:** Sardinha (*Sardina pilchardus*) enlatada, legislação, análises físico-químicas e microbiológicas, embalagem, ferro e cromo.

### INTRODUÇÃO

O pescado é um alimento de grande valor nutritivo, constituindo uma das mais importantes fontes proteicas de alto valor biológico, lipídios, vitaminas e sais

minerais<sup>16,24,29</sup>; entretanto, sua conservação apresenta muitos problemas, uma vez que a decomposição ocorre rapidamente em decorrência dos métodos de captura, que provocam morte lenta, consideráveis danos mecânicos e também levando-se em conta os

\* Realizado nas Seções de Óleos e Gorduras; Equipamentos Especializados; Plásticos, Vernizes e Outros Materiais de Embalagem e Microbiologia Alimentar, do Instituto Adolfo Lutz., apresentado no Encontro Nacional de Analistas de Alimentos, 8º Porto Alegre/RS, 1993.

\*\* Do Instituto Adolfo Lutz

\*\*\* Do Instituto de Tecnologia de Alimentos

inúmeros microrganismos presentes nas águas, bem como a microbiota natural do pescado, localizada principalmente nos intestinos, guelras e limo superficial, fatores que aceleram o início da deterioração<sup>24</sup>.

Após a morte do pescado, toma lugar um fenômeno denominado "rigor mortis", verificado por intermédio de alterações no músculo. A velocidade com que estas transformações ocorrem depende da espécie, dos métodos de captura, temperatura de armazenagem, carga bacteriana inicial, tempo decorrido após sua morte e condições sanitárias de manuseio<sup>13,16,22,24,29,37</sup>.

Enquanto fresco e ainda no "rigor mortis", não se processam mudanças deteriorativas que possam ser medidas e a atividade microbiana é limitada devido ao acúmulo de ácido láctico. Somente após o término desta fase é que começam a ter lugar os efeitos autolíticos e a ação bacteriana, pois no músculo do pescado ainda vivo, os microrganismos não estão presentes devido às defesas naturais, impedindo sua penetração neste<sup>16,24</sup>.

Estão presentes, naturalmente, na pele e tecido muscular do pescado, enzimas que atuam sobre o organismo deste<sup>25</sup>, tornando disponíveis substâncias nutritivas para bactérias, propiciando seu desenvolvimento e reprodução<sup>18,29</sup>. Entre estas enzimas merecem destaque as catepsinas e peptidases. Dos produtos de origem animal, o pescado é um dos mais suscetíveis ao processo deteriorativo, em virtude, principalmente, do pH próximo à neutralidade, elevada atividade de água nos tecidos e alto teor de nutrientes<sup>24</sup>.

As alterações químicas, enzimáticas e/ou bacterianas que ocorrem no músculo do pescado, durante o processo de deterioração, acarretam a produção de ácidos voláteis como o gás sulfídrico, e compostos nitrogenados, tais como: amônia (NH<sub>3</sub>), trimetilamina (TMA), dimetilamina (DMA), que apresentam odores fortes e desagradáveis<sup>3,14,15</sup>.

A produção de TMA está associada a um precursor, o óxido de trimetilamina (TMAO), o qual não se encontra em todas as espécies e sua quantidade, dentro da mesma espécie, apresenta variações<sup>11,12,15,23,27</sup>.

As bases voláteis, representadas nas espécies marinhas principalmente por NH<sub>3</sub> e TMA, apresentam teores extremamente variáveis, em função das condições ambientais e de captura<sup>12,15</sup>.

A formação da TMA, pela redução do TMAO, da NH<sub>3</sub>, resultante de várias fontes, da hipoxantina (hx), decorrente da degradação de nucleotídeos, da histamina, a partir da histidina<sup>5,32</sup> e o desenvolvimento de rancidez oxidativa nos lipídios presentes no músculo do pescado, são transformações que contribuem para a decomposição do pescado.

O frescor é um atributo muito importante para os peixes, considerado como matéria-prima e significa a extensão da deterioração sofrida pelo pescado ainda cru. A avaliação deste frescor pode ser feita por métodos subjetivos (odor, cor, sabor, aparência, textura)<sup>28</sup> e através de análises objetivas, empregadas na determinação ou identificação de substâncias formadas no decorrer da deterioração.

Os teores de BVT, TMA, hx, NH<sub>3</sub> e outros tem sido utilizados para a avaliação da qualidade do pescado<sup>4,5,14,19,30,34</sup>; entretanto, os resultados obtidos tem sido conflitantes, não fornecendo informações conclusivas sobre o frescor deste produto.

Para a conservação de pescados, uma série de processos são utilizados, tais como: congelamento, enlatamento, salga e defumação<sup>33,35</sup>. Entre os mais comuns e de aplicação geral, estão o congelamento e o enlatamento<sup>17,38,40</sup>.

O processo de enlatamento proporciona um produto capaz de ser armazenado por grandes períodos, conservando-se sem o emprego de qualquer outro método auxiliar, e pode ser aplicado a um grande número de espécies<sup>17</sup>.

A sardinha, no Brasil, é o peixe mais utilizado como matéria-prima para o enlatamento, apresentando grande penetração, especialmente nas classes de renda mais baixa, com preços inferiores aos de outras espécies<sup>13</sup>.

A produção de conservas de sardinha é um importante segmento da indústria nacional de alimentos processados, sendo que este produto, dentre as conservas de pescado, contribui com 92% do total produzido. Apesar da importância desta atividade econômica, a tecnologia empregada é rudimentar, principalmente na etapa de esterilização, com definição inadequada do binômio temperatura x tempo de esterilização<sup>8,13,39</sup>.

As embalagens metálicas são consideradas adequadas para o acondicionamento de conservas alimentícias, pois asseguram a hermeticidade, a não penetração de oxigênio e microrganismos, evitam a fotodegradação, além de possuírem características mecânicas que garantem a integridade física do alimento<sup>21</sup>. Podem ser utilizados dois tipos de folha metálica para o acondicionamento de pescado: estanhada (folha-de-flandres) ou cromada, protegida com revestimentos orgânicos adequados.

Os principais problemas advindos da interação entre o pescado em conserva e a embalagem metálica utilizada são assim caracterizados: corrosão do metal pelo produto de alta acidez (no caso de pescado marinado) e corrosão localizada em áreas onde há contato direto entre a embalagem e o

músculo do pescado, comum nas conservas de sardinha em óleo comestível.

No caso das folhas cromadas, existe a preocupação com a migração de cromo para o alimento, que deve ser controlada.

O verniz sanitário utilizado para a proteção da folha metálica, servindo como barreira contra a corrosão, também pode ceder elementos de sua formulação para o alimento, principalmente no caso de processo de cura inadequada, possibilitando a migração de solventes residuais para o produto.

Devido aos problemas de conservação do pescado anteriormente citados e da importância da produção e consumo de sardinhas enlatadas, este trabalho objetivou verificar a adequação da embalagem metálica utilizada no enlatamento deste produto, uma avaliação dos parâmetros físico-químicos e microbiológicos atualmente estabelecidos pela legislação brasileira, bem como a correlação destes para este tipo de alimento, posto que alguns destes parâmetros tem gerado dúvidas, principalmente em se tratando da reação de Éber para gás sulfídrico e teor de BVT<sup>6,25,26,31,32,36</sup>.

O laboratório de controle de alimentos do Departamento de Vigilância e Controle Sanitário da Secretaria Municipal de Abastecimento, efetuou análises em amostras de pescado enlatado e constatou que, em 75% delas, a reação de H<sub>2</sub>S foi positiva e o produto apresentava caracteres organoléuticos adequados. A explicação foi encontrada pelos autores em experimentos relacionando o calor com o aparecimento de H<sub>2</sub>S, evidenciando que nem sempre este aparecimento se deve à ação microbiana e sim aos efeitos do calor.

Em vista disto, os autores questionaram a aplicação desta prova como método para a avaliação da qualidade de pescado enlatado, uma vez que estes são submetidos a um tratamento térmico (esterilização).

A legislação brasileira estabelece para conservas de pescado: ausência de gás sulfídrico, teor máximo de BVT de 0,030 g/100g, acidez (em ácido oléico) máxima de 2%, observação de alterações na embalagem, bem como modificações de natureza física, química, organoléptica e microbiológica do produto.<sup>8,9,31</sup>

No caso das embalagens para este tipo de produto, a legislação preconiza também testes de migração total (no máximo 8,0 mg/dm<sup>2</sup> ou 50 mg/kg), ausência de arsênio, chumbo e cádmio, além da verificação das características físicas da embalagem após os testes e organolépticas dos solventes simulantes empregados nos testes<sup>7</sup>.

## MATERIAL E MÉTODOS

### Material

Para a elaboração das amostras de sardinha em óleo de soja, empregou-se, como matéria-prima, sardinhas (*Sardina pilchardus*) de um mesmo lote, adquiridas junto à indústria de conservas de pescado de Santos - SP, capturadas em águas do mar do Saara, congeladas à bordo em blocos de 10 kg e acondicionadas em caixas de papelão de 30 kg.

Estes blocos foram descongelados em câmara a 0°C, por 12 horas e, logo após, as sardinhas foram submetidas ao processo de enlatamento e esterilização, no qual foram utilizados óleo de soja e sal não iodado, adquiridos no mercado. As embalagens utilizadas para o acondicionamento foram latas retangulares (capacidade de 130 g-peso líquido), de folha cromada, revestidas internamente com uma camada de verniz epoxi-fenólico possuindo tampas com a mesma especificação.

As amostras foram estocadas por 360 dias, à temperatura ambiente.

### Métodos

#### 1. Análise físico-química do alimento

Os teores de BVT foram determinados na matéria-prima e periodicamente após o processamento, durante o período de um ano. Simultaneamente, foi efetuada a reação de Éber, para gás sulfídrico no pescado e determinadas a acidez, em ácido oléico, e a rancidez no óleo de cobertura. Todas as determinações foram efetuadas de acordo com as "Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz"<sup>20</sup>.

Os níveis de cromo e ferro nas sardinhas processadas foram determinados de acordo com o seguinte procedimento:

Foram pesados, com exatidão, cerca de 10 g de amostra drenada e homogeneizada, em erlenmeyers de 125 ml, em triplicata. A cada recipiente, foram adicionados 10 ml de HNO<sub>3</sub> isento de metais. Após a reação inicial, os frascos foram colocados em chapa elétrica com aquecimento moderado, até a secagem. A temperatura foi então elevada progressivamente até a carbonização da amostra. As amostras foram então resfriadas e adicionadas de mais 10 ml de HNO<sub>3</sub>, iniciando-se novo aquecimento moderado até a secura, seguido de elevação gradual da temperatura. O tratamento foi repetido até a obtenção de resíduos branco-amarelados. Estes resíduos foram dissolvidos em solução de HNO<sub>3</sub> a 5% e transferidos para balões volumétricos de 25 ml, completando-se o volume com a própria solução. Os teores de cromo e ferro foram determinados por espectro-

fotometria de absorção atômica com chama, em aparelho Perkin-Elmer modelo 1100 B, usando-se como padrões soluções de 0,2; 0,5; 1,0 e 2,0 mg/mL de cada elemento, preparadas a partir de soluções-estoque de 1000 microgramas/mL. As condições de leitura para o cromo foram as sugeridas por Agget e O'Brien<sup>1</sup>.

## 2. Análise microbiológica do alimento

Foram realizadas as contagens de bactérias aeróbias e anaeróbias mesófilas e termófilas na matéria-prima e após o processamento, semanalmente até o quadragésimo dia. Posteriormente as contagens foram espaçadas para seis meses e um ano, a contar da data do enlatamento, utilizando metodologia constante no Compêndio APHA<sup>2</sup>.

## 3. Análise das embalagens

As embalagens metálicas utilizadas para o acondicionamento do pescado foram analisadas, através de provas de cessão, para a verificação da migração global, de acordo com a legislação específica, Resolução 45/77 da Comissão Nacional de Normas e Padrões para Alimentos (CNNPA)<sup>7</sup>, a fim de avaliar a compatibilidade produto/embalagem.

De acordo com a classificação dos alimentos e solventes simulantes contida na Resolução 35/76 da CNNPA<sup>10</sup>, as sardinhas são consideradas como alimentos do tipo III, e para os testes de simulação foram utilizados os solventes: água destilada, óleo de soja e n-heptano.

Para reproduzir a vida-de-prateleira da sardinha enlatada, os testes foram efetuados num período de 10 dias à temperatura de 40°C, no caso de água e óleo de soja, e durante 30 minutos à temperatura de 20°C, quando se utilizou n-heptano.

Como parâmetros, foram considerados: resíduo, arsênio e metais pesados (em chumbo), após prova de cessão, variação nos caracteres organoléuticos dos solventes, índice de iodo e espectro na região do ultravioleta e visível do óleo de soja. Tais determinações foram efetuadas segundo as "Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz"<sup>20</sup>.

As determinações de ferro e cromo após as provas de cessão foram efetuadas, nos solventes simulantes, por espectrofotometria de absorção atômica, nas mesmas condições analíticas utilizadas para as amostras de pescado descritas anteriormente.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados das determinações de bases voláteis totais (BVT), reações de Éber para gás sulfídrico,

TABELA 1

Determinações de bases voláteis totais (BVT), reações de Éber para gás sulfídrico, acidez, em ácido oléico e reação de Kreis, durante o período de um ano, em conservas de sardinha\*

Dia	Fórmula (mg)			
	Bases voláteis totais (g/100g)	Reação de Éber para H <sub>2</sub> S	Acidez, em ácido oléico no óleo de cobertura (%)	Reação de Kreis
01	0,047	negativo	0,20	neg.
02	0,043	negativo	0,20	neg.
04	0,040	positivo	0,21	neg.
07	0,040	positivo	0,28	neg.
09	0,037	positivo	0,35	neg.
11	0,039	positivo	0,42	neg.
30	0,052	leve/positivo	0,42	neg.
60	0,042	leve/positivo	0,56	neg.
90	0,052	negativo	0,71	neg.
120	0,049	positivo	0,85	neg.
150	0,046	leve/positivo	1,27	neg.
180	0,047	positivo	1,27	neg.
210	0,047	leve/positivo	1,41	neg.
240	0,048	leve/positivo	0,85	neg.
270	0,061	leve/positivo	0,85	neg.
300	0,049	leve/positivo	0,85	neg.
330	0,053	positivo	1,27	neg.
360	0,048	leve/positivo	1,27	neg.

\* Análises efetuadas em duplicata.

acidez em ácido oléico e reação de Kreis estão apresentados na tabela 1.

No decorrer do período estudado, os teores de BVT encontrados foram superiores ao limite máximo estabelecido pela legislação para pescado (0,030 g/100g)<sup>6</sup>. No primeiro dia após o processamento foi encontrado um teor de 0,047 g/100g e nas determinações seguintes os valores oscilaram entre 0,037 e 0,061 g/100g, sem tendência evidente de aumento ou diminuição.

Na matéria-prima, os valores encontrados foram, respectivamente, para sardinhas inteiras e amostras evisceradas e descabeçadas, de 0,020 e 0,030 g/100g.

Os resultados das reações de Éber para gás sulfídrico apresentaram-se ora positivos ora negativos, não indicando correlação com os teores de BVT encontrados nem com a análise microbiológica, a qual, no período estudado, não revelou crescimento microbiano.

A determinação da acidez em ácido oléico, no óleo de cobertura, apesar de apresentar oscilações durante o período de estudo, em nenhum momento ultrapassou o limite máximo estabelecido, que é de 2%.



TABELA 2

Resultados obtidos nas provas de cessão realizadas nas embalagens metálicas, antes do acondicionamento\*

Tipo de solvente	Resíduo (mg/Kg)	Arsênio, em As (mg/kg)	Metais pesados, em Pb (mg/kg)	Cromo, em Cr (mg/kg)	Ferro, em Fe (mg/kg)
Água destilada	13,2	<0,2	<2,0	0,07	0,0
n-Heptano	48,6	<0,2	<2,0	0,07	0,5

\* Análises efetuadas em triplicata.

A reação de Kreis (ranço) no óleo de cobertura mostrou-se negativa no referido período, revelando ausência de alterações organolépticas neste nível.

Os resultados dos testes de migração das embalagens estão apresentados na tabela 2, e satisfazem a legislação vigente.

A análise espectrofotométrica na região do visível e ultravioleta do óleo que ficou em contato com a embalagem não revelou mudança significativa quando comparada ao óleo em contato com o vidro, utilizado como referência, nas mesmas condições. O índice de iodo deste foi de 131,08 e não variou quando comparado ao óleo de referência, não evidenciando, portanto, migração de componentes do verniz para o óleo. As embalagens não conferiram odores ou sabores estranhos nem apresentaram alterações físicas após os testes.

Os resíduos obtidos após evaporação dos solventes água e n-heptano, utilizados nas provas de cessão, não revelaram níveis significativos de cromo e ferro. Os resultados destes metais nas provas com óleo de soja não foram considerados pois apresentaram-se discrepantes. Estas determinações, apesar de não constarem na legislação, foram efetuadas como parâmetro de comparação para a avaliação dos níveis destes metais no produto enlatado.

Os níveis de ferro e cromo nas sardinhas enlatadas foram avaliados ao longo de um ano e encontram-se reunidos na tabela 3. Os resultados referentes à amostra 6 são atípicos e não devem ser considerados (os dados analíticos não indicaram contaminação e a aparência das latas que continham esta amostra não indicou degradação das mesmas). Os resultados não revelam tendência definida de crescimento dos níveis desses metais ao longo do tempo.

TABELA 3

Níveis de cromo e ferro nas sardinhas enlatadas

Amostra número	Cr (mg/kg)	Desvio padrão	Fe (mg/kg)	Desvio padrão
1	0,45	0,09	38,4	1,3
2	0,42	0,02	40,1	2,1
3	0,51	0,01	58,6	2,4
4	0,52	0,05	53,9	11,9
5	0,52	0,04	48,5	5,4
6	1,13	0,17	208,2	13,9
7	0,56	0,03	26,0	1,8

\* Análises efetuadas em triplicata.

## CONCLUSÃO

A embalagem estudada, de acordo com os testes aplicados, demonstrou sua adequação ao produto.

Os níveis de cromo e ferro obtidos na análise das embalagens demonstraram que estes elementos não contaminam o produto.

Os resultados obtidos neste trabalho reforçam dados obtidos por outros autores e comprovam a limitação do uso da reação de Éber para gás sulfídrico.

Os valores de BVT apresentaram-se, desde o início do estudo, superiores ao limite máximo estabelecido pela legislação, entretanto, os exames microbiológicos e organolépticos não demonstraram alterações. Portanto, no caso de sardinhas enlatadas, este parâmetro não fornece, isoladamente, conclusão sobre a qualidade do produto.

Sugere-se estudos adicionais, inclusive em diferentes espécies de pescado, para a reavaliação do limite máximo estabelecido para BVT, bem como estudo de outros parâmetros de qualidade de pescado (TMA, histamina, hipoxantina etc), para sua possível inclusão na legislação brasileira.

RIALA6/760

BACETTI, L.B. et alii - Sardines in edible oil I. Evaluation of official physical-chemical parameters related with the microbiological examination and study of product-packaging compatibility in relation to migrated compounds. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 54(1): 44-50, 1994.

ABSTRACT: Results of physical-chemical and microbiological analysis (according to the Brazilian legislation) of canned sardines (*Sardina pilchardus*) in soybean oil were reported in this study. The compatibility between the packaging (chromated plate coated with epoxy-phenolic varnish) and product in relation to migrated compounds was evaluated. Iron and chromium levels that were found indicated that these elements present in the fish didn't proceed from metallic packaging. Total volatile bases (TVB) were higher than the limit permitted (0,030 g/100g) and Eber reaction for hydrogen sulfide (H<sub>2</sub>S) was inconclusive. These results didn't demonstrate any relation with microbiological analysis whose results were in agreement with the legislation. The Éber reaction and TVB values were not conclusive about the quality of this kind of product. Given the results we will suggest a review of TVB values established by legislation and the necessity of new studies in different fish species about other quality indicator parameters that have been referred to in literature.

DESCRIPTORS: Canned sardine (*Sardina pilchardus*), legislation, physical-chemical and microbiological analysis, packaging, iron and chromium.

#### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. AGGET, J & O'BRIEN, G. - Formation of chromium atoms in air-acetylene flames. Part. I. *Analyst*, v. 106, n. 1261, p.497-513.
2. APHA - Compendium of methods for the microbiological examination of foods. Marvin L. Speck, ed. 1984.
3. ARDITO, E.F.G. & SOLER, R.M. - A embalagem do pescado para o mercado interno e externo. In: Seminário sobre a industrialização de conservas de pescado, Santos, 1988. *Trabalhos apresentados* p. 265-88.
4. BERAQUET, N.J. et al. - Métodos químicos na avaliação da qualidade de sardinha (*Sardinella brasiliensis*) fresca e processada termicamente. *Col. Inst. Tecnol. Alim.*, v. 15, p. 141-70, 1985.
5. BERAQUET, N.J. - Observações sobre padrões de qualidade da sardinha em conserva. *Bol. Inst. Tecnol. Alim.*, v.41, p.43-68, 1975.
6. BRASIL, Leis, Decretos, etc. - Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de produtos de Origem Animal (aprovada pelo Decreto nº 30691, de 29/03/19251255, de 25/06/1962). Brasília, Min. da Agric. 1980, p. 78-85.
7. BRASIL, Leis, Decretos, etc. - Resolução nº 45/77, da Comissão Nacional de Normas e Padrões para Alimentos do Ministério da Saúde. *Diário Oficial*, Brasília, 01/02/1978. Seção I, pt. I, p. 1781-95. Aprova as listas de polímeros, resinas e respectivos aditivos e regulamenta seu emprego na elaboração ou revestimento de embalagens...
8. BRASIL, Leis, Decretos, etc. - Portaria nº 01, de 28 de janeiro de 1987, da Divisão Nacional de Vigilância Sanitária de Alimentos do Ministério da Saúde. *Diário Oficial*, Brasília, 12/02/1987. Seção I, p. 2197. Aprova os padrões microbiológicos para os produtos expostos à venda ou de alguma forma destinados ao consumo.
9. BRASIL, Leis, Decretos, etc. - Resolução nº 20/76, da Comissão Nacional de Normas e Padrões para Alimentos. *Diário Oficial*, Brasília, 25/10/1976. Seção I, pt. I, p. 14181. Fixa para os alimentos infantis, como tais considerados os alimentos para lactantes, pré-escolares e escolares (até 14 anos), os limites de tolerância para contaminantes microbianos constantes dos anexos à presente Resolução.
10. BRASIL, Leis, Decretos, etc. - Resolução nº 35/76, da Comissão Nacional de Normas e Padrões para Alimentos do Ministério da Saúde. *Diário Oficial*, Brasília, 04/03/1977. Seção I, pt. I, p. 2526-8. Dispõe sobre o critério de avaliação da compatibilidade de artigos destinados a entrar em contato direto com os alimentos.
11. BULLARD, F.A. & COLLINS, J. - An improved method to analyse trimethylamine in fish and the interference of ammonia and dimethylamine. *Fishery Bull.*, v. 78, n.2, p.465-73, 1980.
12. FARBER, L. - Freshness tests. In: BORGSTRON, G., *Fish as food*. New York, Academic Press, 1965. v. 4, pt 2, p.65-126.
13. FERREIRA, V. L. P. - Controle de qualidade na indústria de conservas de pescado. In: Seminário sobre a industrialização de conservas de pescado, Campinas, 1980. vol II. Seção 4. p. 1-16.
14. FERREIRA, V. L. P. & BERAQUET, N. J. - Controle

- de qualidade na indústria de pescado em conserva. *Bol. Inst. Tecnol. Alim.*, v. 18, n. 1, p.67-84, 1981.
15. FONTELES FILHO, A.A. & VIEIRA, R.H.S.F. - *Ciência e tecnologia de organismos aquáticos*. St. Johns's, New Foundland, MUN printing, 1989, 4 v.
16. GARCIA, S. et al. - As reações de Éber na carne de frango tratada pelo frio. *Higiene Alimentar*, v. 7, n. 26, p. 36, 1993.
17. GEROMEL, E. J. & FORSTER, R. J. - *Princípios fundamentais em tecnologia de pescados*. São Paulo, Secretaria da Indústria, Comércio, Ciência e Tecnologia. Coordenadoria da Indústria e Comércio, s.d., p. 55-62 (Série Tecnologia Agroindustrial, 11).
18. GEROMEL, E. J. & FORSTER, R. J. - *Princípios fundamentais em tecnologia de pescados*. São Paulo, Secretaria da Indústria, Comércio, Ciência e Tecnologia. Coordenadoria da Indústria e Comércio, s.d., p. 11-31 (Série Tecnologia Agroindustrial, 11).
19. HUGHES, R. B. & JONES, N. R. - Measurement of hypoxanthine concentration in canned herring as an index of raw material, with a comment on flavour relations. *J. Sci Food Agric.*, v. 17, p.434-36, 1986.
20. INSTITUTO ADOLFO LUTZ, São Paulo. - *Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz*, 3ª ed.; São Paulo, 1985, v. 1, p. 245-66 e 274-7.
21. INTERAÇÃO de embalagens metálicas com produtos alimentícios. Campinas, Instituto de Tecnologia de Alimentos, 1989, 91 p.
22. KAI, M. & MORAIS, C. - Vias de deterioração do pescado. In: Seminário sobre controle de qualidade na Indústria de pescado, Santos, 1988. *Trabalhos apresentados*. p. 13-16.
23. LEITÃO, M.F.F. - Microbiologia e deterioração do pescado fresco e refrigerado de origem fluvial ou marinha. In: Seminário sobre controle de qualidade na Indústria de pescado, Santos, 1988. *Trabalhos apresentados*. p. 40-58.
24. LEITÃO, M.F.F. - Deterioração microbiana do pescado e sua importância em Saúde Pública. *Higiene Alimentar*, v.3 (3/4) p. 143-151, 1984.
25. LEITÃO, M.F.F. et al. - Transformações microbiológicas, químicas e organolépticas e sardinhas sobre refrigeração. *Col. do Inst. Tecnol. Alim.*, v. 7, p. 117-137, 1976.
26. MANO, S.B. et al. - Avaliação comparativa de Métodos físico-químicos utilizados no exame de carne de aves (*Gallus domesticus*) resfriadas. *Higiene Alimentar*, v. 7, n. 25, p. 23-25, 1993.
27. MENDES, M.H.M. & LAJOLO, F.M. - Evolução das bases voláteis totais e da trimetilamina em pescados e o seu uso como indicador de qualidade. *Rev. Farm. Bioq. USP*, v. 13, n. 2, p. 303-22, 1975.
28. NORT, E. - Importância do controle físico na qualidade do pescado. In: Seminário sobre controle de qualidade na indústria de pescado, Santos, 1988. *Trabalhos apresentados*. p. 135-44.
29. PRADO FILHO, L. G. - *Conservação de pescado*. In: CAMARÃO, R. et al. *Tecnologia dos produtos agropecuários - alimentos*. São Paulo, Nobel, 1984, cap. 10, p. 165-89.
30. RUITER, A. & WESEMAN, J. M. - The automated determination of volatile bases (trimethylamine, dimethylamine and ammonia) in fish and shrimp. *J. Food Technol.*, v. 11, p. 59-68, 1976.
31. SÃO PAULO, Leis, Decretos, etc. - Decreto nº 12.486 de 20/10/1978. *Diário Oficial*, São Paulo, 21/10/1978. p. 1 (NTA 10). Aprova as normas técnicas especiais relativas a alimentos e bebidas.
32. SILVA JUNIOR, E.A. & PANETTA, J. C. - Deterioração das carnes; eficiência e limitação das provas de gás sulfídrico e amônia. *Higiene Alimentar*, v. 6, n. 21, p. 23-5, 1983.
33. SILVEIRA, N.V.V. et al - Sardinhas inteiras, salgadas e prensadas; condições higiênico-sanitárias, estado de conservação e valor nutritivo. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, v. 46 (1/2), p. 111-16, 1986.
34. SORENSEN, N.K. - Physical and instrumental methods for assessing seafood quality. In: HUSS, H.H. et al., eds. *Quality Assurance in the Fish Industry*, s.l. Elsevier Sci. Publ., 1992.
35. SHAM-SHAD, S.I. et al - Shelf life of shrimp (*Penaeus merguensis*) stored at different temperatures. *J. of Food Sci*, v. 55, n. 5, p. 1201-05, 1990.
36. SUTHERLAND NETTO, V.M.C. & PRADO, I. A. T. - *Avaliação crítica da prova de gás sulfídrico (H<sub>2</sub>S) em pescados enlatados*. In: VI Encontro Nacional de Analistas de Alimentos, Curitiba, 1990. *Resumo dos Trabalhos*. p. 47.
37. TAVARES, M. et al. - Métodos sensoriais, físicos e químicos para análise de pescado. In: Seminário sobre controle de qualidade na indústria de pescado, Santos, 1988. *Trabalhos apresentados*. p. 117-34.
38. UNIFEM. *Processamento de peixe*. New York, UNIFEM, 1989. 94p. Manual de tecnologia do ciclo alimentar, 4.
39. VITALI, A.A. et al. - Otimização do processo de esterilização de sardinha em óleo comestível enlatada. *Bol. Inst. tecnol. Alim.*, v. 23, n. 1, p. 127-140, 1986.
40. WATANABE, K. - Sardinha congelada: alterações durante o armazenamento a - 18°C. *Inst. Ocean.*, v. 3, p. 1-12, 1965.

Recebido para publicação: 04.11.93

## COLESTEROL: MODIFICAÇÕES DA METODOLOGIA OFICIAL DO INSTITUTO ADOLFO LUTZ E SUA QUANTIFICAÇÃO EM MASSAS ALIMENTÍCIAS \*

Deise Aparecida Pinatti MARSIGLIA \*\*  
Maria Lima GARBELOTTI \*\*  
Claudio de FLORA \*\*  
Odair ZENEBO \*\*  
Marcelo Vaz LEONARDO \*\*

RIALA6/761

MARSIGLIA, D.A.P.; GARBELOTTI, M.L.; FLORA, C.; ZENEBO, O. & LEONARDO, M.V. - Colesterol: modificações da metodologia oficial do Instituto Adolfo Lutz e sua quantificação em massas alimentícias. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 54 (1): 51-4, 1994.

**RESUMO:** O teor de colesterol é utilizado pela legislação vigente como parâmetro no controle do número de ovos utilizados na fabricação de massas alimentícias. A modificação proposta no procedimento analítico utilizado no Instituto Adolfo Lutz, apresentou vantagens conduzindo a obtenção de resultados mais reprodutíveis e com maior exatidão. Essas modificações foram com relação à extração do colesterol, bem como na formação do complexo colorido responsável pela absorção medida espectrofotometricamente. A metodologia proposta foi aplicada em amostras de ovos "in natura", gemas liofilizadas e massas alimentícias com ovos, o que permitiu verificar que 44,44% das massas analisadas apresentaram teor de colesterol abaixo do limite mínimo exigido pela legislação em vigor.

**DESCRITORES:** colesterol; determinação de colesterol; ovos e massas alimentícias.

### INTRODUÇÃO

O colesterol é um dos compostos orgânicos mais disseminados no reino animal, como tal faz parte da composição dos ovos. O teor de colesterol é utilizado pela legislação vigente como parâmetro para o controle do número de ovos utilizados na fabricação de massas alimentícias<sup>1, 2 e 3</sup>.

Vários métodos têm sido utilizados para extração e dosagem de colesterol em ovos, gemas e outros alimentos<sup>9</sup>. O Instituto Adolfo Lutz, como Laboratório de Saúde Pública do Estado de São Paulo, adota metodologia espectrofotométrica descrita no seu livro de Normas Analíticas<sup>7</sup>. Este método tem apresentado dificuldades técnicas no que diz respeito à reprodutibilidade dos resultados encontrados.

Com o objetivo de encontrarmos metodologia analítica que permita a obtenção de resultados confiáveis e de execução compatível com as condições dos laboratórios de Saúde Pública, os autores do presente trabalho buscaram modificações no procedimento analítico adotado pelo Instituto Adolfo Lutz.

### MATERIAL E MÉTODOS

#### Material

Farinha de Trigo  
Ovos in natura  
Massas alimentícias  
Gemas liofilizadas

\* Realizado na Seção de Doces e Amiláceos do Instituto Adolfo Lutz, São Paulo, SP.

\*\* Do Instituto Adolfo Lutz.

**Reagentes:**

Clorofórmio P.A.  
Anidrido acético P.A.  
Ácido acético glacial  
Ácido sulfúrico concentrado  
Colesterol P.A.

**Equipamentos:**

Espectrofotômetro \*\*\*  
Extrator de Soxhlet  
Banho-Maria

**Métodos:**

**Preparo da Mistura Reagente:** Misturar 100 mL de ácido acético glacial, 110 ml de anidrido acético e 10 mL de ácido sulfúrico concentrado em frasco ambar com tampa. Conservar em geladeira e usar no período de uma semana.

**Curva Padrão:** Preparar uma solução-mãe utilizando 0,100g de colesterol P.A. dissolvido em clorofórmio e transferido para balão volumétrico de 100 mL. A partir desta, preparar diferentes diluições tomando-se alíquotas de 5, 10, 15, 20, 25 e 30 mL em balões volumétricos de 100mL, completar o volume com clorofórmio. Transferir 5mL de cada uma dessas soluções para um tubo de ensaio envolto com material opaco. Adicionar 5mL da mistura reagente. Tampar o tubo, agitar e levar ao banho-maria à 37°C por 20 minutos. Ler em espectrofotômetro à 625nm. Traçar a curva padrão absorvância x Concentração de colesterol.

**Procedimentos:** Pesar 2g da amostra finamente pulverizada (que passe por um tamis de 20 mesh). Colocar em cartucho de extração. Extrair com clorofórmio em aparelho Soxhlet, durante 20 horas. Retirar o cartucho com a amostra e reduzir o volume do solvente no balão até cerca de 15 mL, destilando o clorofórmio.

Transferir quantitativamente para um balão volumétrico de 50 mL e completar o volume com o mesmo solvente.

Transferir 5 mL do extrato para um tubo de ensaio envolto em material opaco. Adicionar 5mL da mistura-reagente. Tampar o tubo, agitar e levar ao banho-maria à 37°C por 20 minutos. Ler em espectrofotômetro à 625nm. Determinar o teor de colesterol usando a curva padrão previamente estabelecida.

**Teste de recuperação do colesterol:** Para testar a metodologia proposta foi utilizada farinha de trigo

adicionada de colesterol P.A. na concentração de 1%. Foram tomadas 3 porções de 2g da mistura preparada e seguida a metodologia modificada.

**RESULTADOS E DISCUSSÃO**

A curva padrão para a determinação de colesterol segundo a metodologia proposta, encontra-se na figura 1.

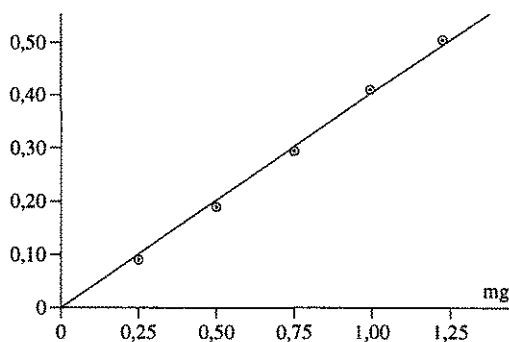


FIGURA 1

ABSORVÂNCIA X CONCENTRAÇÃO

O Teste de recuperação do colesterol adicionado à farinha de trigo apresentou índices de colesterol de 0,99, 1,04 e 0,93 g/100g, indicando uma recuperação média de 99%. A extração contínua em Soxhlet evita as possíveis perdas do processo de recorte das bordas do papel de filtro utilizado no método descrito no livro de Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz<sup>7</sup>. A substituição de proveta graduada por balão volumétrico para diluição do extrato para um volume conhecido, é muito mais adequada e permite maior precisão.

A reação de LIEBERMAN-BUCHARD modificada por SHEFTEL, sofre interferência da luz, temperatura e quantidade de ácido sulfúrico utilizado, além do que o material usado deve estar rigorosamente seco<sup>6</sup>. Assim, a proposta de utilização de tubos de ensaio envoltos em material opaco e o controle da temperatura do banho-maria são fundamentais para se obter um resultado confiável. Quanto à medida do reduzido volume de ácido sulfúrico de 0,2 mL, indicado no método tradicional<sup>7</sup>, torna-se muito mais difícil a sua precisão, uma vez que este ácido concentrado é extremamente viscoso e a permanência de uma pequena quantidade nas paredes da pipeta, pode levar a resultados não reprodutíveis. A utilização de uma mistura-reagente, previamente preparada em proporção definida, revelou ser mais adequada por apresentar resultados mais exatos, provavelmente pela maior polaridade do meio reagente<sup>11</sup>.

\*\*\* MICRONAL Espectrofotômetro B382

A metodologia proposta foi aplicada em ovos "in natura" e em massas alimentícias com ovos, expostos à venda no comércio da cidade de São Paulo e em gemas liofilizadas. Os resultados encontrados estão nas Tabelas 1 e 2.

TABELA 1

Teor de colesterol em Ovos "in natura" e em Gemas liofilizadas

Amostra	Concentração de Colesterol		
	Ovos "in natura" (clara + gema)	Gema liofilizadas	
	g/100 g	g/ovo	g/100 g
A	0,404	0,211	1,463
B	0,425	0,222	1,163
C	0,431	0,225	1,475
Média	0,420	0,219	1,367

TABELA 2

Teor de colesterol em Massas Alimentícias com Ovos

Concentração de Colesterol (g/100 g)	
0,0411	0,0466
0,0419	0,0506
0,0381	0,0660
0,0412	0,0575
0,0587	

O teor médio de colesterol de 0,219 g/ovo, encontrado nas análises dos ovos "in natura", é comparável com os teores registrados na literatura em trabalhos realizados por JIANG et al<sup>8</sup>, BEYER & JENSEN<sup>1</sup>, que obtiveram 195 e 198 mg/ovo respectivamente. Destacamos que estes trabalhos citados utilizaram Cromatografia Líquida de Alta Eficiência

(CLAE), método este de difícil utilização nos Laboratórios de Saúde Pública, em suas atividades rotineiras de controle e fiscalização dos alimentos, em função do seu alto custo.

Utilizando o método colorimétrico de ZLATKIS et al, FERREIRA & CAMPOS<sup>4</sup>, obtiveram em média 1238 mg/100g de gema. Na Tabela de Composição Química dos Alimentos de FRANCO<sup>5</sup>, o valor de colesterol para gema de ovos é de 1500mg/100g. Assim, o teor médio de colesterol em gemas liofilizadas de 1,367 g/100g encontrado pela aplicação do presente método está de acordo com o registrado pela literatura.

Com relação as massas alimentícias com ovos, os resultados encontrados indicam que 44,44% (4 das 9 amostras analisadas), estão em desacordo com a legislação vigente, que exige o teor mínimo de 0,45 g de colesterol por kg, para receber a denominação de "Massa com Ovos".

## CONCLUSÕES

As modificações propostas no presente trabalho, apresentam vantagens, pois conduzem a obtenção de resultados mais reprodutíveis, com maior exatidão e com menor fonte de erro analítico, além da sua praticidade.

De acordo com os resultados encontrados, expressiva parcela das Massas Alimentícias com Ovos, expostas à venda no comércio da cidade de São Paulo, não está sendo preparada com adição de quantidade de ovos exigida pela legislação em vigor.

## AGRADECIMENTOS

Agradecemos ao pesquisador Paulo Tiglea pela colaboração prestada na realização deste trabalho.

RIALA6/761

MARSIGLIA, D.A.P.; GARBELOTTI, M.L.; FLORA, C.; ZENEBON, O. & LEONARDO, M.V. - Cholesterol: modifications in official methodology in the Adolfo Lutz Institute and its quantification in the food paste. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 54(1): 51-4, 1994.

**SUMMARY:** The actual legislation use the cholesterol concentration as the control parameter in the number of eggs for food paste fabrication. The proposed modification in the analytical procedure utilized in the Adolfo Lutz Institute, presented advantages such as better reproduction and more accuracy. These modifications are, the cholesterol extraction, as well as the color complex formation measured in the spectrophotometer. The proposed methodology was applied in samples of "in natura" eggs, dehydrated yolk and food paste with eggs. This fact permitted verify that 44,44% of the paste analysed present cholesterol concentration down of the limit required by the legislation.

**DESCRIPTORS:** Cholesterol; cholesterol determination; eggs and food paste.

#### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. BEYER, R. S. & JENSEN, L. S. Overestimation of the cholesterol content of eggs. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 37: 917- 1989a.
2. BRASIL. Leis, Decretos etc. - Resolução nº 01/76 da Comissão Nacional de Normas e Padrões para Alimentos. *Diário Oficial*, Brasília, 03 jun. 1976. Seção I, Parte I.
3. BRASIL. Leis, Decretos etc. - Resolução nº 12/78 da Comissão Nacional de Normas e Padrões para Alimentos. *Diário Oficial*, Brasília, 24 jul. 1978. Seção I, pt. I, p.11.515. Aprova Normas Técnicas Especiais, do Estado de São Paulo, relativas a alimentos (e bebidas)...
4. FERREIRA, M.O.O. & CAMPOS, E. Efeito do nível de energia da dieta sobre o nível de colesterol da gema. *Arquivos da Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais*, 32 (1):77-1980.
5. FRANCO, G. *Nutrição*. Texto básico e tabela de composição química dos alimentos, 6ª ed. Rio de Janeiro. Atheneu. pg. 181-1982.
6. HIDAL, F.S.T. Colesterol - Da determinação em ovos e produtos que contém ovos. *Revista do Instituto Adolfo Lutz* - out 1946 - vol. VII nº 2 (139-148) - São Paulo.
7. INSTITUTO ADOLFO LUTZ. *Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz: métodos químicos e físicos para análise de alimentos*. 3ª ed. São Paulo, 1985 v.1, p. 57-59.
8. JIANG, Z; FENTON, M. & SIM, J.S. Comparison of four different methods for egg cholesterol determination. *Poultry Science*, 70:1015-1991.
9. NIX, D.F.; WASHBURN, K.W. A rapid technique for extraction of yolk cholesterol. *Poultry Science* 53:1118-1122, 1974.
10. SÃO PAULO. Leis, Decretos etc - Decreto nº 12.486, de 20 de outubro. Aprova normas técnicas especiais relativas a alimentos e bebidas. *Diário Oficial*, São Paulo, p.1, 21 out. 1978 (NTA 49).
11. SISLER, H.H. *Química dos solventes não aquosos*. Trad. Cactano Belliboni. São Paulo. Polígono. pg. 117-120, 1969.

Recebido para publicação: 18.11.93

## ESTUDO MORFOLÓGICO DE ASPIRADOS DE MEDULA ÓSSEA EM PACIENTES COM SÍNDROME DA IMUNODEFICIÊNCIA ADQUIRIDA\*

José Augusto BARRETO \*\*  
Marcos Antonio Gonçalves MUNHOZ \*\*\*

RIALA6/762

BARRETO, J.A. & MUNHOZ, M.A.G. - Estudo morfológico de aspirados de medula óssea em pacientes com Síndrome da Imunodeficiência Adquirida. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 54 (1): 55-63, 1994.

**RESUMO:** Entre junho e novembro de 1992, estudamos 42 aspirados de medula óssea de pacientes com Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (SIDA), grupo IV-C (classificação CDC, 1986), para avaliarmos as alterações morfológicas, qualitativas e quantitativas, decorrentes desta síndrome. Os critérios clínicos para a realização dessas punções foram: febre persistente, anemia, leucopenia, trombocitopenia ou uma combinação dessas anormalidades. Na medula óssea encontramos predomínio de hipocelularidade (71,4%), alterações mielodisplásicas em todos os casos, eosinofilia (19,0%), plasmocitose (45,2%), linfopenia (21,4%) e macrófagos em número aumentado (16,7%). No sangue periférico observamos anemia (81,0%), leucopenia (59,5%), neutropenia (42,9%), linfopenia (88,0%), plaquetopenia (33,3%) e pancitopenia (38,0%). As causas dessas anormalidades são múltiplas: infecções oportunistas, medicamentos mielossupressores, mecanismos imunológicos e ação direta do HIV sobre células progenitoras da medula óssea e células maduras do sangue periférico.

**DESCRITORES:** Medula óssea, Mielo-supressores, SIDA.

### INTRODUÇÃO

Em 1978, SEAMAN et al<sup>56</sup>, descreveram uma transformação gelatinosa na medula óssea de pacientes portadores de desnutrição severa, perda excessiva de peso e anemia.

RISDALL et al<sup>52</sup>, em 1979, observaram na medula óssea de pacientes imunodeprimidos, uma hiperplasia histiocítica com uma "síndrome hemofagocítica" associada à infecção viral ativa.

Em 1981, o Centers for Disease Control (CDC) de Atlanta (EUA), divulgou os 5 primeiros casos de Síndrome de Imunodeficiência Adquirida (SIDA), em homossexuais que apresentavam pneumonia por *Pneumocystis carinii* e/ou sarcoma de Kaposi<sup>6,7</sup>.

Em maio de 1983, BARRÉ-SINOUSSE et al<sup>1</sup>, do Instituto Pasteur de Paris, isolaram de um paciente

com SIDA um novo retrovírus (o atual HIV-1), e consideraram esse microorganismo, como agente causador daquela síndrome.

SPIVAK et al<sup>60</sup>, em dezembro de 1983, foram os primeiros a descreverem um caso de SIDA com pancitopenia periférica e medula óssea hipocelular, com linfócitos atípicos. SPIVAK et al<sup>61</sup>, em 1984, descreveram em medula óssea de pacientes com SIDA, uma infiltração por plasmócitos, linfócitos e macrófagos; estes últimos com fagocitose de eritrócitos, leucócitos e plaquetas.

A partir desta data, outros trabalhos foram publicados, demonstrando cada vez mais que, as alterações hematológicas no sangue periférico e na medula óssea, são frequentes em pacientes com SIDA<sup>3,5,10,20,21,22,30,34,40,46,54,55,56,58,66,73,74</sup>.

O presente trabalho tem como objetivo analisar

\* Realizado no Instituto de Infectologia Emílio Ribas e no Instituto Adolfo Lutz, Laboratório Central.

\*\* Do Instituto de Infectologia Emílio Ribas.

\*\*\* Do Instituto Adolfo Lutz.



as principais características morfológicas, qualitativas e quantitativas, encontradas em aspirados de medula óssea (mielogramas) de pacientes com SIDA, internados no Instituto de Infectologia Emílio Ribas, São Paulo.

## MATERIAIS E MÉTODOS

No período de junho a novembro de 1992, estudamos no Instituto de Infectologia Emílio Ribas e Instituto Adolfo Lutz 42 aspirados de medula óssea de pacientes portadores da Síndrome de Imunodeficiência Adquirida.

Esses pacientes estavam internados no Instituto de Infectologia Emílio Ribas, eram adultos e pertenciam ao Grupo IV C, da classificação CDC (Centers for Disease Control) de 1986, para a infecção pelo HIV<sup>5</sup>. Esses pacientes apresentavam infecções secundárias oportunistas e/ou pelo menos uma indicação da existência de um transtorno da imunidade celular.

Os critérios clínicos para a realização dessas punções foram: febre persistente (temperatura > 37,8°C) sem foco infeccioso aparente, sangue periférico com hemoglobina < 10 g/dL, leucócitos < 4.000/mm<sup>3</sup>, plaquetas < 100.000/mm<sup>3</sup> ou a combinação dessas anormalidades.

Esses pacientes, em sua maioria, no momento da punção, faziam uso de algum tipo de medicamento.

As punções aspirativas de medula óssea foram colhidas de manúbrio, com agulhas 30 x 10 com mandril e seringas descartáveis de 20ml, no mesmo dia que os hemogramas foram realizados.

Os esfregaços de medula óssea foram corados com corante panóptico de Leishman e examinados em microscópio óptico comum, com contagem e análise morfológica de 500 células, para a obtenção do mielograma.

## RESULTADOS

Na ocasião da coleta da medula óssea observamos pacientes com temperatura acima de 37,8°C, com hepatomegalia, esplenomegalia, hepatoesplenomegalia, fazendo uso de um ou mais tipos de medicamentos (antibacterianos, antifúngicos, antiviróticos etc) anemia, leucopenia, neutropenia, linfopenia, plaquetopenia e pancitopenia. Em todos os pacientes encontramos presentes pelo menos duas anormalidades acima citadas. Na tabela 1, apresentamos essas anormalidades em relação ao número de pacientes estudados.

Os achados morfológicos, qualitativos e quantita-

TABELA 1

Anormalidades observadas antes da coleta da medula óssea (n = 42 pacientes)

Anormalidades	Número de pacientes	%
Temperatura > 37,8°C	32	76,2
Hepatomegalia	12	28,6
Esplenomegalia	04	9,5
Hepatoesplenomegalia	03	7,1
Fazendo uso de medicamentos	35	83,3
Sangue periférico:		
Pancitopenia	16	38,0
Anemia (Hb < 10,0 g/dL)	34	81,0
Leucopenia (< 4.000/mm <sup>3</sup> )	25	59,5
Neutropenia (< 2.000/mm <sup>3</sup> )	18	42,9
Linfopenia (< 1.000/mm <sup>3</sup> )	37	88,0
Plaquetopenia (< 100.000/mm <sup>3</sup> )	14	33,3
Duas ou mais anormalidades presentes	42	100,0

Hb = hemoglobina

tivos, dos aspirados de medula óssea encontram-se na tabela 2.

A relação G/E (Granulócitos/Eritoblastos) média foi de 4,2/1,0, e as variações mínima e máxima desta relação foram 0,9/1,0 e 19,0/1,0, respectivamente.

A eritropoese frequentemente foi mista, composta por elementos normoeritoblásticos, macroeritoblásticos e microeritoblásticos.

As alterações mielodisplásicas foram um achado frequente. Todas as amostras apresentaram displasia em mais de uma série. A displasia mais frequentemente observada foi da série granulocítica. A disgranulopose foi caracterizada pela perda do sincronismo de maturação núcleo/citoplasmático, multinucleação, hipogranulação citoplasmática, elementos pelgeróides, megaloblastóides e células monocitóides.

A diseritropoese foi caracterizada pela perda do sincronismo de maturação núcleo/citoplasmático, multinucleação, irregularidades nucleares, formação de pontes cromatínicas internucleares e elementos megaloblastóides. A dismegacariopose foi caracterizada por núcleos picnóticos, hipolobulação ou hiperlobulação nuclear.

Na tabela 3, apresentamos as médias aritméticas e as variações mínimas e máximas dos percentuais das principais células encontradas nas medulas ósseas estudadas.

Na tabela 4, apresentamos as principais séries medulares e suas celularidades, em relação à valores hematológicos do sangue periférico.

TABELA 2

Médula óssea: principais achados morfológicos qualitativos e quantitativos (n = 42 pacientes)

Achados medulares	Número de pacientes	%
<b>Celularidade total:</b>		
- Normocelular	10	23,8
- Hipercelular	2	4,8
- Hipocelular	30	71,4
<b>Série Granulocítica:</b>		
- Normocelular	13	30,9
- Hipercelular	17	40,5
- Hipocelular	12	28,6
- Parada de maturação em promielócitos / mielócitos	10	23,8
- Assincronismo de maturação núcleo / citoplasmático	37	88,0
- Hipersegmentação de neutrófilos	5	11,9
- Microvacuolização citoplasmática	7	16,7
- Hipergranulações citoplasmáticas	8	19,0
<b>Série Vermelha:</b>		
- Normocelular	14	33,3
- Hipercelular	12	28,6
- Hipocelular	16	38,1
- Parada de maturação em eritroblastos basófilos	3	7,1
- Assincronismo de maturação núcleo / citoplasmático	4	9,5
- Eritropoese normoeritroblástica	39	92,8
- Eritropoese microeritroblástica	14	33,3
- Eritropoese macroeritroblástica	40	95,2
- Pontilhado basófilo	10	23,8
- Polinucleação	7	16,7
- Corpúsculo de Howell-Jolly	6	14,3
<b>Série Megacariocítica:</b>		
- Normocelular	8	19,0
- Hipocelular	34	81,0
- Normoplaquetogênica	28	66,7
- Hipoplaquetogênica	14	33,3
- Hiperlobulação nuclear	5	11,9
<b>Alterações Mielodisplásicas:</b>		
- disgranulopoese	37	88,0
- diseritropoese	8	19,0
- dismegacariopoese	6	14,3
- displasia em mais de uma série	42	100,0
Eosinofilia (> 5,5%)	8	19,0
Plasmocitose (> 3,5%)	19	45,2
Linfopenia (< 5,0%)	9	21,4
Linfocitose (> 17,0%)	3	7,1
Macrófagos em número aumentado	7	16,7
Macrófagos com eritrofagocitose	3	7,1
Macrófagos com leucofagocitose	2	4,8

TABELA 3

Médula óssea: médias aritméticas e variações mínimas e máximas dos percentuais das principais células encontradas (n = 42 pacientes)

	Médias aritméticas (%)	Variação (%)
Hemocitoblastos	0,04	0 a 0,4
Mieloblastos	2,6	0,4 a 4,8
Promielócitos	5,9	1,0 a 28,4
Mielócitos	6,3	1,0 a 12,4
Metamielócitos	7,4	2,0 a 19,8
Bastonetes	11,6	1,0 a 24,4
Segmentados	23,3	3,0 a 54,6
Eosinófilos	3,4	0,2 a 8,8
Basófilos	0,4	0,0 a 1,2
Linfócitos	8,2	2,0 a 27,6
Monócitos	1,0	0,2 a 3,2
Plasmócitos	3,5	0,2 a 9,0
Proeritroblastos	1,3	0,0 a 4,6
Eritroblastos basófilos	3,9	0,6 a 11,8
Eritroblastos policromáticos	13,9	2,2 a 51,2
Eritroblastos ortocromáticos	4,7	1,0 a 15,2
Megacariócitos	0,23	0,0 a 0,8
Mitoses na Série Vermelha	0,1	0,0 a 0,6
Mitoses na Série Granulocítica	0,13	0,0 a 0,6
Macrófagos	0,3	0,0 a 1,6

## DISCUSSÃO

Na maioria dos pacientes com SIDA ocorrem alterações da hematopoese e citopenias no sangue periférico. Os mecanismos responsáveis por essas alterações não são bem conhecidos e podem atuar tanto nas células precursoras da medula óssea, quanto nas células maduras do sangue periférico.

No sangue periférico é descrito anemia, leucopenia, neutropenia, linfopenia, plaquetopenia e pancitopenia<sup>5,10,21,22,39,40,42,46,53,58,61,66,68,73,74</sup>.

Na medula óssea podem ser encontradas alterações em todas as séries, possivelmente secundárias à replicação do HIV neste local<sup>12,16,18,33,41,63,64</sup>, infecções oportunistas<sup>2,15,27,28,29,31,32,35,38,45,48,50,59,60,70,72</sup>, mecanismos imunes<sup>12,62,67</sup> e/ou ao uso de medicamentos potencialmente mielo-supressores<sup>17,21,22,26,34,46,47,51,76</sup>.

Todos os pacientes estudados apresentaram alterações medulares, qualitativas e quantitativas.

A relação Granulócitos/Eritroblastos (G/E) média foi de 4,2/1,0, ficando próxima aos valores da nor-

TABELA 4

Médula óssea e sangue periférico: correlação entre série e celularidade medular, com valores hematológicos do sangue periférico (n = 42 pacientes)

Médula óssea		Sangue periférico	
Série	Celularidade	Valores hematológicos nº pacientes (%)	
Neutrófilos			
		> 2.000/mm <sup>3</sup>	< 2.000/mm <sup>3</sup>
Gran	normocelular	6 (14,3%)	3 (7,1%)
	hipocelular	8 (19,0%)	7 (16,7%)
	hipercelular	12 (28,6%)	6 (14,3%)
Hemoglobina			
		> 10,0 g/dL	< 10,0 g/dL
Verm	normocelular	2 (4,8%)	7 (16,7%)
	hipocelular	2 (4,8%)	16 (38,1%)
	hipercelular	3 (7,1%)	12 (28,5%)
Plaquetas			
		> 100.000/mm <sup>3</sup>	< 100.000/mm <sup>3</sup>
Mega	normocelular	6 (14,3%)	1 (2,4%)
	hipocelular	20 (47,6%)	15 (35,7%)
	hipercelular	0 (0,0%)	0 (0,0%)

Gran: Granulocítica, Verm: Vermelha, Mega: Megacariocítica.

malidade (2/1 a 4/1), entretanto, a hipercelularidade granulocítica observada em alguns casos elevou esta relação à valores muito altos, como por exemplo 19/1. Uma possível explicação para esta relação G/E exacerbada seria um mecanismo medular compensatório à neutropenia, frequentemente encontrada nesses doentes. Outros autores também encontraram relações G/E aumentadas em pacientes com SIDA<sup>5,11,21,56</sup>.

Na literatura, a hipocelularidade medular em pacientes com SIDA varia de zero a 40%<sup>5,21,44,56,58,62,66,73</sup>.

Encontramos 71,4% de aspirados medulares hipocelulares. KARCHER & FROST<sup>34</sup>, estudando medula óssea de pacientes dos grupos II a IV (SIDA), encontraram 13% de hipocelularidade. Outros estudos também mostraram divergências na celularidade medular<sup>5,20,25,44,56,58,62,66,73</sup>. Isto decorreu, provavelmente, do fato de que esses trabalhos terem sido realizados com pacientes em diferentes fases da infecção pelo HIV e os materiais de medula óssea obtidos através de diferentes formas de coleta (biópsia, aspirado e "imprint").

As alterações mielodisplásicas são seguramente fatores importantes para o aparecimento das citopenias no sangue periférico. A etiologia dessas alterações em pacientes com SIDA é desconhecida, parecendo ser resultado de uma hematopoese ineficaz. SCHNEIDER & PICKER<sup>56</sup>, foram os primeiros a descreverem alterações displásicas nas células da medula óssea de pacientes com SIDA. Outros autores também descreveram alterações mielodisplásicas em pacientes com SIDA<sup>5,11,13,25,34,66,73</sup>.

Nossos pacientes apresentavam condições clínicas favoráveis para desenvolverem alterações mielodisplásicas: infecção pelo HIV, infecções oportunistas (tuberculose, micoses profundas, infecções bacterianas e virais) e uso de medicamentos potencialmente mielo-supressores (antibacterianos, antifúngicos e antivirais).

Todas as medulas ósseas estudadas apresentaram algum grau de displasia. Na literatura, a incidência de mielodisplasia em pacientes com SIDA é de 50 a 100%<sup>11,22,34,56,74</sup>. Esta variação, provavelmente, é decorrente da fase clínica em que a doença é estudada, da terapêutica em uso e dos critérios estabelecidos para se caracterizar mielodisplasia.

Os critérios morfológicos adotados por nós para caracterizarmos alterações mielodisplásicas foram os do Grupo Cooperativo FAB (The French-American-British Co-operative Group)<sup>4</sup>.

O HIV tem a capacidade de infectar vários tipos de células, principalmente linfócitos T e B, promielócitos, eosinófilos, megacariócitos/plaquetas e monócitos/macrófagos<sup>16,18,24,75</sup>. As células progenitoras da medula óssea de pacientes com SIDA, aparentemente podem ser afetadas pelo HIV<sup>12,18,25,33,37,41,63,64</sup>. DONAHUE et al<sup>12</sup>, acreditam que pelo menos uma pequena população de células progenitoras sejam infectadas pelo HIV, contribuindo para a presença de citopenias.

A incidência de leucopenia em pacientes com SIDA varia de 57 a 76%, e em geral é por granulocitopenia, linfopenia, ou ambas<sup>5,21</sup>. A neutropenia no sangue periférico pode ser decorrente da ação do HIV<sup>12,18,25,33,37,41,63,64</sup> ou de medicamentos mielo-supressores<sup>16,21,22,26,34,46,47,51</sup> sobre células progenitoras, promielócitos (parada de maturação em promielócitos/mielócitos), do assincronismo de maturação núcleo/citoplasmático (bloqueio ou deficiência de folato ou Vitamina B12)<sup>22,33,73</sup> e por anticorpos antineutrófilos<sup>42,67</sup> que atuam sobre as células precursoras da medula óssea e células maduras do sangue periférico. Encontramos no sangue periférico, 59,5% de pacientes com leucopenia, 42,9% com neutropenia e 88,0% com linfopenia. GANSER<sup>22</sup> encontrou leucopenia em 35% dos pacientes com SIDA, e acredita que a patogênese das citopenias não pode ser atribuída a um só mecanismo, pois é

variada e controversa. LEIDERMAN et al<sup>36</sup>, detectaram "in vitro", em cultura de medula óssea de pacientes com SIDA, uma glicoproteína inibidora da granulopoese. DONAHUE et al<sup>12</sup> e MOLINA et al<sup>41</sup> encontraram em culturas de medula óssea de pacientes com SIDA, uma resposta normal das células progenitoras aos hormônios hematopoiéticos.

A incidência de anemia em pacientes com SIDA varia de 70 a 95%<sup>21,73</sup>. A anemia pode ser causada por: ação do HIV<sup>12,18,25,33,37,41,63,64</sup> ou de medicamentos mielo-supressores<sup>16,21,22,26,34,46,47,51</sup> sobre células progenitoras, eritropoese ineficaz (bloqueio ou deficiência de folato, vitamina B12 e eritropoetina) que tornaria as células progenitoras mais suscetíveis às agressões<sup>22,33,73</sup>, hemólise causada por anticorpos<sup>73,74</sup>, mecanismo de anemia de doença crônica<sup>5,21,34,40,66</sup>, associação com infecção por micobactérias atípicas<sup>2,23</sup> e eventualmente por *Haemobartonellae*, microorganismos oportunistas que parasitam eritrócitos de pacientes com SIDA<sup>14</sup>.

Encontramos anemia em 81% dos casos. ZON et al<sup>73</sup>, encontraram anemia em cerca de 70% dos pacientes com SIDA estudados e detectaram anticorpos antieritrocitários (Coombs direto positivo) e anticorpos séricos (Coombs indireto positivo), respectivamente, em 21% e 16% dos pacientes com HIV que tinham recebido transfusões.

A presença de anticorpos antiplaquetas é uma causa importante de trombocitopenia observada em pacientes com SIDA<sup>42,49,65,67,69,71,73,74</sup>. Segundo ZON et al<sup>73</sup>, a trombocitopenia ocorre em cerca de 45% dos pacientes com SIDA e seria decorrente de uma destruição imune das plaquetas circulantes. A presença do HIV em megacariócitos e plaquetas<sup>19,33,41,75</sup> poderia também explicar a trombocitopenia. Encontramos 33,3% dos pacientes com trombocitopenia e na medula óssea a hipocelularidade da série megacariocítica foi observada em 81% dos casos.

Outros achados medulares por nós observados, como: eosinofilia, plasmocitose, linfocitose, aumento do número de macrófagos, eritrofagocitose e leucofagocitose, coincidem com a maioria dos trabalhos realizados<sup>5,9,20,21,22,34,44,58,62,66,73,74</sup> e mostram que a

medula óssea é um órgão reacional, frente ao quadro infeccioso instalado.

FRONTIERA & MYERS<sup>21</sup> e COSTELO<sup>10</sup>, observaram em pacientes com SIDA a presença de citopenias periféricas em contraste com medulas ósseas hiperplásicas. Em vários pacientes (tabela 4), não conseguimos correlacionar os achados do sangue periférico com os da medula óssea: em 9 pacientes (21,4%) com neutropenia no sangue periférico, a medula óssea apresentava série granulocítica normocelular ou hiperplásica, com maturação normal; em 19 pacientes (45,2%) com hemoglobina abaixo de 10 g/dL, a série vermelha medular era normocelular ou hiperplásica, com maturação normal e, em 20 pacientes (47,6%) com número normal de plaquetas, encontramos na medula óssea, hipocelularidade megacariocítica.

É possível que a discrepância entre medula óssea e sangue periférico tenha múltiplas causas, como por exemplo a esplenomegalia, hepatomegalia, hepatoesplenomegalia, mecanismos imunes e mecanismos medulares compensatórios.

## CONCLUSÕES

Nosso estudo demonstra que todos os pacientes com SIDA, grupo IV C, apresentaram medula óssea com alterações morfológicas, qualitativas e quantitativas.

A Hipocelularidade medular foi um achado predominante. As alterações mielodisplásicas foram encontradas em todos os casos, comprometendo mais de uma série medular. Esses achados, provavelmente, foram decorrentes de múltiplas causas: infecção pelo HIV, ação de medicamentos mielo-supressores, mecanismos imunes e infecções oportunistas associadas.

A medula óssea é um órgão alvo na Síndrome da Imunodeficiência Adquirida.

Futuros trabalhos poderão melhor elucidar as alterações medulares encontradas e os mecanismos fisiopatológicos envolvidos nesta síndrome.

RIALA6/762

BARRETO, J.A. & MUNHOZ, M.A.G. - Morphological study of bone marrow aspirates in patients with AIDS. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 54(1): 55-63, 1995.

**ABSTRACT:** From June to November 1992, we have studied 42 bone marrow aspirates from patients with AIDS, group IV-C (CDC classification, 1986) to assess the morphological, qualitative and quantitative, alterations due to this syndrome. The clinical criteria for the realization of these punctures were: persistent fever, anemia, leukopenia, thrombocytopenia or a combination of these abnormalities. In bone marrow aspirates we found hypocellularity predominance (71,4%), myelodysplastic alterations in all cases, as well as eosinophilia (19,0%), plasmacytosis (45,2%), lymphopenia (21,4%) and an increased number of macrophages (16,7%). In the peripheral blood we found anemia (81,0%), leukopenia (59,5%), neutropenia (42,9%), lymphopenia (88,0%), thrombocytopenia (33,3%) and pancytopenia (38,0%). The causes of these abnormalities are multiple: opportunistic infections, drug therapy, immunological mechanisms and the direct action of HIV on hemopoietic progenitor cells of the bone marrow and peripheral blood mature cells.

**DESCRIPTORS:** Bone marrow, AIDS.

#### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. BARRÉ-SINOUSSE, F.; CHERMANN, J.C.; REY, F.; NUGEYRE, M.T.; CHAMARET, S.; GRUEST, J.; DAUGUET, C.; AXLER-BLIN, C.; VÉZINET-BRUN, F.; ROUZIOUX, C.; ROZENBAUM, W & MONTAGNIER, L. - Isolation of a T-lymphotropic retrovirus from a patient at risk for acquired immune deficiency syndrome (AIDS). *Science*. 220:868-871, 1983.
2. BARRETO, J.A.; PALACI, M.; FERRAZOLI, L.; MARTINS, M.C.; SULEIMAN, J.; LORENÇO, R.; FERREIRA Jr, O.C.F.; RILEY, L.W.; JOHNSON Jr, W.D. & GALVÃO, P.A. - Isolation of *Mycobacterium avium* complex from bone marrow aspirates of AIDS patients in Brazil. *J. Infect. Dis.* 168:777-779, 1993.
3. BARRETO NETO, M.; VILAR, E.A.G.; ANDRADE, L.M.B. SILVA, R.C.L.G. & NEVES, M.I.K.P.B. - Padrão lesional da medula óssea na imunodeficiência adquirida (AIDS). *Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo*. 30(4):253-258, 1988.
4. BENNETT, J.M.; CATOVSKY, D.; DANIEL, M.T.; FLANDRIN, G; GALTON, D.A.G.; GRALNICK, H.R. & SULTAN, C. - Proposals for the classification of the myelodysplastic syndromes. *Br. J. Haematol.* 51:189-199, 1982.
5. CASTELLA, A.; CROXSON, T.S.; MILDVAN, D.; WITT, D.H. & ZALUSKY, R. - The bone marrow in AIDS. A histologic, hematologic, and microbiologic study. *Am.J.Clin.Pathol.* 84:425-432, 1985.
6. CENTERS FOR DISEASE CONTROL. *Pneumocystis pneumonia*. *M.M.W.R.* 30(21):250-252, 1981.
7. CENTERS FOR DISEASE CONTROL. Kaposi's sarcoma and *Pneumocystis pneumonia* among homosexual men. *M.M.W.R.* 30(25):305-308, 1981.
8. CENTERS FOR DISEASE CONTROL. Classification system for human T-lymphotropic virus type III/lymphadenopathy-associated virus infections. *Ann. Intern. Med.* 105:234-237, 1986.
9. COHEN, R.J.; SAMOSZUK, M.K.; BUSCH, D. & LAGIOS, M. - Occult infections with *M.intracellulare* in bone-marrow biopsy specimens from patients with AIDS. *N. Engl.J.Med.* 38:1475-1476, 1983.
10. COSTELLO, C. - Haematological abnormalities in human immunodeficiency virus (HIV) disease. *J. Clin. Pathol.* 41:711-715, 1988.
11. DELACRÉTAZ, F.; PEREY, L.; SCHMIDT, P.M.; CHAVE, J.P. & COSTA, J. - Histopathology of bone marrow in human immunodeficiency virus infection. *Virchows Arch. A* 411:543-551, 1987.
12. DONAHUE, R.E.; JOHNSON, M.M.; ZON, L.I.; CLARK, S.C. & GROOPMAN, J.E. - Suppression of in vitro haematopoiesis following human immunodeficiency virus infection. *Nature*. 326:200-203, 1987.
13. D'ONOFRIO, G.; MANCINI, S.; TAMBURRINI, E.; MANGO, G. & ORTONA, L. - Giant neutrophils with increased peroxidase activity. Another evidence of dysgranulopoiesis in AIDS. *Am. J. Clin. Pathol.* 87:584-591, 1987.
14. DUARTE, M.I.S.; OLIVEIRA, M.S. SHIKANAI-YASUDA, M.A. MARIANO, O.N.; TAKAKURA, C.F.H.; PAGLIARI, C. & CORBETT, C.E.P. - *Haemobartonella*-like microorganism infection in AIDS patients: ultrastructural pathology (letter). *J. Infect. Dis.* 165:976-977, 1992.
15. FARHI, D.C.; MASON, U.G. & HORSBURGH, C.R. - The bone marrow in disseminated *Mycobacterium avium-intracellulare* infection. *Am. J. Clin. Pathol.* 83:463-468, 1985.

16. FERRERAS FERRERAS, B. - Neurosida (I): aspectos generales. *Mapfre Med.* 3:249-264, 1992.
17. FERRERAS FERRERAS, B. - Neurosida (II): Manifestaciones neurológicas del SIDA. *Mapfre Med.* 4:29-47, 1993.
18. FOLKS, T.M.; KESSLER, S.W.; ORENSTEIN, J.M.; JUSTEMENT, J.S.; JAFFE, E.S. & FAUCI, A.S. - Infection and replication of HIV-1 in purified progenitor cells of normal human bone marrow. *Science.* 242:919-922, 1988.
19. FOLKS, T.M. - Human immunodeficiency virus in bone marrow: still more questions than answers. *Blood.* 77(8):1625-1626, 1991.
20. FRANCO, C.M.; HENDRIX, L.F. & LOKEY, J.L. - Bone marrow abnormalities in the acquired immunodeficiency syndrome (letter). *Ann. Intern. Med.* 101:275-276, 1984.
21. FRONTIERA, M. & MYERS, A.M. - Peripheral blood and bone marrow abnormalities in the acquired immunodeficiency syndrome. *West. J. Med.* 147:157-160, 1987.
22. GANSER, A. - Abnormalities of hematopoiesis in the acquired immunodeficiency syndrome. *Blut.* 56:49-53, 1988.
23. GARDENER, T.D.; FLANAGAN, P.; DRYDEN, M.S.; COSTELLO, C.; SHANSON, D.C. & GAZZARD, B.G. - Disseminated *Mycobacterium avium* - intracellulare infection and red cell hypoplasia in patients with acquired immunodeficiency syndrome. *J. Infect.* 16:135-140, 1988.
24. GARTNER, S.; MARKOVITS, P.; MARKOVITZ, D.M.; KAPLAN, M.H.; GALLO, R.C. & POPOVIC, M. - The role of mononuclear phagocytes in HTLV-III/LAV infection SCIENCE. 233:215-218, 1986.
25. GELLER, S.A.; MULLER, R.; GREENBERG, M.L. & SIEGAL, F.P. - Acquired immunodeficiency syndrome. Distinctive features of bone marrow biopsies. *Arch. Pathol. Lab. Med.* 109:138-141, 1985.
26. GILL, P.S.; RARICK, M.; BRYNES, R.K.; CAUSEY, D.; LOUREIRO, C. & LEVINE, A.M. - Azidothymidine associated with bone marrow failure in the acquired immunodeficiency syndrome (AIDS). *Ann. Intern. Med.* 107:502-505, 1987.
27. HAWKINS, C.C.; GOLD, J.W.M.; WHIMBEY, E.; KIEHN, T.E. BRANNON, P.; CAMMARATA, R.; BROWN, A.E. & ARMSTRONG, D. - *Mycobacterium avium* complex infections in patients with the acquired immunodeficiency syndrome. *Ann. Intern. Med.* 105:184-188, 1986.
28. HEYMAN, M.R. & RASMUSSEN, P. - *Pneumocystis carinii* involvement of the bone marrow in acquired immunodeficiency syndrome. *Am. J. Clin. Pathol.* 87(6):780-783, 1987.
29. HIRASUNA, J.D. - Disseminated *Mycobacterium kansasii* infection in the acquired immunodeficiency syndrome (AIDS) (letter). *Ann. Intern. Med.* 107(5):784, 1987.
30. HROMAS, R.A. & MURRAY, J.L. - Bone marrow in the acquired immunodeficiency syndrome (letter). *Ann. Intern. Med.* 101(6):877, 1984.
31. JAGADHA, V.; ANDRAVOLU, R.H. & HUANG, C.T. - Granulomatous inflammation in the acquired immunodeficiency syndrome. *Am. J. Clin. Pathol.* 84:598-602, 1985.
32. JOHNSON, P.C.; KHARDORI, N.; NAJJAR, A.F.; BUTT, F.; MANSELL, P.W.A. & SAROSI, G.A. - Progressive disseminated histoplasmosis in patients with acquired immunodeficiency syndrome. *Am. J. Med.* 85:152-158, 1988.
33. KACZMARSKI, R.S.; DAVISON, F.; BLAIR, E.; SUTHERLAND, S.; MOXHAM, J.; McMANUS, T. & MUFTI, G.J. - Detection of HIV in haemopoietic progenitors. *Br. J. Haematol.* 82:764-769, 1992.
34. KARCHER, D.S. & FROST, A.R. - The boney marrow in human immunodeficiency virus (HIV) - Related disease. Morphology and clinical correlations. *Am. J. Clin. Pathol.* 95:63-71, 1991.
35. KOVACS, J.A.; KOVACS, A.A.; POLIS, M.; WRIGHT, W.C.; GILL, V.J.; TUAZON, C.U.; GELMANN, E.P.; CLIFFORD LANE, H.; LONGFIELD, R.; OVERTURF, G.; MACHER, A.M.; FAUCI, A.S.; PARRILLO, J.E.; BENNETT, J.E. & MASUR, H. Cryptococcosis in the acquired immunodeficiency syndrome. *Ann. Intern. Med.* 103:533-538, 1985.
36. LEIDERMAN, I.Z.; GREENBERG, M.L.; ADELBERG, B.R. & SIEGAL, F.P. - A glycoprotein inhibitor of in vitro granulopoiesis associated with AIDS. *Blood.* 70(5): 1267-1272, 1987.
37. LUNARDI-ISKANDAR, Y.; GEORGOULIAS, V.; BERTOLI, A.M.; AUGERY-BOURGET, Y.; AMMAR, A.; VITTECOQ, D.; ROSENBAUM, W.; MEYER, P. & JASMIN, C. - Impaired in vitro proliferation of hemopoietic precursors in HIV-1 - infected subjects. *Leukemia Res.* 13(7):573-581, 1989.
38. MANDELL, W.; GOLDBERG, D.M. & NEU, H.C. - Histoplasmosis in patients with the acquired immune deficiency syndrome. *Am. J. Med.* 81:974-978, 1986.
39. MARGARITELLI, C.E.; TIMERMAN, A.; HUTZLER, R.U. CAPITANI, C.M.; BONASSER FILHO, F. AYUB, M.A. & RIBEIRO FILHO, N. - Manifestações hematológicas na síndrome da imunodeficiência adquirida. XXI Congresso da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical. São Paulo, 3 a 8 de fevereiro de 1985. Abstract 190, p.164-165.
40. MIR, N.; COSTELLO, C.; LUCKIT, J. & LINDLEY, R. - HIV - disease and bone marrow changes: a study of 60 cases. *Eur. J. Haematol.* 42:339-343, 1989.

41. MOLINA, J.M.; SCADDEN, D.T.; SAKAGUCHI, M.; FULLER, M.; WOON, A. & GROOPMAN, J.E. - Lack of evidence for infection of or effect on growth of hematopoietic progenitor cells after in vivo or in vitro exposure to human immunodeficiency virus. *Blood*. 76(12):2476-2482, 1990.
42. MURPHY, M.F.; METCALFE, P.; WATERS, A.H.; CARNE, C.A.; WELLER, I.V.D.; LINCH, D.C. & SMITH, A. - Incidence and mechanism of neutropenia and thrombocytopenia in patients with human immunodeficiency virus infection. *Br. J. Haematol.* 66:337-340, 1987.
43. OLIVEIRA, J.S.R.; PASTERNAK, J.; FRANCO, M.T.F. & YAMAMOTO, M. - Histopatologia da medula óssea na síndrome de imunodeficiência adquirida. *Rev. Paul. Med.* 105(1):4-11, 1987.
44. OSBORNE, B.M.; GUARDA, L.A. & BUTLER, J.J. - Bone marrow biopsies in patients with the acquired immunodeficiency syndrome. *Hum. Pathol.* 15:1048-1053, 1984.
45. PASTERNAK, J. & BOLIVAR, R. - Histoplasmosis in acquired immunodeficiency syndrome (AIDS): diagnosis by bone marrow examination (letter). *Arch. Intern. Med.* 143:2024, 1983.
46. PERKOCHA, L.A. & RODGERS, G.M. - Hematologic aspects of human immunodeficiency virus infection: laboratory and clinical considerations. *Am. J. Hematol.* 29:94-105, 1988.
47. POLLACK, S. & WEAVER, J. - Azidothymidine (AZT) - induced siderosis. *Am. J. Hematol.* 43:230-233, 1993.
48. POROPATICH, C.O.; LABRIOLA, A.M. & TU-AZON, C.U. - Acid-fast smear and culture of respiratory secretions, bone marrow, and stools as predictors of disseminated. *Mycobacterium avium* complex infection. *J. Clin. Microbiol.* 25(5):929-930, 1987.
49. RATNER, L. - Human immunodeficiency virus-associated autoimmune thrombocytopenic purpura: a review. *Am. J. Med.* 86:194-198, 1989.
50. REICHERT, C.M.; O' LEARY, T.J.; LEVENS, D.L.; SIMRELL, C.R. & MACHER, A.M. - Autopsy pathology in the acquired immunodeficiency syndrome. *Am. J. Pathol.* 112:357-382, 1983.
51. RICHMAN, D.D.; FISCHI, M.A.; GRIECO, M.H.; GOTTLIEB, M.S.; VOLBERDING, P.A.; LASKIN, O.L.; LEEDOM, J.M. GROOPMAN, J.E.; MILDVAN, D.; HIRSCH, M.S.; JACKSON, G.G.; DURACK, D.T.; PHIL, D.; & NUSINOFF-LEHRMAN, S. - The toxicity of azidothymidine (AZT) in the treatment of patients with AIDS and AIDS-related complex. *N. Engl. J. Med.* 317:192-197, 1987.
52. RISDALL, R.J.; McKENNA, R.W.; NESBIT, M.E.; KRIVIT, W.; BALFOUR, H.H.; SIMMONS, R.L. & BRUNNING, R.D. - Virus-associated hemophagocytic syndrome. A benign histiocytic proliferation distinct from malignant histiocytosis. *Cancer.* 44:993-1002, 1979.
53. RODRIGUES, B.T.; SANTOS, C.A.V.; VASCONCELOS, D.S.; GONÇALVES, A.J.R.; VIEIRA, A.R.M.; CARVALHO, F.G. & MATTOS, H.J. - SIDA. Revisão de oito casos. *Arq. Bras. Med.* 59(6):407-416, 1985.
54. SABA, H.I. - Hematological complications of AIDS. *Hematol. Rev.* 7:213-217, 1993.
55. SCADDEN, D.T.; ZON, L.I. & GROOPMAN, J.E. - Pathophysiology and management of HIV - associated hematologic disorders. *Blood.* 74(5):1455-1463, 1989.
56. SCHNEIDER, D.R. & PICKER, L.J. - Myelodysplasia in the acquired immune deficiency syndrome. *Am. J. Clin. Pathol.* 84:144-152, 1985.
57. SEAMAN, J.P.; KJELDSBERG, C.R. & LINKER, A. - Gelatinous transformation of the bone marrow. *Hum. Pathol.* 9(6):685-692, 1978.
58. SHENOY, C.M. & LIN, J.H. - Bone marrow findings in acquired immunodeficiency syndrome (AIDS). *Am. J. Med. Sci.* 292(6):372-375, 1986.
59. SOHN, C.C.; SCHROFF, R.W.; KLIEWER, K.E.; LEBEL, D.M. & FLIGIEL, S. - Disseminated *Mycobacterium avium*-intracellular infections in homosexual men with acquired cell-mediated immunodeficiency: a histologic and immunologic study of two cases. *Am. J. Clin. Pathol.* 79:247-252, 1983.
60. SOLIS, O.G.; BELMONTE, A.H.; RAMASWAMY, G. & TCHERTKOFF, V. - Pseudogaucher cells in *Mycobacterium avium* intracellular infections in acquired immune deficiency syndrome (AIDS). *Am. J. Clin. Pathol.* 85:233-235, 1986.
61. SPIVAK, J.L.; SELONICK, S.E. & QUINN, T.C. - Acquired immune deficiency syndrome and pancytopenia. *JAMA.* 250:3084-3087, 1983.
62. SPIVAK, J.L.; BENDER, B.S. & QUINN, T.C. - Hematologic abnormalities in the acquired immune deficiency Syndrome. *Am. J. Med.* 77:224-228, 1984.
63. STEINBERG, H.N.; CRUMPACKER, C.S. & CHATIS, P.A. In vitro suppression of normal human bone marrow progenitor cells by human immunodeficiency virus. *J. Virol.* 65(4):1765-1769, 1991.
64. STELLA, C.C.; GANSER, A. & HOELZER, D. - Defective in vitro growth of the hemopoietic progenitor cells in the acquired immunodeficiency syndrome. *J. Clin. Invest.* 80:286-293, 1987.
65. STRICKER, R.B.; ABRAMS, D.I.; CORASH, L. & SHUMAN, M.A. - Target platelet antigen in homosexual men with immune thrombocytopenia. *N. Engl. J. Med.* 313:1375-1380, 1985.
66. TREACY, M.; LAI, L.; COSTELLO, C. & CLARK, A.

- Peripheral blood and bone marrow abnormalities in patients with HIV related disease. *Br. J. Haematol.* 65:289-294, 1987.
67. VAN DER LELIE, J.; LANGE, J.M.A.; VOS, J.J.E.; VAN DALEN, C.M.; DANNER, S.A. & VON DEM BORNE, A.E.G.Kr. - Autoimmunity against blood cells in human immunodeficiency-virus (HIV) infection. *Br. J. Haematol.* 67:109-114, 1987.
68. VERGARA, T.R.C.; GONÇALVES, A.J.R.; OLIVEIRA, C.A.B.; VIEIRA, A.R.M.; GONZAGA, A.L.; CARVALHO, J.J.; FINKEL, N.; ALMEIDA, R.M.M.; AZEVEDO, C.B.; FIALHO, F.; BARROS, I.M.; ROSEBAUM, R.; PACHECO, R.G.; FERREIRA, L.F.; CARVALHO, F.G.; MELLO, C.E.B.; LOUZADA, R.F.S.; PECEGO, M.M.N.; SANTOS, M.C.P.; GARCIA, F.; BONECKER, C.W. & MADI, K. - Epidemia de toxoplasmose do sistema nervoso central em enfermos com AIDS na cidade do Rio de Janeiro. *Arq. Bras. Med.* 59 (6):397-406, 1985.
69. WALSH, C.M.; NARDI, M.A. & KARPATKIN, S. - On the mechanism of thrombocytopenic purpura in sexually active homosexual men. *N. Engl. J. Med.* 311:635-639, 1984.
70. WITT, D.; MCKAY, D.; SCHWAM, L.; GOLDSTEIN, D. & GOLD, J. - Acquired immune deficiency syndrome presenting as bone marrow and mediastinal cryptococcosis. *Am. J. Med.* 82:149-150, 1987.
71. YU, J.-R.; LENNETTE, E.T. & KARPATKIN, S. - Anti-F(ab) antibodies in thrombocytopenic patients at risk for acquired immunodeficiency syndrome. *J. Clin. Invest.* 77:1756-1761, 1986.
72. ZAKOWSKI, P.; FLIGHEL, S.; BERLIN, O.G.W. & JOHNSON Jr, B.L. - Disseminated Mycobacterium avium-intracellulare infection in homosexual men dying of acquired immunodeficiency. *JAMA.* 248:2980-2982, 1982.
73. ZON, L.I.; ARKIN, C. & GROOPMAN, J.E. - Haematologic manifestations of the human immune deficiency virus (HIV). *Br. J. Haematol.* 66:251-256, 1987.
74. ZON, L.I. & GROOPMAN, J.E. - Hematologic manifestations of the human immune deficiency virus (HIV). *Semin. Hematol.* 25(3):208-218, 1988.
75. ZUCKER-FRANKLIN, D.; SEREMETIS, S. & ZHENG, Z.Y. - Internalization of human immunodeficiency virus type I and other retroviruses by megakaryocytes and platelets. *Blood.* 5:1920-1923, 1990.
76. ZUGER, A.; LOUIE, E.; HOLZMAN, R.S.; SIMBERKOFF, M.S. & RAHAL, J.J. - Cryptococcal disease in patients with the acquired immunodeficiency syndrome. *Ann. Intern. Med.* 104:234-240, 1986.

Recebido para publicação: 27.12.93



## INFLUÊNCIA DA CONCENTRAÇÃO DO INÓCULO DE CEPAS DE *HAEMOPHILUS INFLUENZAE* EM TESTES DE SENSIBILIDADE A ANTIMICROBIANOS

Silvana Tadeu CASAGRANDE\*  
Maria de Fátima Paiva VIEIRA  
Ilka Maria LANDGRAF  
José Leopoldo Ferreira ANTUNES

RIALA6/763

CASAGRANDE, S.T.; VIEIRA, M.P.F.; LANDGRAF, I.M.; ANTUNES, J.L.F.; Influência da concentração do inóculo de cepas de *Haemophilus influenzae* em testes de sensibilidade a antimicrobianos. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 54(1): 64-8, 1994.

**RESUMO:** *Haemophilus influenzae* isolado de líquido cefalorraquidiano foi avaliado quanto ao perfil de sensibilidade a antimicrobianos no teste de difusão em ágar e concentração inibitória mínima (CIM). A sensibilidade de 98 cepas foi comparada em relação à ampicilina no teste de difusão em ágar com inóculo  $10^8$  UFC/mL (tubo 0.5 da escala de MacFarland) e diluído  $10^{-2}$  o qual corresponde a uma concentração final de aproximadamente  $10^6$  UFC/mL. Nos testes de difusão em ágar no qual o inóculo  $10^8$  UFC/mL foi usado, 56 cepas foram resistentes ampicilina, ao passo que quando o inóculo  $10^6$  UFC/mL foi testado, 10 dessas cepas foram resistentes. No teste de concentração inibitória mínima somente 10 cepas apresentaram CIM  $\geq 2$ mcg/mL, resultados estes que foram compatíveis com o halo de inibição no teste de difusão em ágar, em ambas as concentrações. A correlação do inóculo  $10^8$  UFC/mL e  $10^6$  UFC/mL no teste de difusão em ágar usando ampicilina, cefalotina, cefoxitina, fosfomicina, penicilina e sulfatrim, mostrou que a diluição do inóculo é fator significativo na determinação da sensibilidade das cepas principalmente quando testadas com antimicrobianos betalactâmicos. Esta observação conduziu à padronização do inóculo  $10^6$  UFC/mL para *H. influenzae*, visando a obtenção de resultados reprodutíveis e confiáveis.

**DESCRIPTORIOS:** *Haemophilus influenzae*, meningite bacteriana, teste de sensibilidade a antimicrobianos, betalactâmicos.

### INTRODUÇÃO

*Haemophilus influenzae* é um dos principais agentes responsáveis por meningites bacterianas em todo o mundo a acomete fundamentalmente crianças na faixa etária de 0-5 anos de idade<sup>13</sup>.

O diagnóstico precoce e o tratamento à base de ampicilina têm contribuído marcadamente para o controle dessa infecção. Nos últimos anos, com surgimento de cepas resistentes, tem sido necessária a

utilização de tratamentos alternativos, assim como testes de sensibilidade a antimicrobianos que conduzam a uma resposta rápida e confiável<sup>14,11,10</sup>.

O método de difusão em ágar constitui-se em um dos principais instrumentos utilizados para esta finalidade e, segundo alguns autores, mostra-se eficiente apenas mediante a observação de critérios específicos<sup>7,8,14</sup>. Considerando que o inóculo utilizado pode ser crítico para um teste de sensibilidade reprodutível e confiável<sup>1,8,12</sup>, avaliamos a padronização do

\* Biologista da Seção de Bacterologia do Instituto Adolfo Lutz

\*\* Biologista da Seção de Bacterologia do Instituto Adolfo Lutz

\*\*\* Pesquisadora da Seção de Bacterologia do Instituto Adolfo Lutz

\*\*\*\* Pesquisador da Seção de Avaliação e Normas Técnicas do Instituto Adolfo Lutz

Endereço correspondência: \*Avenida Dr. Arnaldo, 351.

Seção de Bacterologia - Instituto Adolfo Lutz

mesmo em cepas de *Haemophilus influenzae*, através da utilização do meio ágar Mueller-Hinton suplementado com 5% de sangue de cavalo, devido ao seu baixo custo, operacionalidade e ampla difusão em nosso país.

### MATERIAL E MÉTODOS

**Amostras.** Foram estudadas, no período de 1989 a 1990, um total de 98 cepas de *Haemophilus influenzae* isoladas de líquido cefalorraquidiano na Seção de Bacteriologia do Instituto Adolfo Lutz. O crescimento e manutenção das cepas foi feito em tubos contendo ágar chocolate a 10% (sangue de cavalo e infusão de cérebro e coração (BHI), e incubados a 37°C a uma atmosfera de 5 a 10% de CO<sub>2</sub>. *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 e *Escherichia coli* ATCC 25922 foram usadas como cepas controles.

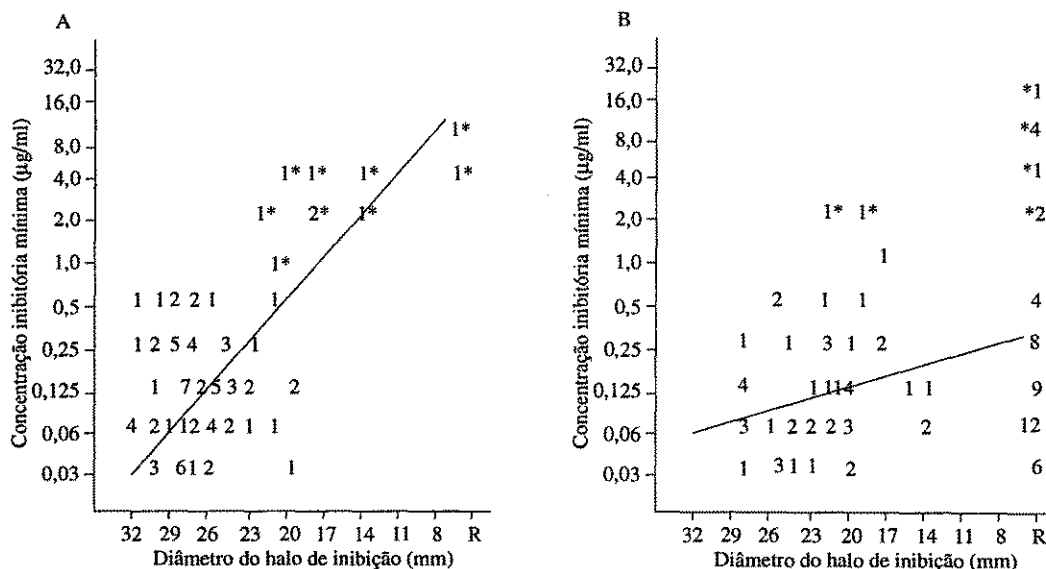
**Meios de cultura.** Foram utilizadas placas de ágar Mueller-Hinton suplementado com 5% de sangue de cavalo para os testes de difusão em ágar e "Tryptic soy broth" (T.S.B.) suplementado com 2% de fatores de crescimento, nicotinamida adenina dinucleotídeo (fator V) e hemina (fator X), para os testes de concentração inibitória mínima (CIM).

#### Testes de sensibilidade a agentes antimicrobianos.

**Teste de difusão em ágar:** Foram realizados segundo BAUER et alii e Normas do "National Committee

for Clinical Laboratory Standars" (NCCLS)(1,8), empregando-se discos de ampicilina 10 µg, cefalotina 30 µg, cefoxitina 30 µg, fosfomicina 30 µg, penicilina 10 U, sulfatrim (sulfametoxazol-trimetoprim) 25 µg, (marca CECON). Imediatamente após o isolamento das cepas, as mesmas foram subcultivadas em ágar chocolate BHI a 10% e incubada a 37°C a uma atmosfera de 5 a 10% de CO<sub>2</sub> durante 18-24h. A seguir, com o auxílio de alça bacteriológica, as cepas foram homogeneizadas em 5 ml de solução fisiológica 0.85%, ajustando-se a turbidez da suspensão de acordo com o tubo 0.5 da escala de MacFarland. Padronizado o inóculo, foram feitas diluições 10<sup>-2</sup>, semeando-se por inundação estas diluições e também suspensões na escala 0.5 de MacFarland em placas de ágar Mueller Hinton chocolate a 5%. Após secagem por 15 minutos, os respectivos discos de antimicrobianos foram colocados à superfície do meio e as placas incubadas a 37°C. A leitura dos halos de inibição foi realizada após 18 a 24 horas de incubação.

**Determinação da concentração inibitória mínima:** A CIM para ampicilina foi determinada pelo método de macrodiluição, em caldo TSB, suplementado com 2% de VX. As concentrações do antimicrobiano utilizadas foram 0.06 µg/mL a 32 µg/mL<sup>8</sup>. A concentração final do inóculo foi de aproximadamente 10<sup>5</sup> µg/mL (unidade formadora de colônia). A leitura da CIM foi realizada após 24 horas de incubação a 37°C. A CIM foi definida como a menor concentração do antimicrobiano que impediu a turvação do meio de cultura observado macroscopicamente.



\* cepas produtoras de β-lactamase

FIGURA 1

Correlação entre a concentração inibitória mínima (CIM) e o diâmetro do halo de inibição obtidos no teste de difusão em Ágar. (A) inóculo 1:100 (B) inóculo 10<sup>8</sup> UFC/mL.

Teste de Beta Lactamase. Todas as cepas foram testadas para a verificação da presença da enzima beta-lactamase pelo método iodométrico<sup>14</sup>.

Análise Estatística. Os resultados encontrados foram submetidos a análise estatística, empregando-se os métodos do Teste de qui-quadrado e de regressão linear conforme descritos por SPIEGEL(12).

## RESULTADOS

A relação entre o CIM e o diâmetro do halo de inibição para ampicilina é mostrada na Fig.1 (A) e (B).

Dentre as 98 cepas estudadas, 10 produziram a enzima beta-lactamase e apresentaram CIM  $\geq 2\mu\text{g/mL}$ . Destas, 3 apresentaram halo de inibição  $\geq 20\text{mm}$ .

A influência da concentração do inóculo no padrão de sensibilidade das cepas analisadas foi observada em função da variação do diâmetro do halo de inibição obtido. Utilizando-se inóculo diluído 1:100, 88 cepas apresentaram halo de inibição  $\geq 20\text{mm}$  (Fig.1A), e enquanto que, com o inóculo  $10^8\text{UFC/mL}$ , 56 cepas apresentaram halo de inibição  $\leq 19\text{mm}$ . O NCCLS<sup>8</sup> recomenda diâmetro de inibição para ampicilina  $\leq 19\text{mm}$  e  $\geq 20\text{mm}$  para resis-

tência e sensibilidade respectivamente. A partir de 1988 o NCCLS<sup>9</sup> recomenda outros valores somente quando o meio HTM (Haemophilus Test Medium) é usado para o teste de sensibilidade.

A correlação entre o inóculo  $10^8\text{ UFC/mL}$  e  $10^6\text{ UFC/mL}$  no teste de difusão em ágar, observada na Fig. 2, mostra que o sulfatrim foi o antimicrobiano com maior estabilidade frente a mudança do inóculo.

## DISCUSSÃO

A seleção de um método para realização de teste de sensibilidade de difusão em ágar baseia-se em vários fatores, os quais incluem a precisão do método para a evidenciação da reprodutibilidade do diâmetro do halo de inibição, a fidedignidade do teste para distinguir entre microrganismos sensíveis e resistentes e deve possibilitar correlação entre o halo de inibição e a CIM avaliada pela análise de regressão linear.<sup>3,6,10</sup>

Os meios de cultura normalmente utilizados tem como base o ágar Mueller-Hinton, o qual para microrganismos fastidiosos como *Haemophilus sp*, deve ser acrescido de sangue (Mueller-Hinton chocolate 5%) ou NAD e Hemina (HTM).

Em estudos realizados para avaliação dos meios de cultura em teste de sensibilidade a antimicrobianos, para *Haemophilus sp* MENDELMAN et alii(7), demonstraram que 45% destas cepas resistentes à ampicilina, produtoras e não produtoras de beta-lactamase, não cresceram no meio HTM, e observaram também neste meio HTM, resultados contraditórios quanto à sensibilidade das cepas estudadas.

Esta constatação vem corroborar a nossa opção de escolha do ágar Mueller-Hinton chocolate a 5% para avaliação das cepas em nosso estudo.

Além da interferência do meio de cultura na realização dos testes de sensibilidade, FERNANDES et alii<sup>4</sup>, observaram que a padronização do inóculo constitui um fator fundamental na obtenção de halo de inibição compatível com a CIM.

Em nosso estudo, utilizando inóculo  $10^6\text{ UFC/mL}$ , 88 cepas apresentaram-se sensíveis à ampicilina, com a CIM  $\leq 1\mu\text{g/mL}$  e halo de inibição entre 20 a 32 mm. Ao analisarmos, no entanto, o perfil de sensibilidade das cepas inoculadas a uma concentração  $10^8\text{ UFC/mL}$ , verificamos um aumento de cepas com halo de inibição  $\leq 19\text{mm}$  e CIM  $\leq 2\mu\text{g/mL}$ , mas com ausência de produção da enzima betalactamase. Diante deste fato, alguns autores recomendam a realização do teste da betalactamase, para aumentar a margem de segurança do perfil de resistência a ser considerado<sup>2,3</sup>. Dentre as cepas resistentes (fig.1A e B), 3 cepas apresentaram halo  $\geq 20\text{mm}$  e seriam rela-

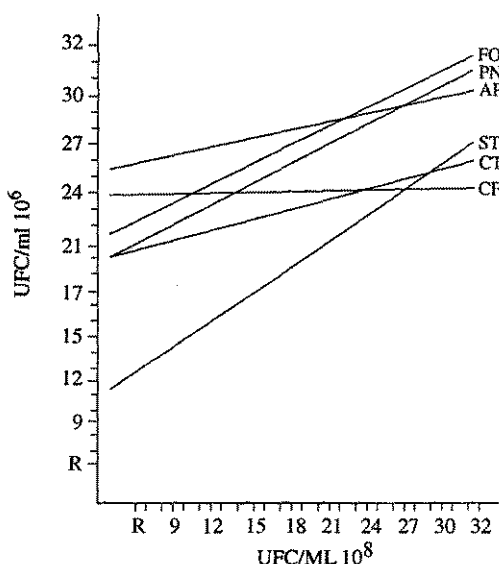


FIGURA 2

Correlação inóculo  $10^8\text{ UFC/mL}$  e  $10^6\text{ UFC/mL}$  no teste de difusão em ágar, através de correlação linear

AP- ampicilina 10 $\mu\text{g}$	FO- fosfomicina 50 $\mu\text{g}$
CF- cefalotina 30 $\mu\text{g}$	PN- penicilina 10U
CT- cefoxitina 30 $\mu\text{g}$	ST- sulfametometoxazol-trimetoprim 30 $\mu\text{g}$

tadas como sensíveis, porém apresentaram betalactamase, sendo portanto resistentes. Segundo DOERN et alii<sup>2</sup> a formação de halo de inibição seria devido à baixa produção de beta-lactamase por essas cepas.

A influência da concentração do inóculo no resultado da sensibilidade das cepas à ampicilina foi constatado também por ROBERTS et alii<sup>11</sup>, comparando diferentes concentrações do inóculo para *Haemophilus influenzae*, o qual obteve diferentes padrões de sensibilidade em vários métodos, com resultados mais eficientes nos testes de difusão em ágar com inóculo 1:70. O mesmo efeito da concentração do inóculo pôde ser observado em cepas de *Proteus mirabilis* por FURTADO et alii<sup>5</sup> que, ao utilizarem inóculo 1:100, obtiveram maior número de cepas sensíveis, as quais, no entanto, foram incluídas na categoria de intermediárias quando o inóculo compatível com o tubo 0.5 da escada de MacFarland foi utilizado.

Pela análise da Fig.2, ao compararmos as concentrações dos inóculos de *Haemophilus influenzae* no

teste de difusão em ágar para os antimicrobianos testados, observamos um maior impacto da concentração do inóculo em relação à sensibilidade a ampicilina e à cefalotina do que sulfatrim. Este fato evidencia nitidamente a influência da concentração do inóculo no teste de difusão em ágar com agentes antimicrobianos betalactâmicos.

De acordo com o observado, acreditamos ser necessária uma rigorosa observação da concentração do inóculo ao se realizar o teste de difusão em ágar, visando melhores resultados nos laboratórios clínicos, assim como uma utilização mais eficaz dos antimicrobianos na terapêutica infecciosa.

#### AGRADECIMENTOS

Nossos agradecimentos ao pesquisador Moisés Palaci pelo incentivo, sugestões e colaboração na apresentação deste trabalho e a desenhista Célia Maria P.M. Yoshida pela confecção das figuras.

RIALA6/763

CASAGRANDE, S.T.; VIEIRA, M.P.F.; LANDGRAF, I.M.; ANTUNES, J.L.F.; Influence of Inoculum Concentration of *Haemophilus influenzae* strains in the antimicrobial susceptibility tests. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 54(1): 64-8, 1994.

**SUMMARY:** This study analyzes the effect of the inoculum concentration of *Haemophilus influenzae* strains to determine the antimicrobial susceptibility. A total 98 strains isolated from cerebrospinal fluid (CSF) was studied through the disk diffusion method and the minimal inhibitory concentration (MIC). The results showed that with the inoculum  $10^8$  UFC/mL, 56 strains were resistant to ampicillin, but with this inoculum diluted to  $10^6$  UFC/mL, 10 cepas of the strains were resistant to this antibiotic in the disk diffusion method. The correlation of the inoculum  $10^8$  UFC/ml and  $10^6$  UFC/ml in the disk diffusion method using disks containing ampicillin, cephalotin, cephoxitin, fosfomicin, penicillin and sulfamethoxazole/trimethoprim showed that the inoculum concentration is a significant factor in the strain susceptibility, mainly when testing betalactamic antibiotics. This observation led to a standardization of inoculum size at  $10^6$  UFC/mL when testing *H. influenzae*, in order to obtain dependable and reproducible results.

**KEY WORDS:** *Haemophilus influenzae*, bacterial meningites, antimicrobial susceptibility test, betalactamics.

#### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFIAS

1. BAUER, a.W.; KIRBY, W. M. M. ; SHERRIS, J.C.; TURCK, M. Antibiotic susceptibility testing by standardized single disk method. *A. J. Clin. Path.* 45:493-496, 1966.
2. DOERN, G. V.; JORGENSEN, J. H.; THORNSBERRY, C.; PRESTON, D. A. Prevalence of antimicrobial resistance among clinical isolates of *Haemophilus influenzae*: A collaborative study. *Diag. Microbiol. Infect. Dis.* 4:95-107, 1986.
3. DOERN, G. V.; DAUM, G. S.; TUBERT, T. A. Ampicillin disk diffusion susceptibility of *Haemophilus influenzae*. *J. Clin. Microbiol.* 25:1675-1678, 1987.
4. FERNANDES, P.B.; HARDY, D.; BARLER, R.; McDONALD, E.; PINTAR, J.; RAMER, N.; SWANSON, R.; GADE, E. Susceptibility testing of macrolide antibiotics against *Haemophilus influenzae* and correlation of in vitro results with in vivo efficacy in a mouse septicemia model. *Antimicrob. Agents. Chemother.* 31:1243-1250, 1987.

5. FURTADO, L. G.; MEDERIOS, A. A. Single-disk diffusion (Kirby-Bauer) of susceptibility of *Proteus mirabilis* to chloranphenicol significance of the intermediate category. *J. Clin. Microbiol.* 12:550-563, 1980.
6. KRONVALL, G.; RINGERTZ, S.; KARLSON, I.; GORANSSON, E.; DORNBUSCH, K. Laboratory and species-specific interpretive breakpoints for disk diffusion tests of chloranphenicol susceptibility of *Haemophilus influenzae*. *Antimicrob. Agents Chemother.* 32:1484-1489, 1988.
7. MENDELMAN, P. M.; WILEY, E. A.; STULL, T. L.; CLAUSEN, C.; CHAFFIN, D. O. Problems with current recommendations for susceptibility testing of *Haemophilus influenzae*. *Antimicrob. Agents Chemother.* 34:1480-1484, 1990.
8. NATIONAL COMMITTEE FOR CLINICAL LABORATORY STANDARDS. Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests. Approved standard M2 - A3. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Villanova, Pa, 1984.
9. NATIONAL COMMITTEE FOR CLINICAL LABORATORY STANDARDS. Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests. Tentative Standard. M2 - T4. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Villanova, Pa, 1988.
10. RINGERTZ, S.; LILYEQUEST-OLSON, B.; KROWALL, G. Antimicrobial susceptibility testing of *Haemophilus influenzae* improvement of accuracy of the disk diffusion test. *J. Agents Chemoter.* 26:479-489, 1990.
11. ROBERTS, D. E.; INGOLD, A.; WANT, S. V.; MAY, J. R. Osmotically stable L forms of *Haemophilus influenzae* and their significance in testing sensitivity to penicillim. *J. Clin. Path.* 27:560-564, 1974.
12. SPIEGEL, M. R. *Estatística*. São Paulo, McGraw-Hill, 1978.
13. TAKEDA, A. K.; UMEKITA, L. F.; BOSCARDEN, N. B.; MELLES, C. E. A.; TAUNAY, A. E. Imunoelectroforese cruzada no diagnóstico da meningite por *Haemophilus influenzae* tipo b. *Rev. Inst. Adolfo Lutz* 34:165-169, 1979.
14. WILLIAMS, J. D.; KATTAM, S. *Haemophilus* species: Laboratory Methods in Antimicrobial Chemotherapy. London, Churchill Livingstone, 1978. p.106-111.

Recebido para publicação: 10.01.94