

# **Vitamina A em óleo de fígado de peixes brasileiros de água doce**

LUIZ A. DE ARRUDA CAMARGO, YUKIYO YASHUDA  
E WILSON A. SAAD

Departamento de Ciências Fisiológicas, Faculdade de Farmácia e Odontologia,  
Araraquara, S. P. Brasil

## **RESUMO**

Foram determinadas as concentrações de retinol, dehidroretinol, retinaldeído, dehidroretinaldeído e vitamina A C<sub>22</sub> no *Prochilodus scrofa*, *Salminus maxillosus*, *Pimelodus clarias*, *Leporinus piapara* e *Leporinus cope-landi* peixes de água doce da bacia do rio Moji-Guaçu, Estado de São Paulo (Brasil). Os valores foram determinados pelos seus espectros obtidos pelo tricloreto de antimônio.

## **INTRODUÇÃO**

A bacia do rio Moji-Guaçu, situada no Estado de São Paulo (Brasil), constitui importante região geo-econômica, contribuindo com seus pescados para a manutenção de parte de seus habitantes.

Dentre esses peixes, o Corimbatá (*Prochilodus scrofa*), Mandiúva (*Pimelodus clarias*), Dourado (*Salminus maxillosus*), Piapara (*Leporinus piapara*) e Piava (*Leporinus cope-landi*) representam cerca de 70% do seu estoque pesqueiro. Pouco se conhece dessas espécies quanto ao ponto de vista químico-nutricional.

O óleo de fígado de certos peixes possui uma concentração bastante alta de vitamina A, sendo considerada fonte natural bastante importante, salientando-se, ainda, que nos peixes de água doce a concentração de vitaminas A<sub>2</sub> é maior que a de A<sub>1</sub>.

Em muitos casos, mais que uma vitamina A é encontrada

na mesma espécie de peixe. Sebrell e Harris (11), dizem que isto é provavelmente devido a interconversão das diversas formas no organismo.

Suas propriedades químicas são parecidas, bem como, suas atividades biológicas. Entretanto, estes compostos diferem em suas propriedades físico-químicas, principalmente quanto a suas características de absorção espectrofotométrica. Baseados nestas diferenças físico-químicas, procuramos determinar as concentrações dessas vitaminas nos óleos de fígado das principais espécies de peixes da bacia do rio Moji-Guaçu, por meio da determinação dos espectros obtidos pelo tricloreto de antimônio.

### MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados 52 peixes, sendo os seus pesos padronizados como se segue: *Prochilodus scrofa* 2 a 2,5 kg, *Salminus maxillosus* 3 a 3,5 kg, *Pimelodus clarias* 0,5 a 0,6 kg, *Leporinus piapara* 1,5 a 2,0 kg e *Leporinus copelandi* 0,6 a 0,8 kg.

Os óleos eram obtidos dos fígados por meio de extração contínua com éter de petróleo. O solvente era removido a pressão reduzida. Eram então, tomados entre 0,5 a 1,0 g dos óleos e saponificados com solução recém preparada de hidróxido de potássio alcoólico sobre uma corrente suave de nitrogênio por 30 minutos (13). A proporção de hidróxido de potássio era de 3,0 g para 1 g de óleo. A solução alcoólica saponificada era extraída, quatro vezes, com éter de petróleo nos volumes de 40, 30, 20 e 10 ml.

Os extratos eram reunidos e lavados com água até que os lavados se apresentassem neutros com a fenolftaleína. A solução era filtrada sobre sulfato de sódio anidro e transferido quantitativamente para um frasco calibrado de 100 ml. Eram retiradas porções, sempre do mesmo volume, de cada exemplar e evaporados sobre pressão reduzida, ressuspensas no cloroformio e adicionadas de 7 ml do reativo de tricloreto de antimônio (15), a coloração azul ou verde desenvolvida era lida, imediatamente, no espectrofotômetro. Para cada óleo obtido de cada exemplar, foram efetuadas 19 leituras nos comprimentos de onda seguintes: 600, 610, 620, 630, 640, 650, 660, 665, 670, 680, 690, 693, 700, 710, 720, 730, 740, 750 e 760 mμ.

O retinol e o dehidroretinol foram calculados baseados na equação descrita por Cama (2). O retinaldeido e dehidroretinaldeido foram determinados segundo Plack e Kon (9), ba-

seados em que se a curva da cor produzida é de forma normal, isto é, com inflexões a cerca de 665 e 740  $\mu$  as extinções devem-se às vitaminas A<sub>1</sub> aldeído e A<sub>2</sub> aldeído. Para a vitamina A C<sub>22</sub> os valores foram determinados sobre a curva de referência padrão.

## RESULTADOS

Para cada espécie analisada foram obtidos dois grupos, distintos, relacionados com as densidades ópticas sendo considerado do grupo um os peixes de maior concentração vitamínica. As médias dos resultados de cada grupo foram computadas fornecendo duas o mas curvas de absorção.

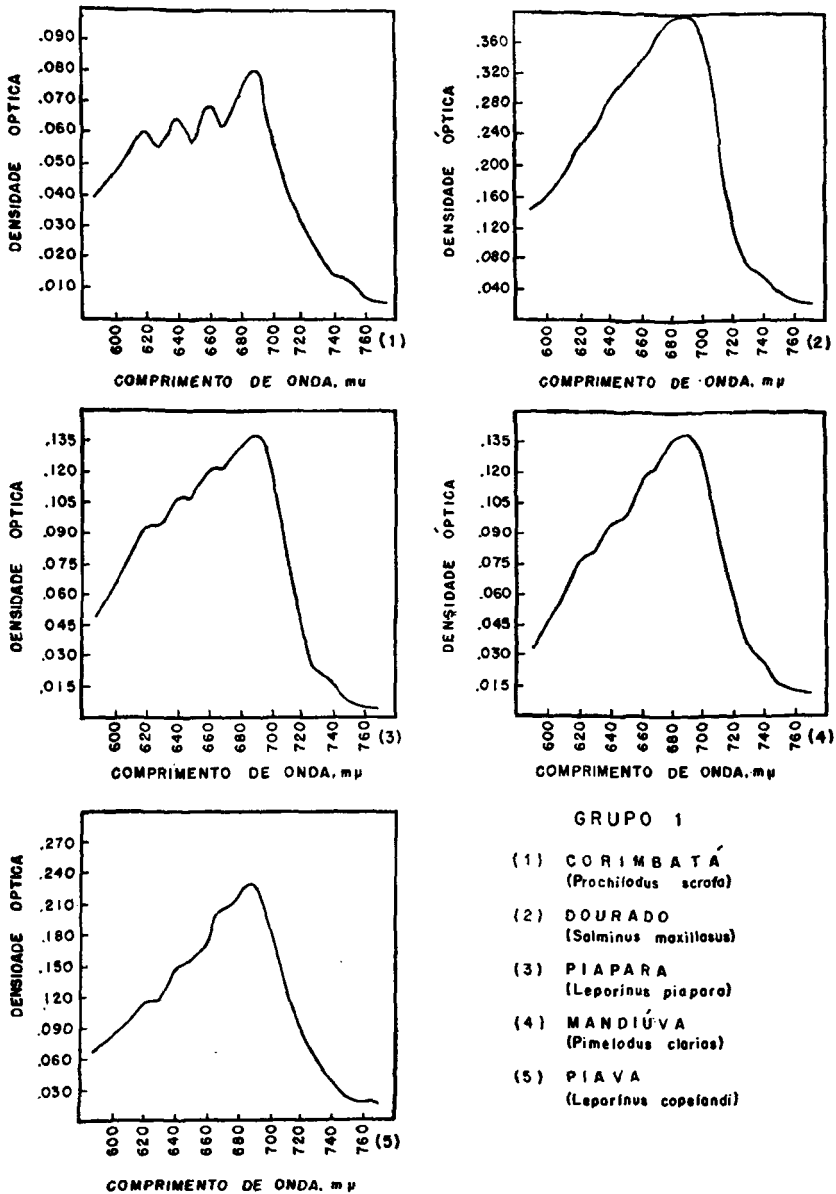
No quadro 1, estão representados os espectros dos óleos dos espécimes de maior concentração vitamínica. No quadro 2, as mesmas absorções nos animais de menor concentração vitamínica.

Para cada exemplar analisado, foram calculadas as concentrações das diversas vitaminas A, baseadas nos seus espectros de absorção. Esses dados individuais foram computados e determinadas as variações estatísticas. Os resultados analíticos dos dois grupos de animais de cada espécie analisada estão na Tabela I, juntamente com a concentração do óleo.

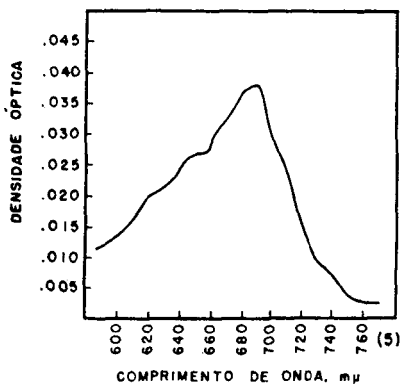
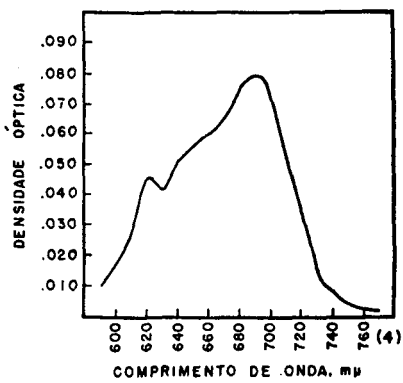
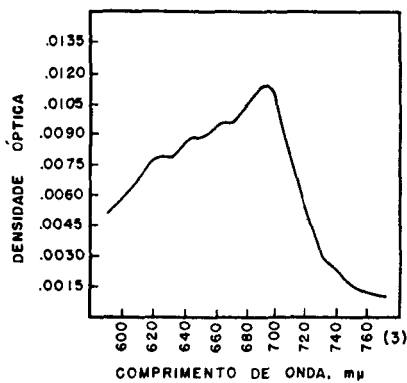
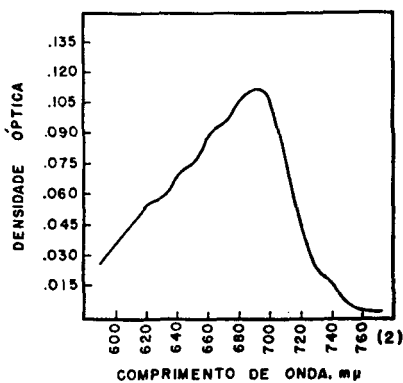
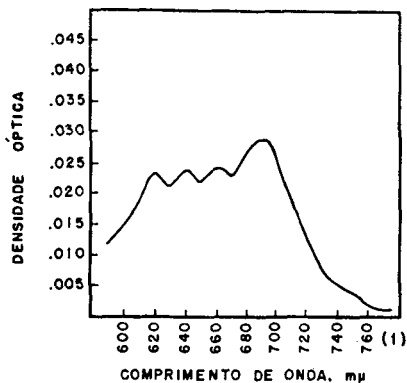
## DISCUSSÃO E CONCLUSÕES

Muitas espécies de peixes de água doce caracterizam-se por apresentar tanto o retinol como o dehidroretinol, com maior preponderância deste último, enquanto que os peixes de mar contém, somente, o retinol (5). Tal fato é baseado nas inflexões dos espectros obtidos tanto na faixa do ultra-violeta como do visível guardando sempre a proporção entre os comprimentos de onda. Fundamentalmente, isto se deve ao aumento de mais uma dupla conjugada, a substância passa a absorver um comprimento de onda maior. Assim, Scott (10) cita para uma olefina alicíclica um comprimento de onda máximo de 183  $\mu$  e para um dieno homoanular um comprimento de onda observado de 256  $\mu$  com uma diferença de 73  $\mu$ . Tal proporção é praticamente a mesma quando o retinol e o dehidroretinol são observados na banda ultra-violeta.

Shantz (12), que descreve um método para isolar vitamina A<sub>2</sub> pura obteve um óleo viscoso, amarelo-laranja de absorção máxima no U.V. a 351  $\mu$  e um outro pico a 287  $\mu$ , sendo



Quadro 1. Representação gráfica dos espectros dos óleos das espécies de maior concentração vitamínica. Os valores representam as médias das observações efetuadas em cada espécie.



GRUPO 2

- (1) CORIMBATÁ  
(*Prochilodus scrofa*)
- (2) DOURADO  
(*Salminus maxillofus*)
- (3) PIAPARA  
(*Leporinus piapara*)
- (4) MANDIÚVA  
(*Pimelodus clarias*)
- (5) PIAVA  
(*Leporinus copelandi*)

Quadro 2. Representação gráfica dos espéctros dos óleos das espécies de menor concentração vitamínica. Os valores representam as médias das observações efetuadas em cada espécie.

| PEIXE                  | GRUPO | ÓLEO<br>g/100g | RETINOL<br>mg/g | DEHIDRORETINOL<br>mg/g | RETINALDEIDO<br>mg/g | DEHIDRORETINAL-<br>DEIDO mg/g | VIT. A C <sub>22</sub><br>mg/g |
|------------------------|-------|----------------|-----------------|------------------------|----------------------|-------------------------------|--------------------------------|
| PROCHILODUS<br>SCROFA  | I(5)  | 1,44 ± 0,17    | 3,32 ± 0,28     | 7,66 ± 0,25            | 5,98 ± 0,31          | 1,32 ± 0,06                   | 6,24 ± 0,22                    |
|                        | II(6) | 1,96 ± 0,38    | 1,21 ± 0,26     | 2,75 ± 0,36            | 1,71 ± 0,33          | 0,51 ± 0,08                   | 2,28 ± 0,37                    |
| SALMINUS<br>MAXILLOSUS | I(4)  | 0,42 ± 0,05    | 7,62 ± 1,63     | 38,55 ± 1,43           | 31,80 ± 0,95         | 4,85 ± 0,44                   | 27,37 ± 0,81                   |
|                        | II(6) | 0,54 ± 0,07    | 1,63 ± 0,14     | 10,87 ± 1,34           | 8,44 ± 1,05          | 1,48 ± 0,30                   | 6,80 ± 0,70                    |
| LEPORINUS<br>PIAPARA   | I(4)  | 3,82 ± 0,69    | 4,30 ± 0,39     | 13,15 ± 1,2            | 11,07 ± 0,78         | 1,60 ± 0,14                   | 10,20 ± 0,57                   |
|                        | II(6) | 6,09 ± 1,10    | 0,40 ± 0,10     | 1,03 ± 0,15            | 0,80 ± 0,10          | 0,21 ± 0,02                   | 0,80 ± 0,16                    |
| PIMELODUS<br>CLARIAS   | I(6)  | 1,51 ± 0,08    | 2,85 ± 0,37     | 13,36 ± 0,66           | 10,46 ± 0,40         | 2,10 ± 0,18                   | 9,01 ± 0,67                    |
|                        | II(6) | 1,74 ± 0,11    | 1,38 ± 0,19     | 7,68 ± 0,90            | 5,90 ± 0,66          | 0,80 ± 0,05                   | 4,90 ± 0,48                    |
| LEPORINUS<br>COPELANDI | I(5)  | 3,73 ± 0,51    | 3,40 ± 1,13     | 21,40 ± 3,43           | 16,50 ± 2,95         | 2,94 ± 0,52                   | 14,00 ± 2,53                   |
|                        | II(4) | 3,34 ± 0,29    | 0,40 ± 0,16     | 3,57 ± 0,40            | 2,70 ± 0,48          | 0,67 ± 0,61                   | 2,27 ± 0,14                    |

TABELA I - Quantidade de óleo em g/100g de fígado, e concentrações vitamínicas em mg/g de óleo, determinados nas diferentes espécies de peixes. Os valores apresentam a média e seu erro padrão. Em parênteses o número de observações efetuadas em cada grupo.

que para a solução clorofórmica de tricloreto de antimônio uma absorção simples máxima, de 693 mu e uma apreciável absorção de 620 mu.

Jensen (7), cita uma absorção máxima de 352 mu no U.V. e um máximo subsidiário de 286 mu e com o tricloreto de antimônio um máximo de 695 mu com uma inflexão a 620 mu. Ball (1), fornece para vitamina A<sub>1</sub> uma absorção máxima de 617 mu e para a vitamina A<sub>2</sub> 693 mu. Cama e Morton (3), estabelecem no ultra-violeta um máximo de 351 mu e um pico secundário perto de 287 mu, sendo que no tricloreto de antimônio são respectivamente 693 mu e 620 mu. Nos nossos resultados os espectros levantados foram encontradas inflexões a 693 e 620 mu. Jensen (7), relaciona as proporções entre a extinção a 620 mu como de 3,06 em preparações de dehidroretinol consideradas livres de retinol. Em preparações puras de vitamina A<sub>2</sub> álcool a proporção, atualmente encontrada é de 3,05.

Nos resultados por nós obtidos relacionando as extinções a 693 mu e a 620 mu a proporção obtida, nunca ultrapassou a 2.

|            |     |   |     |
|------------|-----|---|-----|
| Corimbatá: | 1,3 | e | 1,2 |
| Dourado:   | 1,8 | e | 2,0 |
| Piapara:   | 1,5 | e | 1,6 |
| Mandiúva:  | 1,8 | e | 1,7 |
| Piava:     | 2,0 | e | 2,0 |

O retinaldeido e dehidroretinaldeido foram por nós determinados baseados nas extinções dos espectros apresentados pelos óleos a 664 mu e 740 mu. Ball (1), fornece para o retineno 1 e retineno 2 os picos máximos de 664 mu e 705 mu.

Sebrill e Harris (11), citam para a vitamina A<sub>1</sub> aldeído, um máximo simples de 664 mu e para a retineno 2 um máximo em 730 mu e 705 mu. Os nossos resultados relacionados com o dehidroretinaldeido concordam com o de Plack (8), que situa para este composto uma variação da extinção máxima entre 739 e 743 mu com uma média em 741 mu.

A extinção máxima obtida por nós da vitamina A<sub>1</sub> - C<sub>22</sub>, em 642 mu é a mesma citada por Sebrill e Harris (11).

Em relação aos dois grupos relacionados com a concentração vitamínica podemos dizer que é independente do sexo, pois todos os animais foram examinados sob este aspecto, não havendo uma predominância de sexos em nenhum dos grupos. Podemos salientar o teor altamente satisfatório de vitaminas

do grupo A nas espécies por nós analisadas quando confrontadas com outras espécies citadas em diversas tabelas (4, 6, 14 e 16), embora devemos salientar a carência de dados no que se refere a peixes brasileiros de água doce. A maioria dos dados se referem quase que exclusivamente a peixes de água salgada.

Se tomarmos os valores determinados nas espécies analisadas em conjunto, isto é, somando-se os teores de todas as vitaminas A devemos salientar que espécies como o dourado e a piava apresentam no fígado, óleo com quantidade de vitaminas A perfeitamente comparável, com espécies marítimas como o halibute, peixe espada, atum e bonito.

#### SUMMARY

##### Vitamin A in liver oils of Brazilian fresh water fishes

After careful research into several kinds of fresh-water fish, from the Moji-Guaçu River basin in the state of São Paulo, Brazil, such as *Prochilodus scrofa*, *Salminus maxillosus*, *Pimelodus clarias*, *Leporinus piapara* and *Leporinus copelandi* the concentrations of retinol, dehydroretinol, retinaldehyde, dehydroretinaldehyde and  $AC_{22}$  vitamin, have been found. The conclusion as to their values has been obtained through their spectrum under the action of antimony trichloride.

#### REFERÊNCIAS

1. Ball, S., T. W. Goodwin and R. A. Morton. Studies on vitamin A. 5. The preparation of retinene 1 - vitamin A aldehyde. *Biochem. J.* 42: 516-523, 1948.
2. Cama, H. R., F. D. Collins and R. A. Morton. Studies on vitamin A. 17. Spectroscopic properties of all-trans-vitamin A and vitamin A acetate. Analysis of liver oils. *Biochem. J.* 50: 48-59, 1951.
3. Cama, H. R. and R. A. Morton. Spectroscopic properties of vitamin  $A_2$ . Application to the assay of cod-liver oil. *Analyst* 78: 74-79, 1953.
4. Chatfield, C. *Food composition tables minerals and vitamins for International use*, Rome, 1959; p. 10-55.
5. Dyke, S. F. *The chemistry of the vitamins*, London, Interscience Publishers, 1965; p. 212-213.
6. Franco, G. *Teor Vitamínico dos Alimentos*. Rio de Janeiro, José Olímpio, Editora, 1968, p. 93-129.
7. Jensen, J. L., E. M. Shantz, N. D. Embree, J. D. Cowley and P. L. Harris. The biological activity of vitamin  $A_2$ . *J. Biol. Chem.* 149: 473-477, 1946.
8. Plack, P. A. Determination of vitamin  $A_2$  aldehyde. *Biochem J.* 81: 559-561, 1961.
9. Plack, P. A. and S. K. Kon. A comparative survey of the distribution of vitamin A aldehyde in eggs. *Biochem. J.* 81: 561-570, 1961.

10. Scott, A. J. Interpretation of the ultraviolet spectra of natural products. London, Pergamon Press, 1964; p. 24-48.
11. Sebrell, W. H. and R. S. Harris. The vitamins chemistry physiology and pathology, New York, Academic Press, 1954; V. 1; p. 26.
12. Shantz, E. M. Isolation of pure vitamin A<sub>2</sub>. Science 108: 417-419, 1948.
13. Strohecker, R. and G. M. Henning. Análisis de vitaminas métodos comprobados. Madrid, Editorial Paz Montalvo, 1967; p. 58-59.
14. Watt, K. B. and A. L. Merrill Composition of foods, agriculture handbook N° 8. Agriculture Research Service, Washington, 1963; 190 p.
15. Zimmerli, A., C. H. Nield and W. C. Russel. Antimony Trichloride reagent for determination of certain sterols and vitamin D<sub>2</sub> and D<sub>3</sub>. J. Biol. Chem., 148-245, 1948.
16. Wu Leung, W. T. and M. Flores. Tabla de composición de alimentos para uso en América Latina - INCAP, Bethesda, 1961, 131 p.