

Avaliação do teor de retinol em leite UHT suplementado em conformidade com a rotulagem

Assessing the retinol concentration in supplemented UHT milk and the compliance with the information on the product label

RIALA6/1402

Mayara Santa Rosa LIMA¹, Larissa Queiroz de LIRA², Roberto DIMENSTEIN^{3*}

*Endereço para correspondência: 3Laboratório de Bioquímica de Alimentos e Nutrição, Departamento de Bioquímica, Centro de Biociências da Universidade Federal do Rio Grande do Norte. Av. Senador Salgado Filho, nº3000 Bairro: Lagoa Nova, Natal/RN CEP: 59072-970 Fone: 55(0**84) 3215-3416 ramal 205. Fax 55(0**84)32119208 e-mail: rdimenstein@gmail.com

¹Departamento de Nutrição, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Rio Grande do Norte

²Departamento de Bioquímica, Centro de Biociências, Universidade Federal do Rio Grande do Norte

Recebido: 18.01.2011 – Aceito para publicação: 05.09.2011

RESUMO

O consumo de leite bovino UHT (*ultra-high temperature*) suplementado com nutrientes essenciais apresenta-se como uma forma de amenizar a ingestão insuficiente dos mesmos pela população. Dentre esses nutrientes, destaca-se a vitamina A, cuja deficiência é uma das principais causas de problemas de saúde no mundo. O objetivo deste estudo foi verificar a conformidade do teor de retinol especificado no rótulo de leites UHT suplementados com a quantidade detectada no produto. Foram analisadas três marcas de leite UHT comercializadas em Natal/RN. A determinação do retinol foi feita por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE). Somente uma marca de leite suplementado (B) continha a concentração de vitamina A condizente com a do rótulo. As demais (A e C) apresentaram informações de rotulagem conflitantes com os níveis de retinol encontrados nos produtos. Nas amostras da marca A foi detectado, em média, 61% a mais da vitamina e na marca C cerca de 30% menos, em relação às quantidades declaradas nas embalagens. Há necessidade de efetuar maior controle quanto ao enriquecimento de leites para garantir a confiabilidade das informações nutricionais presentes nos rótulos e evitar a ingestão insuficiente de vitamina A ou, até mesmo, uma possível toxicidade pelo seu consumo excessivo.

Palavras-chave. leite de vaca, vitamina A, alimentos suplementados.

ABSTRACT

The consumption of UHT (ultra-high temperature) bovine milk supplemented with essential nutrients is a practice to reduce the inadequate nutrients intake by population. Vitamin A is one of these nutrients, whose deficiency is a major reason in causing health problem in the world. The aim of this study was to verify the compliance of the retinol concentration specified on the label of supplemented UHT milk package with the amount detected in the product. Three brands of UHT milk marketed in Natal/RN were analyzed. The retinol concentration was determined by High Performance Liquid Chromatography (HPLC). One brand of supplemented milk (B) contained the vitamin A concentration in compliance with that stated on the label. The brands A and C showed the label information inconsistent with the retinol contents found in the products. The milk A showed a higher average about 61% more vitamin and the milk C about 30% lower than those quantities informed on the label. A special concern on the milk enrichment should be taken to ensure the reliable nutritional information stated on the labels, and to avoid an insufficient vitamin A intake or even a probable toxicity due to excessive nutrient consumption.

Keywords. cow's milk, vitamin A, food, supplemented.

INTRODUÇÃO

O leite constitui um item básico na alimentação humana, especialmente na alimentação infantil, contribuindo para o crescimento e desenvolvimento das crianças por meio do fornecimento de nutrientes essenciais^{1,2}. A vitamina A, uma das principais vitaminas lipossolúveis encontradas no leite, é essencial na infância, devido ao fundamental papel que exerce em períodos de proliferação e diferenciação celular, além da participação em diversos mecanismos biológicos, como a reprodução, a visão normal e a manutenção do sistema imune^{3,4}.

O leite materno é, sem dúvida, o melhor alimento para crianças até seis meses de idade, por proporcionar vantagens nutricionais, imunológicas e psicológicas ao lactente⁵. A partir dos seis meses, alimentos complementares são introduzidos na alimentação da criança, dentre estes o leite de outras espécies ou fórmulas especiais⁶.

O leite bovino é o “produto oriundo da ordenha completa e ininterrupta, em condições adequadas de higiene, de vacas sadias, bem alimentadas e descansadas”⁷. Esse leite pode passar por diversos tipos de tratamentos na indústria, entre eles o processo UHT (*ultra-high temperature*). Este consiste em submeter o leite homogeneizado, por 2 a 4 segundos, a uma temperatura entre 130 °C e 150 °C, mediante um processo térmico de fluxo contínuo, após o qual é feito um resfriamento imediato a uma temperatura inferior a 32 °C e o produto é envasado sob condições assépticas em embalagens estéreis e hermeticamente fechadas⁸. O tratamento UHT promove a destruição de quase todas as formas de microrganismos do leite, aumentando de maneira significativa a vida comercial do produto, cuja conservação é assegurada por meses⁹.

No Brasil, o leite bovino UHT é hoje, o mais consumido, estando presente em 85% dos lares e representando 76% do volume de leite fluído consumido¹⁰. No Estado do Rio Grande do Norte, o consumo deste leite predomina nas três principais cidades¹¹.

Atualmente, pode-se encontrar no mercado algumas marcas de leite UHT suplementado com nutrientes essenciais, como forma de amenizar a ingestão insuficiente de alguns desses por parte da população^{12,13}. Nesse sentido, destaca-se a suplementação de produtos com vitaminas lipossolúveis¹⁴, dentre elas a vitamina A, cuja deficiência é considerada um problema de saúde pública de grande relevância no mundo¹⁵.

O uso de vitaminas para o enriquecimento de leites também é uma prática comum para compensar perdas decorrentes do processamento ou durante a estocagem. Desse modo, é habitual a indústria de alimentos adicionar maior quantidade de vitaminas do que a descrita no rótulo, o que é permitido, desde que justificado tecnologicamente^{16,17}. Porém, apesar da concentração do nutriente adicionado não poder corresponder a uma ingestão insignificante, também não pode ultrapassar o limite máximo diário tolerável, considerando as quantidades derivadas de outros alimentos da dieta e as necessidades do consumidor a que se destina¹⁷.

A preocupação em relação à confiabilidade dos valores de nutrientes declarados nos rótulos dos alimentos suplementados é crescente e alguns fatores, como a possível toxicidade de alguns deles, aumentam a necessidade de se determinar a composição química de micronutrientes em alimentos¹⁴.

Dessa maneira, a análise de vitamina A em leites suplementados torna-se importante tanto pelo papel que este nutriente exerce para a saúde, quanto para garantir a qualidade destes produtos e assegurar que a legislação vigente sobre esse tipo de alimento seja cumprida. Além disso, quantificar o conteúdo dos nutrientes adicionados ao leite após a etapa de processamento e o período de estocagem pode colaborar para o entendimento da forma mais adequada de suplementação desse alimento, evitando perdas ou excessos durante o procedimento.

No entanto, as análises de vitaminas não são consideradas de rotina na indústria de laticínios e estudos sobre os teores de vitamina A em leites integrais esterilizados são escassos. Neste aspecto, este estudo foi realizado com o objetivo de quantificar os níveis de retinol de leites UHT suplementados com esta vitamina e verificar sua conformidade com os valores especificados nos rótulos.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram analisadas três marcas de leite UHT suplementado com vitamina A comercializadas em supermercados da cidade de Natal - RN. Para cada marca de leite UHT foram utilizadas quatro caixas de 1 L pertencentes ao mesmo lote, totalizando doze amostras. Os produtos datavam tempo inferior a trinta dias de fabricação e não possuíam danos aparentes nas embalagens.

Para extração da vitamina A, o conteúdo de cada recipiente foi previamente homogeneizado durante 10

minutos em agitador magnético Fanem®, modelo 257 (São Paulo, Brasil), utilizando béquer de 1 L devidamente protegido da luz. De cada amostra, foram retiradas duas alíquotas de 1 mL de leite, que foram transferidas para tubos de polipropileno, também protegidos da luminosidade.

A extração foi realizada segundo o método de Giuliano et al.¹⁸ modificado. Para tanto, a cada tubo contendo 1 mL de leite foram adicionados 1 mL de hidróxido de potássio 50% (Vetec) e 1 mL de álcool etílico 95% (Vetec), para as etapas de hidrólise alcalina e desnaturação protéica. Em seguida, as alíquotas foram homogeneizadas durante 1 minuto e mantidas em banho-maria a 45 °C por duas horas, sendo agitadas a cada 15 minutos.

O reagente extrativo utilizado foi o hexano (Quimex), sendo adicionados 2 mL deste a cada tubo. Feita a adição, os tubos foram agitados por 1 minuto e centrifugados durante 10 minutos, após os quais o extrato hexânico foi transferido para outro tubo. Esse procedimento foi realizado três vezes, até a obtenção de 6 mL do extrato de cada amostra, que foram agitados e centrifugados por 5 minutos, para retirada de alíquotas de 2 mL. Estas foram evaporadas em banho-maria a 37 °C, sob atmosfera de nitrogênio.

Para a análise bioquímica do retinol, o extrato seco foi redissolvido em 500 µl de etanol absoluto (Merck) em grau de pureza para Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE). A concentração de retinol das amostras foi determinada por CLAE em cromatógrafo LC-10 AD Shimadzu, acoplado a um detector SPD-10 A Shimadzu UV-VIS e integrador Chromatopac C-R6A Shimadzu com uma coluna LC Shim-pack CLC-ODS (M) 4,6 mm x 25 cm. O comprimento de onda utilizado para detecção do retinol foi 325 nm. O cromatograma evoluiu nas seguintes condições: metanol 100% e fluxo 1,0 mL/min. A identificação e quantificação do retinol nas amostras foram estabelecidas por comparação com o tempo de retenção e a área do respectivo padrão (Figura 1A). A concentração do padrão foi confirmada pelo coeficiente de extinção específico (ϵ 1%, 1 cm = 1850 a 325 nm) em etanol absoluto (Merck)¹⁹.

Para avaliar a exatidão do método, foi adicionado padrão de retinol acetato a amostras de 1 mL de leite, procedendo-se a extração (exceto saponificação, pois o retinol acetato não resiste a essa etapa) e aplicação em CLAE, obtendo-se uma recuperação total do padrão interno de retinol adicionado às amostras.

A precisão foi avaliada por meio do teste de repetitividade, no qual triplicatas de uma amostra de leite,

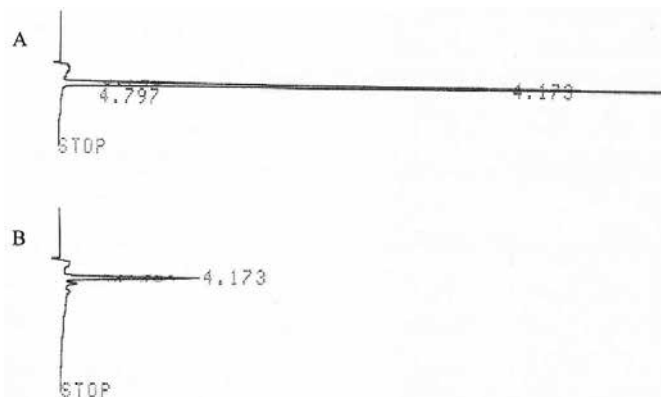


Figura 1. Perfis cromatográficos a 325nm do padrão de retinol (26,12ng/20µL) (A) e extrato de leite enriquecido com vitamina A (B).

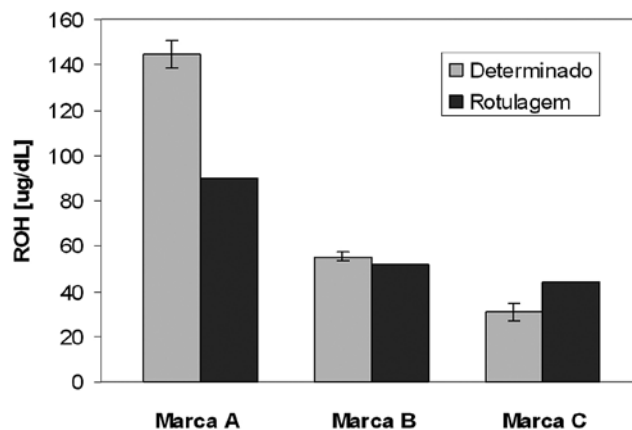


Figura 2. Concentração de retinol (µg/dL) em leites UHT suplementados, em comparação às quantidades de vitamina A declaradas na rotulagem.

que passaram pela etapa de extração, foram aplicadas em CLAE durante 3 dias alternados. O coeficiente de variação encontrado foi de 2,7%.

A curva padrão foi realizada utilizando padrão referência retinol todo trans (Sigma) em diferentes concentrações, que variavam de 2 a 32 ng/20µL. Os limites de detecção e quantificação foram baseados na linearidade da curva do padrão, sendo obtidos valores de 0,05 µg/mL e 0,1 µg/mL, respectivamente.

A concentração de retinol foi expressa em µg/dL e os resultados foram apresentados em média e desvio-padrão.

RESULTADOS

O perfil cromatográfico do retinol visualizado a partir da análise de um extrato de leite UHT suplementado com vitamina A é demonstrado na Figura 1B.

As concentrações médias de vitamina A encontradas nas marcas A, B e C foram, respectivamente, $144,7 \pm 6,1$ $\mu\text{g/dL}$; $55,4 \pm 1,9$ $\mu\text{g/dL}$; $30,7 \pm 3,9$ $\mu\text{g/dL}$. Os valores expressos nos rótulos, por sua vez, eram 90 $\mu\text{g/dL}$ (A), 52 $\mu\text{g/dL}$ (B) e 44 $\mu\text{g/dL}$ (C), como pode ser visto na Figura 2.

Verificou-se que somente uma marca de leite suplementado analisada (B) obteve concentração de vitamina A condizente com a declarada no rótulo do produto. A marca A apresentou, em média, 61% a mais da vitamina em relação à quantidade expressa na rotulagem. Já na marca C, a concentração média encontrada para a vitamina foi 30% menor do que a apresentada no rótulo.

DISCUSSÃO

As informações presentes nos rótulos dos alimentos são destinadas a identificar a origem destes, assim como sua composição e características nutricionais. Essas informações orientam o consumidor em relação à qualidade e quantidade dos nutrientes que compõem o produto, o que pode levar à escolha de determinados alimentos pelo público. Neste sentido, é de grande importância a fidedignidade das informações contidas na rotulagem²⁰.

No entanto, algumas pesquisas constataram resultados conflitantes no que diz respeito à declaração da concentração de nutrientes nos rótulos de alimentos. Em estudo sobre os teores de vitamina A em produtos enriquecidos, Fávoro et al.²¹ observaram que menos da metade das amostras analisadas apresentavam teor de vitamina A dentro da variação permitida pela legislação, que corresponde ao conteúdo vitamínico 20% inferior ou superior ao declarado no rótulo. Os autores constataram que 14% das amostras apresentavam teor abaixo da faixa permitida e 41% acima.

No presente estudo, duas das três marcas de leite enriquecido analisadas apresentaram quantidades de retinol conflitantes com as declaradas no rótulo, o que mostra a falta de cuidado em relação à suplementação de produtos com vitamina A.

A adição, em quantidades adequadas, de vitamina A em alimentos é uma estratégia válida, principalmente em regiões com populações carentes, para evitar as consequências da deficiência dessa vitamina, tais como: xerofalmia; cegueira noturna; alterações do paladar, anorexia; aumento da pressão intracraniana; entre outros. A deficiência desse micronutriente afeta milhões

de pessoas no mundo inteiro, principalmente crianças, sendo uma das principais causas evitáveis de cegueira. Por outro lado, a ingestão crônica excessiva de vitamina A também pode implicar em vômitos, perda de peso, febre, dor de cabeça, alopecia, pele seca, hepatomegalia, dores ósseas e articulares, entre outros sintomas¹⁵.

Ao comparar as concentrações de retinol encontradas nos leites analisados neste trabalho ao valor disponível na literatura referente a leites integrais não suplementados (21 $\mu\text{g/dL}$), pode-se inferir que a adição de vitamina A foi realizada nos produtos analisados. Porém, no caso específico da marca C, a suplementação ocorreu de maneira insuficiente. Isso destaca o fato de que a adição de micronutrientes em produtos industrializados também tem sido utilizada apenas como estratégia de marketing, na qual os interesses comerciais prevalecem sobre as necessidades nutricionais do indivíduo¹⁴.

Abranches et al.¹⁶, com base em diversos autores, ressaltam que a estabilidade das vitaminas durante a estocagem do leite processado depende das quantidades de ácido ascórbico e oxigênio presentes, uma vez que um é protetor e o outro atua na degradação da vitamina. Esse fato pode ter contribuído para uma diminuição no teor de vitamina A no leite da marca C, uma vez que o oxigênio residual nas embalagens UHT pode ocasionar perdas¹⁶, fazendo com que o conteúdo da vitamina fique inferior ao referido no rótulo.

Além disso, as condições de processamento do leite também podem ter levado à perda vitamínica, visto que a adição de nutrientes essenciais ocorre previamente ao processamento. Soma-se a este fato, a observação de que a vitamina A adicionada aos produtos alimentícios é menos estável, em relação à vitamina presente naturalmente nos alimentos²³.

Uma vez que a degradação nutricional ocorre durante o processamento e o armazenamento do produto, é recomendado que o teor de vitamina A utilizado no enriquecimento do leite garanta que sua concentração seja mantida em conformidade com a declarada no rótulo, até o momento do seu consumo. Para alcançar este objetivo, também são necessárias análises quanto à definição das condições ideais para a estabilização do conteúdo nutricional durante o período que antecede o consumo do leite¹⁶.

Em relação à marca A, a superdosagem de vitamina A pode ter sido feita prevendo as possíveis perdas desse micronutriente durante o processamento e estocagem do leite. No entanto, existe a necessidade do

controle das quantidades adicionadas, uma vez que o consumo do leite não pode implicar em ingestão excessiva da vitamina por parte do consumidor, considerando o consumo dos demais alimentos que são fontes naturais do micronutriente¹⁷.

Como forma de contornar problemas como esses, é importante que se estabeleçam os níveis mínimo e máximo de vitamina A por porção habitualmente consumida de produtos enriquecidos, visando à satisfação das necessidades nutricionais e à segurança do consumidor²¹.

CONCLUSÃO

Das três marcas de leite UHT suplementado estudadas, duas apresentaram diferenças entre o teor de retinol determinado e o especificado no rótulo do produto, estando o teor vitamínico fora da faixa de 20% de variação estabelecida pela legislação. Com base nisso, recomenda-se maior controle no que diz respeito à adição de vitamina A aos leites, a fim de que a quantidade a ser adicionada ao produto seja suficiente para garantir a conformidade com a rotulagem, sem, no entanto, implicar em teores excessivos no produto final.

REFERÊNCIAS

1. Guzmán EC, de Pablo SV, Yanes CGG, Zacarias IH, Nieto SK. Estudio comparativo de calidad de leche fluida y en polvo. *Rev Chil Pediatr* 2003; 74(3): 277-86.
2. Ferreira IM. Quantification of non-protein nitrogen components of infant formulae and follow-up milks: comparison with cows' and human milk. *Br J Nut* 2003; 90(1): 127-33.
3. Almeida-Muradian LB, Penteado MVC. Vitamina A. In: Penteado MVC. *Vitaminas: aspectos nutricionais, bioquímicos, clínicos e analíticos*. 1ª ed. São Paulo: Ed. Manole; 2003. p.55-72.
4. Saunders C, Ramalho RA, Leal MC. Estado nutricional de vitamina A no grupo materno-infantil. *Rev Bras Saúde Materno-Infantil* 2001; 1: 21-9.
5. World Health Organization - WHO. The optimal duration of exclusive breastfeeding. Note for the press no. 7. 2001, April 2. [acesso 2004 Jul 05]. Disponível em: [http://www.who.int/inf-pr-2001/en/note2001-7.html].
6. Ribeiro ELA, Ribeiro HJSS. Uso nutricional e terapêutico do leite de cabra. *Semin Cienc Agrárias*. 2001; 22(2): 229-35.
7. Brasil. Instrução Normativa nº 51, de 18 de set. 2002 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Aprova os Regulamentos Técnicos de Produção, Identidade e Qualidade do Leite tipo A, e o Regulamento Técnico da Coleta do Leite Cru Refrigerado e seu Transporte a Granel. *Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil*, Brasília, DF, 18 set. 2002. Seção 1, p. 13.
8. Brasil. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Portaria nº 146, de 07 de mar. 1996. Aprova o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Produtos Lácteos. *Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil*, Brasília, DF, 07 mar. 1996. Seção 1, p. 3977.
9. Souza LG, Santos GT, Sakaguti, ES, Damasceno JC, Matsushita M, Horst JA et al. Avaliação da composição do leite UHT proveniente de dois laticínios da Região Norte e Noroeste do Estado do Paraná. *Acta Scientiarum* 2004; 26(2): 259-64.
10. Associação Brasileira da Indústria de Leite Longa Vida - ABVL: uma trajetória de 15 anos de conquistas. São Paulo; 2009. [acesso 2010 Nov 03]. Disponível em: [http://www.abvl.org.br/Historia.asp].
11. Soares KMP, Góis VA, Aroucha EMM, Verissimo AMOT, Silva JBA. Hábitos de consumo de leite em três municípios do Estado do Rio Grande do Norte. *Rev Verde*. 2010; 5(3): 160-4.
12. Soares FB, Sousa JM, Dimenstein R. Avaliação da concentração de retinol em leite UHT ("Ultra High Temperature") comercializado em Natal. *Quim Nova* 2008; 31(2): 268-9.
13. Lima JA, Catharino RR, Godoy HT. Ácido fólico em leite e bebida láctea enriquecidos: estudo da vida-de-prateleira. *Ciênc Tecnol Aliment* 2004; 24(1): 82-7.
14. Paixão JA, Stanford TLM. Vitaminas lipossolúveis em alimentos - uma abordagem analítica. *Quim Nova* 2004; 27(1): 96-105.
15. Asakura L, Castro TG, Tomita LY. Vitamina A, retinóides e carotenóides. In: Cardoso MA, coordenadora, Vannucchi H, editor. *Nutrição e Metabolismo*. Rio de Janeiro (RJ): Guanabara Koogan; 2006. p. 81-103.
16. Branches MV, Della Lucia CM, Sartori MA, Pinheiro-Sant'ana HM. Perdas de vitaminas em leites e produtos lácteos e possíveis medidas de controle. *Alim Nutr* 2008; 19(2): 207-17.
17. Brasil. Portaria nº 31, de 13 de jan. 1998 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária do Ministério da Saúde. Aprova o Regulamento Técnico referente a Alimentos Adicionados de Nutrientes Essenciais. *Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil*, Brasília, DF, 31 jan. 1998. Seção I-E, p. 4.
18. Giuliano AR, Neilson EM, Kelly BE, Canfield LM. Simultaneous quantitation and separation of carotenoids and retinol in human milk by high-performance liquid chromatography. *Methods Enzymol* 1992; 213: 391-9.
19. Nierenberg DW, Nann SL. A method for determining concentrations of retinol, tocopherol and five carotenoids in human plasma and tissue samples. *Am J Clin Nutr* 1992; 56: 417-26.
20. Câmara, MCC, Marinho CLC, Guilam MC, Braga AMCB. A produção acadêmica sobre a rotulagem de alimentos no Brasil. *Rev Panam Salud Publica* 2008; 23(1): 52-8.
21. Fávoro RMD, Garrido NS, Garotti WDO, Yokosawa CE, Ilha MH, Jordão Junior AA et al. Teor de vitamina A em alimentos enriquecidos. *Rev Inst Adolfo Lutz* 1998; 57(1): 41-8.
22. Núcleo de Estudos e Pesquisas em Alimentação [NEPA]. *Tabela Brasileira de Composição de Alimentos [TACO]*. Versão II. 2ª ed., Campinas (SP): NEPA-UNICAMP; 2006.
23. Bartholomew BP, Ogden LV. Effect of emulsifiers and fortification methods on light stability of vitamin A in milk. *J Dairy Sci* 1990; 73(6): 1485-8.