

BIODISPONIBILIDADE DE FERRO EM FARINHA DO FÍGADO DE TAMBAQUI (*Colossoma macropomum*) ORIUNDO DE CATIVEIRO. (ESTUDO EM RATOS).

Eudevan souza GOMES; Lucia K.O. YUYAMA; Francisca C.A. SOUZA; Jaime P.L. AGUIAR; Risonilce F. S. SOUSA; Bruna Q.C. SANTOS.

Bolsista PIBIC/CNPq/INPA; Orientadora INPA/CPCS; Colaboradores INPA/CPCS; Bolsista CNPq/INPA.

1.Introdução

Na Amazônia, estima-se uma produção de 217.000 toneladas/ano de pescado (Val, 2009) e uma aquisição domiciliar *per capita* anual para o Amazonas de 30,0 kg comparado com 4,0 kg para o Brasil (IBGE, 2010), constituindo assim, a principal fonte de proteínas na alimentação humana (Oetterer, 2006). Manaus é o principal porto de desembarque de toda produção de pescado e a grande quantidade de subproduto advindo do processamento do pescado torna possível sua utilização como matéria prima para rações e produtos com valor agregado (Stori *et al.*, 2002). No Brasil, aproximadamente 50% da biomassa são descartadas (Pessatti, 2001), o que inviabiliza o aproveitamento do material residual, com vistas a sanar o grande problema de eliminação de matéria poluente e de difícil descarte, redundando em vantagens econômicas, sociais, ambientais e principalmente de saúde pública. Pelos aspectos de mercado o tambaqui (*Colossoma macropomum*), é a espécie mais cultivada na região amazônica (IBAMA, 2007), com produção estimada em 14 mil toneladas/ano (Inoue, 2011), justificando assim o objeto de escolha do presente estudo. Espera-se apontar estratégias de aproveitamento, considerando o grande desperdício desse subproduto, em particular o fígado, fonte superlativa de ferro, que eventualmente, possa ser de grande relevância na minimização dos processos carênciais dentre eles a anemia ferropriva. No Amazonas, a anemia por deficiência de ferro, é considerada um problema de Saúde Pública, (Alencar & Yuyama, 1997; Bressane, 2004), atrelada ao baixo consumo de ferro na dieta (Yuyama, *et al.*, 2000. 1999). Vários são os fatores que concorrem para o quadro da anemia, sendo a deficiência de ferro a mais importante e o principal fator de risco para a instalação da anemia ferropriva é o dietético, por meio do consumo insuficiente de alimentos fontes e da baixa biodisponibilidade de ferro da dieta (Assis, 2001). Para garantir uma alimentação adequada em ferro, é necessário conhecer não somente a quantidade deste mineral, mas também a sua biodisponibilidade, foco do presente estudo. Considerando a limitação de informações em relação ao aproveitamento do fígado do tambaqui, objetivou-se processar e caracterizar os constituintes nutricionais da farinha do fígado de tambaqui assim como a biodisponibilidade de ferro tendo ratos como modelo experimental. Espera-se contribuir com o fornecimento de subsídios para um melhor reaproveitamento do subproduto de tambaqui (fígado) e estimular a continuidade dos estudos, envolvendo seres humanos, e com isso minimizar um dos grandes problemas de saúde pública que é anemia ferropriva.

2.Material e Métodos

Foram utilizados fígados de tambaqui, oriundos das feiras livres, supermercados e restaurantes da cidade de Manaus, o processo de retirada e limpeza foi feita de maneira artesanal, seguido do armazenamento em caixa de isopor com gelo a uma temperatura próxima de 0°C e transportado para o Laboratório de Alimentos e Nutrição do INPA. O processamento consistiu de higienização em água corrente, cocção em panela inox por 10 minutos após o início da fervura e desidratação, onde os fígados foram dispostos em bandejas em camadas uniformes de aproximadamente 1,0 cm e secos em estufa com circulação de ar forçada à temperatura de 60 °C durante 72 horas, (IAL, 2008), triturados em processador doméstico até a obtenção de um pó e tamisados em malha com 1,5 mm de diâmetro. As análises microbiológicas para *Salmonella*, coliformes totais e fecais, seguiram a metodologia da (ICMSF, 1983). As análises físico-químicas em relação à umidade, cinzas, proteínas e lipídios, foram realizadas em triplicata (IAL, 2008). A determinação do teor de ferro foi realizada em triplicata pela técnica de espectrometria de absorção atômica, de acordo com o manual da Varian (2000). A fim de minimizar a contaminação por metais, todas as vidrarias foram imersas em solução de ácido nítrico a 30% por 12 horas. Os comedouros e outros materiais de aço inoxidável seguiram o mesmo processo, diferindo apenas na solução utilizada para desmineralização que foi o ácido Etilenodiaminotetracético (EDTA) 2%, seguida do enxague com água deionizada por seis vezes e secas em estufa. Por se tratar de pesquisa envolvendo o uso de animais o projeto foi submetido ao Comitê de Ética do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia – INPA e aprovado sob o número de protocolo 01/2012. As rações para os períodos de depleção e repleção foram formuladas de acordo com as recomendações da AIN-93 segundo (Reeves, *et al* 1993) O ensaio biológico foi desenvolvido durante 72 dias com 42 ratos machos (*Rattus norvegicus*, variedade *Albinus Rodentia mammalia*) da linhagem *Wistar*, oriundos do Biotério Central do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia - INPA. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado e dividido em dois períodos, depleção e repleção. O período de depleção consistiu da indução da deficiência de ferro em sete ratas com seis filhotes machos cada, no período da lactação (21 dias), seguido de mais sete dias perfazendo um total de 28 dias, nesse período os animais receberam ração à base de caseína AIN-93, sem adição de ferro na mistura salina. Os animais foram mantidos em caixas de polietileno com tampas de aço inoxidável medindo (15X36X30 cm)

forradas com serragem, a qual foi trocada a cada três dias para manutenção e higiene das gaiolas. Da mesma forma, os comedouros e bico dos bebedouros foram de aço inoxidável e receberam água e ração “*ad libitum*”. Ao final do período foi coletado sangue por meio de secção da porção terminal da cauda, determinando o nível de hemoglobina e seleção dos animais que participaram do período de repleção. O ponto de corte adotado para ratos anêmicos correspondeu a $Hb < 7g/dL$ e para ratos normais $Hb > 11g/dL$, segundo (Margoles, 1984). No período de repleção (14 dias) foram constituídos três grupos de oito animais cada. 1) Grupo controle - ratos anêmicos alimentados com ração a base de caseína de acordo com o AIN 93; 2) Grupo experimental - ratos anêmicos alimentados com ração AIN 93, tendo como fonte de ferro a farinha de fígado de tambaqui; 3) grupo pair-feeding - ratos anêmicos alimentados com ração AIN 93 com a quantidade controlada pela média ingerida pelo grupo experimental, distribuídos em blocos casualizados conforme a concentração de hemoglobina e peso. Nesta fase, os ratos foram mantidos em gaiolas individuais de aço inoxidável, e receberam ração e água deionizada “*ad libitum*.” As rações oferecidas durante o período experimental foram elaboradas de acordo com as recomendações de (Reeves et al 1993), (Tabela 1), contendo 35mg de Fe/kg de ração. O consumo de ração foi controlado diariamente e semanalmente a coleta de sangue e peso dos ratos. Durante o período experimental controlou-se a umidade e temperatura, em torno de 23°C, com ciclo de luz de 12 horas. Os dados foram analisados no programa INSTAT Versão 3.0 utilizando-se múltiplas comparações do Tukey-Kramer, considerando um nível de significância de 5% (Gomes, 1987).

3. Resultados e Discussão

As análises microbiológicas demonstraram ausência de *Salmonella* sp. e de 0,0 NMP.g⁻¹ de coliformes totais e fecais em todas as amostras de farinha de fígado. A farinha do fígado desidratada e pulverizada encontrava-se dentro dos Padrões Microbiológicos para Alimentos, confirmando as boas práticas de fabricação e as adequadas condições higiênico-sanitárias em todas as etapas do processamento, ou seja, em consonância com a Resolução - RDC nº 12, de 2 de janeiro de 2001 (BRASIL, 2001),.

As análises químicas demonstram que a farinha do fígado de tambaqui apresenta teores elevados de ferro, quando comparado com outras espécies e feijão Tabela 2. Não se pode negar a riqueza deste componente, ferro na farinha de fígado de tambaqui. O mesmo é extensivo aos teores de lipídios e proteínas (Tabela 2).

Tabela – 2 Composição química da farinha do fígado de tambaqui em 100g de base seca.

Minerais	Farinha fígado * tambaqui	Fígado cru * bovino	Fígado cru * frango	Feijão carioca cru
Umidade (g)	2,77 **	71,3	77,8	14,0
Cinzas (g)	3,53	1,5	1,2	3,5
Proteínas (g)	39,82	20,7	17,6	20,0
Lipídios (g)	17,81	5,4	3,5	1,3
Ferro (mg)	86,74	5,6	9,5	8,0

* Fonte: – TACO Tabela Brasileira de Composição de Alimentos (TACO). Núcleo de Estudos e Pesquisa em Alimentação (NEPA), UNICAMP. v.2. 4. ed. Campinas, 2011.

** Umidade residual.

Ao final do período de depleção, a concentração média de hemoglobina dos animais que receberam a ração deficiente em ferro foi significativamente baixa demonstrando que o método utilizado foi adequado aos propósitos do estudo. Esses resultados são similares aos viabilizados em laboratório na presente pesquisa, utilizando a mesma metodologia (Silva, 1998). No período de repleção, a hemoglobina obtida inicialmente para os grupos não apresentou diferença significativa ($p < 0,05$). Com sete dias de experimento apenas o grupo experimental recuperou a concentração de hemoglobina ($p < 0,05$) quando comparado aos demais grupos. Ao final de catorze dias os ratos que receberam a farinha de fígado de tambaqui aumentou significativamente ($p < 0,05$) a concentração de hemoglobina assim como os ratos dos demais grupos de ratos, demonstrando que o ferro presente na farinha de fígado do tambaqui é biodisponível (Gráfico 1).

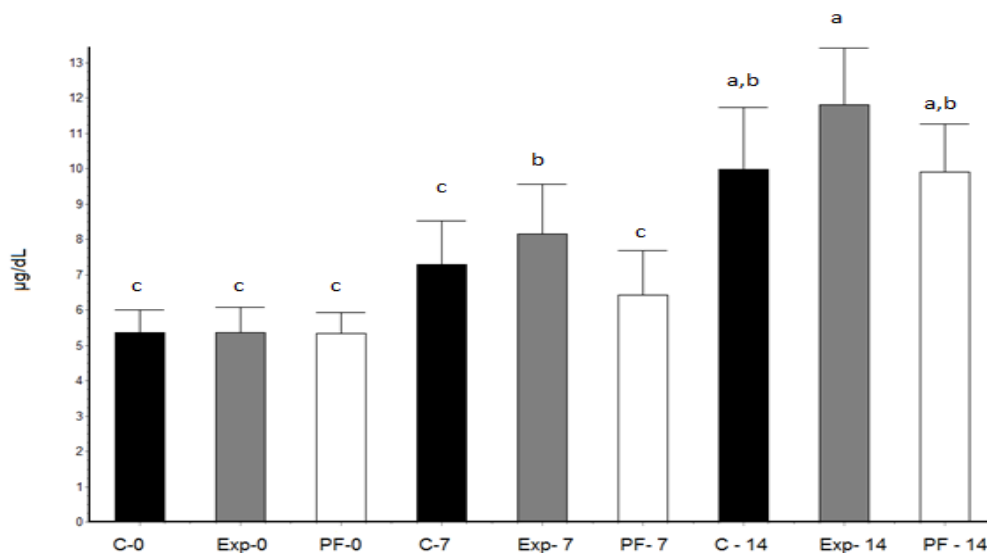


Gráfico 1: Valores de Hemoglobina (Hb) dos ratos dos grupos controle (C), Experimental (Exp) e Pair-feeding (PF) nos tempos 0, 7 e 14 dias (valores seguidos pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0.05$)).

No início do experimento não foi observada diferença significativa entre o peso dos grupos. Ao final de sete dias e catorze dias os ratos dos grupos Pair-feeding o ganho de peso foi significativamente inferior ($p < 0.05$) quando comparados aos ratos dos grupos controle e experimental, Gráfico 2.

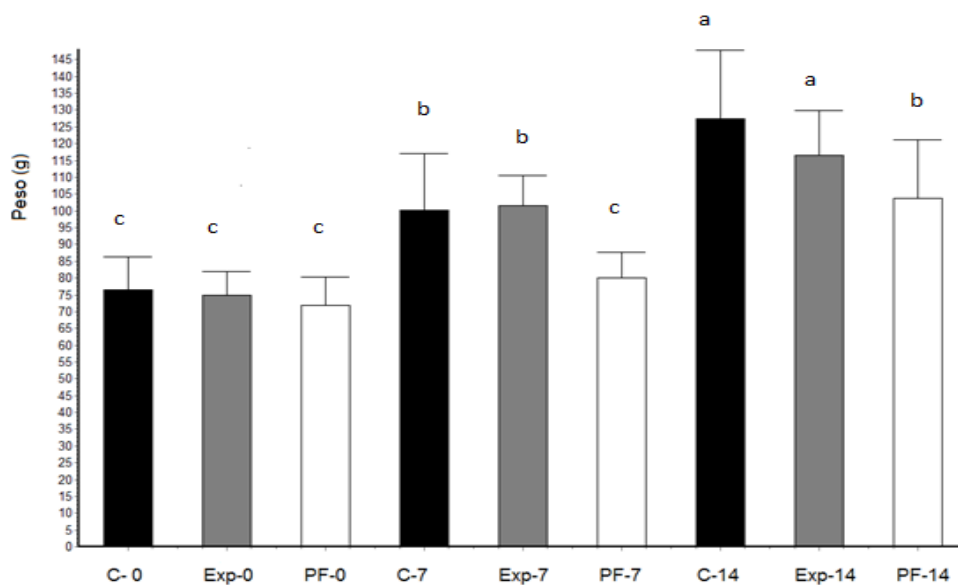


Figura 2: Peso dos ratos dos grupos controle (C), Experimental (Exp) e Pair - Feeding (PF) nos tempos 0, 7 e 14 dias. Valores seguidos pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0.05$).

4. Conclusão

Com base nos resultados apresentados, conclui-se que a concentração de ferro da farinha de fígado de tambaqui é altamente biodisponível, o que permite a continuidade deste estudo, avaliando o impacto da introdução desse alimento na dieta de pré-escolares, grupo de risco para anemia, possibilitando uma nova fonte alternativa e saudável aos amazonidas.

5. Referências Bibliográficas

- Alencar, F.H; Yuyama, L.K.O. 1997. Situação alimentar de pré-escolares do município de Barcelos, AM. In: Anais XXX Congresso Brasileiro de Pediatria, Rio de Janeiro, 4(1): 565.
- Assis, A.M.O. 2001. *Estado da arte da anemia na adolescência: distribuição e implicações para a saúde*. In: Publicação do Instituto Danone. Obesidade e anemia carencial na adolescência. São Paulo; p.33-46.
- BRASIL, Ministério da Saúde. 2001. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução - RDC nº 12, de 2 de janeiro de 2001.
- Bressane, L.R.B. 2004. *Anemia ferropriva em gestantes adolescentes do programa de assistência ao pré-natal do PAM-Codajás*. Data de defesa 01/09/2004. 94p. Dissertação de mestrado em Ciência de alimentos – UFAM.
- Gomes, F. P. 1987. Curso De Estatística Experimental. 12. ed. Piracicaba: Nobel. 467p
- IBAMA - Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis. 2007. Estatística da Pesca 2005 – Grandes Regiões e Unidades da Federação. Brasília-DF. 147p.
- IBGE. 2010. Pesquisa de orçamento familiar-POF, 2008-2009. Aquisição alimentar domiciliar *per capita* Brasil e grandes regiões. www.ibge.gov.br/home/pof/...2009/pof_20082009. Acessado em 31/07/2012.
- Inoue, L.A.K.A.; Boijink, C.L. 2011. Manaus a capital do tambaqui. Artigo em Hypertexto. Disponível em: Google http://www.infobios.com/Artigos/2011_1/tambaqui/index.htm. Acesso em: 6/3/2012
- INSTITUTO ADOLFO LUTZ - IAL. 2008. Métodos físico-químicos para análises de alimentos. 4º Ed. São Paulo: IAL, 1020p.
- INTERNATIONAL COMMISSION ON MICRO-BIOLOGICAL SPECIFICATIONS FOR FOODS. 1983. Microorganismos de los alimentos: técnicas de análises microbiológicas. Zaragoza: Acribia, 215 p.
- Margoles, M.S. 1984. Non-hematological complications of iron deficiency. *Nutr Rev.*, 2: 361-363.
- Oetterer, M. 2006. Proteínas do pescado– Processamento com intervenção na fração protéica. In Oetterer, M.; Regitano-D'arce, M.A.B.; Spoto, M.H.F. Fundamentos de Ciência e Tecnologia de Alimentos. Barueri, SP, Manole, p.99-101.
- Pessatti, M. L. 2001. Aproveitamento dos subprodutos do pescado. Meta 11. Relatório Final de Ações Prioritárias ao Desenvolvimento da Pesca e Aqüicultura no Sul do Brasil, Convênio Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), Universidade do Vale do Itajaí, MA/SARC, n. 003/2000.
- Reeves, P.G; Nielsen, F.H; Fahey, G.C.Jr. 1993. AIN-93 Purified diets for laboratory rodents: Final report of the American Institute of Nutrition Ad Hoc writing Committee on the reformulation of the AIN-76 A rodent diet. *J Nutr.*, 123: 1939-1951
- Silva SF, Aguiar JPL, Arakian SKL, Alencar FH, Yuyama LKO. 1998. Biodisponibilidade de ferro da dieta dos pré-escolares de diferentes ecossistemas da Amazônia. Estudo em ratos. In: Anais do 15º Congresso Brasileiro de Nutrição, Segurança Alimentar e Nutricional no Brasil, Alimentação Saudável: um Direito Humano Universal; 1998, 22-6 ago. Brasília: Associação Brasileira de Nutrição. p.40.
- Stori, F. T., Bonilha, L. E. C., Pessatti, M. L. 2002. Proposta de aproveitamento dos resíduos das indústrias de beneficiamento de pescado de Santa Catarina com base num sistema gerencial de bolsa de resíduos. In: Social, Inst. Ethos de Empresas e Resp. Econômico, *Jornal Valor*. Responsabilidade social das empresas. São Paulo, 373-406.
- TACO Tabela Brasileira de Composição de Alimentos (TACO). 2011. Núcleo de Estudos e Pesquisa em Alimentação (NEPA), UNICAMP. v.2. 4. ed. Campinas.
- Val, A.L; Santos, G.M. 2009. Grupos de Estudos Estratégicos Amazônicos. In: Ferreira, E.J.G. Recursos pesqueiros amazônicos: uma análise conjuntural. p. 19-66,
- Varian. 2000. Analytical methods of flame atomic absorption spectrometry. Mulgrave Victoria, Australia. p.23.
- Yuyama, L.K.O.; Aguiar, J. P.L.; Macedo, S.H.M.; Alencar, F. H.; Nagahama, D.; Favaro, D.I.T.; Afonso, C.A.; Vasconcelos, M.B.A.; Cozzollino, S.M.F. 2000. Avaliação da alimentação de Pré-escolares de Barcelos e Ajuricaba – Estado do Amazonas. *Revista do Instituto Adolfo Lutz*, 59 (1/2): 27-32.
- Yuyama, L.K.O; Nagahama, D; Nozawa, M; Souza, C.B; Alencar, F.H; Dantas, H.T; Szarfacs, S.C; Souza, S.B. 1999. Estado nutricional e ocorrência de anemia em lactentes atendidos na rede básica de saúde de Manaus-AM. In.: V Congresso Nacional da Sociedade Brasileira de Alimentação e Nutrição. p. 159.