



## **DETERMINAÇÃO DE PROTEÍNAS TOTAIS, NITROGÊNIO PROTEICO E NÃO PROTEICO PARA ESTIMATIVA DO TEOR DE FENILALANINA EM SOPAS DESIDRATADAS**

*Josianne Cristina Borri Stangarlin<sup>1</sup>; Caroline Zaupa<sup>2</sup>; Natalia Mucci Mendonça<sup>3</sup>; Samara Berbert Rosseto<sup>4</sup>; Louremi Bianchi Gualda de Souza<sup>5</sup>*

**RESUMO:** Os alimentos desidratados são resultado de uma técnica milenar utilizada para conservação. A sopa desidratada instantânea é um produto obtido pela mistura de ingredientes tais como: cereais e vegetais desidratados, farinha de cereais, leite em pó, condimentos, massas alimentícias, extrato de carne e outros aprovados, nas quais sofreram processos de desidratação, realizados através de indução de calor e conseqüente perda de água dos alimentos. Isso faz com que os nutrientes fiquem concentrados e os alimentos sofram uma considerável redução de peso e tamanho devido a ausência de água. Esse tipo de alimento possui valor nutricional muito semelhante ao alimento fresco, no entanto, pode apresentar um valor calórico até três vezes maior quando comparado ao alimento original. A conservação do teor nutricional desses alimentos leva a ter grande quantidade de proteínas, pois essas são essenciais para o bom funcionamento do nosso organismo. No entanto, para os fenilcetonúricos é um dado que merece alerta, pois a ingestão exagerada de proteínas acarreta em uma intoxicação por fenilalanina e deficiência de tirosina, podendo levar a retardos mentais. A fenilcetonúria se caracteriza pela deficiência ou ausência da enzima fenilalanina hidroxilase, responsável pela conversão de fenilalanina em tirosina. Este trabalho tem por finalidade caracterizar o valor aproximado de fenilalanina presente em diferentes amostras de sopas desidratadas, através da determinação de nitrogênio proteico e não proteico, determinados pelo método de Kjeldahl e o teor de fenilalanina na amostra será determinado por cálculos matemáticos.

**PALAVRAS-CHAVE:** sopa desidratada, fenilalanina, teor de nitrogênio, método de Kjeldahl.

### **1 INTRODUÇÃO**

A desidratação é um processo pouco agressivo que não altera a estrutura dos alimentos, retendo a maior parte do seu conteúdo nutricional. No caso das hortícolas e legumes, que dão origem às sopas em pó, consegue-se manter quase 100% das suas vitaminas, sobretudo a vitamina A e minerais como selênio, potássio e magnésio.

<sup>1</sup> Acadêmico do Curso de Farmácia do Centro Universitário de Maringá – CESUMAR, Maringá – Paraná. Programa de Iniciação Científica do Cesumar (PIBIC). [josi\\_stangarlin@hotmail.com](mailto:josi_stangarlin@hotmail.com)

<sup>2</sup> Acadêmico do Curso de Farmácia do Centro Universitário de Maringá – CESUMAR, Maringá – Paraná. [caroline\\_zaupa@hotmail.com](mailto:caroline_zaupa@hotmail.com)

<sup>3</sup> Acadêmico do Curso de Farmácia do Centro Universitário de Maringá – CESUMAR, Maringá – Paraná. [naty\\_mendoca@hotmail.com](mailto:naty_mendoca@hotmail.com)

<sup>4</sup> Acadêmico do Curso de Farmácia do Centro Universitário de Maringá – CESUMAR, Maringá – Paraná. [samarabr@hotmail.com](mailto:samarabr@hotmail.com)

<sup>5</sup> Orientadora, Professora Mestre do Curso de Farmácia do Centro Universitário de Maringá – CESUMAR. [louremi@cesumar.br](mailto:louremi@cesumar.br)

Devido à preservação nutricional, baixo custo, facilidade de transporte, fácil preparo, por não necessitar de refrigeração, juntamente com a correria do dia a dia e consequente falta de tempo para preparar alimentos, os produtos desidratados vêm se tornando uma alternativa nos dias atuais, mas não é suficiente para garantir uma dieta saudável, pois têm uma densidade energética até três vezes superior ao valor calórico do alimento fresco. Isso leva muitos profissionais a considerarem o alimento desidratado um risco para quem precisa emagrecer, além de não ser recomendado a adição de sal ao alimento preparado, para que mantenha a qualidade do alimento e saúde do consumidor. (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2004).

A desidratação desse tipo de alimento se dá por aumento da temperatura do produto, o que força a evaporação da água contida em sua composição. Quando isso ocorre, a umidade evaporada é removida graças à circulação do ar, o que favorece a concentração de nutrientes. (AZEREDO, 2004)

Dentre as fontes nutritivas mais completas, estão as proteínas que têm um papel fundamental no organismo, agindo na reparação e construção de tecidos. São essenciais em dietas para perder gordura e em exercícios físicos. Corresponde a aproximadamente 75% da matéria sólida do corpo. (VIEIRA, 2003).

A cada refeição ingerida deve conter todos esses aminoácidos essenciais, em quantidade suficiente para efetuar a síntese de proteína. Se alguns deles não estiverem presentes, quando necessário, os outros poderão ser estocados nas células até que venham a ser utilizados, degradados pelo fígado e utilizado como energia ou estocados na forma de gordura branca. (VIEIRA, 2003).

A fenilalanina (Phe) é um aminoácido essencial, e pode por decorrência de um erro genético não ser metabolizada, desencadeada por uma doença de herança autossômica recessiva denominada fenilcetonúria. Caracteriza-se por uma deficiência no sistema de hidroxilação deste aminoácido, podendo ser causada pela ausência ou redução da atividade da enzima hepática fenilalanina hidroxilase, responsável pela conversão da fenilalanina em tirosina. A deficiência da desta enzima resulta em níveis tóxicos de fenilalanina no sangue e conseqüente deficiência de tirosina. (SARNI, 2004).

O tratamento é realizado exclusivamente por meio de uma dieta com baixo teor de fenilalanina, predominantemente com vegetais, para manter os níveis plasmáticos da mesma em concentração próxima à de uma criança saudável normal (0,99- 1,32 mg/dL). Deve ser iniciado nos primeiros meses de vida para evitar o retardo mental, manifestação clínica mais grave da doença. Na ausência de tratamento ou quando o tratamento é iniciado tardiamente, danos graves e irreversíveis no desenvolvimento intelectual e neurológico são inevitáveis. Aparecem entre o terceiro e sexto mês de vida da criança, caracterizando-se por deficiência mental, eczema e hiperatividade. Em alimentos com reduzido teor protéico, a estimativa da concentração de fenilalanina costuma ser feita por cálculo matemático, a partir da concentração de proteína no alimento e da porcentagem de fenilalanina nesta proteína, dessa forma, a precisão da estimativa da concentração de fenilalanina depende, primeiramente, da exatidão da análise de proteína. (CLAUDIA GUIMARAES, 2005).

Nos seres humanos, o sistema enzimático completo necessário para o metabolismo da fenilalanina só é expresso no fígado. A reação tem a fenilalanina e o oxigênio molecular como substratos, utilizando a tetraidrobiopterina como coenzima da enzima principal, a fenilalanina hidroxilase. Além disso, a reação necessita de NAPH + H para manter o co-fator ativo. Os produtos da reação são a tirosina e a diidrobiopteridina, sendo que a propriedade catalítica da fenilalanina hidroxilase exige tanto a renovação contínua de tetraidrobiopterina a partir da 4<sup>a</sup>- carbinolamina e diidrobiopteridina – subprodutos da reação de hidroxilação, através da diidrobiopteridina-reductase, como a renovação a longo prazo do reservatório de tetraidrobiopterina por síntese a partir de seus precursores. Tal reação é possível por cerca de três quartos do fluxo metabólico

contínuo de fenilalanina. Em crianças normais, menos da metade da ingestão alimentar de fenilalanina é essencial à síntese de proteínas, sendo o resto, convertido em tirosina pelo sistema hepático já mencionado (CARDOSO, 2007).

Aproximadamente 97% dos indivíduos afetados por patologias relacionadas à fenilalanina exibem deficiência de fenilalanina-hidroxilase. Nestes casos, o bloqueio do metabolismo da fenilalanina causa um acúmulo deste substrato no sangue e na urina. Assim, vias de desvio secundárias são recrutadas, sendo capazes de metabolizar uma pequena fração do substrato acumulado, originando ácido fenilpirúrico, ácido fenil-lático, ácido fenilacético, entre outros, que são excretados em grandes quantidades na urina. Alguns destes metabólitos anormais são excretados no suor, e o ácido fenilacético em particular confere um odor forte de mofo ou de “camundongo”. O fenilpiruvato produzido compete com o piruvato pela piruvato translocase, enzima que promove a entrada de piruvato na mitocôndria, restringindo a produção de ATP a partir da glicose, único substrato oxidável para o cérebro. (CARDOSO, 2007)

Devido ao excesso de fenilalanina que ainda permanece no sangue mesmo com o “auxílio” das vias secundárias de metabolismo, as concentrações plasmáticas de vários outros aminoácidos se tornam moderadamente reduzidas, talvez em decorrência da inibição da absorção gastrointestinal ou do comprometimento da reabsorção tubular renal. (CARDOSO, 2007).

A fenilcetonúria, PKU, como é mundialmente reconhecida foi inicialmente descrita em 1934 pelo químico norueguês Asbjorn Fölling, através do relato de dois irmãos afetados por essa doença, e que apresentavam quadro clínico de retardo mental associado ao achado de excreção urinária de ácido fenilpirúrico e fenilacético e somente na década de 50 que foram desenvolvidas as primeiras fórmulas alimentares isentas de fenilalanina, permitindo a substituição precoce da alimentação do lactente por uma dieta pobre nesse aminoácido, e prevenindo de maneira amplamente eficaz o retardo mental. (AMORIM, 2005)

As patologias relacionadas à fenilalanina podem ser classificadas em PKU clássica, PKU leve ou Hiperfenilalaninemia não-PKU (HPA não-PKU), a depender do nível de fenilalanina sérica ao diagnóstico, que nos fornece uma estimativa da atividade enzimática residual, permitindo o estabelecimento do fenótipo bioquímico (JUNAURA BARRETTO, 2005).

A doença é detectada pelo "teste do pezinho", cuja obrigatoriedade, para todo o território brasileiro, consta no Estatuto da Criança e do Adolescente, inciso III do Artigo 10 da Lei nº 8069, de 13/07/1990<sup>2</sup>. Assim, o diagnóstico imediato permite uma identificação correta e rápida da doença, prevenindo uma doença mental grave, e favorecendo o início imediato da alimentação especial.

O indivíduo fenilcetonúrico deve limitar o teor de fenilalanina ingerido, pois, a elevação de fenilalanina no sangue, acima de 10mg/dl, permite a passagem em quantidade excessiva para o Sistema Nervoso Central, no qual o acúmulo tem efeito tóxico. O retardo mental é a mais importante seqüela dessa doença. (PASSOS, Claudia, 2005).

A alimentação com baixo teor de fenilalanina deve ser introduzida no primeiro mês de vida, e mantida pela vida inteira., no entanto, a quantidade de fenilalanina que cada criança pode ingerir costuma variar entre 250 e 500 mg por dia, dependendo de vários fatores, da idade e da sua capacidade em metabolizar a fenilalanina, seguindo também para a fase adulta. Comparativamente, crianças saudáveis ingerem aproximadamente 2500 mg de fenilalanina por dia. Assim, cada criança deve ser tratada individualmente, avaliando-se a sua capacidade de metabolização e garantindo uma ingestão deste aminoácido que permita a manutenção de sua taxa plasmática não superior a 3 mg/100 mL de fenilalanina (BARROS, Rosa Maria Cerdeira, 1997)

Assim, o tratamento para fenilcetonúria é essencialmente dietético e baseia-se na restrição da ingestão de fenilalanina, de forma que o paciente deve evitar o consumo de alimentos ricos em proteínas. (PASSOS, Claudia, 2005)

Torna-se necessário, portanto, o uso de misturas de aminoácidos livres ou hidrolisados protéicos, isentos ou com baixos teores de fenilalanina, de forma a suprir as necessidades protéicas e garantir o crescimento e desenvolvimento normais destes indivíduos (MIRA & MÁRQUEZ, 2000).

Os teores de fenilalanina em proteínas alimentares variam entre 4 e 6%, não existindo nenhuma proteína natural isenta deste aminoácido. Desta forma, o cardápio de fenilcetonúricos se restringe a alimentos restritos à proteínas (BARROS, Rosa Maria Cerdeira, 1997).

No Brasil, a prevalência de fenilcetonúria, segundo o Ministério da Saúde (MS), era estimada em 1:12 a 15 mil nascidos vivos. A prevalência ficou em 1:15.839 e em 2002 foi de 1 por 24.780. (CARVALHO, 2001).

Os sintomas desta anormalidade se manifestam por alterações no desenvolvimento da criança, sendo comum a ocorrência de alterações na pele, convulsões e, retardo mental progressivo e irreversível. Apesar da fenilcetonúria não ser curável até o momento, se diagnosticada precocemente, as suas consequências podem ser prevenidas a partir de um tratamento com uma alimentação especial, pobre em fenilalanina (LANFER-MARQUEZ, Ursula Maria, 1997).

Vale salientar que, a princípio, todos os alimentos podem ser consumidos, desde que o seu teor em fenilalanina não ultrapasse a tolerância individual. (NISHI<sup>2</sup>, Luciana Erica, 1997).

Apesar da importância de dados sobre a composição de alimentos, no Brasil, a maioria deles não possui dados sobre a composição em aminoácidos devido ao elevado custo da análise, somado à dificuldade em quantificar a fenilalanina em alimentos complexos, como por exemplo, nos alimentos com teor protéico inferior a 3%, a fenilalanina participa com menos de 0,1% no alimento, trazendo dificuldades analíticas adicionais para a sua quantificação, ou possuem tabelas desatualizadas e compiladas de outros países, o que não nos confere um resultado confiável, pois estes podem variar de acordo com a geografia e características do local. Todavia, para alguns deles existem dados atualizados e corretos, determinados nos próprios laboratórios dos fabricantes, constantes nos rótulos dos produtos (NISHI<sup>2</sup>, Luciana Erica., 1997).

Este trabalho terá por finalidade primordial a determinação de fenilalanina, para que consumidores que são providos da patologia descrita, possam adequar a sua dieta, restringindo substâncias nocivas aos mesmos. A pesquisa visa quantificar proteínas totais, nitrogênio protéico e não protéico de diferentes tipos de sopas desidratadas, a fim de avaliar a garantia do valor nutricional dos alimentos após o processo de desidratação. O teor de fenilalanina será estimado através de cálculos matemáticos a partir da concentração protéica real, ou seja, realizando a subtração de nitrogênio não protéico de nitrogênio total e multiplicando o valor obtido pelo valor de conversão adequado. A determinação da concentração protéica real é dada a partir do teor de nitrogênio protéico, que será determinado pelo método de kjedahl. (Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas, 2005).

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

As sopas desidratadas instantâneas de diferentes marcas comerciais e diversos sabores, comercializadas em embalagens plásticas revestidas internamente com alumínio, com validade variando entre 10 a 24 meses, serão adquiridas no comércio local da cidade de Maringá, e armazenadas em local fresco até o momento da análise. As análises serão realizadas em triplicata.

A determinação de nitrogênio protéico será realizada precipitando-se as proteínas com ácido tricloroacético (TCA) a 10% (CLAUDIA et al., 2005). Os precipitados e sobrenadantes resultantes serão analisados quanto ao teor de nitrogênio pelo método de Kjeldahl (ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS, 1995).

A determinação de nitrogênio total será realizada pelo método de kjeldahl com correção para nitrogênio não proteico, na qual consiste em:

Pesar aproximadamente 0,5g da amostra em papel vegetal (isento de nitrogênio), transferir para o balão digestor de kjeldahl, em seguida acrescentar mistura catalítica e 10 mL de ácido sulfúrico concentrado. Mineralizar até que se obtenha um líquido claro. Esfriar, adicionar ao balão digestor cerca de 5 mL de água destilada, cuidadosamente, sob água corrente ou transferir o líquido mineralizado, quantitativamente, para um balão volumétrico de 100 mL e completar o volume. Proceder a destilação utilizando o volume total digerido ou alíquota (10 mL) do volume de 100 mL (balão volumétrico), dependendo da técnica utilizada. O sal formado, borato de amônio, após processo de destilação titula-se com solução padrão de HCl 0,1N, com fator conhecido, através da fatoraçoão tris, até ponto de viragem do indicador.

Para converter o nitrogênio medido para proteína, devemos multiplicar o conteúdo de nitrogênio por um fator arbitrário, que representa um fator médio para o material em estudo, que é 6,25 para alimentos em geral e 6,38 para proteínas lácteas.

Por tanto, a quantificação de proteínas da amostra, será determinada pelo seguinte calculo:

**Proteína Bruta = conteúdo total de nitrogênio (Kjeldahl) x fator**

Para o cálculo estimativo de fenilalanina será considerado que cada proteínas possui de 4 a 6% de fenilalanina, não existindo nenhuma proteína natural isenta deste aminoácido. (PASSOS, Claudia. Estimativa do teor de fenilalanina em sopas desidratadas: importância do nitrogênio protéico e não protéico. Rev. Bras. Cienc. Farm. vol.41 no.3 São Paulo July/Sept. 2005).

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Espera-se obter resultados que comprovem que o teor de proteínas presentes nas sopas desidratadas, sejam suficientes para garantir uma alimentação saudável e o seu uso por fenilcetonúricos, sendo assim um alimento de escolha para esses indivíduos, por possuir baixo teor de fenilalanina, não ocasionando danos nocivos a saúde do indivíduo afetado por esta patologia.

### 4 CONCLUSÃO

O uso da metodologia de Kjeldahl proporcionará um resultado específico e confiável na determinação de proteínas presente nas amostras estudadas, possibilitando obter uma pesquisa fidedigna que auxiliará na alimentação das pessoas acometidas com a fenilcetonúria.

### REFERÊNCIAS

AMORIN, TATIANA; GATTO, SARA. Aspectos clínicos da fenilcetonúria em serviços de referência em triagem neonatal da Bahia: **Rev. Bras. Saude Mater. Infant.** vol.5 no.4 Recife Oct./Dec. 2005

AZEREDO, HENRIETTE MONTEIRO CORDEIRO DE. Fundamentos de estabilidade de alimentos. Fortaleza: **Embrapa Agroindústria Tropical**, 2004. 195 p.

BRASIL, Ministério da Saúde: **Guia alimentar Brasileiro**. Brasília, 2004.

CARDOSO, FERNANDA et al. Fenilcetonúria: **Escola Superior de Ciências da Saúde**, 2007.

GUIMARÃES, CLAUDIA PASSOS; LANFER-MARQUEZ, URSULA MARIA. Estimativa do teor de fenilalanina em sopas desidratadas instantâneas: importância do nitrogênio de origem não-protéica. **Rev. Bras. Cienc. Farm.** vol.41 no.3 São Paulo Julho/Set. 2005.

NISHI, LUCIANA ERICA. Estudo da composição química de flocos de cereais com ênfase nos teores de fenilalanina. **Ciênc. Technol. Aliment.** vol.17 no.3 Campinas Sept./Dec. 1997.  
SARNI, ROSELI. Temas de nutrição em pediatria. **Departamento de Nutrição da Sociedade Brasileira em Pediatria**, vol 1. [online] 2004.

SIROTIR CR, GALLI C. DOSSIER: Polyunsaturated fatty acids in biology and diseases N-3 fatty acids and diabetes. **Biomed Pharmacother** 56 (2002) 397–406.

VIEIRA, RICARDO. Fundamentos de Bioquímica. **Universidade Federal do Pará**: Pará, 2003.