

## Estudos sôbre óleos do fígado de cação

Desmobrânquios da família **Sphyrnidae**, Mir. Rib., gêneros **Car-**  
**charias**, Raf., **Galeocerdo**, Ranz., e **Odontaspis**, Shau.

por

Humberto T. Cardoso

*Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, D. F. — Brasil*

A grande procura dos óleos de fígado de cação foi determinada pela atual guerra e, nos Estados Unidos de América, sua indústria se desenvolveu grandemente, relacionada à produção em alta escala de vitamina A.

Entre nós também se fêz sentir essa procura, embora já há alguns anos, se tivesse iniciado no País, a produção desses óleos, em pequenas proporções, com organizações industriais rudimentares e sem contrôle técnico.

Por outro lado, a carência do óleo de fígado de bacalhau levou-nos a tentar a sua substituição pelo óleo de fígado de cação, mas logo surgiram os casos entre compradores e fabricantes, pelo desconhecimento das características técnicas que deveriam ser apresentadas por êsses óleos. Até á data presente, ainda não foram dissipadas tôdas as dúvidas a respeito das verdadeiras propriedades dos óleos de fígado de cação e os produtores não possuem elementos técnicos suficientes para garantirem, não só os métodos de preparação como também a riqueza vitamínica do produto elaborado.

Tornava-se, pois, necessária uma investigação da possibilidade real da substituição do óleo de fígado de bacalhau pelo de cação, afim de colhêr os dados necessários para a padronização da sua qualidade, analítica e tecnologicamente.

A bibliografia do assunto é bem grande, principalmente a estrangeira, encontrando-se muitos trabalhos sôbre a ocorrência da vitamina A nesses óleos, porém, poucos utilizaram um grupo razoável de exemplares, de modo a permitir uma conclusão mais segura sôbre as variações dessa riqueza vitamínica.

Entre nós, HERMESDORFF e PECKOLT, (5) orientaram-se no mesmo sentido, procurando determinar nos nossos peixes os extremos dessa ocor-

---

\* Recebido para publicação a 23 de novembro e dado à publicidade em dezembro de 1943.

rência. Não foram muitos os exemplares estudados nesse trabalho, em cada espécie ou gênero, porém os resultados obtidos já demonstravam o grande valor do aproveitamento desses peixes para uma indústria nacional de grande futuro. As determinações da vitamina A, feitas por esses autores, com o tintômetro de Lovibond, aparelho então indicado para esse fim, não nos permitiam comparação com as que modernamente são conhecidas, tôdas expressas em unidades internacionais por grama de óleo, uma vez que a conversão das unidades azues Lovibond nestas era muito controvertida.

Outro aspecto importante, que merecia cuidadosa investigação, era o da tecnologia desses óleos, pois, frequentemente se criticavam os métodos então usados, alegando os competidores uma destruição completa das vitaminas pela manipulação então usada.

Assim, esta nossa investigação foi iniciada com o propósito de esclarecer os pontos duvidosos, aproveitando o material excelente que nos era proporcionado pela Escola de Pesca Darcy Vargas, na Ilha da Marambaia, Estado do Rio, cuja secção industrial cuida do aproveitamento de todo o pescado obtido, com o ensinamento da pesca ao seus alunos. O volume de cações em uma mesma zona marítima sendo muito grande, com as condições de vida sempre semelhantes, podia permitir melhores conclusões sobre a variação das reservas vitamínicas, relacionada às espécies dos peixes ou outros quaisquer fatores que permanecessem variáveis.

### *I — DOSAGEM DA VITAMINA A*

Das dificuldades iniciais que encontrámos para sistematização do nosso trabalho, a da dosagem da vitamina A era a que se apresentava imediatamente e, assim, procurámos escolher, entre os métodos então conhecidos para esse fim, os que satisfizessem duas condições principais: precisão nas determinações, e facilidade de operação, para que fôsse possível operar com grande número de amostras diariamente.

A técnica que adotámos depois de todos os ensaios parece-nos a mais indicada, utilizando um aparelho de preço acessível, de fácil manêjo e, sobretudo, de consumo de reagente muito reduzido.

As técnicas de dosagem da vitamina A são sempre baseadas em uma das seguintes propriedades: a absorção máxima das radiações de 328 m $\mu$  ou a formação de um composto azul instavel com o AsC13 ou SbC13. Entretanto os métodos para se efetuarem essas dosagens são os mais variados, distinguindo-se, apenas, pela maior ou menor das medidas.

Ultimamente, com o desenvolvimento dos fotômetros fotoelétricos para a parte visível e ultravioleta do espectro solar, tem-se procurado utilizá-los.

afim de reduzir as causas de erro devidas às leituras, que devem ser rápidas, no caso da reação de Carr e Price.

Os principais inconvenientes e vantagens dos métodos de dosagem da vitamina A, em óleos de peixe, podem ser resumidos no seguinte: o método de absorção no invisível (328  $m\mu$ ) seria o melhor quanto à precisão e rapidez das medidas, porém, tem a seu descrédito dois fatores: um, é o do elevado custo dos aparelhos e seus acessórios e o segundo, devido à discussão em torno do fator da Liga das Nações, para a absorção específica da vitamina A,  $E_{1\%}^{1\text{cm}} = 1.600$ , que, segundo Holmes & Colbert, (6), deveria ser de valor 2.000 determinado espectroscopicamente, e, segundo Mc Farlan et al., (8), de 2.270 pelo método fotoelétrico, ambos a 328  $m\mu$ .

Outros autores indicam a retirada do insaponificável para a dosagem, afim de se evitarem certas interferências, mas isto torna ainda menos praticável o uso do método pelas usinas industriais ou laboratórios de grande movimento, pois, requerem cuidados muito especiais, como atmosferas inertes nas operações e solventes isentos de peróxidos.

Os métodos baseados na reação do SbCl<sub>3</sub> são, por sua vez, imprecisos, pois o composto azul que se forma não segue a lei de Beer e decompõe-se muito rapidamente, atingindo o máximo de intensidade em dez segundos.

Entretanto, por este método, se pode operar diretamente com os óleos em natureza e com qualquer riqueza vitamínica, apesar das restrições feitas por Emmerie, (4), que recomenda a retirada do insaponificável, para a dosagem de óleos de teores inferiores a 10.000 U. I./g., afirmando que certos triglicérides não saturados interferem com reação com o SbCl<sub>3</sub>. Esta interferência não tem sido comprovada e a maioria dos autores que o sucederam não têm atribuído importância a essa observação.

Para tornar praticável esse método, para trabalhos em grande escala, nos centros produtores e refinadores de óleos de fígado de peixes, seria necessário encontrar meios para: a) fazer a leitura rapidamente e sempre com o mesmo tempo, dentro do prazo de 10". Isto só pode ser conseguido com aparelhos dotados de célula fotoelétrica, pois, o olho humano carece de uma velocidade de adaptação suficiente para a medida e, mesmo com a maior prática, sempre permite erros significativos; b) trabalhar com cubas pequenas, para a maior economia dos reativos, levando em conta o número excessivo de amostras a serem analisadas diariamente.

O método de Dann & Evelyn, (3), desenvolvido e examinado com KOEN & SHERMAN, (7) em comparação com os métodos biológicos, mostrou-se o mais eficiente entre os que haviam sido divulgados até esta data e, só podiam

ser apresentados como inconvenientes, o custo elevado, entre nós, do colorímetro de Evelyn, e o uso de 10 ml. de reagente, em cada operação.

Procurando contornar estas duas últimas dificuldades, encontramos um aparelho que satisfaz as necessidades momentâneas das indústrias de óleos de peixe e laboratórios de controle. Trata-se do colorímetro fotoelétrico de Leitz, destinado a laboratórios clínicos, de custo aproximadamente 50 % menor do que o de Evelyn, podendo trabalhar com 60 % menos de reagente em relação ao método de Dann & Evelyn.

O aparelho, por sua construção especial, permite uma grande estabilidade da corrente, quando ligado à rede comum da luz e tem grande vantagem de não exigir qualquer padrão para ajustagem, em cada determinação. Traça-se uma curva padrão, com óleo de referência, dosado biologicamente e, nestas condições, se poderá obter diretamente, com a leitura no galvanômetro, a riqueza vitamínica do óleo examinado.

Com o jogo de filtros espectrais que acompanham o aparelho, é fornecido um filtro vermelho de número 244, de transparência entre 600 e 700  $m\mu$ . No nosso caso, necessitamos de um filtro localizado na zona de transparência máxima de 620  $m\mu$  correspondente ao máximo de absorção do composto azul da vitamina A.

Este novo filtro foi preparado com gelatina corada entre lâminas de vidro, tendo-se escolhido o corante Vermelho Complementar D, Agfa, cuja curva típica de transmissão apresentou máximo muito nítido e próximo do ponto desejado. Essa curva aparece no gráfico 1.

As características desse filtro são as seguintes: transmissão de 98 % com o filtro S61, no fotômetro gradual de PULFRICH, cuja transparência máxima é de 620  $m\mu$ .

As cubas fornecidas com o aparelho têm capacidade para 10 ml, mas a quantidade útil de líquido é ligeiramente superior a 4.0 ml. Assim, para evitar uma reflexão na superfície do líquido, quando o volume é de 4.5 ml., achamos conveniente a proteção, por papel ou tinta negra, da parte superior da cuba. Para isto, tomamos na cuba um volume de 4.5 ml. de água e revestimos a mesma, a partir da parte inferior do menisco, com papel negro de fotografia.

O reativo foi preparado de acordo com as normas conhecidas e considerando as observações de DANN & EVELYN, em apóio às de CARR & PRICE, (2), quanto à pureza e concentração do mesmo. Assim, usamos a concentração de 22.5 % para a solução de SbCl<sub>3</sub> em clorofórmio, tendo-se secado este último com Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anidro, para melhor conservação do reativo.

A dosagem é praticada do seguinte modo: a amostra de óleo é pesada e dissolvida em clorofórmio, de modo a se obterem soluções a 1% para os óleos de teores acima de 5.000 U. I. g. e de 2 a 20% para os mais pobres. Nos casos de produtos muitos ricos em vitaminas A, a solução inicial deverá ser diluída até que se obtenham leituras na zona média da escala do galvanômetro. O gráfico (2) para a leitura das riquezas vitamínicas está construído com soluções a 1%. Quaisquer resultados com concentrações acima ou abaixo dessa deverão ser divididos ou multiplicados pelos respectivos múltiplos.

TABELA I

*Resultados obtidos com o "VOGAN" no colorímetro fotoelétrico*

C %	E <sub>1cm</sub>	U. I.
0.35	0.552	25.665
0.30	0.523	21.999
0.25	0.495	18.332
0.20	0.432	14.666
0.15	0.347	10.999
0.10	0.244	7.333
0.05	0.125	3.666

A técnica de operação é a seguinte: o aparelho é regulado, colocando-se na cuba 4.5 ml. do reagente puro, estando interposto o filtro espectral, aguardando-se três minutos após a ligação da lâmpada, para completo aquecimento do filamento, quando, então, se fará com que a agulha do galvanômetro corresponda à divisão 100 da escala.

A cuba com o reagente puro é, então, substituída por uma outra vasia, onde se irá proceder à medida, com a solução da amostra em exame. Diretamente no aparelho, medem-se 0.4 ml. da solução do óleo na cuba, a seguir três gotas de anidrido acético e, finalmente, 4,0 ml. do reativo. Esta adição deverá ser feita por meio de bureta ou pipeta da precisão, porém de escoamento rápido, para permitir uma agitação da mistura e uma homogenização imediata da côr formada.

As operações anteriores são feitas com a lâmpada ligada e, assim, depois de dois segundos de oscilação, o ponteiro para, anotando-se então a divisão da escala sobre a qual se estabilizou. Com esta técnica, é possível obter uma sucessão de resultados constantes, com a mesma amostra.

GRÁFICO 1

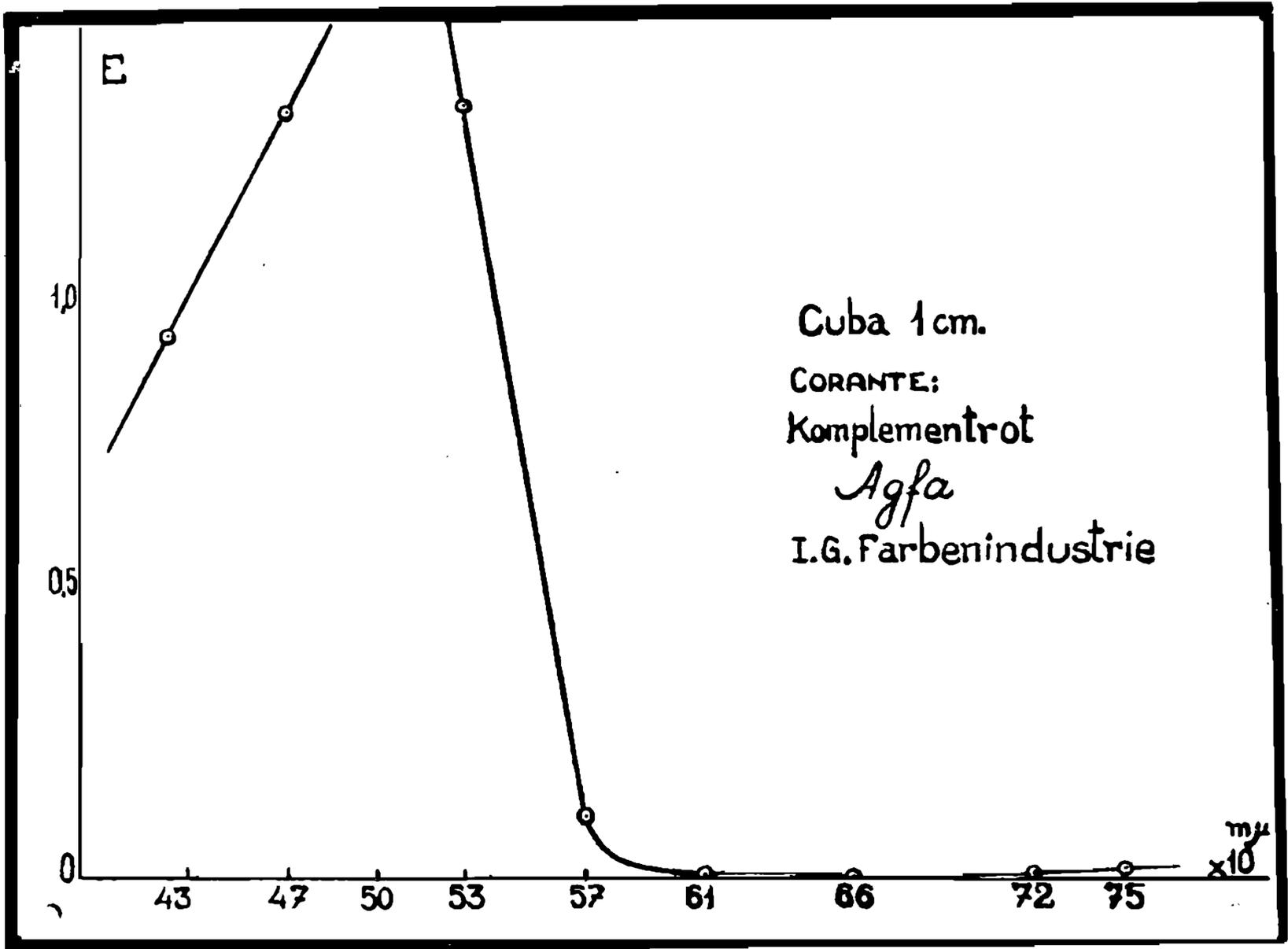


GRÁFICO 2

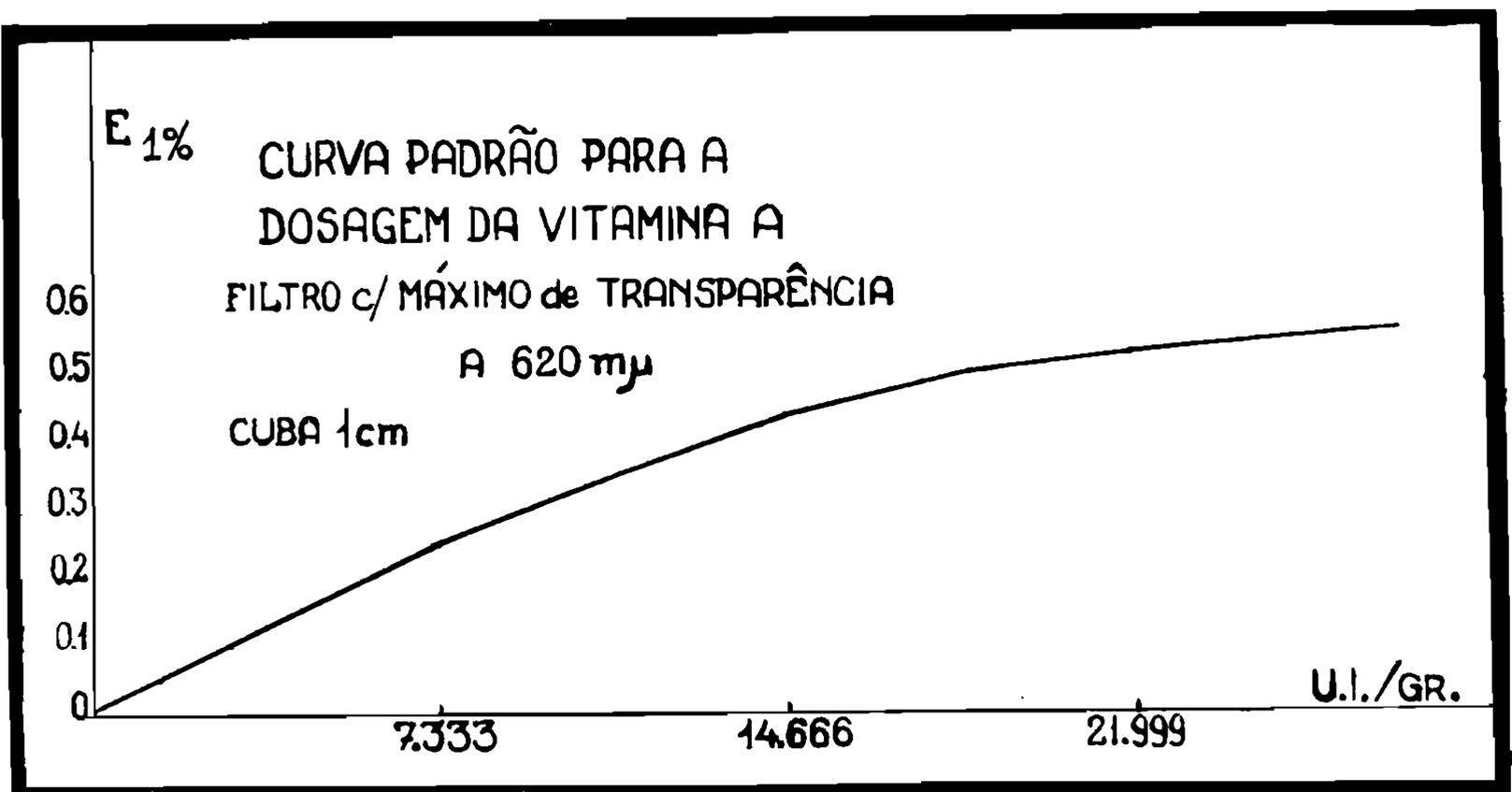


TABELA 2

CORRESPONDÊNCIA ENTRE AS LEITURAS NO GALVANÔMETRO E O TEOR EM VITAMINA A

MEDIDA NA ESCALA	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
20									25.635	23.768
30	21.999	20.164	18.332	17.575	16.619	16.062	15.364	14.666	14.148	13.674
40	13.199	12.725	12.293	11.868	11.450	10.939	10.643	10.322	10.003	9.682
50	9.388	9.041	8.756	8.472	8.187	7.902	7.618	7.333	7.115	6.869
60	6.653	6.438	6.222	6.036	6.791	5.575	5.390	5.175	4.990	4.774
70	4.590	4.405	4.220	4.035	3.850	3.663				

A curva padrão que apresentamos no gráfico 2 foi obtida com várias diluições do produto "VOGAN", dosado espectrofotometricamente a 328 m $\mu$  e controlado biologicamente no nível de 73.000 U. I./g.

Na tabela 1 aparecem essas diluições e os dados obtidos no aparelho, e, na tabela 2, a correspondência entre a leitura na escala do aparelho e o número de unidades internacionais por grama de óleo, quando a concentração da amostra é de 1%.

## II — Ocorrência da Vitamina A nas várias espécies estudadas na zona circunvizinha da Ilha da MARAMBAIA

Como já dissemos, muitos autores estrangeiros têm dedicado trabalhos ao estudo da variação do teor vitamínico do óleo de fígado de cação. Essa variação tem sido assinalada como sendo muito grande, e, dado o pequeno número de exemplares estudados, algumas vezes se terá concluído erroneamente sobre as propriedades biológicas de determinadas espécies. Por outro lado, é de grande interesse o conhecimento das relações existentes entre essa riqueza vitamínica e certos fatores, para orientação, não só dos pescadores como também para o estudo da biologia desses peixes.

Essa orientação levou-nos a sistematizar a coleta dos exemplares durante um ano, loteando-os diariamente e por suas diferentes espécies. Os resultados que conseguimos obter, depois desse período, já fornecem dados interessantes para conclusões e, pelo menos nessa zona, sabemos quais os indivíduos que interessam mais à usina preparadora de óleo de fígado de cação.

O método aqui adotado não perturbou o ritmo industrial do aproveitamento do pescado, ao contrário, auxiliou-o muito, e dêsse modo pode ser indicado para a reprodução de inquéritos semelhantes em outros pontos do litoral brasileiro.

Os valores médios que serão expostos não indicam que as riquezas em vitamina A oscilam pouco ao seu redor. As oscilações observadas são de grandes amplitudes, muitas vezes, dentro de um mesmo cardume.

Como foi dito antes, todos os exemplares capturados eram loteados diariamente e agrupados por espécies, sendo a média das dosagens do dia o valor atribuído ao lote correspondente.

Outra observação que se faz, imediatamente, no exame dos quadros que apresentamos, é o da irregularidade da ocorrência de certas espécies, como o cação Galha-preta, *C. limbatus*. Do cação Anequim só colhemos três amostras, em um ano.

O método empregado para a pesca determinou, de certo modo, uma maior frequência de dadas espécies, pois os aparelhos usados exigem certas profundidades ou qualidade de iscas apropriadas.

A rede caçoeira é um aparelho que trabalha, de preferência, nas enseadas, por exigir pequena profundidade. Com este método, notou-se uma maior frequência de certas espécies e, principalmente, de exemplares do sexo feminino. Isto parece ser devido à procura de zonas mais tranquilas para a procriação. Não fica excluída, entretanto, a captura de exemplares machos, de espécies variáveis, que entram nas enseadas, perseguindo cardumes de sardinhas ou outros peixes.

Sob o ponto de vista da pesca para industrialização do óleo de fígado dos peixes, este método deixa muito a desejar, seja pelo fato de que os exemplares do sexo feminino, após o parto, e os seus filhos dão óleos de teores sempre muito baixos, como também, pela possibilidade de se exterminarem as espécies, pela pesca intensiva que ora se processa.

O espinhel, ao contrário, é um aparelho fácil de lançar em qualquer ponto do mar e os tamanhos e qualidades dos exemplares ficam condicionados a alguns fatores já conhecidos. Assim, quanto maiores forem os anzóis e iscas respectivas, tanto maiores serão os exemplares capturados, eliminando-se assim a matança dos indivíduos novos. Outro fator que merece atenção é a isca que se usa: nota-se que as iscas ditas brancas atraem espécies menos vorazes, como os cações da família *Sphyrnidae* (martelo, cambeba, etc.), enquanto que as iscas sanguíneas, como a carne de bôto ou de bonito, são preferidas por espécies como a *Galeocerdo maculatus* (tintureira), cuja voracidade já é proverbial.

Dêste modo, o espinhel, a-pesar-de ser um aparelho de menor rendimento em volume de pescado, é o de mais eficiência para a indústria do óleo, pois, geralmente, os exemplares capturados são maiores e frequentemente machos, sendo em ambos os casos, por essas razões, mais ricos em vitamina A.

A influência do sexo fica evidenciada pelos quadros que expomos a seguir e confirma a opinião que é geralmente admitida.

A estação do ano em que se procede a captura não parece ter influência decisiva sobre o teor vitamínico, pelo menos, das espécies que ocorrem durante todo o ano. O que parece suceder é que as demais espécies emigram de seus pesqueiros habituais e vêm a ser colhidas acidentalmente, como no nosso caso, dentro das enseadas, onde procuraram tranquilidade para a procriação. Nessas condições, os teores baixos encontrados, conseqüentes dos estádos particulares da vida dos peixes, como fêmeas em gestação ou filhos novos, puderam ser confundidos com um efeito decorrente da estação do ano,

Nestas condições, a época influiria somente sobre a qualidade das espécies encontradas, cujos valores médios são variáveis.

O aumento dos pesos dos fígados e do óleo contido nos mesmos, decorrente das estações do ano, também não pôde ser comprovado pelo exame do material que obtivemos para estudo.

A alimentação normal das espécies é que parece ter decisiva influência sobre a reserva vitamínica, conforme se poderá ver mais adiante. Ainda nesta suposição, se encontra uma explicação para a observação feita no parágrafo anterior, referente ao aumento do volume de matéria gorda, nos fígados dos cações. Assim, com a estação realmente variam, numa mesma região, as espécies dos outros peixes que servem de alimento dos cações, bem como certos cetáceos ricos em gorduras, que então poderão ser mais freqüentes. A ingestão mais elevada desses novos alimentos, durante essa época, pode determinar o aparecimento de maior quantidade do óleo armazenado nos fígados dos cações e, conseqüentemente, uma diminuição do teor vitamínico dos mesmos, simplesmente por uma diluição. Mas isto não quer dizer que a estação é a responsável por essa alteração e, como prova indiscutível disto, se poderá mencionar o fato de que as espécies que se alimentam somente de moluscos ou peixes pequenos, de carne branca (pescadinha, etc.), não apresentam quaisquer variações, nessas ocasiões.

Deve-se notar, ainda, no exame dos quadros que apresentamos, que, em uma mesma espécie e num mesmo lote, se poderão encontrar resultados bem diferentes, o que faz lembrar que essa reserva deve estar condicionada diretamente à natureza da alimentação adventícia desses peixes.

Mas, de uma maneira definitiva, a observação dos resultados expostos leva à conclusão de que, realmente, existem espécies e, mesmo, gêneros, cuja média de reserva vitamínica seja mais elevada que em outras.

Reforça essa impressão o fato de que os valores mais elevados que encontramos, num ano de trabalho, foram de exemplares machos, grandes, captu-

rados dentro da enseada, quando perseguiram cardumes de sardinhas. Pensamos, pois, que essa excepcional riqueza, nunca mencionada antes na literatura científica, para êsses peixes, deve ser atribuída ao fato de se os ter surpreendido pouco tempo após a ingestão de grandes quantidades do alimento fortemente vitaminado.

A espécie mais pobre dentre as estudadas, a Tintureira, *G. maculatus*, é exatamente a mais voraz, atacando normalmente os peixes maiores e, mesmo, os cações de certo porte, os cetáceos, como os botos e até tartarugas grandes.

Os resultados conseguidos com os cações do gênero *Sphyrna*, cuja média em vitamina A é a maior entre as espécies estudadas, vêm trazer um bom apoio à orientação anterior. Sendo cações tidos como mansos, alimentando-se praticamente de crustáceos, as oscilações encontradas nunca foram excessivas ou, pelo menos, da ordem das observadas com as outras espécies. O teor médio foi normalmente elevado e, sobretudo, o rendimento em óleo foi sempre pequeno e menor do que em qualquer outra espécie estudada.

### EXAME DAS TABELAS

Tabelas de 3 a 14 — Teor médio de vitamina A, expresso em unidades internacionais, obtidas nos vários lotes dos diferentes meses e durante um ano.

A razão que nos levou a distribuir pelos diferentes meses os dados correspondentes obtidos, foi a de procurar demonstrar, não só a possível influência da estação do ano, como também o desaparecimento de determinadas espécies, periodicamente.

O valor atribuído a cada lote representa o valor vitamínico de uma amostra média dos exemplares colhidos no dia.

Quando coexistiam os dois sexos, cada lote era constituído por um dos sexos.

Sendo o primeiro ano de pesca sistematizada na Escola, utilizando somente um dos barcos pequenos, o número de lotes colhidos não foi grande. Nos anos subseqüentes, continuar-se-á o inquérito e, já agora, com outros barcos no trabalho da pesca. Deste modo, maior número de exemplares será colhido e talvez novas observações surjam.

Entretanto, o presente trabalho repousa sobre dados colhidos de 3.085 exemplares.

Na tabela 15, resumimos os dados dessas tabelas mensais e ali se constatarão melhor as variações encontradas.

Ressalta a supremacia generalizada dos exemplares machos sobre os femininos, em relação à reserva vitamínica.

As diferenças notadas são enormes e, como indicamos antes, as médias obtidas para cada lote não as mostram suficientemente claras. Variam os teores de indivíduos para indivíduos, desde alguns praticamente sem vitamina até outros excepcionalmente ricos. Entretanto, mesmo os mais pobres são geralmente do mesmo nível que o dos bons óleos de fígado de bacalhau.

Procuramos ainda relacionar a riqueza em vitamina A com os tamanhos dos peixes. Nenhuma ligação foi observada, como se poderá deduzir do exame dos dados da tabela 16, representado no gráfico 4. Si, em um caso, o tamanho médio era grande, ao mesmo tempo que a riqueza vitamínica, como no caso do *Carcharias lamia*, os teores mais baixos que encontramos correspondem exatamente aos peixes de tamanho médio mais elevado.

Só resta a conclusão de que a alimentação adventícia seja o fator preponderante nessas altas e baixas verificadas, de vez que a influência da época não pode ser comprovada mediante os dados colhidos.

TABELA 3

Abril — 42

LOTES	C. LAMIA		G. MACULATUS		C. LIMBATUS		O. AMERICANUS		FAM. SPHYRNIDAR		C. POROSUS	
	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂
1	11.875		1.200	—	5.275	—	1.000	—	9.091	—	—	—
2	—	—	1.000	—	—	—	3.370	—	—	—	—	—
3	—	—	—	—	—	—	1.200	—	—	—	—	—
4	—	—	—	—	—	—	1.000	—	—	—	—	—
MÉDIAS	11.875	—	1.100	—	5.275	—	1.642	—	9.091	—	—	—
MÉDIAS P/ESPÉCIE	11.875		1.100		5.275		1.642		9.091		—	

TABELA 4

Maio — 42

LOTES	C. LAMIA		G. MACULATUS		C. LIMBATUS		O. AMERICANUS		FAM. SPHYRNIDAE		C. POROSUS	
	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂
1	—	12.077	1.000	—	4.100	—	850	—	—	30.070	—	—
MÉDIAS	—	12.077	1.000	—	4.100	—	850	—	—	30.070	—	—
MÉDIAS P/ESPÉCIE	12.077		1.000		4.100		850		30.070		—	

Junho — 42

TABELA 5

LOTES	C. LAMIA		G. MACULATUS		C. LIMBATUS		O. AMERICANUS		FAM. SPHYRNIDAE		C. POROSUS	
	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂
1	—	11.430	1.000	1.320	—	15.364	—	—	—	28.297	—	19.248
2	—	53.724	—	12.077	—	—	—	—	—	—	—	—
3	—	26.400	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
4	—	47.536	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
5	—	27.822	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
MÉDIAS	—	33.382	1.000	6.698	—	15.364	—	—	—	28.297	—	19.248
MÉDIAS P/ESPÉCIE	33.382		3.849		15.365				28.297		19.248	

Julho — 42

TABELA 6

LOTES	C. LAMIA		G. MACULATUS		C. LIMBATUS		O. AMERICANUS		FAM. SPHYRNIDAE		C. POROSUS	
	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂
1	6.553	167.712	2.000	4.754	—	—	2.000	7.617	—	39.962	20.164	26.600
2	11.862	32.124	—	—	—	—	10.643	—	—	23.768	22.883	20.164
3	—	—	—	—	—	—	49.344	—	—	33.638	—	13.674
4	—	—	—	—	—	—	—	—	—	37.032	—	—
5	—	—	—	—	—	—	—	—	—	24.716	—	—
MÉDIAS	9.207	99.918	2.000	4.754	..	..	20.662	7.618	—	31.823	21.523	20.146
MÉDIAS P/ESPÉCIE	54.562		3.377		—		14.140		31.823		20.834	

Agosto — 42

TABELA 7

LOTES	C. LAMIA		G. MACULATUS		C. LIMBATUS		O. AMERICANUS		FAM. SPHYRNIDAE		C. POROSUS	
	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂
1	12.725	—	—	—	—	—	1.000	—	—	16.062	4.035	9.682
2	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	4.590	8.472
3	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	9.041	4.035
4	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	4.035	8.187
5	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	4.590	4.590
6	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	8.187	4.590
7	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	8.472	8.187
MÉDIAS	12.725	—	—	—	—	—	1.000	—	—	16.062	6.135	6.227
MÉDIAS P/ESPÉCIE	12.725		—		—		1.000		16.062		6.181	

TABELA 8

Setembro — 42

LOTES	C. LAMIA		G. MACULATUS		C. LIMBATUS		O. AMERICANUS		FAM. SPHYRNIDAE		C. POROSUS	
	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂
1	15.364	—	—	—	—	—	—	—	—	—	5.175	6.438
2	4.590	—	—	—	—	—	—	—	—	—	12.293	6.050
3	3.850	—	—	—	—	—	—	—	—	—	6.653	6.653
4	58.000	—	—	—	—	—	—	—	—	—	29.332	4.400
5	1.400	—	—	—	—	—	—	—	—	—	15.364	7.755
MÉDIAS	16.640	—	—	—	—	—	—	—	—	—	13.763	6.258
MÉDIAS P/ESPÉCIE	16.640		—		—		—		—		10.011	

TABELA 9

Outubro — 42

LOTES	C. LAMIA		G. MACULATUS		C. LIMBATUS		O. AMERICANUS		FAM. SPHYRNIDAE		C. POROSUS	
	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂
1	7.618	—	—	—	—	—	—	—	—	—	12.900	5.900
2	23.768	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	4.220
3	3.668	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
4	13.436	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
5	43.400	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
6	16.819	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
7	1.415	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
MÉDIAS	15.732	—	—	—	—	—	—	—	—	—	12.900	5.060
MÉDIAS P/ESPÉCIE	15.732		—		—		—		—		8.980	

TABELA 10

Novembro — 42

LOTES	C. LAMIA		G. MACULATUS		C. LIMBATUS		O. AMERICANUS		FAM. SPHYRNIDAE		C. POROSUS	
	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂
1	7.067	—	5.175	100					32.000	41.400		
2	10.150									31.000		
3										20.164		
4										14.148		
5										50.000		
6										30.000		
7										35.150		
8										15.400		
9										87.996		
10										64.000		
11										14.666		
MÉDIAS	8.608	—	5.175	100					32.000	36.720		
MÉDIAS P/ESPÉCIE	8.608		2.637						34.360			

TABELA 11

Dezembro — 42

LOTES	C. LAMIA		G. MACULATUS		C. LIMBATUS		O. AMERICANUS		FAM. SPHYRNIDAE		C. POROSUS	
	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂
1	50.800	50.800	600	—						47.536	13.000	5.791
2	—	3.000	6.869							64.248		
3										67.276		
MÉDIAS	50.800	26.900	3.734							59.686	13.000	5.791
MÉDIAS P/ESPÉCIE	38.850		3.734		—				59.686		9.395	



TABELA 15

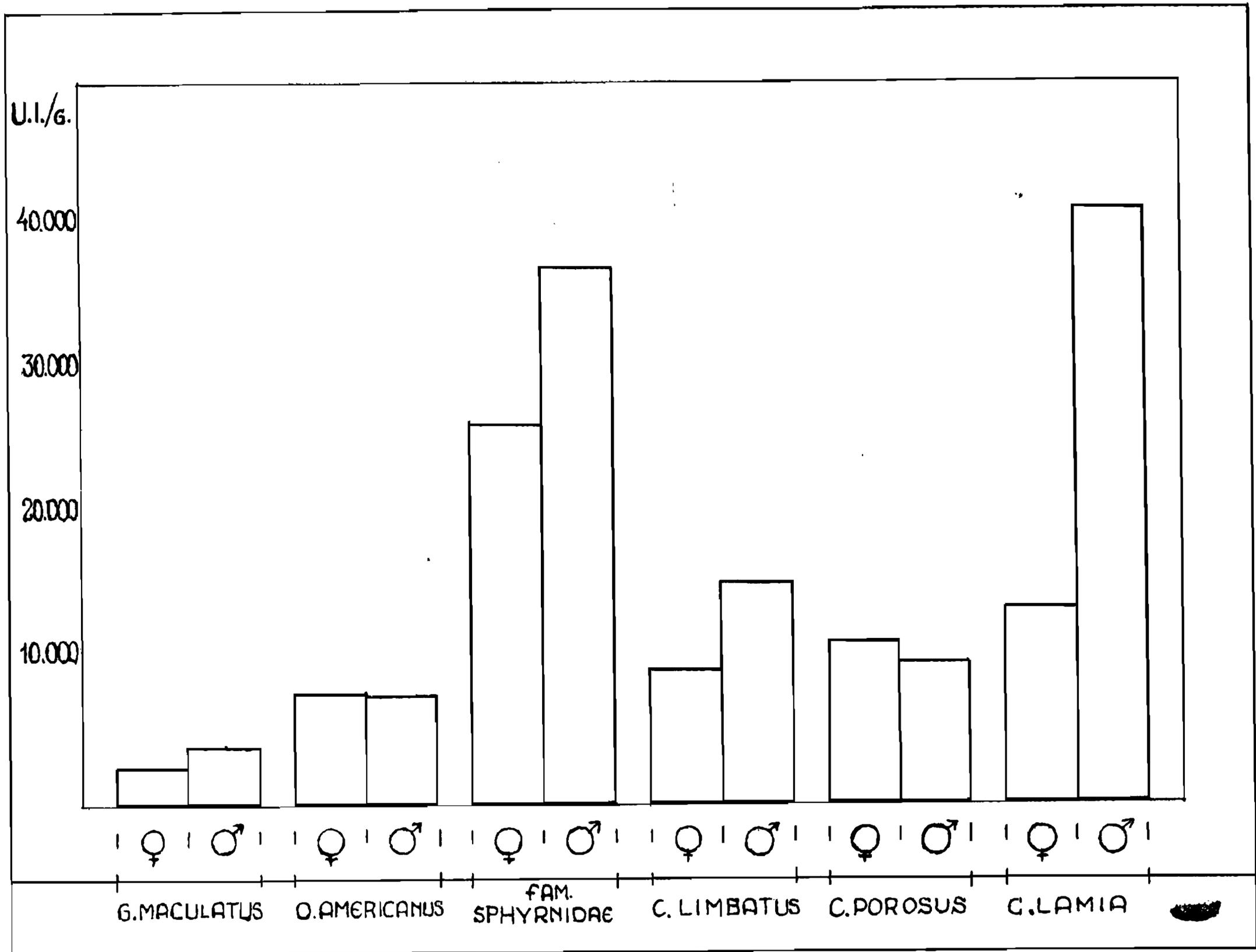
Resumo das tabelas mensais, com os teores médios por sexos e por espécies

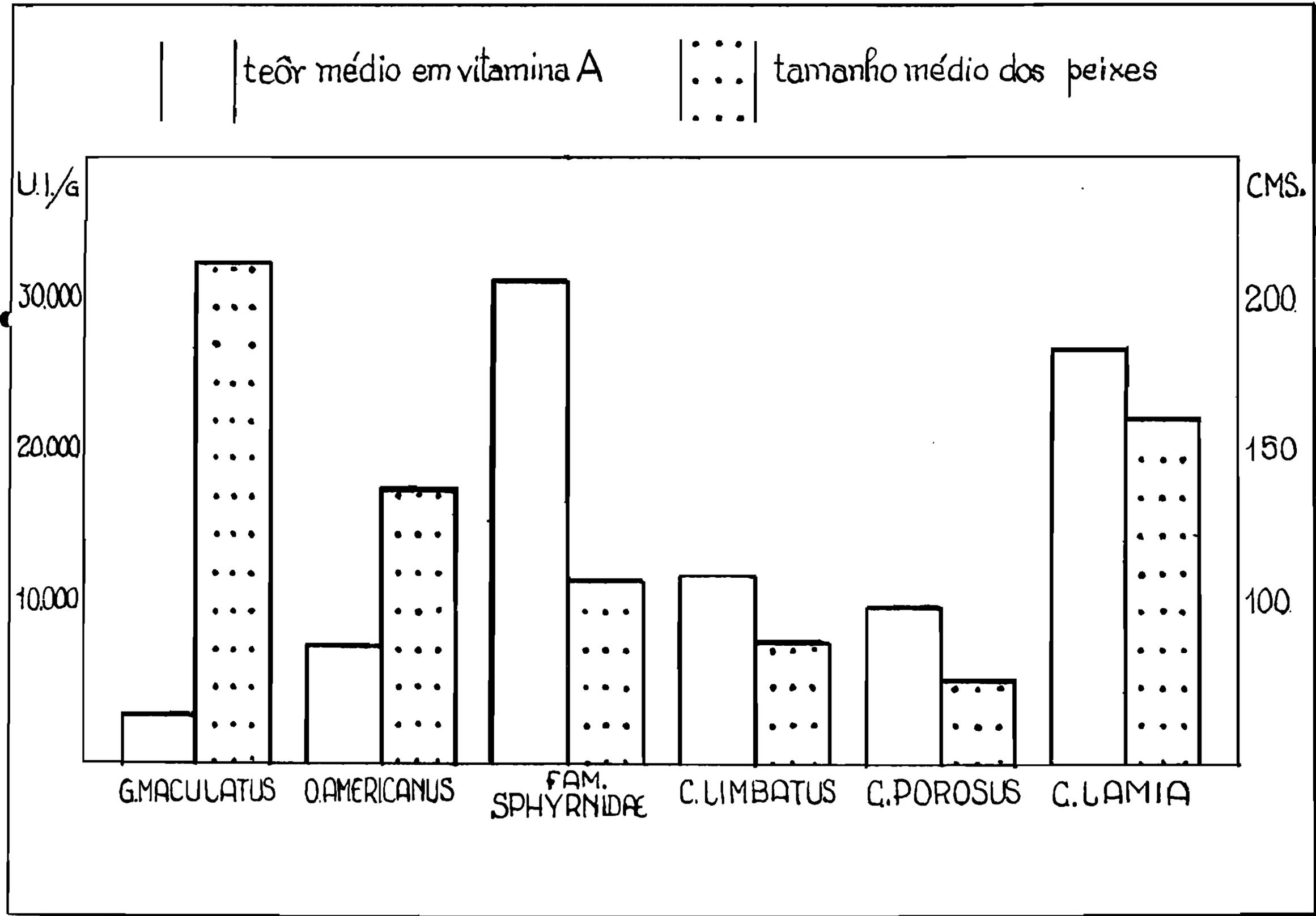
MESES	C. LAMIA		G. MACULATUS		C. LIMBATUS		O. AMERICANUS		FAM. SPHYRNIDAE		C. POROSUS	
	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂
Abril.....	11.875		1.100		5.275		1.642		9.091			
Maió.....		12.077	1.000		4.100		850			30.070		
Junho.....		33.382	1.000	6.698		15.364				28.297		19.248
Julho.....	9.206	99.918	2.000	4.754			20.662	7.618		31.823	21.523	20.146
Agosto.....							1.000			16.062	6.135	6.227
Setembro.....	16.640										13.763	6.256
Outubro.....	15.732										12.900	5.060
Novembro.....	8.608		5.175	100					32.000	36.720		
Dezembro.....	50.800	26.900	3.734							59.686	13.000	5.791
Janeiro.....	19.485	40.728							14.148	28.466	4.035	
Fevereiro.....	10.079	23.557	9.041									
Março.....	4.712		800	2.000								
Soma de todos os lotes.....	540.150	581.196	28.685	20.251	9.375	15.364	70.407	7.618	213.355	742.820	190.849	174.836
MÉDIA ANUAL.....	13.503	41.514	2.869	4.050	4.687	15.364	7.823	7.618	26.669	37.141	11.226	9.713
MÉDIA P/ESPÉCIE...	27.508		3.459		10.025		7.720		31.905		10.469	

TABELA 16

RELAÇÃO ENTRE O COMPRIMENTO MÉDIO DOS PEIXES E O TEOR MÉDIO EM VITAMINA A POR ESPÉCIE

ESPECIE	N. DE EXEMPLARES	COMPRIMENTO m	U. I./g.
G. maculatus.....	58	2,15	3.459
O. americanus.....	80	1,40	7.720
Fam. Sphyrnidae.....	202	1,10	31.905
C. limbatus.....	78	0,90	10.023
C. porosus.....	2.521	0,77	10.469
C. lamia.....	146	1,76	27.508





## III — VITAMINA D

O método que empregamos foi o previsto na Farmacopéia Americana, (9), usando o "line test" associado ao método radiográfico de Bourdillon et al., 1931, (1), para a organização dos lotes dos ratos.

Esta associação permite agrupar os animais com igualdade dos graus de raquitismo, contribuindo para a obtenção de respostas uniformes.

Os animais foram selecionados na criação do Instituto Oswaldo Cruz, tendo-se observado as condições de saúde, pêso e as demais previstas na técnica adotada.

A dieta raquitogênica utilizada foi a de STEEBOCK & BLACK, n. 2.965 (1925).

As radiografias foram feitas com equipamento portátil GE, após vinte e quatro dias de dieta raquitogênica e, pelos sinais de raquitismo apresentados, os ratos eram divididos pelos vários lotes.

Os óleos de cação examinados foram diluídos com óleo de olivas, para a administração das doses diárias. Usamos óleos de algumas espécies desses peixes.

Na escolha das doses aproximadas, guiamo-nos por provas iniciais, com alguns lotes de animais, usando doses com intervalos maiores de concentrações.

TABELA 17

CURVA DOS PESOS

LOTE	N. DO RATO	INICIAL	DIETA RAQ.	1. <sup>a</sup> SEMANA	2. <sup>a</sup> SEMANA	3. <sup>a</sup> SEMANA	DET.
a	1	51	56	68	83	90	92
	4	46	54	65	82	86	84
	5	46	54	65	84	90	94
	16	56	64	76	92	110	114
	2	45	54	66	76	86	94
b	10	48	56	69	88	92	94
	18	61	70	83	98	106	114
	20	48	50	60	82	90	98
	22	41	40	51	66	76	80
	28	54	54	65	86	96	108

Lote a — usou o óleo em dosagem;

Lote b — usou o óleo padrão;

Dieta raq. — início da administração da dieta raquitogênica;

Det. — fim do período da administração do óleo em exame e do óleo padrão.

TABELA 18

## CURVA DOS PESOS

LOTE	N. DE RATO	INICIAL	DIETA RAQ.	1. <sup>a</sup> SEMANA	2. <sup>a</sup> SEMANA	3. <sup>a</sup> SEMANA	DET.
a	1	44	48	62	69	86	94
	5	42	38	54	69	83	86
	8	56	56	76	85	92	93
	12	50	54	70	79	92	96
	16	48	48	55	55	60	74
b	3	40	38	57	70	82	92
	10	46	50	62	68	75	80
	11	58	60	80	100	118	120
	14	50	52	73	86	94	95
	17	46	52	62	76	88	90

Lote a — usou o óleo em dosagem;

Lote b — usou o óleo padrão;

Dieta raq. — início da administração da dieta raquitogênica;

Det. — fim do período da administração do óleo em exame e do óleo padrão.

Localizado o nível provável da potência em vitamina D, nova determinação era feita, então, para cada óleo, empregando concentrações mais próximas.

Descreveremos duas determinações finais, com os dados colhidos com amostras de óleos de fígado de *Carcharias lamia* e *Carcharias limbatus*.

Os lotes expostos nos quadros anteriores foram os que apresentaram índice de recalcificação igual ao dos lotes que usaram o óleo padrão (b).

Cálculo do "test" curativo :

1 — *C. lamia*.

Dose diária do óleo de cação: 47 mg.

Dose diária do óleo padrão: 0,4 mg.

Dosagem do óleo padrão : 10.000 U.I./g.

$$R = 85 \text{ U.I./g. no óleo de cação.}$$

2 — *C. limbatus*.

Dose diária do óleo de cação: 39 mg.

Dose diária do óleo padrão: 0,4 mg.

Dosagem do óleo padrão: 10.000 U.I./g.

$$R = 125 \text{ U.I./g. no óleo de cação.}$$

## CONCLUSÕES

1. É descrita uma técnica de dosagem de Vitamina A nos óleos de fígado de cação, utilizando o colorímetro fotoelétrico de LEITZ, com filtro especialmente adaptado para as medidas a 620  $m\mu$ , e empregando somente 4 ml de reagente antimônico.

Os resultados conseguidos com esta técnica conduziram à afirmação da possibilidade do controle industrial perfeito dos óleos de fígado de cação, pelo exame rápido de grande número de amostras diariamente, o que permite uma seleção dos mesmos pelos seus vários níveis de vitamina A;

2. O inquérito realizado durante o primeiro ano, na Secção Industrial da Escola Técnica Darcy Vargas, na Ilha da Marambaia, Estado do Rio, relativamente à ocorrência da vitamina A nos óleos de fígado dos cações, aí recolhidos para industrialização, é apresentado com todos os dados obtidos.

Ressaltam desse primeiro inquérito as observações relativas à influência do sexo, do tamanho, da espécie ou gênero, da estação da pesca e, ainda, do método desta.

Quanto à influência do sexo: os dados expostos nas tabelas de ns. 3 a 14, no resumo na tabela 15 e gráfico 3, mostram claramente uma predominância dos exemplares machos sobre as fêmeas.

Quanto ao tamanho dos peixes, a conclusão foi de que não existe relação alguma do mesmo com a potência vitamínica dos óleos, como se poderá verificar melhor no gráfico 4. Aí se notará, por exemplo, que o *G. maculatus*, sendo o peixe de maior tamanho médio, é exatamente o de menor índice vitamínico. Por outro lado, o *C. lamia*, que fornece bons óleos, também ocorre em tamanho médio de 1,76 m, portanto relativamente grande.

Dessa forma, o porte do peixe não parece estar relacionado com o nível de vitamina A do óleo.

Quanto à espécie, mostram os dados colhidos que, de fato, existem níveis médios variáveis particulares a cada uma. Entretanto, isso não exclue a ocorrência, entre os peixes de uma espécie de nível alto, de exemplares com pouca ou nenhuma vitamina. Estas observações conduziram-nos à admissão da influência decisiva da alimentação desses peixes.

A estação da pesca não alterou de modo notável os dados observados. Tampouco o método da pesca influencia o nível vitamínico, mas somente a qualidade dos exemplares capturados em estados de vida particulares, que vão se refletir sobre a quantidade de vitamina reservada.

3. A presença e quantidade de vitamina D foi investigada, relatando-se os resultados obtidos em duas espécies: *C. lamia* e *C. limbatus*, com respectivamente 85 e 125 U.I./g.

— Queremos expressar aqui os nossos mais profundos agradecimentos ao magnânimo Provedor do Abrigo do Cristo Redentor, Sr. Rafael Levi Miranda, pela bondosa cooperação com elevado idealismo, permitindo, não só a realização do presente trabalho, como o estabelecimento de um plano de investigação sistemática na Escola Técnica Darcy Vargas.

Aos demais companheiros e auxiliares, o nosso melhor reconhecimento, pelo valioso apôio moral e material recebido.

### SUMMARY

1. The author suggests a technique for the determination of vitamin A on shark liver oils in industrial plants.

The advantages of using only four ml. of reagent and of permitting a quickly rigorous reading by photoelectric cell, contribute to the possibility of the examination of a great number of samples daily;

2. It is described a survey on the vitamin A content of oils from shark livers, which has been made at the Fishing School Darcy Vargas, Maramaia Is., Rio de Janeiro State.

The conclusions are the following :

a) Male individuals have showed generally tendency for higher vitamin A potency oils;

b) The size of the fish does not interfere in the vitamin content of the oil (graphic 4);

c) The data collected upon 3.085 individuals led to the conclusion that some species are richer in the reserved vitamin although it was possible to catch in the same specie fishes with widely variable potency in vitamin A. One fish belonging to the specie *C. lamia* produced the highest vitamin potency oil with 167.712 international units per gram;

d) The fishing season appears to have no influence on the oils;

e) The adventitious food seems to be the most important factor affecting the content of vitamin A of the shark-liver oils;

3. The presence and the quantity of vitamin D in those oils was investigated and two of the determinations are presented.

## BIBLIOGRAFIA

1. BOURDILLON ET AL.  
1931. in Coward, Biological Standardization of Vitamins, 1939, ed. Brallière, Tindall & Cox, pág. 118.
2. CARR, F. H. & PRICE, E. A.  
1926. Colour reactions attributed to vitamin A. — *Biochem. J.*, vol., 20, págs. 597.
3. DANN, W. J. & EVELYN, K. A.  
1938. The determination of vitamin A with the photoelectric colorimeter. — *Biochem. J.*, vol. 32, págs. 1.008.
4. EMMERIE, A.  
1938. Inhibition of the Carr & Price reaction for vitamin A by substances in cod-liver oil. — *Rec. trav. chim.*, vol. 57, págs. 776.
5. HERMSDORFF, G. & PECKOLT, O. L.  
1939. Riqueza vitamínica dos óleos de fígado dos peixes desmobrânquios brasileiros. *Bol. Min. Agr.*, n. de Julho e Setembro.
6. HOLMES, H. N. & CORBERT, R. E.  
1937. The isolation of crystalline vitamin A. — *J. Am. Chem. Soc.*, vol. 59, págs. 2.042.
7. KOEHN, C. J. & SHERMAN, W. C.  
1940. The determination of vitamin A and carotene with the photoelectric colorimeter. — *J. Biol. Chem.*, vol. 132, págs. 527.
8. MC. FARLAN ET AL.  
1937. A new photoelectric method for measuring vitamin A. — *Ind. Eng. Chem., An. Ed.*, vol. 9, págs. 324;
9. U. S. DISPENSATORY  
22.<sup>a</sup> edição, Wood & Lawal, ed. Lippincott & Co., págs. 1.673.  
Classificação dos peixes :  
Ribeiro, A. M. — 1907 — *Fauna brasiliense. Peixes.* — *Arq. Mus. Nac.*, vol. 14, págs. 29.