

Concentração de retinol em ovos de codorna e de galinha e sua relação com a recomendação nutricional para vitamina A

Retinol concentration in quail and chicken boiled eggs and its correlation with the daily vitamin A intake recommendation in children

RIALA6/1495

Heryka Myrna Maia RAMALHO^{1*}, Keith Hellen Dias da SILVA², Vanessa Patrícia Queiroz de MEDEIROS², Videanny Videnov Alves dos SANTOS³, Juliana Karla Garcia RIBEIRO², Roberto DIMENSTEIN²

*Endereço para correspondência: ¹Laboratório de Biotecnologia, Escola da Saúde, Universidade Potiguar – Laureate International Universities. Av. Senador Salgado Filho, 3.000, Lagoa Nova. CEP: 59072-970. E-mail: herykamyrna@gmail.com

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

³Instituto Federal do Rio Grande do Norte

Recebido: 05.07.2011 – Aceito para publicação: 07.09.2012

RESUMO

Este estudo teve como objetivo avaliar as concentrações de retinol nas gemas dos ovos cozidos de codorna e de galinha e compará-las com as recomendações nutricionais para crianças na faixa de 1 a 8 anos. As amostras foram analisadas por cromatografia líquida de alta eficiência. Os valores médios de retinol encontrados nas gemas dos ovos cozidos de codorna e de galinha foram, respectivamente, de $636,6 \pm 32,7$ e de $379,1 \pm 30,8$ $\mu\text{g}/100$ g de gema. A concentração de retinol no ovo de codorna foi significativamente maior do que a do ovo de galinha ($p < 0,0001$). O consumo de uma porção comestível (15 g), a qual corresponde a cinco gemas de ovo de codorna ou a uma gema de ovo de galinha, podem cobrir respectivamente cerca de 32% e 19% das recomendações nutricionais de retinol equivalente para crianças na faixa etária de 1 a 3 anos, e de 24% e 14%, respectivamente, para a faixa etária de 4 a 8 anos. Por conseguinte, ambos os ovos de codorna e de galinha podem ser considerados excelentes fontes de vitamina A.

Palavras-chave. gema, ovo de galinha, ovo de codorna, vitamina A, CLAE.

ABSTRACT

This study evaluated the concentrations of retinol in the yolks of quail and chicken boiled eggs, and they were correlated with the vitamin A intake recommendations for children aged from 1 to 8 years. The samples were analyzed by means of High Performance Liquid Chromatography. The mean values of retinol found in the yolks of the quail and chicken boiled eggs were 636.6 ± 32.7 and 379.1 ± 30.8 $\mu\text{g}/100$ g of yolk, respectively. The retinol concentration in quail egg was found to be significantly higher than that of chicken egg ($p < 0.0001$). In addition, it was found that the consumption of a 15 g-portion of egg corresponded to five quail egg yolks or to one chicken egg yolk; then, they supplement 32% and 19% of the daily retinol recommendations for children aged from 1 to 3 years, respectively, and 24% and 14% for children aged from 4 to 8 years, respectively. Therefore, both kinds of eggs are a good source of vitamin A.

Keywords. yolk, chicken egg, quail egg, vitamin A, HPLC.

INTRODUÇÃO

A vitamina A é essencial para o organismo humano por desempenhar funções no metabolismo geral de lipídios e proteínas, no ciclo visual, na modulação do sistema imunológico e na diferenciação e crescimento celular, sendo fundamental durante os períodos de grande proliferação e crescimento¹.

A hipovitaminose A tem sido caracterizada como um problema de saúde pública nos países em desenvolvimento e leva à queratinização de epitélios, afetando os olhos e o revestimento dos tratos gastrointestinal, respiratório e do aparelho geniturinário, afetando também a integridade do sistema imune². Sarni et al.³ enfatizam que a deficiência de vitamina A é ainda a principal causa de cegueira evitável no mundo, estando também associada a 23% das mortes por doença diarreica em crianças. Essa deficiência também contribui para o aumento significativo dos índices de morbimortalidade infantis associados a processos infecciosos⁴.

No Brasil, vários levantamentos realizados em diferentes regiões apontam a hipovitaminose A como um problema endêmico, sobretudo da região Nordeste do país, sendo bem caracterizada em pré-escolares^{5,6,7,8}. Segundo Fernandes et al.⁹, a maior vulnerabilidade dos pré-escolares a essa carência nutricional é justificada pelo rápido crescimento e desenvolvimento nessa fase da vida, com consequente aumento das necessidades de vitamina A, além das múltiplas doenças a que estão expostos, principalmente as infecções gastrointestinais e respiratórias, que reduzem a absorção e elevam consideravelmente a utilização biológica e a excreção desse micronutriente.

A ingestão inadequada de alimentos fonte de vitamina A é o principal fator etiológico da carência desta vitamina¹⁰. Segundo a Pesquisa Nacional de Demografia e Saúde da Criança e da Mulher¹¹, 17,4% das crianças e 12,3% das mulheres no Brasil apresentavam níveis inadequados desse micronutriente, sendo as maiores prevalências dessa inadequação encontradas no Nordeste (19,0%) e Sudeste (21,6%) do país.

O nível de requerimento da vitamina A é baseado na quantidade absorvida necessária para manter o estado nutricional adequado. O consumo recomendado de vitamina A é a quantidade a ser consumida diariamente para garantir que indivíduos absorvam seus níveis de requerimento, mas não experimentem os efeitos prejudiciais da toxicidade⁹. Referência de Ingestão

Dietética (DRIs) representam o conjunto de referência de ingestão de nutrientes estabelecido e usado para o planejamento e avaliação das dietas do indivíduo ou grupos de indivíduos saudáveis, segundo estágio de vida e gênero¹⁰. De acordo com as DRIs (2001), a ingestão dietética recomendada (RDA) de retinol para crianças na faixa de 1 a 3 anos é de 340 µg/dia e de 4 a 8 anos é de 440 µg/dia.

O ovo é considerado uma importante fonte alimentar de vitamina A. Segundo Rodrigues e Salay¹², trata-se de um alimento fonte de proteínas de alto valor biológico, sendo sua gema rica em vitamina A, com valores encontrados na literatura que variam entre 374 µg/100 g gema e 810 µg/100 g gema, em ovos de codorna e de galinha, respectivamente.

Sabendo-se da aceitação do ovo pelo público infantil e de sua importância como fonte de vitamina A, este estudo teve o objetivo de avaliar os níveis de retinol nas gemas de ovos de codorna e de galinha, considerando serem estes os dois tipos de ovos mais consumidos pela população em geral, e compará-los com as recomendações para crianças na faixa etária de 1 a 8 anos.

MATERIAL E MÉTODOS

Material biológico

Para a realização deste trabalho, foram selecionadas aleatoriamente três marcas de ovos de codorna e de galinha comercializados em Natal (RN). Para tanto, foram visitados três grandes estabelecimentos comerciais do setor, onde foram adquiridas duas cartelas de ovos de lotes diferentes, com data recente de fabricação. Os ovos de codorna e de galinha eram frescos, com peso médio de 11 g para os ovos de codorna e 60 g para os ovos de galinha, sendo o peso das gemas de 3 g e 15 g, respectivamente.

Método

Preparo das amostras

Para ambos os tipos de ovos, codorna e galinha, foram adquiridas duas cartelas de ovos de lotes diferentes em cada estabelecimento comercial, totalizando seis cartelas de cada marca analisada. De cada uma delas, meia dúzia de ovos foi separada e cozida por dez minutos a 100 °C. Posteriormente, as gemas foram separadas e pesadas. A estas, foi adicionada quantidade equivalente ao seu peso de solução salina a 0,9% e, em seguida, foram

homogeneizadas com um mix triturador, formando assim um homogenado de gema a 50%, do qual se tomaram 10 alíquotas de 2 g para análise nas etapas seguintes.

Saponificação e extração de retinol das amostras

A extração do retinol da gema dos ovos foi feita baseada no método de Bragagnolo e Rodriguez-Amaya¹³, adaptado de acordo com as condições laboratoriais. Foram pesados 2 g de homogenado em tubos de polipropileno com tampa rosqueável de 15 mL, envoltos com papel alumínio para impedir a degradação da vitamina A pela ação da luz. Foi realizada uma saponificação alcalina com 2 mL de hidróxido de potássio a 50%, com o objetivo de hidrolisar os ésteres de retinil presentes na amostra. Ao mesmo tempo, foi adicionado 2 mL de etanol a 95% para desnaturação das proteínas. A solução foi mantida em banho-maria a 45 °C por 120 minutos. Em seguida, a extração dos lipídios da amostra foi obtida em três lavagens sucessivas, utilizando 4 mL de hexano em cada. Após a adição do solvente, as amostras foram agitadas, centrifugadas por 10 minutos (500 xg) e os sobrenadantes foram removidos e adicionados em um novo tubo. Da fase hexânica, 3 mL foram evaporados sob atmosfera de nitrogênio, em banho-maria a 37 °C, e os extratos secos foram armazenados a -18 °C.

Determinação de retinol por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE)

Para a análise cromatográfica do retinol, o extrato seco foi redissolvido em 1 mL de etanol com grau de pureza para CLAE e agitado por um minuto. A concentração do retinol das amostras foi determinada com o auxílio de um Cromatógrafo LC-10 AD Shimadzu, acoplado a um Detector SPD-10 A Shimadzu UV-VIS e Integrador Cromatopac C-R6A Shimadzu com uma coluna C18 LC Shim-pack CLC-ODS (M) 4,6 mm × 25 cm × 5 µm. A fase móvel utilizada foi metanol 100%, com fluxo de 1 mL/min.

A identificação e quantificação do retinol nas amostras foram estabelecidas por comparação com os tempos de retenção e as áreas dos respectivos padrões. A concentração do padrão foi confirmada pelo coeficiente de extinção específico (ϵ 1%, 1 cm = 1.780) em etanol absoluto e comprimento de onda de 325 nm¹⁴.

A validação do método foi conseguida por meio da realização de testes de recuperação, linearidade e de repetitividade, com a finalidade de verificar a exatidão, linearidade e precisão do método.

Para a quantificação do retinol, foram estabelecidas curvas de calibração periodicamente

no decorrer do período experimental. Inicialmente, foi preparado um padrão estoque de retinol (Sigma \geq 95%); em seguida, foram realizadas diluições, até que se chegasse a um padrão de concentração desejada. A partir deste último, foram feitos os padrões para a curva de calibração – portanto, a linearidade do método foi testada utilizando-se cinco níveis de concentração, que variaram de 0,1 a 1,6 µg/mL. O coeficiente de linearidade das curvas foi sempre superior a 0,9997, resultado que indica uma ótima linearidade do método.

O teste de recuperação foi realizado com amostras de ovos de codorna. Para tanto, foram retiradas quatro alíquotas; em três dessas alíquotas, foram acrescidas uma concentração conhecida de retinol padrão (Sigma). Todas as alíquotas foram submetidas ao processo extrativo, como descrito anteriormente. Após a finalização desse processo, a concentração de retinol nas amostras foi determinada por CLAE. Foram obtidas recuperações para o retinol adicionado nas amostras na faixa de 104,0-108,0%. Esses resultados indicam que a metodologia utilizada tem uma exatidão confiável.

Nos testes de repetitividade e precisão intermediária, foram utilizadas três alíquotas de uma amostra de gema de ovos de codorna. Essas amostras passaram pelo processo extrativo e foram armazenadas secas e congeladas para posterior determinação de retinol. A aplicação em CLAE das amostras ocorreu em três dias não consecutivos. Os valores dos coeficientes de variação obtidos das alíquotas encontrados após a cromatografia foram entre 1,23% e 1,93%. Portanto, esses valores indicam uma precisão aceitável para a validação de um método analítico.

Os limites de detecção e quantificação foram baseados na linearidade da curva padrão, obtendo-se valores de 0,05 µg/mL e 0,1 µg/mL, respectivamente.

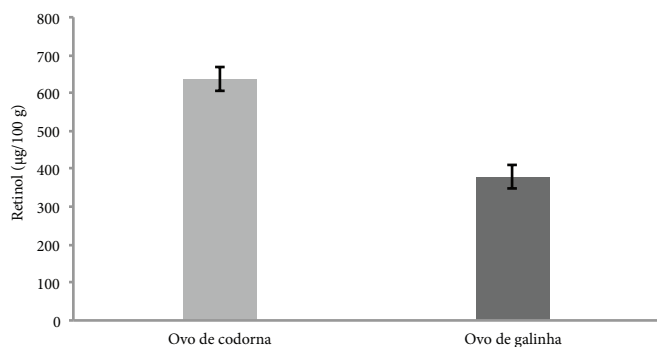
Análise estatística

As diferenças estatísticas entre os grupos foram determinadas por meio do teste *t* de Student, utilizando o programa Statistica 99 Edition (Copyright© 1984-1999 by StatSoft, Inc.), e foram consideradas significativas para $p < 0,05$.

RESULTADOS

O valor médio de retinol nos ovos de codorna analisados neste estudo foi $636,6 \pm 32,7$ µg/100 g de gema, ao passo que, nos ovos de galinha, a média de

retinol foi $379,1 \pm 30,8 \mu\text{g}/100 \text{ g}$ de gema. Sendo assim, a diferença entre o teor médio de retinol dos ovos de codorna e galinha cozidos foi de cerca de 41%. Essa diferença pode ser considerada altamente significativa ($p < 0,0001$) (Figura 1).



* Estatisticamente diferente da média de ovo de galinha ($p < 0,0001$)
Figura 1. Níveis de retinol em ovos de codorna e de galinha ($\mu\text{g}/100 \text{ g}$)

De acordo com os níveis de retinol demonstrados na análise deste estudo, e levando-se em conta a RDA para crianças – 300 e 400 $\mu\text{g}/\text{dia}$ de retinol para crianças de 1 a 3 anos e 4 a 8 anos, respectivamente, verificou-se que o consumo de uma porção comestível (15 g), correspondendo a cinco gemas de ovo de codorna ou uma gema de ovo de galinha, podem cobrir em torno de 32% e 19%, respectivamente, das recomendações diárias de retinol para crianças na faixa etária de 1 a 3 anos, e 24% e 14%, respectivamente, para crianças na faixa etária de 4 a 8 anos. A porção comestível dos ovos de codorna e de galinha oferecem 11% e 6%, respectivamente, da recomendação diária de retinol para homens adultos, cuja RDA corresponde a 900 $\mu\text{g}/\text{dia}$. Com relação às mulheres, esses ovos podem oferecer 14% e 8%, respectivamente, das suas necessidades nutricionais, ao tomar como referência a RDA de 700 $\mu\text{g}/\text{dia}$ para esse grupo.

DISCUSSÃO

Os resultados obtidos no presente trabalho demonstraram níveis de retinol na gema do ovo de codorna superiores aos encontrados por Bardos et al.¹⁵ e Karadas et al.¹⁶, os quais analisaram os níveis de retinol na gema de ovos de codorna, verificando uma concentração de 374 $\mu\text{g}/100 \text{ g}$ de gema e 438 $\mu\text{g}/100 \text{ g}$ de gema, respectivamente. Ramalho et al.¹⁷, ao analisar os níveis de retinol em ovos de codorna na mesma localidade do presente trabalho, verificou um nível médio de 604 $\mu\text{g}/100$

g de gema, valores estes semelhantes aos encontrados neste trabalho. Por outro lado, Marques et al.¹⁸, ao analisar níveis de retinol em ovos de codorna no Sudeste do país, verificaram uma concentração média de 805,0 $\mu\text{g}/100 \text{ g}$ gema. Essas diferenças nos níveis de retinol observadas podem ser justificadas por diferentes fatores, sendo alguns destes: a origem dos ovos, as diferenças climáticas entre os países e a alimentação das aves.

Surai et al.¹⁹ analisaram o nível de retinol nas gemas de ovos de galinha, determinando uma concentração de 401 $\mu\text{g}/100 \text{ g}$, resultado este maior que o encontrado neste trabalho. Ollilainen et al.²⁰, Squires et al.²¹ e Mendonça et al.²², por sua vez, encontraram 764,7, 810,0 e 700,2 $\mu\text{g}/100 \text{ g}$ gema, respectivamente, valores estes superiores ao encontrado pelo presente estudo.

Ao comparar os valores de retinol em ovos com os de outros alimentos de origem animal como o leite, também bastante consumido pela população em geral, observa-se que o primeiro apresenta níveis de retinol elevados, evidenciando seu importante papel como fonte de vitamina A. Em estudo realizado por Verruma e Salgado²³, o leite de vaca apresentou 56 μg de retinol/100 mL de leite e o de búfala, 61 $\mu\text{g}/100 \text{ mL}$.

Ao se avaliar a importância desse alimento para os indivíduos, deve-se considerar a ingestão dietética recomendada (RDA), que significa o nível de ingestão dietética diária, suficiente para atender as necessidades nutricionais de 97% a 98% dos indivíduos saudáveis de um determinado grupo de mesmo gênero e estágio de vida. Os requerimentos são relativamente mais altos nas etapas iniciais da vida, devido principalmente às maiores necessidades de crescimento, que são superiores às de manutenção^{24,25}.

Segundo Souza e Vilas Boas²⁶, o incentivo ao consumo de alimentos fonte de vitamina A é uma das medidas para prevenção da hipovitaminose A. Diante dos resultados do nosso estudo, com relevante aporte de vitamina A, fica evidente a contribuição do ovo como fonte desse micronutriente, principalmente num país como o Brasil, em que os pré-escolares têm sido relatados como o principal grupo atingido por essa carência, sendo fundamental o incentivo ao consumo do ovo como uma estratégia de intervenção no combate à hipovitaminose A. Além disso, a adequação no consumo de vitamina A em crianças pode garantir crescimento e desenvolvimento saudável e auxiliar na proteção contra as infecções de maior impacto sobre a saúde e sobrevivência infantis.

CONCLUSÃO

Os ovos de codorna e de galinha são excelentes fontes de vitamina A, sendo que os de codorna apresentam maior concentração de retinol por 100 g de gema. A concentração de retinol nos ovos de codorna e de galinha encontradas no presente trabalho podem contribuir com até 32% das recomendações diárias de retinol para crianças na faixa etária de 1 a 3 anos, e até 24% para crianças na faixa etária de 4 a 8 anos. Assim, o consumo de ovos configura-se numa excelente alternativa no combate e prevenção da hipovitaminose A.

REFERÊNCIAS

1. Dimenstein R, Nascimento THCR, Melo ILP, Ribeiro KDS. Avaliação dos níveis de retinol no colostro humano e sua relação com o estado nutricional materno em vitamina A. *Rev Bras Med*. 2006;65(5):206-10.
2. Geraldo RRC, Paiva SAR, Pitas AMCS, Godoy I, Campana AO. Distribuição da hipovitaminose A no Brasil nas últimas quatro décadas: ingestão alimentar, sinais clínicos e dados bioquímicos. *Rev Nutr*. 2003;16(4):443-60.
3. Sarni RS, Kochi C, Ramalho RA, Schoeps DO, Sato K, Mattoso LCQ, et al. Vitamina A: nível sérico e ingestão dietética em crianças e adolescentes com déficit estatual de causa não hormonal. *Rev Assoc Med Bras*. 2002;48(1):48-53.
4. McLaren DS, Frigg M. Manual de ver y vivir sobre los transtornos por deficiencia de vitamina A (VADD). Washington (DC): Organización Panamericana de la Salud; 1999.
5. Santos MA, Rezende EG, Lamounier JA, Galvão MAM, Bonomo E, Leite RC. Hipovitaminose A em escolares da zona rural de Minas Gerais. *Rev Nutr*. 2005;18(3):331-9.
6. Dimenstein R, Albuquerque EM, Fernandes LL, Lourenço RMS. Prevalência de Hipovitaminose A em puérperas da Maternidade Escola Januário Cicco – Natal/RN. *Nutrire: Rev Soc Bras Alim*. 2006;31(3):37-45.
7. Lopes RE, Ramos KS, Bressani CC, Arruda IK, Souza AI. Prevalência de anemia e hipovitaminose A em puérperas do Centro de Atenção à Mulher do Instituto Materno Infantil Prof. Fernando Figueira, IMIP: um estudo piloto. *Rev Bras Saúde Mater Infant*. 2006;6(1):S63-S68.
8. Dantas JCO, Medeiros ACP, Rodrigues KDSR, Dimenstein R. Concentração sérica de retinol e prevalência de deficiência de vitamina A em puérperas. *Rev Bras Prom Saúde*. 2011;24(1):40-5.
9. Fernandes TFS, Diniz AS, Cabral PC, Oliveira RS, Lóla MMF, Silva SMM, et al. Hipovitaminose A em pré-escolares de creches públicas do Recife: indicadores bioquímico e dietético. *Rev Nutr*. 2005;18(4):471-80.
10. Dolinsky M, Ramalho A. de Deficiência vitamina A: uma revisão atualizada. *Rev Compacta – Temas Nutr Aliment On-Line*. 2003;4(2):7-18. [acesso 2004 dez 5]. [Disponível em <http://www.pnut.epm.br/compacta.htm>.]
11. Ministério da Saúde (BR). Pesquisa Nacional de Demografia e Saúde da Criança e da Mulher (PNDS-2006). [acesso 2012 mar 22]. [Disponível em: <http://bvsms.saude.gov.br/bvs/pnds/anemia.php>.]
12. Rodrigues KRM, Salay E. Atitudes de granjeiros, atacadistas, varejistas e consumidores em relação à qualidade sanitária do ovo de galinha *in natura*. *Rev Nutr*. 2001;14(3):185-93.
13. Bragagnolo N, Rodriguez-Amaya DB. Comparison of the cholesterol content of Brazilian chicken and quail eggs. *J Food Comp Anal*. 2003;16(2):147-53.
14. Nierenberg DW, Nann SL. A method for determining concentration of retinol, tocopherol, and five carotenoids in human plasma and tissue samples. *Am J Clin Nutr* 1992;56(2):417-26.
15. Bardos L, Soter G, Karchesz K. Effect of retinyl acetate, ascorbic acid and tocopherol supplementation of the feed on egg vitamin A content in japanese quail. *Acta Veter Hung*. 1996;44(2):213-9.
16. Karadas F, Surai PF, Sparks NHC, Grammenids E. Effects of maternal dietary supplementation with three sources of carotenoids on the retinyl esters of egg yolk and developing quail liver. *Comp Biochem Physiol B Biochem Mol Biol*. 2005;41(2):244-51.
17. Ramalho HMM, Silva KHD, Santos VVA, Cavalcanti JS, Dimenstein R. Effect of retinyl palmitate supplementation on egg yolk retinol and cholesterol concentrations in quail. *Braz Poult Sci*. 2008;49(4):475-81.
18. Marques RH, Gravena RA, Silva JDT, Roccon J, Picarelli J, Hada FH, et al. Effect of supplementation of diets for quails with vitamins A, D and E on performance of the birds and quality and enrichment of eggs. *Rev Bras Zootec*. 2011;40(6):1222-32.
19. Surai PF, Ionov IA, Kuklenko TV, Kostjuk IA, Acpherson AM, Speake BK, et al. Effect of supplementing the hen's diet with vitamin A on the accumulation of vitamins A and E, ascorbic acid and carotenoids in the egg yolk and in the embryonic liver. *Braz Poult Sci*. 1998;39(2):257-63.
20. Ollilainen V, Heinonen M, Linkola E, Varo P, Koivistoinen P. Carotenoids and retinoids in Finnish foods: dairy products and eggs. *J Dairy Sci*. 1989;72(9):2257-65.
21. Squires MW, Naber EC. Vitamin profiles of eggs as indicators of nutritional status in the laying hen: riboflavin study. *Poultry Sci*. 1993;72(3):483-94.
22. Mendonça CX, Almeida CRM, Mori AV, Watanabe C. Effect of Dietary Vitamin A on Egg Yolk Retinol and Tocopherol Levels. *J Appl Poult Res*. 2002;11(4):373-8.
23. Verruma MR, Salgado JM. Análise química do leite de búfala em comparação ao leite de vaca. *Sci Agric*. 1994;51(1):131-7.
24. Mahan LK, Escott-Stump, S. In: KRAUSE: Alimentos, Nutrição e Dietoterapia. 10. ed. São Paulo (SP): Roca; 2002.
25. McLaren DS, Frigg M. Guía de Sight and Life sobre la Vitamina A en los Estados de Salud y Enfermedad. 2. ed. 2002. [Disponível em: <http://www.sightandlife.org/booksSALpdf/GBspan.pdf>.]
26. Souza WA, Vilas Boas OMG. A deficiência de vitamina A no Brasil: um panorama. *Rev Panam Salud Publica*. 2002;12(3):173-9.