

Estado de São Paulo
CINQUENTA E SEIS
Entrada em 1/1/19

ANO XXXIV—N.º 3

BOLETIM PECUÁRIO

1966

ENSAIOS SOBRE A PIGMENTAÇÃO
DA GEMA DO OVO

Por

JOAQUIM DA SILVA PORTUGAL

VASCO SALGUEIRO ANTUNES

LUIZ VIEIRA DE CASTRO

MARIA CACILDA CARVALHO DE ALMEIDA

A coloração da gema do ovo, dado o interesse que para a sua valorização comercial pode representar, tem sido objecto de numerosos trabalhos que estudam a influência sobre ela exercida pela ingestão de alimentos contendo substâncias pigmentantes naturais, ricas em xantofilas ou carotenoides de síntese.

Está provado que os carotenoides são os responsáveis pela coloração da gema do ovo e que esta depende da maior ou menor quantidade dessas substâncias presentes na dieta (1). A zeaxantina e a luteína encontram-se ali em muito maior quantidade que a criptoxantina e o caroteno, tendo-se verificado (2) que as xantofilas dos alimentos verdes (como, por exemplo, a zeaxantina e a luteína) se depositam na gema do ovo numa percentagem de 15 %, enquanto que as do milho amarelo o são em cerca de 26 %, facto que está de acordo com as observações de DAY e WILLIAMS (3) sobre a pigmentação da pele e dos tarsos nos frangos.

Nos alimentos naturais como a farinha de luzerna, o número de xantofilas presentes chega a atingir mais de 40 (4); no milho também existem em grande número (5) e isto justifica que muito pouco se conheça sobre as propriedades pigmentantes de muitas das xantofilas menos comuns.

A necessidade de elevar as qualidades pigmentantes de certos regimes despertou o interesse para o emprego de produtos de síntese e destes já numerosos hidroxil e carbonil carotenoides têm sido experimentados para obter a pigmentação da gema do ovo ou da pele dos galináceos.

Os trabalhos de STEINEGGER e LANETTI (5) e de STEINEGGER e outros (6) demonstram o efeito pigmentante sobre a gema do ovo da

ingestão de zeaxantina, cantaxantina, isozeaxantina, dipalmitato éster da zeaxantina, dimetil éster da isozeaxantina, diacetato de isozeaxantina, β -apo-8'-carotenal e metilbixina puras, bem como a sua deposição qualitativa na gema e características de coloração variáveis.

A existência no mercado de um produto de síntese à base do β -apo-8'-carotenal, o Carophyl 10 da Casa Roche, e o possível interesse da sua aplicação naqueles casos em que a dificuldade da aquisição de milho amarelo ou farinha de luzerna de boa qualidade não permita dispor de alimentos compostos com boas características pigmentantes, está na base da execução do presente trabalho.

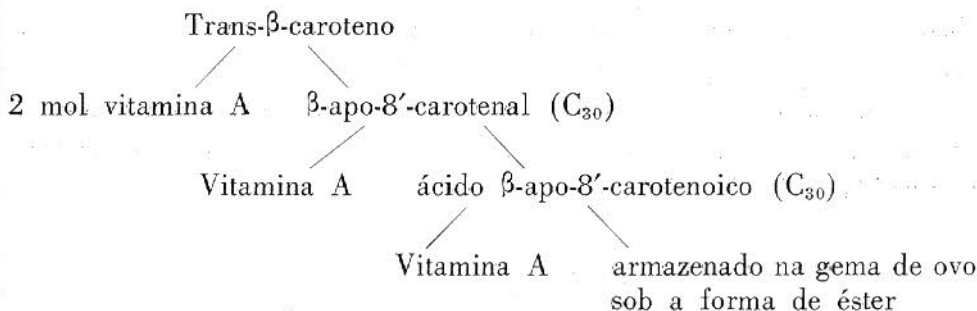
O Carophyl 10 contém, sob a forma estabilizada, 10 % de éster etílico do ácido β -apo-8'-carotenoico, o qual não possui senão 24 % da actividade vitamínica A do β -caroteno e é um derivado deste último composto.

Como se sabe, o β -caroteno, o pigmento mais comum no mundo vegetal e animal, só tem sido encontrado na gema do ovo em pequenas quantidades, mesmo quando adicionado à dieta em altas doses. Constituinto uma fonte essencial de vitamina A, a sua transformação nesta vitamina pode efectuar-se por dois processos diferentes (7): por cisão em duas metades da molécula do β -caroteno ou por degradação química oxidativa a partir das extremidades dessa molécula. É nessa degradação que se forma, entre outros aldeídos poliênicos, o β -apo-8'-carotenal.

Este é um composto que se encontra espalhado na natureza como produto do metabolismo do β -caroteno, embora em quantidade bastante fraca no estado natural. A sua transformação em vitamina A é evidenciada, entre outros, pelos trabalhos que demonstraram o armazenamento daquela vitamina no fígado de ratos sujeitos a uma dieta nela carenciada mas suplementada com β -apo-8'-carotenal (7).

A sua deposição na gema do ovo é evidenciada pela observação de BRUBACHER e outros (7), que verificaram, em galinhas sujeitas a um regime suplementado com β -apo-8'-carotenal, encontrar-se naquela um pigmento carotenoico que se constatou ser um éster do ácido β -apo-8'-carotenoico.

Segundo BRUBACHER (7) o processo de degradação do β -caroteno na galinha, processar-se-ia assim:



tudo concorrendo para demonstrar que β -apo-8'-carotenal se apresenta nos vegetais e animais como produto do metabolismo do β -caroteno.

MATERIAL E MÉTODOS (a)

A noventa galinhas de raça Plymouth Rock branca, de 14 meses de idade, forneceu-se, durante 54 dias, um alimento composto completo muito pobre em xantofilas, e não se lhes deu acesso a qualquer alimento verde (Quadro I, Grupo I).

Durante esta primeira fase do ensaio, como na que se seguiu, foram executadas, de três em três dias, determinações da coloração das gemas dos ovos produzidos, quer por comparação utilizando uma escala visual (6), quer pelo método espectrofotométrico (8).

Quando a descoloração das gemas atingiu o n.º 1 da escala visual, foram sacrificadas 6 galinhas para determinação dos teores de vitamina A, β -caroteno e xantofilas no soro sanguíneo e no fígado (Quadro IV).

Formaram-se então 6 grupos de 14 galinhas, dos quais o 1.º continuou com a mesma alimentação e os restantes foram alimentados, até ao final do ensaio, com as dietas cuja composição figura no Quadro I. No

(a) Alguns dos métodos descritos são modificações por nós introduzidas nos métodos originais. Todas as determinações espectrofotométricas foram executadas num espectrofotómetro Coleman, modelo A-11.

final sacrificaram-se três galinhas de cada grupo, executando-se as mesmas determinações que no fim da primeira fase.

Nos alimentos compostos completos foram também determinados a composição química (Quadro II) e os teores de vitamina A, β -caroteno e xantofilas (Quadro III).

1 — *Determinação da cor*

- a) *Pelo método visual* — A gema, depois de separada do albumen, é homogeneizada e a sua cor determinada por comparação com uma escala corada (6).
- b) *Pelo método espectrofotométrico* — Tomam-se 1 a 5 g de gema de ovo, conforme a intensidade da sua coloração, e determina-se a cor pelo método de MAYFIELD e HALBROOK (8).

Os resultados obtidos exprimem-se em microgramas de β -caroteno (5). Como os carotenoides não são depositados na gema do ovo sob a forma por que foram ingeridos, não há razão válida para não usar como padrão o β -caroteno, apreciando, numa base comum, o efeito resultante da ingestão dos diferentes carotenoides.

2 — *Determinações nos alimentos*

- a) *Doseamento do β -caroteno* — Pelo método de BOTH (9).

Os resultados obtidos exprimem-se em mg de β -caroteno por Kg de alimento, por comparação com uma curva padrão de β -caroteno.

- b) *Doseamento da vitamina A* — Pelo método da AOAC (10).
- c) *Doseamento das xantofilas* — Pelo método de BICKOFF (11).

3 — *Determinações no soro sanguíneo*

- a) *Doseamento do β -caroteno* — Pelo método de KOCH (12).

Os resultados exprimem-se em γ de β -caroteno em 100 ml de soro sanguíneo.

QUADRO I

COMPOSIÇÃO DOS ALIMENTOS

	GRUPO					
	I	II	III	IV	V	VI
Aveia	200	200	200	200	200	200
Milho branco	500	500	500	500	—	—
Milho amarelo	—	—	—	—	500	500
Sêmea de trigo	100	100	100	50	100	50
Bagaço de mendobi	90	90	90	90	90	90
Farinha de peixe	50	50	50	50	50	50
Farinha de luzerna	—	—	—	50	—	50
Fosfato bicálcio	14	14	14	14	14	14
Casca de ostra	40	40	40	40	40	40
Sal	5	5	5	5	5	5
Correctivo mineral vitamínico (a) ..	1	1	1	1	1	1
Carofil 10	—	0,010	0,020	—	—	—

(a) Continua por kg: 7 000 000 U. I. de vitamina A, 700 000 U. I. de vitamina D₃, 2 g de vitamina B₂, 2 mg de vitamina B₁₂, 4 g de ácido nicotínico, 3 g de pantotenato de cálcio e 70 g de sulfato de manganês.

b) *Doseamento da vitamina A* — Pelo método de KOCH (12).

O extracto em que se fez a determinação do β -caroteno é evaporado à secura no vácuo e em banho-maria a 30°C, nos próprios tubos para leituras espectrofotométricas, e o resíduo resultante da evaporação retomado com 1 ml de clorofórmio para cromatografia.

A concentração de vitamina A é determinada pela reacção de Carr-Price.

Como nem só a vitamina A dá aquela reacção corada com o tricloreto de antimónio, mas também os carotenoides, é necessário introduzir uma correcção nas leituras obtidas. Como a intensidade de coloração

produzida por γ de vitamina A é igual à obtida com 20 γ de β -caroteno, para realizar essa correcção usamos a fórmula:

$$\gamma \% \text{ vitamina A no soro sanguíneo} = A - \frac{c}{20} \text{ em que}$$

A = concentração de vitaminas A em γ %

c = » » β -caroteno em γ %

e os valores determinados convertidos em U. I. de vitamina A.

c) Doseamento das xantofilas

O método é semelhante ao descrito para os alimentos, com as modificações que a necessidade da sua adaptação ao soro sanguíneo e os pequenos volumes deste disponíveis impuseram.

Para um balão volumétrico de 25 ml, medem-se 5 ml de soro sanguíneo, 10 ml de uma mistura de hexano-acetona (7 + 3) e 0,25 ml de água destilada. Agita-se vigorosamente durante 15 minutos e deixa-se em contacto durante 16 horas a baixa temperatura e ao abrigo da luz. A agitação facilita a precipitação total das proteínas e a extracção dos pigmentos, à semelhança do que KIMBLE (13) aconselha na técnica de extracção do caroteno no soro sanguíneo.

QUADRO II

COMPOSIÇÃO QUÍMICA DOS ALIMENTOS

GRUPOS	Matéria seca %	Proteína bruta %	Sub. éter-solúveis %	Extractivos não azotados %	Fibra bruta %	Cinzas %
I, II, III	90,1	15,8	3,4	52,9	8,0	10,0
IV	90,1	16,1	3,6	51,8	8,4	10,2
V	90,1	15,6	4,2	52,7	7,9	9,7
VI	90,6	16,6	4,0	51,9	8,5	9,6

