**Universidade de São Paulo
Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”**

**Concentração de proteínas (fosvitina e lipovitelina) em gemas de ovos
de galinhas (*Gallus gallus*) nos diferentes ciclos de postura e sua
interferência na disponibilidade do ferro**

Érika Vidal Sartori

Dissertação apresentada para obtenção do título de
Mestre em Ciências. Área de concentração:
Ciência e Tecnologia de Alimentos

**Piracicaba
2007**

Érika Vidal Sartori
Nutricionista

Concentração de proteínas (fosvitina e lipovitelina) em gemas de ovos de galinhas (*Gallus gallus*) nos diferentes ciclos de postura e sua interferência na disponibilidade do ferro

Orientadora:
Prof^a Dr^a **SOLANGE G. C. BRAZACA**

Dissertação apresentada para obtenção do título de
Mestre em Ciências. Área de concentração:
Ciência e Tecnologia de Alimentos

**Piracicaba
2007**

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
DIVISÃO DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - ESALQ/USP

Sartori, Érika Vidal

Concentração de proteínas (fosvitina e lipovitelina) em gemas de ovos de galinhas (*Gallus gallus*) nos diferentes ciclos de postura e sua interferência na disponibilidade do ferro / Érika Vidal Sartori. - - Piracicaba, 2007.
61 p. : il.

Dissertação (Mestrado) - - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, 2007.
Bibliografia.

1. Ferro – Disponibilidade 2. Galinhas poedeiras 3. Proteínas do ovo I. Título

CDD 637.5

“Permitida a cópia total ou parcial deste documento, desde que citada a fonte – O autor”

Aos meus amados pais, Ailton e Dinir, por estarem ao meu lado em todos os momentos de minha vida, sempre me incentivando, me proporcionando força e coragem! Papai e mamãe se não fossem vocês com certeza eu não teria forças para vencer mais uma etapa de minha vida!

Ofereço e dedico

AGRADECIMENTOS

À Deus.

À Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, e em especial ao Departamento de Agroindústria, Alimentos e Nutrição.

À Prof^a. Dr^a Solange Guidolin Canniatti Brazaca, pela grande oportunidade e confiança, orientação, ensinamentos, dedicação, competência e sabedoria. Obrigada por tudo!

À FAPESP pelo fornecimento da bolsa auxílio á pesquisa.

À Prof^a Dr^a Sandra H. da Cruz pela ajuda, orientação, dedicação e conhecimentos fornecidos.

À Doutora Salete A. Gaziola, pela ajuda, dedicação, disponibilidade sempre e conhecimentos, sem os quais, tornar-se-ia mais difícil a realização deste trabalho.

Ao pessoal do Laboratório de Genética pelo apoio.

À técnica de laboratório Débora Niero Mansi, pela colaboração nas análises laboratoriais, pela amizade e atenção.

Às minhas irmãs Priscila e Juliana pela compreensão, ajuda e paciência durante toda essa caminhada.

Aos meus amados Fluckynho e Mel pela alegria.

Aos professores do curso de Pós-graduação da área de concentração em Ciências e Tecnologia de Alimentos pelos ensinamentos transmitidos.

À amiga do curso de pós-graduação Cíntia Fernanda Pedroso Zanão pelo apoio, amizade e incentivo.

Às amigas Márcia Harder e Adriana Lavras pelo apoio e incentivo.

Às graduandas Evelise e Iara pela ajuda em algumas análises.

À bibliotecária Silvia Maria Zinsly pelo auxílio na revisão bibliográfica.

À Granjas Küller pelo fornecimento dos ovos.

À Greicyele de Albuquerque pela compreensão e colaboração.

À todos aqueles que de uma maneira direta ou indireta contribuíram para a realização deste trabalho.

Eu dei vida a você, mas não posso vivê-la por você
Eu posso te ensinar as coisas, mas não posso fazer com que saiba
Eu posso direcionar você, mas não posso conduzi-lo
Eu posso te dar liberdade, mas não posso contribuir por isto
Eu posso te mostrar uma igreja, mas não posso ter fé por você
Eu posso te ensinar o certo e o errado, mas não posso decidir nada por você
Eu posso comprar roupas bonitas para você, mas não posso fazer com que seu interior
seja bonito
Eu posso oferecer conselhos a você, mas não posso aceitá-los por você
Eu posso te dar amor, mas não posso forçá-lo sobre você
Eu posso te ensinar a compartilhar, mas não posso fazer com que não seja egoísta
Eu posso te ensinar a respeitar, mas não forço você a mostrar sua honra
Eu posso aconselhar você sobre amigos, mas não posso escolhê-los por você
Eu posso contar a você os fatos da vida, mas não posso construir sua reputação
Eu posso te dizer sobre as bebidas, mas não posso dizer “não” por você
Eu posso te alertar sobre as drogas, mas não posso prevenir você de usá-las
Eu posso te dizer sobre grandes objetivos, mas não posso realizá-los por você
Eu posso te ensinar como ser gentil, mas não posso forçá-lo a ser cortês
Eu posso prevenir você sobre os pecados, mas não posso fazer sua moralidade
Eu posso orar por você, mas não posso fazer caminhá-lo com Deus
Eu posso te ensinar como viver, mas não posso te dar vida eterna
Eu posso te amar com todo amor incondicional de minha vida...e eu amarei!

Autor desconhecido

SUMÁRIO

RESUMO.....	8
ABSTRACT	9
LISTA DE FIGURAS	10
LISTA DE TABELAS	11
LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS	12
1 INTRODUÇÃO	13
2 DESENVOLVIMENTO	15
2.1 OBJETIVOS	15
2.2 REVISÃO BIBLIOGRAFICA	15
2.2.1 Poedeiras nos diferentes ciclos de postura	15
2.2.2 Fosvitina e lipovitellina	18
2.2.3 Composição do ovo	19
2.2.4 Ovos dos diferentes ciclos de postura	24
2.2.5 Constituição do ovo	27
2.2.6 Função do ovário	30
2.2.7 Principais funções dos hormônios ovarianos	31
2.2.8 Ovulação	32
2.2.9 Fecundação	32
2.2.10 Oviposição	32
2.2.11 Biodisponibilidade do Ferro	33
2.2.12 Fatores estimuladores e inibidores da dieta	35
2.2.13 Recomendações e carência de ferro	38
2.3 MATERIAL E MÉTODOS	39
2.3.1 Matéria-prima	39
2.3.2 Métodos	40
2.3.2.1 Composição centesimal	41
2.3.2.2 Diálise de ferro “in vitro”	41
2.3.2.3 Extração da fosvitina	42
2.3.2.4 Eletroforese em Gel de Poliacrilamida	43
2.3.2.4.1 Coloração dos géis	43
2.3.2.5 Delineamento estatístico	44
2.4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	44
2.4.1 Composição centesimal	45
2.4.2 Teor de ferro total, ferro “in vitro” e proteínas presentes nas gemas	48
2.4.3 Gel SDS-PAGE	52
3 CONCLUSÕES	55
REFERÊNCIAS	56

RESUMO

Concentração de proteínas (fosvitina e lipovitelina) em gemas de ovos de galinhas (*Gallus gallus*) nos diferentes ciclos de postura e sua interferência na disponibilidade do ferro

O ovo é o produto de eficiente transformação biológica feita pela galinha (*Gallus gallus*) de postura, com alta qualidade nutricional para o consumo humano. Na gema do ovo encontra-se a proteína denominada fosvitina, a mesma atua como carreadora do ferro se ligando a ele. A deficiência de ferro ocorre normalmente devido ao consumo insuficiente de alimentos fontes de ferro ou a baixa biodisponibilidade. O objetivo desta pesquisa foi verificar a concentração de proteínas, em especial a fosvitina/lipovitelina presente em gemas de ovos crus e cozidos nos diferentes ciclos de postura (inicial, intermediário e final) e avaliar a interferência desta proteína na disponibilidade do micronutriente ferro. Os tratamentos foram realizados em diferentes períodos e utilizaram-se ovos crus e cozidos, sendo gemas cruas de poedeiras em início, meio e fim de postura e gemas cozidas nos três ciclos de postura. Foram realizadas as análises de composição centesimal, concentração de ferro total e dialisável, concentração de proteínas em gemas e eletroforese em gel de poliacrilamida (SDS-PAGE). Houve diferença na concentração de proteínas e diferentes níveis de ferro dialisável nos três ciclos de postura, porém em gemas cruas e cozidas. Com o passar dos ciclos (inicial, intermediário e final), as poedeiras mais velhas, apresentaram gemas com teor mais elevado de ferro disponível, porém uma quantidade inferior de proteínas em especial a fosvitina/lipovitelina, comparando-se com os ciclos inicial e intermediário. A disponibilidade de ferro foi mais elevada em gemas que passaram pelo processo de cocção, porém em poedeiras de postura final.

Palavras-chave: Ovo; Gema; Ferro; Idade; Disponibilidade; Poedeiras

ABSTRACT

Protein concentration (phosvitin and lipovitelin) in egg yolks of hens (*Gallus gallus*) in the different cycles of position and its interference in the availability of the iron

The egg is the product of efficient biological transformation made by the hens of position, with high nutritional quality for the human consumption. In the egg yolk of the egg it meets phosvitin called protein, the same one acts as hauler of the iron if binding it. The iron deficiency normally occurs due to the insufficient food consumption iron sources or low the bioavailability. The objective of this research was to verify the protein concentration, in special the present phosvitin/lipovitelin in egg yolks of raw eggs and stews in the different cycles of position (initial, intermediate, end) and to evaluate the interference of this protein in the availability of the micronutrient iron. The treatments had been carried through in different periods and had used raw eggs and cooked, being raw egg yolks of hens in initial, intermediate and end of position and egg yolks boil in the three cycles of position. The analyses of proximal composition had been carried through, concentration of total and availability iron, protein concentration in egg yolks and electrophoresis in polyacrilamide (SDS-PAGE) were carried. It had difference in the protein concentration and different levels of iron availability in the three cycles of position, however in raw and boiled egg yolks. With passing of the cycles (initial, intermediate, end), the hens oldest, had more presented egg yolks with a raised amount of available iron, however special amount of proteins in the fosvitina/lipovitelina, comparing themselves with the cycles initial and intermediate. The iron availability more was raised in egg yolks that had passed for cooking process, however in hens of final position.

Keywords: Egg; Yolk; Iron; Age; Availability; Hens

LISTA DE FIGURAS

<i>Figura 1 - Poedeiras com 18 semanas (postura inicial)</i>	17
<i>Figura 2 - Poedeiras com 40 semanas (postura intermediária)</i>	17
<i>Figura 3 - poedeiras com 75 semanas (postura final)</i>	18
<i>Figura 4- Corte transversal do ovo de galinha (Fonte: Instituto de Estudios Del huevo, 2005).</i>	24
<i>Figura 5 - Ovos de poedeiras em postura inicial</i>	25
<i>Figura 6 - Ovos de poedeiras em postura intermediária</i>	26
<i>Figura 7 - Ovos de poedeiras em final de postura</i>	26
<i>Figura 8 - Útero de galinha doméstica com presença de ovo formado no útero</i>	29
<i>Figura 9 – Constituição do ovo (Fonte: Instituto de Estudios Del Huevo (2005))</i>	30
<i>Figura 10. Concentração de ferro dialisável em gemas cruas de ovos (T1 - postura inicial, T2 - postura intermediária, T3 – postura final) e gemas cozidas (T4 – postura inicial; T5 – postura intermediária T6 – postura final)</i>	51
<i>Figura 11. Concentração de ferro dialisável em gemas cruas de ovos (T1 - postura inicial, T2 - postura intermediária, T3 – postura final) e gemas cozidas (T4 – postura inicial; T5 – postura intermediária T6 – postura final)</i>	51
<i>Figura 12. Concentração de proteína em gemas cruas de ovos (T1 - postura inicial, T2 - postura intermediária, T3 – postura final) e gemas cozidas (T4 – postura inicial; T5 – postura intermediária T6 – postura final)</i>	52
<i>Figura 13. SDS-PAGE 12%, fosvitina em gemas de ovos de poedeiras; Coluna 1: padrão; coluna 2: gemas cruas de poedeiras em início de postura com a presença da proteína fosvitina; coluna 3: gemas cruas de poedeiras em postura intermediária com a presença da proteína fosvitina; coluna 4: gemas cruas de poedeiras em postura final com a presença da proteína fosvitina; coluna 5: gemas cozidas de poedeiras em postura intermediária com a presença da proteína fosvitina; coluna 6: gemas cozidas de poedeiras em postura final com a presença da proteína fosvitina.</i>	53
<i>Figura 14. Análise das bandas no programa Kodak Digital Science versão 3.01</i>	53

LISTA DE TABELAS

<i>Tabela 1 - Desempenho de poedeiras em três diferentes faixas etárias durante o primeiro ciclo de produção</i>	15
<i>Tabela 2- Composição nutricional do ovo</i>	21
<i>Tabela 3- Proteínas presentes em gemas de ovos de poedeiras</i>	23
<i>Tabela 4 – Valores médios do peso do ovo nas diferentes faixas etárias</i>	25
<i>Tabela 5- Quantidade de ferro em gemas de ovos</i>	34
<i>Tabela 6- Quantidade de ferro presente em alguns alimentos</i>	37
<i>Tabela 7- Componentes da ração para poedeiras em postura inicial e intermediária.</i>	39
<i>Tabela 8- Componentes da ração para poedeiras em postura final.</i>	40
<i>Tabela 9- Teores de umidade, proteína, extrato etéreo, cinza e carboidratos em g/100g de amostra em base fresca.</i>	45
<i>Tabela 10- Valores médios de ferro total (mg/g) nos diferentes períodos de postura</i>	48
<i>Tabela 11- Valores médios de ferro dialisável (%) nos diferentes períodos de postura</i>	49
<i>Tabela 12 - Concentração de proteínas em gemas cruas e cozidas nos diferentes períodos de postura</i>	50
<i>Tabela 13 - Análise das bandas no programa Kodak Digital Science versão 3.01</i>	54

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística

AOAC – Association of Official Analytical Chemists

FAO – Food and Agriculture Organization

OMS – Organização Mundial da Saúde

FDA – Food and Drug Administration

SOD - Superóxido-Dismutase

NECTA – Núcleo de Estudos em Ciência e Tecnologia Avícola

ANAPO - Associação Nacional dos Avicultores Produtores de Ovos

FSH - Hormônio Folículo Estimulante

LH - Hormônio Luteinizante

USDA - National Nutrient Database for Standard Reference

SDS - Sodium Dodecyl Sulfate

NEPA - Núcleo de Estudos e Pesquisas em Alimentação

UNICAMP – Universidade de Campinas

1 INTRODUÇÃO

O ovo é o produto de eficiente transformação biológica feita pela galinha (*Gallus gallus*) de postura. Esta ave transforma recursos alimentares de menor valor biológico em produto com alta qualidade nutricional para o consumo humano (BERTECHINI, 2005).

Dentre os vários alimentos disponíveis, o ovo é o que mais se aproxima de um perfeito balanço de todos os nutrientes, é fonte absoluta de nutrição para o embrião, sendo valioso pela sua qualidade nutricional, flavor e outras propriedades funcionais, comparados a outros alimentos (ENSMINGER et al., 2004).

Segundo Bertechini (2005) o ovo pode ser considerado o maior aliado para reabilitar a nutrição humana, além de outras contribuições nutricionais importantes a baixo custo.

A produção de ovos comerciais para o consumo cresceu consideravelmente nos últimos anos em todo o mundo (54%) (BERTECHINI, 2005). No primeiro trimestre de 2006, a produção nacional de ovos de galinha (510,885 milhões de dúzias) cresceu 5,47% em relação ao mesmo período de 2005 (484,401 milhões de dúzias). A produção de ovos de galinha encontra-se distribuída por todo o território nacional, sendo os principais estados produtores São Paulo (34%), Minas Gerais (13%) e Paraná (8%) (IBGE, 2006).

Segundo a Asociacion de Productores de Huevos do Chile (2005) o ovo apresenta alta qualidade protéica, com elevada concentração de aminoácidos essenciais, e seu conteúdo de vitaminas A, B₂ e B₁₂, D e minerais, como ferro, manganês, zinco, fósforo e magnésio, o transforma em um dos melhores alimentos considerando suas características nutricionais. Apenas um ovo supre aproximadamente 10% da ingestão recomendada para adultos de vitamina A e de ácido fólico, 17% da recomendação de vitamina B₂ e destaca sua contribuição de B₁₂ e vitamina D.

O ferro é essencial para a vida e atua principalmente na síntese das células vermelhas do sangue e no transporte do oxigênio para todas as células do corpo (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2004).

A deficiência de ferro ocorre normalmente devido ao consumo insuficiente de alimentos fontes de ferro ou a baixa biodisponibilidade (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2007). A carência deste micronutriente tem sido a causa mais freqüente de anemia em todo o mundo, constituindo-se em grave problema de saúde pública em nosso meio (MELO et al., 2002).

Na gema do ovo encontra-se a proteína denominada fosvitina, a mesma atua como carreadora do ferro se ligando a ele, fazendo com que este não esteja disponível para absorção. Segundo Jiang (2000) 95% do ferro presente na gema estão ligados a fosvitina, numa conformação muito estável.

A fosvitina é sintetizada no fígado de galinhas em postura (Schirm; Gruber, 1973) ocorrendo produção de enzimas como a vitelogenina, sendo a mesma produzida em resposta a estrógenos ovarianos, a vitelogenina é transportada por via sangüínea ao ovário onde é endocitada e fragmentada em duas proteínas vitelínicas: lipovitelina e fosvitina (WALLACE; SELMAN, 1981; MATSUBARA; SAWANO, 1995).

Takata et al. (2001) mencionam que as aves atingem maturidade sexual entre 17 e 18 semanas de idade, atingindo o pico de postura entre 28 e 35 semanas de idade e reduz gradativamente após este período. Os hormônios vão se alterando de acordo com o ciclo de vida da poedeira. A atividade de muitas espécies de aves é controlada pelo estímulo ambiental. Portanto, a atividade sexual diminui com os dias mais curtos e aumenta naqueles mais longos (SOUZA-SOARES; SIEWERDT, 2005). Moraes (2007) menciona que a função hormonal não está bem esclarecida, sabe-se que os hormônios ovarianos são essenciais para o desenvolvimento e funcionamento do sistema reprodutivo das aves.

2 DESENVOLVIMENTO

2.1 OBJETIVOS

O objetivo desta pesquisa foi verificar a concentração de proteínas, em especial a fosvitina/lipovitelina presente em gemas de ovos crus e cozidos nos diferentes ciclos de postura (inicial, intermediária e final) e avaliar a interferência desta proteína na disponibilidade do micronutriente ferro.

2.2 Revisão Bibliográfica

2.2.1 Poedeiras nos diferentes ciclos de postura

As aves atingem maturidade sexual entre 17 e 18 semanas de idade, atingindo o pico de postura entre 28 e 35 semanas de idade e reduz gradativamente após este período (TAKATA et al., 2001).

Ao estudar a influência da idade de poedeiras, no primeiro ciclo de postura, sobre o desempenho, percentual de componentes, qualidade interna e externa dos ovos, pesquisadores observaram que aves mais velhas apresentaram menor produção de ovos, a Tabela 1 apresenta o desempenho de poedeiras de diferentes faixas etárias (FARIA, 1999).

Tabela 1 - Desempenho de poedeiras em três diferentes faixas etárias durante o primeiro ciclo de produção

Idade	Produção de ovos (% ave/dia)
1 (20-36 semanas)	92,86 ^a
2 (37-53 semanas)	88,63 ^b
3 (54-70 semanas)	86,29 ^c

Fonte: Faria (1999)

Souza-Soares e Siewerdt (2005) mencionam que a atividade de muitas espécies de aves é controlada pelo estímulo ambiental que sincroniza as estações reprodutivas como um período do ano favorável à sobrevivência da futura prole.

O fotoperiodismo nada mais é do que uma estimulação não-retiniana dada pela duração do dia, ou seja, pela luminosidade. Experiências mostraram que a recepção é extra-retiniana, ou seja, não ocorre como muitos pensam: através da visão. A recepção pode ser feita por receptores fotossensíveis no hipotálamo. Quanto mais luz, maior a atividade sexual. Isso é um fator muito importante na produção industrial de aves, onde se utilizam técnicas de manipulação de fotoperíodo para aumentar a eficiência e produção (MORAES, 2007).

A duração dos dias regula as estações reprodutivas de muitas espécies, portanto, a atividade sexual diminui com os dias mais curtos e aumenta naqueles mais longos (SOUZA-SOARES; SIEWERDT, 2005).

A regulação da liberação de hormônios pelo uso de luz artificial é um instrumento comum usado para retardar ou estimular a reprodução (SOUZA-SOARES; SIEWERDT, 2005).

Moraes (2007) menciona que a função hormonal não está bem esclarecida, sabe-se que os esteróides gonadais (estrogênio, progesterona e androgênios) são essenciais para o desenvolvimento e funcionamento do sistema reprodutivo das aves, além de outros hormônios não-esteróides (catecolaminas, prostaglandinas, ativador do plasminogênio e inibina).

As aves, no início de postura (Figura 1), experimentam o grande desafio de alcançar ao mesmo tempo a maturidade física e o pico de produção de ovos, sendo que o mesmo deverá ser mantido por várias semanas (RODRIGUES et al., 2005).

Figura 1 - Poedeiras com 18 semanas (postura inicial)

Figura 2 - Poedeiras com 40 semanas (postura intermediária)

Figura 3 - poedeiras com 75 semanas (postura final)

2.2.2 Fosvitina e lipovitelina

Segundo Ishikawa (2004) existe uma proteína em gemas de ovos denominada fosvitina, ela atua como carreadora de ferro.

A fosvitina é produzida no fígado de poedeiras na forma de vitelogenina, sendo então transportada via sanguínea ao ovário onde é endocitada e fragmentada em duas proteínas vitelínicas a fosvitina e a lipovitelina, a produção das mesmas ocorre devido à secreção de estrógenos ovarianos, ou seja, é produzida em resposta a estes hormônios (WALLACE; SELMAN, 1981; MATSUBARA; SAWANO, 1995).

Em vertebrados, a produção de uma série de proteínas depende do fígado. A este órgão chega um sinal específico que induz a síntese de vitelogenina, que é transportada pelo sangue até o ovário, onde é captada mediante pinocitose pelo oócito. (DESARROLLO EMBRIONÁRIO, 2005).

A eficiência da fosvitina foi relacionada com a concentração do ferro, indicando que ela atua como auto-oxidante pelos íons de ferro quelato. Fosvitina acelera a

autooxidação do Fe (II) diminuindo a disponibilidade do mesmo na participação do (OH) – O – gerando reação de Fenton (ISHIKAWA, 2004).

De todo oxigênio disponível pela célula, 95% se transforma em energia e 5% se transforma em espécies reativas tóxicas de oxigênio: radical superóxido (O_2^*), peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e radical hidroxila (OH^*). A produção desses elementos é contínua e ininterrupta. A geração de radicais livres se faz em vários locais. Na mitocôndria eles são gerados pela liberação de elétrons da cadeia respiratória com redução das moléculas de oxigênio para radical superóxido. O superóxido é transformado em peróxido de hidrogênio pela SOD Mn e a SOD CuZn. O H_2O_2 é menos reativo que o radical superóxido, porém quando ele reage com metais de transição como o ferro e o cobre, forma-se a radical hidroxila, o mais reativo de todos os radicais livres (reação de Fenton) (FELIPPE, 2003)

A fosvitina é uma principal fosfoproteína com uma massa molecular de 35 kDa, contendo aproximadamente 10% de fósforo e 6,5% de carboidratos. O proposto nome “fosvitina” indica seu elevado conteúdo de fósforo na gema de ovos de galinha (JIANG, 2000). Mais da metade dos aminoácidos componentes da fosvitina são serinas, as quais estão, na maioria, associadas aos ésteres fosfatos. Fosvitina fosfato compreende pelo menos 75% da proteína fosfato no complexo com lipovitelina, contém 123 resíduos de serinas, o que conta com 57,7% do total dos resíduos de aminoácidos (SCHIRM; GRUBER, 1973; BYRNE et al., 1984).

Alguns autores têm sugerido uma fosfoserina – tRNA específica como uma possível intermediária na síntese da fosvitina. Durante a síntese as serinas são fosforiladas principalmente após a liberação da cadeia de peptídeos provenientes de polissomos, provavelmente durante o transporte para o sangue (SCHIRM; GRUBER, 1973).

2.2.3 Composição do ovo

O ovo é um alimento de grande valor nutritivo. Contém proteínas, vitaminas e minerais, destacando as vitaminas A, D, E e do grupo B. Entre os minerais predominam o ferro, fósforo, zinco e selênio, além de conter ácidos graxos saturados e insaturados,

como mostra a Tabela 2. Junto a outras substâncias, o ovo é recomendado como alimento para uma dieta variada e equilibrada (NECTA, 2005).

Ele é um recipiente biológico perfeito que contém material orgânico e inorgânico em sua constituição. A casca representa 12% da sua composição proporcional, sendo o envoltório externo composto basicamente de várias capas de cristais de carbonato de cálcio, dispostos na forma de mamilos, dando a característica de porosidade e funcionando como pulmão para o desenvolvimento do embrião, em ovos embrionados. A clara, também chamada de albúmen, participa com 56% de sua composição total. É constituída de mais de 13 proteínas de alto valor biológico, sendo que as principais são a ovoalbumina e a ovotransferrina que representam 66 % de todas as proteínas da clara. A gema representa 32% da composição proporcional do ovo e contém a maior fração de nutrientes essenciais como vitaminas, proteínas de alto valor biológico (97,3 %), fosfolípidos, ácidos graxos essenciais e minerais (BERTECHINI, 2005).

Tabela 2– Composição nutricional do ovo

	Quantidade por ovo	% que um ovo contribui para as necessidades totais diárias recomendadas (adulto)
Energia	90 Kcal	3,00
Proteínas	7,50 g	13,90
Gordura	6,66 g	6,70
Vitamina B2	0,20 mg	11,00
Niacina	2,04 mg	10,20
Ácido fólico	15 µg	7,50
Vitamina B12	1,02 µg	51,00
Vitamina A	96 µg	9,60
Vitamina D	1,05 µg	21,00
Vitamina E	0,96 µg	8,00
Biotina	12,12 µg	40,40
Ferro	1,32 µg	13,20
Iodo	12 µg	8,60
Zinco	0,90 mg	6,00
Fósforo	118,20 mg	14,80
Selênio	9,60 µg	13,70

Fonte: Necta (2005)

A gema caracteriza-se como parte central do ovo, contém camadas de cor amarelo claro e escuro, cercada pela membrana vitelina. Apresenta também uma pequena gema branca que se estende do centro para o exterior, onde, no ovo fertilizado, tem início o desenvolvimento do embrião (ANAPO, 2005).

A gema é mais concentrada do que a clara, contendo menos água, mais proteínas e quantidade considerável de gordura. Possui proteínas simples, conhecidas como livetina e as fosfoproteínas, mais complexas. Os lipídeos do ovo incluem gorduras simples, fosfolipídeos, tais como as lecitinas e esteróis (ANAPO, 2005).

O conteúdo de lipídios de um ovo é de 11%, tendo especial importância sua riqueza em fosfolipídeos (NECTA, 2005).

Segundo Belitz e Grosch (1988) a gema pode ser considerada como uma dispersão de grânulos numa fase aquosa contínua ou plasma, podendo ser classificada da seguinte forma:

Gotas de gema: o tamanho é bastante diferenciado, de 20-40 μm de diâmetro, que se assemelha a glóbulos de gordura. São compostas principalmente de lipídios, mas possuem membrana protéica. Esta parte é constituída essencialmente de lipoproteínas de baixa densidade LDL.

Grânulos: possuem diâmetro de 1,0 a 1,3 μm , sendo mais uniformes que as gotas de gema. Exibem uma subestrutura peculiar e compõem-se basicamente de proteínas, podendo também possuir lipídios e substâncias minerais.

A quantidade protéica, como mostra a Tabela 3 e os lipídios da gema devem ser considerados conjuntamente, tanto do ponto de vista químico quanto do funcional. A gema é uma fonte de lipídios facilmente dispersáveis na água e que permite a emulsão de outras substâncias. Estas propriedades são devidas ao elevado conteúdo de fosfolipídios e ao fato de que todos os lipídios, incluindo o triacilgliceróis – estão associados pelo menos a duas proteínas (vitelina e vitelenina).

Sgarbieri (1996) determina que os constituintes da gema possam ser separados por centrifugação. A centrifugação permite separar três frações: a fração de baixa densidade (LDF), a fração de elevada densidade (HDF) e a fração aquosa. A fração de baixa densidade flutua no topo do tubo da centrífuga; a de alta densidade sedimenta na forma de pellets, já a fração aquosa fica entre as duas outras frações.

Tabela 3- Proteínas presentes em gemas de ovos de poedeiras

Proteína	Extrato seco (%)	Proporção das proteínas na gema (%)	Peso molecular (Da)	Conteúdo de lipídios (%)	Fósforo nas proteínas (%)	Localização
Fosvitina	4	10	36.000	0	10	Grânulos
Lipoviteline HDL	16	36	400.000	20	$\alpha = 0,5$ $\beta = 0,25$	Grânulos
Lipoviteleninas LDL	68	24	3 e 10×10^6	88	0,1	Fase contínua
Livetinas	10	30	$\alpha = 80.000$ $\beta = 45.000$ $\gamma = 150.000$	0	-	Fase contínua
Yolk Riboflavin Binding Protein	1,5	0,4	36.000	0	0,2	-

Fonte: Linden; Lorient (1996).

Na Figura 4 se apresenta um ovo de galinha (corte transversal) que permite diferenciar com nitidez as partes fundamentais que o constitui e outras complementares (INSTITUTO DE ESTUDIOS DEL HUEVO, 2005).

Figura 4 – Corte transversal do ovo de galinha (Fonte: Instituto de Estudios Del huevo, 2005)

2.2.4 Ovos dos diferentes ciclos de postura

A produção de ovos com qualidade de casca desejável vem sendo preocupação da indústria. Perda de ovos por qualidade inferior da casca ou por outras razões pode alcançar a 20% antes de chegar ao seu destino final, ou seja, o consumidor (CLUNIES; ENSLIE; LEESON, 1992).

Roland e Hamilton (1978) determinaram que haja decréscimo na qualidade da casca do ovo com o aumento da idade da ave, constatam que o tamanho do ovo aumenta mais rapidamente com a idade do que o peso da casca e em consequência diminui a espessura da casca e sua porcentagem em relação ao peso do ovo.

Outros trabalhos determinam ser o tamanho do ovo o responsável pela pior qualidade da casca em galinhas velhas (ROLAND, 1982).

Oliveira et al. (2006) mencionam que poedeiras mais velhas produzem ovos de maior massa, como apresenta a Tabela 4.

Tabela 4 – Valores médios do peso do ovo nas diferentes faixas etárias

Idade	Peso do ovo (g)	Peso da gema		Peso da casca	
		(g)	(%)	(g)	(%)
20 semanas	42,84	10,40	24	5,36	13
22 semanas	48,30	11,65	24	5,76	12
25 semanas	51,94	12,35	24	6,49	12

Fonte: Oliveira et al. (2006).

Hussein (1993) verificou que a relação gema:albúmen aumenta com a idade das poedeiras., porém segundo Oliveira et al. (2006) essa relação se mantém, já que a gema mantém 24% do peso do ovo.

Com o envelhecimento das matrizes avícolas, são produzidos folículos maiores, o que resulta na produção de ovos maiores e, também, no aumento da relação entre o peso da gema e o peso do ovo (VIEIRA, 2001).

Nas Figuras abaixo 5, 6 e 7 são apresentados o tamanho dos ovos dos diferentes estágios de postura

Figura 5 - Ovos de poedeiras em postura inicial

Figura 6 - Ovos de poedeiras em postura intermediária

Figura 7 - Ovos de poedeiras em final de postura

2.2.5 Constituição do ovo

Os processos produtivos em aves domésticas diferem substancialmente dos demais animais domésticos porque as aves ovulam um único ovócito em intervalos freqüentes e devem produzir um ovo fértil que preencha todas as necessidades do embrião em desenvolvimento sem interferência materna adicional (FROMAN; KIRBYS; PROUDMAN, 2004).

O sistema reprodutor feminino das aves está adaptado para permitir a fertilização interna, como nos mamíferos, no entanto, não abrigará o conceito. Sendo assim, o oviduto se modifica para garantir a sobrevivência e o desenvolvimento da cria fora do corpo, uma vez que, essa estrutura fornece os nutrientes necessários e encerra a cria em uma casca protetora (BANKS, 1992).

As gônadas bilateralmente simétricas e ovidutos são formadas precocemente na vida embrionária. Entretanto, em geral, o ovário e o oviduto esquerdos logo superam no seu desenvolvimento os mesmos órgãos do lado direito, de modo que na vida adulta somente o ovário e oviduto esquerdos, são funcionais. Apesar disso, persistem rudimentos da gônada e do oviduto direitos, de tal forma que no adulto o aparelho reprodutor feminino está constituído por ovário e oviduto, somente do lado esquerdo (MORENG; AVENS, 1990).

O oviduto, na fêmea imatura ou naquela fora da estação reprodutiva, aparece como um tubo reto e de diâmetro uniforme, com uma abertura em forma de funil na extremidade próxima ao ovário. Durante os períodos reprodutivos o oviduto aumenta de tamanho e tem sua forma alterada, com espessamento das paredes e um aumento no comprimento que resulta na formação de dobras de porções do tubo sobre si mesmo. Neste período há também a diferenciação das cinco regiões associadas com os processos de formação do ovo (ROMANOFF, 1949).

Segundo Romanoff (1949) o crescimento do oviduto após a eclosão é lento e progressivo até a 20ª semana, atingindo nesta idade um comprimento de aproximadamente 11 centímetros e um peso de um grama. Após a vigésima semana o oviduto alonga-se mais rapidamente atingindo aproximadamente 25 centímetros e cerca

de 22g por volta da vigésima primeira semana. A maior parte do alongamento envolve o infundíbulo, magno e istmo.

Froman; Kirbys e Proudman (2004) relatam que o oviduto consiste em cinco componentes funcionalmente diferentes. O mais anterior é o infundíbulo, que tem a função de captar o oócito ovulado e é o local de fertilização. A porção mais estreita do infundíbulo, glandular, é conhecida como “região calazífera” e as secreções dessa região formam uma camada perivitalina mais externa e provavelmente contribuem para a formação da calaza.

A superfície interna do oviduto da galinha é revestida por epitélio simples colunar, o qual contém morfologicamente dois tipos de células: ciliadas e não ciliadas (BARATELLA-EVÊNCIO; EVÊNCIO-NETO; SIMÕES, 1998).

O magno é a região de secreção do albúmen (BANKS, 1992).

Esse é o seguimento ovidutal mais longo, distinguível do infundíbulo e do istmo pelo diâmetro externo maior, paredes mais grossas e pregas mais volumosas. A maioria das 40 proteínas no albúmen é produzida na mucosa do oviduto. As glândulas tubulares dão à ovalbumina, que forma mais de 54% da clara, tanto quanto a lisozima, ovotransferrina e ovomucóide (FROMAN; KIRBYS; PROUDMAN, 2004)). O istmo é a porção mais curta do oviduto que forma a membrana da casca ao redor do ovo em desenvolvimento. É reconhecido por suas paredes mais estreitas e finas por pregas luminiais menos volumosas do que aquelas encontradas no magno. Tem sido observado que enquanto o ovo coberto pelo albúmen está entrando no istmo, uma membrana é depositada sobre as partes em contato com o tecido glandular (FROMAN; KIRBYS; PROUDMAN, 2004).

A glândula da casca, sempre referida como útero, é caracterizada por uma seção em forma de bolsa, unida ao istmo por um “colo” curto e por uma muscularização extensa. Secrete parte da clara e onde ocorre infiltração da água, dando o formato do ovo. Nesta fase o carbonato de cálcio é depositado sobre a membrana da casca, processo que dura cerca de 20 horas. Durante aproximadamente um período de 6 horas, um líquido aquoso produzido pela região do colo passa para dentro do ovo, resultando em aumento de duas vezes na massa da clara (FROMAN; KIRBYS; PROUDMAN, 2004).

O oviduto é formado pelo infundíbulo, magno, istmo, útero e vagina (Figura 8).

Figura 8 - Útero de galinha doméstica com presença de ovo formado no útero e várias gemas no ovário

O ovo é formado no ovário esquerdo da galinha por um processo lento, como ilustra a Figura 9, com duração entre 24 e 25 horas, tendo como suporte muitos órgãos e sistemas que auxiliam na transformação dos nutrientes absorvidos provenientes da dieta da ave na sua composição nutricional final. A ovulação ocorre normalmente meia hora após a oviposição, sendo que o óvulo é captado pelo infundíbulo, iniciando assim a complementação da composição final do produto. Duas fases distintas compõem o processo de formação do ovo, a primeira, com pequena duração (4h), corresponde à formação de todos os componentes internos do ovo (membranas e albúmem), já que a gema encontra-se pronta após a ovulação; a segunda é um processo lento (20 - 21h), ocorrendo à deposição de cálcio durante a formação da casca, na câmara calcífera, onde o íon HCO_3^- se combina com o Ca^{2+} formando o CaCO_3 (carbonato de cálcio) que representa 98% da composição da casca (BERTECHINI, 2005).

Figura 9 – Constituição do ovo (Fonte: Instituto de Estudios Del Huevo (2005))

2.2.6 Função do ovário

O ovário da galinha apresenta função celular e endócrina. Está firmemente aderido à parede corporal dorsal, colocado intimamente no pólo anterior do rim esquerdo. Seu tamanho dependerá do estado funcional e tem normalmente cor amarelada com matrizes rosados, forma arredondada a poligonal e apresenta-se lobulado e friável. Nele estão presentes folículos com ovócitos, estes sofrem influências do FSH e se desenvolvem produzindo estrogênio e androgênio (MORAES, 2006).

A ovogônia das aves se desenvolve e o seu citoplasma torna-se rico em vitelo amarelo denominado gema. Uma vesícula germinativa encontra-se no interior da gema e sofre migração para a superfície quando então se aplaina e forma o disco germinativo. Concluída a maturação do oócito, ocorre então a ovulação (MORAES, 2006).

No ovário ocorre a formação da gema através da incorporação ao citoplasma do oócito de matéria prima, tais como: sais minerais, proteínas e lipídios. Estes últimos são oriundos do metabolismo hepático, e incorporado ao oócito através das células da granulosa (MORAES, 2006).

Moraes (2006) determina as diferentes fases de formação da gema:

Fase embrionária

Até o 14º dia de incubação a ave já está com o ovário completamente formado e chega ao nascimento com uma população de oócitos em torno de 4.000.

Da fase embrionária até 8-10 dias antes da ovulação

Esta é a fase de crescimento lento, onde as substâncias são incorporadas de forma lenta à gema.

De 8-10 dias antes da ovulação até a ovulação ocorrida

É a fase de crescimento rápido onde ocorre aumento da gema na ordem de 0,5 a 2,8g/dia.

2.2.7 Principais funções dos hormônios ovarianos

Estrogênio

- ✚ Síntese da gema pelo fígado;
- ✚ Mobilização de cálcio ósseo para formação da casca;
- ✚ Produzido pelos folículos pequenos e pelos folículos pré-ovulatórios (estrone e estradiol).

Progesterona

- ✚ Secreção do albúme e indução à onda de LH ;
- ✚ Produzido pelos folículos pré-ovulatórios.

Androgênios

- ✚ Características sexuais secundárias;
- ✚ Produzido pelos folículos pré-ovulatórios.

2.2.8 Ovulação

Não se sabe ao certo na ovulação se o estímulo desencadeante é hormonal ou neural, mas sabe-se que ocorre aproximadamente 6 horas após a onda de LH e cerca de 30 minutos após a postura. Geralmente a ovulação ocorre por rompimento de um local com menor vascularização o estigma, porém sem sangramento e no local do folículo rompido não existe formação de corpo lúteo, e sim a formação de uma alça de feedback positivo entre a produção de progesterona e LH que leva a um pico hormonal mais importante na ovulação (MORAES, 2006).

2.2.9 Fecundação

Moraes (2006) determina ser normal a ocorrência de polispermia com entrada de 2 ou 3 espermatozóides que formam pró-núcleos masculinos. Um deles se unirá com o pró-núcleo feminino e assim iniciará o desenvolvimento embrionário, sendo que os demais sofrem a degeneração.

2.2.10 Oviposição

Por volta de 24 a 26 horas após a ovulação, o ovo já está formado no oviduto e a postura ocorre por contrações da parede do útero. A produção anual de uma galinha gira em torno de 265 ovos de peso 58g. Esta produção dependerá de uma alimentação adequada e de um plano de luz adequado.

2.2.11 Biodisponibilidade do Ferro

Segundo Barrios; Gomez e Delgado (2000) o ferro é um elemento essencial para a vida, posto que participe praticamente em todos os processos de oxidação-redução. Pode considerar-se que o ferro no organismo se encontra formando parte de dois compartimentos: um funcional formado por numerosos compostos, entre os que incluem a hemoglobina, a mioglobina, a transferrina e as enzimas que requerem ferro como co-fator ou como grupo prostético, ou seja, em forma iônica ou como grupo heme, e seu compartimento de depósito, constituído ferritina e a hemossiderina, responsáveis pelas reservas corporais deste metal.

Barrios; Gomez e Delgado (2000) relatam que a absorção do ferro depende em primeiro lugar do tipo de composto de ferro presente na dieta, em dependência do qual vão existir duas formas diferentes de absorção: a de ferro heme e a de ferro não heme.

A absorção do ferro heme é bem mais elevada do que a absorção do ferro presente nos outros alimentos, sendo estimada em 20 a 25%. A absorção desse tipo de ferro quase não é afetada por outros constituintes da alimentação. O ferro não-heme, encontrado nas leguminosas, cereais, verduras, frutas e produtos lácteos, tem uma absorção variável, dependente da necessidade do indivíduo, da quantidade presente na alimentação e da atuação de fatores inibidores e estimuladores. A absorção desse tipo de ferro pode variar de 1 a 30% (LOPES, 2003).

O ferro é assimilado pelas células mucosas na forma de complexos de baixo peso molecular semelhante ao sorbitol e frutose. Por esta razão o ferro pode ser transportado em direção a apoferritina ou na forma de outros quelantes de baixo peso molecular que no plasma estará formando um complexo semelhante à transferrina. A substituição de glicose por frutose foi marcante com Fe em experimentos com ratos, aumentando significativamente a retenção e a absorção do ferro. Certo aumento também ocorreu na presença de lactose, mas, não significante estatisticamente. Esta descoberta não descarta a possibilidade da existência de quelatos em relação ao mecanismo responsável pela absorção do ferro pelo efeito da frutose (PABÓN de ROZO; VAN CAMPEN; MILLER, 1986).

A apotransferrina de citossol contribui a aumentar a velocidade e eficiência da absorção de ferro (BARRIOS; GOMEZ; DELGADO, 2000).

No interior do citossol, a ceruloplasmina (endoxidase I) oxida o ferro ferroso a férrico para que seja captado pela apotransferrina que se transforma em transferrina. Já o ferro que excede a capacidade de transporte intracelular é depositado como ferritina, pela qual uma parte pode ser posteriormente liberada a circulação (BARRIOS; GOMEZ; DELGADO, 2000).

O ferro é um dos micronutrientes mais estudados e melhor descritos na literatura, desempenhando importantes funções no metabolismo humano (PAIVA; RONDÓ; GUERRA-SHINOHARA, 2000). Franco (1999); IBGE (1999); USDA (2005) mencionam a quantidade de ferro presente em gemas de ovos (Tabela 5).

Tabela 5– Quantidade de ferro em gemas de ovos

	Quantidade de ferro¹ (g)
Tabela de composição de alimentos/IBGE	2,75 mg
Tabela de composição química G. Franco.	2,93 mg
USDA – National Nutrient Database for Standard Reference	1,06 mg

¹ Ovos com 59g em média

Teoricamente, a carência de ferro ocorre no organismo de forma gradual e progressiva, considerando-se três estágios até que a anemia se manifeste. O primeiro estágio, depleção de ferro, afeta os depósitos e representa um período de maior vulnerabilidade em relação ao balanço marginal de ferro, podendo progredir até deficiência mais grave com conseqüências funcionais. O segundo estágio, deficiência de ferro, é referido como eritropoiese ferro-deficiente e caracteriza-se por alterações bioquímicas que refletem a insuficiência de ferro para a produção normal de hemoglobina e outros compostos férricos, ainda que a concentração de hemoglobina não esteja reduzida. O terceiro e último estágio, anemia ferropriva, caracteriza-se pela diminuição dos níveis de hemoglobina, com prejuízos funcionais ao organismo, tanto

mais graves quanto maior for essa redução (PAIVA; RONDÓ; GUERRA-SHINOHARA, 2000).

Os constituintes da dieta que interferem na biodisponibilidade do ferro não-heme e do *pool* de ferro intraluminal podem ser classificados em estimuladores e inibidores da absorção de ferro (VANNUCCHI; FREITAS; SZARFARC, 1992).

2.2.12 Fatores estimuladores e inibidores da dieta

Chamam-se fatores inibidores as substâncias presentes em alguns alimentos que prejudicam a absorção do ferro não-heme, e fatores estimuladores as substâncias que facilitam essa absorção.

Exemplos de fatores estimuladores: ácido ascórbico (vitamina C presente em frutas e hortaliças cruas), ácido cítrico (presente no vinagre e em frutas cítricas), açúcar (glicose), alguns aminoácidos como a cisteína, proteínas animais (carnes, peixes, frutos do mar etc) (LOPES, 2003).

O ácido ascórbico converte o ferro férrico em ferroso tornando-o solúvel no meio alcalino do intestino delgado. Além disso, no pH ácido do estômago, o ácido ascórbico forma quelato com o cloreto férrico, que permanece estável em pH alcalino (BOTHWELL et al., 1989).

Já os aminoácidos (cisteína) e açúcares podem formar quelatos de ferro de baixo peso molecular facilitando a absorção de ferro no intestino (ANDREWS, 1998).

Estudos realizados por Garcia-Casal et al. (1998) constataram que interações de certos elementos em cereais baseados em dietas suplementadas com ferro, vitamina A e beta-caroteno demonstraram que a vitamina A aumentou a absorção do ferro mais que duas vezes em arroz, 0,8 em trigo e 1,4 em milho. Beta-caroteno aumentou a absorção mais que três vezes para o arroz e 1,8 para o trigo e milho sugerindo que ambos componentes previnem os efeitos de inibição causados pelo fitato sobre a absorção do ferro.

Exemplos de fatores inibidores: fosfatos (presente nos ovos), fitatos (presentes em cereais integrais, leguminosas e em algumas folhas, como a folha da mandioca), algumas proteínas (como a caseína do leite de vaca), excesso de fibras (como a do

farelo de trigo, que também contém fitato), oxalatos (presentes em algumas folhas, como a do espinafre e a folha de mandioca), taninos (presentes nos chás, no café, no chocolate, etc). Excesso de alguns minerais na alimentação pode comprometer a absorção de ferro, como cálcio, zinco e cobre (LOPES, 2003).

Os fosfatos ligados ou não a proteínas formam complexos insolúveis com ferro e são os principais responsáveis pela baixa biodisponibilidade do ferro em ovos, leite e derivados (LERNER; IANCU, 1988; BOTHWELL et al., 1989).

As melhores fontes de ferro conhecidas são as vísceras animais (fígado, coração, moela etc), seguidas das carnes em geral (aves, boi, peixes etc), leguminosas, cereais integrais, melado, algumas folhas verde-escuras (couve, brócolis, almeirão etc). A forma de preparo dos alimentos também pode influenciar a absorção de ferro pelo organismo. Como por exemplo, o cozimento dos cereais integrais (arroz, trigo etc) e das leguminosas (feijão, soja, ervilha etc) diminui a quantidade de fitatos presentes nesses alimentos, aumentando a disponibilidade do ferro para o organismo humano. O mesmo ocorre com a fermentação e a germinação desses mesmos grãos. Perturbações metabólicas também podem comprometer a absorção do ferro. Como a absorção desse mineral no organismo necessita da acidez do estômago (liberação do ácido clorídrico, que mantém o ferro na sua forma ferrosa, que é mais solúvel), comprometimentos no aparelho digestivo podem prejudicar a absorção do ferro, através da redução na liberação do ácido clorídrico. Assim sendo, a absorção do ferro vai depender de várias características da alimentação, como a presença ou não de carne, a quantidade de fatores inibidores ou estimuladores presentes e a condição do organismo em absorver o ferro. As reservas de ferro também influenciam nessa absorção, ou seja, a necessidade de ferro (gerada por uma baixa reserva no corpo) estimula uma maior absorção pelo organismo (LOPES, 2003).

De um modo geral, Lopes (2003) preconiza que uma alimentação que contenha uma boa quantidade de grãos (incluindo leguminosas), um pouco de carne (cerca de 90 gramas por refeição) e uma grande variedade de vegetais, incluindo saladas cruas, são suficientes para produzir um bom fornecimento de ferro ao organismo, desde que alguns fatores inibidores sejam isolados (evitar café e chá após as refeições, por exemplo). Pessoas que optam por uma alimentação vegetariana devem ter um cuidado maior com

a ingestão de ferro, uma vez que não consomem carne de nenhum tipo. Não exceder na ingestão de fibras e aumentar o consumo de fontes de vitamina C (frutas, principalmente as ácidas, e vegetais crus) junto às refeições são medidas que podem facilitar a absorção do ferro. O consumo de uma maior quantidade de leguminosas (ervilha, feijão, lentilha, grão de bico etc.) e, principalmente, da proteína de soja isolada (na forma de bifes ou outras preparações) aumenta a oferta de ferro total para o organismo, embora seja de ferro não-heme.

Como mostra a Tabela 6, é necessário salientar que não basta o alimento ter um alto teor de ferro total, mas o tipo de ferro presente e a quantidade do alimento que podemos ingerir normalmente em uma refeição devem ser considerados.

Tabela 6- Quantidade de ferro presente em alguns alimentos

Alimentos	Quantidades (mg)
Brócolis (folhas)	15,0
Marisco (carne)	12,70
Flocos de cereais	12,50
Açaí (fruto)	12,20
Fígado de boi cru	12,10
Açaí (suco)	9,30
Farinha de soja	9,10
Melaço	7,40
Ervilha seca	6,00
Gema de ovo	5,87
Aveia (flocos)	4,50
Feijão preto	4,30
Repolho	4,20
Acelga (folhas e talos)	3,55
Carne de boi crua	2,85

Fonte: Franco (1999).

2.2.13 Recomendações e carência de ferro

A National Research Council - Recommended Dietary Allowances (1989) preconiza as seguintes recomendações Ferro para o organismo humano:

- 🚦 Mulheres entre 19 a 50 anos: 15 mg/dia;
- 🚦 Mulheres acima de 51 anos: 10 mg/dia;
- 🚦 Grávidas: 30 mg/dia;
- 🚦 Lactantes (mulheres que amamentam): 15 mg/dia;
- 🚦 Homens entre 19 a 51 anos ou mais: 10 mg/dia;
- 🚦 Crianças de 1 a 3 anos: 7 mg/dia;
- 🚦 Crianças de 4 a 8 anos: 10 mg/dia;
- 🚦 Crianças de 9 a 13 anos: 8 mg/dia;
- 🚦 Adolescentes (mulheres): 15 a 18 mg/dia;
- 🚦 Adolescentes (homens): 8 a 10 mg/dia.

A anemia é a perturbação nutricional mais difundida em todo o mundo. A causa mais comum da anemia nutricional é a carência de ferro, ou a falta de ferro na dieta.

Outras causas são as infecções parasitárias, tais como a ancilostomíase, e a perda de sangue durante a menstruação e o parto. O ferro é um mineral importante, que é necessário para a formação dos glóbulos vermelhos, que transportam o oxigênio no sangue (LOPES, 2003).

O organismo humano recebe ferro de duas formas: o ferro exógeno, proveniente dos alimentos ingeridos, e o ferro endógeno, proveniente da destruição das hemácias, que libera cerca de 30 mg desse metal para ser reutilizado pelo organismo (LOPES, 2003).

A anemia é uma deficiência nutricional grave que afeta grande parcela da população mundial de praticamente todos os estratos sociais, estima-se que 90% das anemias sejam causadas por carência de ferro, portanto o principal objetivo é o combate da anemia ferropriva (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2005).

2.3 Material e Métodos

O trabalho foi realizado no laboratório de bromatologia do Departamento de Agroindústria, Alimentos e Nutrição, da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” – ESALQ- Universidade de São Paulo – USP.

2.3.1 Matéria-prima

Foram utilizados 270 ovos de galinhas da raça Bovans, provenientes de uma granja situada na cidade de Cordeirópolis / SP. Os ovos foram coletados de um único lote de 200 metros com aproximadamente nove mil poedeiras, sendo a coleta realizada em diferentes períodos devido à idade das mesmas, poedeiras em início, meio e fim de postura (18, 40 e 75 semanas respectivamente). A primeira coleta se deu em Janeiro de 2006 a segunda em Junho de 2006 e a terceira em dezembro de 2006. A alimentação oferecida às galinhas foi ração comercial (Tabelas 7 e 8), em diferentes proporções de nutrientes conforme a idade e produção de cada uma delas.

Tabela 7 - Componentes da ração para poedeiras em postura inicial e intermediária.

MATÉRIA PRIMA	QUANTIDADES(mg/kg)
Calcáreo	61,000
Farinha de carne	55,500
Farinha de ostra	20,000
Milho á granel	619,000
Óleo degomado	5,000
Multiovo postura c/MIN 1.1	4,000
Sal	3,000
Soja á granel	232,500

RAÇÃO: POSTURA PICO - MULTIMIX

Tabela 8 - Componentes da ração para poedeiras em postura final.

MATÉRIA PRIMA	QUANTIDADES(mg/kg)
Calcáreo	65,000
Farinha de carne	53,000
Farinha de ostra	20,000
Milho á granel	625,000
Multiovo postura c/MIN 1.0	4,000
Sal	3,000
Soja á granel	230,000
RAÇÃO: POSTURA I – MULTIMIX	

2.3.2 Métodos

Os tratamentos foram realizados em diferentes períodos e utilizaram-se ovos crus e cozidos.

- Tratamento 1: gemas cruas de poedeiras em início de postura;
- Tratamento 2: gemas cruas de poedeiras em idade média de postura;
- Tratamento 3: gemas cruas de poedeiras em final de postura;
- Tratamento 4: gemas cozidas de poedeiras em início de postura;
- Tratamento 5: gemas cozidas de poedeiras em idade média de postura;
- Tratamento 6: gemas cozidas de poedeiras em final de postura.

2.3.2.1 Composição centesimal

As análises químicas da matéria seca, cinza, extrato etéreo e proteínas foram realizadas de acordo com a metodologia descrita pela Associação Oficial de Química Analítica, AOAC (2006). Para obtenção da matéria-seca, as amostras foram secas em estufa, por aproximadamente três dias a 105°C, até um peso constante, obtendo-se a umidade pelo método gravimétrico; para a obtenção da fração de cinza, foi utilizada mufla à 550° C por um período de 6 horas, sendo o resultado obtido por gravimetria; a fração extrato etéreo foi determinada através do extrator de Soxhlet. Na extração foi utilizado éter etílico em refluxo contínuo da amostra por 6 horas, após este procedimento os tubos foram colocados em estufa a 100° C durante 20 minutos, em seguida os mesmos foram transferidos para dessecador até atingir aproximadamente 37° C para posterior pesagem; o teor de proteínas foi realizado pelo método Microkjeldahl, o conteúdo de Nitrogênio obtido foi multiplicado pelo fator 6,25. Os carboidratos totais foram obtidos por diferença.

Os procedimentos descritos acima foram realizados com gemas cruas e cozidas.

2.3.2.2 Diálise de ferro “in vitro”

A análise foi realizada pelo método descrito por Whittaker; Fox e Forbes (1989). As amostras após dissolução em água destilada, foram adicionados HCl 6N até atingir o pH 2, em seguida adicionou HCl 0,01 N até atingir o volume de 100mL. A digestão foi feita com solução de HCl-pepsina sendo as amostras levadas para agitação por um período de 2 horas à 37° C. A acidez titulável foi realizada pela adição da solução de pancreatina – bile seguida de titulação com KOH 0,5M até pH 7,5. A partir do volume de KOH titulável, foi feita a diluição do mesmo volume de NaHCO₃ 0,5N.

A diálise foi realizada colocando o material digerido em sacos de diálise (25 Angstroms), sendo acrescentado três vezes o volume NaHCO₃ 0,5 N, fazendo com que o digerido ficasse submerso. Os frascos foram então cobertos e agitados durante 30 minutos a 37° C. Acrescentou-se suspensão de bile pancreatina ficando incubado por mais duas horas. O conteúdo dialisável foi completado a 25mL, com água deionizada.

Após este procedimento foram pipetados 5 mL do dialisado para o tubo de centrifuga com adição de solução precipitante de proteínas. Foi adicionada solução cromogênica ao sobrenadante. Após 10 minutos, foi realizada a leitura a 533 nm em espectrofotômetro Beckman modelo DU 640. A quantidade de ferro dialisado foi obtida por meio de curva padrão previamente preparada. Os resultados foram expressos em porcentagem.

2.3.2.3 Extração da fosvitina

A fosvitina foi isolada de acordo com o método de McBee e Cotterill (1979).

As gemas, após quebra manual dos ovos frescos, foram cuidadosamente separadas da clara e calaza com o auxílio de papel filtro. A membrana vitelina foi perfurada com uma agulha e o conteúdo coletado em um Béquer a temperatura de 4°C, sendo gemas cruas e cozidas de poedeiras em início, meio e fim de postura respectivamente.

As gemas foram homogeneizadas com NaCl 0,17M e então centrifugadas (J2-MC Centrifuge) por 45 min a 10.000g. Coletou-se os grânulos sendo os mesmos misturados em volume de 2:1 mL de solução de NaCl 0,17M, essa mistura foi então centrifugada novamente. Os grânulos lavados foram misturados em solução de 0,8 M de NaCl (1:10mL). Em seguida foi realizada diálise durante toda a noite. Após a diálise a suspensão foi então centrifugada a 20.000g por 30 minutos. Ao sobrenadante obtido contendo fosvitina foi adicionado acetona para a retirada de lipídios obtendo-se amostras com massa de 6g, 4,5g e 3,5g (gemas de poedeiras em início, meio e fim de postura), em seguida as amostras foram liofilizadas, obtendo-se então uma massa de 4,5g, 3g e 2g respectivamente.

Todo o procedimento acima foi realizado em gemas cruas, em gemas cozidas a obtenção não foi significativa.

2.3.2.4 Eletroforese em Gel de Poliacrilamida

Foi coletado 1g de amostra liofilizada homogeneizando-a em 300µL de água mili-Q, depois de quantificadas, as amostras foram submetidas à eletroforese em gel de poliacrilamida (SDS-PAGE). O procedimento de preparação e corrida dos géis foi exatamente como o descrito por Laemmli (1970). O sistema foi constituído de 2 géis, um de resolução (gel principal) e um de empacotamento (gel de empacotamento), ambos contendo acrilamida com uma concentração de 12% e 4% respectivamente. Para a preparação das amostras, adicionou-se tampão de amostra, o qual continha 3,0 mL de água destilada, 1,0 mL de solução Tris-HCl (pH 6,7), 1,6 mL de glicerol, 1,6 mL de SDS 10%, 0,4 mL de β-mercaptoetanol e 0,4 mL da solução de 0,5 % de azul de bromofenol. A proporção utilizada de amostra e tampão foi de 1:1 (v/v).

Depois de preparadas, as amostras foram fervidas durante 5 minutos, antes de serem colocadas no gel. Como marcador de massa molecular foi utilizado o BenchMark™ Protein Ladder (Invitrogen). A eletroforese foi conduzida em sistema vertical à corrente constante de 15 mA e à temperatura ambiente, por cerca de 3,5 a 4 horas.

2.3.2.4.1 Coloração dos géis

A coloração dos géis foi realizada de acordo com a quantidade de proteína aplicada no gel, com reagente de Coomassie (para 20 µg de proteína) ou Coloração com prata (para 5 µg de proteína).

Para a coloração do gel com Coomassie, foi utilizada uma solução de 0,5 g de Coomassie azul brilhante R-250 em 500 mL de uma solução 20% de metanol, 8% de ácido acético e 76% de água destilada overnight. Para descorar o gel, utilizou-se uma solução 20% de metanol, 8% de ácido acético e 76% de água destilada, durante toda a noite.

2.3.2.5 Delineamento estatístico

O delineamento estatístico foi inteiramente ao acaso com comparação das médias obtidas nos diferentes tratamentos. Foram analisados 6 tratamentos sendo ovos obtidos em 3 tempos e 2 formas. Os tratamentos foram analisados pelo teste F e posteriormente pelo método de Tukey (5%) utilizando o software Statistical Analysis System (1999).

2.4 Resultados e Discussão

Para obtenção dos resultados foram realizadas as análises de composição centesimal, concentração de ferro total e dialisável, concentração de proteínas em gemas e eletroforese (Tabela 9 a 12).

2.4.1 Composição centesimal

Os valores de umidade, extrato etéreo, proteínas, cinza e carboidratos presentes em gemas de poedeiras em postura inicial, intermediária e final (gemas cruas e gemas que passaram pelo processo de cocção estão apresentados na Tabela 9).

Se tratando de gemas cruas e gemas que passaram pelo processo de cocção foi possível perceber diferenças significativas em alguns tratamentos, porém de um modo geral observou-se que não houve diferença ($P \leq 0,05$) significativa entre os tratamentos.

Tabela 9 - Teores de umidade, proteína, extrato etéreo, cinza e carboidratos em g/100g de amostra em base fresca

Umidade		
	Gemas cruas	Gemas cozidas
Postura	umidade (g/100g)	umidade (g/100g)
Inicial	48,50±0,0 ^{1a2A3}	48,38±0,0 ^{aB}
Intermediária	47,15±0,0 ^{bB}	48,73±0,0 ^{aA}
Final	47,08±0,0 ^{aB}	47,03±0,0 ^{aC}
Extrato etéreo		
	Gemas cruas	Gemas cozidas
Postura	Extrato etéreo (g/100g)	Extrato etéreo (g/100g)
Inicial	25,33±0,46 ^{bC}	25,62±0,81 ^{aB}
Intermediária	27,96±0,37 ^{bB}	30,94±0,37 ^{aA}
Final	31,08±1,36 ^{aA}	30,91±1,46 ^{aA}
Proteínas		
	Gemas cruas	Gemas cozidas
Postura	Proteínas (g/100g)	Proteínas (g/100g)
Inicial	11,19±0,30 ^{aC}	11,93±0,79 ^{aB}
Intermediária	15,98±0,90 ^{aB}	16,68±1,55 ^{aA}
Final	18,87±0,59 ^{aA}	17,89±0,19 ^{aA}
Cinza		

	Gemas cruas	Gemas cozidas
Postura	Cinza (g/100g)	Cinza (g/100g)
Inicial	1,79±0,2 ^{a A}	1,73±0,0 ^{a B}
Intermediária	1,93±0,1 ^{a A}	2,23±0,3 ^{b A}
Final	1,87±0,1 ^{a A}	1,74±0,1 ^{a B}
Carboidratos		
	Gemas cruas	Gemas cozidas
Postura	carboidratos (g/100g)	carboidratos (g/100g)
Inicial	13,19	12,34
Intermediária	6,98	1,42
Final	1,10	2,43

¹Médias±Desvio padrão

²Médias seguidas da mesma letra minúscula na linha não diferem entre si pelo teste de Tukey (P≤0,05).

³Médias seguidas da mesma letra maiúscula na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey (p≤0,05).

Se tratando dos valores de umidade, os mesmos apresentaram-se inferiores em relação ao valor apresentado pelo IBGE (1999). Quando se considera o ovo inteiro, FRANCO (1999) apresentou valor superior.

Quando comparados gemas de ovos de poedeiras em início, meio e fim de postura, sendo gemas cruas e cozidas, foi possível observar que as diferenças foram bastante ínfimas, mostrando diferença significativa apenas no tempo de postura intermediária, apresentando um teor de umidade mais elevado em gemas que passaram pelo processo de cocção, já nos tempos de postura inicial e final não houve diferença significativa entre os mesmos, indicando que a cocção não alterou o teor de umidade da gema.

Segundo Ordóñez (2005); Souza-Soares e Siewerdt (2005) a gema adquire água do albúmen durante o período de armazenamento de ovos, portanto o seu conteúdo em umidade pode variar de 46 a 59%, dependendo do tempo e condições de armazenamento. Durante o experimento não houve a influência do armazenamento, já que os ovos foram coletados e analisados em seguida.

Em relação à idade das poedeiras, notou-se que poedeiras em postura inicial apresentaram gemas com um teor de umidade mais elevado, porém em gemas cruas. Já em gemas cozidas os resultados foram diferenciados nos três ciclos de postura.

Quanto aos resultados de extrato etéreo constatou-se que os mesmos foram semelhantes aos encontrados na literatura (FRANCO, 1999; IBGE, 1999; FARIA, 2002). Para o ovo integral os valores foram mais baixos segundo Fennema (1993). Houve diferença entre gemas cruas e cozidas, mostrando que o teor de extrato etéreo foi mais elevado em gemas cozidas de poedeiras em postura inicial e intermediária, já em gemas de poedeiras no tempo final de postura, os valores de extrato etéreo foram semelhantes nos dois tratamentos (gemas cruas e cozidas). Ao analisar os resultados relacionados a idade das poedeiras, foi observado que em gemas cruas o teor de extrato etéreo aumentou conforme o envelhecimento da poedeira, porém em gemas cozidas o teor de lipídios foi menor em gemas de poedeiras que estavam em início de postura, já nos ciclos intermediário e final os resultados foram semelhantes, porém mais elevados que no ciclo inicial.

Os valores de proteínas foram semelhantes aos registrados na literatura (IBGE, 1999; FRANCO, 1999; FARIA, 2002; FENNEMA, 1993). Não ocorreu diferença significativa entre gemas cruas e cozidas, mas sim em gemas de diferentes fases de produção, como pode ser constatado nos dados apresentados na Tabela 9.

O teor de cinza nas amostras foi concordante aos apresentados pela literatura (IBGE, 1999; FARIA, 2002). Já Fennema (1993) apresentou valor inferior aos mostrados na tabela, considerando o ovo inteiro. Ocorreu diferença dos valores de cinza quando comparados gemas cruas e cozidas isto em poedeiras de postura intermediária, mostrando um teor mais elevado em gemas cozidas, já em postura inicial e final a diferença entre os resultados não foi significativa.

Quando comparados os resultados de lipídios e proteínas da Tabela 9, foi observado diferença entre os três ciclos de postura, visto que quanto mais elevada a quantidade de nutrientes na ração alimentar de poedeiras mais jovens, menor o teor de lipídios e proteínas em gemas. Isso está associado aos encontrados por Ângelo (2007), mencionando que poedeiras mais jovens apresentam dificuldades em digerir e absorver certos nutrientes, tendo a anatomia e fisiologia do aparelho digestivo diferenciada das

aves em estágios mais adiantados de vida, o que influencia na deposição desses elementos na gema.

2.4.2 Teor de ferro total, ferro “*in vitro*” e proteínas presentes nas gemas.

A quantidade de ferro total apresentados na Tabela 10 foi concordante com achados da USDA (2001), Franco (1999) e IBGE (1999), visto que a gema ao passar pelo processo de cocção, sofreu uma diminuição da quantidade de ferro total, considerando que a literatura aponta valores em ovos cozidos e íntegros e não somente a gema.

Tabela 10 - Valores médios de ferro total (mg/g) nos diferentes períodos de postura

Postura	Ferro total (mg/g)	
	Gemas cruas	Gemas cozidas
Inicial	1,54±0,0 ^{1a2 A3}	1,39±0,1 ^{b A}
Intermediária	1,61±0,1 ^{a A}	1,33±0,1 ^{b A}
Final	1,12±0,0 ^{a B}	1,12 ±0,0 ^{a B}

¹Médias±Desvio padrão

²Médias seguidas da mesma letra minúscula na linha não diferem entre si pelo teste de Tukey (P≤0,05).

³ Médias seguidas da mesma letra maiúscula na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey (p≤0,05).

Observou-se que no tempo inicial a quantidade de ferro diminuiu com a cocção, o mesmo ocorreu com as gemas na postura intermediária, já na postura final os resultados obtidos mantiveram-se estáveis em gemas cruas e cozidas.

Se tratando dos três períodos de produção das poedeiras, constatou-se que do ciclo inicial ao ciclo final a quantidade de ferro total foi diminuindo sucessivamente.

Na análise dos resultados de ferro dialisável, observou-se que os três períodos (inicial, intermediário e final) (Tabela 11) apresentaram-se inferiores aos mencionados por Machado (2005) e Harder (2005) visto que Harder (2005) utilizou urucum na composição da ração oferecida às poedeiras, contribuindo assim para o aumento da disponibilidade do ferro, sendo o urucum rico em carotenóides.

Tabela 11 - Valores médios de ferro dialisável (%) nos diferentes períodos de postura

Postura	Ferro dialisável (%)	
	Gemas cruas	Gemas cozidas
Inicial	0,66±0,1 ^{1a2 A3}	0,71±0,1 ^{b A}
Intermediária	0,55±0,1 ^{a B}	0,61±0,1 ^{b A}
Final	1,18±0,1 ^{a C}	1,27±0,2 ^{a B}

¹Médias±Desvio padrão

²Médias seguidas da mesma letra minúscula na linha não diferem entre si pelo teste de Tukey (P≤0,05).

³ Médias seguidas da mesma letra maiúscula na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey (p≤ 0,05)

Ao analisar gemas cruas e cozidas, constatou-se que a quantidade de ferro dialisável em gemas cozidas do período inicial foi maior em relação a gemas cruas, no período intermediário os resultados foram semelhantes aos do período inicial e final.

Em relação aos três períodos foi possível notar que quanto mais velha a poedeira maior a quantidade de ferro disponível, visto que nos três períodos a quantidade de ferro foi aumentando sucessivamente, porém o último período se mostrou com um resultado mais satisfatório.

O ferro disponível está correlacionado com a quantidade protéica presentes em gemas, pois o mesmo se liga à proteína, ficando indisponível para ser absorvido (JIANG, 2000).

Segundo Anton; Le Denmat e Gandemer (2000) a fosvitina resiste a altas temperaturas, porém os resultados obtidos não condizem com a literatura, acredita-se que este fato possa ser resultante de outros fatores.

Wallace e Selman (1981); Matsubara e Sawano (1995) determinam que a síntese de fosvitina ocorra em resposta a hormônios ovarianos, ou seja, Rankouhi (2002) cita que a mesma é sintetizada em consequência de estrógenos-dependente, gene expresso em hepatócitos de poedeiras fêmeas e machos. Estes hormônios estão diretamente ligados à idade das poedeiras, as mesmas atingem maturidade sexual entre 17 e 18 semanas, atingindo o pico de postura entre 28 e 35 semanas, reduzindo gradativamente

após este período, isto significa que os hormônios vão se alterando de acordo com o ciclo de vida da poedeira (TAKATA et al., 2001). Estes hormônios (estrogênio, progesterona e androgênios) são essenciais para o desenvolvimento e funcionamento do sistema reprodutivo das aves (MORAES, 2007), e podem afetar a produção de diferentes proteínas.

Os resultados obtidos (Tabela 12) mostraram que gemas cozidas de poedeiras em ciclos intermediário e final, apresentaram um baixo teor de proteínas quando comparados com gemas que passaram pelo processo de cocção. Ao comparar as gemas em relação aos três períodos de produção, foi observado que quanto mais velhas as poedeiras menor o teor protéico, tanto em gemas cruas como em gemas cozidas.

Tabela 12 - Concentração de proteínas em gemas cruas e cozidas nos diferentes períodos de postura

Postura	Proteínas (mg/mL)⁴	
	Gemas cruas	Gemas cozidas
Inicial	27,5±1,3 ^{A3}	-
Intermediária	27,0±1,0 ^{a2 A}	0,30 ^{b B}
Final	14,5±1,8 ^{a B}	1,56 ^{b A}

¹Médias±Desvio padrão

²Médias seguidas da mesma letra na linha não diferem entre si pelo teste de Tukey (P≤0,05).

³Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey (P≤0,05).

⁴Para o resultados obtidos acima, foi coletado 1g de amostra (proteína liofilizada) homogeneizando em 300µL de água mili-Q.

Os valores de ferro dialisável (Figura 10), ferro total (Figura 11) e concentração de proteínas (Figura 12) foram obtidos nos diferentes ciclos de postura em ovos crus e cozidos.

Figura 10 - Concentração de ferro dialisável em gemas cruas de ovos (T1 - postura inicial, T2 – postura intermediária, T3 – postura final) e gemas cozidas (T4 – postura inicial; T5 – postura intermediária T6 – postura final)

Figura 11 - Concentração de ferro total em gemas cruas e cozidas de ovos (T1 - postura inicial, T2 - postura intermediária, T3 – postura final) e gemas cozidas (T4 – postura inicial; T5 - postura intermediária T6 – postura final)

Figura 12 - Concentração de proteína em gemas cruas de ovos (T1 - postura inicial, T2 postura intermediária, T3 – postura final) e gemas cozidas (T4 – postura inicial; T5 – postura intermediária T6 – postura final)

2.4.3 Gel SDS-PAGE

A proteína fosvitina apresenta poucos aminoácidos básicos e aromáticos que podem ser detectados por absorbância UV ou por eletroforese (WALLACE, 1963).

Segundo Jiang (2001) a fosvitina também denominada de fosfoproteína apresenta uma massa molecular de 36 kDa (Figura 13), contendo aproximadamente 10% de fósforo e 6,5% de carboidratos.

Comparando-se ao padrão, pode-se observar que esta proteína extraída de gemas cruas esteve presente nos três períodos de postura (inicial, intermediário e final). Já em gemas que passaram pelo processo de cocção a percepção não foi satisfatória, devido à dificuldade de precipitação protéica.

Através do Programa kodak Digital Science 1D versão 3.01 (Tabela 13), foi constatado que a banda apontada (Figura 13 e 14) apresentou 38kDa, porém bastante próximo de 36kDa como determina Jiang (2001).

Figura 13 - SDS-PAGE 12%, proteína fosvitina em gemas de ovos de galinhas; Coluna 1: padrão; coluna 2: gemas cruas de poedeiras em início de postura com a presença da proteína fosvitina com um peso molecular de 38kDa; coluna 3: gemas cruas de poedeiras em postura intermediária com a presença da proteína fosvitina; coluna 4: gemas cruas de poedeiras em postura final com a presença da proteína fosvitina; coluna 5: gemas cozidas de poedeiras em postura intermediária com a presença da proteína fosvitina; coluna 6: gemas cozidas de poedeiras em postura final com a presença da proteína fosvitina.

Figura 14 – Medidas precisas baseadas na tabela 13, para detecção do peso molecular da proteína fosvitina

Tabela 13 - Análise das bandas no programa Kodak Digital Science
versão 3.01.

<i>MW</i> ¹	<i>MW</i> ²	<i>MW</i> ³	<i>MW</i> ⁴
220	160	164.6	157.3
160	102.1	102.1	95.63
120	77.22	77.78	87.83
100	69.05	70.56	73.89
90	62.86	62.38	67.62
80	55.33	55.33	60.48
70	42.7	42.16	54.67
60	38.17	38	41.62
50	29.43	29.55	37.17
40	25.57	25.57	29.89
30	20.48	20.32	25
25			20.16
20			
15			

¹ Padrão

² Proteínas presentes em gemas (cruas) de galinhas em postura inicial

³ Proteínas presentes em gemas (cruas) de galinhas em postura intermediária

⁴ Proteínas presentes em gemas (cruas) de galinhas em postura final

3 CONCLUSÕES

Houve diferença na concentração de proteínas e diferentes níveis de ferro dialisável nos três ciclos de postura, porém em gemas cruas e cozidas.

Através deste estudo, concluiu-se que é interessante consumir ovos de poedeiras com idade mais avançada, visto que com o passar dos ciclos (inicial, intermediário e final), as poedeiras mais velhas, apresentaram ovos (gemas) com um teor mais elevado de ferro disponível, porém uma quantidade inferior de proteínas em especial a fosvitina/lipovitina, comparando-se com os ciclos inicial e intermediário.

Em relação às análises de gemas cruas e cozidas, pode-se concluir que o teor de ferro dialisável foi maior em gemas cozidas, porém em poedeiras de postura final.

REFERÊNCIAS

- ANAPO. **Associação Nacional dos Avicultores Produtores de Ovos**. Disponível em: <<http://www.anapo.pt/infos/cozinha.asp>>. Acesso em: 29 jan. 2005.
- ANDREWS, N.C; BRIDGE, K. R. Disorders of iron metabolism and sideroblastic anemia. **Nathan and Oski's Hematology of infancy and childhood**. 5thed. Philadelphia: WB Saunders, p. 423-461, 1998.
- ANGELO, J.C. Benefícios da nutrição de aves na primeira semana. Disponível em: <http://www.guabi.com.br/rc/aves_postura>. Acesso em: 25 jan.2007.
- ANTON, M; LE DENMAT, M; GANDEMER, G. Thermostability of hen egg yolk granules: contribution of native structure of granules. **Journal of food Science**. Chicago, 4thed. 2000.
- ASOCIACION DE PRODUCTORES DE HUEVOS DE CHILE. Disponível em: <<http://www.asohuevo.cl>>. Acesso em: 20 abril 2005.
- ASOCIACION DE PRODUCTORES DE HUEVOS DE CHILE. Disponível em: <<http://www.hylinedobrasil.com.br>>. Acesso em: 20 abril 2005.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS (AOAC). **Official methods of analysis**. 16thed. Washington, 2006, v.2.
- BANKS, W.J. Sistema reprodutivo feminino. **Histologia Veterinária Aplicada**. 2.ed. São Paulo:Manole, 1992, p. 565-588.
- BARATELLA-EVÊNCIO, L; EVÊNCIO-NETO, J; SIMÕES, M.J. Aspectos ultraestruturais e histoquímicos das células mucosas presentes no oviduto da galinha (*Gallus gallus*) em ovoposição. Arquivos do Instituto Biológico, São Paulo, v.65, p. 179, 1998.
- BARRIOS, MC. M. F; GOMEZ, H. G. D; DELGADO, N. F. Metabolismo del hierro. **Revista Cubana Hematology Inmunology Hemoter**, Cuba, v. 16 n° 3, p. 149-160, 2000.
- BERTECHINI, A. G. Disponível em: <<http://www.avisite.com.br>>. Acesso em: 10 mar. 2005.
- BELITZ, H.D; GORSCH, W. **Química de los Alimentos**. Zaragoza: Acribia, 1988. 456p.
- BOTHWELL, T. H; BAYNES, R. D; MacFARLANE, B. J. ; MacPHAIL, A. P. Nutritional iron requirements and food iron absorption. **Journal of Internal Medicine**, Washington, v. 226, p.357-365, 1989.
- BYRNE, B.M; VAN HET SCHIP, A.D; VAN DE KLUNDERT, J.A; ARNBERG, A. C; GRUBER, M; AB, A. Amino acid sequence of phosvitin derived from the nucleotide

sequence of part of the chicken vitellogenin gene. **Biochemistry**, Oxford, v. 23, n°19, p.4275-4279, 1984.

CLUNIES, M; ENSLIE, J; LEESON, S. Effect of dietary calcium level on medulary bone calcium reserves and shell weight of leghorn hens. **Poultry Science**, Champaign, v. 71, n. 8, p. 1348-1356, 1992.

DESARROLLO EMBRIONÁRIO: OVOS MADURACION ORGANOXÉNESE. Disponível em: <http://www.rincondelvago.com\embriologia_embriologia.html>. Acesso em: 03 fev. 2005.

ENSMINGER, M.E. **Poultry Science**, Champaign, 3rd ed. Illinois: Interstate Publishers, 1992. 469 p.

FARIA, D.E. Suplementação de vitaminas D e C para poedeiras durante o primeiro ciclo de produção. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, Campinas, v.1 n° 2, p. 135-144, 2002.

FELIPPE, J. Jr. ABMC. Associação Brasileira de Medicina Complementar. Disponível em: <www.medicinacomplementar.com.br/asp>. Acesso em: 03 fev. 2005.

FENNEMA, O.R. **Química de los Alimentos**. Zaragoza: Acribia, 1993. 53 p.

FRANCO, G. **Tabela de composição química dos alimentos**. 9. ed. São Paulo: Editora Atheneu, 1999. 1v.

FROMAN. D.P; KIRBYS, J.D; PROUDMAN, J.A. Reprodução em aves: macho e fêmea. In: HAFEZ, B.E HAFEZ, E.S. (Coord.). **Reprodução animal**. 7 ed. São Paulo: Manole, 2004. p. 237-242.

GARCIA-CASAL MN, LAYRISSE M, SOLANO L, BARON MA, ARGUELLO F, LLOVERA D, RAMÍREZ J, LEETS L, TROPPER E. Vitamin A and beta-carotene can improve nonheme iron absorption from rice, wheat and corn by humans. **Journal Nutrition**, Washington, v.128, p. 646-650, 1998.

HAMILTON, R.G.M. Observation on the changes in the physical characteristics the influence egg shell quality in the strains of White leghorn. **Poultry Science**, Champaign, v.57, n.5, p.1192-1198, 1978.

HARDER, M.N.C. **Efeito urucum (*Bixa orellana*) na alteração de características de ovos de galinhas poedeiras**. 2005. 75 p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2005.

HUSSEIN, S.M. Effect of age on the yolk to albumen ratio in chicken eggs. **Poultry Science**, Bethesda, v. 72, p.594-597, 1993.

IBGE. Instituto brasileiro de geografia e estatística. Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br>>. Acesso em: 26 nov. 2006.

INSTITUTO DE ESTÚDIOS DEL HUEVO. Disponível em: <<http://www.institutohuevo.com>>. Acesso em: 30 mar. 2005.

ISHIKAWA, S; YANO, Y.; ARIHARA, K.; ITOH, M. Egg yolk phosvitin inhibits hydroxyl radical formation from the Fenton reaction. **Bioscience. Biotechnology. Biochemistry**, Canadá, v.68, p. 1324-1331, 2004.

JIANG, B; MINE, Y. Preparation of novel functional oligophosphopeptides from hen egg yolk phosvitin. **Journal Agriculture Food Chemical**, Canadá. v.48, p. 990-994, 2000.

LAEMMLI, U.K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. **Nature**, London, v.227, p.680-685, 1970.

LERNER, A.; IANCU, T. C. Advances in understanding the bioavailability and absorption of iron. In: **Frontiers of Gastrointestinal Research – Progress in Diet and Nutrition**, Oxford, v. 14, p. 117-134, 1988.

LINDEN, G; LORIENT, D. **Bioquímica Agroindustrial**: revalorización alimentaria de la producción agrícola. Zaragoza: Acribia, 1996. 35p.

LOPES, C. G. Deficiência de ferro na alimentação humana. Disponível em: <<http://www.acesa.com>>. Acesso em: 03 jun. 2007.

MACHADO, F.M.V.F. **Disponibilidade de ferro em ovo, cenoura e couve e em suas misturas**. 2005. 88 p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2005.

MATSUBARA, T., SAWANO, K. Proteolytic Cleavage of Vitellogenin and Yolk Proteins During Vitellogenin Uptake and Oocyte Maturation in Barfin Flounder (*Verasper Moseri*). **Journal. Experimental Zoology**, Amsterdam, v.272, p.34-35, 1995.

MCBEE, L.E; COTTERILL, O.J. Ion exchange chromatography and electrophoresis of egg yolk proteins. **Journal. Food Science**, London, v. 44, p.656-660, 1979.

MELO, M. R; PURINI, M. C; CANÇADO, R. D; KOORO, FERNANDO; CHIATTONE, C. S. Uso de índices hematimétricos no diagnóstico diferencial de anemias microcíticas: uma abordagem a ser adotada?. **Revista Associação de Medicina Brasileira**, São Paulo, v. 48, n°3, p.222-224, 2002.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Departamento de atenção básica. Disponível em: <<http://dtr2004.saude.gov.br>>. Acesso em: 23 jan. 2007.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Departamento de atenção básica. Disponível em: <<http://dtr2005.saude.gov.br>>. Acesso em: 23 jan. 2007.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Coordenação-Geral da Política de Alimentação e Nutrição-CGPAN**. Disponível em: <http://www.portalweb01.saude.gov.br/alimentacao/deficiencia_ferro.cfm>. Acesso em: 11 mar. 2005.

MORAES, I. A. Fisiologia da reprodução das aves domésticas. Disponível em: <http://www.uff.br/fisiovet/fisio_rep_aves.htm>. Acesso em 05 mar. 2006.

MORENG, R.E; AVENS, J.S. **Ciência e produção de aves**. São Paulo:Roca, 1990. 380p.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Food and Nutrition Board. Recommended dietary allowances**. 10th ed. Washington: National Academic Press, 1989. 284p

NECTA. Núcleo de Estudos em Ciência e Tecnologia Avícola. Disponível em: <<http://www.nucleoestudo.ufla.br>>. Acesso em: 08 ago. 2005.

OLIVEIRA, V.M; TAKATA, F.N; MEDEIROS, J.P; BARATELLA-EVÊNCIO, L; SIMÕES, M.J; EVÊNCIO-NETO, J. **Desempenho e qualidade de ovos de galinhas domésticas (*Gallus gallus*) em fase inicial de produção**. Pernambuco, Univ. Fed. Rural. Pernambuco, 2006. p. 196-229.

ORDÓÑEZ, J.A. **Ovos e produtos derivados**. In: Tecnologia de alimentos. Alimentos de origem animal. Porto Alegre: Artmed, 2005. p. 269-279.

PABÓN DE ROZO, M; VAN CAMPEN, D; MILLER, D.D. Effects of some carbohydrates on iron absorption. **Archives Latinoamerican Nutrition**, Washington, v.36, p.688-700, 1986.

PAIVA, A. A; RONDÓ, P. HC; GUERRA-SHINOHARA, E. M. Parâmetros para avaliação do estado nutricional de ferro. **Revista de Saúde Pública**, São Paulo.v. 34, p. 421-426, 2000.

RANKOUHI, T. R; VAN HOLSTEIJN, I ; LETCHER, R; GIESY, J. P; VAN DEN BERG, M. Effects of primary exposure to environmental and natural estrogens on vitellogenin production in carp (*Cyprinus carpio*) hepatocytes. **Toxicological Sciences**, London, v.67, p.75-80, 2002.

RODRIGUES, E.A., JUNQUEIRA, O. M., CANCHERINI, L. C., ANDREOTTI, M. O., CASARTELLI, E. M., LAURENTIZ, A. C. Desempenho e qualidade da casca para poedeiras recebendo vitamina D nas rações de pré-postura e postura. **Acta Acientiarum Animal Sciences**, Maringá, v.27, n.1, p.55-59, jan/march, 2005.

ROLAND Sr., D.A. Relationship of body-checked eggs to photoperiod and breaking strength. **Poultry Science**, Champaign, v.61, n.12, p.2338-2343, 1982.

ROMANOFF, A. L; ROMANOFF, A.J. **The avian egg**. New York: J. Wiley, 1949. 918p.

SCHIRM, J; GRUBER, M; AB, G. Post-translational phosphorylation of phosvitin. **Febs Letters**. Amsterdam, v.30, mar 1973. 8p.

SGARBIERI, V. C. **Proteínas em alimentos protéicos**. São Paulo: Varela. 1996. p.157-172.

SOUZA-SOARES, L.A.; SIEWERDT, F. **Aves e ovos**. Pelotas: Editora da Universidade UFPEL, 2005. 137 p.

SAS Institute. SAS user's guide: statistics. Version 8.0. Cary: SAS, 1999.

TABELAS DE COMPOSIÇÃO DE ALIMENTOS: **Estudo Nacional da Despesa Familiar**, 5. ed., Rio de Janeiro: IBGE, 1999. 137p.

TAKATA, F. N.; BARATELLA-EVÊNCIO, L.; EVÊNCIO-NETO, J.; SIMÕES, M. J. Aspectos morfológicos do oviduto de galinha doméstica (*Gallus gallus*) antes e após a puberdade. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, Washington, v.25 n. 2, p. 174-176, 2001.

USDA - **National Nutrient Database for Standard Reference**. Release 17 (2005), Disponível em: <http://www.nal.usda.gov/fnic/foodcomp/cgi-bin/list_nut_edit.p1>. Acesso em: 05 mar. 2006.

USDA - **National Nutrient Database for Standard Reference**. Release 17 (2001), Disponível em: <http://www.nal.usda.gov/fnic/foodcomp/cgi-bin/list_nut_edit.p1>. Acesso em: 10 jun.2006.

VANNUCCHI, H; FREITAS, M.L.S e SZARFARC, S.C. A prevalência de anemias nutricionais no Brasil. **Cadernos de Nutrição**, Campinas, v.4, p.7-26, 1992.

VIEIRA, S.L. Idade da matriz, tamanho do ovo e desempenho de pintinho. In.: CONFERÊNCIA APINCO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLAS. Campinas: Fundação APINCO de Ciência e Tecnologia Avícolas, v.2, 2001. p.117-123

WALLACE, R.A., SELMAN, K. Cellular and dynamic aspects of oocyte growth in Teleosts. **American Zoology**, Amsterdam, v.21, p.325-343, 1981.

WALLACE, R. A. **Biochemical Biophysical Acta**, London, v.74, p. 505-518, 1963.

WHITTAKER, P.; FOX, M.R.S; FORBES, A.L. In vitro prediction of iron bioavailability for food fortification. **Nutrition Reports International**, London, v.39, n.6, p.1205-1215, 1989.

YASHODA, K.P.; RAO, R.J.; MAHENDRAKAR, N.S.; RAO, D.N. Egg loaf and changes in its quality during storage. **Food Control**, Canadá, v. 15, p. 523-526, 2004.