

# Níveis de retinol em iogurtes naturais comercializados em supermercados de Natal/RN.

## Retinol concentrations in natural yogurt on sale in supermarkets located in Natal, RN.

RIALA6/1116

Juliana Karla Garcia RIBEIRO<sup>1</sup>, Fernanda Barros SOARES<sup>1</sup>, Danielle Soares BEZERRA<sup>2</sup>, Roberto DIMENSTEIN<sup>\*3</sup>

\*Endereço para correspondência: Departamento de Bioquímica, Centro de Biociências da Universidade Federal do Rio Grande do Norte. Av. Senador Salgado Filho 3000 CEP 59072-970 Natal/RN, telefone: 55 (0\*\*84) 3215-3416 ramal 212, fax 55 (0\*\*84) 32119208; e-mail: robertod@ufrnet.br

<sup>1</sup>Graduanda do curso de Nutrição da Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal /RN, Brasil.

<sup>2</sup>Nutricionista e Mestranda em Bioquímica da Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal /RN, Brasil.

<sup>3</sup>Professor adjunto, Departamento de Bioquímica, Centro de Biociências, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal /RN, Brasil.

Recebido: 23/04/2007 – Aceito para publicação: 14/06/2007

### RESUMO

Iogurte é o produto obtido pela fermentação de leite integral, desnatado ou padronizado por meio da ação do *Lactobacillus delbrueckii ssp bulgaricus* e *Streptococcus thermophilus*. Por ser um produto lácteo, o iogurte é considerado como boa fonte de vitamina A. Esta vitamina é essencial para muitos processos biológicos, como a diferenciação celular, a visão, a integridade do sistema imunológico e a manutenção de epitélios. Esse trabalho teve como objetivo verificar a concentração de retinol em iogurtes naturais de diferentes marcas comercializados em supermercados de Natal/RN. Foram selecionadas aleatoriamente para o estudo, quatro marcas de iogurte natural integral e a determinação do retinol foi realizada por meio de Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE). Os valores das concentrações médias de retinol nas amostras das marcas A, B, C, e D foram  $47.6 \pm 5.9$ ;  $31.0 \pm 3.3$ ;  $65.1 \pm 13.7$  e  $50.8 \pm 10.9$  ug/100g, respectivamente. Os valores encontrados apresentaram grande variação e a diferença entre o menor e maior valor de aproximadamente 110%. Todas as marcas estudadas apresentaram amostras com níveis de retinol próximos ou acima da concentração de retinol do leite integral relatada na literatura brasileira, o que confirma que o iogurte natural é uma boa fonte nutricional de vitamina A.

**Palavras-chave.** retinol, iogurte, CLAE.

### ABSTRACT

Yogurt is a product derived from the whole, skimmed, or standardized milk fermentation by the action of *Lactobacillus delbrueckii ssp bulgaricus* and *Streptococcus thermophilus*. As a lactic product, yogurt is considered to be a good source of vitamin A. This vitamin is essential for many biological processes such as cellular differentiation, visual cycle, immune system integrity, and epithelial maintenance. The objective of the present study was to verify the retinol concentration in natural yogurt from different brands marketed in major supermarkets of Natal, RN. Four brands of natural whole yogurt were randomly selected, and retinol concentration was determined in these samples by means of High Performance Liquid Chromatography. The average values of retinol concentrations in A, B, C, and D natural yogurt samples were  $47.6 \pm 5.9$ ;  $31.0 \pm 3.3$ ;  $65.1 \pm 13.7$ , and  $50.8 \pm 10.9$  ug/100g, respectively. Remarkable variations on retinol concentration values were found, and the range between the least and the major value was 110%. The yogurt samples from all analyzed brands presented retinol levels close to or above those concentrations found in whole milk, confirming that natural yogurt is a good nutritional source of vitamin A.

**Key word.** retinol, yogurt, HPLC

## INTRODUÇÃO

Os produtos lácteos estão presentes na dieta alimentar humana desde a antiguidade, quando a fermentação era utilizada como forma de preservar os nutrientes do leite da deterioração causada por microrganismos. Entretanto nas últimas décadas houve um incremento no setor de laticínios por conta do desenvolvimento da tecnologia e uma maior aceitabilidade do consumidor que tem buscado adquirir produtos com características funcionais e de alto valor nutritivo<sup>1</sup>.

Um dos produtos lácteos mais conhecidos é o iogurte, cuja fabricação no Brasil, nos últimos 20 anos, cresceu de maneira considerável, registrando atualmente uma produção média de 400 mil toneladas por ano, o que representa 76% do total de laticínios<sup>2</sup>.

O iogurte é definido pela legislação brasileira como “o produto obtido pela fermentação láctica através da ação do *Lactobacillus delbrueckii* ssp *bulgaricus* e *Streptococcus thermophilus* sobre o leite integral, desnatado ou padronizado<sup>3</sup>”. As culturas de bactérias lácticas são utilizadas para aumentar a vida-de-prateleira do leite, devido à formação de componentes metabólicos como ácido láctico, ácido propiônico, diacetil e substâncias antagonísticas que exercem efeito inibitório nas bactérias Gram-negativas responsáveis pela deterioração do produto<sup>4,5,6</sup>.

O iogurte é um produto amplamente recomendado, pois além da sua importância econômica, possui boas características sensoriais, probióticas e nutricionais<sup>7</sup>. É um alimento de fácil assimilação pelo organismo, principalmente da lactose e de proteínas<sup>8</sup>. Durante a fermentação, a proteína, a gordura e a lactose do leite sofrem hidrólise parcial, tornando o produto, facilmente digerível, sendo considerado um agente regulador das funções digestivas<sup>7,9,10,11</sup>.

Por ser bastante consumido por idosos, crianças e pessoas doentes, a qualidade higiênica deste alimento deve estar constantemente controlada<sup>12</sup>. O leite, empregado no processamento do iogurte deve ser de boa procedência e qualidade, pois é responsável pelo seu valor nutricional<sup>9,11,13</sup>, uma vez que os produtos lácteos fermentados, geralmente contêm a mesma quantidade de nutrientes do leite do qual é obtido<sup>14</sup>.

O iogurte fabricado a partir do leite de vaca possui composição semelhante, tendo em média 3,5-3,7% de lipídios; 3,7% de proteínas e 4,8% de lactose<sup>15</sup>. Entretanto, se reconhece que existam algumas diferenças devido às mudanças ocorridas na fermentação sobre a lactose<sup>11</sup>.

Embora o leite seja um alimento que se destaca pela sua composição vitamínica<sup>16,17</sup>, no iogurte, os teores de vitaminas podem aumentar ou diminuir, de acordo com o metabolismo das bactérias lácticas<sup>18,19,20</sup>, podendo, ainda, devido ao processamento, estarem reduzidos, quando comparados ao alimento de origem<sup>21</sup>.

Os dados sobre as vitaminas não são uniformes e variam segundo a fonte consultada<sup>18,19,20</sup>.

Uma das principais vitaminas lipossolúveis encontradas no leite é a vitamina A (VA). De acordo com o Iom<sup>22</sup>, vitamina A é a expressão genérica usada para descrever o retinol e todos os carotenóides dietéticos que têm atividade biológica de retinol todo trans. A VA natural é um álcool (retinol) isoprenóide, lipossolúvel e insaturado, encontrado em alimentos de origem animal<sup>23</sup>. Usualmente apresenta-se na forma de ésteres de retinil de cadeia longa, sendo encontrada em maior concentração no fígado e rim, leites integrais e seus derivados, peixes e gema de ovos<sup>24</sup>. As formas metabolicamente ativas, segundo Iom<sup>22</sup>, incluem os correspondentes: aldeído (retinal) e ácido (ácido retinóico).

Para a caracterização humana da necessidade diária recomendada de vitamina A é utilizada a definição propriamente dita: Ingestão Dietética Recomendada (DRI), como a ingestão dietética necessária para suprir as necessidades em 97 a 98% dos indivíduos saudáveis<sup>22</sup>.

Uma vez que o iogurte é um produto lácteo, este é considerado uma ótima fonte de vitamina A<sup>25</sup>. Segundo Philippi<sup>26</sup> a quantidade deste micronutriente no iogurte natural, sem adição de qualquer outro ingrediente, é de 30µg/100ml, o que corresponde a uma média de 6,0% da recomendação diária para crianças.

Os benefícios de um adequado estado nutricional de VA sobre a saúde humana podem ser atribuídos aos efeitos da participação deste micronutriente em diversos mecanismos biológicos, como a reprodução, a visão normal e a manutenção do sistema imune<sup>27</sup>, sendo de especial importância durante o crescimento e desenvolvimento<sup>28</sup>. Já é reconhecido que um adequado estado nutricional de VA pode diminuir a severidade dos quadros infecciosos<sup>29,30</sup>, enquanto a deficiência pode aumentá-la<sup>31</sup>, devido a prejuízos no sistema imunológico<sup>32</sup>.

Considerando-se a crescente importância que o iogurte vem assumindo no mercado nacional e sabendo-se da relevância dos produtos lácteos, como boas fontes nutricionais de vitamina A, bem como, que a literatura brasileira é escassa em trabalhos que verifiquem os níveis de retinol no iogurte, torna-se necessário o desenvolvimento de pesquisas que avaliem a qualidade nutricional destes produtos consumidos frequentemente pela população brasileira.

Diante do exposto, este trabalho teve como objetivo verificar a concentração de retinol em diferentes marcas de iogurtes naturais comercializados em supermercados da cidade do Natal/RN.

## MATERIAIS E MÉTODOS

### Coleta

Para o presente estudo, foram selecionadas aleatoriamente, 4 marcas de iogurtes naturais sem adição de outros ingredientes ou aromas, como frutas, mel ou chocolate e excluídos os iogurtes desnatados. Seis unidades de cada marca (n=24), oriundas de lotes de fabricação diferentes,

foram coletadas em supermercados de Natal/RN e acondicionadas em caixas de material isotérmico contendo cubos de gelo e transportadas imediatamente para o Laboratório de Bioquímica da Nutrição do Departamento de Bioquímica da Universidade Federal do Rio Grande do Norte. Posteriormente, cada amostra foi devidamente identificada por letras e procedeu-se a abertura e mistura das unidades de mesma marca, bem como, foi efetuada a homogeneização em recipiente apropriado. Observou-se a aparência do produto e, assepticamente, retirou-se 6 alíquotas de 1g de cada produto para análise.

### Extração e determinação do Retinol

O retinol foi extraído segundo Giuliano<sup>33</sup>, adaptado às condições laboratoriais e o extrato hexânico evaporado sob atmosfera de nitrogênio, em banho-maria a 37°C. As amostras foram ressuspensas em 1,0mL de metanol em grau de pureza para Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) e agitadas por um minuto. A concentração de retinol das amostras foi determinada por CLAE em Cromatógrafo LC-10 AD Shimadzu, acoplado a um Detector SPD-10 A Shimadzu UV-VIS e Integrador Chromatopac C-R6A Shimadzu com uma coluna LC Shim-pack CLC-ODS(M) 4,6mm x 25cm.

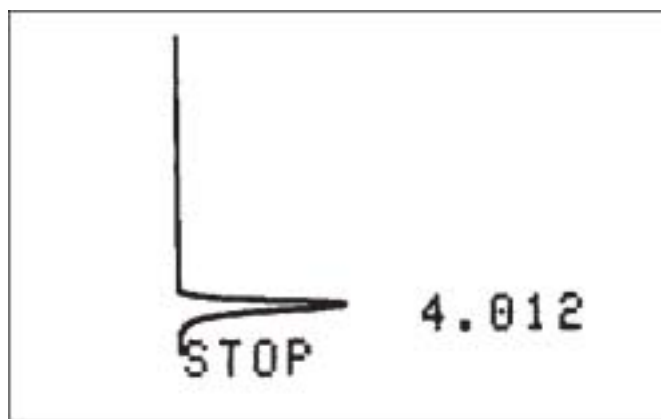
O cromatograma evoluiu nas seguintes condições: fase móvel metanol 100% e fluxo 1,0mL/min e a identificação e quantificação do retinol nas amostras foram estabelecidas por comparação com o tempo de retenção e a área do respectivo padrão, em comprimento de onda de 325nm (Figura 1 e Figura 2).

A concentração do padrão foi confirmada pelo coeficiente de extinção específico ( $\epsilon$  1%, 1cm = 1780) em etanol absoluto e comprimento de onda de 325nm<sup>34</sup>.

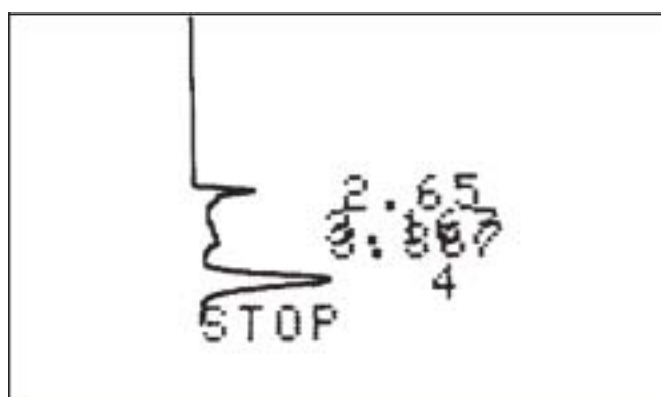
A exatidão do método foi avaliada através do teste de recuperação da extração, obtendo-se 95% de recuperação do retinol acetato (padrão interno) adicionado às amostras. A precisão foi avaliada pelo teste de reprodutibilidade, em que triplicatas de uma mesma amostra de iogurte foram aferidas para retinol durante 3 dias seguidos. Os valores encontrados apresentaram variação inferior a 1 desvio padrão.

A curva padrão foi realizada com padrão referência retinol todo *trans* (Sigma) em diferentes concentrações, variando de 2 a 32ng/20 $\mu$ L. Os limites de detecção e quantificação foram baseados na linearidade da curva do padrão, obtendo-se valores de 0,1 $\mu$ g/mL e 2 $\mu$ g/mL, respectivamente.

Os valores de retinol foram expressos em média e desvio padrão, e, para testar as diferenças entre as médias dos dados numéricos paramétricos, foi utilizado o teste de Turkey. As diferenças foram consideradas significativas quando  $p < 0,05$ .



**Figura 1.** Cromatógrafo do padrão de retinol (4ng/20 $\mu$ L) e tempo de retenção 4,0 min.

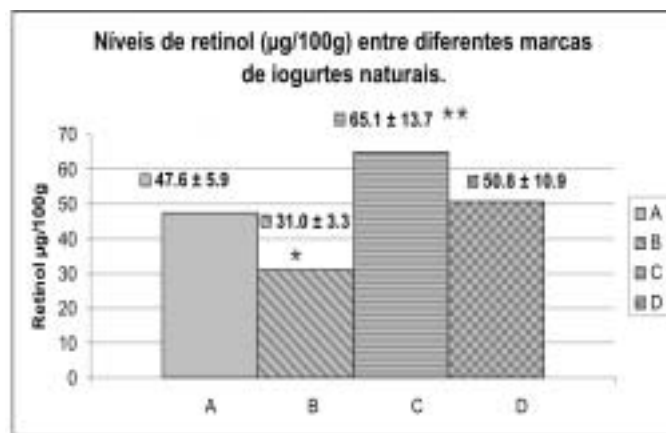


**Figura 2.** Cromatógrafo de amostra de iogurte, tempo de retenção 4,0 min

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na identificação de retinol, foi verificado que as concentrações médias deste micronutriente, nas amostras de iogurte natural das marcas A, B, C, e D, apresentadas na Figura 3, foram: 47,6 $\pm$ 5,9; 31,0 $\pm$ 3,3; 65,1 $\pm$ 13,7 e 50,8 $\pm$ 10,9 $\mu$ g/100g, respectivamente. A concentração de retinol do iogurte natural da marca C, quando comparado às marcas A e B, mostrou-se significativamente maior. Enquanto que a marca B apresentou o menor nível de retinol dentre as marcas analisadas.

Apesar de os iogurtes aqui estudados terem sido adquiridos e analisados numa mesma época, os valores encontrados, entre as marcas estudadas, apresentaram variação expressiva, sendo de 110% a diferença entre o menor e maior valor. Entretanto, as variações no teor do composto analisado entre as diferentes marcas, podem ser explicadas em função da alimentação, manejo e raça dos animais produtores do leite com o qual os iogurtes foram fabricados, uma vez que, segundo Neirotti, Oliveira<sup>15</sup>, a composição do leite de vaca pode variar com estes parâmetros.



\* Média significativamente diferente de A, C e D ( $p < 0,05$ )

\*\* Média significativamente diferente de A e B ( $p < 0,05$ )

**Figura 3.** Comparação dos níveis de retinol ( $\mu\text{g}/100\text{g}$ ) entre diferentes marcas de iogurtes naturais, comercializados na cidade do Natal/RN.

Sabe-se, também, que durante o período de comercialização do iogurte, pode ocorrer uma diminuição dos valores de pH, relacionada ao tempo e à temperatura de armazenamento e incubação (fermentação), refletindo em uma maior acidez. Para Davis<sup>35</sup>, esse aumento da acidez também pode ocorrer conforme o balanço microbiológico entre as colônias de bactérias lácticas utilizadas na fabricação do produto. Tais aspectos poderiam resultar num comprometimento do retinol nas demais marcas em comparação a marca C, visto que este micronutriente, segundo Machlin<sup>36</sup> é um álcool sensível à oxidação na presença de luz, instável ao calor e ao meio ácido.

As concentrações mais elevadas encontradas neste estudo podem também estar relacionadas ao acréscimo de leite em pó integral, que é intencionalmente utilizado para o aumento dos sólidos lácteos no produto final, concordando com Deeth; Tamime<sup>21</sup>. Suas afirmações apontam que os produtos variam consideravelmente em relação à composição, aroma e textura, de acordo com a natureza dos microrganismos, do tipo de leite e do processo usado na fabricação.

Philipp, em sua tabela de composição de alimentos, relata uma concentração de  $30\mu\text{g}/\text{dL}$  para o iogurte natural, porém, uma vez que o dado foi obtido a partir de referências bibliográficas, pode não representar a realidade dos produtos industrializados brasileiros<sup>26</sup>.

Em pesquisa realizada por Torres et al.<sup>37</sup> na cidade de São Paulo, onde foi avaliado o teor em vitamina A de alguns alimentos, foram encontrados no iogurte natural,  $11,4\mu\text{g}$  de equivalente de retinol/100g de alimento analisado; níveis bem abaixo dos verificados no presente estudo, porém podemos atribuir este valor reduzido à metodologia utilizada (Carr-Price), diferente da realizada neste estudo<sup>33</sup>.

Assim, dentre as marcas de iogurtes aqui analisadas, apenas uma teve concentração de retinol semelhante à relatada na literatura<sup>26</sup> ao passo que as demais tiveram níveis acima desta concentração, portanto, apesar das diferenças terem sido estatisticamente significativas, os níveis de retinol nas marcas de iogurtes, estudadas, encontram-se dentro da normalidade e adequados ao consumo em relação à vitamina estudada.

## REFERÊNCIAS

1. Oliveira VM. Formulação de bebida láctea com diferentes concentrações de soro de queijo, enriquecida com ferro: caracterização físico-química, análises bacteriológicas e sensoriais. [Dissertação de Mestrado]. Rio de Janeiro, RJ: Universidade Federal Fluminense, 2006.
2. Bolini HMA, Moraes P. Tese mostra que análise sensorial incrementaria produção de iogurte. *J Unicamp*, ed. 253, de 24-30 de maio 2004: 11.
3. Brasil. Ministério da Saúde. Decreto de Leis, Decreto nº 2.224 de 4 de junho de 1997. *Diário Oficial da União*, Brasília 5 de junho de 1997, Seç. I, p. 11555 (altera dispositivos do Dec. nº 30.691 de 29 de março de 1952.).
4. Martins JFP, Luchese RH. Determinação da compatibilidade de crescimento associativo entre cepas de *Lactobacillus bulgaricus* e *Streptococcus thermophilus*. *Rev Inst Latic Candido Tostes* 1988; 43 (256): 11-3.
5. Vedamuthu ER. The yogurt story - past, present and future. Part. VI. *Dairy, Food Envir Sanit.* 1991; 11(9): 513-4.
6. Vosniakos F et al. Effect of 131 I on lactic acid microflora of yoghurt. *Dairy, Food Envir Sanit.* 1991; 8(11): 433-5.
7. Veisseyre R. *Lactologia Técnica. Composición, recogida, tratamiento y transformación de la leche.* Ed. Acribia, Zaragoza (España) 1988: 288-91.
8. Brandão SCC. Tecnologia da produção industrial de iogurte. *Leite & Derivados* 1995; 4 (25): 24-38.
9. Alais CH. *Ciência de la leche. Principios de Técnica Lechera.* Ed. Revertè. Trad. D.A.L. GODINA, Barcelona (España) 1985: 763-7.
10. Çon AH, et al. Effets of different fruits and storage periods on microbiological qualities of fruit flavored yogurt produced in Turkey. *J Food Prot* 1996; 59(4): 402-6.
11. Manzanares A. Lácteos de alto consumo en Latinoamérica. *Tecnología Láctea Latinoamericana* 1996; 5:31-9.
12. Salinas RJ. *Higiene quality of commercial yoghurts.* Madrid: Alimentaria 1986; 178: 27-30.

13. Porter JWG. Leche y productos lácteos. Trad. J.L.B. ESCALADA, Ed. Acribia, Zaragoza (España) 1981: 71-4.
14. Rasic LLJ, Kurmann JA. Nutritive and health values of dairy foods containing bifidobacteria. In: Rasic LLJ, Kurmann JA. *Bifidobacteria and their role*. Basel: Birkhäuser Verlag 1993: 81-101.
15. Neirotti E, Oliveira AJ. Produção de iogurte pelo emprego de culturas lácticas mistas. *Bol SBCTA* 1988; 22 (½): 1-16.
16. Ainsworth P. Chemistry in the kitchen: milk and milk products. *J Nutr Food Sci*. London 1996; (2): 27-30.
17. Indyk HE, Lawrence R, Broda D. The micronutrient content of bovine whole milk powder: influence of pasture feeding and season. *Food Chem Barking*. 1993; 46: 389-96.
18. Gurgel MSCCA, Oliveira AJ, Camargo R. *Microbiologia do iogurte*. Piracicaba: ESALQ, Depto. de Ciência e Tecnologia de Alimentos 1992: 23.
19. Salado GA, Andrade MO de. Processamento e qualidade nutricional do iogurte. *Boletim Cultural* 1989; 7: 1-35.
20. Tamime AY, Robinson RK. *Yogurt: science and technology*. Oxford: Pergamon press 1985: 431.
21. Deeth HC, Tamime AY. Yogurt: nutritive and therapeutic aspects. *J Food Prot* 1981; 44 (1): 58-96.
22. IOM (Institute of Medicine). Vitamin A. In: *Food and Nutrition Board. IOM (Institute of Medicine). Dietary references intake for vitamin A, vitamin K, arsenic, boron, chromium, copper, iodine, iron, manganese, molybdenum, nickel, silicon, vanadium and zinc*. Washington (DC): National Academy Press. 2001: 82-161.
23. Chagas MHC, Campos FACS, et al. Teratogenia da vitamina A. *Rev Bras Saúde Mater Infant*, July-sept 2003; 3: 247-52.
24. Vieira PAB, Lacerda E, Benzecry EH, Gomes MCS, Costa VM. *Tabela para Avaliação de Consumo Alimentar em Medidas Caseiras*. 4ª ed. Rio de Janeiro: Atheneu; 2001.
25. Monte CMG, Giugliani ERJ. Recomendações para alimentação complementar da criança em aleitamento materno. *J Pediatr*, nov 2004; 80 (5), supl: s131- 41.
26. Philippi ST. *Tabela de Composição de alimentos*. 2ª ed. São Paulo: Coronário: 2002.
27. Penteadó MVC. *Vitaminas: aspectos nutricionais, bioquímicos, clínicos e analíticos*. São Paulo: Manole; 2003.
28. Ramalho A R, Anjos LA dos. Hipovitaminose A em recém nascidos em duas maternidades públicas do Rio de Janeiro, Brasil. *Cad Saúde Pública*. Rio de Janeiro, oct/dec 1998; 14 (4).
29. McLaren DS, Frigg M. *Manual de ver y vivir sobre los trastornos por deficiencia de vitamina A (VADD)*. Washington (DC): OPS; 1999.
30. Stoltzfus RJ, Underwood BA. Breast-milk vitamin A as an indicator of the vitamin A status of women and infants. *Bull World Health Organ* 1995; 73: 703-11.
31. Christian P, West JRKP, Khatry SK, Katz J, Shrestha SR, Kimbrough-Pradhan E, Leclercq SC, Pokhrel RP. Night blindness of pregnancy in rural Nepal - nutritional and health risks. *Int J Epidemiol* 1998; 27: 231-7.
32. Sapin V, Alexandre MC, Chaïb S, Bournazeau JA, Sauvant P, Borel P, Jacquetin B, Grolier P, Lémery D, Dastugue B, Azaïs-braesco V. Effect of vitamin A status at the end of term pregnancy on the saturation of retinol binding protein with retinol. *Am J Clin Nutr* 2000; 71: 537-43.
33. Giuliano AR, Neilson EM, Kelly BE, Canfield LM. Simultaneous quantitation and separation of carotenoids and retinol in human milk by high-performance liquid chromatography. *Methods Enzymol* 1992; 213: 391-9.
34. Nierenberg DW, Nann SL. A method for determining concentrations of retinol, tocopherol, and five carotenoids in human plasma and tissue samples. *Am J Clin Nutr* 1992; 56: 417-26.
35. Davis JG. Laboratory control of yogurt. *Dairy Industries*; 35(3): 139-44, 170.
36. Machlin LJ. (ed). *Handbook of vitamins*. Marcel Dekker, Inc. 1990: 1-57.
37. Torres EAFS, Okani ET, Roviello A, Guariero EH, Campos NC. Teor em vitamina A, de alguns alimentos distribuídos na cidade de São Paulo. *Hig Aliment* 1998; 12(54): 58-61.