

UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS  
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL

AVALIAÇÃO DA QUALIDADE MICROBIOLÓGICA E FÍSICO-  
QUÍMICA DE OVOS COMERCIALIZADOS EM MANAUS, AM.

LUCIENE ALMEIDA SIQUEIRA DE VASCONCELOS

MANAUS

2018

Luciene Almeida Siqueira de Vasconcelos

AVALIAÇÃO DA QUALIDADE MICROBIOLÓGICA E FÍSICO-QUÍMICA  
DE OVOS COMERCIALIZADOS EM MANAUS, AM.

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal (PPGCAN) da Universidade Federal do Amazonas, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Ciência Animal, área de concentração Zootecnia e Recursos Pesqueiros.

Orientador: Prof. Felipe Faccini dos Santos, Dr.  
Coorientador: Prof. Pedro de Queiroz Costa Neto, Dr.

Manaus  
2018

Luciene Almeida Siqueira de Vasconcelos

**AVALIAÇÃO DA QUALIDADE MICROBIOLÓGICA FÍSICO-QUÍMICA  
DE OVOS COMERCIALIZADOS EM MANAUS, AM.**

Esta dissertação foi julgada e aprovada como requisito parcial para a obtenção do título de  
Mestre em Ciência Animal no Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal da  
Universidade Federal do Amazonas

Manaus, 24 de maio de 2018.

---

Prof. Dr. Frank George Guimarães Cruz  
Coordenador do Programa

**BANCA EXAMINADORA**

---

Prof. Dr. Felipe Faccini dos Santos  
Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Amazonas  
Orientador – Presidente da banca

---

Prof. Dr. Frank George Guimarães Cruz  
Universidade Federal do Amazonas  
Examinador Interno – Membro da banca

---

Dra. Isnandia Andréa Almeida da Silva  
Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Amazonas  
Examinador Externo – Membro da banca

## Ficha Catalográfica

Ficha catalográfica elaborada automaticamente de acordo com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

V331a Vasconcelos, Luciene Almeida Siqueira de  
Avaliação da qualidade microbiológica e físico-química de ovos comercializados em Manaus, AM. / Luciene Almeida Siqueira de Vasconcelos. 2018  
53 f.: 31 cm.

Orientador: Felipe Faccini dos Santos  
Coorientador: Pedro de Queiroz Costa Neto  
Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) - Universidade Federal do Amazonas.

1. Salmonella spp.. 2. contaminação. 3. fungos. 4. unidade Haugh. I. Santos, Felipe Faccini dos II. Universidade Federal do Amazonas III. Título

Ao meu amado filho Arthur, a você todas as  
minhas lutas e vitórias.

**Dedico**

## Agradecimentos

À Deus, por ter me dado forças e saúde para completar esta fase da minha vida.

Aos meus amados pais, Cassandra Almeida e Lúcio Siqueira (*in memoriam*), minha base, meu alicerce. Obrigada por todo amor e investimento para garantir uma educação de qualidade desde à minha infância. Ao meu pai, que mesmo com sua ausência física, continua me guiando pelos melhores caminhos. Sinto sua presença todos os dias! À minha mãe por todo apoio e compreensão. Obrigada por ter sido a melhor avó durante esse período. Sem em você mamãe, eu não teria conseguido!

Ao meu querido esposo Claudomir Vasconcelos, que com amor e paciência superou os períodos de ausência. Obrigada por me apoiar em minhas decisões e vibrar com as minhas vitórias.

Ao meu orientador Prof. Dr. Felipe Faccini dos Santos. Obrigada por cada dia de aprendizado, pela paciência e compreensão em alguns momentos críticos. Obrigada por ter segurado a minha mão e ter me guiado durante todo esse período, pela ajuda e ensinamentos pessoais.

Ao meu coorientador Prof. Dr. Pedro de Queiroz C. Neto, por ter me acolhido em seu laboratório e ter proporcionado uma estrutura adequada para a realização do meu experimento. Obrigada pela confiança, pelas conversas até mais tarde no laboratório, pelo conforto nos momentos de dificuldades e por todo apoio psicológico. Obrigada pela sua amizade!

Às alunas da faculdade de Medicina Veterinária do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Amazonas (IFAM), Ananda Santiago, Jamires Souza, Daniela Dias e Josiane Sousa, pelo apoio nas análises microbiológicas e físico-químicas. Sem a ajuda de vocês nada seria possível!

Às minhas tias Ademilde Almeida e Alaíde Almeida por todo incentivo e palavras encorajadoras durante este período.

Aos amigos Josué Costa, Juarez Junior e Eudimar Rocha por todo apoio e compreensão nos momentos de ausência no trabalho. A amizades de vocês vale ouro!

Aos amigos do curso de pós-graduação em Ciência Animal, Rodney Reis e Érika Tavares, pelo apoio no final no experimento, por todo encorajamento e pelos momentos de descontração que foram essenciais para garantir o melhor desempenho no experimento.

Aos amigos do Laboratório de Princípios Bioativos, Kelven Vladie e Nayara Dantas, pela parceria nos trabalhos e pelos momentos de descontração em meio a tantas atividades importantes.

Ao Prof. Dr. Adolfo José da Mota por ter cedido seu laboratório para o término das minhas análises microbiológicas.

Ao coordenador do curso de pós-graduação em Ciência Animal, Prof. Dr. Frank Cruz, pelo apoio total a todos os alunos do curso e pelo encorajamento e compreensão de dificuldades de cada aluno em particular.

À CAPES, pelo financiamento da bolsa de estudo durante boa parte do mestrado.

**Meus sinceros e eternos agradecimentos!**

Enfrentas todos os obstáculos da vida, para  
construíres os capítulos da sua história.

**Autor Desconhecido**



## RESUMO

A qualidade do ovo vêm sendo motivo de preocupação para produtores e consumidores, defeitos na qualidade podem significar riscos para a saúde pública, além de perdas econômicas. O objetivo do trabalho foi realizar um estudo para avaliar a qualidade físico-química e microbiológica de ovos comercializados no município de Manaus, AM. As amostras consistiram de ovos comerciais, do tipo branco e tamanho grande, com caráter exploratório pela análise de 48 lotes. Ao todo foram analisadas 576 amostras para a avaliação físico-química e 96 amostras para a avaliação microbiológica. Na qualidade físico-química do ovo foram avaliados os parâmetros de peso do ovo, presença de sujidades, presença de trincas na casca, porcentagem de casca, espessura da casca, altura do albume, Unidade Haugh, índice de gema, pH do albume e pH da gema. Para a avaliação da contaminação foram feitas a determinação do número mais provável de coliformes termotolerantes, contagem de mesófilos, bolores e leveduras e pesquisa de *Salmonella* spp. A técnica de PCR foi realizada para o diagnóstico molecular de *Salmonella* spp. Foram observadas diferenças ( $p < 0,05$ ) entre as características de peso dos ovos, porcentagem de ovos com peso inferior, peso, porcentagem e espessura de casca, presença de sujidades, pH de albume, UH, índice de gema e coloração da gema. Nas análises microbiológicas, observou-se diferença ( $p < 0,05$ ) para a quantidade de bolores e leveduras e mesófilos encontrados na de casca dos ovos. Não houve contaminação importante por microrganismos no conteúdo dos ovos. Foram identificadas amostras positivas para *Salmonella* spp. utilizando a técnica de PCR.

**Palavras-chave:** *Salmonella* spp., contaminação, fungos, unidade Haugh

## ABSTRACT

The quality of the egg has been a cause of concern for producers and consumers, defects in quality can pose risks to public health, as well as economic losses. The objective of this work was to conduct a study to evaluate the physical-chemical and microbiological quality of eggs commercialized in the city of Manaus, AM. Samples consisted of commercial eggs, of the white type and large size, with an exploratory character by the analysis of 48 lots. A total of 576 samples were analyzed for the physical-chemical evaluation and 96 samples for the microbiological evaluation. The physical-chemical quality of the egg was evaluated with the parameters of egg weight, presence of dirt, presence of cracks in the shell, shell percentage, shell thickness, albumen height, Haugh unit, yolk index, albumen pH and yolk pH. To evaluate the contamination, the most probable number of fecal coliforms, mesophilic counts, molds and yeasts and *Salmonella* spp. PCR was performed for the molecular diagnosis of *Salmonella* spp. There were differences ( $p < 0.05$ ) between characteristics of egg weight, percentage of eggs with lower weight, shell weight, percentage and thickness, presence of dirt, albumen pH, Haugh unit, yolk index and yolk color. In the microbiological analyzes, a difference ( $p < 0.05$ ) was observed for the number of molds and yeasts and mesophiles found in eggshell. There was no relevant contamination by microorganisms in the egg contents. Positive samples were identified for *Salmonella* spp. by PCR.

**Key words:** *Salmonella* spp., contamination, fungi, Haugh unit.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Quadro 1. Classificação do ovo comercial segundo o peso.....	17
Quadro 2. Peso médio do ovo, espessura, resistência e porosidade da casca, de acordo com a idade da matriz.....	21
Quadro 3. Principais minerais e vitaminas responsáveis pela qualidade da casca do ovo.....	23
Quadro 4. Proteínas presentes no albume e sua ação.....	25

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Características de qualidade externa dos ovos, comparando a origem e a estação de coleta dos ovos.....	41
Tabela 2. Características internas dos ovos comparando a origem e a estação de coleta dos ovos.....	43
Tabela 3. Avaliação microbiológica dos ovos analisados, comparando a origem e a estação em que os ovos foram adquiridos.....	45

## LISTA DE ABREVIATURAS

mg - miligramas

g - gramas

$\mu\text{m}$  - micrômetro

mm - milímetros

$\omega$ -3 - ômega 3

$\omega$ -6 - ômega 6

Ca - cálcio

## LISTA DE SIGLAS

MAPA - Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento  
RNA - Ácido ribonucleico  
LDF - Fração de baixa densidade  
HGF - Fração de alta densidade  
HSF - Fração hidrossolúvel  
OMS - Organização Mundial de Saúde  
UH - Unidade Haugh  
EEC - *Escherichia coli* enteropatogênica  
PCA - Plate Count Agar  
BDA - Ágar batata glicose  
CT - Colônias típicas  
CA - Colônias atípicas  
BHI - Brain Heart Infusion  
NMP - Número mais provável  
CTT - Coliformes termotolerantes  
IN - Instrução Normativa  
RV - Rappaport Vassiliadis  
SC - Seletor Cistina  
VB - Ágar Verde Brilhante  
HEA - Hektoen Enteric Ágar  
TSI - Triple Sugar Iron Agar  
LIA - Lisine Iron Agar  
SIM - Ágar Sulfeto Indol Motilidade  
PCR - Reação em cadeia da polimerase  
OA - Ovos produzidos no Amazonas  
OM - Ovos produzidos no Mato Grosso

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	15
<b>2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b> .....	17
2.1 O OVO .....	17
<b>2.1.1 Estrutura do ovo</b> .....	18
2.1.1.1 Características da casca .....	18
2.1.1.1.1 <i>Genética</i> .....	20
2.1.1.1.2 <i>Idade da poedeira</i> .....	21
2.1.1.1.3 <i>Nutrição da ave</i> .....	22
2.1.1.1.4 <i>Sanidade das aves</i> .....	23
2.1.1.1.5 <i>Manejo e Condições ambientais</i> .....	24
2.1.1.2 Características do albume .....	24
2.1.1.3 Características da gema .....	26
<b>2.1.2 Microbiologia de ovos comerciais</b> .....	28
2.1.2.1 Microrganismos aeróbios mesófilos .....	29
2.1.2.2 Coliformes termotolerantes .....	30
2.1.2.3 Bolores e leveduras .....	30
2.1.2.4 <i>Salmonella</i> spp. ....	31
<b>2.1.3 Avicultura de postura no Estado do Amazonas</b> .....	33
<b>3 MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....	35
3.1 DELINEAMENTO DA PESQUISA .....	35
3.2 AVALIAÇÃO DA QUALIDADE FÍSICO-QUÍMICA DO OVO .....	35
3.3 AVALIAÇÃO DA QUALIDADE MICROBIOLÓGICA OS OVOS .....	36
<b>3.3.1 Preparo das amostras</b> .....	36
<b>3.3.2 Contagem total de mesófilos</b> .....	37
<b>3.3.3 Contagem de bolores e leveduras</b> .....	37

<b>3.3.4</b>	<b>Determinação do número mais provável de coliformes termotolerantes.....</b>	<b>37</b>
<b>3.3.5</b>	<b>Pesquisa de <i>Salmonella</i> spp. ....</b>	<b>38</b>
3.3.5.1	<i>Diagnóstico molecular de Salmonella spp. em ovos</i> .....	39
<b>3.4</b>	<b>ANÁLISE DOS DADOS.....</b>	<b>39</b>
<b>5</b>	<b>CONCLUSÃO.....</b>	<b>47</b>
<b>6</b>	<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>48</b>



# 1 INTRODUÇÃO

O ovo é um alimento completo, rico em vitaminas, minerais, ácidos graxos e proteínas de excelente qualidade, que são responsáveis pela manutenção do organismo humano, além de possuir substâncias promotoras de saúde e preventivas de várias doenças. É um produto de origem animal de baixo custo, fácil acesso e ampla utilização como fonte alimentar (formulação de dietas, indústria de alimentos, rações para animais). Pode ainda ser utilizado na fabricação de fertilizantes, meios de culturas para microrganismos, preparação de vacinas, fabricação de cosméticos e xampus, artesanato, entre outros. No entanto, é um alimento perecível e começa a perder a sua qualidade imediatamente após a postura, caso não sejam tomadas medidas adequadas para sua conservação.

A maior parte dos ovos comercializados no Brasil é produzida com alta tecnologia por galinhas poedeiras comerciais, criadas em gaiolas, de alto potencial genético com elevada eficiência de produção de ovos. O crescimento da demanda mundial por proteína animal tem gerado estímulos cada vez maiores aos produtores, a aderirem às práticas e tecnologias produtivas avançadas com o intuito de conseguir máxima produção, com baixo custo, em menos tempo e na menor área possível (PIRES et al., 2015).

A qualidade do ovo vêm sendo motivo de preocupação também para os comerciantes e consumidores, pois além das perdas econômicas, defeitos na qualidade podem significar riscos para a saúde pública. Como é um produto rico em nutrientes, há relativa facilidade de desenvolvimento de microrganismos deteriorantes e patogênicos, que podem trazer riscos à população (KRAEMER et al., 2003). O tempo de estocagem do ovo no mercado, a temperatura ambiente e as características particulares da ave (linhagem, idade da poedeira, manejo nutricional e estado sanitário) também são fatores que exercem influência direta sob a qualidade o ovo ofertado ao consumidor (PIRES et al., 2015).

Vários microrganismos destacam-se na contaminação de ovos, dentre eles os microrganismos mesófilos (dos quais se destacam as bactérias do gênero *Salmonella*) e termotolerantes e bolores e leveduras. A contaminação dos ovos pode acontecer logo após a postura, devido às más condições de higiene no ambiente ou através de infecções não sintomáticas nas aves alojadas.

Alguns fatores são fundamentais para o desenvolvimento microbiano, dentre eles temperatura e umidade, que podem afetar diretamente a qualidade do ovo. Estes dados são importantes ao se analisar o risco à qualidade dos ovos que são estocados e comercializados

em regiões de temperaturas maiores, como da região Norte do País pois, na legislação brasileira, não há uma norma que exija a refrigeração dos ovos para venda em comércio e não há prazo de validade máximo estabelecido. O produto, em geral, é mantido em temperatura ambiente, desde a produção até a distribuição final.

Devido ao fato de que as fiscalizações de vigilância sanitária no Brasil ainda funcionam de forma insipiente, é de fundamental importância para a saúde pública do município de Manaus, quantificar indicadores de contaminação microbiológica em ovos consumidos no município, revelando a necessidade de uma intervenção para a melhoria do produto, garantindo qualidade e segurança ao consumidor final.

O objetivo do trabalho foi determinar o perfil da qualidade microbiológica e físico-química de ovos comercializados no município de Manaus, AM.

## 2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 O OVO

Pela definição do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), o produto ovo é considerado o ovo de galinha em casca, sendo os demais ovos acompanhados da indicação da espécie que procedem (BRASIL, 1997). É um produto da galinha de postura moderna, que transforma recursos alimentares de menor valor biológico em alimento com alta qualidade nutricional para o consumo humano, além de possuir em seu conteúdo os nutrientes essenciais para nutrir as células germinativas da espécie (BERTECHINI, 2003).

Como alimento, este produto é reconhecido mundialmente, degustado por diversas populações, de diversas culturas. Sua popularidade vem aumentando gradativamente no decorrer dos anos devido a sua fácil obtenção, baixo custo e principalmente às suas características nutritivas. Possui em sua composição elevado conteúdo em proteínas, de baixo valor calórico e fácil digestão, vitaminas, minerais, ácidos graxos de cadeia insaturada e substâncias antioxidantes essenciais. Essas substâncias em conjunto são promotoras de saúde e preventivas de doenças (PIRES et al., 2015).

O processo de formação do ovo tem início logo após a ovulação no ovário, liberando a gema que viaja através de regiões especializadas do oviduto sendo adicionados componentes específicos para a formação do ovo. Cada ovo é formado individualmente, seguido de expulsão (oviposição) em intervalos de aproximadamente 24 horas (HINCKE et al., 2012).

No Brasil, de acordo com o Decreto nº 56.585, de 20 de Julho de 1965, o ovo pode ser classificado de acordo com o seu peso (Quadro 1), segundo a coloração da casca (grupo I referente a ovos que apresentem casca de coloração branca ou esbranquiçada e o grupo II ovos que apresentem casca de coloração avermelhada) e sua qualidade (BRASIL, 1965).

Quadro 1. Classificação do ovo comercial segundo o peso

<b>Grau</b>	<b>Peso/unidade</b>	<b>Peso/dúzia</b>
<b>Tipo 1 (Extra)</b>	Mínimo 60 g	720 g
<b>Tipo 2 (Grande)</b>	Mínimo 55 g	660 g
<b>Tipo 3 (Médio)</b>	Mínimo 50 g	600 g
<b>Tipo 4 (Pequeno)</b>	Mínimo 45 g	540 g

Fonte: BRASIL, 1965.

### 2.1.1 Estrutura do ovo

O ovo é constituído por quatro partes principais: a casca (9,5%), a membrana da casca, a gema (27,5%) e a clara ou albúmen (63%). Além disso, possui outras partes em menor proporção: o disco germinativo, a calaza, a câmara de ar e a cutícula (MAZZUCO, 2008).

#### 2.1.1.1 Características da casca

A casca é considerada uma bio-cerâmica porosa e complexa, que embala naturalmente o ovo. Suas funções primárias incluem a proteção do conteúdo do ovo contra injúrias mecânicas e invasão de microrganismos; o controle da troca de gases e evaporação de água através dos poros da casca e o fornecimento de cálcio para o desenvolvimento do embrião, exercendo papel fundamental no processo de incubação (BARBOSA et al., 2012). Defeitos na casca podem comprometer a resistência do ovo, comprometendo a produção, causando graves consequências econômicas e risco de contaminação por microrganismos prejudiciais à saúde humana. A deposição da casca é um processo biológico dinâmico, concluído cerca de 20 horas após o ovo atingir o útero da ave (HINCKE et al., 2012).

A casca contabiliza de 9-12% do peso total do ovo e é constituída por uma armação de substâncias orgânicas e minerais. A parte mineral totaliza cerca de 96% da composição do ovo, sendo 94% de carbonato de cálcio; 1% de carbonato de magnésio e 1% de fosfato de cálcio. Há também a presença de uma matriz orgânica formada por proteínas como o colágeno (tipo I, V e X), glicoproteínas e proteoglicanas (MAZZUCO, 2008).

A estrutura da casca de ovos é composta de seis camadas estruturais: membranas da casca (interna e externa), camada mamilar, camada paliçada, camada de cristal vertical e cutícula (HINCKE et al., 2012).

A membrana da casca é formada por duas camadas: uma externa mais espessa denominada de esponjosa, próxima à casca; e outra interna mais fina conhecida como mamilar. Estas membranas são compostas de redes de fibras de proteína (polissacarídeo) e possuem aproximadamente 70µm de espessura. Elas aderem estreitamente uma a outra, exceto na extremidade romba do ovo, onde são separados pela câmara de ar (HAMILTON, 1986). As membranas são de essencial importância para a formação da casca dos ovos, mas estas não são capazes de ligar o cálcio, porém, funcionam como estrutura de sustentação para a camada mamilar. Também possui a característica de semi-permeabilidade, o que permite a troca de gases e água enquanto retêm as proteínas do albúmen e também confere

impermeabilização do conteúdo dos ovos contra microrganismos (STALDEMAN; COTTERILL, 1994).

A camada mamilar é formada por múltiplas estruturas em forma de cone ou botões, os núcleos mamilares, e está situada, após a membrana externa da casca. Cada núcleo mamilar apresenta material orgânico concentrado que foi originalmente descrito como mucopolissacárido neutro e contém sulfato de queratano (HINCKE et al., 2012). Uma região importante da camada mamilar é o corpo de reserva de cálcio cuja estrutura contém microcristalinos de calcita com textura esferulítica que facilitam a eventual dissolução do mineral e a mobilização do cálcio para nutrir o embrião (HINCKE et al., 2012). Segundo Hamilton (1986) a estrutura e a configuração espacial da camada do botão mamilar é um determinante importante da resistência da casca visto que os locais de nucleação variam não só na sua distribuição mas também na sua composição proteica e exercem assim efeitos modificadores sobre a mineralização da casca.

A camada paliçada é considerada o corpo principal da casca e é caracterizada principalmente pela presença de orifícios vesiculares que variam em número e tamanho. Esta camada compreende cerca de 200mm e é a mais espessa das estruturas da casca. Os espaços entre algumas colunas da camada paliçada dão origem aos poros da superfície externa, os quais permitem trocas gasosas entre o ovo e o ambiente externo (SOLOMON, 2010). Cada poro varia em largura de 15 a 65 $\mu$ m na superfície e entre 6 a 23 $\mu$ m nos níveis internos da casca e sua distribuição no ovo da galinha doméstica não é aleatória. Calcula-se que existem entre 100 e 300 poros/cm<sup>2</sup> de superfície do invólucro (HAMILTON, 1986).

A camada de cristais verticais apresenta-se acima da camada paliçada onde cristais de calcita assumem uma orientação vertical de disposição mais densa e cuja fusão é responsável pela função estrutural da casca do ovo (SOLOMON et al, 1994).

A cutícula é uma camada protetora que o ovo recebe imediatamente antes da postura. Através do uso da microscopia eletrônica de varredura, sabe-se que a cutícula tem aspecto fissurado e que após a oviposição, esta seca e racha. Esta camada protege os poros distribuídos ao longo da superfície da casca, preservando o ovo e constituindo-se em uma primeira barreira contra a contaminação de microrganismos (SOLOMON, 2010). A espessura da cutícula de ovos de galinhas domésticas pode variar entre 0,5 e 12,8 $\mu$ m na superfície do mesmo ovo e tem um período de vida eficaz de 96 horas após a postura (SOLOMON et al., 1994).

A qualidade da casca dos ovos tem sido a principal preocupação para a avicultura de postura, seja na produção de ovos férteis ou comerciais. Uma casca sólida e de boa qualidade é fundamental para o desenvolvimento adequado do embrião e para a proteção adequada contra microrganismos patógenos que possam trazer transtornos à saúde da população (CARVALHO; FERNANDES, 2012).

A avaliação da casca é o principal método de avaliação da qualidade externa do ovo, principalmente no que se refere a presença de trincas ou quebras, que são consideradas as portas de entrada de microrganismos patógenos e/ou deterioradores, além da avaliação da porcentagem e da espessura de casca.

Alguns fatos são citados como grandes responsáveis pela qualidade da casca: a genética; a idade da poedeira; a alimentação das matrizes juntamente com o balanço adequado de nutrientes da ração; a sanidade das aves e o manejo e as condições ambientais da granja (NEOSPARK, 2012).

#### *2.1.1.1.1 Genética*

Na avicultura de postura existem diferenças entre raças, linhagens e indivíduos que determinam particularidades nos atributos de qualidade do albúmen e da gema, assim como na cor, tamanho e forma da casca dos ovos. Essas diferenças ocorrem devido a capacidade de transporte e utilização de nutrientes pela ave, podendo desta forma, influenciar na qualidade da casca (CARVALHO; FERNANDES, 2012).

A seleção genética para qualidade da casca do ovo se baseia, fundamentalmente, na coloração e na espessura da casca (BAIÃO; LÚCIO, 2005). A coloração da casca tem uma grande influência sobre o apelo visual de um ovo, com referência a preferência de consumidores. Esta coloração é determinada pela herança genética da ave e é controlada por vários genes que regulam a deposição de pigmentos derivados do anel de porfirina do grupo heme ou do pigmento biliverdina. Poedeiras de ovos brancos produzem quantidades normais de porfirina, e as depositam em pouca quantidade na região interna da casca, já as poedeiras que produzem ovos vermelhos, depositam uma maior quantidade de porfirina na região externa da casca. Para os ovos de casca azul esta coloração se dá devido à um retrovírus, que promove a expressão de um gene gerando maior acúmulo de biliverdina na casca do ovo (WRAGG et al., 2013).

Nas poedeiras de ovos vermelhos observa-se que o consumo de ração por ovo produzido é ligeiramente maior em relação às aves brancas, fato este compensado pela

valorização do ovo vermelho no mercado, que costuma ser mais caro que o ovo branco (BENITES et al., 2005). Tem-se observado que ovos de casca vermelha quebram menos, devido, provavelmente, à resistência ligeiramente inferior da casca dos ovos brancos, porém a cor da casca não altera o valor nutritivo o ovo; ambos são igualmente ricos em proteínas, vitaminas e minerais (BERTECHINI, 2003).

A espessura da casca é uma característica que apresenta uma herdabilidade em torno de 40% e esta característica pode variar devido a vários fatores, como a linhagem da poedeira, tempo de permanência do ovo na glândula da casca e a taxa de deposição de carbonato de cálcio durante a formação da casca (NEOSPARK, 2012).

Em princípio seria fácil a seleção para qualidade da casca, entretanto, esta característica é inversamente relacionada à produtividade pois a seleção genética das linhagens de postura se desenvolveu mais por outras características de interesse zootécnico, como alta produção e baixa mortalidade (MAZZUCO, 2008). Sendo assim, é necessário que os programas de seleção genética de poedeiras comerciais e reprodutoras, monitorem várias características a fim de que a melhora de uma não interfira ou influencie negativamente em outras características igualmente importantes, como, por exemplo, a qualidade da casca (CARVALHO; FERNANDES, 2012).

#### 2.1.1.1.2 Idade da poedeira

A qualidade da casca decresce com o aumento na idade da ave; aves mais velhas produzem ovos maiores (aumento de 40%), aumentando a porosidade da casca e diminuindo a espessura da casca, ficando evidente problemas de quebra de ovos (Quadro 2) (BARBOSA et al., 2012).

Quadro 2. Peso médio do ovo, espessura, resistência e porosidade da casca, de acordo com a idade da matriz.

<b>Idade da matriz (semanas)</b>	<b>Peso do ovo (g)</b>	<b>Espessura da casca (mm)</b>	<b>Resistência da casca (g)</b>	<b>Poros da casca por cm<sup>2</sup> (n<sup>o</sup>)</b>
<b>33</b>	62,0	0,457	3193	103
<b>63</b>	72,4	0,435	2994	126
<b>CV %</b>	4,9	7,9	17	-

Fonte: Adaptada de Barbosa et al. (2012).

Segundo Araújo e Albino (2011) a baixa qualidade da casca de aves mais velhas está relacionada com a baixa capacidade de hidroxilação da vitamina D nos rins destas aves. Já

para Keshavarz e Nakajima (1993) o decréscimo da qualidade da casca, com a idade, é resultado da queda de habilidade de absorção de cálcio intestinal e mobilização do cálcio ósseo. A taxa de retenção deste íon em aves jovens é de 60%, enquanto nas mais velhas é de 40%.

Segundo Mazzuco et al. (1998), para reduzir o problema de fragilidade da casca, especialmente de aves em final de produção, há possibilidade de suplementação de cálcio, na forma de farinha de ostra, elevando o nível de cálcio para 4,5% na ração. Segundo Baião e Lúcio (2005), o uso de fontes de cálcio menos solúveis ou com granulometria mais grosseira, podem melhorar a qualidade da casca.

### *2.1.1.1.3 Nutrição da ave*

As galinhas poedeiras modernas são muito sensíveis às variações dos níveis nutricionais da dieta. Dentre os nutrientes que mais diretamente influem na qualidade da casca, minerais como o cálcio, o fósforo, o manganês e o zinco e as vitaminas D e C são os mais importantes. O desequilíbrio de qualquer um destes nutrientes pode levar a problemas associados a qualidade da casca (NEOSPARK, 2012).

O cálcio é um dos principais componentes da casca do ovo e o seu aporte primário para o organismo é feito através da dieta. Durante o período que não ocorre a formação da casca do ovo, o cálcio ingerido é depositado na região medular do osso, constituindo uma reserva lábil (BAIÃO; LÚCIO, 2005).

O excesso deste mineral pode interferir no metabolismo de outros minerais de importância como fósforo, zinco, manganês e ferro e a sua deficiência resulta em má qualidade da casca com formação de ovos de cascas muito finas (CARVALHO; FERNANDES, 2012; ARAÚJO; ALBINO, 2011).

O fósforo é outro mineral de importância para a formação de uma casca de qualidade apesar da sua pequena quantidade encontrada na casca ( $\pm 22$ mg). Durante o período em que não há formação da casca, uma parte do fósforo é dirigida para a deposição na gema do ovo e outra parte se combina com cálcio para ser depositado no osso (ARAÚJO; ALBINO, 2011).

O manganês e o zinco agem de forma coadjuvante no processo de formação da casca. O manganês faz parte da molécula de mucopolissacarídeos da matriz orgânica da casca (ARAÚJO; ALBINO, 2011). Sua deficiência compromete a formação da camada mamilar da casca, aumentando a incidência de áreas translúcidas (BAIÃO; LÚCIO, 2005). O zinco é um cofator essencial no sistema enzimático da anidrase carbônica, que controla a transferência de



íons bicarbonato do sangue para a glândula da casca. A inibição desta enzima causa diretamente a redução no peso da casca de ovos formados (MABE et al., 2003).

Algumas vitaminas também desempenham papel fundamental na formação da casca do ovo como a vitamina D e a vitamina C. A vitamina D é responsável pela regulação do metabolismo cálcio-fósforo, sendo indispensável para a adequada deposição do cálcio na casca. Já a vitamina C embora seja sintetizada pela ave, em condições de estresse o seu fornecimento pode ser bastante útil. Esta vitamina está envolvida na reativação da vitamina D na ave e assim está indiretamente envolvida no metabolismo do Ca. Ela também atua na produção de colágeno, importante na composição da matriz orgânica da casca (Quadro 3) (RUTZ et al., 2007).

Quadro 3. Principais minerais e vitaminas responsáveis pela qualidade da casca do ovo.

<b>Substância</b>	<b>Função</b>
<b>Cálcio (Ca)</b>	Formação de ossos e das cascas dos ovos.
<b>Fósforo (P)</b>	Formação de ossos e das cascas dos ovos.
<b>Manganês (Mn)</b>	Composição da molécula de mucopolissacarídeos da matriz orgânica da casca.
<b>Zinco (Zn)</b>	Cofator essencial no sistema enzimático da anidrase carbônica, que controla a transferência de íons bicarbonato do sangue para a glândula da casca.
<b>Vitamina D</b>	Regulação do metabolismo cálcio-fósforo, sendo indispensável para a adequada deposição do cálcio na casca.
<b>Vitamina C</b>	Reativação da vitamina D na ave, estando indiretamente envolvida no metabolismo do Ca.

Fonte: Adaptado de Araújo e Albino (2011).

#### 2.1.1.1.4 Sanidade das aves

Várias doenças que afetam galinhas poedeiras podem causar uma queda de produção, porém nem todas induzem comprometimento da qualidade da casca, a menos que sejam comprometidos órgãos ou tecidos envolvidos com o metabolismo de nutrientes essenciais para o processo de calcificação ou haja perda de tonicidade. Doenças como Bronquite Infecciosa das Galinhas, Síndrome da Queda de Postura e Micoplasmoses, caracterizam-se por apresentar elevada incidência de alteração de casca, porque estes agentes destroem as células do istmo e do útero. Pneumovírus e Vírus da Coriza Infecciosa induzem alterações de casca mais pelos seus efeitos indiretos sobre consumo, absorção de nutrientes e desequilíbrios metabólicos (STALDEMAN; COTTERILL, 1994).

#### 2.1.1.1.5 Manejo e condições ambientais

Algumas práticas de manejo podem resultar em uma melhoria direta na qualidade da casca do ovo. A debicagem é uma dessas práticas, que dificulta a seleção do alimento pelas aves, previne ocorrência de lesões por bicagem, além de apresentar menos ovos com danos à casca (BAIÃO; LÚCIO, 2005).

Uma outra alternativa para melhorar o desempenho reprodutivo das aves e a consequente melhoria na qualidade da casca é a utilização do manejo de muda forçada. Esta técnica consiste na regressão completa do trato reprodutivo e perda de penas. É necessário que a muda induza as alterações hormonais que resultam na perda completa da função reprodutiva. Após sofrer a muda, a ave torna-se endocrinologicamente semelhante à ave na fase pré-puberal, podendo retornar à produção de ovos após fotoestímulo e alimentação adequada (RUTZ et al., 2005).

A temperatura é outra variável que pode afetar a qualidade da casca do ovo. Plantéis submetidos à altas temperaturas ambientais produzem ovos com espessura de casca reduzidas. A poedeira, através do aumento do ritmo respiratório e perda de calor pela expiração, resiste ao aumento da temperatura corporal durante períodos de estresse calórico, alterando o seu balanço ácido-básico no sangue. Este evento causa alcalose metabólica nas aves e escassez de CO<sub>2</sub> para a calcificação da casca do ovo (STALDEMAN; COTTERILL, 1994).

Outro problema relacionado ao estresse calórico, é a redução no consumo da ração, produzindo ovos de casca fina. Com a redução no consumo compromete-se a ingestão de nutrientes, como o cálcio, essencial na formação da casca. As oscilações na qualidade da casca observadas nas diferentes estações do ano se devem a esse efeito (STALDEMAN; COTTERILL, 1994).

#### 2.1.1.2 Características do albume

O albume é composto de várias proteínas disposta em três camadas: uma fina camada externa (23%), uma camada grossa (57%) e a uma fina camada interna (20%). Além das proteínas, a clara contém de 85 a 90% de água, pequenas quantidades de glicoproteínas e glicose (menos de 1%) e sais minerais e é pobre em gorduras (apenas 0,1 a 0,2%). O pH da clara no ovo fresco é de 7,6 a 7,9, aumentando para até 9,7 durante o armazenamento de acordo com a temperatura e a difusão do CO<sub>2</sub> através da casca. O albúmen é considerado a segunda linha de defesa contra a invasão de microrganismos do ovo (SEIBEL, 2005).

As principais proteínas que se destacam no albume são a ovalbumina, a conalbumina e ovomucóides, as demais proteínas são encontradas em menor concentração e incluem a ovomucina, lisozima, avidina, ovoinibidor entre outras (Quadro 4) (MAZZUCO, 2008).

Quadro 4. Proteínas presentes no albume e sua ação

<b>Proteína</b>	<b>Descrição</b>
<b>Ovalbumina</b>	Principal proteína do albume, sendo facilmente desnaturada por exposição a superfícies (agitação ou batimento); É relativamente estável ao tratamento térmico. Possui propriedades antibacterianas, anti-hipertensivas e moduladora do sistema imunitário.
<b>Ovotransferrina (conalbumina)</b>	Capaz de se ligar a íons ferro. Possui propriedade bacteriostática e moduladora do sistema imunitário
<b>Ovomucóide</b>	Tem ação de anti-enzima para a tripsina, diminuindo a atividade da protease. Atua como moduladora do sistema imunitário.
<b>Ovomucina</b>	Contribui para formar a estrutura de gel da clara; Contem galactosaminas.
<b>Lisozima</b>	Ação enzimática; Possui ação moduladora do sistema imunológico.
<b>Ovoinibidor</b>	Inibe duas moléculas de tripsina e duas de quimiotripsina simultaneamente. Inibe a ação de proteases de fungos e de bactérias.
<b>Avidina</b>	Atividade antimicrobiana.

Fonte: Adaptado de SGARBIERI (1996); KOVACS-NOLAN et al. (2005); SEIBEL (2005).

À medida que o ovo envelhece, ocorre durante o armazenamento, alterações nas características físicas, químicas e funcionais das proteínas dos ovos. A perda de água e CO<sub>2</sub> para o ambiente provoca desequilíbrio do sistema tampão de ácido carbônico (H<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>), promovendo, assim, a elevação do pH do ovo, ocorrendo uma aproximação ao ponto isoelétrico das proteínas do albume. Essa alcalinização promove mais retenção de água, ocorrendo a fluidificação do albume (ALLEONI; ANTUNES, 2001). No entanto, para o consumidor, estas alterações de baixa qualidade só são criteriosamente observadas com a deterioração evidente do ovo (mudança de cor e cheiro).

A unidade Haugh (UH) é um dos métodos mais utilizados para verificar a qualidade interna dos ovos, sendo amplamente utilizada pela indústria desde sua introdução. A UH foi proposta em 1937 por Raymond Haugh e caracteriza-se por uma expressão logarítmica que correlaciona a altura do albúmen espesso (através da utilização de um micrômetro tripé),

corrigida para o peso do ovo. Quanto maior o valor da UH, melhor a qualidade do ovo (ALLEONI; ANTUNES, 2001). Eisen et al. (1962) modificaram a fórmula para deixá-la mais simples e de cálculo mais rápido. O cálculo é feito a partir do peso do ovo quebrado em superfície plana e da altura do albume, utilizando a fórmula:  $UH = 100 \log (H + 7,57 - 1,7 W^{0,37})$ , onde H é a altura do albume em milímetros, W é o peso do ovo em gramas, 7,57 = fator de correção para altura do albume e 1,7 = fator de correção para peso do ovo.

O uso desta técnica é universal, devido à facilidade da aplicação e à alta correlação com a aparência do ovo quando aberto numa superfície plana. Os ovos considerados de qualidade excelente (AA) devem apresentar valores de UH superiores a 72; ovos de qualidade alta (A), entre 60 e 72 UH e ovos de qualidade inferior (B), com valores de UH inferiores a 60 são considerados de qualidade ruim (EGM, 2000).

### 2.1.1.3 Características da gema

A gema do ovo é constituída principalmente de proteínas (fosfoproteínas e lipoproteínas), lipídeos, minerais, carboidratos (oligossacarídeos ligados a proteínas) e carotenoides que são pigmentos responsáveis pela coloração amarela característica da gema. Embora a clara de ovo seja a principal linha de defesa contra microorganismos invasores, uma série de componentes de gema também demonstraram atividade antimicrobiana (KOVACS-NOLAN et al., 2005).

Os constituintes da gema podem ser separados por centrifugação. Este processo permite separar a gema em três frações: a fração de baixa densidade (LDF), a fração de elevada densidade (HDF) e a fração aquosa ou hidrossolúvel (HSF) (SGARBIERI, 1996).

As lipovitelininas (proteínas da fração de densidade elevada ou HDF) são lipoproteínas cuja fração lipídica constitui-se de 35% de triacilgliceróis, 60% de fosfolipídios e 5% de colesterol. Os fosfolipídios são mais ricos em ácidos graxos insaturados do que os triacilgliceróis, sendo que a composição dos ácidos graxos destes lipídios pode variar em função do alimento ingerido pela ave. A composição dos ácidos graxos saturados, principalmente palmítico e esteárico, não varia com a alimentação. Esses lipídios da gema do ovo têm digestibilidade elevada no homem (94 a 96%), por se encontrarem em estado emulsionado. A riqueza da gema do ovo em ácidos graxos insaturados, especialmente ácido linoléico, é nutricionalmente importante (SEIBEL, 2005).

As lipoviteleninas são um exemplo da fração proteica de baixa densidade da gema e compõe-se em 74% de triglicerídios e 26% de fosfolipídios. A fração fosfolipídica contém

preferencialmente (75%) fosfatidilcolina, mas possui também fosfatidilcolamina (18%), esfingomiéline e lisofosfolípido. Essa fração proteica é composta de duas lipoproteínas de elevado peso molecular, a LDF1 e a LDF2 (SEIBEL, 2005).

As proteínas da fração hidrossolúvel (HSF) da gema foram denominadas livetina, formada por três proteínas diferentes,  $\alpha$ -,  $\beta$ - e  $\gamma$ -livetinas que estão presentes nas proporções 2:3:5, respectivamente. Do ponto de vista imunológico, foi demonstrado que as livetinas  $\alpha$ ,  $\beta$  e  $\gamma$  são homólogas, respectivamente, à soralbumina,  $\alpha$ 2-glicoproteína e  $\gamma$ -globulina. Outra proteína identificada na fração aquosa da gema foi uma proteína ligadora de riboflavina. Essa fosfoglicoproteína representa apenas 0,4% da proteína total da gema do ovo e se liga à riboflavina, formando complexo na proporção de 1:1 (SGARBIERI, 1996).

A gema de ovo possui ainda carotenóides como a luteína e zeaxantina dispersas na matriz juntamente com outros micronutrientes solúveis em gordura, tais como vitamina A, vitamina D e vitamina E. Esses carotenóides acumulam-se no pigmento macular da retina, estando associada a uma menor incidência de degeneração macular relacionada com a idade. Em estudo desenvolvido por Goodrow et al. (2006), adultos acima de 60 anos de idade, que consumiram 1 ovo/dia durante 5 semanas, aumentam significativamente as concentrações séricas de luteína e zeaxantina sem elevar as concentrações de lipídios séricos e colesterol de lipoproteína.

O colesterol é uma estrutura lipossolúvel importante presente na gema do ovo. Por muitos anos o consumo de ovos foi estigmatizado devido à grande quantidade de colesterol presente em sua gema (225mg/unidade), visto que a Organização Mundial de Saúde (OMS) preconiza um consumo médio de 200 a 300mg/dia (ABC, 2013). Seu consumo era reportado como o grande responsável pelo aumento de colesterol no sangue, causando risco de desenvolvimento de doenças cardiovasculares.

Resultados de pesquisas mais recentes evidenciam as características benéficas do ovo na dieta humana. Uma das comprovações científicas é que mesmo possuindo alto nível de colesterol, 50% da gordura presente no ovo é do tipo insaturada (gordura boa) (MAZZUCO, 2008).

Segundo Kritchevsky; Kritchevsky (2000) não foi encontrada associação entre a ingestão de 1 ovo por dia e doenças cardiovasculares em homens e mulheres não-diabéticos. Nakamura et al. (2004) examinaram a associação entre o consumo de ovos e a concentração total de colesterol com o risco de doenças coronarianas vasculares, num total de 90.735 indivíduos com idade entre 40-59 anos e constataram que o consumo de ovos quase diário não foi relacionado ao aumento da incidência dessas doenças. HU et al., (1999), em estudo

prospectivo, sugerem que o consumo de até 1 ovo por dia não apresenta risco de desenvolvimento de doença cardiovascular ou derrame em homens e mulheres saudáveis, porém o risco de desenvolvimento em pessoas diabéticas ainda precisa de pesquisas mais específicas. Naviglio (2016) observa que, ao longo de vários anos, a população que evitou o consumo de ovos para diminuir a concentração sérica de colesterol, apresentou um possível efeito negativo na saúde, considerando que alguns outros nutrientes importantes e benéficos dos ovos, como ovoalbuminas, vitaminas e minerais não foram consumidos. Ahmadian-Attari et al. (2014) também afirmam que o consumo simultâneo de colesterol e de ácidos graxos poliinsaturados contidos na gema do ovo aumentam o nível sanguíneo de HDL, o que tem um papel positivo na prevenção da doença de Alzheimer.

A pigmentação da gema é um importante fator na valorização dos ovos pelo consumidor. Consiste em técnica facilmente mensurada pelo leque colorimétrico, onde a gema é disposta em um fundo preto ou branco, e comparada com diferentes matizes de cores que vão do amarelo claro ao vermelho alaranjado, expressa em uma escala graduada de um a 15. Esse método de avaliação é subjetivo, mas, é de baixo custo, rápido, simples e proporciona dados confiáveis (JOSEPH et al., 1999).

Segundo Alleoni e Antunes (2001), com o aumento da temperatura de armazenamento e a consequente liquefação do albume, há um movimento da água do albume, para a gema, o que proporciona o alargamento da mesma, facilitando o rompimento da membrana vitelínica.

### **2.1.2 Microbiologia de ovos comerciais**

A maioria dos ovos apresenta pouca ou nenhuma contaminação no momento da postura; geralmente a sua contaminação ocorre após a oviposição sob condições desfavoráveis de higiene e/ou manejo, quando microrganismos penetram no ovo através de trincas microscópicas, rachaduras provocadas com a quebra da casca ou através dos poros da casca após a lavagem, caracterizando uma transmissão horizontal (ARAGON-ALEGRO et al., 2005). Segundo a FAO-WHO (2002), os ovos também podem se contaminar via transovariana (transmissão vertical), através da colonização de algumas bactérias nos tecidos peri-ovarianos do trato reprodutivo da galinha, onde entram em contato com a gema do ovo, antes da formação da casca, contaminando o seu conteúdo, mesmo apresentando aparência normal. Se o ovo é fertilizado, as bactérias colonizam os tecidos reprodutivos do embrião, alcançando a próxima geração; já no ovo não fertilizado, a bactéria se multiplica na gema e infecta o

alimento, mesmo que o ovo sofra os processos convencionais de desinfecção ou seja totalmente cozido.

Na indústria, a contaminação ocorre principalmente através da manipulação inadequada, com a utilização de técnicas higiênico-sanitárias deficientes. Além desses fatores, a exposição a temperaturas não-recomendáveis ou o armazenamento por tempo prolongado favorecem a proliferação de microrganismos, fato este característico devido à perda de viscosidade da albumina (BARANCELLI et al., 2012).

Apesar de todas as características benéficas que o consumo do ovo traz para a saúde humana, nos últimos anos, o seu consumo tem sido apontado como um “grande vilão microbiológico”, devido a fácil veiculação de diversas bactérias, causando as chamadas Doenças Transmitidas por Alimentos (DTAs). Segundo dados epidemiológicos do Ministério da Saúde, os principais alimentos causadores das DTAs são alimentos mistos (8,6%), seguida pela água (6,2%) e por ovos ou produtos à base de ovos (3,7%) (BRASIL, 2017). As principais bactérias envolvidas nestes surtos são as do gênero *Salmonella*, responsáveis por infecções alimentares de maior ou menor gravidade em todo o mundo, *Pseudomonas* spp. e *Escherichia coli* também comumente envolvidas na deterioração de vários alimentos, inclusive o ovo. Leveduras também podem estar presentes em pequeno número no intestino grosso da ave e contaminar os ovos no momento da postura ou no meio ambiente (ARAGON-ALEGRO et al., 2005).

#### 2.1.2.1 Microrganismos aeróbios mesófilos

As bactérias mesófilas constituem um grupo capaz de se multiplicar entre 10°C e 45°C, sendo a temperatura ideal em torno de 36°C. Esse grupo inclui a maioria dos contaminantes dos alimentos de origem animal, podendo atingir altas contagens quando o alimento é mantido à temperatura ambiente (FRAZIER; WESTHOFF, 2000).

A presença de microrganismos aeróbios mesófilos encontrados em um alimento tem sido um dos indicadores microbiológicos da qualidade dos alimentos mais comumente utilizados, indicando se a limpeza, a desinfecção e o controle da temperatura durante os processos de tratamento industrial, transporte e armazenamento foram realizados de forma adequada (SANTOS NETO, 2016)

Embora valores aceitáveis de bactérias nas cascas de ovos não tenham sido estabelecidos pelo MAPA, é desejável a menor carga bacteriana na casca, a fim de diminuir o risco de penetração do microrganismo no conteúdo.

### 2.1.2.2 Coliformes termotolerantes

As bactérias pertencentes ao grupo dos microrganismos termotolerantes correspondem aquelas que apresentam a capacidade de fermentar a lactose com produção de gás, quando incubadas a temperaturas de 44-45°C (FRAZIER; WESTHOFF, 2000).

As bactérias do gênero *E. coli* são as principais bactérias que se destacam neste grupo. Sua presença em alimentos é empregada como um indicador de contaminação fecal e avalia condições higiênico-sanitárias deficientes. A contaminação fecal direta ocorre principalmente durante o processamento de matérias-primas de origem animal e devido à falta de higiene pessoal dos manipuladores. A contaminação indireta ocorre através de águas poluídas e de esgotos (GONÇALVES et al., 2002).

A legislação brasileira reconhece a *E. coli* como uma bactéria de risco para saúde pública e estabelece padrões de qualidade e limites de tolerância para esses microrganismos nos alimentos. Essas bactérias são gram-negativas, anaeróbias facultativas e são divididas em várias cepas patogênicas de acordo com os sintomas clínicos e com os mecanismos de patogenicidade que causam (FORSYTHE, 2013). A maioria das cepas são não patogênicas e exercem um efeito benéfico sobre o organismo, suprimindo a multiplicação de bactérias prejudiciais e sintetizando uma considerável quantidade de vitaminas. Entretanto dentre as cepas de *E.coli*, existe um grupo capaz de provocar doenças em indivíduos humanos, coletivamente chamadas de *E.coli* enteropatogênicas (EEC) (GONÇALVES et al., 2002).

A *E. coli* O157:h7 é a cepa mais estudada e tem predominância na América do Norte, Japão e Reino Unido. Sua atividade foi detectada pela primeira vez em 1977, porém somente em 1993, após um grande surto de mais de 700 casos relacionados com o consumo de hambúrgueres contaminados, ela foi reconhecida como um problema de saúde pública. Os alimentos mais comumente envolvidos em surtos provocados por cepas de EEC, são carne bovina, iogurte, queijo, frutas, vegetais e saladas (SILVA et al., 2003). Os sintomas associados variam de dores abdominais com consequente diarreia aquosa não sanguinolenta. Alguns pacientes podem ter febre e vômitos. Após 1 ou 2 dias a diarreia torna-se sanguinolenta (GONÇALVES et al., 2002).

### 2.1.2.3 Bolores e leveduras

Os bolores são um dos principais responsáveis pelas alterações físicas e químicas observadas no ovo após postura (PATRICIO, 2003). Esses microrganismos penetram através



dos poros da casca e rompem os mecanismos de defesa natural dos ovos, causando mudanças na coloração da gema, surgimento de manchas e modificando a estrutura, o que torna o produto impróprio para consumo, danificando também o seu valor nutricional (FRAZIER; WESTHOFF, 2000).

Diante da maior exigência por conta dos consumidores atuais, o produtor vem demonstrando maior preocupação não só com a qualidade, mas também com a apresentação do produto. A lavagem dos ovos antes de serem embalados é feita de forma corriqueira (apesar da retirada da película natural que protege o ovo – a cutícula), porém, apesar da inquestionável melhoria quanto o aspecto do produto, este processo pode acelerar a contaminação do conteúdo do ovo, predispondo à população à riscos de saúde. O acondicionamento dos ovos em embalagens cobertas com filmes plásticos também concorre para a condensação de vapores sobre a casca, contribuindo para o desenvolvimento de colônias de fungos, principalmente quando essas embalagens permanecem acondicionadas por longos períodos e em temperaturas de acondicionamento impróprias (FRAGA et al., 2010).

A contaminação de ovos com fungos são motivos de preocupação em razão da toxicidade aguda e potencial de carcinogenicidade produzida pelas micotoxinas (FORSYTHE, 2013). Os principais bolores encontrados nos ovos são os dos gêneros *Penicillium*, *Sporotrichum*, *Mucor*, *Cladosporium*, *Aspergillus* e *Alternaria*, estes responsáveis principalmente por alterações físicas e químicas, tornando os ovos impróprios para consumo (PATRICIO, 2003).

#### 2.1.2.4 *Salmonella* spp.

As bactérias do gênero *Salmonella* são reconhecidas mundialmente como uma das maiores causadoras de impacto na saúde pública pois são os agentes bacterianos mais associados as DTAs (BARANCELLI et al., 2012), além também de serem consideradas grandes causadoras de perdas de produtividade e mortalidade na atividade avícola (PINTO; SILVA, 2009).

São bactérias da família *Enterobacteriaceae*, gram negativas, anaeróbias facultativas, não formam endósporos e possuem a forma de bastonetes curtos (1 a 2µm). A maioria das espécies são móveis e com flagelos (FORSYTHE, 2013).

Atualmente há mais de 2.500 sorotipos de *Salmonella* identificados. A maioria dos sorotipos podem atingir indiferentemente homens e animais, causando as chamadas

salmoneloses, com destaque para *S. Typhimurium* (ST) e *S. Enteritidis* (SE) (FORSYTHE, 2013).

Desde o final da década de 1970, a SE surgiu como a principal causa de salmonelose na América do Norte, Europa e América do Sul (FAO-WHO, 2002). O consumo de ovos, carne de frango ou produtos à base de ovos tem sido apontado como o principal causador da salmonelose em humanos (BARANCELLI et al., 2012).

Por não possuir um hospedeiro específico, a infecção de galinhas por SE geralmente é silenciosa, sem sinais de morbidade e mortalidade. Dessa maneira, pode permanecer no ambiente de produção avícola sem que seja possível observar qualquer indicação externa de infecção das aves ou contaminação dos ovos por elas produzidos (BARANCELLI et al., 2012).

Mais recentemente, grandes surtos também vêm sendo associados a produtos frescos, incluindo broto de alfafa, pepinos, melões, mangas, mamão papaia e tomates. Em 2015 um surto com resultado letal, foi relacionado ao consumo de pepinos mexicanos, resultando em seis mortes. Mais recentemente, em 2017, a bactéria foi encontrada no mamão papaia e levou 1 pessoa à morte na cidade de Nova York, com 47 pessoas infectadas em 12 estados e dezenas de hospitalizações (KASPER et al., 2017; FORSYTHE, 2013).

A SE é incapaz de penetrar em ovos de casca íntegra, porém alguns fatores como remoção da cutícula (através de uma lavagem inadequada), penetração de água através dos poros (por capilaridade) e a temperatura do ambiente, podem facilitar a penetração destas bactérias para o interior do ovo (PINTO; SILVA, 2009). Em estudo desenvolvido por Oliveira e Silva (2000), a persistência da *Salmonella* na casca de ovos que foram experimentalmente contaminados chegou a 21 dias, tanto para os mantidos em temperatura ambiente quanto para os mantidos sob refrigeração. As alterações físico-químicas que ocorrem principalmente em influência da temperatura, também podem facilitar a penetração e multiplicação dessas bactérias no interior do ovo (STADELMAN; COTTERILL, 1994). Em estudo desenvolvido por Pinto e Silva (2009), comprovou-se que ovos com casca defeituosa, quando submetidos a altas temperaturas, podem ter seu conteúdo invadido por SE, sendo que esta mesma bactéria não foi encontrada no conteúdo de ovos refrigerados.

Os sintomas da salmonelose variam em febre, dores abdominais, vômito e diarreia, manifestando-se num período de 12 a 36 horas após o consumo de alimentos ou bebidas contaminadas. Geralmente a recuperação do paciente ocorre naturalmente, sem que seja necessário a utilização de antibióticos, porém em crianças, recém-nascidos e indivíduos imunocomprometidos, esta bactéria pode provocar danos mais graves, como bacteremia, lesões em órgãos e meningites (FORSYTHE, 2013).

### 2.1.3 Avicultura de postura no Estado do Amazonas

O Estado do Amazonas destaca-se atualmente como o maior produtor de ovos da região Norte com uma produção de mais de 112,608 milhões de ovos apenas no segundo semestre de 2017, equivalente a 1,24% da produção total de ovos produzidos no Brasil. A cidade de Manaus, destaca-se no cenário nacional por ser a 12<sup>o</sup> cidade em maior produção de ovos no país (IBGE, 2017).

A maior parte da produção se concentra na cidade de Manaus e municípios da região metropolitana, com destaque para os municípios de Rio Preto da Eva, Itacoatiara e Manacapuru. Essa produção, porém, não consegue atender à necessidade local dos consumidores, sendo necessário a abertura do comércio para produtores de outros estados (CRUZ et al., 2016).

A implantação e implementação do segmento de postura no Estado do Amazonas pode ser amplamente associada ainda à imigração japonesa na região, que inicialmente visava apenas servir de auxílio aos setores de horticultura e fruticultura através da produção de esterco orgânico o que acabou por fortalecer o setor hortifrutigranjeiro do Estado (CRUZ, 2011).

Uma das maiores dificuldades na manutenção do setor no estado refere-se à alimentação dos animais que corresponde a, aproximadamente, 70% do custo total de produção. Esta situação faz com que o estado apresente um quadro extremamente desfavorável, uma vez que 100% de todas as matérias-primas utilizadas na fabricação de rações balanceadas são importadas, principalmente do Estado do Mato Grosso. Isto dificulta o crescimento do setor, encarece o produto e dificulta a negociação e a competição com os ovos vindo de outros Estados (CRUZ et al., 2016).

Vários estudos desenvolvidos no Estado têm tentado substituir as matérias primas bases da alimentação avícola por produtos ou resíduos de produtos regionais, a fim de barretar os custos com a alimentação, não causando transtornos fisiológicos às aves e a produção, principalmente de ovos.

A avicultura de postura comercial no Amazonas caracteriza-se por uma produtividade de 280 a 310 ovos/ave. A predominância de produção é de ovos brancos e a produção de ovos de casca avermelhada é bem reduzida, porém, nos últimos anos, estes ovos vêm ganhando espaço nas prateleiras dos supermercados da cidade, ganhando a preferência dos consumidores que são atraídos pela coloração avermelhada da casca e assimilam,

erroneamente, que estes ovos são oriundos de galinhas caipiras e, portanto, mais saudáveis para o consumo (CRUZ, 2011).

Para o Estado do Amazonas a avicultura de postura merece atenção por possuir um volume de produção expressivo perante os outros Estados da região e por ser exercida por produtores independentes que investem cifras representativas neste visando a tecnificação e a inserção no contexto amazônico de forma sustentável (ANDERSSON et al., 2005).

### 3 MATERIAIS E MÉTODOS

As análises microbiológicas e físico-químicas foram realizadas no Laboratório de Princípios Bioativos de Origem Microbiana da Faculdade de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Amazonas – UFAM. As amostras consistiram de ovos comerciais, do tipo branco e tamanho grande, para efeito de padronização e análise comparativa dos resultados. Esses ovos foram adquiridos em supermercados da cidade, comprados sempre no período matutino, onde foram aferidas as temperaturas do ovo e do ambiente e a umidade do ambiente no ato da aquisição. As análises foram feitas no período de novembro de 2016 a outubro de 2017.

#### 3.1 DELINEAMENTO DA PESQUISA

A pesquisa teve caráter exploratório, com metodologias que caracterizam um estudo de caso com a análise de 48 lotes. Os lotes foram amostrados considerando a região produtora dos ovos, de uma marca com produção no Amazonas e uma de fora do Estado, produzida no Mato Grosso. Também foi considerado para realização das coletas o período do ano em foram produzidos os ovos, período de chuva, entre novembro de 2016 e maio de 2017, e seca, entre junho de 2017 e outubro de 2017. Para melhor poder amostral, as coletas foram realizadas nas quatro regiões da cidade, Norte, Centro-oeste, Sul e Leste, respeitando a proporcionalidade entre as regiões. De cada lote, foram adquiridas cartelas com 30 ovos, tendo sido 12 ovos analisados individualmente em seus parâmetros físico-químicos e seis ovos que foram destinados para as análises microbiológicas, considerada como única amostra com formação de um *pool*. Somente ovos que não apresentavam trincas foram utilizados para as análises microbiológicas. Ao todo foram analisadas 576 amostras para a avaliação físico-química e 96 amostras para a avaliação microbiológica.

#### 3.2 AVALIAÇÃO DA QUALIDADE FÍSICO-QUÍMICA DO OVO

A qualidade físico-química do ovo foi avaliada individualmente pelos seguintes parâmetros:

- Peso do ovo – pesados em balança de precisão (g);
- Presença de sujidades – os ovos foram inspecionados visualmente para verificar a presença de marcas de gaiola, penas, fezes e sangue;

- Presença de trincas na casca – os ovos foram transiluminados com auxílio de ovoscópio para evidenciação de trincas na casca;
- Percentagem de casca - obtida a partir da relação entre o peso do ovo e peso da casca, lavada e seca em temperatura ambiente por dois dias;
- Espessura da casca – foi realizada a média das medições da espessura ( $\mu\text{m}$ ) na região do ápice, lateral e fundo da casca seca, com auxílio de micrômetro;
- Altura do albume - a altura do albume foi medida com auxílio de um relógio comparador, com distanciamento de 1cm da gema no sentido mais longo do albume;
- Unidade Haugh - de posse dos dados do peso do ovo (g) e altura do albume (mm), foi calculada a unidade Haugh. Sua fórmula simplificada é representada por  $UH = 100 \times \text{Log} (\text{Altura} - 1,7 \times \text{Peso}^{0,37} + 7,57)$  (EISEN et al., 1962);
- Índice de gema – relação obtida entre a altura (mm) e diâmetro (mm) da gema;
- pH do albume e da gema - utilização de peagâmetro específico com a introdução direta do eletrodo no albume e gema, separadamente.
- Coloração de gema – utilizando o leque de cor DSM Yolk Color Fan®.

### 3.3 AVALIAÇÃO DA QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DOS OVOS

Todas as análises microbiológicas, à exceção do diagnóstico molecular de *Salmonella* spp., foram realizadas como descrito na Instrução Normativa N°62 de 2003 do MAPA (BRASIL, 2003), com adaptações no preparo das amostras.

#### 3.3.1 Preparo das amostras

Inicialmente os seis ovos selecionados para a formação da amostra *pool* de ovos foram colocados em um saco plástico estéril e pesados. Para a lavagem dos ovos, foi adicionado ao saco 60mL de solução salina peptonada 0,1% tamponada como descrito na metodologia de Gentry e Quales (1972), tomando-se o cuidado de atingir toda a superfície do ovo. A rinsagem da amostra foi feita com agitação manual durante 10 minutos. A solução oriunda da lavagem foi colocada em um recipiente estéril para posterior análise, esta sendo então considerada a suspensão  $10^0$ . Em seguida foram realizadas diluições subsequentes até  $10^{-5}$  em água peptona 0,1%.

Após drenagem do rinsado, os ovos foram imersos em 150mL de álcool etílico a 70% por aproximadamente cinco minutos. Após a secagem em papel absorvente, os ovos foram

abertos assepticamente, seu conteúdo depositado em um recipiente estéril, e homogeneizado por 60 segundos para compor a amostra analítica do conteúdo a ser analisado. Foram adicionados 25mL do homogeneizado do conteúdo dos ovos à 225mL de água peptonada 1% tamponada, esta sendo considerada a diluição  $10^{-1}$ . Em seguida foram realizadas diluições subsequentes até  $10^{-2}$  em água peptona 0,1%.

### **3.3.2. Contagem total de mesófilos**

Foi inoculado 1mL das diluições selecionadas ( $10^0$ ,  $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$ ,  $10^{-4}$  e  $10^{-5}$  do lavado das cascas e  $10^{-1}$  e  $10^{-2}$  para o *pool* de ovos) em placas de Petri estéreis. Em seguida, foi adicionado às placas inoculadas aproximadamente de 18mL do meio Plate Count Agar (PCA), previamente fundido, e resfriado entre 44 e 46°C. Com as placas em superfície plana, realizaram-se movimentos suaves na forma de oito para homogeneizar o inóculo ao ágar. Após a completa solidificação do ágar, as placas foram invertidas e incubadas a 36°C por 48 horas. Foram consideradas para contagem, somente as placas que apresentaram de 25 a 250 colônias, multiplicada a sua média aritmética pelo respectivo fator de diluição e expressado o resultado em Unidades Formadoras de Colônias/1,0g de amostra (UFC/g).

### **3.3.3. Contagem de bolores e leveduras**

Foi inoculado 0,1mL das diluições selecionadas ( $10^0$ ,  $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$  e  $10^{-3}$  para o lavado das cascas e  $10^{-1}$  e  $10^{-2}$  para o *pool* de ovos) em placas de Petri estéreis contendo meio Ágar Batata Glicose 2% (BDA) acidificado com adição de 1,5mL de solução de ácido tartárico 10% para cada 100mL de meio. A alíquota foi espalhada cuidadosamente sobre o meio com auxílio de uma alça drigalski previamente esterilizada, até a sua completa absorção. As placas foram incubadas a temperatura ambiente (aproximadamente 25°C) por um período de 5 a 7 dias. Foram consideradas para contagem somente as placas que apresentaram de 15 a 150 colônias, multiplicada a sua média aritmética pelo respectivo fator de diluição e expressado o resultado em Unidades Formadoras de Colônias/1,0g de amostra (UFC/g).

### **3.3.4 Determinação do número mais provável de coliformes termotolerantes**

A partir das diluições do lavado das cascas e do *pool* de ovos, foi realizada a determinação do número mais provável (NMP) de coliformes termotolerantes (CTT). Uma

alíquota de 1mL das diluições seriadas foram inoculadas em uma série de 3 tubos contendo o Caldo Lauril Sulfato de Sódio em concentração simples com a presença de tubos de Duhan invertidos. Para as amostras do pool de ovos da diluição  $10^{-1}$ , foram inoculados 10mL em uma série de 3 tubos contendo Caldo Lauril Sulfato de Sódio em concentração dupla com a presença de tubos de Duhan invertidos, esta sendo considerada a diluição  $10^0$ . Esses tubos foram incubados a  $36^{\circ}\text{C}$  por 24 a 48 horas. Os tubos que apresentaram formação de gás nos tubos de Durhan (mínimo 1/10 do volume total) ou efervescência quando agitado gentilmente foram encaminhados para a prova seguinte.

Com o auxílio de uma alça de platina estéril, uma alíquota dos tubos positivos na prova presuntiva foi inoculada em Caldo EC. Esses tubos foram incubados em  $45^{\circ}\text{C}$  por 24 a 48 horas em banho-maria com agitação ou circulação de água constante. A presença de coliformes termotolerantes foi confirmada através da formação de gás (mínimo 1/10 do volume total do tubo de Duhan) ou através da presença de efervescência quando agitado gentilmente. Os resultados foram expressos a partir da combinação de números correspondentes aos tubos que apresentaram resultado positivo nos testes confirmativos e sua posterior avaliação na tabela do Número Mais Provável (NMP). Os valores obtidos foram expressos em NMP/g.

### 3.3.5 Pesquisa de *Salmonella* spp

Após a retirada das alíquotas para as demais análises microbiológicas, o restante do lavado e da solução  $10^{-1}$  do *pool* de ovos, foram utilizados para a etapa de pré-enriquecimento das amostras. Este pré-enriquecimento foi incubado a  $36^{\circ}\text{C}$  por 16 a 20 horas. Após este procedimento, os caldos oriundos do pré-enriquecimento foram inoculados em caldos seletivos: 0,1mL em tubos contendo 10mL de Rappaport Vassiliadis (RV) e 1mL em tubos contendo 10mL do caldo Seletivo Cistina (SC), sendo posteriormente incubados em banho maria com agitação constante à uma temperatura de  $41^{\circ}\text{C}$  por 24 horas. Em placas contendo Ágar Verde Brillante (VB) e Hektoen Enteric Ágar (HEA), alíquotas obtidas a partir dos caldos de enriquecimento seletivo, foram inoculadas estriando de forma a se obter colônias isoladas. Foram selecionadas 3 a 10 colônias suspeitas por amostra e posteriormente encaminhadas para as provas bioquímicas nos ágar Triple Sugar Iron Ágar (TSI), Lisine Iron Ágar (LIA) e Ágar Sulfeto Indol Motilidade (SIM), estas incubadas a  $36^{\circ}\text{C}$  por 13 a 24 horas, a fim de verificar a sua pureza.



### 3.3.5.1 Diagnóstico molecular de *Salmonella* spp. em ovos

A técnica de reação em cadeia da polimerase (PCR) foi utilizada para realizar o diagnóstico molecular e para confirmar a presença de cepas isoladas pela metodologia de isolamento de *Salmonella* spp. A extração do DNA foi realizada utilizando-se o método de fenol-clorofórmio (SAMBROOK et al., 1989). O par de oligonucleotídeos iniciadores utilizados para amplificação do DNA foi sintetizado com base nas sequências 5' GTG AAA TTA TCG CCA CGT TCG GCG CAA 3' (primer 1) e 5' TCA TCG CAC CGT CAA AGG AAC C 3' (primer 2), proposta por Rahn et al. (1992) para amplificar um fragmento de 284 pb do gene *invA* de *Salmonella* spp.

A PCR foi realizada em tubos cônicos de polipropileno contendo 5µL da amostra, no volume total de 25µL, com concentrações finais de 1,5mM de MgCl<sub>2</sub>; 100uM de cada desoxinucleotídeos (dATP, dCTP, dGTP e dTTP); 0,2µmol de cada oligonucleotídeo iniciador; e 1 U de Taq DNA Polimerase.

A amplificação foi realizada em termociclador utilizando-se uma etapa de desnaturação inicial de 94°C, por 5 minutos, seguida de trinta ciclos consecutivos de 94°C, por 1 minuto para desnaturação, 54°C, por 30 segundos, para o anelamento, e 72°C, por 1 minuto na extensão, com uma etapa de extensão final a 72°C por 7 minutos.

A análise dos fragmentos amplificados foi executada por eletroforese durante 40 a 45 minutos a 90V e 43mA, em gel de agarose a 2% preparado em TBE (Tris base, ácido bórico, EDTA), corado com corante não mutagênico. O marcador de peso molecular utilizado será de 100pb. Nas amostras positivas, foram observados fragmentos de DNA na altura de 284pb, após a migração em eletroforese, realizada em aparelho transiluminador.

## 3.4 ANÁLISE DOS DADOS

Os resultados para Contagem de mesófilos e Contagem de coliformes termotolerantes e pesquisa de pesquisa de *Salmonella* spp. e do diagnóstico molecular para *Salmonella* spp. foram analisados pelo teste de Kruskal-Wallis. Para a análise das médias dos parâmetros de qualidade foi utilizado o teste de Mann-Whitney. As análises estatísticas foram realizadas com a utilização do software InStat 3.1 (Graphpad), todos a um nível de significância de 5%.

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os ovos produzidos no Amazonas (OA) apresentaram uma média de 8,71 dias da classificação até a aquisição nos supermercados, já os ovos produzidos no Mato Grosso (OM) apresentaram uma média de 27,54 dias. A alta média de dias observada nos OM dá-se à dificuldade de logística enfrentada para a sua chegada no Estado. Como não há comunicação direta por estrada, os ovos fazem ainda um percurso de balsa para chegarem ao Amazonas. Este percurso total demora cerca de 15 dias, dependendo das condições de estrada ou variação nos períodos de seca/cheia dos rios. SANTOS et al. (2015) recomendaram, baseados em literatura pré-existente, que ovos comercializados nas regiões norte e nordeste sejam consumidos em até 28 dias da data da postura, até que trabalhos direcionados especificamente para estas regiões fossem realizados.

A temperatura e umidade ambiente registrada nos supermercados durante o período de aquisição dos ovos teve uma média de 26,24°C e 55%, respectivamente. A maior temperatura registrada foi de 30,1°C e a menor temperatura foi de 23,3°C. Nos dados referentes a umidade ambiente, o maior valor observado foi de 75% e o menor valor foi de 44%. Os efeitos da temperatura ambiente e umidade relativa do ar são importantes fatores que afetam a qualidade dos ovos durante o armazenamento. Quanto maior for a temperatura, maior será velocidade da perda de qualidade interna, em um determinado tempo de estocagem, com a perda de CO<sub>2</sub> e umidade (SANTOS et al., 2009).

Os OA foram adquiridos com uma média de preço de R\$ 0,52/unidade e os OM a 0,48/unidade, mesmo vindo de outro Estado. O menor preço nos OM se dá principalmente ao grande número de ovos produzidos pela marca e, como possuem selo de Inspeção Federal, podem ser vendidos em larga escala para outros Estados. Vale ressaltar ainda que os custos com alimentação (importação de matérias-primas para a ração) para os produtores do Amazonas é o principal fator que dificulta a concorrência de preço com os ovos vindos de outros Estados, visto que não há a produção destas matérias primas no Amazonas.

Quando comparadas as origens dos ovos analisados, houve diferença ( $p < 0,05$ ) entre as características de peso dos ovos, porcentagem de ovos com peso inferior, peso, porcentagem e espessura de casca e presença de sujidades (Tabela 1).

Tabela 1. Características de qualidade externa dos ovos, comparando a origem e a estação de coleta dos ovos.

VARIÁVEIS	ORIGEM DO OVO					
	Mato Grosso			Amazonas		
	Chuva (n=144)	Seca (n=144)	Média (n=288)	Chuva (n=144)	Seca (n=144)	Média (n=288)
Peso do ovo (g)	55,66B	59,17A	57,42b	58,60A	58,40A	58,51a
Ovos com peso inferior (%)	34,72A	22,22AB	28,47a	18,05B	13,88B	15,97b
Peso de casca (g)	5,12C	5,55B	5,34b	6,02A	5,90A	5,96a
Porcentagem de casca (%)	9,22B	9,40B	9,32b	10,28A	10,11A	10,20a
Espessura da casca (µm)	36,16C	37,41B	36,79b	39,70A	39,20A	39,45a
Ovos trincados (%)	46,52B	75,00A	60,76a	54,86B	79,16A	67,01a
Ovos com sujidades (%)	47,22B	42,36B	44,79b	82,63A	82,63A	82,63a

Médias seguidas por letras maiúsculas iguais na mesma linha, não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Kruskal-Wallis ( $p < 0,05$ ); Médias seguidas por letras minúsculas iguais na mesma linha, não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Mann-Whitney ( $p < 0,05$ ).

A média do peso dos OM foi inferior à média do peso dos OA, onde 28,47% do total de ovos apresentaram peso inferior a 55g/unidade e 16,66% dos lotes apresentaram peso inferior a 660g/dúzia, conforme legislação (BRASIL, 1965). Para os OA, apenas 15,97% do total de ovos apresentaram peso inferior e nenhum dos lotes apresentou peso inferior. Nos OA, observou-se que 32,29% dos ovos apresentaram peso superior ao especificado pela tipificação de ovos grandes, enquanto nenhum dos OM obteve peso maior. Como os OA não são vendidos como ovos do tamanho extra, os ovos acima de 60g/unidade são vendidos como grandes. Este fato favorece o consumidor local que ganha uma porcentagem de ovos com peso superior ao especificado na embalagem. Em contrapartida, os OM, que apresentam uma padronização mais rigorosa na tipificação dos ovos, conseguem manter um preço mais baixo dos seus produtos, mesmo vindo de outro Estado. A comercialização de ovos tipo extra poderia garantir aos produtores do Amazonas uma tipificação adequada, gerando lucro adicionais, diminuindo o preço final e tornando-se mais atrativo economicamente para o consumidor e competitivos como empresas.

Uma outra hipótese para que a menor média de peso de ovos tenha sido identificada nos OM está relacionada ao longo período de armazenamento destes ovos, já que, apenas para chegar ao Estado, eles permanecem aproximadamente 15 dias na estrada, além do tempo que permanecem estocados nos supermercados. Essa hipótese pode ser corroborada pelos os dados obtidos por SANTOS et al. (2009) e BRANDÃO et al. (2014), que observaram que os ovos comerciais estocados durante 21 dias, independente da temperatura, apresentaram significativa perda de peso, quando comparados aos ovos com 7 e 14 dias de armazenamento. Segundo Staldeman e Cotterill (1994), essa perda de peso durante a estocagem ocorre devido à dissociação do complexo ovomucina-lisoizima, provocando a redução das propriedades gelificantes e espumantes da viscosidade do albúmen, tornando-os liquefeitos e facilitando a evaporação da água através dos poros da casca.

Quando comparadas as médias de porcentagem de casca e espessura de casca entre as diferentes origens, os OM apresentaram menores valores para ambas as variáveis ( $p < 0,05$ ) (Tabela 1). É importante destacar que essas características são influenciadas diretamente pelas características de linhagem da ave, alimentação e manejo, sendo assim, difícil a sua avaliação, visto que os ovos analisados na pesquisa eram adquiridos nos supermercados (SOUZA; LIMA, 2007).

Essas altas temperaturas observadas influenciam diretamente na formação da casca dos ovos. Galinhas submetidas à altas temperaturas aumentam a frequência respiratória, diminuindo o  $\text{CO}_2$  sanguíneo e conseqüentemente o ácido carbônico, levando a alcalose respiratória. Este processo interfere no equilíbrio eletrolítico, devido a menor disponibilidade do cálcio e íons carbonato na corrente sanguínea, podendo resultar em de baixa porcentagem e espessura de casca (STALDEMAN; COTTERILL, 1994).

Não houve diferença ( $p < 0,05$ ) para a porcentagem de ovos trincados entre OA e OM. A grande porcentagem de ovos trincados nas amostras avaliadas pode estar relacionada ao manejo inadequado destes nos supermercados. É necessário investir em mão de obra específica e qualificada, enfatizado a necessidade de manter as cascas dos ovos íntegras, garantido um produto de melhor qualidade e diminuindo os riscos à saúde do consumidor, visto que a presença de trincas em ovos favorece a penetração de microrganismos patógenos.

Em relação às características de presença de sujidades nas amostras (marca de gaiola, fezes, penas, restos de ovos quebrados e fungos nas cascas), os OA apresentaram maiores médias ( $p < 0,05$ ) quando comparadas aos OM. É importante ressaltar, que é cultura entre os produtores de ovos comerciais do Amazonas a não lavagem dos ovos na granja. Esta prática é rotina entre os produtores do Estado para evitar a formação de fungos nas cascas, visto que o

clima quente e úmido da cidade proporciona o crescimento destes microrganismos. Além disso, a não lavagem dos ovos também evita a remoção da película de proteção natural que recobre o ovo, evitando assim a penetração de microrganismos patogênicos. No entanto, a presença de sujidades nas cascas dos ovos, prejudicam a imagem do produto, diminuindo a sua preferência pelo consumidor.

Foi identificado valor médio para pH do albume maior nos OA que dos OM. Os OM são refrigerados durante o transporte desde a granja até os pontos de comercialização da cidade, o que não ocorre com os OA. Portanto, mesmo os OA permanecendo menores períodos de tempo estocados, a influência da temperatura exerce maior efeito sobre o pH do albume que o tempo. Estes dados coincidem com os achados de ALLEONI & ANTUNES (2001), cujos resultados mostraram que na temperatura ambiente tanto nos ovos armazenados por 7 dias como nos armazenados a 14 dias apresentaram o pH do albume maior do que à temperatura de refrigeração. O aumento do pH do albume é causado pela perda de CO<sub>2</sub> através dos poros da casca. Assim, no ambiente refrigerado ocorre menor perda de CO<sub>2</sub> e conseqüente estabilidade do pH (STADELMAN; COTTERILL, 1995). Maiores médias de pH de albume e de gema foram identificadas no período da seca, para ambas as marcas, onde foram registradas as maiores médias de temperatura nos supermercados, atingindo 27,17°C e 26,87°C, para os OA e OM respectivamente (Tabela 2).

Tabela 2. Características internas dos ovos comparando a origem e a estação de coleta dos ovos.

VARIÁVEIS	ORIGEM DO OVO					
	Mato Grosso			Amazonas		
	Chuva (n=144)	Seca (n=144)	Média (n=288)	Chuva (n=144)	Seca (n=144)	Média (n=288)
pH do albume	9,23C	9,53A	9,38b	9,30B	9,56A	9,44a
pH da gema	6,36C	6,73A	6,55a	6,38C	6,58B	6,48a
UH	55,84A	46,84BC	51,34a	51,48AB	45,94C	48,72a
Índice de gema	0,32A	0,32A	0,32a	0,32A	0,29B	0,31b
Cor da gema	6,23B	5,94B	6,09b	9,13A	8,9A	9,02a

Médias seguidas por letras maiúsculas iguais na mesma linha, não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Kruskal-Wallis ( $p < 0,05$ ); Médias seguidas por letras minúsculas iguais na mesma linha, não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Mann-Whitney ( $p < 0,05$ ).

Os OM apresentaram maiores valores de UH mesmo sendo estes os ovos que permaneceram um maior período de tempo estocado. Este fato enfatiza a necessidade de maiores cuidados no transporte dos ovos produzidos no Amazonas, principalmente no que se refere no controle da temperatura destes da granja até os supermercados. Estes dados estão de acordo com CARVALHO et al. (2003) que mostraram que há uma diminuição nos valores de UH armazenados em temperatura ambiente em relação aos ovos refrigerados. Quando comparadas as estações de coletas das amostras, tanto OA como OM apresentaram maiores valores de UH no período da chuva, onde foram observadas as menores médias de temperatura nos supermercados. Este fato também corrobora os achados de CARVALHO et al. (2007) e SANTOS et al. (2009) que demonstraram que em temperaturas mais elevadas há um aceleração na perda da UH de ovos.

Quando comparados os índices de gema os OM apresentaram maiores valores ( $p < 0,05$ ). Esse achado correlaciona-se com a descrição feita por CARVALHO et al. (2007) que verificaram maior índice de gema em ovos mais antigos. Este aumento da gema ocorre em consequência à osmose, pois a gema possui maior osmolaridade que o albume e a água atravessa a membrana vitelínica por e acumula-se na gema. A fluidificação do albume acelera este processo por aumentar a quantidade de água não ligada à proteína. Esse excesso de água determina o aumento de seu volume, levando ao enfraquecimento da membrana vitelínica (STALDEMAN; COTTERILL, 1994).

Os OA apresentaram maior coloração da gema ( $p < 0,05$ ). Sabe-se que a coloração da gema pode variar de amarelo levemente claro a laranja escuro, dependendo da alimentação (presença de carotenoides na dieta), por isso em algumas regiões do país corantes são adicionados à ração a fim de produzir ovos com gemas mais escuras, que são geralmente mais atrativas ao consumidor.

Quando comparadas as origens dos ovos avaliados, observou-se diferença ( $p < 0,05$ ) para a quantidade de bolores e leveduras UFC/g e mesófilos UFC/g encontradas nas amostras de lavado de casca dos ovos (Tabela 3). A maior quantidade de fungos nos OA pode ter relação com a alta frequência de sujidades encontradas nas cascas (82,63%), e por não passarem pelo processo de lavagem na granja. Este fato, associado às altas temperaturas e alta umidade de ar encontrados nos estados da região norte, favorecem o crescimento e a proliferação destes microrganismos. Mesmo assim, a contaminação observada foi baixa, sendo pequenos os riscos à saúde dos consumidores. No conteúdo, não foi identificada presença destes microrganismos, reforçando a importância das barreiras naturais do ovo para

impedir a contaminação do mesmo por microrganismos, uma vez que foram utilizados nestas análises somente ovos sem trincas ou rachaduras.

Tabela 3. Avaliação microbiológica dos ovos analisados, comparando a origem e a estação em que os ovos foram adquiridos.

ANÁLISE MICROBIOLÓGICA		ORIGEM					
		Amazonas			Mato Grosso		
		Chuva n=12	Seca n=12	Média n=24	Chuva n=12	Seca n=12	Média n=24
Casca	<b>Bolores e Leveduras (<math>\log_{10}</math> UFC/g)</b>	1,16A	1,57A	1,41a	0,16A	-A	0,04b
	<b>Mesófilos (<math>\log_{10}</math> UFC/g)</b>	0,64A	0,70A	0,67b	0,61A	0,77A	0,69a
	<b>Coliformes Termotolerantes (<math>\log_{10}</math> NMP/g)</b>	-A	1,58A	1,28a	-A	0,55A	0,20a
	<b><i>Salmonella</i> spp. (%)</b>	8,33	-	4,17	8,33	-	4,17
Conteúdo	<b>Bolores e Leveduras (<math>\log_{10}</math> UFC/g)</b>	-	-	-	-	-	-
	<b>Mesófilos (<math>\log_{10}</math> UFC/g)</b>	0,42A	-A	0,12a	0,28A	0,14A	0,21a
	<b>Coliformes Termotolerantes (<math>\log_{10}</math> NMP/g)</b>	-	-	-	-	-	-
	<b><i>Salmonella</i> spp. (%)</b>	-	8,33	4,17	-	-	-

Médias seguidas por letras maiúsculas iguais na mesma linha, não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Kruskal-Wallis ( $p < 0,05$ ); Médias seguidas por letras minúsculas iguais na mesma linha, não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Mann-Whitney ( $p < 0,05$ ). \*Valores indicados com “-” significam ausência do microrganismo.

Os OM apresentaram maior contaminação por microrganismos mesófilos aeróbios estritos e facultativos viáveis quando comparados aos OA, apesar de ter sido pequena a diferença. A ICMSMF (1978) recomenda valores até  $10^6$  UFC/g como aceitáveis para ovos pasteurizados, sendo assim, a contaminação observada é baixa. Médias menores que as encontradas na casca foram detectadas no conteúdo dos ovos. Estes valores, mesmo baixos, são indicativos de que as bactérias presentes nas cascas podem penetrar nos ovos e contaminar o seu conteúdo.

Em relação ao número de coliformes termotolerantes, não houve diferença significativa quando comparados os ovos em relação à origem e a estação de coleta. A quantidade encontrada nas cascas foi baixa e ausentes no conteúdo dos ovos. Baixos índices de coliformes termotolerantes são um bom indicador das condições de manejo na produção de ovos, indicando boas condições de manejo durante a produção e adequadas técnicas de higienização dos ovos (SANTOS NETO, 2016).

Tanto os ovos produzidos no Amazonas como os produzidos no Mato Grosso apresentaram um lote positivo para *Salmonella* spp. cada (8,33%), detectadas pela PCR. No entanto, pela técnica de isolamento bacteriológico nenhuma amostra foi positiva. Apesar dos métodos oficiais para pesquisa de *Salmonella* spp. em ovos estabelecerem o diagnóstico bacteriológico com isolamento, a técnica de PCR é uma técnica de grande aceitação, sendo empregada como ferramenta de diagnóstico em laboratórios clínicos, além ser considerada uma técnica bastante sensível (OYARZÁBAL, 1996). De acordo com a RDC 12, de 2 de janeiro 2001, os ovos *in natura* em casca comercializados para consumidores devem ter a ausência da bactéria, resguardando a saúde do consumidor (BRASIL, 2001). No Brasil galinhas de postura comercial devem ser vacinadas, com vacinas vivas, para *Salmonella* Enteritidis (BRASIL, 2017). Esta medida diminui a eliminação de *Salmonella* spp. pelos ovos, fornecendo ao consumidor um produto com menor prevalência do patógeno.

A identificação desta bactéria nas amostras avaliadas denota a necessidade de melhores medidas de controle sanitário, evitando risco de saúde à população consumidora, garantido um produto de melhor qualidade e que a população possa usufruir de todas as qualidades nutricionais benéficas que o ovo proporciona.



## 5 CONCLUSÃO

Os comercializados na cidade de Manaus apresentaram problemas na qualidade físico-química, especialmente com relação a porcentagem de trincas, presença de sujidades, pH de albume e UH.

Os ovos apresentaram baixa contaminação microbiológica, no entanto, em ambas as marcas foi observada a presença de *Salmonella* spp., sendo necessário maiores cuidados higiênicos e sanitários na produção de ovos.

## 6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AHMADIAN-ATTARI, M. M.; AHMADIANI, A.; KAMALINEJAD, M.; DARGAHI, L.; SHIRZAD, M.; MOSADDEGH, M. Treatment of Alzheimer's Disease in Iranian Traditional Medicine. **Iranian Red Crescent Medical Journal**, v. 17, 2015.

ALLEONI, A. C. C.; ANTUNES, A. J. Unidade Haugh como medida da qualidade de ovos de galinha armazenados sob refrigeração. **Scientia Agricola**, v.58, n.4, p.681-685, 2001.

ANDERSSON, R.; ALGERS, B.; BERGSTRON, L.; LUNDSTRON, K.; NYBRANT, T.; SJODEN, P. O. Food 21: A research program looking for measures and tools to increase food chain sustainability. **Ambio**, v. 34, p. 275-282, 2005.

ARAGON-ALEGRO, L. C.; SOUZA, K. L. de O.; COSTA SOBRINHO, P. de S.; LANDGRAF, M.; DESTRO, M. T. Avaliação da qualidade microbiológica de ovo integral pasteurizado produzido com e sem a etapa de lavagem no processamento. **Ciência e Tecnologia Alimentar**, v. 25, p. 618-622, 2005.

ARAÚJO, W. A. G.; ALBINO, L. F. T. Incubação comercial. **Transworld Research Network**. p.105–138, 2011. Disponível em: <[http://issuu.com/ResearchSignpost/docs/araujo\\_e-book/23](http://issuu.com/ResearchSignpost/docs/araujo_e-book/23)>. Acesso em: 18 abr. 2017.

ARQUIVOS BRASILEIROS DE CARDIOLOGIA. I Diretriz sobre o consumo de gorduras e saúde cardiovascular. **Sociedade Brasileira de Cardiologia**, v. 100, n. 1, suplemento 3, 2013.

BAIÃO, N. C.; LÚCIO, C. G. Nutrição de matrizes pesadas. In: MACARI, M.; MENDES, A. A. **Manejo de matrizes pesadas**. Campinas: FACTA, 2005. Cap.10, p.198-216.

BARANCELLI, G. V.; MARTIN, J. G. P.; PORTO, E. *Salmonella* em ovos: relação entre produção e consumo seguro. **Segurança Alimentar e Nutricional**, v.19, p. 73-82, 2012.

BARBOSA, V. M.; BAIÃO, N. C.; MENDES, P. M. M.; ROCHA, J. S. R.; POMPEU, M. A.; LARA, L. J. C.; MARTINS, N. R. S.; NELSON, D. L.; MIRANDA, D. J. A.; CUNHA, C. E.; CARDOSO, D. M.; CARDEAL, P. C. Avaliação da qualidade da casca dos ovos provenientes de matrizes pesadas com diferentes idades. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.64, n.4, p.1036-1044, 2012. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/abmvz/v64n4/v64n4a33.pdf>>. Acesso em: 03 set. 2017.

BARBOSA, N. A. A.; SAKOMURA, N. K.; MENDONÇA, M. O.; FREITAS, E. R.; FERNANDES, J. B. K. Qualidade de ovos comerciais provenientes de poedeiras comerciais armazenados sob diferentes tempos e condições de ambientes. **ARS Veterinaria**, v.24, n.2, 127-133, 2008.

BENITES, C. I.; FURTADO, P. B. S.; SEIBEL, N. F. Características e aspectos nutricionais do ovo. In: SOUZ-SOARES, L. A.; SIEWERDT, F. **Aves e ovos**. Pelotas: UFPEL, p. 57-64, 2005.

BERTECHINI, A. G. Mitos e verdades sobre o ovo e consumo. In: Conferência APINCO 2001 de Ciência e Tecnologia Avícolas, 2003, Santos. **Anais....** Santos: FACTA, v. 1, p. 19-26, 2003.

BRANDÃO, M. D.; SANTOS, F. F.; MACHADO, L. S.; VERINAUD, M. S.; OLIVEIRA, J. M.; SOARES, N. M.; NASCIMENTO, E. R.; PEREIRA, V. L. The effect of eggshell apex abnormalities on table egg quality during storage in 2 seasons of the year. **Poultry Science**, v.93, n.10, p. 57-62, 2014.

BRASIL, AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (ANVISA). Aprova o regulamento técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos. RDC 12, seção 1. **Diário Oficial da União**, 02 jan. 2001. Brasília, DF: ANVISA, 2001.

BRASIL, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. IN n.62, de 26 de agosto de 2003. Oficializar os Métodos analíticos oficiais para análises microbiológicas para controle de produtos de origem animal e água. **Diário Oficial da União**, Brasília, p.17, 18 set. 2003. Seção I. Brasília. DF: MAPA, 2003. 123 p.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Decreto nº 30.691, de 29 de março de 1952, A prova o novo Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal. **Diário Oficial da União**, Brasília, 1952. Atualizado em 1997. Disponível em: [www.agricultura.gov.br/arq.../RegulamentoInspecaoIndustrial.pdf](http://www.agricultura.gov.br/arq.../RegulamentoInspecaoIndustrial.pdf). Acesso em: 30 de mar. 2017.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. IN SDA Nº 8, de 17 de fevereiro de 2017. Altera dispositivos da Instrução Normativa SDA nº 10, de 11/04/2013 e revoga o Artigo 86, da Instrução Normativa SDA nº 20, de 21/10/2016. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF. 2017. Disponível em: <http://pesquisa.in.gov.br/imprensa/jsp/visualiza/index.jsp?data=12/04/2013&jornal=1&pagina=2&totalArquivos=168>. Acesso em: 22 de mar. 2018.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Surtos de Doenças Transmitidas por Alimentos no Brasil-2017**. Disponível em: <http://portalarquivos.saude.gov.br/images/pdf/2017/maio/29/Apresentacao-Surtos-DTA-2017.pdf>. Acesso em: 23 de Jan. 2018.

CARVALHO, F. B.; CARVALHO, F. B. C.; STRINGHINI, J. H.; JARDIM FILHO, R. M.; LEANDRO, N. S. M.; PADUA, J. T.; DEUS, H. A. S. B. Influência da conservação e do período de armazenamento sobre a qualidade interna e de casca de ovos comerciais. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, v.5, p.100, 2003.

CARVALHO, L. S. S.; FERNANDES, E. A. Formação e qualidade da casca de ovos de reprodutoras e poedeiras comerciais. **Revista Medicina Veterinária**, v.7, n.1, p.35-44, 2012.

CARVALHO, F. B.; STRINGHINI, J. H.; JARDIM FILHO, R. M.; LEANDRO, N. S. M.; CAFÉ, M. B.; DEUS, H. A. S. B. Qualidade interna e da casca para ovos de poedeiras comerciais de diferentes linhagens e idades. **Ciência Animal Brasileira**, v.8, n.1, p. 25-29, 2007

CRUZ, F. G. G. **Avicultura caipira na Amazônia**. Manaus: EDUA, 2011, 80p.

CRUZ, F. G. G.; RUFINO, J. P. F.; MELO, R. D.; FEIJÓ, J. da C.; DAMASCENO, J. L.; COSTA, A. P. G. C. Perfil socioeconômico da Avicultura no setor primário do Estado do Amazonas, Brasil. **Revista em Agronegócio e Meio Ambiente**, v.9, n.2, p. 371-391, 2016.

EGG-GRADING MANUAL. Washington: **Department of Agriculture/Agricultural Marketing Services**. 2000. (Agricultural Handbook, 75)

EISEN, E. J.; BOHREN, B. B.; MCKEAN, H.E. The Haugh unit as a measure of egg albumen quality. **Poultry Science**, v. 41, p.1461-1468, 1962.

FAO-WHO. FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION / WORLD HEALTH ORGANIZATION 2000. **Hazard identification and hazard characterization of *Salmonella* in broilers and eggs. Activities on risk assessment of microbiological hazards in foods. Risk Assessment: *Salmonella* spp. in broilers and eggs Preliminary Report.** Rome, 2002.

FORSYTHE, S. J. **Microbiologia da Segurança dos alimentos**. 2ed. Porto Alegre: Artmed, 2013. 573 p.

FRAGA, M.E, et al. Avaliação da presença fúngica em ovos de poedeiras comerciais. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, v.32, p. 7174, 2010.

FRAZIER, W. C.; WESTHOFF, D. C. **Microbiología de los alimentos**. 4. ed. Zaragoza: Editorial Acribia, 2000. 681 p.

GENTRY, R. F.; QUARLES, C. L. The Measurement of Bacterial Contamination on Egg Shells. **Poultry Science**, v. 51, p. 930-933, 1972.

GONÇALVES, E. S.; MARQUES, M. H. M.; LUCCA, P. S. R. A segurança alimentar e os consumidores: Um breve estudo sobre a *Escherichia coli*. **Revista CESUMAR: Ciências Humanas e Sociais Aplicada**. v.7, n.1, 2002.

GOODROW, E. F.; WILSON, T. A.; HOUDE, S. C.; VISHWANATHAN, R.; SCOLLIN, P. A.; HANDELMAN, G.; NICOLOSI, R. J. Consumption of One Egg Per Day Increases Serum Lutein and Zeaxanthin Concentrations in Older Adults without Altering Serum Lipid and Lipoprotein Cholesterol Concentrations. **The Journal of Nutrition**, v. 136, p. 2519-2524, 2006.

HAMILTON, R. M. G. The microstructure of the hen's egg shell: a short review. **Food microstructure**. v.5, p. 99-110, 1986.

HINCKE, M. T.; NYS, Y.; GAUTRON, J.; MANN, K.; RODRIGUEZ-NAVARRO, A. B.; MCKEE, M. D. The eggshell: structure, composition and mineralization. **Bioscience**, v.17, p. 1266-1280, 2012.

HU, F. B.; STAMPFER, M. J.; RIMM, E. B.; MANSON, J. E.; ASCHERIO, A.; COLDITZ, G. A.; ROSNER, B. A.; SPIEGELMAN, D.; SPEIZER, F. E.; SACKS, F. M.; HENNEKENS, C. H.; WILLETT, W. C. A prospective study of egg consumption and risk of cardiovascular

disease in men and women. **Journal of American Medical Association**, v. 281, n. 151387, 1999.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA, 2017. Disponível em: <<http://www.sidra.ibge.gov.br/bda/tabela/protabl.asp?c=915&z=t&o=24&i=P>>. Acesso em: 27 jan. 2018.

INSTITUTO NACIONAL DE METEOROLOGIA (INMET). **Banco de Dados Meteorológicos para Ensino e Pesquisa**. Disponível em: <<http://www.inmet.gov.br/>>. Acesso em: 03 mar. 2018.

INTERNATIONAL COMMISSION ON MICROBIOLOGICAL SPECIFICATIONS FOR FOODS (ICMSF). **Microrganisms in foods: their significance and methods of enumeration**. 2 ed. Toronto, University of Toronto, 1978, v.1. 434 p.

KASPER, D. L.; HAUSER, S. L.; Jameson, J. L.; FAUCI, A. S.; LONGO, D. L.; LOSCALZO, L. J. **Medicina Interna de Harrison**. 19 ed, Porto Alegre, 2017.

KESHAVARZ, K.; NAKAJIMA, S. Reevaluation of calcium and phosphorus requirements of laying hens for optimum performance and eggshell quality. **Poultry Science**, Champaign, v. 72, n. 1, p. 144-153, 1993.

KOVACS-NOLAN, J.; PHILLIPS, M.; MINE, Y. Advances in the value of eggs and egg components for human health. **J. Agric. Food Chem.** v.53, p.8421-8431, 2005.

KRAEMER, F. B.; HUTTEN, G. C.; TEIXEIRA, C. E.; PARDI, H. S.; MANO, S. Avaliação da qualidade interna de ovos em função da variação da temperatura de armazenamento. **Revista Brasileira de Ciência Veterinária**, v. 10, n. 3, p. 145-151, 2003.

KRITCHEVSKY, S. B.; KRITCHEVSKY, D. Egg consumption and coronary heart disease: an epidemiologic overview. **Journal of the American College of Nutrition**, v. 19, n. sup5, p. 549S-555S, 2000.

MABE, I.; RAPP, C.; BAIN, M. M.; NYS, Y. Supplementation of a cornsoybean meal diet with manganese, copper and zinc from organic and inorganic sources improves eggshell quality in aged laying hens. **Poultry Science**, v. 82, n. 7, p. 1903–1913, 2003.

MAZZUCO, H. **Ovo: alimento funcional, perfeito à saúde**. Instituto ovos Brasil, São Paulo, 2008. Disponível em: <<http://www.ovosbrasil.com.br/site/ovo-alimento-funcional-perfeito-a-saude/>>. Acesso em: 02 mar. 2017.

MAZZUCO, H.; ROSA, P. S.; JAENISCH, F. R. R. **Problemas de casca de ovos: identificando as causas**. Concórdia. SC: Embrapa Aves e Suínos, 1998, Boletim técnico. Disponível em: <<http://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/58288/1/doc48.pdf>>. Acesso em: 18 abr. 2017.

NAKAMURA, Y.; OKAMURA, T.; TAMAKI, S.; KADOWAKI, T.; HAYAKAWA, T.; KITA, Y.; OKAYAMA, A.; UESHIMA, H. Egg consumption, serum cholesterol, and cause-specific and all-cause mortality: the National Integrated Project for Prospective Observation of Non-communicable Disease and Its Trends in the Aged, 1980. **The American journal of clinical nutrition**, v. 80, n. 1, p. 58-63, 2004.

NAVIGLIO, D. Bad Cholesterol or "Bad" Science? **Medicinal chemistry**, v. 6, p. 40, 2016.

NEOSPARK. Eggshell defects and dietary essentials, 2012. Download da internet em: 29 mar. 2017.

OLIVEIRA, D. D.; SILVA, E. N. *Salmonella* em ovos comerciais: ocorrência, condições de armazenamento e desinfecção da casca. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.52, n.6, p.655-661, 2000.

OYARZÁBAL, O.A. Técnicas moleculares para o diagnóstico de patógenos aviários. **Avicultura Professional**, v.14, n.16, p.19-21, 1996.

PATRICIO, I. S. Manejo do ovo incubável da granja ao incubatório. In: MACARI, M.; GONZALES, E. **Manejo da incubação**, Campinas: FACTA, 2003, p. 163-179.

PINTO, A. T.; SILVA, E. N. Ensaio de penetração de *Salmonella* Enteritidis em ovos de galinha com diferentes qualidades de casca, submetidos ou não a lavagem industrial e a duas temperaturas de armazenagem. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.61, n.5, p.1196-1202, 2009.

PIRES, F. M.; PIRES, S. F.; ANDRADE, C. L.; CARVALHO, D. P.; BARBOSA, A. F. C.; MARQUES, M. R. Fatores que afetam a qualidade dos ovos de poedeiras comerciais: armazenamento, idade, poedeira. **Nutritime Revista Eletrônica**, on-line, Viçosa, v. 12, n. 6, p. 4379-4385, 2015. Disponível em: <[http://www.nutritime.com.br/arquivos\\_internos/artigos/339\\_-\\_4379-4385\\_-\\_NRE\\_12-6\\_nov-dez\\_2015.pdf](http://www.nutritime.com.br/arquivos_internos/artigos/339_-_4379-4385_-_NRE_12-6_nov-dez_2015.pdf)>. Acesso em: 28 mar. 2017.

PIZZOLANTE, C. C. O ovo e o mito do colesterol. **Pesquisa & Tecnologia**, v. 9, n. 1, 2012.

RAHN, K. GRANDIS, S. A; CLARKE, R. C; CURTISS, R; GYLES, C. L. Amplification of an invA gene sequence of *Salmonella* Typhimurium by polymerase chain reaction as a specific method of detection of *Salmonella*. *Mol Cell Probes.*, v.6, p. 271-279, 1992.

RUTZ, F.; ANCIUTI, M. A.; XAVIER, E. G.; ROLL, V. F. B.; ROSSI, P. Avanços na fisiologia e desempenho reprodutivo de aves domésticas. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 31, n. 3, p. 307-317, 2007.

SAMBROOK J., FRITSCH E. F., MANIATIS T. *Molecular Cloning. A Laboratory Manual*. Cold Spring: Harbor Laboratory Press; 1989.

SANTOS, F. F.; BRANDÃO, M. D. M.; PEREIRA, V. L. A. Aspectos Relacionados ao Armazenamento de Ovos Comerciais. **Avicultura Industrial**, v. 11, p. 93-99, 2015.

SANTOS, M. S. V.; ESPÍNDOLA, G. B.; LÔBO, R. N. B.; FREITAS, E. R.; GUERRA, J. L. L.; SANTOS, A. B. E. Efeito da temperatura e estocagem em ovos. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.29, p. 513-517, 2009.

SANTOS NETO, J. P. **Ocorrência de aeróbios mesófilos, coliformes e *Salmonella sp.*, em ovos comerciais higienizados por diferentes métodos.** 2016. 54f. Dissertação (Mestrado) – Instituto Federal de Educação, Ciência E Tecnologia do Triângulo Mineiro, Uberaba, MG, 2016.

SEIBEL, N. F. Transformações bioquímicas durante o processamento do ovo: uma revisão In: SOUZ-SOARES, L. A.; SIEWERDT, F. **Aves e ovos.** Pelotas: UFPEL, p. 77-90, 2005.

SGARBIERI, V. C. **Proteínas em Alimentos Protéicos.** São Paulo: Varela. 1996. p.57-172.

SILVA, N.; SILVEIRA, N. F. de A.; YOKODA, F.; OKAZAKI, M. M. Ocorrência de *Escherichia coli* O157:H7 em vegetais e resistência aos agentes de desinfecção de verduras. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 23, p. 167-173, 2003.

SOLOMON, S.E. The eggshell: strength, structure and function. **British Poultry Science**, v. 51, p. 52-59, 2010.

SOLOMON, S.E et al. Hen's egg shell structure and function. In: BOARD, R.G; FULLER, R. **Microbiology of the Avian Egg.** Chapman & Hall, 1994. p. 1-24.

STADELMAN, W.J.; COTTERILL, O.J. **Egg Science and Technology.** 4. ed. New York: The Haworth Press, 1994. 591 p.

WRAGG, D. S.; MWACHARO, J. M.; ALCALDE, J.; WANG, C.; HAN, J.; GÓNGORA, J.A.; GOURICHON, D.; TIXIER-BOICHARD, M.; HANOTTE, O. Endogenous Retrovirus EAV-HP Linked to Blue Egg Phenotype in Mapuche Fowl. **PloS one**, v. 8, 2013.