

UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
ESCOLA DE VETERINARIA E ZOOTECNIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL

EFEITOS DO ARMAZENAMENTO NOS PARÂMETROS FÍSICO-
QUÍMICOS E RESISTÊNCIA À *SALMONELLA* ENTERITIDIS EM OVOS
DE EMA (*Rhea americana*).

Renato Clini Cervi
Orientador: Marcos Barcellos Café

GOIANIA
2014



Termo de Ciência e de Autorização para Disponibilizar as Teses e Dissertações Eletrônicas (TE-DE) na Biblioteca Digital da UFG

Na qualidade de titular dos direitos de autor, autorizo a Universidade Federal de Goiás–UFG a disponibilizar gratuitamente através da Biblioteca Digital de Teses e Dissertações – BDTD/UFG, sem ressarcimento dos direitos autorais, de acordo com a Lei nº 9610/98, o documento conforme permissões assinaladas abaixo, para fins de leitura, impressão e/ou download, a título de divulgação da produção científica brasileira, a partir desta data.

1. Identificação do material bibliográfico: ☒ Dissertação ☐ Tese

2. Identificação da Tese ou Dissertação

Autor **Renato Clini Cervi** E-mail: **rcervi@ig.com.br**

Seu e-mail pode ser disponibilizado na página? ☒ Sim ☐ Não

Vínculo Empregatício do autor: Agência de fomento: CAPS

País: **Brasil** UF: **GO** CNPJ: Sigla:

Título: Efeitos do armazenamento nos parâmetros físico-químicos e resistência à *Salmonella Enteritidis* em ovos de ema (*Rhea americana*) Palavras-chave: **qualidade ovo, ratita, composição centesimal, reologia.**

Título em outra língua: **Effects of storage on physico-chemical parameters and resistance to *Salmonella Enteritidis* in rhea eggs (*Rhea americana*)**

Palavras-chave em outra língua: **egg quality, trade of eggs, nandu, meu, rheology**

Área de concentração: **Produção animal** Data defesa: (dd/mm/aaaa) **12/02/2014**

Programa de Pós-Graduação **Ciência animal**

Orientador(a): **Prof. Dr. Marcos Barcellos Café** E-mail: **mcafe@ufg.br**

Co-orientador(1): **Profa. Dra. Luciana Batalha de Miranda Araújo** E-mail: **batalha@vet.ufg.br**

Co-orientador(2): **Prfa. Dra. Cintia Silvia Minafra e Rezende** E-mail: **cintia@cpa.vet.ufg.br**

3. Informações de acesso ao documento:

Liberação para disponibilização? ☒ total ☐ parcial

Em caso de disponibilização parcial, assinale as permissões:

[] Capítulos Especifique:

[] Outras restrições:

Havendo concordância com a disponibilização eletrônica, torna-se imprescindível o envio do(s) arquivo(s) em formato digital PDF ou DOC da tese ou dissertação.

O Sistema da Biblioteca Digital de Teses e Dissertações garante aos autores, que os arquivos contendo eletronicamente as teses e ou dissertações, antes de sua disponibilização, receberão procedimentos de segurança, criptografia (para não permitir cópia e extração de conteúdo, permitindo apenas impressão fraca) usando o padrão do Acrobat.

Assinatura do(a) autor(a)

Goiânia 6 de março de 2014

¹ Em caso de restrição, esta poderá ser mantida por até um ano a partir da data de defesa. A extensão deste prazo suscita justificativa junto à coordenação do curso. Todo resumo e metadados ficarão sempre disponibilizados.

RENATO CLINI CERVI

EFEITOS DO ARMAZENAMENTO NOS PARÂMETROS FÍSICO-QUÍMICOS E RESISTÊNCIA À *SALMONELLA* ENTERITIDIS EM OVOS DE EMA (*Rhea americana*).

Dissertação apresentada para obtenção de grau de Mestre em Ciência Animal junto à Escola de Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal de Goiás.

Área de Concentração:
Produção Animal

Orientador:

Prof. Dr. Marcos Barcellos Café

Comitê de Orientação

Prof^a. Dr^a. Luciana Batalha de Miranda Araújo

Prof^a. Dr^a. Cíntia Silvia Minafra e Rezende

GOIÂNIA

2014

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação na (CIP)
GPT/BC/UFG**

Cervi, Renato Clini.
C419 e Efeitos do armazenamento nos parâmetros físico-químicos e resistência à *Salmonella* Enteritidis em ovos de emas (*Rhea americana*) [manuscrito] / Renato Clini Cervi. - 2014.
xv, 70 f. : il., figs, tabs.

Orientador: Prof. Dr. Marcos Barcellos Café; Coorientadora: Luciana Batalha de Miranda Araújo; Coorientadora: Cíntia Silvia Minafra e Rezende

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Goiás, Escola de Veterinária e Zootecnia, 2014.

Bibliografia.

Inclui lista de figuras e tabelas.

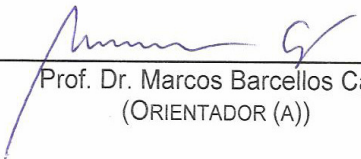
1. Ovos de emas – Armazenamento 2. Ovos de emas – *Salmonella Enteritidis* 3. Ovos de emas – Qualidade

I. Título.

CDU: 637.4:598.221.2

RENATO CLINI CERVI


Dissertação defendida e aprovada em **12/02/2014**, pela Banca Examinadora constituída pelos professores:



Prof. Dr. Marcos Barcellos Café
(ORIENTADOR (A))



Prof. Dr. Alexandre Mello Bailão – ICB/UFG



Profa. Dra. Maria Auxiliadora Andrade

Dedico este trabalho aos meus companheiros, Ângelo,
Giovanna, Shiva, Odin e aos meus pais

AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal de Goiás e ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, pela oportunidade de realização do curso.

Ao Prof. Dr. Marcos Barcellos Café pela dedicação e orientação, e por acreditar em meus trabalhos.

À professora Luciana Batalha de Miranda Araújo, por apostar em meus projetos e acreditar que meus sonhos eram possíveis.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – CAPES, pelo fornecimento de bolsa de mestrado.

Ao Centro de Triagem de Animais Silvestres – CETAS, ao Luiz Alfredo e Ana Carolina pelo apoio técnico e parceria.

Ao Médico Veterinário Dr. Willian Miranda, pela parceria na obtenção de material e informações para a realização dos experimentos.

À Professora Maria Auxiliadora de Andrade, pela permissão do uso do Laboratório de Bacteriologia da Escola de Veterinária e Zootecnia, da Universidade Federal de Goiás.

Ao Professor Alexandre Melo Bailão, pela permissão do uso do Laboratório de Biologia Molecular, do Instituto de Ciências Biológicas, da Universidade Federal de Goiás.

À Professora Alessandra Mascarenhas, pela permissão do uso do Laboratório de Nutrição Animal, da Escola de Veterinária e Zootecnia, da Universidade Federal de Goiás.

Ao Prof. Dr. Ângelo Luiz Fazani Cavallieri, pela dedicação, orientação e parceria em meus desafios.

À professora Eliane Miyagi e ao professor Paulo Hellmeister pelo auxílio em minha formação acadêmica.

Ao Produtor Gerson Silva pela parceria e fornecimento dos materiais biológicos.

Ao Condomínio Residencial Aldeia do Vale, pelo fornecimento de material para as pesquisas.

Aos meus amigos, parceiros de trajetória, Luiz Paulo, André Moreira, Ludmila Brunes e Leonardo Lopes, pelo apoio constante.

“Viver é enfrentar um problema atrás do outro.
O modo como você o encara é que faz a diferença.”

Benjamin Franklin

SUMÁRIO

| | |
|--|-----------|
| 1 INTRODUÇÃO | 1 |
| 2 REVISÃO DA LITERATURA | 3 |
| 2.1 Considerações gerais sobre a Ema..... | 3 |
| 2.2 O Considerações gerais sobre o ovo | 5 |
| 2.3 O ovo da Ema | 8 |
| 2.4 Constituintes do ovo..... | 9 |
| 2.5 Parâmetros de qualidade Interna do ovo | 18 |
| 2.6 Microbiologia do ovo | 19 |
| 2.7 Armazenamento do ovo..... | 20 |
| 2.8 Características para o consumo | 21 |
| 2.9. Alterações durante o armazenamento..... | 22 |
| 2.10. Reologia do ovo | 24 |
| 2.10.1 Viscosidade | 24 |
| 2.10.2 Temperatura | 25 |
| 2.10.3 Estabilidade e formação de emulsões | 25 |
| 2.10.4 Formação de Espuma..... | 25 |
| 3 OBJETIVO | 28 |
| 4 MATERIAL E MÉTODOS | 29 |
| 4.1 Tratamentos e delineamento experimental..... | 29 |
| 4.1.1 Determinação da composição centesimal | 30 |
| 4.1.1.1 Perda por dissecação (Umidade)..... | 30 |
| 4.1.1.2 Resíduo por incineração (cinzas)..... | 30 |
| 4.1.1.3 Protídeos | 31 |
| 4.1.1.4 Lipídeos | 31 |
| 4.1.2 Avaliação da qualidade do ovo | 31 |
| 4.1.2.1 Qualidade interna do ovo: Unidade Haugh | 31 |
| 4.1.2.2 Espessura da casca..... | 31 |
| 4.1.2.3 Peso da casca | 32 |
| 4.1.2.4 Dimensões físicas do ovo | 32 |
| 4.1.2.5 Determinação de pH do albúmen e gema | 32 |
| 4.1.3 Avaliação da contaminação microbiológica | 32 |
| 4.1.3.1 Avaliação da contaminação de campo | 33 |
| 4.1.3.2 Avaliação da contaminação por <i>Salmonella</i> Enteritidis..... | 33 |
| 4.1.4 Avaliação das características reológicas | 34 |

| | |
|--|-----------|
| 4.1.4.1 Viscosidade e rampa de temperatura | 34 |
| 4.1.5 Eletroforese em gel de poliacrilâmida | 35 |
| 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO | 38 |
| 5.1 Características físicas..... | 38 |
| 5.2 Características químicas | 40 |
| 5.2.1 Proteínas | 40 |
| 5.2.2 Lipídeos | 42 |
| 5.2.3 PH..... | 43 |
| 5.3 Avaliação da contaminação microbiológica | 44 |
| 5.3.1 Contaminação natural das cascas dos ovos..... | 44 |
| 5.3.2 Contaminação por <i>Salmonella</i> Enteretidis | 44 |
| 5.3.3 Contaminação por Enterobacteriaceae..... | 45 |
| 5.4 Avaliação das características reológicas..... | 48 |
| 5.4.1 Taxa de escoamento e viscosidade..... | 48 |
| 5.5 Eletroforese das frações protéicas de albúmen e gema..... | 51 |
| 5.5.1 Eletroforese em gel de poliacrilamida a 20% de concentração | 51 |
| 5.5.2 Eletroforese em gel de poliacrilamida a 15% de concentração | 52 |
| 5.5.3 Eletroforese em gel de poliacrilamida a 12% de concentração | 53 |
| 5.6 Comparação das frações protéicas de ovos de emas e ovos de galinhas | 55 |
| 6 CONCLUSÕES | 57 |
| REFERÊNCIAS..... | 58 |

LISTA DE FIGURAS

| | |
|--|----|
| FIGURA 1 - Padrão de marcador molecular GE health life, para gel de poliacrilamida | 37 |
| FIGURA 2 - Proteínas constituintes do marcador molecular (GE health life) | 37 |
| FIGURA 3 - Curvas de escoamento das médias dos tratamentos de ovos frescos de emas;(A) gema, (B) albúmen | 48 |
| FIGURA 4 - Variação da viscosidade em função da temperatura | 50 |
| FIGURA 5 - Eletroforese de ovos de galinhas e emas, nas frações de albúmen e gema, 20% poliacrilamida | 51 |
| FIGURA 6 - Eletroforese em gel de poliacrilamida a 20%, de albúmen de ovos de emas | 52 |
| FIGURA 7 - Gel de eletroforese em poliacrilamida 12% das frações protéicas do albúmen de ovos de emas | 53 |
| FIGURA 8 - Gel poliacrilamida 12% das frações protéicas da gema de ovos de emas | 54 |
| FIGURA 9 - Gel de poliacrilamida em concentração de 15 %, para amostras de albúmen de galinha e emas | 56 |

LISTA DE TABELAS

| | |
|---|----|
| TABELA 1 - Composição centesimal de ovos produzidos por diferentes espécies. | 9 |
| TABELA 2 - Características químicas e físicas das proteínas do albúmen de ovo de galinha..... | 10 |
| TABELA 3 - Composição da gema do ovo de galinha. | 15 |
| TABELA 4 - Reagentes e quantidades utilizadas para preparação da solução de gel de poliacrilamida..... | 35 |
| TABELA 5 -Valores médios do peso do ovo (PO), porcentagens de albúmen, gema e casca, espessura da casca, e Unidade Haugh (UH) para ovos de emas em diferentes períodos de armazenamento | 38 |
| TABELA 6 -Valores médios de biometria de ovos de emas submetidos aos tratamentos de tempo de armazenamento..... | 39 |
| TABELA 7 - Proteínas totais e umidade nas frações de albúmen e gema de ovos de emas, nos diferentes períodos de armazenamento | 40 |
| TABELA 8 - Composição de gordura da gema e do albúmen em ovos de emas em diferentes períodos de armazenamento, sob refrigeração de 10° C | 42 |
| TABELA 9 -Valores de pH nas frações de clara e gema ovos de emas submetidos a armazenamento de 10° C | 43 |
| TABELA 10 - Penetração de <i>Salmonella</i> enteritidis com inoculo de $8,6 \times 10^7$ UFC/mL em ovos de emas submetidos a diferentes períodos de armazenamento a 10° C | 44 |
| TABELA 11 - Resultados bacteriológicos em porcentagens dos totais das estruturas de casca, membrana da casca, albúmen e gema, de ovos de emas em 10, 20 e 30 dias de armazenamento à temperatura de 10° C. | 46 |
| TABELA 12 - Caracterização do comportamento reológico e parâmetros da Lei da Potência, de albúmen e gema de ovos de emas frescos e armazenados em período de 7 dias | 49 |
| TABELA 13 - Valores de quantificação em espectrofotometria, das proteínas de albúmen e gema de ovo de emas e galinha..... | 51 |
| TABELA 14 - Valores de quantificação em espectrômetro de massa, das proteínas de clara e gema de ovos de emas, em diferentes períodos de armazenamento | 55 |

RESUMO

O ovo é um produto de origem animal de excelente valor nutricional utilizado na alimentação humana. A Ema (*Rhea americana*) é um animal da fauna silvestre brasileira com potencial de produção de ovos que diferem de outras espécies em sua resistência microbiológica e porcentagens de nutrientes. Com o objetivo de obter informações sobre a composição centesimal, resistência à *Salmonella* Enteritidis, e formas de armazenamento adequadas para preservação de qualidade para o consumo humano, foram analisados cinco lotes de ovos de emas para avaliação da qualidade, em períodos de sete, 14, 21, 28 e 35 dias de armazenamento a temperatura refrigerada, e três lotes em períodos de 10, 20 e 30 dias para contaminação de *Salmonella* Enteritidis. De acordo com os resultados obtidos pode-se concluir que a qualidade interna se altera com o tempo de armazenamento, permanecendo viável até 21 dias de armazenamento. As frações do ovo sofreram alterações com a degradação protéica, e redução significativa dos valores de qualidade expressos em unidade Haugh. Os ovos apresentam alta resistência à contaminação por *Salmonella* em todos os períodos de armazenamento. As frações protéicas de albúmen e gema e os parâmetros reológicos apresentaram diferenças em relação ao ovo da galinha, fornecendo informações para adequação da utilização destes produtos pela indústria.

Palavras chave: composição centesimal, qualidade ovo, ratita, reologia.

ABSTRACT

The egg is an animal product with excellent nutritional value used in human food. The Ema (*Rhea americana*) is an animal of the Brazilian wildlife with potential to produce eggs that differ from other species in its microbiological resistance and percentages of nutrients. In order to obtain information about the chemical composition, resistance to *Salmonella* Enteritidis, and appropriate forms of storage for preservation of quality, were evaluated five lots of eggs from emus to assess quality in periods of seven , 14 , 21, 28 and 35 days of storage at refrigeration temperature , and three lots on 10 , 20 and 30 days to contamination of *Salmonella* Enteritidis. According to the results, it can be concluded that the internal quality changes with storage time, remaining viable up to 21 days of storage. The fractions of the egg change with protein degradation, and significant reduction in quality values, expressed in Haugh Unit. The eggs had high resistance to contamination by *salmonella* Enteritidis in all storage periods. Protein fractions of white and yolk and rheological parameters show differences from chicken egg, providing information to appropriate use of these products by the industry. .

Key words: *Rhea*, egg quality, trade of eggs, ratite, nandu, emu, rheology.

1 INTRODUÇÃO

O ovo é um produto resultante da transformação biológica feita pela ave, que transforma recursos alimentares de menor valor biológico em um produto de alto valor nutricional que é utilizado para o consumo humano. A transformação depende de fatores biológicos relacionados à fisiologia das aves, aporte nutricional e práticas de manejo (BERTECHINI, 2006). Este produto pode ser principalmente comercializado *in natura*, ou seja, na forma original de sua produção pelas aves, ou ainda, devido às suas características funcionais e reológicas, utilizado pelas indústrias em diversos produtos e preparações.

Com a aplicação de boas práticas produtivas específicas para a avicultura de postura, e manutenção dos aspectos produtivos e sanitários previamente controlados, ocorre a produção do ovo adequado para o consumo. Após a postura, as qualidades químicas dos ovos sofrem processos de alteração química e física que podem por em risco a sua qualidade, como a interferência de temperatura, umidade, e fatores de contaminações microbiológicas.

Comparando com os ovos de galinhas, o conhecimento de ovos de ratitas é relativamente escasso e, como consequência, os parâmetros dos ovos de aves domésticas são frequentemente utilizados como modelo para descrever os ovos de avestruzes, emus e emas, levando em consideração que o tamanho e a composição apresentam diferenças.

Com o crescente interesse na criação de espécies silvestres, surge a oportunidade de exploração de produtos derivados do processo de produção. A ema é um animal da fauna silvestre brasileira que apresenta altos índices produtivos, adaptabilidade e fácil manejo.

A oferta de ovos de ratitas vem se apresentando como promissora, na utilização para o consumo *in natura*, industrial e em produtos nutracêuticos. Entretanto, os estudos com estes novos produtos são inexistentes ou escassos. Com a preocupação de determinar parâmetros para comercialização destes ovos, pesquisas vêm sendo desenvolvidas para que sejam seguramente comercializados. Estes estudos não são apenas importantes para as determinações de consumo, mas também como base à determinação de legislações e políticas públicas, fomentando o processo produtivo, consolidando de forma irreversível as criações destas espécies e fornecendo novas alternativas para a indústria de alimentos.

O conhecimento dos parâmetros de processamento pela indústria é de fundamental importância, para o crescimento da produção comercial de produtos de espécies silvestres, com orientações técnicas mais apuradas. Apesar da composição dos ovos serem muito semelhantes, as porcentagens de seus componentes protéicos, vitamínicos e demais frações são significativamente diferentes.

Diante do exposto, o presente estudo foi desenvolvido com os objetivos de avaliar possíveis interferências nas perdas qualitativas, em seus aspectos de composição centesimal, relacionados ao tempo de estocagem e armazenamento, e de resistência à contaminação de *Salmonella* Enteritidis, determinando o período adequado para estocagem, garantindo a manutenção da qualidade nutricional e fornecendo parâmetros para o processamento pela indústria de alimentos.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Considerações gerais sobre a Ema

Apesar da grande semelhança entre emas e avestruzes, as duas espécies estão classificadas em ordens diferentes. A avestruz é da ordem dos Struthioniformes, já a ema, dos Rheiformes, que apresenta distribuição geográfica restrita ao continente sul-americano (SILVA, 2001).

As emas (*Rhea americana*) são aves da Ordem Rheiforme, família Rheidae gênero *Rhea*, endêmicas da América do Sul, mais especificamente do Brasil Argentina, Paraguai, Uruguai e do sul da Bolívia (GIANNONI, 1996). Três subespécies ou “raças geográficas” de emas são descritas: *Rhea americana americana* (LINNAEUS, 1758); *Rhea americana intermedia* (ROTHSCHILD & CHUBB, 1914) e *Rhea americana albescens* (ARRIBALZAGA & HOLMBERG, 1878).

A *Rhea americana americana* é nativa das regiões brasileiras do Nordeste, Sudeste, Centro-Oeste e norte do Paraná. A *Rhea americana intermedia* é encontrada nos estados do Rio Grande do Sul, Santa Catarina e sul do Paraná, Argentina, Uruguai e Paraguai. A *Rhea americana albescens* ocorre no sul da Bolívia, Paraguai, Argentina e sudeste do Mato Grosso do Sul (GIANNONI, 1996), eram também encontradas em algumas regiões dos estados de São Paulo, Minas Gerais, Mato Grosso e Goiás (DANI, 1993).

Sendo a maior ave da América do Sul, a ema esta entre as aves mais antigas deste continente, já foram encontrados fósseis com mais de 40 milhões de anos, com a primeira descrição oficial feita entre 1637 e 1644. Era abundante no Brasil principalmente antes da chegada dos colonizadores europeus. O Brasil detém a maior população nativa desta espécie, representando um patrimônio genético, recurso da fauna a ser preservado e utilizado de forma racional, é uma ave associada à ecologia brasileira que ainda habita as regiões abertas dos campos, cerrados e caatingas (DANI et al., 1993).

A produção comercial de aves de grande porte no Brasil começou a se tornar expressiva na década de 80. Inicialmente as atenções foram despertadas para a carne e ovos de avestruz, pois desde a antiguidade já era consumida pelo homem, e há varias décadas criadas nos Estados Unidos com a finalidade de exploração de

carne, ovos, couro e penas, além das vísceras. Com a chegada desta atividade pecuária no Brasil, vários criadores empenharam seus esforços no sentido de implantar e melhorar sua produção. Com isso, a ema (*Rhea americana*) também começou a despertar o interesse de criadores, pelas suas características semelhantes às dos avestruzes, apresentando vantagens, devido a sua adaptabilidade às condições ambientais e estar entre os mais cotados devido ao seu potencial reprodutivo e produtos de excelente qualidade como carne, couro, penas, ovos e gordura (GIANNONI, 1996; SILVA, 2001; ALMEIDA 2003).

A ave pertencente ao grupo das ratitas (aves corredoras) que apresentam características anatômicas e fisiológicas que as diferem do grupo das carinadas (aves que voam) pela ausência de quilha no osso esterno, do músculo peitoral, músculo das asas atrofiado e glândula uropigiana o que às impede de voar. Outra diferença é a separação de fezes e urina na cloaca (MORATA, 2005). Seu corpo é ovóide, com região posterior cônica (DANI et al., 1993). Normalmente o macho é maior que a fêmea, e tem coloração negra mais acentuada (BRESSAN, 2005).

Entre as espécies de aves caracterizadas no grupo das ratitas, existem diferenças morfológicas na anatomia comparativa. As emas possuem três dedos, e apenas dois nas avestruzes; as emas atingem em média 1,50m de altura e o peso em média de 40 kg. O avestruz é uma ave adaptada para o deserto e savana, que vive muito bem em ambientes áridos, com carga de micro-organismos patogênicos muito baixa, isto à torna muito suscetível a patógenos quando exposta a ambientes com maior umidade como é comum na América do Sul, o que não ocorre com as emas, já adaptadas ao clima úmido por serem originárias deste continente (SILVA, 2001),

A ema vive normalmente em grupos com aproximadamente 40 indivíduos, apresenta hábitos diurnos (BRUNING, 1974; TONETO, 2005). Pela grande maioria dos autores é considerada onívora, pois sua alimentação é composta basicamente de vegetais, insetos e pequenos invertebrados, e realiza também a coprofagia (alimenta-se de suas próprias fezes). Através de análises de conteúdos estomacais em quatro exemplares capturados na natureza, foram encontrados insetos hemípteros, folhas, galhos pequenos de vegetação herbácea, sementes, plantas de brejo, frutos de palmeira e de macaúba e raízes de gramíneas (DANI et al., 1993).

Uma das características que as diferencia da maioria das aves é a separação de urina e fezes na cloaca, que é formada por três compartimentos: coprodeo,

urodeo e proctodeo. O primeiro é onde o reto termina, no compartimento médio desembocam na fêmea a uretra e o oviduto, ou no macho o tubo seminal, e o ultimo aloja o pênis do macho (SILVA, 2001; HOSKEN, 2003).

A ema é poligínica e poliândrica, ou seja, o macho copula com várias fêmeas e estas com vários machos, respectivamente. Os cuidados com a construção do ninho e a incubação dos ovos são realizados pelo macho. Apresentam atividade reprodutiva sazonal devido à influência do foto-período crescente, que varia de acordo com a latitude (HICKS-ALLDREDGE, 1996).

No Brasil esta variação é observada devido a grande extensão territorial, onde, a reprodução tende a ocorrer entre julho e setembro na Bahia e Mato Grosso (região do Pantanal), enquanto que nas regiões Sul e Sudeste podem acontecer entre agosto e final de fevereiro (CODENOTTI, 1997), e durante todo o ano na região do Rio Grande do Norte. A ema pode atingir a maturidade sexual entre dez e 24 meses de idade, sendo mais recomendado que o primeiro acasalamento ocorra aos 24 meses de idade (GIANNONI, 1996).

2.2 O Considerações gerais sobre o ovo

O ovo é um dos alimentos naturais mais completos, oferecendo um balanço de nutrientes essenciais com proteínas de excelente valor biológico, vitaminas, minerais e ácidos graxos (BRUGALLI et al., 1998), além de ser um alimento de baixo custo, permitindo o aumento do consumo pela população (PASCOAL et al., 2008). A denominação genérica de ovo é empregada para identificar os ovos de galinhas. Os ovos de outras aves são designados indicando-se a espécie da qual procedem (BRASIL, 1990).

A partir de 2008, em revisão realizada pelo Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal (DIPOA/DF) publicou no Diário Oficial da União uma nova versão do Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal (RIISPOA), estabelecendo normas e procedimentos para produção, armazenamento e comercialização de ovos e seus subprodutos (BRASIL, 1990).

Os aspectos químicos qualitativos dos ovos dependem da genética utilizada para a produção. Diversas espécies de aves realizam a produção de ovos com potencial de consumo humano. Após esta determinação, o principal aspecto da qualidade do produto fica a critério do manejo alimentar das aves, e finalmente em

processo de postura, uma vez que sua nutrição esta diretamente relacionada com a composição final do produto ovo (BERTECHINI, 2006).

Outros aspectos estão diretamente relacionados, como ambiência, ou seja, instalações adequadas para prover ao animal todas as condições de bem estar, e manutenção de qualquer interferência de stress a níveis muito baixos ou perfeitamente controlados (PEREIRA et al., 2008).

Em termos gerais, com fatores de manejo controlados e adequados, temos a produção do ovo. A partir deste momento suas qualidades químicas não poderão mais ser alteradas visando a melhoria de sua composição, ocorrendo apenas processos de alteração que podem por em risco a qualidade do produto.

A perda de qualidade é um fenômeno inevitável que acontece de forma contínua ao longo do tempo e pode ser agravada por diversos fatores, como contaminação microbiológica, umidade alta e refrigeração inadequada, acima de 8°C (BARBOSA et al., 2008).

A redução da qualidade interna do ovo está associada à perda de água e de dióxido de carbono durante o período de estocagem, levando a degradação da estrutura da proteína presente no albúmen (CRUZ & MOTA, 1996; LEANDRO et al., 2005).

Desde sua colheita no ninho, ate seu armazenamento, os ovos devem ser submetidos a métodos e processos adequados, tais como, lavagem pós-coleta com água e produto químico específico que garanta sua descontaminação (STRINGHINI, et al., 2009); estocagem e armazenamento em local adequado e devidamente refrigerado a baixas temperaturas para retardar os processos de perdas qualitativas (SOUZA et al., 1994).

As normas estabelecidas para o armazenamento e a garantia da preservação da integridade e qualidade dos aspectos físico-químicos e microbiológicos dos ovos, podem variar de acordo com o estado ou o destino do produto. Para a indústria de processamento, os inférteis são mantidos a uma temperatura de resfriamento não menor que -1° C (RIISPOA, 1950).

Para a comercialização de ovos *in natura* devem ser mantidos em temperatura de 5° C por um período máximo de 28 dias (BRASIL, 1990). Para ovos de emas a temperatura de armazenamento recomendada é de 8 a 10° C por um período de 15 dias (HOSKEN et al.; 2003).

As medidas que melhor representam à qualidade interna dos ovos são: a Unidade Haugh e o Índice de Gema (SOUZA et al., 1998). A unidade Haugh relaciona o peso do ovo (g) com a altura da clara (mm), e tem sido geralmente aceito como uma medida da qualidade do albúmen nos estudos de qualidade do ovo (EISEN et al., 1962). Um valor alto para unidade Haugh está associado a ovos de boa qualidade, e a taxa de diminuição, nas unidades Haugh, aumentam em temperaturas elevadas de armazenamento (BERARDINELLI et al., 2003).

Durante o armazenamento, o pH do ovo se eleva devido à perda de dióxido de carbono. O pH da clara, originalmente de 7,9, eleva-se para 9,3 nos primeiros dias de armazenamento, mudando pouco daí em diante. À medida que o ovo é armazenado, o dióxido de carbono se difunde para o exterior do ovo através dos poros da casca até que se equilibre com a quantidade existente no meio externo (GRISWOLD, 1972; LINDEN & LORIENT, 1996).

Estudos sobre os efeitos do clima tropical mostraram que os dois fatores mais importantes que afetam a qualidade dos ovos durante a estocagem são: a temperatura e a umidade relativa (DAVIS & STEPHENSON, 1991; MORAIS et al., 1997; LEANDRO et al., 2005). Quanto maior for esse período, pior será a qualidade interna dos ovos, já que, após a postura, eles perdem qualidade de maneira contínua (MORENG & AVENS, 1990).

Outro fator diretamente relacionado com a adequação para consumo de ovos produzidos é a contaminação por organismos patogênicos. Dentre todas as possíveis contaminações, aquela que tem efeito direto na liberação do ovo para o consumo é a presença de *Salmonella*.sp. Recentemente, a vigilância sanitária do Estado de São Paulo estabeleceu condutas higiênico-sanitárias que incluem cuidados de armazenamento e preparações de pratos a base de ovos (CEVISA, 1999).

A contaminação do conteúdo dos ovos pode ocorrer no trato reprodutor da ave, durante a formação do folículo da gema e/ou formação do albúmen no oviduto, antes da formação da casca, propiciando a produção de ovos já contaminados, resultado da transmissão vertical do micro-organismo (MESSENS et al., 2005).

Estudos microbiológicos revelam que a micro-biota do oviduto de aves saudáveis difere daquela encontrada em ovos comercializados, indicando que a contaminação dos ovos ocorre, preferencialmente, após postura, para a maioria dos micro-organismos (BOARD & FULLER, 1994; SESTI & ITO, 2000), denotando a

transmissão horizontal aos fatores associados ao ambiente e manipulação dos ovos (BOARD & TRANTER, 1995).

2.3 O ovo da Ema

A composição química da gema e do albúmen dos ovos de ratitas é pouco relatada, mas as informações disponíveis para ovos de avestruzes e emus demonstram que a composição é muito semelhante à das aves domésticas, porém há uma considerável variação na porcentagem de seus nutrientes (ANGEL, 1993).

Variações no momento do início da estação reprodutiva e diferenças na sua duração podem ser observadas, mesmo em populações localizadas próximas. O foto-período, a latitude e o clima podem contribuir para as flutuações e variações entre anos. Diferenças encontradas dentro de um mesmo ano podem estar relacionadas à alta qualidade e quantidade dos alimentos ofertados, qualidade superior dos locais de nidificação e incubação, animais de alta qualidade (alta variação genética e menos doenças) ou a composição (relação macho/fêmea) dos grupos reprodutivos; menor densidade populacional; ou a combinação desses fatores (NAVARRO & MARTELLA, 2002).

Em condições de cativeiro e semi-cativeiro, a *Rhea americana* apresenta ninhada com média de 28 ovos, maior do que o reportado em vida livre, média de 25 ovos (NAVARRO & MARTELA, 2002).

Os ovos variam de oito a 12 cm de largura por 12 a 15 cm de comprimento e pesam de 400 a 700 g. O período de incubação é de 39 a 42 dias e a época do ano em que se verifica a postura varia com a região (MENDES, 1985). A Tabela 1 apresenta os tamanhos e a composições centesimais de ovos de diferentes espécies de aves.

TABELA 1 - Composição centesimal de ovos produzidos por diferentes espécies.

| Componente | Perua | Galinha | Gansa | Pata | Codorna | Avestruz | Emu |
|---------------------|--------|---------|--------|--------|---------|----------|---------|
| Tamanho (g) | 79,00 | 50,00 | 144,00 | 70,00 | 9,00 | 1.455,00 | 707,00 |
| Calorias (cal/100g) | 168,00 | 155,00 | 185,00 | 185,00 | 160,00 | 189,09- | 175,30- |
| Umidade (%) | 72,50 | 74,57 | 70,43 | 70,83 | 74,35 | 75,10 | 73,90 |
| Proteínas (%) | 13,68 | 12,14 | 13,85 | 12,81 | 13,05 | 11,25 | 10,75 |
| Lipídeos (%) | 11,88 | 11,15 | 13,27 | 13,77 | 11,09 | 10,92 | 12,05 |
| Carboidratos (%) | 1,15 | 1,20 | 1,35 | 1,45 | 0,41 | - | - |
| Cinzas (%) | 0,79 | 0,94 | 1,08 | 1,14 | 1,10 | - | - |

Fonte: adaptado de STANDELMAN et al. (1988)

2.4 Constituintes do ovo

2.4.1 Casca

A casca é constituída por uma armação de substâncias orgânicas (escleroproteína e colágeno) e minerais (carbonato de cálcio e de magnésio) (ORNELLAS, 1985). A casca externa do ovo possui pequenos poros para a troca dos gases. Estes poros estão cobertos por uma cutícula composta de cera que protege o ovo contra a perda de água e impede a penetração de microrganismos (PROUDLOVE, 1996). As espessuras da casca dos ovos para espécies de ratitas podem variar e 0,9 a 1,0 mm (DEEMING, 2006).

2.4.2 Membrama

A membrana da casca é constituída de duas camadas: uma mais espessa (externa), chamada “esponjosa”, próxima à casca; e outra mais fina (interna), também chamada “mamilária”. Ambas são formadas por fibras protéicas inter-cruzadas. Na extremidade mais larga do ovo, essas membranas estão separadas, dando lugar a um espaço normalmente considerado como câmara de ar. Este espaço é preenchido por ar que entra através da casca, depois que o ovo é posto. O ovo sofre resfriamento após a postura, pois deixa o corpo da ave, onde a temperatura era de aproximadamente 39°C e passa à temperatura ambiente; o resfriamento provoca uma contração e o vácuo resultante favorece a entrada de ar na câmara. A casca permite a troca de gases (entrada de oxigênio e saída de gás carbônico), o que é necessário para o desenvolvimento do embrião. No ovo fresco,

devem-se encontrar ainda duas estruturas esbranquiçadas e enroladas, que ficam ligadas à gema e incluídas no albúmen. Essas estruturas, as chalazas, sustentam a gema no centro do ovo (BEIG & GARCIA, 1987).

A membrana interna e a casca externa, formadas por queratina, agem como camadas protetoras contra rompimentos e invasões microbianas. Sua espessura é de apenas 0,01 a 0,02 mm (MADRID et al., 1996).

2.4.3 Albúmen

O albúmen é uma solução de várias proteínas, com viscosidade mínima nas proximidades da casca e da gema é máxima (estado gel) à distância média destes dois componentes (BOBBIO & BOBBIO, 1992). Contém de 85 a 90% de água, sendo a proteína o componente principal, possuem também pequenas quantidades de glicoproteínas e glicose (menos de 1%) e sais minerais (MULLER & TOBIN, 1996). Três camadas constituem o albúmen: uma fina camada externa (23%), uma camada grossa (57%) e a uma fina camada interna (20%). O albúmen é pobre em gorduras (apenas 0,1 a 0,2%), o que resulta em baixo valor calórico. Em sua composição protéica, destacam-se a ovalbumina, que corresponde a 54% do conteúdo protéico (MADRID et al., 1996). A Tabela 2 apresenta as frações protéicas e as características químicas e físicas das proteínas do ovo.

TABELA 2 - Características químicas e físicas das proteínas do albúmen de ovo de galinha.

| Proteína | % | Pi | P. M. | VPE | Carboidrato |
|-------------------|-----|-----------|---------|-------|-------------|
| Ovalbumina | 54 | 4,5 | 45.000 | 0,750 | 3,2 |
| Ovotransferina | 12 | 6,0 | 76.000 | 0,372 | 2,2 |
| Ovomucóide | 11 | 4,1 | 28.000 | 0,685 | 20,0 – 25,0 |
| Ovoinibidor | 1,5 | 5,0 | 49.000 | - | - |
| Ovomucina | 3,5 | 4,5 – 5,0 | 110.000 | - | - |
| Lisozima | 3,4 | 10,7 | 14.307 | 0,703 | - |
| Ovoglicoproteína | 1,0 | 3,9 | 24.400 | - | - |
| Ovoflavoproteína | 0,8 | 4,0 | 32.000 | 0,700 | 14,0 |
| Ovomacroglobulina | 0,5 | 4,5 | 900.000 | 0,745 | - |
| Avidina | 0,5 | 10,0 | 68.300 | 0,730 | - |

Pi= ponto isoelétrico; PM= peso molecular, em Daltons; VPE= volume parcial específico (cm³/g)

Fonte: BERK (1976); SGARBIERI (1996)

A ovalbumina é a proteína predominante no albúmen, sendo classificada como uma fosfoglicoproteína por possuir carboidrato e fosfatos ligados ao polipeptídeo. A ovalbumina representa aproximadamente 54% das proteínas do albúmen, e pode variar de acordo com a espécie de ave. É encontrada em três formas: A1, A2 e A3 nas proporções de 85:12:3, respectivamente. A diferença entre as três formas está na quantidade do fósforo ligado à proteína: dois, um ou nenhum átomo de fósforo por mol de ovalbumina, respectivamente (FENNEMA, 1993).

A ovalbumina possui peso molecular 45.000 Da, uma ponte dissulfeto e quatro grupos sulfídricos livres que só reagem após a desnaturação da proteína, indicando que, na forma original, os grupos sulfídricos estão protegidos em regiões hidrofóbicas da proteína. Cerca de 50% dos aminoácidos da ovalbumina são hidrofóbicos (SGARBIERI, 1996).

Essa proteína desnatura com relativa facilidade nas interfaces após a agitação ou batidura em solução aquosa (espumas e emulsões). Durante o armazenamento dos ovos, a ovalbumina é convertida em S-ovalbumina, proteína mais termoestável devido ao intercâmbio sulfidril-dissulfeto, é resistente ao calor. A S-ovalbumina é encontrada em pequena quantidade no albúmen de ovo fresco, porém, chegando a representar 81% da ovalbumina após seis meses de estocagem do albúmen sob refrigeração (ORDÓÑEZ et al., 2005).

A lisozima é uma glicoproteína presente no albúmen do ovo na quantidade de 3,5%. Possui um peso molecular baixo, que pode variar de 14.000 a 14.600 Daltons, e o seu ponto isoelétrico é de 10,7. Possui forma esférica alongada e está na forma de dímero entre o pH de 5,0 e 9,0 (LI-CHAN & NAKAI, 1989).

A lisozima tem este nome devido à sua ação sobre *Micrococcus lysodeikticus*. Sua ação enzimática inclui a clivagem de polissacarídeos em parede celular de bactérias, exercendo ação antimicrobiana. A lisozima do albúmen é homóloga à humana e à α -lactalbumina. A grande estabilidade da lisozima pode ser atribuída à estrutura compacta da molécula, com quatro pontes de dissulfeto intramoleculares e a presença de apenas três moléculas de água por molécula de lisozima (SGARBIERI, 1996). A inativação pelo calor depende do pH e da temperatura (ORDÓÑEZ, et al., 2005)

As lisozimas atuam principalmente sobre bactérias Gram-positivas, porém quando desnaturada, por meio do aquecimento e mudança do pH, tornam-se efetivas contra bactérias Gram-negativas (IBRAHIM et al., 1996). A lisozima de ovo de galinha

quando conjugada com ácido cafeico ou cinamaldeído possui atividade antimicrobiana aumentada contra *E. coli* quando comparada a lisozima livre (VALENTA & SCHWARTZ; 1997, 1998).

A ovotransferrina, também denominada conalbumina, é uma glicoproteína facilmente isolada por precipitação fracionada com sulfato de amônio. Representa 12% das proteínas do albúmen e tem peso molecular 76.600 Da. É formada por um único polipeptídeo contendo 0,8% de hexose e 1,4% de hexosamina na molécula, não possuindo grupo sulfídrico livre ou radical prostético. Todas as transferrinas conhecidas ligam-se ao ferro, dando uma coloração vermelha com absorção máxima de 465 nm. (SGARBIERI, 1996). Estes complexos metálicos são mais termoestáveis que a proteína nativa. A forte tendência de ligação de ferro à ovotransferrina confere a esta proteína, como as transferrinas em geral, propriedade bacteriostática (LINDEN & LORIENT, 1996).

A ovomucóide é uma glicoproteína que possui uma única cadeia polipeptídica de peso molecular 28.000 Da, com segmentos helicoidais e nove pontes de dissulfeto, o que a torna mais estável à coagulação pelo calor. Precipita apenas em presença da lisozima e em meio alcalino. A ovomucóide representa 11% das proteínas do albúmen. Contém 20-25% de carboidrato na molécula, constituídos por D-galactose, D-manose, ácido siálico e glicosamina (ORDÓÑEZ et al., 2005).

Cinco tipos de ovomucóides podem ser diferenciados de acordo com seu ponto isoelétrico e referidos como O₁, O₂, O₃, O₄ e O₅. Todos os tipos de ovomucóides possuem atividades de inibição de tripsina e propriedades imuno-químicas (LI-CHAN; NAKAI, 1989). Diferenciam-se bioquimicamente da albumina e da conalbumina por não apresentar coagulação sob efeito do calor (MEYER, 1978).

A ovomucina é uma glicoproteína que contribui para a estrutura gelatinosa da camada espessa do albúmen. Ocorrem duas frações de ovomucina: uma rica em carboidratos (50%) e outra mais pobre (15%), denominadas β -ovomucina e α -ovomucina. É uma proteína termoestável. Junto com a lisozima forma um complexo insolúvel em água, cuja estabilidade depende do pH. Essa ligação torna-se mais instável à medida que alcaliniza o meio. Durante o armazenamento, o pH do albúmen se eleva significativamente devido à perda de CO₂ através da casca. A perda de viscosidade do albúmen durante o armazenamento está relacionada à diminuição na qualidade do complexo ovomucina-lisozima, com a elevação do pH (FENNEMA, 2000).

A ovoinibidor representa apenas 1,5% das proteínas do albúmen, com peso molecular 49.000 Daltons. Da mesma forma que a ovomucóide, a ovoinibidor, uma serina-protease, inibe duas moléculas de tripsina e duas de quimiotripsina, simultaneamente. Além da tripsina e da quimiotripsina, a ovoinibidor inibe também proteases de fungos e de bactérias. Tanto a ovoinibidor como a ovomucóide contêm arginina em seus centros ativos (SGARBIERI, 1996).

A ovoflavoproteína representa 0,8% da proteína do albúmen e tem peso molecular 32.000 Daltons e possui propriedades antimicrobianas. O albúmen do ovo de galinha contém quantidades aproximadamente iguais de flavoproteína e de apoproteína (proteína livre de riboflavina). A ovoflavoproteína (RBP) é ligada de riboflavina. Aparece no albúmen e na gema, bem como no soro sanguíneo de galinhas poedeiras (SGARBIERI, 1996)

As Ovoglobulina G₂ e G₃ correspondem juntas a 0,4% do total de proteínas do ovo de galinha. Possuem peso molecular de 30.000 e 45.000 Daltons. São agentes espumantes e agregam-se pelo calor (JOHNSON & ZABIK, 1981).

A ovomacroglobulina é uma glicoproteína de elevado peso molecular 900.000 Daltons que representa 0,5% das proteínas do albúmen. É fortemente antigênica e mostra muita reatividade cruzada contra ovomacroglobulina de outras espécies de aves. É uma proteína praticamente esférica e sofre desnaturação em solução de 6,0 M de hidrocloreto de guanidina. Sofre desnaturação térmica em temperatura entre 62 e 64°C em pH 7,0 apresentando baixo teor de α -hélice na molécula. Em pH 2,0 sofre dissociação em duas metades (SGARBIERI, 1996).

A avidina é uma glicoproteína básica composta de quatro subunidades idênticas. Representa 0,5% das proteínas do albúmen de ovo de galinha e apresenta atividade antimicrobiana (ORDÓÑEZ et al., 2005).

2.4.4 Gema

A gema é uma dispersão de fosfoproteínas e lipoproteínas. Há também algumas lecitinas que, juntamente com as lipoproteínas, tornam a gema do ovo um ótimo emulsificante (ORNELLAS, 1985). Esta parte do ovo é composta por aproximadamente 50% de sólidos. Durante o período de armazenamento ocorre migração de aproximadamente 2% de água do albúmen para a gema (MULLER & TOBIN, 1996; PROUDLOVE, 1996).

Também é na gema que se encontra a gordura do ovo, incluindo o colesterol. A composição da gema pode variar bastante de acordo com o tipo de alimentação oferecida às aves. Uma pequena parte dos carboidratos é formada de glicose em estado livre; estes e as cinzas podem chegar a 1%, sendo os principais elementos o fósforo, o cálcio e o potássio (MADRID et al., 1996).

A gema é uma emulsão de gordura em água, constituída por um terço de proteínas de dois terços de lipídeos. A fração lipídica é constituída por 66% de triacilgliceróis, 28% de fosfolipídeos e 5% de colesterol; 64% de ácidos graxos são insaturados, predominando o C18:1 e o C18:2 (ORDÓÑEZ et al., 2005).

Os fosfolipídeos são ricos em ácidos graxos insaturados, comparado aos triacilgliceróis, sendo que a composição dos ácidos graxos destes lipídeos pode variar em função do alimento ingerido pela ave. A composição dos ácidos graxos saturados, principalmente palmítico e esteárico, não varia com a alimentação (MADRID et al., 1996). Os lipídeos da gema do ovo têm digestibilidade elevada para o homem (94 a 96%), por se encontrarem em estado emulsionado. Esta digestibilidade é maior para os triacilgliceróis (98%), que representa a fração mais rica em ácidos graxos saturados. A digestibilidade dos fosfolipídeos pode chegar a 90%. A grande quantidade de ácidos graxos insaturados (2/3 dos ácidos graxos totais) e especialmente em ácido linoléico, é nutricionalmente importante para a alimentação humana (CLOSA et al., 1999).

A coloração amarelada da gema é devida principalmente à presença de carotenóides. A gema contém camadas de cor amarelo claro e escuro, alternadas, cercadas pela membrana vitelina e inclui uma pequena gema branca que se estende do centro para o germe, onde o desenvolvimento do embrião, no ovo fértil, tem início. Essa gema branca nem sempre endurece completamente durante a cocção. A calaza, que mantém a gema em sua posição, no interior do ovo, é uma estrutura fibrosa, opaca, que se estende através da clara até as extremidades do ovo, de forma contínua, com uma camada calazífera recobrimdo a gema (GRISWOLD, 1972).

A fração protéica é formada de uma mistura de proteínas complexas compostas de glicoproteínas, fosfoglicoproteínas, lipoproteínas e fosfoglicolipoproteínas (SGARBIERI, 1996).

A gema é uma dispersão de grânulos numa fase aquosa contínua ou plasma. De acordo com o tamanho das partículas, a gema pode ser classificada em: gotas de gema, em formato de glóbulos de gordura compostos principalmente de lipídeos, de

tamanho bastante variado, entre 20-40 μm de diâmetro; e grânulos apresentando formato mais uniforme, compostos de basicamente de proteínas, apresentando diâmetro de 1,0 – 1,3 μm , podendo possuir lipídeos e substâncias minerais em sua estrutura (BELITZ & GROSCH, 1988).

As proteínas e os lipídios da gema devem ser considerados conjuntamente, tanto do ponto de vista químico quanto funcional. A gema é uma fonte de lipídios facilmente dispersáveis na água e que permite a emulsão de outras substâncias. Estas propriedades são devidas ao elevado conteúdo em fosfolipídios e ao fato de que todos os lipídios – incluindo os triacilgliceróis – estão associados pelo menos a duas proteínas (vitelina e vitelenina) (LINDEN & LORIENT, 1996).

Os constituintes da gema podem ser separados por centrifugação. A centrifugação permite separar três frações: a fração de baixa densidade (LDF), a fração de elevada densidade (HDF) e a fração aquosa. A fração de baixa densidade flutua no topo do tubo da centrífuga; a de alta densidade sedimenta na forma de pellets. A fração aquosa fica entre as duas outras frações (SGARBIERI, 1996; LINDEN & LORIENT, 1996). Na Tabela 3 é apresentada a composição da gema do ovo de galinha.

TABELA 3 - Composição da gema do ovo de galinha.

| Proteína | Extrato seco (%) | Proteínas da gema (%) | Peso molecular (Daltons) | Lipídeos % | Fósforo nas proteínas% | Localização (estrutura) |
|---------------------------------|------------------|-----------------------|---|------------|------------------------------|-------------------------|
| Fosvitina | 4 | 10 | 36.000 | 0 | 10 | grânulos |
| Lipovitelina(HDL) | 16 | 36 | 400.000 | 20 | $\alpha=0,5$ $\beta=0,25$ | grânulos |
| Lipovitelenina(LDL) | 68 | 24 | $3 \text{ e } 10 \times 10^6$ | 88 | 0,1 | Fase contínua |
| Livetina | 10 | 30 | $\alpha=80.000$ $\beta=45.000$ $\gamma=150.000$ | 0 | - | Fase contínua |
| York riboflavin Binding protein | 1,5 | 0,4 | 36.000 | 0 | 0,2 | - |

Fonte: LINDEN & LORIENT (1996).

As proteínas da fração de densidade baixa (LDF) possuem uma estrutura em micelas, contendo fosfolipoproteínas em que a porção rica em lipídios neutros

constitui a parte central da micela, enquanto que a parte fosfolipídica e protéica se posicionariam na superfície da micela. Esse tipo de estrutura é corroborado pela susceptibilidade da LDF de ser atacada pela fosfolipase C e pela papaína. As forças que dão estabilidade a esse sistema formado por lipídios, fosfolipídios e glicoproteínas são do tipo interações hidrofóbicas ou de Van der Waals (SGARBIERI, 1996).

Um exemplo desta fração protéica de baixa densidade são as lipoviteleninas. Mediante centrifugação fracionada, se obtém diversos componentes de densidade variável. A fração lipídica constitui 84 a 90% do extrato seco e compõe-se em 74% de triglicerídios e 26% de fosfolipídios. A fração fosfolipídica contém, preferencialmente (75%) fosfatidilcolina, mas possui também fosfatidilcolamina (18%), esfingomiélin e lisofosfolípido (BELITZ & GROSCH, 1988).

A fração LDF é composta de duas lipoproteínas de elevado peso molecular, a LDF1 (com peso molecular $10,3 \times 10^6$ Daltons e representando 20% do total da fração LDF) e LDF2 (com peso molecular $3,3 \times 10^6$ Daltons e representando 80% do total). A fração LDF é formada de fosfolipoproteínas e de glicoproteínas, contendo 3,0% de carboidrato ligado à asparagina. As evidências sugerem ainda que as proteínas da fração LDF são formadas de duas unidades polipeptídicas de pesos moleculares 10.000 e 20.000 Daltons (SGARBIERI, 1996).

As proteínas da fração de densidade elevada (HDF) é também denominada lipovitulina e aparece em grânulos, associadas com outra proteína, a fosvitina. Essa associação é provavelmente devida às propriedades acídicas e atípicas da fosvitina (LINDEN & LORIENT, 1996).

As lipoviteleninas são lipoproteínas que têm as proteínas e os fosfolipídios situados na superfície de uma estrutura esférica, cuja fração lipídica constitui 22% do extrato seco e onde há aproximadamente 35% de triacilgliceróis, 60% de fosfolipídios e 5% de colesterol (BELITZ & GROSCH, 1988; LINDEN & LORIENT, 1996).

A eletroforese de poliacrilamida (PAGE), em presença de dodecil sulfato de sódio (SDS), revela duas formas distintas de lipoviteleninas: lipovitulina a e lipovitulina b. Análises de aminoácidos, nitrogênio, enxofre e fósforo nessas proteínas, livres da fração lipídica (viteleninas), indicaram que a diferença entre as duas formas está no conteúdo de fósforo: 0,53% para a vitelina a e 0,30% para a vitelina b. A composição em aminoácidos parece ser idêntica para as duas viteleninas (SGARBIERI, 1996).

Essas proteínas contêm ainda baixo teor (0,75%) de carboidrato. O peso de lipovitelina é de 4×10^5 Daltons; os dois componentes (a e b) representam subunidades de pesos moleculares equivalentes. Cada subunidade a ou b é formada de dois polipeptídios contendo arginina e lisina nas extremidades N-terminal. Em pH inferior a 7,0 as lipoproteínas formam dímeros, que se dissociam gradualmente em monômeros à medida que aumenta o pH. Grupos sulfidrilos e fosfóricos não estão envolvidos na dimerização, o que indica que as associações são, predominantemente, do tipo hidrofóbico (FENNEMA, 1993; SGARBIERI, 1996).

A fosvitina é uma fosfoglicoproteína que contém cerca de 70% de todo o fósforo da gema de ovo e representa 12% da proteína total da gema que se apresenta na forma de um complexo nos grânulos da fração HDF. Todo o fósforo está ligado à proteína como O-fosforilserina (BELITZ & GROSCH, 1988).

O peso molecular da fosfoviteína é 35.500 Daltons, contendo um teor elevado de serina (54% dos aminoácidos) ou 122 resíduos de serina dentre os 225 resíduos de aminoácidos totais. A fosvitina contém 120 resíduos de fosfato por mol de proteína. Contém ainda 6,5% de carboidrato ligado à molécula protéica como um único heteropolissacarídeo, através de uma ligação glicosídica à asparagina. Não possui cisteína e, possivelmente, apenas um resíduo de tirosina e um de triptofano (SGARBIERI, 1996).

Devido à sua composição e à seqüência de seus aminoácidos, a fosvitina comporta-se como um polieletrólito, ligando fortemente vários íons e substâncias polares como Ca^{+2} , Mg^{+2} , Mn^{+2} , Co^{+2} , Se^{+2} , Fe^{+2} , polilisina, protamina e citocromo C (SGARBIERI, 1996).

Esta fosfoproteína é separada por eletroforese, obtendo-se dois componentes da fosvitina, denominados a-fosvitina e b-fosvitina. Na presença de dodecil sulfato de sódio os dois componentes se dissociam em polipeptídeos, que se agregam rapidamente em meio aquoso (FENNEMA, 1993).

As proteínas da fração hidrossolúvel (HSF) da gema são denominadas livetinas. São formadas por três proteínas diferentes, a-livetina, b-livetina e g-livetina, com pontos isoelétricos na faixa de pH entre 4,8 e 5,0. As livetinas a, b e g estão presentes nas proporções 2:3:5, com pesos moleculares 80.000, 45.000 e 150.000 Daltons, respectivamente. A livetina g pode ser separada por precipitação de uma solução de 20% de isopropanol a 0°C ou 37% de sulfato de amônio. As livetinas a e g podem ser separadas por eletroforese (LINDEN & LORIENT, 1996).

As livetinas b e g são glicoproteínas contendo 7,0% de hexose (livetina b) e 2,6% hexose mais 1,8% de hexosamina (livetina g). Do ponto de vista imunológico, as livetinas a, b e g são homólogas, respectivamente, à soralbumina, a₂-glicoproteína e g-globulina (SGARBIERI, 1996).

Outra proteína identificada na fração aquosa da gema é uma proteína ligadora de riboflavina. Essa proteína representa apenas 0,4% da proteína total da gema do ovo. É uma fosfoglicoproteína que se liga à riboflavina, formando complexo na proporção de 1:1. Contém 0,2% de fósforo e pI entre 4,1 e 4,2, indicando tratar-se de uma proteína ácida. O complexo é estável na faixa de pH entre 3,8 e 8,5; a riboflavina se dissocia em pH 3,0. É formada por 297 resíduos de aminoácidos e 12% de carboidratos: seis resíduos de glicosamina, três de glicose, cinco de galactose e um de manose por mol de proteína. O peso molecular é 36.000 Daltons, com um volume parcial específico de 0,699 cm³/g de proteína (SGARBIERI, 1996).

2.5 Parâmetros de qualidade Interna do ovo

Existem cinco métodos para estimar a qualidade de ovos abertos, com bases quantitativas, relacionadas ao albúmen: altura da clara (WILGUS & VAN WAGENEN, 1936); índice do albúmen (HEIMAN & CARVER, 1936); índice da área do albúmen (PARSONS & MINK, 1937); percentagem da clara espessa e fina (HOLTS & ALMIQUIST, 1932); e a unidade “Haugh” (HAUGH, 1937). O parâmetro mais usado para expressar a qualidade do albúmen é a unidade Haugh. Haugh (1937) verificou que a qualidade do ovo varia com o logaritmo da altura do albúmen espesso. Sendo assim, ele desenvolveu um fator de correção para o peso do ovo, que multiplicado pelo logaritmo da altura do albúmen, corrigida por 100, resultou na unidade “Haugh” (BRANT et al., 1951).

A unidade Haugh é uma expressão matemática que atribui um valor qualitativo ao ovo. De modo geral, quanto maior o valor da unidade Haugh, melhor a qualidade do ovo (RODRIGUES, 1975). O valor da unidade Haugh de ovos frescos diminui com o aumento da idade da ave (CUNNINGHAM et al., 1960; FLETCHER et al., 1981, 1983), embora esse aumento possa ser explicado, parcialmente, por efeitos patológicos sub-clínicos (SPACKMAM, 1985). Com o envelhecimento da ave, ocorre aumento no tamanho dos ovos (EISEN et al., 1962).

A composição da ração e a raça da ave podem afetar o escore da unidade Haugh. Outros fatores, como estação do ano e método de criação também afetam o escore da unidade Haugh (CUNNINGHAM et al., 1960; PROUDFOOT, 1962). A demora na coleta dos ovos, armazenados em ambientes quentes, poder ocasionar declínio da qualidade do albúmen (ROSSI & POMPEI, 1995).

As condições de armazenamento de ovos, como o tempo e a temperatura, têm importância fundamental na manifestação da capacidade de formação de espuma, essencial para a boa qualidade organoléptica, particularmente de textura dos produtos processados. Por terem seus constituintes naturalmente protegidos pela casca (CARVALHO et al.; 2007), a qualidade do albúmen é preservada (SMITH & NGUYEN, 1984).

Para os produtores, a qualidade está relacionada com o peso do ovo e resistência da casca (como defeitos, sujeiras, quebras e manchas de sangue). Para os consumidores, a qualidade está relacionada com o prazo de validade do produto e com as características sensoriais, como cor da gema e da casca. Para o processamento, a qualidade está relacionada com a facilidade de retirar a casca, com a separação da gema do albúmen, com as propriedades funcionais e com a cor da gema (ROSSI & POMPEI, 1995).

2.6 Microbiologia do ovo

Os ovos possuem diversas estruturas e mecanismos que protegem a gema de contaminação microbiológica, como a cutícula, casca, membranas internas e o albúmen (TRANTER & BOARD, 1982).

A microbiota dos ovos se compõe de 38% de bactérias que não formam esporos, entre elas *Pseudomonas* e *Proteus*, 30% de bactérias que formam esporos, 25% de cocos, 4% de leveduras e 3% de actinomicetos; no ovo de galinha é raro encontrar bactérias patogênicas como *Salmonella*. Quanto aos bolores, foram encontradas espécies como *Penicillium*, *Cladosporium* e *Sporotrichum*; além dessas espécies, também foi detectada a presença de *Thamnidium* e *Mucor*, que somente se desenvolvem com alta umidade do ar. A porcentagem de contaminação é sempre maior nas gemas do que nas claras (PLANK, 1963).

Salmonella sp. presentes na superfície da casca de ovos podem penetrar no seu interior, dependendo da qualidade da casca, condições de higiene, tempo e temperatura de estocagem (HUMPHREY et al., 1991; SCHOENI et al., 1995). Podem

invadir o conteúdo de ovos de casca íntegra (BERRANG et al., 1999). Outros fatores também interferem nesta invasão, como o esfriamento natural do ovo após a postura, umidade relativa do ar e tratamentos da superfície da casca (SAUTER & PETERSEN, 1974).

O resfriamento do ovo é importante para controlar a perda de qualidade, que tem início logo após a postura e que independe da ação de micro-organismos. O armazenamento deve ser feito entre 13°C e 15°C, com 70% de umidade relativa. Em temperaturas entre -1,7°C e -0,55°C com 80 a 85% de umidade relativa, a qualidade pode ser mantida por até seis meses. Tratamentos auxiliares podem ser administrados no armazenamento refrigerado, como a impregnação da casca com óleo mineral, causando o fechamento dos poros, e impedindo a desidratação e a perda de CO₂ (CAMARGO et al., 1984).

A contagem microbiana fornece uma indicação do tipo da matéria-prima usada e das condições sanitárias de manuseio. Contagens altas são indicativas de baixa qualidade, independentemente do que possa mostrar a contagem de bactérias ativas. Os efeitos da pasteurização, secagem, congelamento ou armazenamento prolongado podem reduzir a população ativa a ponto de o produto ser julgado como de boa qualidade sob o ponto de vista microbiológico, embora possa, de fato, conter material de má qualidade ou mesmo decomposto (SHARF, 1972).

Outra forma de prevenir a contaminação microbiológica do ovo, com uso de luz ultravioleta para inativar a presença de *Salmonella* sp. Até 95% de destruição do micro-organismo em ovos contaminados superficialmente pode ser obtida após exposição à radiação ultravioleta por 5 minutos, a 50 centímetros da fonte, seguido de lavagem em 100 mL de água peptonada e manipulação por 2 minutos. O uso de tempos mais curtos (30 segundos ou 1 minuto) não é suficiente para a destruição do micro-organismo (IAMANAKA et al., 1999).

2.7 Armazenamento do ovo

O armazenamento do ovo fresco deve ser cuidadoso, devido às perdas que ocorrem em qualidade, principalmente através de micro-organismos, perdas de peso e todos os processos de desintegração químicos e físicos, que têm uma influência adversa sobre o estado original de frescor e sobre a palatabilidade. Os ovos se alteram por putrefação bacteriana e fúngica, processo que se retarda mediante

armazenamento em baixas temperaturas ou por tratamento da casca para fechar os poros. Por exemplo, com silicato sódico, pasta de hidróxido de cálcio, ou imersão em óleo mineral e produtos semelhantes resultam no fechamento dos poros (HAWTHORN, 1983).

2.8 Características para o consumo

A condição do ovo inteiro pode ser avaliada, segurando-o à frente de um foco de luz, numa sala escura. A luz do ovoscópio revela a condição da casca, o tamanho da câmara de ar, a nitidez, a cor e a mobilidade da gema. O estado do albúmen pode também ser determinado pela posição e pela liberdade de movimento da gema: albúmens mais espessos estão associadas a gemas menos móveis e menos visíveis. Anormalidades, tais como manchas de sangue ou de carne, desenvolvimento embrionário e deterioração também são evidentes. Manchas de sangue são devidas à ruptura de um vaso sangüíneo no saco da gema (folículo) dentro do ovário da galinha. Se ocorrer vários dias antes da ovulação, transforma-se em manchas, por causa das mudanças químicas que alteram sua cor (GRISWOLD, 1972).

Para efeito de comercialização, os ovos são agrupados em três classes: ovos frescos, refrigerados e conservados (BRASIL, 1952; MADRID et al., 1996):

Ovos frescos: aqueles que, apresentando cor e sabor característicos, não sofreram outras manipulações além de limpeza a seco. Observados em um ovoscópio, aparecem completamente claros, sem qualquer tipo de sombra. O albúmen é firme, transparente e sem turvações. A gema é de cor uniforme, podendo oscilar do amarelo claro ao laranja avermelhado, sem aderência com a casca e conservando-se fechada e inteira. Mantém este status se forem comercializados em até 15 dias após a postura (BRASIL, 1952; MADRID et al., 1996).

Ovos refrigerados: os que se mantêm de 15 a 30 dias após a postura, em câmaras frigoríficas ou locais onde a temperatura não passe dos 4 °C (BRASIL, 1952; MADRID et al., 1996).

Ovos conservados: aqueles que permaneceram em câmara frigorífica a 0 °C durante um período entre um e seis meses (BRASIL, 1952; MADRID et al., 1996).

2.9. Alterações durante o armazenamento

Existem vários métodos de conservação e armazenagem de ovos, como resfriamento rápido, revestimento de óleo e controle de umidade. Testes comprovaram que houve pequenas perdas em lipídios totais, na composição dos ácidos graxos e no total de ácidos graxos em ovos armazenados por 40 dias a 12,8°C. Já em ovos armazenados por até 12 meses a zero °C, não houve mudanças quanto à distribuição lipídica e conteúdo de ácidos graxos (STADELMAN et al., 1977).

Logo que o ovo é posto, começam a ocorrer mudanças que baixam sua qualidade e, eventualmente, causam sua deterioração. Essas mudanças podem ser retardadas, porém não podem ser evitadas inteiramente. Durante a maturação, o tamanho da câmara de ar vai aumentando, a gema se alarga, suas membranas enfraquecem, o albúmen torna-se menos viscoso, o ovo torna-se mais alcalino e seu odor e sabor se deterioram (GRISWOLD, 1972).

Devido à porosidade da casca, haverá trocas gasosas com a atmosfera externa ao ovo e, conseqüentemente, perda de CO₂ e evaporação de água da solução, se a umidade exterior for mais baixa do que no interior do ovo. Altera-se, assim, o sistema tampão com aumento do teor de Na₂CO₃ e elevação do pH, o que leva a uma alteração na estrutura do gel com diminuição da viscosidade do albúmen e da gema. A perda de água do albúmen para a atmosfera leva a uma perda de água também da gema, alterando a consistência dos dois géis (BOBBIO & BOBBIO, 1992).

À medida que se resfria, seu conteúdo se retrai e o ar entra através da casca porosa, criando a câmara de ar geralmente localizada na extremidade alargada do ovo. Essa câmara continua a crescer pela perda de umidade durante o armazenamento. A evaporação pode ser controlada aumentando a umidade do local de armazenamento para 85%, mas isto ocasionaria a putrefação por fungos. Pode-se adicionar CO₂ na atmosfera do armazenamento para evitar isto. Se for usado 60% de dióxido de carbono, a umidade pode ser mantida em 96%, reduzindo a evaporação a valores pequenos, juntamente com a prevenção do desenvolvimento de fungos. Com apenas 2,5% de CO₂ e 80% de umidade relativa, impede-se o desenvolvimento de fungos, mas a velocidade de evaporação será relativamente rápida (HAWTHORN, 1983).

Durante o armazenamento do ovo ocorre transformação da ovoalbumina em S-ovoalbumina e a dissociação do complexo ovomucina-lisozima, com destruição do gel

de ovomucina. Estas reações são importantes no plano tecnológico, pois provocam a perda, ao menos parcial, das propriedades gelificantes e espumantes e também a liquefação do albúmen de ovo (FENNEMA, 1993; LINDEN & LORIENT, 1996).

Durante o armazenamento, o pH do ovo se eleva por causa da sua perda de dióxido de carbono. O pH do albúmen, originalmente cerca de 7,9, eleva-se para 9,3 nos três primeiros dias de armazenamento, mudando pouco daí em diante. O pH da gema, inicialmente cerca de 6,2, sobe vagarosamente, durante o armazenamento prolongado. O dióxido de carbono originado pelos processos metabólicos na galinha, dissolve-se no ovo para formar ácido carbônico e bicarbonatos que atuam como tampões. À medida que o ovo é armazenado, o dióxido de carbono se difunde através da casca até que se equilibre com a relativamente pequena quantidade existente no ar (GRISWOLD, 1972; LINDEN & LORIENT, 1996).

O crescimento de *Salmonella entérica* sorovar Enteritidis em ovos de classe A durante o armazenamento de 16 dias à temperatura ambiente (26°C), com cascas dos ovos inicialmente desinfetadas e posteriormente inoculadas, apresentam desenvolvimento microbiano na fração da gema, enquanto que ovos submetidos aos mesmos procedimentos e mantidos refrigerados apresentam pouco ou nenhum crescimento deste microrganismo. O crescimento do microrganismo na gema pode ser explicado pela migração da bactéria da casca através do albúmen para a gema (HAMMACK et al., 1993).

Em estudos realizados sobre o efeito da temperatura e do período de armazenamento sobre as propriedades funcionais do albúmen de ovo de galinha, com temperatura ambiente (25°C) e refrigeração (8°C) durante 21 dias, as mesmas decresceram com o armazenamento à temperatura ambiente e estas, em condições de refrigeração, foram inferiores às dos ovos frescos. Foi constatado, no entanto, que ovos com sete dias de armazenamento à temperatura de 25°C apresentam maior rigidez do que ovos frescos; já na temperatura de 8°C, não houve efeito do tempo de armazenamento na dureza dos géis. Em ovos com 14 dias de armazenamento à temperatura de 25°C, obteve-se maior solubilidade e menor estabilidade da espuma, dureza do gel e qualidade do albúmen (ALLEONI & ANTUNES, 1999).

2.10. Reologia do ovo

O Termo reologia significa o estudo do escoamento de fluídos, ou seja, o estudo da resposta interna dos materiais quando submetidos à ação de forças externas (BARNES et al., 1989).

Os ovos são ingredientes de grande importância na indústria de alimentos, sendo fundamentais na fabricação de produtos, como maionese, massas, produtos de panificação e confeitaria (STADELMAN & COTTERILL, 1977). A gema e o albúmen de ovo são ingredientes extensamente utilizados em muitos produtos alimentícios devido às suas propriedades poli-funcionais, tais como formação de espuma, coagulação pelo calor, emulsificação e adesão (MINE, 1995).

A maioria dos fluidos alimentícios apresenta comportamento não Newtoniano, ou seja, geralmente as suas propriedades reológicas, a uma temperatura constante, dependem da tensão aplicada ou podem ainda depender também do tempo de cisalhamento. Assim, a maioria destes fluidos não se caracteriza somente pela viscosidade, já que esta não é constante, necessitando para sua caracterização ao menos de dois parâmetros e modelos mais complexos do que o de Newton (HOLDSWORTH, 1971).

Em temperatura constante, a viscosidade aparente para fluídos independentes do tempo, depende somente da taxa de deformação. Para os fluídos dependentes do tempo, a viscosidade aparente depende também da duração do cisalhamento. Comportamento de escoamento independente do tempo pode ser dividido nas categorias pseudoplásticas e dilatantes, dependendo se a viscosidade aparente decresce ou aumenta, com a taxa de deformação (BARNES et al., 1989).

2.10.1 Viscosidade

A viscosidade da gema do ovo confere boa estabilidade às emulsões. Existe uma relação linear entre a estabilidade da emulsão e a raiz quadrada da viscosidade. A adição de albúmen à gema de ovo diminui a estabilidade das emulsões formadas e este efeito está essencialmente ligado a um decréscimo na viscosidade. Esta observação tem importância, já que a gema de ovo industrial pode, às vezes, conter até 20% de albúmen (LINDEN & LORIENT, 1996).

2.10.2 Temperatura

A maioria das proteínas são desnaturadas quando expostas a um moderado aquecimento (60° a 100°C por período de 1 hora). A desnaturação excessiva da proteína freqüentemente resulta na sua insolubilização, afetando as propriedades funcionais dependentes da solubilidade (ARAUJO, 1999).

Do ponto de vista nutricional, a desnaturação parcial melhora a digestibilidade e a disponibilidade biológica de aminoácidos essenciais. O tratamento térmico moderado provoca a destruição de aminoácidos sensíveis como cisteína e lisina, porém após o aquecimento moderado, as proteínas são mais facilmente digeridas, graças à alteração de sua conformação nativa, permitindo que as proteases atuem mais facilmente. Geralmente, a solubilidade da proteína diminui com o aumento da temperatura e tempo de aquecimento, embora existam variações entre as mesmas. No tratamento térmico mais severo (acima de 100°C), ligações cruzadas podem ser formadas, afetando a funcionalidade e impedindo a digestão da proteína, o que diminui seu valor nutricional. Em temperaturas acima de 180°C, ocorre a destruição de aminoácidos e reduz a digestibilidade da proteína (COELHO et al., 1980)

2.10.3 Estabilidade e formação de emulsões

As importantes propriedades emulsificantes da gema de ovo são atribuídas aos fosfolipídios e, sobretudo, às lecitinas presentes na forma de complexos lipoprotéicos. As lecitinas e as lipovitelininas contribuem para diminuir a tensão superficial e facilitam a formação da emulsão, pois não tem influência sobre a estabilidade. São as lipoproteínas de baixa densidade (LDL) que melhor estabilizam as emulsões (BELITZ & GROSCH, 1988; LINDEN & LORIENT, 1996).

2.10.4 Formação de Espuma

A espuma obtida pelo processamento do albúmen tem importante papel em muitos produtos alimentares, pois torna a textura leve e contribui para seu crescimento. O albúmen batido é um colóide constituído de bolhas de ar, cercadas de albumina, que passou por uma desnaturação da superfície líquido-ar. Esta

desnaturação é devida à desidratação e ao estiramento da albumina durante o batimento, e torna parte da proteína insolúvel, endurecendo e estabilizando a espuma. Durante a desnaturação, as moléculas de proteína se desdobram e suas cadeias polipeptídicas se distendem com seus eixos longos, paralelos à superfície. O batimento em excesso incorpora muito ar, distendendo a proteína de modo a torná-la fina e menos elástica. A elasticidade é necessária para espumas que sofrem tratamento térmico, de modo que, antes da proteína ser coagulada pela temperatura alta, o ar é incorporado expande a estrutura sem romper as paredes celulares (GRISWOLD, 1972; FENNEMA, 1993).

Durante a formação da espuma à base de proteína ocorre uma seqüência de reações. É necessária aplicação de energia para começar o processo, com isso, as proteínas solúveis chegam à interfase ar-água pela difusão, absorção, concentração e tensão superficial crítica (PHILLIPS et al., 1994).

O rearranjo dos polipeptídeos ocorre na interface pela orientação da mobilidade polar, a qual é direcionada para a água, e os segmentos apolares preferem se direcionar para as partículas de ar. Este processo ocorre através das interações não covalentes dos polipeptídeos, formando as bases de um filme coeso e contínuo (PHILLIPS, 1981).

Ao incorporar ar dentro do albúmen, se forma uma espuma estabilizada de proteínas de globulina, que incluem cerca de 10% das proteínas totais, e a ovomucina. Essas proteínas têm capacidade de formar um filme em volta das bolhas de ar à medida que são empurradas para dentro do albúmen. Este filme é emulsificante, que envolve as gotículas de gordura na água, fixando-as na mistura. Qualquer traço de gordura livre no processo, interfere no desenvolvimento do filme protéico em volta das bolhas de ar, neste caso, seria impossível para a proteína estabilizar a espuma produzida no processo de incorporação de ar (PROUDLOVE, 1996).

As características estruturais da proteína que levam para a formação de espuma são: o baixo peso molecular e moléculas anfipáticas. Para a formação de uma cápsula de proteína que segure uma bolha de ar é necessário que os componentes protéicos apresentem interações não covalentes, como as forças eletrostáticas e hidrofóbicas, as pontes de hidrogênio e as ligações dissulfídicas. As características moleculares inerentes das proteínas influenciam a formação e a estabilidade da espuma à base de proteína (PHILLIPS et al., 1990).

O papel crítico da ligação dissulfídica é estabilizar a estrutura da proteína, restringindo a abertura da molécula e prevenindo a exposição completa das regiões hidrofóbicas (LI-CHAN & NAKAI, 1989). A formação de ligações dissulfídicas na interface ar-água pode melhorar a estabilidade da espuma (PHILLIPS et al., 1994).

A concentração de proteína, a espessura do filme, a força iônica, o pH, a temperatura e a presença de outros componentes nos sistemas de alimentos em adição com as propriedades físico-químicas das proteínas, afetam as propriedades espumantes. Com o aumento da concentração de proteína, geralmente ocorre a formação de um filme lamelar espesso, e isso resulta numa melhor estabilidade da espuma (PHILLIPS et al., 1994).

3 OBJETIVO

Avaliar a composição física e química (composição centesimal) de ovos de emas, mantidos em temperatura refrigerada de 10°C, em cinco períodos de armazenamento, sete, 14, 21, 28 e 35 dias.

Avaliar a resistência à contaminação experimental, por *Salmonella entérica* sorovar Enteritidis, em três períodos de armazenamento, 10, 20 e 30 dias.

Avaliar as perdas qualitativas das frações de albúmen e gema dos ovos submetidos aos períodos de armazenamento de sete, 14, 21, 28 e 35 dias.

Caracterizar os parâmetros reológicos dos ovos de emas frescos e armazenados em período de sete dias, nas frações de albúmen e gema, para utilização nos processamentos pela indústria de alimentos.

Caracterizar as proteínas solúveis nas frações de albúmen e gema de ovos de emas frescos e submetidos ao tempo de armazenamento de sete, 14 e 21 dias.

4 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado na Faculdade de Veterinária e Zootecnia-EVZ, da Universidade Federal de Goiás-UFG, campus Samambaia, no período de maio a dezembro de 2013.

Os ensaios de determinação da composição centesimal foram realizados no Laboratório de Nutrição Animal, do departamento de Produção Animal da EVZ/UFG.

Os ensaios microbiológicos foram realizados no Laboratório de Bacteriologia da EVZ/UFG. Os ensaios reológicos foram realizados no Laboratório Multi-Usuário da Faculdade de Agronomia da UFG.

Os ensaios de caracterização protéica e eletroforese foram realizados no laboratório de Biologia Molecular do Instituto de Ciências Biológicas da UFG.

4.1 Tratamentos e delineamento experimental

Foram utilizados um total de 41 ovos de emas, provenientes do município Goiânia, do Estado de Goiás. Os ovos foram colhidos, acondicionados individualmente e transferidos para o laboratório, dentro de recipiente térmico a 20°C.

A composição centesimal e a qualidade foram obtidas com a utilização de 25 ovos distribuídos em cinco tratamentos compostos de cinco ovos, submetidos aos períodos de armazenamento de sete, 14, 21, 28 e 35 dias, mantidos refrigerados a 10°C. Os resultados foram submetidos a análise de variância e comparados com o teste de TUKEY a 95% de significância.

As análises microbiológicas e ensaios experimentais de contaminação por *Salmonella* Enteritidis foram realizadas em 12 ovos, distribuídos em três lotes de quatro ovos, avaliados nos períodos de armazenamento de 10, 20 e 30 dias, mantidos refrigerados a 10°C.

As análises do comportamento reológico, em suas frações de albúmen e gema, foram realizadas em seis ovos de emas, distribuídos em dois lotes, nos tratamentos de três ovos frescos e três ovos armazenados por período de sete dias.

As caracterizações das proteínas de albúmen e gema foram realizadas em dois ovos frescos, três preservados à temperatura de -80°C, amostras dos ovos armazenados dos períodos de sete, 14 e 21 dias, e um ovo de galinha que serviu como parâmetro comparativo.

4.1.1 Determinação da composição centesimal

Para a avaliação das perdas qualitativas, baseadas nos parâmetros de composição centesimal, 25 ovos foram divididos em cinco lotes compostos de cinco ovos cada e foram submetidos aos períodos de armazenamento de sete, 14, 21, 28 e 35 dias, mantidos em temperatura de 10°C, e avaliados em suas frações de casca, membrana, albúmen e gema, separadamente.

4.1.1.1 Perda por dissecação (Umidade)

Após o período de armazenamento para cada lote submetido aos tratamentos, os ovos foram quebrados, e as frações casca, albúmen e gema foram secas em estufa de circulação forçada por período de três dias. Após a pré-secagem em estufa a 55°C, foram pesados aproximadamente um grama de cada fração e submetidas a secagem definitiva em estufa de 105°C, por período de 24 horas, constituindo-se as amostras para os tratamentos e suas repetições

Após a secagem definitiva, as amostras foram transferidas para o dissecador com sílica, até a estabilização do peso e da temperatura, e pesados. Os valores de pesagem foram aplicados aos cálculos para obtenção da umidade componente de cada fração analisada (casca, albúmen e gema).

4.1.1.2 Resíduo por incineração (cinzas)

Para a composição de cada amostra, foi pesado um grama de cada fração do ovo (albúmen, gema e casca) pré-secos em estufa e colocada em cadinho de porcelana, previamente aquecido em estufa a 105°C por 24 h, resfriado em dissecador até a temperatura ambiente e pesada. Após a pesagem, as amostras nos cadinhos de porcelana foram colocadas na mufla para incineração. O protocolo de incineração seguiu uma planilha de temperatura na primeira hora de 250°C, e aumentando de 100°C a cada hora, até a temperatura de 550°C, por mais uma hora, totalizando quatro horas a mufla foi desligada. Após um mínimo de quatro horas a mufla foi aberta, as amostras retiradas e colocadas no dissecador, para a estabilização da temperatura, e posterior pesagem.

4.1.1.3 Protídeos

A determinação das proteínas totais em albúmen e gema foi realizada pelo método de Kjeldahl, para a determinação de proteína através da determinação de um elemento ou um grupo pertencente à proteína.

4.1.1.4 Lipídeos

A determinação de lipídeos totais, nas frações de albúmen e gema dos ovos submetidos aos tratamentos de armazenamento e suas repetições, foram obtidas através do método de Soxhlet

4.1.2 Avaliação da qualidade do ovo

4.1.2.1 Qualidade interna do ovo: Unidade Haugh

Para a avaliação da qualidade interna dos ovos foi utilizada a unidade Haugh (UH), proposta por Raymond Haugh, em 1937. Foi utilizada a expressão modificada $UH = 100 \times \log(H - 1,7W^{0,37} + 0,76)$, onde H é a altura de albúmen denso e W é o peso do ovo inteiro (STANDELMAN & COTTERILL, 1973).

A unidade Haugh para a classificação da qualidade interna dos ovos foi expressa em valores numéricos, onde valores acima de 72 indicam uma boa qualidade dos ovos, os valores entre 72 e 60 indicam uma qualidade intermediária e valores abaixo de 60 na escala indicam uma baixa qualidade dos ovos avaliados.

4.1.2.2 Espessura da casca

A espessura da casca foi determinada utilizando cascas dos ovos quebrados incluindo a membrana, após serem lavadas e secas em estufa a 55°C por 24 horas. Para a obtenção da espessura média da casca foram realizadas medidas nas bordas de quebra da casca, em três pontos laterais, e duas medidas nas extremidades superior e inferior. As medidas foram realizadas com paquímetro digital (DIGITAL CALIPTER 0,01-150,0 mm).

4.1.2.3 Peso da casca

As cascas de todos os ovos analisados foram pesadas separadamente, e os valores de pesos obtidos foram calculados determinando a porcentagem de casca do peso total de cada ovo.

4.1.2.4 Dimensões físicas do ovo

Para a avaliação da variabilidade e de eventuais correlações positivas relacionadas à qualidade ou resistência, foram realizadas as biometrias de comprimento e largura de todos os ovos analisados. As medidas foram obtidas com o uso de paquímetro digital (DIGITAL CALIPTER 0,01-150,0 mm). Para o comprimento foi medido de um pólo ao outro do ovo, e para a determinação da largura foi medido o maior diâmetro lateral.

4.1.2.5 Determinação de pH do albúmen e gema

Para acompanhamento dos valores de pH e perfil de alterações nos tratamentos de tempo de armazenamento, os valores de pH de albúmen e gema foram obtidos com pH-metro digital (PHTEK, ph 100)

4.1.3 Avaliação da contaminação microbiológica

Para avaliar a contaminação de campo e posterior resistência à *Salmonella* Enteritidis com inoculação experimental, foram utilizados 12 ovos de emas, distribuídos em três lotes compostos de quatro ovos cada e submetidos aos períodos de 10, 20 e 30 dias de armazenamento à temperatura de 10°C. Após cada período, os ovos foram avaliados nas frações de casca, membrana da casca, albúmen e gema separadamente, com relação à contaminação e desenvolvimento de *Salmonella* Enteritidis e outras enterobacteriaceae.

4.1.3.1 Avaliação da contaminação de campo

Os ovos frescos de emas provenientes de criatório comercial foram tratados no laboratório de bacteriologia. Estes foram submetidos à colheita de material biológico em câmara de fluxo contínuo de ar, para cultura e caracterização da microbiota existente nas cascas dos ovos, através da coleta por suabe.

Cada ovo foi submetido à coleta de três suabes. Estes suabes foram colocados em meio de enriquecimento água peptonada 0,01% e mantidos em estufa a 37,0°C por 18 a 24 horas..

Após 18-24 horas de incubação, um mL da solução de água peptonada foi transferido para cada tubo de ensaio contendo caldo selenito, caldo rappaport vassiliadis e caldo cérebro coração (BHI), os quais foram incubados em estufa a 37°C por 24 horas.

Dos caldos rappaport, selenito e BHI, foram realizadas as repicagens em placas com meio de cultura seletivos, agares verde brilhante, Macconkey e Hektoen, incubados a 37°C por 18-24 horas.

De cada meio, duas a três colônias foram capturadas por meio de uma alça de níquel e transferidas para o meio seletivo agar triplice ferro (TSI). De acordo com o crescimento em TSI, estes foram selecionados e submetidos aos testes bioquímicos de uréia, indol, vermelho de metila (VM), citrato, malonato e lisina descarboxilase, para confirmação das prováveis bactérias cultivadas.

4.1.3.2 Avaliação da contaminação por *Salmonella* Enteritidis

Após a determinação da contaminação das cascas, os 12 ovos foram submetidos a inoculação de *Salmonella* Enteritidis isolada no laboratório de Bacteriologia da EVZ / UFG.

Os ovos foram submetidos previamente a irradiação ultravioleta dentro de câmara de fluxo de ar, por período de 24 horas. Após a descontaminação, todos os ovos foram inoculados com aplicação e massageamento manual na câmara de fluxo (ANDRADE et al.; 2011), com uma solução salina contendo *Salmonella* Enteritidis na concentração de $8,5 \times 10^7$ UFC/mL e transferidos para câmara de refrigeração onde foram mantidos armazenados a temperatura de 10°C.

Foram compostos três lotes de quatro ovos cada, e cada lote foi avaliado em períodos de armazenamento de 10, 20 e 30 dias. Em cada período os ovos foram quebrados e avaliados nas frações separadas de casca, membrana da casca, albúmen e gema, para a presença de Enterobactériaceae e *Salmonella* Enteritidis.

4.1.4 Avaliação das características reológicas

Para a caracterização reológica das frações de albúmen e gema, foram utilizados seis ovos de emas, distribuídos em dois lotes de três ovos. Um lote foi avaliado fresco no momento da recepção, e o segundo lote foi avaliado aos sete dias de armazenamento, para os mesmos parâmetros.

4.1.4.1 Viscosidade e rampa de temperatura

Para a realização das análises reológicas, e determinação dos valores de viscosidade e taxa de deformação, variação da estrutura de albúmen e gema (gelificação) em função da temperatura de processamento e frequência de agitação para manutenção da estrutura protéica de albúmen e gema de ovos de emas, foi utilizado um reômetro com geometria de cone/placa, RHEOPLUS/32 V3.40 21005438-33024, e acessório para os ensaios TU1=P-PTD200-SN80915348.

O reômetro foi conectado a um computador para controlar a sua operação, registrando os dados de tensão de cisalhamento, taxa de deformação, viscosidade e efeitos da temperatura na viscosidade e na alteração da mudança de fases (coagulação protéica) nas amostras testadas. A taxa de deformação empregada foi especificada entre zero e 500 s^{-1} em duas varreduras: crescente, decrescente, para verificação do comportamento reológico dependente do tempo. Para a frequência, foi testada na faixa de menos um a um Hz. Para a avaliação do comportamento de mudança de fase de albúmen e gema, foi empregada a variação de temperatura entre zero e 100°C . Para todos os ensaios foram calculados o comportamento linear e logarítmico. Todas as medidas experimentais foram realizadas em triplicata.

Para avaliação da curva de escoamento foi utilizado o Modelo de Ostwald-de-Waele, também conhecido como Modelo da Lei da Potência.

4.1.5 Eletroforese em gel de poliacrilâmida

Foram utilizadas nove amostras de ovos de emas, com a aplicação das proteínas solúveis tratadas previamente, em gel de poliacrilamida, segundo protocolo SDS-PAGE, em suas frações separadas de albúmen e gema, para a avaliação do perfil protéico de ovo fresco, conservados à temperatura de -80°C e dos tratamentos de armazenamento de sete, 14 e 21 dias, e um ovo fresco de galinha, nas frações de albúmen e gema para análise comparativa.

Para a aplicação das amostras submetidas à eletroforese, foram preparados os géis em diferentes concentrações de poliacrilamida.

A porção inicial do gel foi composta do gel de empilhamento onde as amostras foram aplicadas. Este foi preparado na concentração de 4%. O gel de resolução foi preparado em concentrações de 12%, 15% e 20%. A Tabela 4 apresenta a composição das soluções em diferentes concentrações utilizadas no experimento.

TABELA 4 - Reagentes e quantidades utilizadas para preparação da solução de gel de poliacrilamida

| Reagente | Concentração | | | |
|------------------------------|--------------|----------|----------|----------|
| | 4% | 12% | 15% | 20% |
| Tris-HCl 1M pH 6,8 | 510 (µL) | - | - | - |
| Tris-HCl 2 M pH 8,8 | - | 3,0 (mL) | 3,0 (mL) | 3,0 (mL) |
| Acrid: bis (39:1) | 600 (µL) | 4,6 (mL) | 2,9 (mL) | 4,4 (mL) |
| H ₂ O bidestilada | 4,2 (mL) | 6,8 (mL) | 2,8 (mL) | 4,0 (mL) |
| SDS 20% | 120 (µL) | 390 (µL) | 195 (µL) | 390 (µL) |
| PA 10% | 60 (µL) | 60 (µL) | 30 (µL) | 60 (µL) |
| TEMED | 9 (µL) | 12 (µL) | 6 (µL) | 12 (µL) |

Para a preparação da amostra de ovos frescos de galinha e ema, foi coletada 13 µg de albúmen e gema frescos e homogeneizadas em 100 µL de água mili-Q.

Para a preparação da amostra dos ovos de emas submetidos aos tempos de armazenamento, secos em estufa, foi coletado 35 µg de amostra e homogeneizado em 1000 µL de água mili-Q. para os tratamentos de sete, 14 e 21 dias de armazenamento. Depois de quantificadas, as amostras foram submetidas à eletroforese em gel de poliacrilamida SDS-PAGE – procedimento de preparação e

corrida dos géis segundo LAEMMLI (1970). O sistema foi constituído de dois géis, um de empilhamento e um de resolução, ambos contendo acrilamida com uma concentração de 4% e 20%, respectivamente. Para a verificação das frações protéicas em diferentes concentrações de gel, foram também realizadas corridas em gel de empilhamento nas concentrações em 12% e 15%.

Para a preparação das amostras, adicionou-se tampão de preparação, o qual continha 3,0 mL de água destilada, 1,0 mL de solução Tris-HCl (pH 6,7), 1,6 mL de glicerol, 1,6 mL de SDS 10%, 0,4 mL de β -mercaptoetanol e 0,4 mL da solução de 0,5% de azul de bromofenol. A proporção utilizada de amostra e tampão foi de 1:3 (v/v).

Depois de preparadas, as amostras foram fervidas durante 10 minutos, antes de serem colocadas no gel. A eletroforese foi conduzida em sistema vertical à corrente constante de 15 mA em tensão de 100 V. Os marcadores de peso molecular dos padrões de proteínas utilizados foram da marca GE health life. Foram utilizados marcadores de peso molecular da fração purificada das proteínas constituintes do ovo, albumina e lisosima. O procedimento foi realizado à temperatura ambiente, por cerca de três e meia a quatro horas, até a saída do conteúdo excedente do gel.

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

O marcador molecular utilizado apresenta o padrão de bandas do gel de poliacrilamida utilizado. Nas Figura 1 estão apresentadas as bandas em gel e na Figura 2, as proteínas constituintes do marcador molecular e suas respectivas referencias, em peso molecular.

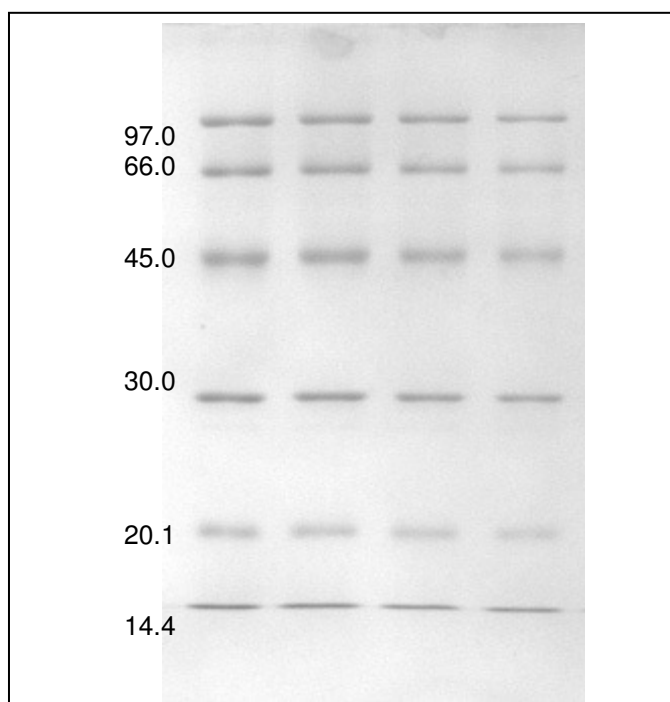


FIGURA 1 - Padrão de marcador molecular GE health life, para gel de poliacrilamida

| Proteína | MR (Da) | Rf |
|--------------------|---------|------|
| Phosphorilase b | 97.000 | 0,07 |
| Albumina | 66.000 | 0,13 |
| Ovalbumina | 45.000 | 0,25 |
| Anidrase carbonicp | 30.000 | 0,46 |
| Inibidor trypsina | 20.000 | 0,67 |
| Alfa-Lactoalbumina | 14.400 | 0,89 |

FIGURA 2 - Proteínas constituintes do marcador molecular (GE health life)

O método de quantificação protéica foi executado, pois as amostras variam de acordo com a preparação para a corrida em gel. Cálculos para a quantidade protéica utilizada foram realizados previamente à preparação das amostras pelo protocolo SDS-PAGE, para as frações frescas, congeladas e dos tratamentos (sete,14,21 dias). A precisão da quantidade protéica foi avaliada através da quantificação em espectrofotometro

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Características físicas

Na Tabela 5 estão apresentados os resultados da composição física dos ovos de emas e os resultados das análises de variância.

TABELA 5 -Valores médios do peso do ovo (PO), porcentagens de albúmen, gema e casca, espessura da casca, e Unidade Haugh (UH) para ovos de emas em diferentes períodos de armazenamento

| Período (dias) | PO (g) | Albúmen % | gema % | casca % | Casca mm | UH % |
|-------------------|-----------|--------------|-----------|------------|--------------------|--------------------|
| 7 | 599,9 | 51,6 | 31,8 | 16,6 | 1,22 ^{ab} | 75,2 ^a |
| 14 | 578,6 | 53,8 | 31,1 | 15,1 | 1,20 ^b | 71,2 ^{ab} |
| 21 | 542,7 | 52,1 | 33,2 | 14,7 | 1,20 ^b | 71,7 ^{ab} |
| 28 | 629,1 | 53,8 | 32,1 | 14,1 | 1,32 ^a | 69,9 ^{ab} |
| 35 | 576,1 | 50,8 | 32,6 | 16,6 | 1,23 ^{ab} | 64,6 ^b |
| (CV%) | (8,07) | (3,99) | (4,88) | (8,41) | (9,14) | (7,29) |

* Médias seguidas de letras diferentes nas colunas diferem significativamente pelo teste de Tukey com 95% de significância.

Os pesos médios dos ovos não apresentaram diferenças significativas, entre os tratamentos. A variação observada está relacionada à variabilidade dos ovos que compuseram os lotes, coincidindo com os valores obtidos por NAVARRO (2001) para ovos de diferentes populações de emas, pois até o momento não existem manejos de melhoramento aplicados à espécie, para a padronização e uniformidade dos lotes. O coeficiente de variação para as médias de ovos de emas obtido no experimento foi de 8,07%, valor semelhante ao relatado por DI CAMPOS et al. (2005), que verificou um coeficiente de variação de 8,02%.

Apesar da variação das porcentagens de albúmen, gema e casca ocorridos nos ovos, não apresentaram diferenças significativas que representassem variação para os tratamentos testados.

As espessuras das cascas apresentaram variações significativas, relacionadas à variabilidade dos ovos e não aos tratamentos. Esta variação também

é verificada em outras espécies de ratitas. Para ovos de avestruzes, PLETI (1978) relata uma variabilidade semelhante.

Os valores de unidade Haugh obtidos no período de armazenamento de sete dias expressam uma alta qualidade dos ovos. Nos períodos de armazenamento de 14, 21, 28 e 35 dias a qualidade foi avaliada como intermediária, porém aos 35 dias o declínio da qualidade foi significativamente maior.

A unidade Haugh apresentou diferenças entre os tratamentos, demonstrando que os ovos armazenados até o período de 28 dias, apesar do declínio da qualidade, podem ser classificados como próprios para consumo. A partir de 28 dias as perdas demonstraram que os ovos já se tornam impróprios para consumo. Os valores de declínio da UH% coincidem com os obtidos por (PLETI, 2008) para ovos de avestruzes, onde até os 21 dias os ovos apresentaram qualidade para o consumo. ALLEONI et al. (1999) obteve para ovos de galinhas o declínio da qualidade avaliado em UH% mais acentuado, onde os ovos dentro dos parâmetros próprios para o consumo sob condições de refrigeração, são mantidos até 14 dias de armazenamento.

Na Tabela 6 estão apresentados os valores de biometria dos ovos inteiros, submetidos aos tratamentos de tempo de armazenamento.

TABELA 6 -Valores médios de biometria de ovos de emas submetidos aos tratamentos de tempo de armazenamento

| Tratamentos (dias) | Peso do ovo (g) | Comprimento (mm) | Largura (mm) |
|-----------------------|--------------------|---------------------|-----------------|
| 7 | 599,9 | 127,33 | 90,4 |
| 14 | 578,6 | 128,9 | 89,4 |
| 21 | 542,7 | 128,3 | 90,0 |
| 28 | 629,1 | 132,0 | 90,8 |
| 35 | 576,1 | 124,4 | 92,9 |
| (CV%) | (8,07) | (3,94) | (2,36) |

* Médias seguidas de letras diferentes nas colunas diferem significativamente pelo teste de Tukey com 95% de significância.

Não se observou variações dos pesos médios entre os tratamentos. Observou-se uma alta variabilidade de comprimento e largura entre os ovos

componentes dos lotes, porém esta variação na média dos lotes dos ovos não foi significativa, coincidindo com os valores obtidos por NAVARRO (2001).

A variabilidade dos lotes, nos parâmetros de peso, largura e comprimento é um fator de ocorrência em espécies de ratitas, para emas, avestruzes e emus, pois estes animais não sofreram nenhum processo de melhoramento para uniformidade de lotes e produção de ovos, mantendo a alta variabilidade apresentada em seu material biológico original.

5.2 Características químicas

5.2.1 Proteínas

As proteínas totais expressos em porcentagem na matéria seca, para albúmen e gema de ovos de emas estão apresentados na Tabela 7

TABELA 7 - Proteínas totais e umidade nas frações de albúmen e gema de ovos de emas, nos diferentes períodos de armazenamento

| Tempo de armazenamento (dias) | Proteína Albúmen % | Umidade Albúmen % | Proteína Gema % | Umidade Gema % |
|-------------------------------|--------------------|-------------------|---------------------|----------------|
| 7 | 56,88 ^a | 89,37 | 23,71 ^a | 53,35 |
| 14 | 56,90 ^a | 89,21 | 23,80 ^a | 53,60 |
| 21 | 55,89 ^a | 89,16 | 22,73 ^{ab} | 53,77 |
| 28 | 50,34 ^b | 88,70 | 22,89 ^{ab} | 53,91 |
| 35 | 49,60 ^b | 88,75 | 21,54 ^b | 54,11 |
| (CV%) | (2,74) | (2,13) | (3,54) | (4,58) |

* Médias seguidas de letras diferentes nas colunas diferem significativamente pelo teste de Tukey com 95% de significância.

Houve diferença significativa no teor protéico para os tratamentos nos períodos de 28 e 35 dias de armazenamento, demonstrando que até 21 dias de armazenamento á temperatura de 10°C os ovos não tiveram alterações protéicas, relacionadas à desnaturação. As alterações químicas que ocorrem no interior do ovo com tempo e a umidade do albúmen não apresentaram diferenças significativas, podendo-se relacionar que as diferenças protéicas percentuais apresentadas nos tratamentos a partir de 28 dias de estocagem não foram decorrentes do transito e

mobilização de água, e relacionadas à perda de proteína por desnaturação. Ao contrário do que ocorre com ovos de galinhas, relacionada à perda de umidade para o ambiente.

A umidade da fração do albúmen apresentou pequena queda, porém não foi significativa. A perda de água nos ovos de emas acontece de forma menos intensa comparada à ocorrida em ovos de galinhas. Este fator pode estar relacionado ao número e dimensão dos poros, espessura e resistência da casca (BRANDALIZE, 2001) e observado para diferentes espécies de aves por TULLET (1978).

Comparando ao valor de umidade de ovos de galinhas obtidos por (MADRID et al., 1996) que encontraram valores entre 87,0 e 88,0%, o albúmen da ema possui médias de 88,7 a 89,3%, valores semelhantes.

As gemas dos ovos submetidos aos períodos de armazenamento foram avaliadas em suas composições de proteínas totais expressos em porcentagem na matéria seca.

A umidade da fração de gema não sofreu variações significativas com o tempo, demonstrando que o fluxo da água no interior do ovo ocorreu de forma irregular. Os valores de umidade em ovos de galinhas relatada por (MADRID et al., 1996) pode variar em média de 51,0 a 52,0%, valores que não diferem significativamente dos encontrados para os ovos de emas, entre 53,3 a 54,1%.

As proteínas da gema apresentaram variações, e estas foram significativas a partir do período de armazenamento de 14 dias, demonstrando que as alterações protéicas na gema ocorrem mais rapidamente comparadas às proteínas do albúmen. As perdas e degradações protéicas, tiveram início mais rápido na gema comparada ao albúmen, porém o perfil de degradação foi mais constante e menos intenso comparado ao albúmen, que apresentou o início do processo de degradação em um período de tempo maior, porém as perdas foram mais acentuadas.

O comportamento diferenciado de albúmen e gema fornece parâmetros importantes para a utilização do ovo de ema pela indústria, pois com a utilização das frações separadas, a gema apresenta um menor período para sua utilização, considerando a preservação dos aspectos de formação de emulsões desejadas. O albúmen pode ser armazenado por um período significativamente maior sem alteração de suas qualidades espumantes adequadas ao processamento de alimentos.

5.2.2 Lipídeos

Os lipídeos totais obtidos nos tratamentos, para as frações de albúmen e gema estão apresentados na Tabela 8.

TABELA 8 - Composição de gordura da gema e do albúmen em ovos de emas em diferentes períodos de armazenamento, sob refrigeração de 10° C

| Tempo de armazenamento (dias) | Gorduras totais Albúmen % | Umidade Albúmen | Gorduras totais Gema % | Umidade Gema % |
|----------------------------------|---------------------------------|--------------------|------------------------------|----------------------|
| 7 | 1,11 | 89,37 | 54,16 | 53,35 |
| 14 | 1,27 | 89,21 | 52,63 | 53,60 |
| 21 | 1,26 | 89,16 | 54,44 | 53,77 |
| 28 | 1,23 | 88,70 | 53,51 | 53,91 |
| 35 | 1,25 | 88,75 | 53,61 | 54,11 |
| (CV%) | (5,47) | (2,13) | (2,30) | (4,58) |

*médias seguidas de letras diferentes nas colunas diferem significativamente pelo teste de Tukey com 95% de significância.

Os lipídeos totais quantificados nas frações de albúmen não apresentaram diferenças significativas para todos os tratamentos. A variação está relacionada com a variabilidade dos lotes e provavelmente aos processos fisiológicos individuais das aves, pois todos os lotes receberam as mesmas alimentações. MADRID (1996) relatou valores de gordura no albúmen para ovos de galinhas entre 0,1 e 0,2% na matéria original, semelhantes aos encontrados nos ovos de emas que apresentaram uma média de 0,13%.

Nas frações de gema, os valores obtidos demonstraram que não houve alterações significativas relacionadas aos tratamentos submetidos. A média de gorduras totais na matéria original foi de 25,17% significativamente mais baixo aos valores encontrados para ovos de galinhas, de 30,0 a 34,0% relatado em experimento realizado por MADRID (1996).

5.2.3 PH

A Tabela 9 apresenta os valores médios de pH obtidos no experimento.

TABELA 9 -Valores de pH nas frações de albúmen e gema ovos de emas submetidos a armazenamento de 10º C

| Tempo de armazenamento (dias) | pH Albúmen | pH Gema |
|-------------------------------|------------|--------------------|
| 7 | 8,56 | 6,34 ^{ab} |
| 14 | 8,84 | 6,32 ^{ab} |
| 21 | 8,82 | 6,34 ^{ab} |
| 28 | 8,80 | 6,46 ^{ab} |
| 35 | 8,58 | 6,58 ^a |

*médias seguidas de letras diferentes nas colunas diferem significativamente pelo teste de Tukey com 95% de significância.

Os valores de pH para o albúmen não sofreram variações significativas relacionados aos tratamentos, coincidindo com os valores encontrados para ovos de galinhas armazenados nos mesmos períodos, relatados por XAVIER et al., (2008) que obtiveram valores de pH de 9,13 a 9,32.

Para a gema, os valores variaram significativamente com aumento no decorrer do tempo de armazenamento. Normalmente, para a maioria dos ovos armazenados, a perda de CO₂ provoca o aumento do pH. Para ovos de emas armazenados a variação do pH foi baixa, comparados aos valores normalmente verificados para ovos de galinhas. Todos os fatores diferenciados para os ovos de emas como o tamanho dos ovos, a estrutura da porosidade da casca, as trocas gasosas e perda de umidade reduzidas; estão relacionadas ao perfil do pH encontrado, onde o aumento dos valores esperados estão em conformidade com os verificados para outras espécies de aves, porém para os ovos de emas este aumento foi menos acentuado para a gema.

5.3 Avaliação da contaminação microbiológica

5.3.1 Contaminação natural das cascas dos ovos

As análises de bacteriológicas, realizadas nas cascas dos ovos de emas, no momento da recepção detectaram os seguintes gêneros de enterobactérias como: *Pseudomonas* sp, *Citrobacter* spp, *Proteus* spp, *Klebsiella* spp. Estes resultados são semelhantes aos encontrados em ovos de galinhas por ADESIYUN et al (2006) que relatam as presenças de *Enterobacter* spp, *Klebsiella* spp., *Citrobacter* spp

Não foram detectadas *Salmonellas* sp. em nenhum dos ovos provenientes dos ninhos, demonstrando que o criatório estava livre de qualquer contaminação relacionada a este gênero.

5.3.2 Contaminação por *Salmonella* Enteritidis

A Tabela 10 apresenta os resultados obtidos nos ovos inoculados experimentalmente com *Salmonella* Enteritidis.

TABELA 10 - Penetração de *Salmonella* enteritidis com inóculo de $8,6 \times 10^7$ UFC/mL em ovos de emas submetidos a diferentes períodos de armazenamento a 10°C

| Período de Armazenamento (dias) | Casca | Membrana | Clara | Gema |
|---------------------------------|-------|----------|-------|------|
| 10 | 0/4 | 0/4 | 0/4 | 0/4 |
| 20 | 1/4 | 0/4 | 0/4 | 0/4 |
| 30 | 1/4 | 1/4 | 0/4 | 0/4 |

Aos 10 dias de armazenamento, não foi identificada presença de *Salmonella*.Enteritidis, em nenhuma estrutura dos ovos analisados (Tabela 10). Aos 20 dias de armazenamento foi detectada a presença de *Salmonella* Enteritidis na casca de um ovo, entretanto, não houve a penetração da bactéria para o interior, Aos 30 dias de armazenamento foi detectada a presença de *Salmonella* na casca e na membrana do mesmo ovo, evidenciando a penetração da bactéria, entretanto, não atingiu a estrutura do albúmen e da gema.

Com os resultados obtidos foi possível verificar o comportamento de *Salmonella* Enteritidis em ovos de emas. A inoculação foi satisfatória para a verificação do padrão de contaminação. Aos 20 dias a presença de *Salmonella* na

casca demonstrou que o micro-organismo estava presente. Com o armazenamento aos 30 dias pode-se verificar a capacidade de penetração para o interior do ovo.

O ovo de ema apresenta mecanismos de defesa contra contaminação microbiológica, em todas as estruturas. Este comportamento coincide com os dados publicados por DEEMING (2006) que relata a especiação dos ovos de ratitas, por serem depositados em ninhos no chão onde o desafio microbiológico é alto.

Para todos os ovos testados foi verificado que a *Salmonella* Enteritidis não conseguiu penetrar pela membrana da casca para as estruturas de albúmen e gema, indicando a eficiente barreira contra *Salmonella*, ao contrario do perfil de contaminação em ovos comerciais de galinha obtidos por OLIVEIRA et al. (2000) que observaram a penetração de *Salmonella* Enteritidis para o interior da gema, sob condições de armazenamento.

5.3.3 Contaminação por Enterobacteriaceae

As análises bacteriológicas realizadas nas frações de casca, membrana da casca, albúmen e gema demonstraram o perfil de contaminação específico para cada gênero de micro-organismo. Na Tabela 11 estão apresentados os resultados bacteriológicos para os vários gêneros de Enterobacteriaceae detectados nos três períodos de armazenamento.

TABELA 11 - Resultados bacteriológicos em porcentagens dos totais das estruturas de casca, membrana da casca, albúmen e gema, de ovos de emas em 10, 20 e 30 dias de armazenamento à temperatura de 10°C.

| 10 dias de armazenamento | | | | | | | | |
|--------------------------|------------------|-------|----------|------|---------|-----|------|-----|
| Gêneros de bactérias | Estrutura do ovo | | | | | | | |
| | casca | | membrana | | albúmen | | gema | |
| | n | (%) | n | (%) | n | (%) | n | (%) |
| <i>Proteus</i> | 3/4 | (75) | 2/4 | (50) | 0/4 | 50 | 0/4 | 0 |
| <i>Klebsiella</i> | 3/4 | (75) | 1/4 | (25) | 0/4 | 0 | 0/4 | 0 |
| <i>Citrobacter</i> | 4/4 | (100) | 3/4 | (75) | 3/4 | 75 | 3/4 | 75 |
| <i>Enterobacter</i> | 3/4 | (75) | 2/4 | (50) | 2/4 | 50 | 0/4 | 0 |

| 20 dias de armazenamento | | | | | | | | |
|--------------------------|------------------|-----|----------|-----|---------|-----|------|-----|
| Gêneros de bactérias | Estrutura do ovo | | | | | | | |
| | casca | | membrana | | albúmen | | gema | |
| | n | (%) | n | (%) | n | (%) | n | (%) |
| <i>Proteus</i> | 75 | 75 | 3/4 | 75 | 3/4 | 75 | 2/4 | 50 |
| <i>Klebsiella</i> | 25 | 25 | 1/4 | 25 | 1/4 | 25 | 1/4 | 25 |
| <i>Citrobacter</i> | 75 | 75 | 3/4 | 75 | 3/4 | 75 | 3/4 | 75 |
| <i>Enterobacter</i> | 75 | 75 | 3/4 | 75 | 3/4 | 75 | 2/4 | 50 |

| 30 dias de armazenamento | | | | | | | | |
|--------------------------|------------------|-----|----------|-----|-------|-----|------|-----|
| Gêneros de bactérias | Estrutura do ovo | | | | | | | |
| | casca | | membrana | | clara | | gema | |
| | n | (%) | n | (%) | n | (%) | n | (%) |
| <i>Proteus</i> | 3/4 | 75 | 3/4 | 75 | 3/4 | 75 | 2/4 | 50 |
| <i>Klebsiella</i> | 2/4 | 50 | 3/4 | 75 | 3/4 | 75 | 2/4 | 50 |
| <i>Citrobacter</i> | 4/4 | 100 | 3/4 | 75 | 1/4 | 25 | 1/4 | 25 |
| <i>Enterobacter</i> | 3/4 | 75 | 3/4 | 75 | 3/4 | 75 | 2/4 | 50 |

A frequência bacteriológica indicou presença de Enterobactériaceae dos gêneros *Proteus*, *Klebsiella*, *Enterobacter* e *Citrobacter*. A contaminação da casca dos ovos apresentaram alta incidência de todos os gêneros detectados, os quais permaneceram em todos os períodos de armazenamento. A Tabela 11 demonstra que para dez dias de armazenamento as contaminações foram menores na estrutura da membrana, demonstrando que a casca desempenhou uma barreira seletiva parcial. As membranas apresentaram contaminação por todos os gêneros, em todos os períodos, e estas aumentaram com o período de armazenamento. As frações de

albúmen apresentaram contaminações variáveis nos períodos de armazenamento com detecção de todos os gêneros testados. As gemas apresentaram baixa contaminação no início do armazenamento, porém sofreu aumento para todas as bactérias testadas. Segundo SIQUEIRA (1995), a presença dos gêneros: *Enterobacter*, *Citrobacter* e *Klebsiella* podem persistir por longos períodos e se multiplicarem em ambientes não fecais.

O aumento da contaminação nas estruturas de albúmen e gema, alteraram a qualidade dos ovos armazenados nos períodos. A penetração para estas estruturas foi gradual, entretanto a alteração da gema foi mais intensa. Os resultados obtidos nas alterações químicas demonstraram que a gema sofreu degradação em um período inferior comparado ao albúmen.

A casca e a cutícula de revestimento retardam a entrada dos microrganismos. As membranas internas servem também como barreira mecânica, porém durante seu envelhecimento ocorrem alterações nestas membranas favorecendo a deterioração. Existem além das barreiras físicas, as barreiras químicas. A presença de proteínas que apresentam características bacterianas e bacteriostáticas como a albumina, proteína predominante do albúmen que é uma substância inadequada como meio de cultura, pois seu pH é alto, variando de 9,0 a 10,0, existe a baixa disponibilidade de compostos nitrogenados, e a lisozima, proteína que dissolve bactérias (GRISWOLD, 1972). Atingindo o albúmen do ovo, as bactérias deteriorantes, como *Proteus* spp que encontram condições desfavoráveis, penetraram até a gema, onde se multiplicam rapidamente completando o processo de deterioração.

5.4 Avaliação das características reológicas

5.4.1 Taxa de escoamento e viscosidade

A Relação entre a taxa de deformação em função da tensão está representada na Figura 3, em valores médios de três ovos frescos de emas, nos ensaios de comportamento reológico em estado estacionário com uma função do tempo de cisalhamento de gema (A) e albúmen (B) dos ovos de emas.

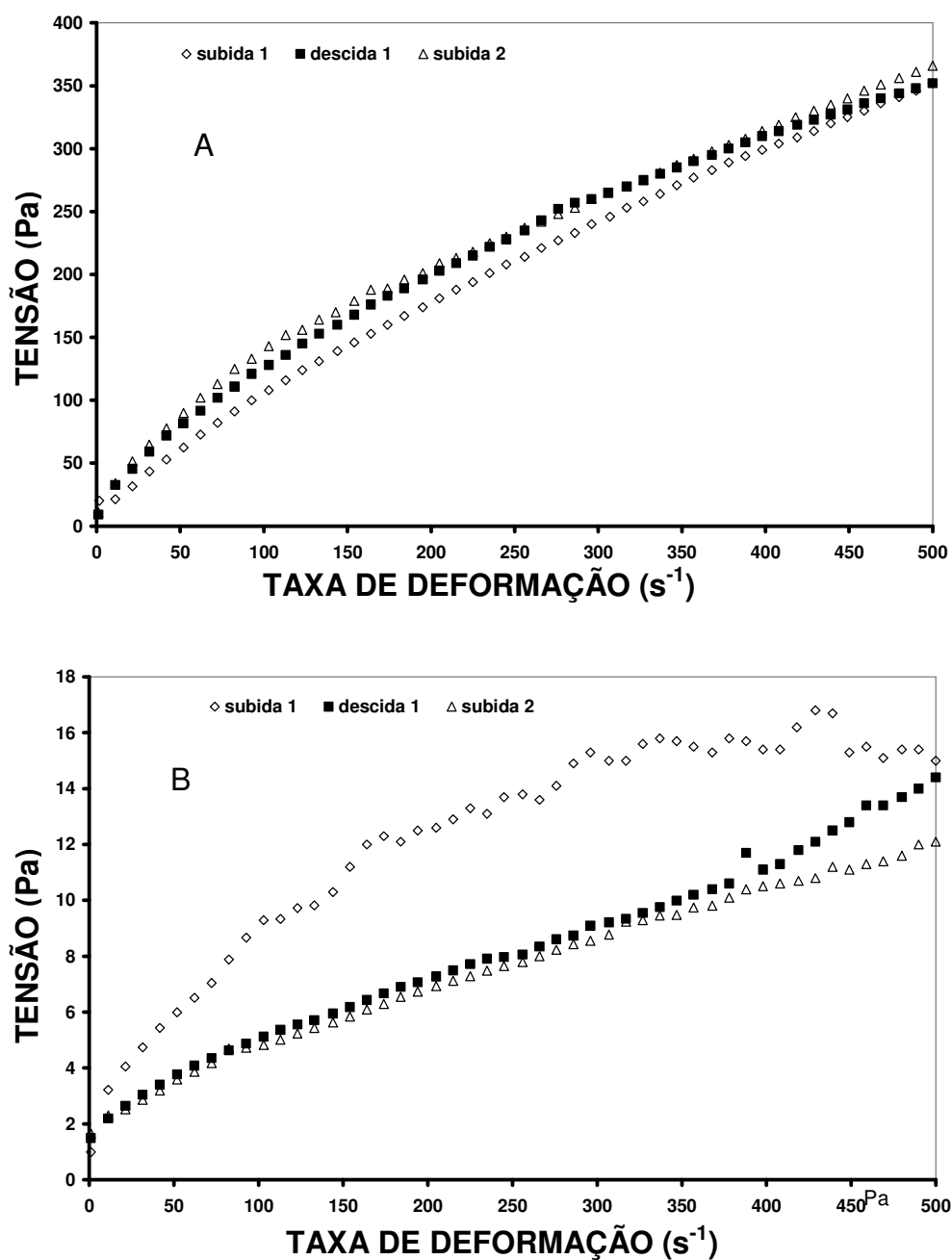


FIGURA 3 - Curvas de escoamento das médias dos tratamentos de ovos frescos de emas; (A) gema, (B) albúmen

Para o comportamento da gema, houve leve reopécia, porém não significativa. Este comportamento não é comum para gemas e os resultados demonstraram que não há dependência do tempo nos processos de cisalhamento.

Para o ensaio de albúmen, pode-se notar que houve um aumento da viscosidade aparente com o tempo de cisalhamento para a mesma taxa de deformação, caracterizando o albúmen como fluido reopético.

A partir dos resultados, pode-se observar a existência de um comportamento de fluidos pseudoplásticos com pequena tensão residual, já que a viscosidade aparente diminui com o aumento da taxa de deformação aplicada, comportamento semelhante ao encontrado por OHATA (2011) para ovos comerciais pasteurizados.

Na Tabela 14 são apresentados os dados de caracterização do comportamento reológico das frações de albúmen e gema para ovos de emas.

TABELA 12 - Caracterização do comportamento reológico e parâmetros da Lei da Potência, de albúmen e gema de ovos de emas frescos e armazenados em período de 7 dias

| Parâmetros | K (Pa s ⁿ) | | n | | σ (Pa) | | n 100 (Pa s) | |
|-------------|------------------------|-------------------|-------|--------|---------------|--------|--------------|--------|
| | 1 dia | 7 dias | 1 dia | 7 dias | 1 dia | 7 dias | 1 dia | 7 dias |
| Ovos/fração | | | | | | | | |
| Albúmen 1 | 0,64 | 0,76 | 0,35 | 0,36 | 0,88 | 1,33 | 0,03 | 0,04 |
| Albúmen 2 | 1,88 | 0,86 | 0,27 | 0,40 | 2,69 | 1,65 | 0,05 | 0,05 |
| Albúmen 3 | 3,98 | 0,91 | 0,18 | 0,23 | 6,14 | 5,83 | 0,09 | 0,07 |
| média | 2,16 | 0,85 | 0,27 | 0,33 | 3,23 | 2,93 | 0,05 | 0,05 |
| SD | 1,68 | 0,07 | 0,08 | 0,09 | 2,67 | 2,51 | 0,03 | 0,01 |
| Gema 1 | 33,18 | 9,20 | 0,27 | 0,58 | 51,5 | 10,8 | 1,14 | 1,39 |
| Gema 2 | 17,21 | 11,18 | 0,47 | 0,57 | 18,2 | 12,0 | 2,00 | 1,69 |
| Gema 3 | 19,75 | 5,47 | 0,46 | 0,86 | 24,2 | 6,03 | 2,56 | 1,11 |
| média | 23,38 ^a | 8,62 ^b | 0,40 | 0,69 | 31,3 | 9,61 | 1,90 | 1,39 |
| SD | 8,58 | 2,89 | 0,11 | 0,16 | 17,74 | 3,15 | 0,71 | 0,29 |

*médias seguidas de letras diferentes nas colunas diferem significativamente pelo teste de Tukey com 95% de significância.

Pelos dados obtidos o K que representa o índice de consistência é expressivamente maior para as frações de gemas, comparativamente ao albúmen, o que indica uma maior viscosidade das gemas. Para as frações de albúmen e gema, ocorreu perda de viscosidade para os ovos mantidos armazenados à temperatura de 10° C por sete dias, verificado através dos valores de índice de consistência obtidos, que foram significativamente menores.

O albúmen de ovo de ema é um gel macio que tem uma tensão de cisalhamento de 1,0 a 3,0 Pa, demonstrando viscosidade semelhante ao albúmen de

ovo de galinha, que varia entre 0,5 – 3,0 Pa de acordo com CARDINAEELS et al. (2013). A Figura 4 apresenta a variação da viscosidade em função da temperatura.

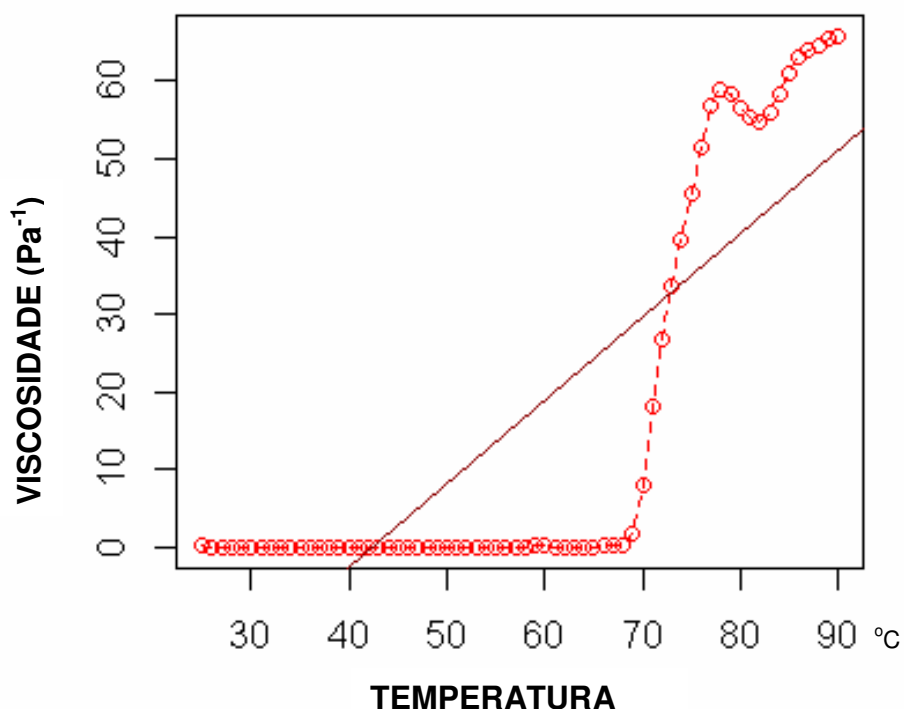


FIGURA 4 - Variação da viscosidade em função da temperatura

Para ovos de emas, até a temperatura de 68° °C não há variação da viscosidade. Acima de 68°C verifica-se uma variação irregular na viscosidade, onde dois picos máximos podem ser observados, a 75°C e 90°C, os quais estão relacionados com a fração de mucina.

Comparativamente aos ovos de galinhas, PAYAWAL et al. (1946), observaram que entre 58 e 62,5°C não houve variação da viscosidade. Acima de 62,5°C verificou-se uma variação irregular na viscosidade, onde dois picos máximos foram observados, a 63°C e 66°C.

Os valores significativamente mais altos de viscosidade apresentados para ovos de emas podem determinar o dimensionamento do sistema para o processamento, demonstrando que pode sofrer temperaturas mais altas, sem modificar as estruturas protéicas e comprometer o processo.

5.5 Eletroforese das frações protéicas de albúmen e gema

5.5.1 Eletroforese em gel de poliacrilamida a 20% de concentração

No primeiro ensaio de eletroforese, foram avaliadas as proteínas constituintes do ovo de ema em gel de poliacrilamida 20%, nas frações de albúmen e gema separadas, e como parâmetros de comparação foram utilizados as frações de albúmen e gema de um ovo de galinha. Os resultados obtidos estão apresentados na Figura 5.

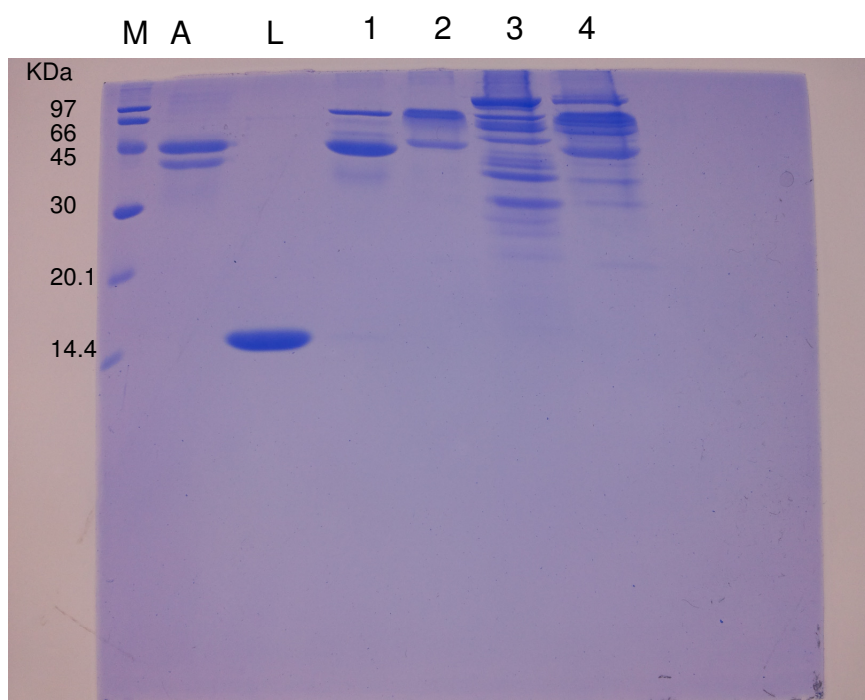


FIGURA 5 - Eletroforese de ovos de galinhas e emas, nas frações de albúmen e gema, 20% poliacrilamida

Legendas: M = marcador molecular; A = marcador albumina; L = marcador lisosima; 1 = albúmen de ema; 2 = albúmen de galinha; 3 = gema de ema; 4 = gema de galinha

Para verificação em coloração de Comassie, a constituição protéica dos ovos de galinhas e emas apresentaram diferenças no perfil protéico. As quantidades de proteínas totais constituintes das amostras testadas em gel de poliacrilamida foram avaliadas em espectrofotometria. Os valores obtidos na quantificação protéica, para o gel em 20% de poliacrilamida estão apresentados na Tabela 13.

TABELA 13 - Valores de quantificação em espectrofotometria, das proteínas de albúmen e gema de ovo de emas e galinha

| TRATAMENTOS | Albúmen (gramas/mL) | Gema (gramas/mL) |
|----------------|---------------------|------------------|
| Ovo de galinha | 0,52 | 0,29 |
| Ovo de ema | 0,21 | 0,30 |

Dos resultados obtidos, verificou-se que os ovos de galinhas e de emas diferem significativamente nas frações de albúmen e gema, em suas composições protéicas, relacionados às porcentagens de proteínas de pesos moleculares diferentes. O albúmen e a gema de ovos de emas apresentaram maiores porcentagens de proteínas hidrossolúveis de menor peso molecular.

5.5.2 Eletroforese em gel de poliacrilamida a 15% de concentração

No segundo ensaio, foram testadas as diferenças da composição, perdas ou eventuais alterações da proteína, dos lotes submetidos aos diferentes períodos de armazenamento. Os dados obtidos estão apresentados na Figura 6.

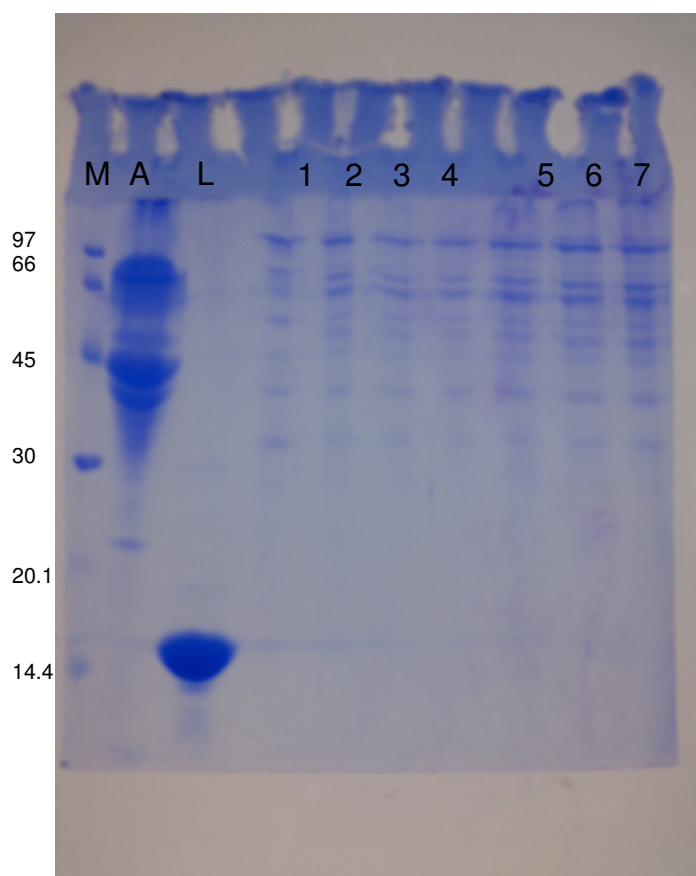


FIGURA 6 - Eletroforese em gel de poliacrilamida a 15%, de albúmen de ovos de emas

Legendas: M = marcador molecular; A = marcador albumina; L = marcador lisosima; 1 e 2 = albúmen de ema fresco; 3 e 4 = albúmen de ema preservado à -80°C ; 5, 6 e 7 = albúmen de ema armazenados a sete, 14 e 21 dias.

De acordo com os resultados obtidos, verificou-se que as frações protéicas não sofreram diferenças significativas relacionadas aos tratamentos. Para ovos

frescos, congelados e dos tratamentos reconstituídos as quantidades protéicas permaneceram as mesmas, e a degradação protéica não foi verificada.

5.5.3 Eletroforese em gel de poliacrilamida a 12% de concentração

No terceiro ensaio, foram avaliadas as diferenças da composição, dos lotes submetidos aos diferentes períodos de armazenamento, em gel de 12% de concentração. Os dados obtidos estão apresentados na Figura 7 para as frações de albúmen e na Tabela 14 a quantificação protéica do gel.

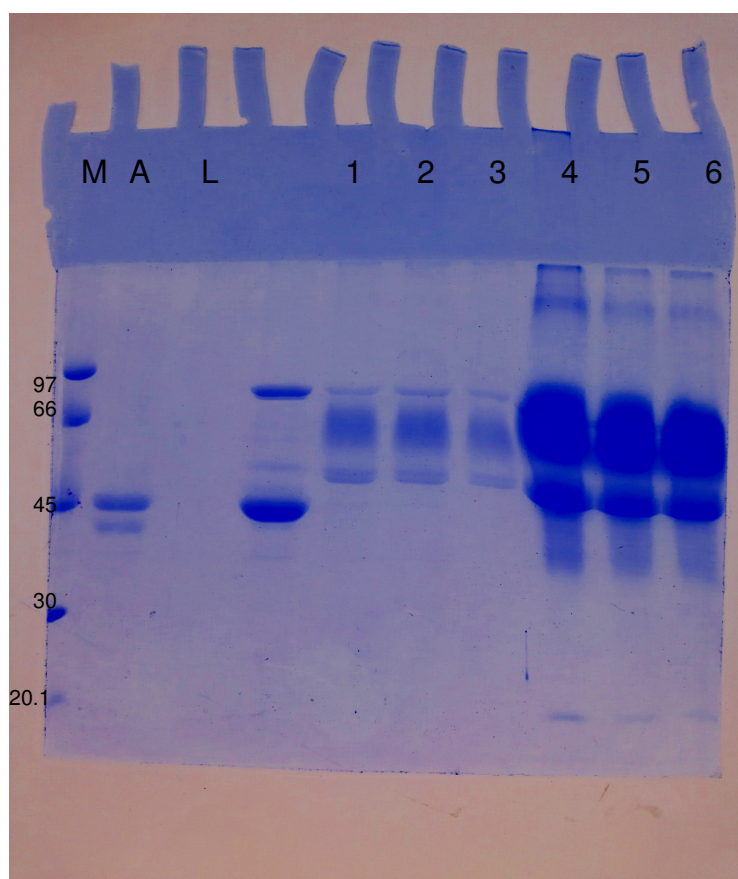


FIGURA 7 - Gel de eletroforese em poliacrilamida 12% das frações protéicas do albúmen de ovos de emas

Legendas: M = marcador molecular; A = marcador albumina; L = marcador lizosima; 1, 2 e 3 = albúmen de ema fresco; 4, 5 e 6 = albúmen de ema armazenados a sete, 14 e 21 dias respectivamente.

O albúmen dos ovos de emas apresentou uma grande concentração de proteínas na faixa de peso molecular entre 45 e 97 kDa. As cinco proteínas do marcador molecular, a albumina e a lisozima foram caracterizadas e serviram como

parâmetro para a identificação das faixas de peso molecular de outras proteínas encontradas. O perfil protéico verificado demonstra que as proteínas nestas faixas de peso molecular, desempenham funções pró-ativas de proteção do ovo com relação a reações de proteases em fungos e bactérias (ex. Ovinibidor (49 kDa.)), atividades antimicrobianas (ex. Avidina (68,3 kDa.)), atividades bacteriostáticas (ex. ovotransferrina (76 kDa.)). Este perfil protéico verificado pode estar diretamente relacionado à alta resistência aos microorganismos e particularmente à contaminação por *Salmonella*, verificadas nos ensaios microbiológicos do experimento.

Na Figura 8, são apresentadas as frações protéicas da gema dos ovos de emas, e na Tabela 14 a quantificação protéica do gel. Como verificado no ensaio experimental anterior para caracterização protéica comparativamente aos ovos de galinhas, a gema de ovos de emas possui maior quantidade de proteínas de menor peso molecular.

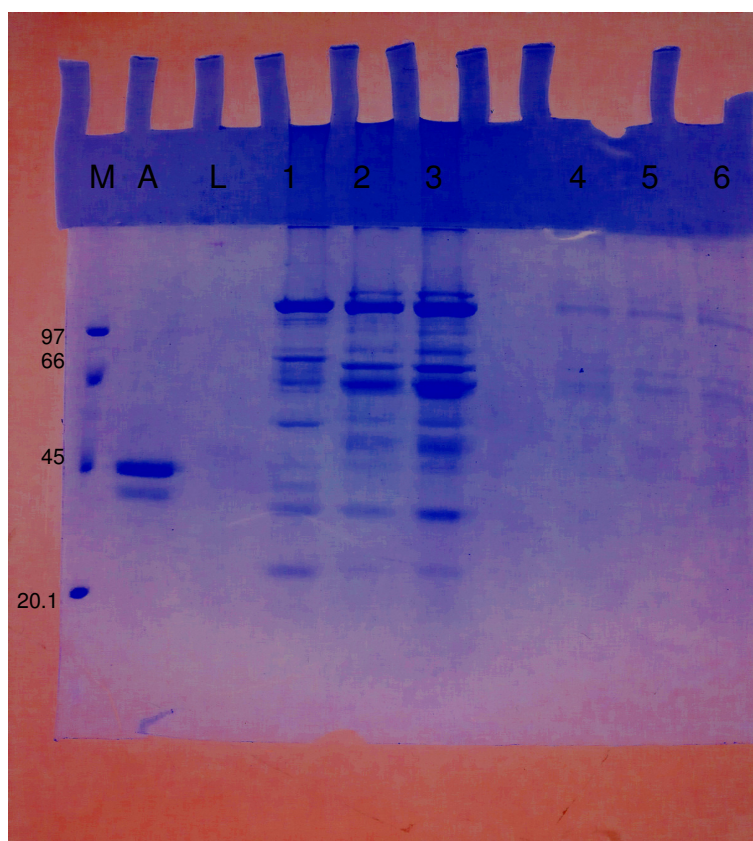


FIGURA 8 - Gel poliacrilamida 12% das frações protéicas da gema de ovos de emas

Legendas: M = marcador molecular; A = marcador albumina; L = marcador lisosima; 1, 2 e 3 = gema de ema fresco; 4, 5 e 6 = gema de ema armazenados a sete, 14 e 21 dias respectivamente.

As proteínas da fração hidrossolúvel foram estudadas. As livetinas são formadas por três proteínas diferentes, com pesos moleculares entre 45 e 150 kDa. A gema do ovo de emas apresentou alta quantidade protéica nesta faixa de pesos moleculares. Do ponto de vista imunológico e da resistência aos microorganismos testados, estas proteínas são homologas à S-ovalbumina, glicoproteína e globulina, conferindo resistência à gema contra fungos e bactérias.

Através da determinação quantitativa das proteínas utilizadas na aplicação do gel, através de espectrometria, pode-se ter a quantidade precisa das proteínas totais constituintes das amostras testadas em gel de poliacrilamida. Eventual diferença na intensidade de coloração em cada banda de peso molecular das proteínas está diretamente relacionada à quantidade de proteína de mesmo peso depositada na banda do gel.

Os valores obtidos na quantificação protéica, para a eletroforese em gel 12% de poliacrilamida realizada para albúmen e gema de ovos de emas estão apresentados na Tabela 14.

TABELA 14 - Valores de quantificação em espectrômetro de massa, das proteínas de albúmen e gema de ovos de emas, em diferentes períodos de armazenamento

| TRATAMENTOS | Albúmen (gramas/ml) | Gema (gramas/ml) |
|------------------------|---------------------|------------------|
| Ovo fresco 1 | 0,28 | 0,51 |
| Ovo fresco 2 | 0,25 | 0,41 |
| Ovo fresco 3 | 0,51 | 0,47 |
| Ovo armazenado 7 dias | 2,39 | 0,19 |
| Ovo armazenado 14 dias | 2,41 | 0,23 |
| Ovo armazenado 21 dias | 2,63 | 0,28 |

5.6 Comparação das frações protéicas de ovos de emas e ovos de galinhas

Para verificação das frações protéicas do albúmen de ovo de galinha e emas, as mesmas concentrações de amostra, aplicadas em eletroforese em gel de poliacrilamida na concentração de 15 % foram realizadas e o resultado obtido está apresentado na Figura 9.

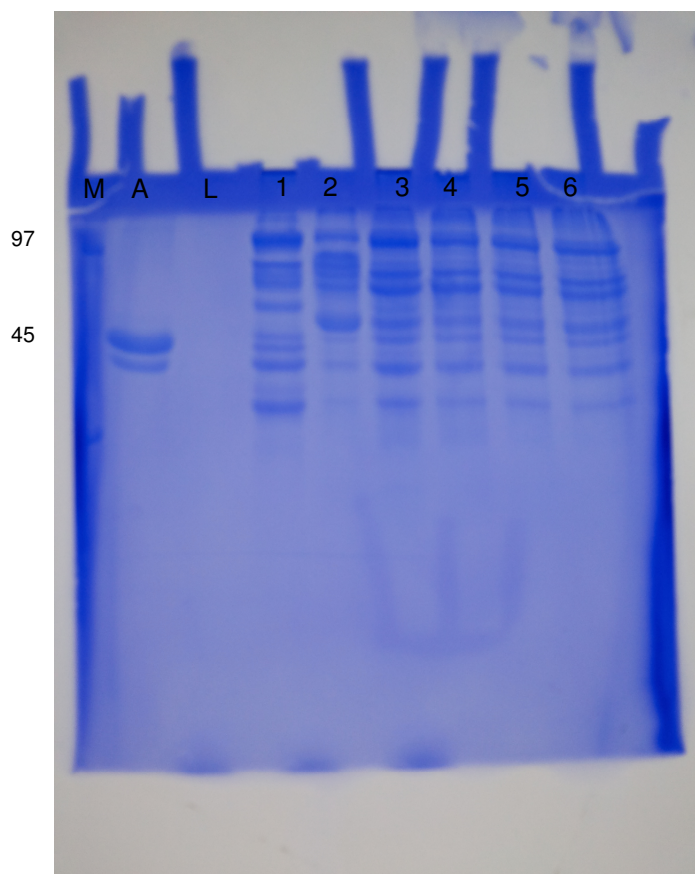


FIGURA 9 - Gel de poliacrilamida em concentração de 15 %, para amostras de albúmen de galinha e emas

Legendas: M = marcador molecular; A = marcador albumina; L = marcador lisozima; 1 = albúmen de ema fresco; 2 = albúmen de galinha, 3 = albúmen de ema -80° C, 4,5,e,6 = albúmen de ema dos tratamentos de sete 14 e 21 dias de armazenamento, respectivamente.

Através deste ensaio, pode-se verificar que as quantidades de proteína em sua constituição e massa molecular, diferem entre o ovo de galinha e os ovos de emas.

O ovo de galinha apresentou maior porcentagem de proteínas de alto peso molecular maior. Os ovos de emas apresentaram maior porcentagem de proteínas com peso molecular menor, mas frações de albúmen e gema. Este aspecto pode caracterizar o ovo da ema com melhores propriedades para o processamento na indústria de alimentos, uma vez que proteínas com menor peso molecular tendem a formar emulsões com melhores características na preparação de produtos derivados deste processo, e melhor estabilidade da emulsão, conferindo aspectos desejáveis pela indústria de alimentos.

6 CONCLUSÕES

O tempo de armazenamento altera as características físicas e químicas dos ovos de emas, e a qualidade permanece adequada aos parâmetros de consumo até os 21 dias de armazenamento à temperatura de 10° C.

Os ovos apresentaram alta resistência a *Salmonella* Enteritidis, e a membrana apresentou eficiência como barreira de penetração para a *Salmonella* Enteritidis.

As enterobactérias apresentaram um aumento em suas contaminações nas estruturas dos ovos de emas (membrana, albúmen e gema). A deterioração da gema foi mais intensa comparada ao albúmen.

Nos ensaios reológicos, o albúmen apresentou comportamento característico de fluido reopético. Ocorreu tensão residual para o albúmen e gema caracterizado por fluidos pseudoplásticos. Houve diferença significativa nos tratamentos de um e sete dias de armazenamento.

O albúmen e a gema de ovo de ema apresentaram maior porcentagem de proteínas de peso molecular menor, caracterizando melhor formação de emulsões e espumas, comparados aos ovos de galinhas.

Ovos de emas podem ser submetidos a processamento térmico sem desnaturação e transição de fase líquida para sólido da proteína do albúmen de cinco graus superior ao processamento para ovos de galinhas.

Ovos de emas, em suas frações de albúmen e gema diferem significativamente do ovo de galinha, apresentando maior porcentagem de proteínas de peso molecular menor.

As frações protéicas não sofrem diferenças relacionadas aos tratamentos para os ovos frescos, congelados e dos tratamentos reconstituídos (sete, 14, 21 dias). O albúmen apresentou alta resistência microbiológica com grande concentração de proteínas de peso molecular entre 45 a 97 kDa.

REFERÊNCIAS

1. ADESIYUN, A.; OFFIAH, N.; SEEPERSADSINGH, N.; RODRIGO, S.; LASHLEY, V.; MUSAI, L. Frequency and antimicrobial resistance of enteric bacteria with spoilage potential isolated from table eggs. **Food Research International**, v. 39, p. 212–219, 2006.
2. ALLEONI, A. C. C.; ANTUNES, A. J. Efeito da Temperatura e do Período de Armazenamento no Escore da Unidade Haugh e nas Propriedades Funcionais das Proteínas da Clara do Ovo de Galinha. **Resumo** In: III Simpósio Latino Americano de Ciência de Alimentos: Unicamp, p.151. Campinas, 1999.
3. ANDRADE C. Y. T., ANDRADE M. A., CAFÉ M. B., STRINGHINI J. H., ALCÂNTARA J. B., JAYME V. S., Efeitos da inoculação de *Salmonella enteritidis* na incubação de ovos embrionados de perus. **Ciência. Animal. Brasileira**, Goiânia, v.12, n.2, p 330-338, abr./jun. 2011.
4. ANGEL, R. C. Research update: age changes in digestibility of nutrients in ostriches and nutrients profiles of status of the hen and chick. **Association of Avian Veterinarians**, p.275-281, 1993.
5. ALMEIDA, M. A. Influência dos sistemas artificial e natural de incubação e criação de emas (*Rhea americana*) nos índices produtivos de criadores do Estado de São Paulo.. **Tese** (Mestrado em Reprodução Animal) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo. 75f. São Paulo, 2003.
6. ARAÚJO, J. M. **A Química de Alimentos** – Teoria e Prática. Viçosa. Universidade Federal de Viçosa. 2ª ed. 1999.
7. ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official Methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists** (method 900.02). Arlington: A.O.A.C. chapter 44. p. 3, 1996.
8. 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 Veterinária**, v.24, n.2, 127-133, 2008.
9. BARNES, H. A.; HUTTON, J. F.; WALTESRS, K. An Introduction to Rheology. **Elsevier Science Publishers**, 1986.
10. BEIG, D.; GARCIA, F.C.M. **O embrião de galinha**. Campo Grande, Proed.1987.
11. BELITZ, H.D.; GROSCH, W. **Química de los alimentos**. Acribia, p..433-446 Zaragoza, 1988.

12. BERARDINELLI, A.; DONATI, V.; GIUNCHI, A.; GUARNIERI, A.; RAGNI, L.. Effects of transport vibrations on quality indices of shell eggs. **Biosystems Engineering**, v.86, n.4, p.495-502, 2003.
13. BERRANG, M. E.; COX, N. A.; FRANK, J. F.; BUHR, R. J. Bacterial penetration of the eggshell and shell membranes of the chicken hatching egg: a review. **Journal Applied Poultry Science**, v.8, p.499-504, 1999.
14. BERTECHINI, A.G.. **Nutrição de monogátricos.**, UFLA, 301p. Lavras, MG: 2006
15. BERK, Z. **Introduction to the biochemistry of foods**. Elsevier, p. 69 – 71. New York, 1976.
16. BOARD, R.G. The course of microbial infection of the hen's egg. **Journal of Applied. Bacteriology**. v.29, p.319-341, 1966.
17. BOARD R. G.; FULLER R. **Microbiology of the Avian Egg**. 1st ed. Chapman & Hall. pp.131-132. London, 1994.
18. BOARD, R. G.; TRANTER, H. S. **Egg Science and Technology**. Editors W. J. Stadelman. and O.J. Cotterill. Haworth Press, Inc. New York, 1995.
19. BOBBIO, P.; BOBBIO, F. **Introdução à química de alimentos**. Varela 2. ed. . p.127-132. São Paulo, 1992.
20. BRANDALIZE, V. H.; A influência da nutrição da matriz, sobre a performance do frango de corte. Encontro técnico em ciências avícolas 5. **Anais**. V. 1, p 46-71. Uberlândia, 2001.
21. BRANT, A. W.; OTTE, A. W.; NORRIS, K. H. Recommend standards for scoring and measuring opened egg quality. **Food Technology**, v.5, p.356-361, 1951.
22. BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Divisão de Inspeção de Carnes e Derivados. Portaria n.º 1, de 21 fev. 1990. Publicada em 6 mar. 1990. **Normas gerais de inspeção de ovos e derivados**. Brasília. DF: MAPA, 1990. Disponível em: <<http://extranet.agricultura.gov.br/sislegis-consulta>.> Acesso em: 20 set. 2012.
23. BRASIL. Ministério da Agricultura e do Abastecimento Secretaria Nacional da Defesa Agropecuária. Departamento Nacional de Defesa Animal. Coordenação Geral de Laboratório Animal. Métodos de Análises Microbiológicas para Alimentos, Brasília: **MAPA**, 226p, 2003.
24. BRASIL. Regulamento de Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal. **RIISPOA**, 154p. Rio de Janeiro, 1952.

25. BRESSAN, W. S.; **Ambiente térmico, qualidade do ar, bem-estar e desempenho produtivo de emas (Rhea americana) confinadas em fase de crescimento.**, 2005.
26. BRUGALLI, I, RUTZ, F., ZONTA, E.; ROLL, V. Efeito dos níveis de óleo e proteína da dieta sobre a qualidade interna de ovos, em diferentes condições e tempo de armazenamento. *Revista Brasileira de Agrociência*, v.4, p.187-190. Pelotas, 1998.
27. BRUNIG, D. F. The Greater Rhea chick and egg delivery route. **Natural History**, New York, v.82, n. 3, p. 68-75, 1974.
28. CAMARGO, R.; FONSECA, H.; PRADO FILHO, L. G.; ANDRADE, M. O.; CANTARELLI, P. R.; OLIVEIRA, A. J.; GRANER, M.; CARUSO, J. G. B.; NOGUEIRA, J. N.; LIMA, U. A.; MOREIRA, L. S. **Tecnologia dos produtos agropecuários – alimentos**. Nobel. Piracicaba, 1984.
29. CARDINAELS, R.; VELDEA J. V.; MATHUESA, W.; LIEDEKERKEB, P. V.; MOLDENAERSA, P. A Rheological characterisation of liquid egg albumen. **Inside Food Symposium**, 9-12, Leuven, Belgium, April 2013
30. CARVALHO, F. B.; STRINGHINI, J. H.; FILHO, R. M. J.; 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, Jan. /mar, 2007.
31. CECCHI, H. M. **Fundamentos Teóricos e Práticos em Análise de Alimentos**, 2ª ed. E Editora Unicamp, (2007).
32. CEVISA-CENTRO DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. **Portaria CVS-6/99** de 10/3/99. Regulamento técnico sobre os parâmetros e critérios para o controle higiênico sanitário em estabelecimentos de alimentos. São Paulo, p.26-27, 1999.
33. CLOSA, S. J.; MARCHESICH, C.; CABRERA, M.; MORALES, J. C. Composición de huevo de galina y codorniz. **Archivos Latinoamericanos de Nutrición**. V. 49, p. 181-185. Caracas, 1999.
34. CODENOTTI, T. L. **Fenologia reproductive y biometria de nidos, huevos y pollos del ñandu, Rhea americana en Rio Grande do Sul**, Brasil. *El Homero*, v.4, p.211-233, 1997.
35. COELHO, C. M. L., LASLO, H., BASSO, L. M., MORAES, S. S. **Modificações e alterações físicas e químicas dos produtos de origem animal**. Niterói. Universidade Federal Fluminense, 1980.
36. CRUZ, F.G.G.; MOTTA, M.O.S. Efeito da temperatura e do período de armazenamento sobre a qualidade interna dos ovos comerciais em clima tropical úmido: CONFERÊNCIA APINCO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLAS, 1996, Campinas. **Anais...** Trabalhos Apresentados ao Premio Lammas. Campinas: FACTA, p. 96, 1996.

37. CUNNINGHAM, F. E.; COTTERILL, O. J.; FUNK, E. M. The effect of season and age of bird. I. On egg size, quality and yield. **Poultry Science**, v.39, p.289-299, 1960.
38. DANI, S.; ANDRADE, M. A.; AZEREDO, R.; SILVA, E.A.; SILVEIRA, J. A. **A ema (*Rhea americana*) biologia, manejo e conservação**. Belo Horizonte: ACANGAU, 136p., 1993.
39. DAVID T. OSUGA, D. T., FEENEY, R. E Biochemistry of the Egg-White Proteins of the Ratite Group **Archives of Biochemistry Biophysics** 124, 560-574, 1968.
40. DAVIS, B. H.; STEPHENSON, H. P. Egg quality under tropical conditions in north Queensland. **Food Australia**., v.43, p.496-499, Queensland, 1991.
41. DEEMING D. C. **Incubação de ovos de avestruz, ema, meu e casuar**. (tradução, adaptação e supervisão Joana D'Arc Silveira Souza) 257p. Viçosa, 2006.
42. DI CAMPOS, M. S. D.; CARVALHO, I. D.; FILHO, A. C. B.; VILELA, R. A.; MATOS, M. S.; JUNIOR, H. S. Estimativa de correlações entre medidas morfométricas, peso do ovo e peso de filhotes de emas criados em cativeiro **Ciência. Rural** Santa Maria vol.35 no. 3 May/June 2005.
43. EISEN, E. J.; BOHRE, B. B.; MCKEAN, H. E. The Haugh unit as a measure of egg albumen quality. **Poultry Science**, v.41, p.1461-1468, 1962.
44. FENNEMA, O. R. **Química de los alimentos**. Acribia, P.931-959. Zaragoza, 1993.
45. FLEMING, A. On remarekable bacteriolytic element found in tissues and secretions. **Proceedings of the Royal Society Biological Sciences** ., v. 93, p. 306-317. London, 1922.
46. FREITAS, L. W., PAZ I. C. L. A., GARCIA R. G., CALDARA F. R., SENO L. O., FELIX G. A., LIMA N. D. S., FERREIRA M. O. S., CAVIACHIOLO F, Aspectos qualitativos de ovos comerciais submetidos a diferentes condições de armazenamento **Revista agrarian** Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD) - Faculdade de Ciências Agrárias (FCA), v.4, n.11, p.66-72, 2011.
47. GIANNONI, M. L. **Emas & avestruzes: uma alternativa para o produtor rural**. Jaboticabal: FUNEP, 49 p., 1996.
48. GRISWOLD, R. M. **Estudo Experimental dos Alimentos**. Rio de Janeiro: Edgard Blücher. 1972.
49. HAMMACK, T.S.; SHERROD, P.S.; BRUCE,V.R.; JUNE, G.A.; SATCHELL, F.B.; ANDREWS, W.H. Growth of Salmonella enteritidis in grade A eggs during prolonged storage. **Poultry Science** 72:373-377, 1993)

50. HAUGH, R. R. The Haugh unit for measuring egg quality. **United States Egg Poultry Magazine**, v.43, p.552-555, 1937.
51. HAWTHORN, J. **Fundamentos de ciência de los alimentos**. Acribia. P. 114-122. Zaragoza, 1983.
52. HEIMAN, V.; CARVER, J. S. The albumen index as a physical measurement of observed egg quality. **Poultry Science**, v.15, p.141-148, 1936.
53. HICKS-ALLDREDGE, K. D. Ratites reproduction. In: TULLY, T. N.; SHANE, S. M. **Ratite-management, medicine and surgery**. Krieger Publishing Company, 188 p., Malabar, 1996.
54. HOLDSWORTH, S. D. Applicability of rheological models to the interpretations of flow and processing behaviour of fluid food products. **Journal of Texture Studies**, v. 4, n. 2, p. 393-418. Malden, 1971.
55. HOLTS, W. F.; ALMQUIST, H. J. Measurement of deterioration in the stored hen's egg. **United States Egg Poultry Magazine**, v.38, p.70, 1932.
56. HOSKEN, F. M. & SILVEIRA, A. C. **Criação de emas**. Aprenda Fácil, (Coleção Animais Silvestres) Viçosa: 366 p., 2003.
57. HUMPHREY, T. J.; WHITEHEAD, A. H.; GAWLER, A. H. L.; HENLEY, A.; ROWE, B. Numbers of Salmonella enteritidis in the contents of naturally contaminated hens' eggs. **Epidemiology Infection**, v.106, p.489-96, 1991.
58. IAMANAKA, B.; TANIWAKI, M. H.; SILVA, N. Uso da Luz Ultravioleta na Indústria de Alimentos: Salmonella enteritidis em Ovos. **Resumo** In: III Simpósio Latino Americano de Ciência de Alimentos. . p.106: Unicamp Campinas, 1999.
59. IBRAHIM, H. R.; HIGASHIGUCHI, S.; KOKETSU, M.; JUNEJA, L. R.; KIM, M.; YAMAMOTO, T.; SUGIMOTO, Y.; AOKI, T. Partially unfolded lysozyme at neutral pH agglutinates and kills gram-negative and gram-positive bacteria through membrane damage mechanism. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 44, p. 3799-3806, 1996.
60. INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz**. v. 1: *Métodos químicos e físicos para análise de alimentos*, 4. ed. São Paulo: IMESP, 1000 pg, 2008.
61. JOHNSON, T. M.; ZABIK, M. E. Egg albumen proteins interactions in an angel food cake system. **Journal of Food Science**. v. 46, p.2071-2083. Chicago, 1981.
62. JONES, D. R.; M. T.; MUSGROVE, M. T.; ANDERSON, K. E.; THESMAR, H. S. Physical quality and composition of retail shell eggs **Poultry Science** 89 :582–587, 2010.

63. LAEMMLI, U. K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage t4. **Nature** v. 227, p. 680-685. London, 1970.
64. LEANDRO, N, S, M.; DEUS, H. A. B.; STRINGHINI, J. H.; CAFÉ, M. B.; ANDRADE, M. A.; CARVALHO, F. B. Aspectos de qualidade interna e externa de ovos comercializados em diferentes estabelecimentos na região de Goiânia **Ciência Animal Brasileira** v. 6, n. 2, p. 71-78, abr./jun., 2005.
65. LI-CHAN, E.; NAKAI, S. Biochemical basis for the properties of egg white. **Critical Review Poultry Biology**, v. 2, n. 1, p. 21-57, 1989.
66. LINDEN, G.; LORIENT, D. **Bioquímica agroindustrial: Revalorización alimentaria de la producción agrícola**. Acribia, p. 43-163. Zaragoza, 1996.
67. LUCHINI, L.; COSTA, M. **À hora é do avestruz** Boletim técnico - NovAvis Avestruzes do Brasil Ltda.
68. MADRID, A. V.; CENZANO, J.; VICENTE, J. M. **Manual de Indústria dos Alimentos**. Varela, p. 489-495. São Paulo, 1996.
69. MENDES, B. V. **Alternativas tecnológicas para a agropecuária do semi-árido**. Nobel 2.ed. v. 1. 171 p. São Paulo, 1985.
70. MESSENS, W., GRIJSPEERDT, K. & HERMAN, L. Eggshell penetration by Salmonella: a review. **World's Poultry Science Journal**, 61: 71-85. 2005.
71. MEYER, L. **Food chemistry**. Westport: Van Nostrand Reinhold, p. 143-146. 1976.
72. MINE, Y. **Recent advance in the understanding off egg white protein functionally**. **Trends in Food Science and Tecnology**. V. 6, n.7, p.225-237. Cambridge, 1995.
73. MINE Y. Effect of dry head and mild alkaline treatment on functional properties of egg white proteins. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. V.45, p.2924-2928. Easton, 1997.
74. MULLER, H. G.; TOBIN, G. **Nutrición y Ciência de los alimentos**. Acribia. p.221-226. Zaragoza, 1996.
75. MORAIS, C. F. A.; CAMPOS, E. J; SILVA, T. J. P. Qualidade interna de ovos comercializados em supermercados na cidade de Uberlândia. **Arquivo Brasileiro.de Medicina. Veterinária e. Zootecnia**, v.49, p.365-373, Uberlândia, 1997
76. MORATA, R. L. Rheacultura: aspectos legais, biológicos, reprodutivos, nutricionais e Mercadológicos In: SIMAS - Simpósio de Produção e Conservação de Animais Silvestres, **Artigo**. Viçosa – MG, 2005.
77. MORENG, R. E.; AVENS, J. S. **Ciência e produção de aves**. Rocca,. 227-250. São Paulo, 1990.

78. NAVARRO J. L.; LÓPEZ, M. L.; MAESTRI, D. M.; LABUCKAS, D. O. Physical characteristics and chemical composition of Greater Rhea (*Rhea americana*) eggs from wild and captive populations **British Poultry Science** 42: 658–662, 2001.
79. NAVARRO, J. L.; MARTELLA, M. B. Reproductivity and raising of greater rhea (*Rhea Americana*) and lesser rhea (*Pterocnemia pennata*) – a review. **Archiv für Geflügelkunde**, v.66, n.3, p. 124-132., 2002.
80. NOVELLO, D.; FRANCESCHINI, P.; APARECIDA, P.; ROBERTO, Q. P. Ovo: Conceitos, análises e controvérsias na saúde humana. **Artículos Generales**, V.56 N. 4 Universidade Estadual do Centro-Oeste- PR. Brasil, 2006.
81. OHATA, S. M.; VIOTTO L. A. Comportamento reológico dos constituintes do ovo. **Brazilian Journal of Food Technology**.v.14, n.1, p. 10-18. Campinas, 2011.
82. OLIVEIRA, D. D. & SILVA, E. N.. Salmonela em ovos comerciais: ocorrência, condições de armazenamento e desinfecção da casca. **Arquivo. Brasileiro de. Medicina. Veterinária e. Zootecnia**. vol.52, n.6, pp. 655-661. Campinas, 2000,
83. ORDÓÑEZ, J. A.; RODRIGUEZ, M. I. C.; ÁLVAREZ, L. F.; SANZ, M. L. G.; MINGUILLON, G. D. G. F.; PERALES, L. H.; CORTECERCO, M. D. S.; **Tecnologia de Alimentos: alimentos de origem animal**. Artimed v.2, p. 269-279. Porto Alegre, 2005.
84. ORNELLAS, L. H. **Técnica Dietética**. Atheneu, 4ª edição. p.107-114 São Paulo, 1985.
85. PARSONS, C. H.; MINK, L. D. Correlation of methods for measuring the interior quality of eggs. **United States Egg Poultry Magazine**, v.43, p.484-489, 1937.
86. PASCOAL, L. A. F., BENTO JR, F. A., SANTOS, W. S., SILVA, R. S., DOURADO, L. R. B., BEZERRA, A. P. A. Qualidade de ovos comercializados em diferentes estabelecimentos na cidade de Imperatriz- MA. **Revista Brasileira de Saúde Produção Animal**., v.9, n.1, p. 150-157, 2008.
87. PAYAWAL, S. R.; LOWE, B.; STEWART, G. F. Pasteurization of Liquid-egg Products. Effect of Heat Treatments on Appearance and Viscosity. **Food Research**, v.11, o. 246-260, 1946.
88. PEREIRA, F. S. Sistemas de produção de emas *Rhea americana* nos criatórios comerciais da região sul do Brasil. **Dissertação** – Escola de Agronomia – Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis/SC, 2008.
89. PHILLIPS, L. G. Protein conformation at liquid interfaces and its role in stabilizing emulsions and foarms. **Food Technology**, v. 35, p.50-51, 54-57. Chicago, 1981.

90. PHILLIPS, L. G.; GERMAN, J. B.; O'NEILL, T. E.; FOEGEDING, E. A.; HARWALKAR, V. R.; KILARA, A.; LEWIS, B. A.; MANGINO, M. E.; MORR, C. R.; KINSELLA, J. E. Standardized procedure for measuring foaming properties of three proteins, a collaborative study. **Journal of Food Science**, v.55, p.1441-1444. Chicago, 1990.
91. PHILLIPS, L. G.; WHITEHEAD, D. M.; KINSELLA, J. E. Structure-function properties of food proteins. Academic Press. **Food Science and Technology International Series**, 271 p. San Diego, 1994.
92. PLANK, R. **El empleo del frío en la industria de la alimentación**. p. 307-359. Reverte. Barcelona, 1963.
93. PLETI, A. K.; LIMA, J. J.; CANDIDO, L. M. B. Qualidade interna do ovo de avestruz após estocagem em temperatura ambiente e refrigerada **Ciência Rural**, , v.39, n.6, p.1864-1868, set, Santa Maria, 2009.
94. PROUDLOVE, K. **Os alimentos em debate: uma visão equilibrada**. Varela p.108-111. São Paulo, 1996.
95. PROUDFOOT, F. G. The decline of internal egg quality during storage at 30°F and 70°F among six strains of Leghorns reared in confinement and on range. **Poultry Science**, v.41, p.98-103, 1962.
96. RIISPOA-MAPA **-Regulamento da inspeção industrial e sanitária de produtos de origem animal** Disponível em: http://www.agricultura.gov.br/arq_editor/file/Aniamal/MercadoInterno/Requisitos/RegulamentoInspecaoIndustrial.pdf
97. RODRIGUES, P. C. Contribuição ao estudo da conversão de ovos de casca branca e vermelha. Piracicaba,. **Dissertação** (Mestrado) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo. 57p., 1975.
98. ROSSI, M.; POMPEI, C. Changes in some egg components and analytical values due to hen age. **Poultry Science**, v.74, p.152-160, 1995.
99. SABINO, J., PRADO, P. I. Perfil do conhecimento da diversidade de vertebrados do Brasil. In: AVALIAÇÃO DO ESTADO DO CONHECIMENTO DA DIVERSIDADE BIOLÓGICA DO BRASIL. Ministério do Meio Ambiente – **MMA**, 2000.
100. SARCINELLI, M. F.; VENTURINI, K. S.; SILVA, L. C.; Características dos Ovos. **Boletim Técnico** PIE-UFES: 00707. Universidade Federal do Espírito Santo 2007.
101. SARF, J. M. **Exames microbiológicos de alimentos**. Ed. Polígono, 357 p. São Paulo, 1972.

102. SAUTER, E. A.; PETERSEN, C. F. The effect of egg shell quality on penetration by various *Salmonellae*. **Poultry Science**, v.53, p.2159-2162, 1974.
103. SCHOENI, J. L.; GLASS, K. A.; MCDERMOTT, J. L.; WONG, A. C. L. Growth and penetration of *Salmonella enteritidis*, *Salmonella heidelberg* and *Salmonella typhimurium* in eggs. **International Journal Food Microbiology**, v.24, p.385-396, 1995.
104. SESTI, L. A. C.; ITO, N. M. K. Enfermidades do Sistema Reprodutor. In: Berchieri Jr., A.; MACARI, M. Doenças das Aves. **FACTA** – Fundação APINCO de Ciência e Tecnologias Avícolas, páginas 81-128. Campinas, 2000,
105. SGARBIERI V. C. **Proteínas em alimentos protéicos**. Varela p. 57-172. São Paulo, 1996.
106. SIQUEIRA, R. S. **Manual de microbiologia de alimentos**. **EMBRAPA**, 159p . Brasília, 1995.
107. SILVA, J. B. G. da. Rheacultura criação de emas: manual prático nutrição, reprodução, manejo e enfermidades. **Guaíba: Agropecuária**, 2001.
108. SMITH, M.B.; NGUYEN, L. Measuring the age of stored eggs. **CSIRO Food Research Quarterly**, v.44, p.94-96, 1984.
109. SOUZA, H.B.A. Efeito da qualidade da casca e higienização com diferentes concentrações de hipoclorito de sódio na manutenção da qualidade interna de ovos de consumo. **Alimentos e Nutrição**, v.5, p.27-36, 1994.
110. SPACKMAM, D. **The effect of disease on egg quality**. In: WELLS, R.G.; BELYAVIN, C.G. (Ed.) Egg quality-current problems and recent advances. p.255-282. London: Butterworths, 1985.
111. STANDELMAN, W. J.; COTTERILL, O. J. Egg science and technology. **Avi Publishing**, 314 p. Westport, 1973.
112. STANDELMAN, W. J.; COTTERILL, O. J. Egg science and technology. 2. ed. **Avi Publishing**, 323 p. Westport, 1977.
113. STRINGHINI M. L. F., ANDRADE M. A., MESQUITA A. J., ROCHA T. M., REZENDE P. M., LEANDRO N. S. M. Características bacteriológicas de ovos lavados e não lavados de granjas de produção comercial. **Ciência Animal Brasileira**, v. 10, n. 4, p. 1317-1327, out./dez., 2009.
114. TRANTER, H. S.; BOARD, R. G. The antimicrobial defense of avian eggs: biological perspective and chemical basis. **Journal of Applied Biochemistry**, v.4, p.295-338, 1982.
115. TONETO, E. R. L. **Desenvolvimento de embutido curado fermentado de carne de ema (Rhea americana) associada à de suíno**, 2005.

116. TULLET, S. G. **Pore size versus pore number in avian eggshells. In Respiratory Function in Birds, Adult and Embryonic.** Ed. J. Piiper, p. 219-225. Heidelberg, 1978.
117. VALENTA, C.; BERNKOP-SCHURCH, A.; SCHWARTZ, M. Modification of lysozyme with cinnamaldehyde: a strategy for constructing novel preservatives for dermatics. **International Journal of Pharmaceutics.** V. 148, p. 131-137, 1997.
118. VALENTA, C.; BERNKOP-SCHURCH, A.; SCHWARTZ, M. Lysozyme-caffeic acid conjugates: possible novel preservatives for dermal formulations. **International Journal of Pharmaceutics.** V. 174, p. 125-132, 1998.
119. WILGUS, H. S.; WAGENEN, A. V. The height of the firm albumen as a measure of its condition. **Poultry Science**, v.15, p.319-321, 1936.
120. XAVIER, I. M. C. CANÇADO, S. V., FIGUEIREDO, T. C., LARA, L. J. C., LANA, A. M. Q., SOUZA, M. R., BAIÃO, N. C., Qualidade de ovos de consumo submetidos a diferentes condições de armazenamento. **Arquivo Brasileiro Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.60, n.4, p.953-959, 2008.