

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA

LETICIA SOUZA SILVA CARVALHO

**FATORES AMBIENTAIS NA PRODUÇÃO DE OVOS DE CASCA VÍTREA,
QUALIDADE DE OVOS E ESPECTROSCOPIA DE CASCA**

UBERLÂNDIA

2018

LETICIA SOUZA SILVA CARVALHO

**FATORES AMBIENTAIS NA PRODUÇÃO DE OVOS DE CASCA VÍTREA,
QUALIDADE DE OVOS E ESPECTROSCOPIA DE CASCA**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação
em Ciências Veterinárias da Universidade Federal
de Uberlândia, como exigência para obtenção do
título de Doutora em Ciências Veterinárias.

Área de Concentração: Produção Animal

Orientador: Prof. Dr. Evandro de Abreu Fernandes

**UBERLÂNDIA
2018**

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Sistema de Bibliotecas da UFU, MG, Brasil.

C331f
2018 Carvalho, Leticia Souza Silva, 1980
 Fatores ambientais na produção de ovos de casca vítrea, qualidade de ovos e espectroscopia de casca [recurso eletrônico] / Leticia Souza Silva Carvalho. - 2018.

Orientador: Evandro de Abreu Fernandes.

Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Uberlândia, Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias.

Modo de acesso: Internet.

Disponível em: <http://dx.doi.org/10.14393/ufu.te.2019.1211>

Inclui bibliografia.

Inclui ilustrações.

1. Veterinária. 2. ovos - Qualidade. 3. Ovos - Produção. 4. Ovos - Casca vítrea. I. Fernandes, Evandro de Abreu, 1949, (Orient.) II. Universidade Federal de Uberlândia. Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias. III. Título.

CDU: 619

Angela Aparecida Vicentini Tzi Tziboy – CRB-6/947



SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS



Ata da defesa da TESE DE DOUTORADO junto ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Federal de Uberlândia.

Defesa d/e: TESE DE DOUTORADO Nº PPGCV/019/2018

Data: 30/08/2018

Discente: *Leticia Souza Silva Carvalho* - Matrícula - 11413MEV013

Título da Tese: **FATORES AMBIENTAIS NA PRODUÇÃO DE OVOS DE CASCA VÍTREA, QUALIDADE DE OVOS E ESPECTROSCOPIA DA CASCA**

Área de Concentração: PRODUÇÃO ANIMAL

Linha de pesquisa: MANEJO E EFICIÊNCIA DE PRODUÇÃO DOS ANIMAIS, SEUS DERIVADOS E SUBPRODUTOS

Projeto de Pesquisa de vinculação: PRODUÇÃO E SANIDADE AVÍCOLA

Aos 30 dias do mês de Agosto do ano de 2018 às 15:30 horas no auditório do Campus Glória da Universidade Federal de Uberlândia, reuniu-se a Comissão Julgadora, designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, composta pelos Professores/Doutores: Mara Regina Bueno de Mattos Nascimento - UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA; Brenda Carla Luquetti - INSTITUTO MASTER DE ENSINO PRESIDENTE ANTONIO CARLOS - IMEPAC; Douglas Emygdio de Faria - UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO; Fernando Augusto de Souza - AGROCERES MULTIMIX e Evandro de Abreu Fernandes orientador(a) do(a) candidato(a).

Iniciando os trabalhos o(a) presidente da comissão Dr./Dra. Evandro de Abreu Fernandes concedeu a palavra ao(a) candidato(a) para a exposição do seu trabalho, contando com o tempo máximo de 50 minutos. A seguir o(a) senhor(a) presidente concedeu a palavra, pela ordem sucessivamente, aos examinadores, que passaram a arguir o(a) candidato(a), durante o prazo máximo de (30) minutos, assegurando-se a mesma igual prazo para resposta. Ultimada a arguição, que se desenvolveu dentro dos termos regimentais, a Comissão Julgadora, em sessão secreta, considerou o(a) candidato(a) Aprovada.

Esta defesa de Tese de Doutorado é parte dos requisitos necessários à obtenção do título de doutor. O competente diploma será expedido após cumprimento dos demais requisitos, conforme Regulamento do Programa, Legislação e a Regulamentação Interna da UFU.

Os trabalhos foram encerrados às 19 horas e 00 minutos, e para constar, lavrou-se a presente ata que será assinada pelos membros da Comissão Examinadora. Uberlândia, 30 de Agosto de 2018.

Mara Regina Bueno de Mattos Nascimento
Profa. Dra. Mara Regina Bueno de Mattos Nascimento
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA

Douglas Emygdio de Faria
Prof. Dr. Douglas Emygdio de Faria
UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

Brenda Carla Luquetti
Profa. Dra. Brenda Carla Luquetti
INSTITUTO MASTER DE ENSINO PRESIDENTE ANTONIO
CARLOS - IMEPAC
Fernando Augusto de Souza
Dr. Fernando Augusto de Souza
AGROCERES MULTIMIX

Evandro de Abreu Fernandes
Prof. Dr. Evandro de Abreu Fernandes
ORIENTADOR

A meus pais Fátima e Iolando, meus irmãos Leandra e Leonardo.

Meu esposo Rodrigo.

Meu filho Henrique, dedico.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a meus pais, em especial, minha mãe, pelo apoio incondicional em todos os momentos e etapas vividas ao longo da vida.

Agradeço a meu esposo pelo companheirismo, apoio, incentivo e compreensão nos momentos de ausência.

Agradeço ao “pequeno” Henrique, meu filho, que no auge da sua pureza torna tudo mais leve e simples.

Agradeço a meus irmãos, Leandra e Leonardo, pelo apoio e incentivo.

Agradeço a meus sobrinhos Natalfe, Nicole, Arthur e Alice pela diversão e alegria proporcionadas ao meu “pequeno” em minhas ausências.

Meu sincero e especial agradecimento a meu orientador Prof. Dr. Evandro de Abreu Fernandes pelos anos de orientação, ensinamento, confiança, apoio, incentivo e amizade.

Agradeço a empresa Somai Nordeste pelo apoio a pesquisa.

Agradeço ao grupo de pesquisa Aviex do qual fiz parte por oito anos. Obrigada a todos que de forma direta ou indireta fizeram parte desta pesquisa, em especial Flávia Sousa Gomes Crosara, Marina Cruvinel Assunção Silva Mendonça e Fernanda Heloísa Litz.

Agradeço aos professores Marcelo Emílio Beletti, Noelio Oliveira Dantas, Anielle Cristhini Almeida Silva e Mara Regina Bueno de Matos Nascimento pela colaboração.

“A persistência é o menor caminho do êxito”

(Charles Chaplin)

RESUMO

A casca vítrea é frequentemente observada em granjas em pontos de varejo, no entanto, a literatura sobre o tema em questão é escassa. Portanto, objetivou-se avaliar a influência da temperatura e umidade do ar sobre a produção de ovos de casca vítrea, a qualidade de ovos e espectroscopia da casca. Para realização do estudo, foram utilizadas 200 galinhas poedeiras da linhagem Dekalb White com 60 semanas de idade. Durante quatro meses, os ovos produzidos foram diariamente classificados em ovos de casca normal e vítrea. Quatro *data logger* registraram os dados de temperatura e umidade do ar que foram, posteriormente, parametrizados aos dados de produção de ovos. Realizou-se análise de variância dos valores de temperatura, umidade do ar, percentual de ovos de casca vítrea, percentual de ovos trincados e percentual de ovos trincados vítreos e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey. Calculou-se o ITU (Índice de Temperatura e Umidade) para avaliação do conforto térmico das aves e fez-se a categorização em conforto, desconforto leve, moderado, grave e risco de vida. Testou-se a correlação entre ITU e o percentual de ovos de casca vítrea e a correlação multivariada entre temperatura associada a umidade do ar com a incidência de casca vítrea. O ITU, temperatura e umidade associadas, evidenciou, respectivamente correlação moderada e substancial sobre a incidência de ovos de casca vítrea. Para avaliação da qualidade e composição bromatológica dos ovos, foram realizadas três coletas de 20 ovos para casca normal e vítrea, divididos em cinco repetições contendo quatro ovos. Na primeira e na última coleta, outros 20 ovos de cada tipo de casca foram selecionados para teste de resistência de casca. Para qualidade interna avaliou-se: unidades Haugh, índice de gema, pH de gema e albúmen, percentagens de gema, albúmen e casca, percentuais de matéria seca, matéria mineral, proteína bruta e extrato etéreo de gema. Para qualidade de casca mensurou-se a média de poros por cm^2 , espessura da casca e percentuais de matéria mineral, cálcio e fósforo. Os resultados foram submetidos a análise de variância e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey. Embora a qualidade e a composição bromatológica dos ovos não tenha sido diferente as cascas com aspecto vítreo apresentaram maior espessura e menor número de poros. Para caracterização dos espectros das cascas, seis ovos de casca normal e seis de casca vítrea tiveram seu conteúdo interno retirado. Foram analisados três pontos na região equatorial da casca por

Espectroscopia Raman. Em seguida, foram retirados dois fragmentos da região equatorial de cada casca para obtenção dos espectros por ATR-FTIR. Evidenciou-se maior conteúdo orgânico na casca vítrea. Conclui-se que o ITU e a associação da temperatura e umidade do ar podem influenciar a incidência de ovos de casca vítrea, no entanto, o aspecto vítreo da casca não exerce efeito negativo sobre a qualidade e composição bromatológica dos ovos, todavia observou-se a presença de maior conteúdo orgânico na casca vítrea, bem como, diferenças na distribuição desses composto entre os tipos de casca.

Palavras-chave: Espectroscopia de Casca. Ovos Vítreos. Poedeiras Comerciais.

ABSTRACT

The vitreous eggshell is often on farms at retail points, however, the literature on the subject in question is scarce. Therefore, the objective of this study was to evaluate the influence of temperature and air humidity and the age of laying hens on the production of eggs of vitreous shell, egg quality and shell spectroscopy. For the study, 200 laying hens of the 60 week old, Dekalb White strain were used. For four months, the eggs produced were daily classified into eggs normal and vitreous eggshell. Four dataloggers recorded temperature and air humidity data that were later parameterized to egg production data. Was realized analysis of variance of temperature, humidity and percentage of vitreous eggshell and the means were compared by the Tukey test. The ITU (Temperature and Humidity Index) was calculated to assess the thermal comfort of the birds and categorized into comfort, mild discomfort, moderate, severe and life-threatening. The correlation between ITU and the percentage of eggs vitreous eggshell and the multivariate correlation between temperature associated with air humidity and incidence of vitreous eggshell were tested. The ITU, temperature and humidity air, showed a moderate and substantial correlation on the incidence of eggs with vitreous eggshell. There was a substantial correlation between the association of temperature and air humidity with the incidence of vitreous eggs. To evaluate the quality and bromotological composition of the eggs, three samples of 20 eggs were made for each type of eggshell, divided into five replicates containing four eggs. In the first and last collection, another 20 eggs of each type of eggshell were selected for eggshell

resistance test. Haugh units, yolk, yolk and albumen pH, percentages of yolk, albumen and eggshell, percentages of dry matter, mineral matter, crude protein and ethereal extract of yolk were evaluated for internal quality. For shell quality, the average porosity per cm², shell thickness and percentages of mineral matter, calcium and phosphorus were measured. The results were submitted to analysis of variance and the means were compared by the Tukey test. Although the quality and bromatological composition of the did not differ the eggshells with vitreous appearance had a higher thickness and a smaller number of pores. To characterize the eggshell spectra, six eggs of normal shell and six eggs of vitreous shell had their internal contents removed. Three points in the equatorial region of the shell were analyzed by Raman Spectroscopy. Then, two fragments of the equatorial region of each eggshell were obtained to obtain the spectra by ATR-FTIR. Greater organic content was observed in the vitreous eggshell. It is concluded that the ITU and the association of temperature and humidity air can influence the incidence of eggs of vitreous eggshell, however, the vitreous aspect of the shell does not have negative effect on the quality and bromatological composition of the eggs, however it was observed the presence of greater organic content in the vitreous eggshell, as well as differences in the distribution of the compounds among the shell types.

Key words: Commercial laying hens, Eggshell Spectroscopy, Vitreous eggs

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO 1 - CONSIDERAÇÕES GERAIS

- Figura 1** Ovos de casca vítrea e normal, respectivamente, vistos contra luz ... **25**
- Figura 2** Representação esquemática da distribuição da matriz orgânica na casca opaca e translúcida **28**

CAPÍTULO 2 – TEMPERATURA E UMIDADE DO AR NA PRODUÇÃO DE OVOS DE CASCA VÍTREA

- Figura 1** Ovos de casca normal e vítrea, respectivamente, vistos na luz branca e contra luz no fundo preto **55**
- Figura 2** Percentual de ovos de casca vítrea em gaiolas individuais e coletivas **56**

CAPÍTULO 3 – QUALIDADE DE OVOS COMERCIAIS DE CASCA VÍTREA

- Figura 1** Ovos de casca normal e vítrea, vistos respectivamente, na luz branca e na luz no fundo preto **58**

CAPÍTULO 4 - CARACTERIZAÇÃO DA CASCA VÍTREA DE OVOS COMERCIAIS POR ESPECTROSCOPIA RAMAN E ESPECTROSCOPIA INFRAVERMELHO COM TRANSFORMADA DE FOURIER COM REFLECTÂNCIA TOTAL ATENUADA

- Figura 1** Espectros Raman obtidos das cascas, normal e vítrea, respectivamente, utilizando a linha 633 nm **82**
- Figura 2** Representação tridimensional da distribuição volumétrica correspondente as bandas Raman selecionadas relacionadas aos modos vibracionais de carbonato de cálcio na forma de calcita (1), amida I (2) e fenilalanina (3) do espectro de infravermelho obtidos da casca normal do ovo utilizando a linha 633 nm **83**
- Figura 3** Representação tridimensional da distribuição volumétrica correspondente as bandas Raman selecionadas relacionadas aos

	modos vibracionais de carbonato de cálcio na forma de calcita (1), amida III (2) e fenilalanina (3) do espectro de infravermelho obtidos da casca vítrea do ovo utilizando a linha 633 nm	84
Figura 4	Espectros Raman obtidos, respectivamente, das cascas normal e vítrea utilizando a linha 785 nm	85
Figura 5	Representação tridimensional da distribuição volumétrica correspondente as bandas Raman selecionadas relacionadas aos modos vibracionais de carbonato de cálcio na forma de calcita (1) e amida I (2) do espectro de infravermelho obtidos da casca normal e carbonato de cálcio na forma de calcita (3) e amida I (4) obtidos da casca vítrea utilizando a linha 785 nm	86
Figura 6	Espectros de infravermelho obtidos na região normal da casca do ovo em três posições diferentes	87
Figura 7	Espectros de infravermelho obtidos na região vitrea da casca do ovo em tres posições diferentes	88
Figura 8	Espectros de infravermelho obtidos na região normal e vitrea da casca do ovo	89

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 2 – TEMPERATURA E UMIDADE DO AR NA PRODUÇÃO DE OVOS DE CASCA VÍTREA

Tabela 1	Composição percentual de ingredientes na ração de postura	44
Tabela 2	Médias ($\bar{X}$), máximas (Max.) e mínimas (Min.) de temperatura, umidade do ar, percentual de ovos de casca vítrea em relação a produção total de ovos, percentual de ovos trincados e percentual de ovos trincados de casca vítrea dentre o total de trincas	46
Tabela 3	Correlação entre percentual de ovos de casca vítrea e médias de temperatura, umidade do ar, ITU e ovos trincados	47
Tabela 4	Proporção entre dias de conforto, desconforto leve, moderado e grave nos meses de agosto, setembro, outubro e novembro em poedeiras comerciais	47
Tabela 5	Proporção de conforto, desconforto leve, moderado e grave nos meses de agosto, setembro, outubro e novembro em poedeiras comerciais	48
Tabela 6	Comparação entre percentual de ovos de casca vítrea, ovos trincados e trincados vítreos dentro das classes conforto, desconforto leve e moderado	48

CAPÍTULO 3 – QUALIDADE DE OVOS COMERCIAIS DE CASCA VÍTREA

Tabela 1	Composição percentual de ingredientes na ração de postura	59
Tabela 2	Parâmetros de qualidade de casca de ovos: percentagem de casca, matéria mineral (MM), cálcio (Ca), fósforo (P), espessura de casca (EC) (mm), número de poros por cm ² e resistência da casca (RC) (kgf) das cascas de ovos normal e vítrea	61
Tabela 3	Desdobramento da interação poros (cm ²), espessura de casca (mm ²), percentual de cálcio, fósforo e resistência de casca de ovos de casca normal e vítrea, para tipo de casca e ciclo	61

Tabela 4	Parâmetro de qualidade interna de ovos com casca normal e vítrea: percentagem de albúmen (Alb) e gema, unidades Haugh (UH) e índice de gema (IG)	62
Tabela 5	Desdobramento da interação de percentagem de albúmen, unidades Haugh, índice de gema para tipo de casca e ciclo	62
Tabela 6	Percentual de matéria seca (MS), matéria mineral (MM), proteína bruta (PB) e pH de albúmen e gema, e extrato etéreo (EE) de gema de ovos de casca normal e casca vítrea	63
Tabela 7	Desdobramento da interação do percentual de matéria seca, matéria mineral, proteína e pH de albúmen para tipo de casca e ciclo	63
Tabela 8	Desdobramento da interação do percentual de matéria mineral, proteína bruta e pH de gema para tipo de casca e ciclo	64

SUMÁRIO

	CAPÍTULO 1 – CONSIDERAÇÕES GERAIS	15
1	INTRODUÇÃO	16
2	REVISÃO DE LITERATURA	17
2.1	Composição da Casca	17
2.2	Fatores que Afetam a Qualidade da Casca	17
2.3	Linhagem das Poedeiras	18
2.4	Idade das Poedeiras	18
2.5	Tempo de Oviposição	19
2.6	Nutrição e Qualidade da Água	20
2.7	Estresse Geral	22
2.8	Estresse por Calor	23
2.9	Sanidade	24
2.10	Casca Vítrea	25
2.11	Espectroscopia Raman	29
2.12	Espectroscopia de Infravermelho com Transformada em Fourier com Reflectância Total Atenuada (ATR-FTIR)	30
3	OBJETIVOS	30
4	REFERÊNCIAS	31
	 CAPÍTULO 2 – TEMPERATURA E UMIDADE DO AR NA PRODUÇÃO DE OVOS DE CASCA VÍTREA	 40
	Resumo	42
	Introdução	42
	Material e Métodos	43
	Resultados	46
	Discussão	49
	Referências	52
	 CAPÍTULO 3 – QUALIDADE DE OVOS COMERCIAIS COM CASCA VÍTREA	 57

Abstract	58
Introdução	58
Material e Métodos	59
Resultados	60
Discussão	64
Conclusão	66
Resumo	66
Referências	66

CAPÍTULO 4 - Caracterização da casca vítrea de ovos comerciais por Espectroscopia Raman e Espectroscopia Infravermelho com Transformada de Fourier com Reflectância

Total Atenuada	69
Resumo	71
Introdução	71
Material e Métodos	72
Resultados	73
Discussão	75
Referências	77
Considerações Finais	90

ANEXOS

Normas da Revista Brazilian Journal of Poultry Science	91
Normas da Revista Bioscience Journal	96

CAPÍTULO 1

CONSIDERAÇÕES GERAIS

(Redigido conforme normas da Biblioteca UFU – MG)

1 INTRODUÇÃO

O ovo é uma fonte acessível de nutrientes contendo proteína de qualidade, gorduras, vitaminas, minerais e ainda apresenta baixa concentração calórica. Sua qualidade nutricional aliada ao baixo custo faz do ovo excelente fonte de proteína de origem animal (AMARAL et al., 2016).

A casca é considerada uma embalagem biológica, ou seja, natural do ovo (ORNELLAS, 2001). Na natureza ou em indústrias de incubação, as cascas dos ovos devem ser resistentes o suficiente para preservar o embrião, oferecendo-lhe abrigo, proteção e nutrientes para o desenvolvimento do embrião, além de permitir a ocorrência de trocas gasosas e controle da perda de umidade para o meio, do momento da postura até o nascimento do pintinho (SOLOMON, 2010). Em ovos de consumo, a casca deve ser forte suficiente para evitar danos causados pelo manuseio e transporte da fazenda até o mercado consumidor (ALTUNTAS; SEKEROGLU, 2008). Como barreira física e química, a casca acondiciona o conteúdo dificultando a ocorrência de perda de nutrientes e contaminações que poderiam comprometer a qualidade interna do produto (SOLOMON, 2010).

De fundamental importância dentro do processo produtivo, a casca é essencial para viabilidade econômica da indústria (AHMADI; RAHIMI, 2011). De acordo com Ketta e Tûmová (2016), cerca de 8 a 10% dos ovos produzidos são perdidos por danos na estrutura externa. A presença de trincas e quebras nas cascas é importante fonte de perda econômica, seja pelo extravasamento de seu conteúdo ainda na granja, pela depreciação do preço de venda ou pelo aumento do risco de contaminação bacteriana dos ovos quebrados assim como pelo extravasamento sobre outros ovos que são acondicionados na mesma embalagem, colocando em risco a segurança do alimento.

Entre as alterações normalmente observadas na casca dos ovos encontra-se a casca vítrea, caracterizada pela presença de pontos acinzentados espalhados pela superfície externa que conferem a casca uma aparência desuniforme. O conhecimento dos fatores envolvidos na formação e composição da casca vítrea busca esclarecer sua influência sobre a produção e a qualidade dos ovos.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Composição Da Casca

A casca corresponde a cerca de 8 a 11% do peso do ovo (ORNELLAS, 2001). A casca é composta por 96% de carbonato de cálcio na forma de calcita, o único polimorfo de carbonato encontrado na casca do ovo após a postura (NYS et al., 1991), sendo as demais porções compostas por 2% de matriz orgânica e o restante, constituído por magnésio, fósforo e oligoelementos (NYS et al., 2004). Para um ovo de 60 gramas de peso médio encontra-se cerca de 2,3 gramas de cálcio depositados na casca (HUNTON, 2005).

A casca é composta por seis camadas. A porção mais interna, em íntimo contato com albúmen, é composta por dupla camada de membranas, essencialmente orgânicas, compostas por rede de fibras proteicas (NYS et al., 1999). Acima das membranas e a elas interligada encontra-se a porção mineral da casca que se divide em três camadas. A mais interna é constituída por cones irregulares formando botões calcificados que são penetrados pelas fibras da membrana externa da casca e é denominada camada mamilar. A porção seguinte é formada a partir dos botões mamilares constituindo numa trama de aspecto trançado nominada de paliçada. A camada seguinte é composta por uma estrutura delgada de cristais verticais alinhados perpendicularmente. E por último, a cutícula que recobre externamente a casca, é dividida em dois extratos, o interno de composição mineral e o externo de natureza orgânica e pigmentada (DENNIS et al., 1996).

2.2 Fatores que Afetam a Qualidade da Casca

A formação da casca é influenciada por fatores dos quais se destacam a linhagem e idade das poedeiras, tempo de oviposição, nutrição, qualidade da água, estresse e sanidade, que combinados determinam a qualidade do produto final (KETTA; TŰMOVÁ, 2016). A identificação de fatores que interferem na formação da casca comprometendo a sua qualidade é necessária para minimizar a desvalorização ou perda do ovo.

2.3 Linhagem das poedeiras

Fruto da seleção genética, diferentes linhagens de poedeiras podem produzir ao longo de seu ciclo produtivo econômico, quantidade de ovos, tamanho, conteúdo interno e qualidade de casca significativamente distintas (DE KETELAERE et al., 2002), em especial devido a diferenças em suas capacidades de transporte, utilização de nutrientes e exigências nutricionais (FRANCO; SAKAMOTO, 2007).

As poedeiras leves, produtoras de ovos brancos, apresentam baixo peso corporal (1680 gramas em média) sendo a demanda energética e gasto com manutenção reduzidos, o que propicia maior eficiência na conversão alimentar. As aves semi pesadas são as produtoras de ovos com casca vermelha, com peso médio de 1990 gramas, possuem menor eficiência na conversão de alimentos em ovos, o que é economicamente compensado pela maior valorização do ovo vermelho no mercado (RAMOS et al., 2011).

2.4 Idade das poedeiras

Poedeiras comerciais iniciam a produção de ovos por volta da 18ª semana de idade, quando cerca de 5% das aves do lote iniciam a postura, nas semanas seguintes há um aumento exponencial da produção de ovos, até que em torno da 28ª semana de idade as poedeiras atingem o pico de produção com postura média de 95 a 97%, até a 38ª semana. De 39 a 52 semanas a produção de ovos se mantém em torno de 90%. A partir de 53 semanas de idade a produção de ovos tende a cair lentamente até 72 semanas quando a produção declina para 60%. (AHMAD, 2011). Em geral, poedeiras jovens produzem ovos menores com espessura e resistência de cascas superiores aos ovos de poedeiras em final do ciclo produtivo (BARBOSA et al., 2012).

Com o aumento de idade da poedeira ocorre declínio da produção e aumento no tamanho dos ovos o que favorece a queda na qualidade externa dos ovos por alterações na composição da casca e significativa redução em sua espessura, aumentando a propensão a quebras e trincas (ROBERTS, 2010).

Durante todo o ciclo produtivo a quantidade de cálcio depositada na casca é relativamente constante. Entretanto, o ovo sofre um acréscimo de até 40% no seu

tamanho no final do ciclo de postura, portanto, ocorre menor deposição de cálcio por superfície de casca. Desta forma, o aumento no tamanho do ovo não é acompanhado por aumento proporcional do peso da casca, diminuindo a relação entre peso da casca e peso do ovo (ARAÚJO; ALBINO, 2011).

A queda na qualidade da casca com a progressão da idade da poedeira deve ocorrer também pela redução da habilidade da absorção intestinal de cálcio e mobilização do cálcio ósseo. A taxa de retenção do cálcio absorvido cai de 60% para 40% em poedeiras velhas (ARAÚJO; ALBINO, 2011).

A incapacidade da ave em produzir maior quantidade de casca está relacionada à redução na atividade renal da enzima 25-hidroxi-colecalciferol-1-hidroxilase, responsável pela homeostase do cálcio (ROBERTS; BALL, 2004; JOYNER et al., 1987), além da menor capacidade de absorção colecalciferol (Vit D3) pela mucosa intestinal associado ao aumento na velocidade de metabolização, além da queda na eficiência do útero em mobilizar o cálcio circulante e depositá-lo na casca (VIEIRA, 2001).

2.5 Tempo de Oviposição

A quantidade de casca depositada apresenta função linear com o tempo de permanência no interior do útero, portanto, influencia diretamente na qualidade fisiológica da casca (TÚMOVÁ; EBEID, 2005). As galinhas poedeiras realizam a postura em período limitado do dia, período este que varia em função da constituição genética, idade da ave e fatores ambientais como, por exemplo, o foto período (LILLPERS, 1991).

Em geral, galinhas menos produtivas necessitam de um período mais longo para produzir um ovo, apresentam sequências curtas e mais dias de pausa. As aves modernas fruto de seleção genética para o aumento da produção de ovos, exibem longas sequências de postura de ovos com pausa de algumas horas (GOW et al., 1985; YOO et al., 1986).

O processo de formação do ovo inicia no ovário, a síntese da gema ocorre a partir do oócito primário pela deposição contínua de nutrientes no folículo. A ovulação da gema que ocorre no ovário esquerdo, em seguida é captada pelo infundíbulo, onde permanece por cerca de 15 minutos, para formação da membrana

perivitelina e chalazas. O próximo passo é a formação do albúmen que ocorre no magno, processo que dura em média três horas. Na sequência, o ovo chega ao istmo, permanecendo por cerca de 75 minutos, para a deposição das fibras que compõe as membranas interna e externa da casca. No útero é a região de maior tempo de permanência do ovo em formação, cerca de 20 horas (ITO et al., 2013). Na porção tubular do útero ocorre o processo denominado de plumping, momento em que o albúmen recebe água e eletrólitos, e o ovo ganha aproximadamente a forma e o volume com que é oviposto. Após a deposição das camadas da casca, a cutícula é depositada e o ovo é então expelido através da vagina (ROBERTS, 2004).

2.6 Nutrição e Qualidade da Água

O balanceamento correto dos nutrientes fornecidos na dieta das aves é essencial à formação e a qualidade da casca de ovos. Cálcio e fósforo são os principais macrominerais essenciais à formação da casca. O fósforo exerce importante função na deposição esquelética do cálcio e na posterior disponibilidade deste elemento para a casca durante seu processo de formação (AL-BATSHAN et al., 1994; BAR et al., 2002). Durante a formação da casca, o fósforo, contribui para redução da acidose sanguínea, pelo aumento de sua concentração a nível plasmático, favorecendo a excreção de fosfato pelos rins (BERTECHINI, 1998).

O cálcio é constituinte do composto carbonato de cálcio responsável pela composição de 95% da casca (SWIATKIEWICZ et al., 2015). Fatores como fonte de cálcio, nível de inclusão na dieta, tamanho (SWIATKIEWICZ et al., 2015) e solubilidade da partícula (VELLASCO et al., 2016) são capazes de influenciar a qualidade da casca.

A homeostase do cálcio e fósforo é realizada pela ação combinada dos sistemas gástrico entérico e renal, pela atuação dos hormônios paratormônio, calcitonina e 1,25 dihidroxicolecalciferol, que é a forma metabolizada da vitamina D3, portanto, envolvidos na formação da casca. Esta vitamina estimula a absorção e reabsorção desses minerais a nível intestinal (JHONSTON; IVEY, 2002), e ainda, induz a produção de enzimas, proteína cálcio ligante e componentes de membrana, envolvidos na regulação dos minerais (SCOTT et al., 1982). A movimentação do

cálcio através do útero envolve a proteína cálcio ligante dependente de vitamina D (KESHAVARZ, 2003).

A vitamina D3 - colecalciferol é obtida através da dieta ou sintetizada pelo organismo via irradiação ultravioleta do dehidrocolesterol formando vitamina D3. Contudo, na avicultura de postura, as poedeiras normalmente são alojadas em gaiolas, sendo a irradiação insuficiente para produzir níveis adequados de vitamina D3, portanto, a suplementação dessa vitamina na dieta se faz necessária (BERTECHINE, 2012).

Zinco e manganês são microminerais também essenciais à formação da casca. Eles são co-fatores de metalo enzimas envolvidas na síntese de mucopolissacarídeos e carbonato que integram a matriz orgânica da casca (SWIATKIEWICZ; KORELESKI, 2008).

A água é um nutriente de essencial importância dentro do ciclo produtivo, indispensável em todos os processos biológicos e por ser consumida em grande quantidade pelas aves deve ser de boa qualidade física, química e microbiológica (CARDOZO et al., 2015). Desta forma, a água destinada a dessedentação das aves deve ser potável com as mesmas características da água fornecida para consumo humano (SOARES, 2010).

Em galinhas poedeiras 55% do peso corporal se deve a água e representa 65% do peso do ovo (LEESON; SUMMERS, 2001). A água exerce importante papel na qualidade da casca dos ovos, uma vez que o consumo de água apresenta estreita relação com o consumo de ração (TABLER, 2003). O fornecimento de água de qualidade às aves garante a formação adequada da casca do ovo.

A ingestão de água salina pode resultar em aumento de ovos com casca trincada, fina ou a produção de ovos sem casca (GAMA et al., 2008). A temperatura da água oferecida as aves também é um importante fator que pode contribuir para manutenção ou melhora na qualidade da casca. O fornecimento de água resfriada para aves sob estresse por calor pode, entre outros benefícios, favorecer a melhoria na síntese da casca (GUTIERREZ et al., 2009).

2.7 Estresse Geral

Perturbações ao bem estar das aves podem influenciar na formação e qualidade da casca dos ovos. Alterações meteorológicas, mudança de ambiente, alta densidade populacional e ruídos, são alguns dos fatores estressores que induzem alterações fisiológicas nas aves, podendo determinar mudanças nos hormônios reprodutivos, afetando assim, a formação e a qualidade externa dos ovos (FREEMAN, 1988).

Os organismos vivos apresentam capacidade de manutenção das características bioquímicas e fisiológicas, chamada de homeostase. Os estressores são fatores que perturbam a homeostase e a resposta a esses fatores é denominada de estresse (PAWLAK; KONTECKA, 1995). Dependendo do caráter ou intensidade, o estresse pode atuar positivamente no organismo induzindo a adaptação e aumento de imunidade ou promover distúrbios hormonais e alterações fisiológicas, metabólicas e até mesmo morfológicas (FIKO et al., 1992; SIEGEL, 1971).

Durante o estresse, o eixo hipotálamo-hipófise-adrenal é ativado resultando em secreção de cortisol. O estresse prolongado eleva os níveis plasmáticos de corticosteroides que provocam desequilíbrio nos processos catabólicos e anabólicos, que se persistirem por longo tempo, afetam a reprodução, a resistência a doenças e a sobrevivência do organismo (ROMERO, 2004; BOONSTRA, 2004; LUNDBERG, 2005). Os corticosteroides são responsáveis pela formação de moléculas de glicose para reservas de carboidratos, lipídios e proteínas, além da liberação de catecolaminas que em aves induzem a liberação imediata de glicose no sangue, degradação de glicogênio acumulado no fígado, estímulo da atividade do centro vasomotor, alterações na intensidade da ventilação e aumento da sensibilidade nervosa (SIEGEL, 1980). As catecolaminas estimulam a atividade da enzima cAPM, responsável pela regulação de processos químicos e fisiológicos que demandam energia, e estímulo a síntese de anticorpos (BROWN; NESTOR, 1973). O aumento da glicemia em aves induzido pelo aumento na liberação de corticosteroides leva a inibição do apetite, uma vez que esses hormônios são mediadores de proteínas, inibindo o centro de saciedade no sistema nervoso (HONDA et al., 2007).

O hormônio liberador de corticotrofina age de forma inibitória sobre o hormônio liberador de gonadotrofinas no hipotálamo provocando inibição do eixo

hipotálamo-hipófise-gonadal, e conseqüentemente não há secreção, pela hipófise, dos hormônios luteinizante e folículo estimulantes (RIVIER et al., 1991) influenciando desta forma a produção de ovos.

Nas aves, alterações plasmáticas de glicocorticoides apresentam efeitos rápidos (segundos ou minutos), promovendo alterações de comportamento e inibições na fisiologia reprodutiva (SALPOLSKY et al., 2000). Poedeiras em estresse podem produzir ovos sem gema ou sem casca (MORENG; AVENS, 1990).

2.8 Estresse por Calor

A temperatura corporal média das aves é de 41,1 °C. Quando em homeostase, o gasto de energia para manutenção é mínimo, e a energia metabolizada é direcionada para processos produtivos, otimizando o desempenho (TAKAHASHI et al., 2009).

Nas aves, a zona de conforto térmico está relacionada a fatores como genética, idade, sexo, tamanho, peso, tipo de ração e consumo, estado fisiológico e postura (FURTADO et al., 2003). Para galinhas poedeiras, a zona termo neutra está entre 20 a 24 °C com umidade relativa do ar de 40±5 % (CHEPETE; XIN, 2001; YANAGI JUNIOR et al., 2002).

Umidade e temperatura ambiente são variáveis que exercem grande influência no conforto térmico animal, uma vez que, em temperaturas elevadas, a principal fonte de dissipação de calor das aves é a evaporação que depende da umidade do ar (BAÊTA; SOUZA, 2010).

Sob altas temperaturas, as aves podem sofrer alterações fisiológicas capazes de influenciar a formação da casca do ovo, culminando em queda na sua qualidade. A redução no consumo de ração e aumento na ingestão de água diminui a quantidade de nutrientes necessários à produção, resultando em queda no potencial produtivo e qualidade dos ovos (COSTA et al., 2012; VERCESE et al., 2012).

Para que a perda de calor via evaporativa seja funcional a umidade relativa do ar não pode ultrapassar 80%. Porém, quando as aves são submetidas a elevadas temperaturas por período superior a quatro dias, ocorre o fenômeno de aclimação, na tentativa de reduzir os efeitos negativos originados pelas respostas fisiológicas para manutenção da homeostase (ABDELQADER; AL-FALAFTAH, 2014).

Animais submetidos a estresse por ação do calor utilizam de artifícios fisiológicos como perda de calor por irradiação, convecção e evaporação. Além dos mecanismos citados, as aves não dispõem de glândulas sudoríporas, mas são capazes de promover troca de calor através dos sacos aéreos (MUSTAF et al., 2009).

Os sacos aéreos durante a ofegação promovem a circulação de ar, favorecendo o aumento de trocas gasosas com o meio ambiente, contribuindo para a perda de calor evaporativa (FEDDE, 1998). Esta situação abaixa os níveis de dióxido de carbono e o aumento do pH sanguíneo, provocando alcalose respiratória, que é compensada pela alcalose metabólica que reduz os níveis séricos de bicarbonato e cálcio livre disponíveis para mineralização da casca, afetando assim, a formação e a qualidade da casca produzida (MARDER; ARAD, 1989).

2.9 Sanidade

A ocorrência de parasitismo intenso ou enfermidade capaz de comprometer a saúde das aves pode resultar direta ou indiretamente em queda na qualidade da casca dos ovos (AHMADI; RAHIMI, 2011).

Dentre as enfermidades que acometem o sistema reprodutivo das aves, destaca-se a Síndrome da Queda de Postura (EDS) e Bronquite Infecciosa das Galinhas (IB), que são capazes de interferir na qualidade da casca de ovos (MAZZUCO et al., 1998).

A EDS é uma doença infecciosa causada por um adenovírus (TODD; MCNULTY, 1978). A transmissão ocorre por via vertical ou horizontal (BACK, 2002). Os principais sinais clínicos são diarreia, estertor úmido, alterações na coloração da casca, postura de ovos com casca fina ou sem casca e presença de albúmen aquoso. A profilaxia é realizada com a vacinação das aves com 15 semanas de idade (MAZZUCO et al., 1998).

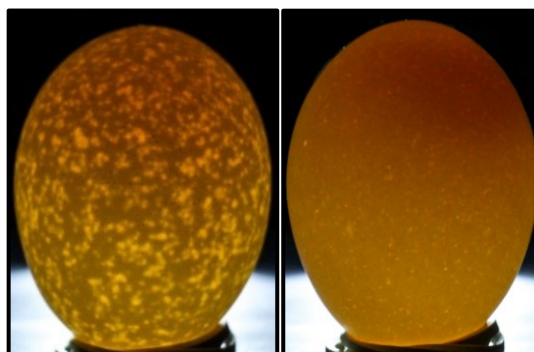
A IB é uma doença viral aguda, altamente contagiosa causada pelo vírus da bronquite infecciosa (IBV) (MUNEER et al., 1988). A transmissão ocorre pelo contato direto ou pelo exsudato bronquial (DHINAKAR; JONES, 1997). A sintomatologia abrange sinais respiratórios como rouquidão, coriza e espirros, declínio na produção e queda na qualidade interna dos ovos com presença de albúmen liquefeito. A

prevenção é possível pela vacinação das poedeiras na fase de cria e recria (MAZZUCO et al., 1998).

2.10 Casca Vítreas

A casca vítreas se caracteriza pela ocorrência de pontos ou manchas acinzentadas, de aspecto vitrificado, de diâmetros variados espalhados pela superfície da casca, que observados contra luz apresentam aspecto translúcido (Figura 1).

Figura 1 - Ovos de casca vítreas e normal, respectivamente, vistos contra luz.



Fonte: Arquivo Pessoal.

A preocupação com a casca de aspecto translúcido e a forma como ele afeta a qualidade do ovo acontece há mais de um século, em 1868 Nathusius já discorria sobre o tema. Várias hipóteses foram formuladas desde o início da exploração comercial das aves para justificar a ocorrência desse tipo de casca, no entanto, a falta de evidências para fundamentá-las não garantia uma explicação plausível para sua formação (HOLST et al., 1932).

Dentre as hipóteses levantadas, destacava-se a crença de que a passagem de luz pela casca poderia ser afetada por fatores como: as áreas translúcidas serem mais finas que as porções opacas ou normais; pela distribuição desuniforme de gordura na superfície da casca; uma diferença na estrutura mineral dos cristais das áreas translúcidas, assim como a ocorrência de manchas na casca provocada pela presença de ar (HOLST et al., 1932).

Na década de 1930 Holst et al. (1932) classificaram o aspecto translúcido como alteração na textura da casca. Naquela época, já havia a percepção que o aspecto da casca após a postura não era permanente, uma vez que ovos recém-postos tinham a aparência normal, e algumas horas após a postura em temperatura ambiente, adquiriam o aspecto vítreo, da mesma forma, que as manchas e a translucidez desapareciam após a retirada do conteúdo interno, à medida que ocorreria a secagem da casca. Os autores concluíram que o aspecto translúcido era conferido pela distribuição desuniforme da umidade na casca. Além disso, os ovos de ambos os tipos de casca apresentaram porosidade, qualidade interna e perda de peso semelhante, após o armazenamento.

Em 1934, Alquist e Burmester, relataram um tipo de casca que também apresentava aspecto translúcido quando observadas contra luz, mas que julgaram ser diferente do relato anterior pela presença de áreas maiores e mais translúcidas. E por apresentarem mais regiões com aspecto vitrificado e devido à associação com uma emissão de som semelhante ao de vidro quando tocadas, estas cascas foram denominadas de cascas vítreas. Os autores observaram que algumas aves produziam mais frequentemente ovos com casca vítrea. Ao armazenamento em temperatura ambiente, os ovos com casca vítrea perderam menos peso que os ovos com casca normal. A porosidade média da casca vítrea foi inferior a dos ovos opacos, justificando a menor perda de peso dos ovos estocados. A espessura média das cascas vítreas foi inferior às cascas normais e o percentual proteico da casca foi maior nesse tipo de casca. No entanto, a resistência entre as cascas foi semelhante. O aspecto vítreo foi atribuído à presença de maior umidade na casca.

A denominação dada por Baker e Curtiss (1957) foi simplesmente casca mosqueada. Pela primeira vez era reportada a depreciação, por parte de compradores de ovos com esse tipo de casca, já que existia a ideia geral de que aqueles ovos tinham casca mais frágil, e, portanto, ao armazenamento, acreditava-se que não seriam capazes de manter a qualidade do conteúdo à semelhança dos ovos de casca normal. No entanto, os autores reportaram que ovos de ambos os tipos de casca proporcionaram qualidade interna semelhante ao armazenamento.

Tyler e Geake (1964) relataram a ocorrência de dois tipos de cascas translúcidas. Na primeira, os pontos vítreos eram facilmente observados contra a luz, mas quando a avaliação era realizada sem a luz, os pontos não eram

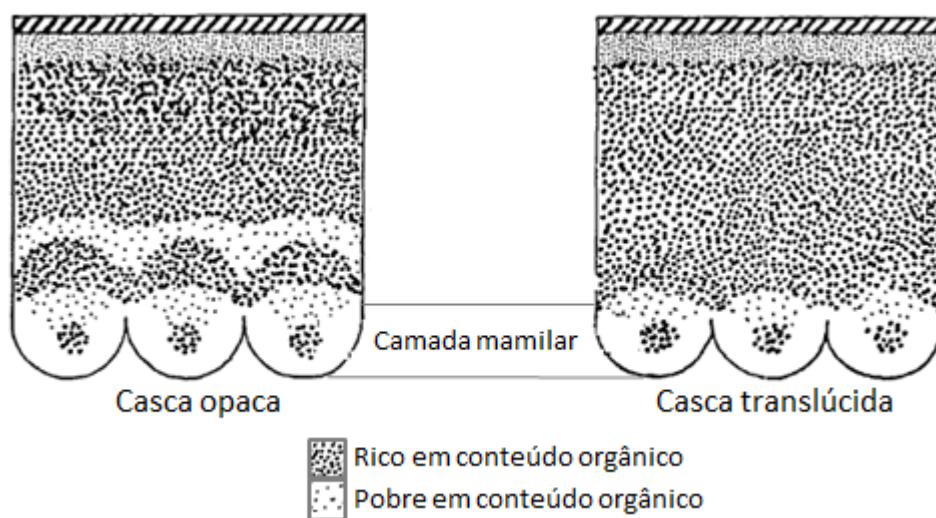
necessariamente vistos. O segundo tipo, era observado a olho nu como pontos acinzentados e quando inspecionados contra a luz apresentavam aspecto translúcido, porém, eram alongados como arranhões e foram classificados como translúcido accidental.

Microscopicamente, a aparência da cutícula muda com o tempo de armazenamento, provavelmente pela secagem e oxidação de pontes de sulfidril (SH) e dissulfeto (-S-S-) existentes nas proteínas da cutícula. No momento da postura, a cutícula é facilmente interrompida por ação mecânica pelo contato com o arame da gaiola, unhas ou bico da galinha, favorecendo o aparecimento das ranhuras translúcidas (DENISON, 1967; TYLER; STANDEN, 1969; TALBOT; TYLER, 1974).

Em seu estudo sobre a influência da água sobre a resistência da casca, Tyler e Geake (1964), observaram que a água enfraquece a resistência da casca e esse seria o motivo pela frequente alusão de que cascas translúcidas seriam mais frágeis, uma vez que a umidade presente na casca foi apontada por estudos anteriores, como sendo a principal responsável pela formação do aspecto translúcido.

A distribuição desuniforme da matéria orgânica e a retenção de umidade na casca foram apontadas por Talbot e Tyler (1974) como responsáveis pela formação do aspecto translúcido (Figura 2). De acordo com os autores, na casca normal ou opaca, acima da camada mamilar, existe uma área rica em conteúdo orgânico, seguida de uma camada de baixo conteúdo orgânico e, novamente, outra camada rica em conteúdo orgânico.

Figura 2 - Representação esquemática da distribuição da matriz orgânica na casca opaca e translúcida.



Fonte: Adaptado de Talbot e Tyler (1974).

Em uma mesma casca, regiões opacas apresentaram acima da camada mamilar uma camada com baixo conteúdo orgânico, destacando que nos pontos translúcidos o conteúdo orgânico estava ausente. No entanto, esta constituição não tornou as áreas opacas mais espessas que as translúcidas (TALBOT; TYLER, 1974).

Nos últimos anos, estudos têm sido realizados a fim de investigar a relação entre translucidez e a penetração de bactérias patogênicas no interior dos ovos. Mas, os resultados ainda são controversos. Chousalkar et al. (2010) reportaram correlação significativa entre translucidez da casca e a penetração de bactérias com potencial patogênico no interior dos ovos. No entanto, Gole et al. (2014 a e b) em seus estudos, não observaram qualquer relação entre a presença de pontos translúcidos e o favorecimento a penetração de bactérias em ovos. A divergência nos resultados encontrados na literatura pode ser em parte, explicada pelas diferenças nas metodologias adotadas para avaliar os ovos. Chousalkar et al. (2010) destacaram que o uso de álcool 70% na esterilização das cascas dos ovos, antes da contaminação pelas bactérias, pode ter danificado a cutícula da casca e, desta forma, facilitado a penetração dos patógenos no interior do ovos.

Wang et al. (2017) comparando duas linhagens de galinha poedeiras relataram maior espessura, maior resistência e membrana menos espessa em ovos com casca vítrea.

O que fica evidente no histórico das pesquisas sobre a casca vítrea é que os resultados são inconclusivos e até mesmo contraditórios, algumas pesquisas, destacam a inexistência de diferenças na qualidade de ovos de ambos os tipos de casca, enquanto outras denotaram a fragilidade da casca e a perda de qualidade interna em consequência da presença de pontos vítreos.

Vários fatores como diferenças individuais, linhagem, idade, estado fisiológico (ALQUIMIST; BURMESTER, 1934; SIMKISS, 1957; BAKER CURTISS, 1957) ou ainda a disponibilidade mineral da dieta, tempo de armazenamento dos ovos, temperatura e umidade relativa do ar (WANG et al., 2017) parecem estar envolvidos na formação dos pontos vítreos na casca.

Nos capítulos que se seguem será utilizado o termo casca vítrea para designar a casca dos ovos neste estudo. Este termo foi escolhido porque a aparência vítrea é facilmente perceptível a olho nu, sendo, portanto, o aspecto que mais desperta atenção de produtores e consumidores de ovos.

2.11 Espectroscopia Raman

O efeito Raman foi descoberto pelo professor físico indiano Chandrasekhara Venkata Raman em 1928 (DAS; AGRAWAL, 2011). O equipamento Raman emite uma fonte de raio laser que ao atingir a amostra produz uma excitação de elétrons gerando luz de energia de diferentes espectros que possibilitam obter informações sobre a composição química no ponto focado da amostra. A diferença de energia entre a radiação incidente e a espalhada gera a banda de deslocamento Raman, descrita comumente como número de onda. A frequência de vibração dos átomos presentes na amostra permite descobrir o tipo de ligação entre eles, a geometria molecular, e como as espécies químicas interagem entre si e com o meio. Cada espécie química fornece um espectro único, como uma “impressão digital”, que permite sua identificação (RODRIGUES; GALZERANI, 2012).

A Espectroscopia Raman apresenta como vantagens a rapidez, a preservação das amostras, por ser um técnica não destrutiva, permite a análise de

amostras sem prévia preparação (DE BEER et al., 2004), gerando economia de custos, além de mínima interferência da água presente nas amostras (FARIA et al., 2002).

2.12 Espectroscopia de Infravermelho com Transformada em Fourier com Reflectância Total Atenuada (ATR-FTIR)

A espectroscopia de infravermelho é uma variante da espectroscopia vibracional baseada na vibração dos átomos de determinada molécula. O espectro é obtido pela passagem de radiação infravermelha através da amostra permitindo a obtenção de espectros de absorção, emissão, fotocondutividade ou difração. O termo “Transformada de Fourier” se refere ao processo matemático ao qual os dados obtidos são submetidos no espectro de absorção (RODRIGUES, 2014).

Entre as limitações da FTIR pode-se destacar o tamanho, espessura e diluição da amostra, já que a quantidade de água pode interferir na obtenção dos espectros (MARTINHO, 2009).

O emprego das técnicas de espectroscopia Raman e FTIR fornece uma fonte confiável de informações já que os resultados gerados por ambas se complementam, pois modos vibracionais inacessíveis por Raman podem ser acessados pela espectroscopia de infravermelho e vice-versa (RODRIGUES; GALZERANI, 2012).

3 OBJETIVOS

Objetivou-se avaliar a influência das variáveis ambientais temperatura, umidade relativa do ar ITU sobre a incidência de ovos de casca vítrea, bem como, a qualidade de ovos e a espectroscopia da casca.

4 REFERÊNCIAS

- ABDELQADER, A.; AL-FATAFTAH, A. R. Thermal acclimation of broiler birds by intermittent heat exposure. **Journal of Thermal Biology**, Oxford, v. 39, p.1-5, Nov. 2014. <https://doi.org/10.1016/j.jtherbio.2013.11.001>
- AHMAD, H. A. Egg production forecasting: Determining efficient modeling approaches. **The Journal of Applied Poultry Research**, Oxford, v. 20, n. 4, p. 463-473, Dec. 2011. <https://doi.org/10.3382/japr.2010-00266>
- AHMADI, F.; RAHIMI, F. Factors affecting quality and quantity of egg production in laying hens: A review. **World Applied Sciences Journal**, Detra, v. 12, n. 3, 372-384, 2011.
- AL-BATASHAN, H. A.; SCHEIDLER, S. E.; BLACK, B. L.; GARLICH, J. D.; ANDERSON, K. E. Duodenal calcium uptake, femur ash and eggshell quality decline with age and increases following molt. **Poultry Science**, Champaign, v. 73, p. 1590-1596, Oct. 1994. <https://doi.org/10.3382/ps.0731590>
- ALQUIMIST, H. J.; BURMESTER, B. R. Characteristics of an abnormal type of egg shell. **Poultry Science**, Champaign, v. 13, n. 2, p. 116-122, Mar 1934. <https://doi.org/10.3382/ps.0130116>
- ALTUNTAS, E.; SEKEROGLU, A. Effect of egg shape index on mechanical properties of chicken eggs. **Journal of Food Engineering**, Essex, v. 85, n. 4, p. 606-612, Apr. 2008. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2007.08.022>
- AMARAL, G.; GUIMARÃES, D.; NASCIMENTO, J. C; CUSTODIO, S. Avicultura de postura: estrutura da cadeia produtiva, panorama do setor no Brasil e no mundo e o apoio do BNDS. **Agroindústria**, Rio de Janeiro, v. 43, p. 167-207, mar. 2016.
- ARAÚJO, W. A.G.; ALBINO, L. F. T. **Importância de qualidade da casca do ovo em matriz pesada**. Incubação comercial. Viçosa, MG: Transworld Research Network, 2011. p. 123-137.
- BACK, A. **Manual de Doença de Aves**. Cascavel, PR: Coluna do Saber 2002. p.153 – 155.
- BAÊTA, F. C.; SOUZA, C. F. **Ambiência em edificações rurais: conforto animal**. 2. ed..Viçosa, MG: Editora UFV, 2010. 269 p. <https://doi.org/10.3382/ps.0360904>
- BAKER, R. C.; CURTTIS, R. Individual hen differences in egg shell mottling and the relationship of the shell mottling to clutch size, internal quality and weight loss. **Poultry Science**, Champaign, v. 36, p. 904-908, Jul. 1957. <https://doi.org/10.3382/ps.0360904>

BAR, A.; RAZAPHKOVSKY, V.; VAX, E. Re-evaluation of calcium and phosphorus requirements in aged in laying hens. **British Poultry Science**, London, v. 43, n. 2, p. 261-269, May 2002. <https://doi.org/10.1080/00071660120121481>

BARBOSA, V. M.; BAIÃO, N. C.; MENDES, P. M. M.; ROCHA, J. S. R.; POMPEU M. A.; LARA, L. J. C.; MARTINS, N. R. S.; NELSON, D.L.; MIRANDA, D. J. A.; CUNHA, C. E.; CARDOSO, D. M.; CARDEAL, P.C. Avaliação da qualidade da casca dos ovos provenientes de matrizes pesadas com diferentes idades. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 64, n. 4, p. 1036-1044, aug. 2012. <https://doi.org/10.1590/S0102-09352012000400033>

BERTECHINI, A.G. **Nutrição de monogástricos**. 1998. 273 f. Trabalho de Conclusão de Curso em Produção Animal– Associação Brasileira de Educação Agrícola Superior, Brasília, 1998.

BERTECHINI, A.G. **Nutrição de monogástricos**. 2ª Edição Lavras: Editora UFLA, 2012. 373 p

BOONSTRA, R. Coping with changing northern environments: the role of the stress axis in birds and mammals. **Integrative and Comparative Biology**, Oxford, v.44, n. 2, p.95–108, Apr. 2004. <https://doi.org/10.1093/icb/44.2.95>

BROWN, K. J.; NESTOR, K.E . Some physiological responses of turkey selected for high and low adrenal response to cold stress. **Poultry Science**, Champaign, 52, 1948–1955, 1973. <https://doi.org/10.3382/ps.0521948>

CARDOZO, N. R.; DA SILVA, V. R.; SIQUEIRA, J. D.; THALER NETO, A.; MILETTI, L. C.; GEWEHR, C. E. Qualidade da água de granjas de postura comercial da região Sul de Santa Catarina em relação ao Ofício Circular Conjunto DFIP/DAS nº 1/2008. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v.82, p. 82:1-7, jun. 2015. <https://doi.org/10.1590/1808-1657000632013>

CHEPETE, H. J.; XIN, H. Heat and Moisture Production of Poultry and Their Housing Systems - A Literature Review. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM, 6., 2001, Louisville. Proceedings... Louisville: Iowa State University. 2001. Disponível em: < <http://citeseerx.ist.psu.edu/viewdoc/download?doi=10.1.1.857.761&rep=rep1&type=pdf>>. Acesso em: 9 fev. 2018.

CHOUSALKAR, K. K.; FLYNN, P.; SUTHERLAND, M.; ROBERTS, J. R.; CHEETHAM, B. F. Recovery of Salmonella and Escherichia coli from commercial egg shells and effect of translucency on bacterial penetration in eggs. **International Journal of food microbiology**, Amsterdam, v. 142, n. 1-2, p. 207-213, Aug. 2010. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2010.06.029>

COSTA, E. M. S.; DOURADO, L. R. B.; MERVAL, R. R. Medidas para avaliar o conforto térmico em aves. **Publicações em Medicina Veterinária e Zootecnia**, Londrina, v. 6, n. 31, p. 1450-1454, set. 2012.

<https://doi.org/10.1016/j.vibspec.2011.08.003>

DAS, R. S.; AGRAWAL, Y. K. Raman spectroscopy: Recent advancements, techniques and applications. **Vibrational Spectroscopy**, Amsterdam, v. 57, n. 2, p. 163-176, Nov. 2011. <https://doi.org/10.1016/j.vibspec.2011.08.003>

DE BEER, T. R. M.; BAEYENS, W. R. G.; HEYDEN, V. Y.; REMON, J. P.; VERVAET, C.; VERPOORT, F. Development and validation of a direct, non-destructive quantitative method for medroxyprogesterone acetate in a pharmaceutical suspension using FT-Raman spectroscopy. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, Amsterdam, v.23, n. 4-5, p. 355–62, Dec. 2004. <https://doi.org/10.1016/j.ejps.2004.08.009>

DE KETELAERE, B.; GOVAERTES, T.; COUCKE, P.; DEWIL, J.; DECUYPERE, E.; DE BAERDEMAEKER, J. Measuring the eggshell strenght of 6 different genetic strains of laying hens: techniques and comparisons. **British Poultry Science**, London, v. 43, n.2, 238-244, May. 2002. <https://doi.org/10.1080/00071660120121454>

DENISON, J.W. The effect of mechanical disturbance of the egg cuticle in shell mottling. **Poultry Science**, Champaign, v. 46, n. 3, p. 771-772, May. 1967. <https://doi.org/10.3382/ps.0460771>

DENNIS, J. E.; XIAO, S. Q.; AGARVAL, M.; FINK, D. J.; HEUER, A. H.; CAPLAN, A. I. Microstructure of matrix and mineral components of eggshells from white leghorn chicken (*Gallus gallus*). **Journal of Morphology**, Philadelphia, v. 228, n. 3, p. 287–306, Jun. 1996. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-4687\(199606\)228:3<287::AID-JMOR2>3.0.CO;2-#](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-4687(199606)228:3<287::AID-JMOR2>3.0.CO;2-#)

DHINAKAR, R. G.; JONES, R. C. Infectious bronchitis virus: immunopathogenesis of infection in the chicken. **Avian Pathology**, Abingdon, v.26, n. 4, p.677-706, 1997. <https://doi.org/10.1080/03079459708419246>

FARIA, D. L. A.; AFONSO, M. C.; EDWARDS, H. G. M. Espectroscopia Raman: uma nova luz no estudo de bens culturais. **Revista do Museu de Arqueologia e Etnologia**, São Paulo, v. 12, p. 249-267, 2002. <https://doi.org/10.11606/issn.2448-1750.revmae.2002.109452>

FITKO, R.; JAKUBOWSKI, K.; ROSZKO, E.; POTRZUSKA, I.; ZIELIŃSKI, H. Narastanie oporności kurcząt do przewlekłe powtarzanego stresu. **Medycyna Weterynaryjna**, Warszawa, v. 48, n. 1, p. 29–31, 1992.

FRANCO, J. R. G.; SAKAMOTO, M. I. Qualidade dos ovos: uma visão geral dos fatores que a influenciam. **Ave World**, v.3, n. 16, p. 20-25, 2005.

FEDDE, M. R. Relationship of structure and function of the avian respiratory system to disease susceptibility. **Poultry Science**, Champaign, v. 77, n. 8, p. 1130-1138, Aug. 1998. <https://doi.org/10.1093/ps/77.8.1130>

FREEMAN, B. M. The domestic fowl in biomedical research: physiological effects of the environment. **Words Poultry Science Journal**, Ithaca, v. 44, p. 41-60, Feb.1988.
<https://doi.org/10.1079/WPS19880004>

FURTADO, D. A.; AZEVEDO, P. V.; TINÔCO, I. F. F. Análise do conforto térmico em galpões avícolas com diferentes sistemas de acondicionamento. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v. 7, n. 3, p. 559-564, 2003.

GAMA, N. M. S. Q.; TOGASHI, C. K.; FERREIRA, N. T.; BUIM, M. R.; GUASTALLI, E. L.; FIAGÁ, D. A. M. Conhecendo a água utilizada para as aves de produção. Divulgação técnica: Instituto Biológico. **Centro Avançado de Pesquisa Tecnológica do Agronegócio Avícola**, Unidade de Pesquisa e Desenvolvimento de Bastos, São Paulo, v.70, n.1, p.43-49, jan./jun. 2008.

GOLE, V. C.; ROBERTS, J. R.; SEXTON, M.; MAY, D.; KIERMEIER, A.; CHOUSALKAR, K. K. Effect of egg washing and correlation between cuticle and egg penetration by various Salmonella strains. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v. 182-183, p. 18-25, Jul. 2014 a.
<https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2014.04.030>

GOLE, V. C.; CHOUSALKAR, K.; ROBERTS, J. R.; SEXTON, M.; MAY, D.; TAN, J.; KIERMEIER, A. Effect of egg washing and correlation between eggshell characteristics and egg penetration by various Salmonella Typhimurium strains. **Plos One**, San Francisco, v. 9, n. 3, p. 1-12, Mar. 2014 b.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0090987>

GOW, C. B.; SHARP, P.J.; CARTER, N. B.; SHELDON, B. L.; SCARAMUZZI, R. J.; Yoo, B. H. Plasma concentrations of luteinising hormone during the ovulatory cycle in hens selected for reduced oviposition interval and maintained in continuous light or a 24 h light: dark cycle. **British Poultry Science**, London, v. 27, n. 137-146, Nov.
<https://doi.org/10.1080/00071668608416865>

GUTIERREZ, W. M.; MIN, W.; CHANG, H. H. Effects of chilled drinking water on performance of laying hens during constant high ambient temperature. **Asian-Australasian Journal of Animal Science**, Champaing, v. 22, n. 5, p. 694-699, May. 2009. <https://doi.org/10.5713/ajas.2009.80549>

HONDA, K.; KAMISOYAMA, H.; SAITO, N.; KUROSE, Y.; SUGAHARA, K.; HASEGAWA S., 2007. Central administration of glucagon suppresses food intake in chicks. **Neuroscience Letters**, Limerick, v. 416, 198–201, Apr. 2007.
<https://doi.org/10.1016/j.neulet.2007.02.011>

HOLST, W. F.; ALQUIMIST, H. J.; LORENZ, F. W. A study of shell texture of the hen's egg. **Poultry Science**, Champaign, v. 11, n. 3, p. 144-149, May. 1932.
<https://doi.org/10.3382/ps.0110144>

HUNTON, P. Research on eggshell structure and quality: an historical overview. **Brazilian Journal of Poultry Science**, Campinas, v. 7, n. 2, p. 67-71, Apr./Jun. 2005. <https://doi.org/10.1590/S1516-635X2005000200001>

ITO, N. M. K.; MIYAJI, C. I.; MIYAJI, S. O. **Sistema reprodutor e formação do ovo**. In: MACARI, M.; GONZALES, E.; PATRÍCIO, I.S.; NÄÄS, I.A.; MARTINS, P.C. Manejo da Incubação, 3 ed., Facta, Jaboticabal, pp.01-30. 2013.

JHONSTON, M. S.; IVEY, E. S. Parathyroid and ultimo branchial glands: calcium metabolism in birds. **Seminars in Avian and Exotic Pet Medicine**, Amsterdam, v. 11, n. 2, 84-93, Apr. 2002. <https://doi.org/10.1053/saep.2002.122689>

JOYNER, C. J.; PEDDIE, M. J.; TAYLOR, T. G. The effect of age on egg production in the domestic hen. **General and Comparative Endocrinology**, New York, v. 65, n. 3, p. 331-336, Mar. 1987. <https://doi.org/10.1093/ps/82.9.1415>

KESHAVERZ, K. A comparison between cholecalciferol and 25-OH-cholecalciferol on performance and eggshell quality of hens fed different levels of calcium and phosphorus. **Poultry Science**, Champaign, v. 82, p.1415-1422, Sept. 2003. <https://doi.org/10.1093/ps/82.9.1415>

KETTA, M.; TŮMOVÁ, E. Eggshell structure, measurements, and quality-affecting factors in laying hens: a review. **Czech Journal of Animal Science**, Praga, v. 61, n. 7, p. 299-309, 2016. <https://doi.org/10.17221/46/2015-CJAS>

LEESON, S.; SUMMERS, J.D. **Nutrition of chicken**. 4.ed. Guelph. University Books, 2001. 415p.

LILLPERS, K. Genetic variation in the time of oviposition in the laying hen. **British Poultry Science**, London, v. 32, n. 2, p. 303-312, May. 1991. <https://doi.org/10.1080/00071669108417354>

LUNDBERG, U. Stress hormones in health and illness: The roles of work and gender. **Psychoneuroendocrinology**, Oxford, v. 30, n. 10, p. 1017-1021, Nov. 2005. <https://doi.org/10.1016/j.psyneuen.2005.03.014>

MARDER, J.; ARAD, Z. Panting and acid-base regulation in heat stressed birds. **Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Physiology**, New York, v. 94 A, n. 3, p. 395-400, 1989. [https://doi.org/10.1016/0300-9629\(89\)90112-6](https://doi.org/10.1016/0300-9629(89)90112-6)

MARTINHO, H. S. **Descrição das técnicas e acessórios de medida do Sistema espectroscopia de absorção do infravermelho FT-IR 660 da Varian**. 2009. Central Experimental Multiusuário UFABC (Universidade Federal do ABC) 61 p, Disponível em: < http://propes.ufabc.edu.br/cemsa/wa_files/ftircem.pdf > Acesso em: 11/07/2018.

MAZZUCO, H.; ROSA, P.S; JAENISCH, F. R. F. **Problemas de cascas de ovos: identificando as causas**. Concórdia: EMBRAPA-CNPSA (EMBRAPA-CNPSA. Documentos, 48) 1998. 21p.

MORENG, R. E.; AVENS, J. S. **Ciência e produção de aves**. Livraria Rocca Ltda, 1990. 380p.

- MUNEER, M. A.; NEWMAN, J. A.; HALVORSON, D. A.; SIVANANDAN, V.; NAGARAJA, K. V.; COON, C. N. Efficacy of infectious bronchitis virus vaccines against heterologous challenge. **Research in Veterinary Science**, London, v. 45, n. 1, p. 22-27, Jul. 1988. [https://doi.org/10.1016/0300-9629\(89\)90112-6](https://doi.org/10.1016/0300-9629(89)90112-6)
- MUSTAF, S.; KAHARAMAN, N. S.; FIRAT, M. Z. Intermittent partial surface wetting and its effect on body-surface temperatures and egg production of White and brown domestic laying hens in Antalya (Turkey). **British Poultry Science**, London, v. 50, n. 1, p. 33-38, Jan. 2009. <https://doi.org/10.1080/00071660802592399>
- NATHUSIUS, W. V. Ueber die Hüllen, welche den Dotter des Vogeleies Umgeben. **Zeitschrift für wissenschaftliche Zoologie**, Leipzig, v.18, p. 225-270, 1868. Disponível : <<https://wellcomelibrary.org/item/b22448883#?c=0&m=0&s=0&cv=0&z=-1.3461%2C-0.0934%2C3.6921%2C1.8681>> Acesso em: 28/01/2018.
- NYS, Y.; GAUTRON, J.; GARCIA-RUIZ, J. M.; HINCKE, M. T. Avian eggshell mineralization: biochemical and functional characterization of matrix proteins. **Comptes Rendus Palevol**, Paris, v. 3, p. 549–562, Oct. 2004. <https://doi.org/10.1016/j.crpv.2004.08.002>
- NYS, Y.; HINCKE, M.; ARIAS, J. L.; GARCIA-RUIZ, J. M.; SOLOMON, S. E. Avian eggshell mineralization. **Poultry and Avian Biology Reviews**, Northwood, v. 10, p. 143-166, 1999.
- NYS, Y.; ZAWADZKI, J.; GAUTRON, J.; MILLS, A. D. Whitening of brown-shelled eggs – Mineral-composition of uterine fluid and rate of protoporphyrin deposition. **Poultry Science**, Champaign 70, n. 5, 1236–1245, May. 1991. <https://doi.org/10.1016/j.crpv.2004.08.002>
- ORNELLAS, L. H. **Técnica dietética: seleção e preparo de alimentos**. 7. ed. São Paulo: Editora Metha, 2001. 330 p.
- PAWLAK, M.; KONTECKA, H. Stres u zwierząt. **Pol Drob.**, v. 12, p. 8-10, 1995.
- RAMOS, S. P.; SILVA, P. L.; FERNANDES, E. A.; TAVARES, M.; GREGÓRIO, H. C. S. Influência da linhagem e da idade de matrizes leves e semi pesadas na qualidade do ovo e do pinto de um dia. **Veterinária Notícias**, Uberlândia, v. 17, n. 1, 2011.
- RIVIER, C.; RIVEST, S. Effects of stress on the activity of the hypothalamic-pituitary-gonadal axis: peripheral and central mechanisms. **Biology of Reproduction**, Champaign, v.45, n. 4, p.523-532, Oct. 1991. <https://doi.org/10.1095/biolreprod45.4.523>
- ROBERTS, J. R. (2010): Factors affecting eggshell and internal egg quality. In: ANNUAL ASAIM SE - Feed Technology and Nutrition Workshop, 18., 2010, Le Meridien Siem Reap. **Proceedings...** Le Meridien Siem Reap, Cambodia, 1–9, 2010.
- ROBERTS, J. R. Factors affecting egg internal quality and egg shell quality in laying

hens. **Journal of Poultry Science**, Faisalabad, v. 4, p. 161-177, 2004.
<https://doi.org/10.2141/jpsa.41.161>

ROBERTS, J. R.; BALL, W. Egg quality guidelines for the Australian industry. In: EUROPEAN SYMPOSIUM ON THE QUALITY OF EGGS AND EGG PRODUCTS, 11, 2005, Armidale. **Proceedings...** Armidale, Australia, Australian Egg Corporation. Limited Publication 03/19, pp:32, 2004.

RODRIGUES, A. G.; GALZERANI, J. C. Espectroscopias de infravermelho, Raman e de fotoluminescência: potencialidades e complementariedades. **Revista Brasileira de Ensino de Física**, São Paulo, v. 34, n. 4, p. 1-9, oct./dec. 2012.
<https://doi.org/10.1590/S1806-11172012000400009>

RODRIGUES, J. Espectroscopia de Infravermelhos (FTIR) – **Laboratório Online**. 2014. Disponível em: < <https://www.fcencias.com/2014/11/13/espectroscopia-de-infravermelhos-ftir-laboratorio-online/> > Acesso em: 11/07/2018.

ROMERO, L.M. Physiological stress in ecology: lessons from biomedical research. **Trends in Ecology & Evolution**, Amsterdam, v.19, n.5, p. 249-255, May. 2004.
<https://doi.org/10.1016/j.tree.2004.03.008>

SALPOLSKY, R.M.; ROMERO, L.M.; MUCK, A. U. How do glucocorticoids influence stress responses? Integrating, permissive, suppressive, stimulatory, and preparative actions. **Endocrine Reviews**, Baltimore, v. 21, n. 1, p. 55-89, Feb. 2000.
<https://doi.org/10.1210/edrv.21.1.0389>

SCOTT, M. L.; NESHEIN, M. C.; YOUNG, R. J. **Nutrition of the chicken**. 3. ed. New York: Scott and Assoc. Publ., 1982. 562p.

SIEGEL H. S. Adrenals, stress and the environment. **World's Poultry Science Journal**, Ithaca, v. 27, 3, 327–349, Out. 1971. <https://doi.org/10.1079/WPS19710038>

SIEGEL, H. S. Physiological stress in birds. **BioScience**, Washington, v. 30, p. 529-534, Aug. 1980. <https://doi.org/10.2307/1307973>

SIMKISS, K.; TYLER, C. A histochemical study of the organic matrix of hen egg shells. **Quarterly Journal of Microscopical Science**, Oxford, v. 98, part 1, p. 119-28, Mar. 1957.

SOARES, N.M. Quantidade e qualidade da água na produção de aves. Unidade de Pesquisa e desenvolvimento de Bastos, 2010. Disponível em: < <https://pt.engormix.com/avicultura/artigos/quantidade-qualidade-agua-producao-aves-t36916.htm> > Acesso em: 23/04/2018.

SOLOMON, S.E. The eggshell: strenght, structure and function. **British Poultry Science**, London, v.51, Suppl 1, p. 52-59, Aug. 2010.
<https://doi.org/10.1080/00071668.2010.497296>

SWIATKIEWICZ, S.; KORELESKI, J. The effect of zinc and manganese source in the diet for layer hens on eggshell and bones quality. **Veterinarni Medicina**, Praha, v. 53, n. 10, p. 555-563, 2008. <https://doi.org/10.17221/1966-VETMED>

SWIATKIEWICZ, S.; AREZEWSKA-WLOSEK, A.; KRAWCZYK, J.; PUCHULA, M.; JÓZEFIAK, D. Effects on performance and eggshell quality of particle size of calcium source in laying hens` diets with different Ca concentrations. **Archives Animal Breeding**, Gottinga, v. 58, p. 301-307, Jul. 2015. <https://doi.org/10.5194/aab-58-301-2015>

TABLER, G.T. Water intake: a good measure of broiler performance. **Avian Advise**, Arkansas, v.5, n.3, p.7-9, 2003.

TALBOT, C. J.; TYLER, C. A study of the fundamental cause of natural translucent areas in egg shells. **British Poultry Science**, London, v. 15, 197-204, 1974. <https://doi.org/10.1080/00071667408416096>

TAKAHASHI, L. S.; BILLER, J. D.; TAKAHASHI, K. M. **Bioclimatologia zootécnica**. 1ed – Jaboticabal, SP, 2009. 91p.

TODD, D.; MCNULTY, M. S. Biochemical studies on a virus associated with egg drop syndrome 1976. **Journal of General Virology**, London, v. 40, p. 63-75, 1978. <https://doi.org/10.1099/0022-1317-40-1-63>

TYLER C.; GEAKE F.H. The effect of water of egg shell strength including a study of the translucent areas of the shell. **British Poultry Science**, London, v. 5, n. 3, 277-284, 1964. <https://doi.org/10.1080/00071666408415541>

TYLER, C.; STANDEN, N. The artificial production of translucent streaks on egg shells and various factors influencing their development. **British Poultry Science**, London, v. 10, p. 359-369, 1969. <https://doi.org/10.1080/00071666908415781>

TŮMOVÁ, E.; EBEID, T. Effect of time of oviposition egg quality characteristics in cages and in a litter housing system. **Czech Journal of Animal Science**, Praga, v. 50, n. 3, p. 129–134, 2005. <https://doi.org/10.17221/4006-CJAS>

VELLASCO, C. R.; GOMES, P. C.; DONZELE, J. L.; ROSTAGNO, H. S.; CALDERANO, A. A.; MELLO, H. H. C.; PASTORE, S. M. Levels of calcium and calcium:phosphorum ratio in diets for laying hens aged 24 to 40 weeks. *Ciência Animal Brasileira*, Goiânia, v. 17, n. 2, p. 206-216, abr. 2016. <https://doi.org/10.1590/1089-6891v17i226916>

VERCESE, F.; GARCIA, E. A.; SARTORI, J. R.; PONTES SILVA, A. DE. P.; FAITARONE, A. B. G.; BERTO, D. A.; MOLINO, A. DE B.; PELÍCIA, K. Performance and egg quality of japanese quails submitted to cyclic heat stress. *Brazilian Journal of Poultry Science*, Campinas, v. 14, p. 37-41, 2012. <https://doi.org/10.1590/S1516-635X2012000100007>

VIEIRA, S. L. Idade da matriz, amanho do ovo e desempenho do pintinho. In: CONFERÊNCIA APINCO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIAS AVÍCOLAS, 2001.

Campinas. **Anais...** Campinas, FACTA, p. 117 – 123, 2001.

WANG, D. H.; LI, Y. L.; LIU, L.; LIU, J. S.; BAO, M.; YANG, N.; CHENG, H. Z.; NING, Z. H. Traits of eggshells and shell membranes of translucent eggs. **Poultry Science**, Champaign, v. 96, p. 351-358, Feb., 2017. <https://doi.org/10.3382/ps/pew328>

YANAGI JUNIOR, T.; XIN, H.; GATES, R. S. Optimization of partial surface wetting to cool caged laying hens. **Transactions of the American Society of Agricultural Engineers**, St Joseph, v 45, n. 4, p. 1091-1100, 2002. <https://doi.org/10.13031/2013.9942>

YOO, B. H.; SHELDON, B. L.; PODGER, R. N. Analyses of oviposition times and intervals in a wide range of layer Flocks under normal and continuous lighting regimes. **British Poultry Science**, London, v. 27, p. 267-288, Nov. 1986. <https://doi.org/10.1080/00071668608416880>

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22

CAPÍTULO 2

FATORES AMBIENTAIS NA PRODUÇÃO DE OVOS DE CASCA VÍTREA

(Redigido conforme as normas da Revista Brazilian Journal of Poultry Science)

FATORES AMBIENTAIS NA PRODUÇÃO DE OVOS DE CASCA VÍTREA

LETÍCIA SOUZA SILVA CARVALHO^{1*}, SAMANTHA DE FÁTIMA HARMBACH LOURENÇO²,
KAMILA DE ÁVILA BATISTA³, LUIS ANTÔNIO JARIA BARBOSA⁴, EDNALDO CARVALHO
GUIMARÃES⁵, EVANDRO DE ABREU FERNANDES⁶

¹Doutoranda em Ciências Veterinárias da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Federal de Uberlândia.

²Responsável Técnica da empresa Somai Nordeste S/A.

³Médica Veterinária formada pela Universidade Federal de Uberlândia

⁴Mestre em Ciências Veterinárias pela Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Federal de Uberlândia.

⁵Prof. Dr. Titular da Faculdade de Matemática da Universidade Federal de Uberlândia.

⁶Prof. Dr. Associado da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Federal de Uberlândia.

Resumo: Objetivou-se avaliar a influência de fatores ambientais, como temperatura e umidade do ar, bem o ITU (Índice de Temperatura e Umidade) sobre a produção de ovos de casca vítrea. As galinhas foram alojadas em dois grupos, no primeiro 20 aves foram colocadas em gaiolas individualmente e no segundo grupo 180 aves foram distribuídas em 36 gaiolas contendo cinco aves cada. O experimento teve duração de quatro meses (agosto, setembro, outubro, novembro). As médias de temperatura e umidade no interior do galpão foram registradas em quatro *datalogger* distribuídos ao longo da fileira de gaiolas. Diariamente os ovos colhidos eram classificados em normal e vítreo, sendo o percentual de ovos de casca vítrea posteriormente parametrizado com os registros de temperatura e umidade. Realizou-se análise de variância da média da temperatura ($\bar{X}$, Max., Min.), umidade ($\bar{X}$, Max., Min.) e do percentual de ovos de casca vítrea e estas médias foram comparadas entre si pelo teste de Tukey. Calculou-se o ITU para avaliação do conforto térmico das aves e feita a categorização. Foi testada correlação entre ITU e o percentual de ovos de casca vítrea e correlação multivariada entre as médias de temperatura e umidade com a incidência da casca vítrea. O ITU e a associação da temperatura + umidade do ar, evidenciou, respectivamente correlação moderada e substancial sobre a produção de ovos vítreos. Portanto, a presença de casca vítrea em ovos é influenciada pelo ITU e a associação da temperatura e umidade do ar.

Palavras-chave: Casca Vítrea. Ovos Comerciais. Poedeiras.

Introdução

A casca constitui na embalagem natural do ovo, como barreira física, dificulta a contaminação do seu conteúdo por microrganismos, vírus ou outros patógenos (Hunton, 2005).

A qualidade da casca é determinada por um conjunto de fatores, destacando o genótipo da ave, idade, sistema de criação, tempo de oviposição, nutrição (Ketta & Tumová, 2016), manejo e fatores ambientais que combinados influenciam a sua integridade e resistência (Mazzuco & Bertechine, 2014).

Alterações ou defeitos na casca podem comprometer a qualidade e durabilidade do conteúdo interno do ovo. Um achado comumente observado na casca dos ovos denominado casca vítrea é frequentemente rejeitada por induzir no consumidor final o conceito de comprometimento da qualidade do conteúdo do ovo (Vilela *et al.*, 2016).

A casca vítrea é caracterizada pela presença de pequenos pontos cinza claro de diâmetros variados espalhados pela superfície da casca (Vilela *et al.*, 2016) (Figura 1), que são

melhor evidenciados nas primeiras 24 horas após a oviposição e aumentam com o tempo de armazenamento até sete dias após a postura (Samiullah & Chousalkar, 2014), a sua frequência parece variar ao longo do ciclo produtivo da poedeira em diferentes linhagens de galinhas comerciais.

O índice de temperatura e umidade (ITU) associa as variáveis temperatura e umidade do ar para caracterizar o ambiente térmico permitindo, desta forma, avaliar o conforto térmico dos animais (Buffington. 1997).

Observações a campo indicam um aumento da incidência de ovos de casca vítrea em temperatura e umidade elevadas. Variações de temperatura e umidade do ar podem promover alterações fisiológicas, em galinhas poedeiras, capazes de afetar a estrutura da casca. Constituiu-se então a hipótese de que condições do ambiente térmico seriam indutoras da formação dos pontos vítreos na casca de ovos de galinhas poedeiras.

Neste sentido, propôs-se avaliar o efeito da temperatura, umidade do ar, e ITU sobre a incidência de ovos de casca vítrea.

Material e Métodos

A pesquisa foi autorizada pela Comissão de Ética na Utilização de Animais (CEUA/UFU) sob o número 255/13. Os testes foram conduzidos na Granja Experimental – AVIEX - Fazenda do Glória, Universidade Federal de Uberlândia, onde 200 poedeiras comerciais da linhagem Dekalb White, com 60 semanas de idade, foram alojadas. Estas aves eram oriundas de um lote comercial em produção cedido pela Granja Natu`Ovos – Somai Nordeste em Uberlândia.

Num galpão de alvenaria, laterais teladas, telhado em estrutura metálica e telhas de fibro-cimento, com sete metros de largura e duas fileiras centrais de gaiolas (50x45)cm justapostas ocupando 20 metros de comprimento, representou todo o espaço destinado à criação destas aves em pesquisa. As duas fileiras de gaiolas eram equipadas com um bebedouro tipo nipple sobre cada gaiola e um comedouro tipo calha frontal às mesmas. As galinhas foram distribuídas ao acaso em número de cinco aves por gaiola (450 cm²) ocupando 36 gaiolas, 18 de cada lado, perfazendo 180 aves. As 20 aves restantes foram dispostas individualmente e casualmente em outras 20 gaiolas, identificadas por número (1 a 20), dez de cada lado, a fim de determinar se uma poedeira produzia ou não exclusivamente ovos com apenas um tipo de casca.

Quatro datalogger da marca HOMIS modelo 404A foram posicionados na altura das aves, ao longo das fileiras de gaiolas, sendo dois fixados na região das gaiolas coletivas e dois

nas gaiolas individuais, onde eram registrados a cada três horas, dados referentes à temperatura e umidade do ar.

As poedeiras receberam ração de postura fornecida pela empresa doadora das aves e formulada de acordo com os níveis nutricionais elaborados com referência às recomendações da linhagem Dekalb White (Tabela 1). Fornecida média diária de 110 gramas de ração, sendo 44 gramas (40%) oferecidas no período da manhã (8:00h) e 66 gramas (60%) no período da tarde (15:00h). A água foi ofertada *ad libitum*. Manteve-se um programa de iluminação de 17 horas de luz entre natural e artificial durante o período de condução da pesquisa.

Tabela 1. Composição percentual de ingredientes da ração de postura.

Ingredientes	Quantidade (%)
Milho 7,8	66,31
Farelo Soja 46,5	18,77
Calcário	8,86
Farinha de Carne e Ossos 45%	5,29
*PX POST – MC 700g DL-Met	0,40
Sal Comum	0,21
Bicarbonato de Sódio	0,10
DL-Metionina	0,06
Nutrientes	Quantidade (%)
Proteína Bruta	16,52
Cálcio	4,15
Fósforo Disponível	0,45
Ácido Linoleico	1,42
Lisina Digestível	0,72
Metionina Digestível	0,38
Metionina + Cistina Digestível	0,61
Energia Metabolizável (kcal EM/kg)	2.700

* Composição do Premix Vitamínico, Mineral e Aditivos: Níveis de Garantia por Quilo do Produto: ácido fólico (min) 125mcg; ácido pantotênico (min) 1.610mg; biotina (min) 3,75mg; colina (min) 52,2g; niacina (min) 5.000mg; Vit-A (min) 2.000.000UI; Vit- B1 (min) 50mg; Vit-B12 (min) 2.500mcg; Vit-B2 (min) 750mg; Vit-B6 (min) 425mg; Vit-D3 575.000UI; Vit-E (min) 3.750UI; Vit-K3 (min) 250mg; Se (min) 62,5mg; Cu (min) 19,75g; Fe (min) 7.500mg; I (min) 250mg; Mn (min) 15g; Zn (min) 15g; Halquinol 7.500mg, DL-Met 175g. Adicionar 4kg/t de ração.

A pesquisa teve duração de quatro meses (agosto, setembro, outubro, novembro). Após um período de duas semanas, da transferência e alojamento, fez-se a adaptação das aves ao novo ambiente de criação.

A seguir, diariamente, os ovos produzidos eram colhidos em bandejas de papelão com trinta unidades, identificadas por gaiola e armazenados no interior do galpão na área de manejo dos ovos, em ambiente natural por 48 horas, de forma a facilitar a identificação visualmente dos ovos de casca normal e vítrea.

Os ovos que apresentavam aparência vítrea na casca eram posteriormente, observados em ovoscópio de luz direta, de forma a confirmar a identificação visual feita anteriormente. Diariamente, determinou-se o percentual de ovos de casca normal e vítrea, o percentual de ovos trincados e o percentual de ovos trincados vítreos.

As temperaturas média ($\bar{X}$), máxima (Max.) e mínima (Min.) e umidade ($\bar{X}$, Max., Min.) foram registradas diariamente e parametrizadas com os dados de produção de ovos para estudar a possível influência da temperatura e umidade do ambiente do galpão sobre a incidência de ovos de casca vítrea.

Os dados de percentual de ovos de casca vítrea, trincados, trincados vítreos e as médias, mínimas e máximas de temperatura e umidade relativa do ar foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas entre si pelo teste de Tukey.

Para caracterização do ambiente térmico foi calculado o ITU através da equação proposta por Buffington et al. (1982): $ITU = 0,8 Ta + UR (Ta - 14,3)/100 + 46,3$; onde: Ta é a temperatura média do ar (°C); UR é a umidade relativa média do ar (%). Realizou-se a categorização do ITU em conforto, desconforto leve, moderado, grave e risco de vida conforme Morais et al. (2008).

Testou-se a correlação entre gaiolas individuais e coletivas sobre a incidência de casca vítrea. Realizou-se teste de Coeficiente de Correlação de Pearson entre temperatura, umidade do ar, ITU e percentual de ovos trincados com percentual de ovos de casca vítrea e correlação multivariada associando temperatura + umidade do ar sobre a incidência de ovos de casca vítrea.

Foi realizado o teste de proporção múltipla entre dias de conforto, desconforto leve, moderado, grave e risco de vida dentro de cada mês (agosto, setembro, outubro e novembro) e o mesmo teste foi aplicado para os meses avaliados dentro de cada categoria (conforto, desconforto leve, moderado, grave e risco de vida).

As magnitudes dos testes de correlação foram classificadas como propostos por Davis (1971), sendo $r=1$ correlação perfeita; $0,70 < r < 0,99$ muito alta; $0,50 < r < 0,69$ substancial; $0,30 < r < 0,49$ moderada; $0,10 < r < 0,29$ baixa e $0,01 < r < 0,09$ desprezível. Para todos os testes considerou-se 5% de significância.

Resultados

Aves em gaiolas individuais ou coletivas produziram ovos com ambos os tipos de casca independentemente do alojamento individual ou coletivo (Figura 2).

A temperatura média do primeiro mês (agosto) do experimento foi comparativamente mais baixa (22,08°C), elevando-se pontualmente nos meses de setembro (24,52°C) e outubro (25,86°C) seguido de uma queda para uma média de 24,42°C no último mês do experimento. No entanto, a umidade do ar ($\bar{X}$, Max., Min.) permaneceu constante nos três primeiros meses, se elevando cerca de 20% no último mês (Tabela 2).

O menor percentual de ovos de casca vítrea aconteceu em agosto, coincidindo com o mês em que houve o menor registro de temperatura. Em setembro e outubro, as médias de temperatura foram estatisticamente diferentes e maiores que as médias de agosto e a percentagem de ovos de casca vítrea elevou-se para cerca de 12% acompanhando o acréscimo da temperatura, mas há que se destacar que a umidade do ar dentro do galpão não sofreu variação estatística. A percentagem de ovos totais trincados manteve-se igual, exceto, no mês de outubro quando foi observado um ligeiro aumento em comparação com os demais meses. O percentual de ovos trincados com casca vítrea elevou-se em novembro, mês em que houve também o maior percentual de ovos com casca vítrea (Tabela 2).

Tabela 2 - Médias ($\bar{X}$), máximas (Max.) e mínimas (Min.) de temperatura, umidade do ar, percentual de ovos de casca vítrea em relação à produção total de ovos, percentual de ovos trincados e percentual de ovos trincados de casca vítrea dentre o total de trincas.

Meses	Temperatura (°C)			Umidade do Ar (%)			Casca Vítrea (%)	Trincados (%)	
	$\bar{X}$	Min.	Max.	$\bar{X}$	Min.	Max.		Total	Vítreos
Agosto	22,08 ^c	15,94 ^c	29,95 ^b	66,81 ^b	45,99 ^b	85,38 ^b	41,01 ^c	2,63 ^b	53,71 ^b
Setembro	24,52 ^b	18,45 ^b	32,01 ^{ab}	62,66 ^b	42,20 ^b	82,63 ^b	52,03 ^b	2,82 ^b	57,60 ^{ab}
Outubro	25,86 ^a	20,02 ^a	32,88 ^a	61,69 ^b	39,27 ^b	79,11 ^b	55,62 ^b	3,80 ^a	67,35 ^{ab}
Novembro	24,42 ^b	20,52 ^a	29,85 ^b	81,02 ^a	63,86 ^a	93,47 ^a	80,13 ^a	2,16 ^b	74,88 ^a
P-valor	0,0000	0,0000	0,0015	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0001	0,0256
CV	7,91	8,28	10,93	16,53	26,86	11,22	19,46	46,52	44,52

Médias seguidas de letras minúsculas iguais na mesma coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey (pvalor<0,05).

Temperatura e umidade do ar apresentaram isoladamente baixa e moderada correlação com o percentual de ovos de casca vítrea (Tabela 3). Todavia, quando se associou ambas as variáveis, a correlação canônica ou multivariada foi substancial, desta forma, 36% (P<0.0001)

da incidência de casca vítrea pode ser explicada pela influência das variáveis umidade do ar e temperatura ambiente em associação. O ITU apresentou correlação moderada e os ovos trincados não apresentaram correlação com a incidência de ovos de casca vítrea (Tabela 3).

Tabela 3 – Correlação entre o percentual de ovos de casca vítrea e as médias de temperatura, umidade do ar, ITU e ovos trincados.

		Temperatura	Umidade	Temp. + Umid.	ITU	Trincados
Casca Vítrea	R	0,22	0,45	0,60	0,43	-0,18
	%	4,84	20,25	36,00	18,49	3,24
	Pvalor	0,021	0,000	<0,0001	<0,0001	0,06

*Significativo para correlação simples ou multivariada para $P < 0,05$.

A proporção de dias de conforto em agosto foi menor que os dias de desconforto leve. Enquanto os dias de desconforto leve apresentou proporção diferente e maior que os dias categorizados como desconforto moderado e grave. Em setembro a proporção de dias de conforto foi diferente dos dias de desconforto grave. Os dias de desconforto leve teve menor proporção que os dias de desconforto grave. Em outubro os dias de conforto teve menor proporção que os dias classificados como risco para as aves e houve menor proporção dias de desconforto leve em comparação com grave. Em novembro os dias de conforto foi teve menor proporção que os dias de desconforto moderado e grave. Os dias de leve desconforto apresentou menor proporção que os dias de desconforto moderado (Tabela 4).

Tabela 4- Proporção entre dias de conforto, desconforto leve, moderado e grave nos meses de agosto, setembro, outubro e novembro em poedeiras comerciais.

Agosto						Setembro				
	Conforto	Desconforto				Conforto	Desconforto			
		Leve	Moderado	Grave			Leve	Moderado	Grave	
Proporção	0,0968	0,5806	0,1935	0,1290	Proporção	0,0357	0,1071	0,3571	0,5000	
Pvalor						Pvalor				
Leve	0,0002				Leve	0,9441				
Moderado	0,8556	0,0062			Moderado	0,0523	0,1979			
Grave	0,9935	0,0008	0,9515		Grave	0,0011	0,0092	0,6768		
Outubro						Novembro				
	Conforto	Desconforto			Risco	Conforto	Desconforto			
		Leve	Moderado	Grave			Leve	Moderado	Grave	
Proporção	0,0345	0,0690	0,3103	0,4138	0,1724	Proporção	0,0385	0,0769	0,5000	0,3846
Pvalor						Pvalor				
Leve	0,9986					Leve	0,9915			

Moderado	0,1415	0,2597			Moderado	0,0020	0,0061		
Grave	0,0111	0,0292	0,9143		Grave	0,0401	0,0872	0,8199	
Risco	0,7863	0,9143	0,7863	0,2597					

208 *Significativo para teste de comparação múltipla entre proporções se pvalor<0,05.

209 A proporção de dias de conforto foi estatisticamente igual entre os meses avaliados. A
 210 proporção de dias com desconforto leve foi maior em agosto em comparação com os demais
 211 meses. A proporção de dias com desconforto moderado foi estatisticamente igual entre os
 212 meses avaliados, enquanto menor proporção de dias de desconforto grave foi observado no
 213 mês de agosto em comparação com setembro, sendo que os demais meses estatisticamente
 214 iguais entre si para esta categoria (Tabela 5).

215 Tabela 5 – Proporção de conforto, desconforto leve, moderado e grave nos meses de agosto, setembro,
 216 outubro e novembro em poedeiras comerciais.

Conforto					Desconforto leve				
	Agosto	Setembro	Outubro	Novembro		Agosto	Setembro	Outubro	Novembro
Proporção	0,0968	0,0357	0,0345	0,0385	Proporção	0,5806	0,1071	0,0690	0,0769
Pvalor					Pvalor				
Setembro	0,7771				Setembro	0,0002			
Outubro	0,7612	1,0000			Outubro	0,0000	0,9892		
Novembro	0,8099	1,0000	0,9999		Novembro	0,0001	0,9950	0,9999	
Desconforto moderado					Desconforto grave				
	Agosto	Setembro	Outubro	Novembro		Agosto	Setembro	Outubro	Novembro
Proporção	0,1935	0,3571	0,3103	0,1154	Proporção	0,1290	0,5000	0,4138	0,3846
Pvalor					Pvalor				
Setembro	0,5469				Setembro	0,0308			
Outubro	0,7763	0,9825			Outubro	0,1489	0,9265		
Novembro	0,9262	0,2354	0,4215		Novembro	0,2555	0,8523	0,9970	

217 *Significativo para teste de comparação múltipla entre proporções se pvalor<0,05.

218 Observou-se menor percentual de casca vítrea em aves na categoria classificada como
 219 conforto térmico, assim como o percentual de ovos trincados dentro dessa classe (Tabela 6).

220 Tabela 6 – Comparação entre percentual de ovos de casca vítrea, ovos trincados e trincados vítreos
 221 dentro das classes conforto, desconforto leve e moderado.

Classes	Casca vítrea	Trincados
Conforto	48,858 ^b	2,558 ^b
Moderado	60,371 ^a	3,108 ^{ab}

Leve	65,094 ^a	3,658 ^a
Pvalor	<0,001	0,023

Médias seguidas de letras minúsculas iguais na mesma coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey (pvalor<0,05).

Discussão

A primeira pesquisa sobre ovos de casca vítrea foi executada por Holst et al. em 1932. Paralelamente, produtores registravam significativas perdas econômicas anuais, porque compradores subestimavam a qualidade de ovos com essa alteração na casca e a associavam a problemas com manejo nas granjas. E por acreditar que esses ovos não resistiriam aos canais de comercialização com a mesma qualidade que os ovos de casca normal, havia depreciação nos valores de venda (Baker & Curtiss, 1957).

Portanto, a casca vítrea se tornou preocupação entre produtores e pesquisadores desde o início do século XX. E apesar de sua incidência ser relatada ao longo de décadas e ser frequentemente observada em granjas e pontos de varejo, há carência de informações sobre os fatores envolvidos na formação desse tipo de casca e os impactos da sua presença na produção de ovos.

A incidência de ovos de casca vítrea varia ao longo do ciclo produtivo da ave, contudo, sua frequência é desconhecida. Entretanto, é uma ocorrência de grande extensão no território nacional, envolvendo ovos comerciais oriundos de granjas com diferentes linhagens de poedeiras de ovos brancos.

A casca vítrea é caracterizada por pequenos pontos de aparência acinzentada e vitrificada, que se evidencia comumente nos ovos expostos nas prateleiras dos supermercados. Por sugerir algum tipo de alteração na composição da casca é comum o cliente abrir mais de uma bandeja de ovos e proceder a troca por aqueles de casca normal.

No presente estudo, a individualização das galinhas em gaiolas permitiu verificar que uma ave dado momento, produzia ovos de casca normal e em outro, ovos de casca vítrea. Por outro lado, o adensamento das aves em gaiola (450 cm² por galinha) não teve influencia sobre a incidência do aspecto vítreo na casca. Desta forma, quando havia incremento no percentual de ovos de casca vítrea, isso era observado simultaneamente, naquelas galinhas individualizadas em gaiola ou em grupo de cinco por gaiola.

Houve aumento da temperatura e umidade do ar no interior do galpão ao longo dos meses avaliados, concomitantemente ao incremento no percentual de ovos de casca vítrea, sugerindo haver relação entre as variáveis ambientais e a ocorrência deste tipo de casca.

A transferência das aves para a Granja Experimental ocorreu no mês de julho e após adaptação dos animais observou-se baixa incidência de ovos de casca vítrea, no entanto, ao final deste mês, após a ocorrência de dias chuvosos e aumento da umidade ambiental, observou-se incremento na incidência de ovos de casca com pontos vitrificados, indicando haver relação ou facilitação do aparecimento dos pontos vítreos com o aumento da umidade.

A correlação entre as médias de temperatura e umidade do ar no interior do galpão com a incidência de ovos de casca vítrea foi baixa, todavia, quando ambas foram associadas e correlacionadas com a casca vítrea, houve correlação substancial entre as variáveis, mostrando que as condições ambientais podem interferir no seu aparecimento.

Embora não muito expressiva, a correlação entre ITU e a incidência de casca vítrea foi significativa. O ambiente é de fundamental importância no desempenho produtivo das aves. Em outubro, observou-se a maior incidência de ovos trincados e apesar da proporção de dias de desconforto grave não ter sido diferente entre os três últimos meses, outubro foi o único mês com registros de dias de ITU altos categorizados como risco de vida para as aves.

Aves fora da zona termoneutra expressam alterações comportamentais visando controlar sua temperatura corporal. O aumento da temperatura associado à umidade elevada proporciona queda gradativa na qualidade da casca, que pode ser parcialmente explicada pela supressão na ingestão de alimentos. Para produzir a casca, a poedeira depende em grande parte da disponibilidade de cálcio ingerido na dieta e de reservas corporais contidas nos ossos (Farmer *et al.*, 1983). Assim, a disponibilidade de CA^{2+} e a capacidade de transporte dos eritrócitos para a corrente circulatória, pelas proteínas cálcio ligantes, são deprimidas pelos efeitos do estresse térmico afetando o desempenho produtivo e as características de qualidade da casca (Mashaly *et al.*, 2004).

Aves em estresse por calor entram em hiperventilação para o seu equilíbrio térmico. O aumento da taxa respiratória reduz a pressão parcial de CO_2 e bicarbonato sanguíneo, proporcionando aumento no pH do sangue, que resulta em alcalose respiratória (Sahin *et al.*, 2013). Reduz a concentração de bicarbonato no útero, influenciando diretamente na formação da casca do ovo (Odom, 1986), desta forma, o estresse por calor pode diminuir a qualidade da casca dos ovos resultando em aumento de quebras e trincas (Lin *et al.*, 2004). Entre os ovos classificados como trincados observou-se maior percentual de ovos de casca vítrea, todavia, os ovos de casca vítrea apresentou maior proporção nos meses de setembro, outubro e novembro, sendo que neste último houve incidência de 80,13% de ovos de casca vítrea entre o total de ovos produzidos, portanto, a possibilidade de encontrar ovos trincados entre os vítreos era maior que entre ovos com casca normal.

De acordo com Pombo (2003) a perda de água nos ovos ocorre por evaporação em função do período de armazenamento, temperatura ambiente, umidade do ar e porosidade da casca.

A correlação substancial entre temperatura e umidade sobre o percentual de ovos com casca vítrea, muito provavelmente, se deve ao fato de que em temperatura e umidades elevadas ocorre o favorecimento da translocação de umidade do albúmen para a casca facilitando, desta forma, a visualização dos pontos vítreos em ovos que apresentam esta característica. O que corrobora com as afirmações de Samiullah & Chousalkar (2014) de que os pontos de aparência vitrificada são melhor observados 24 horas pós postura e aumentam com o tempo de estocagem até sete dias. Uma semana após a postura parece haver a estabilização da quantidade de pontos vítreos, muito provavelmente em função da saturação da casca pela umidade advinda do albúmen.

Segundo Salomon (1991) o aspecto vítreo ocorre em consequência da translocação de umidade através das membranas e seu acúmulo no interior da casca, estudos sugerem (Talbot & Tyler, 1974) que este quadro ocorre por diferenças na distribuição de material orgânico, Wang et al. (2017) relataram que a menor espessura da membrana orgânica da casca é uma característica presente em ovos com pontos vítreos na casca, fato que poderia contribuir para deslocamento da umidade para a casca.

A presença da casca vítrea continua sendo relatada por vários pesquisadores e produtores em diferentes países e diferentes linhagens de poedeiras, muito provavelmente, trata-se de uma resposta fisiológica da ave induzida pela influencia de múltiplos fatores que podem ocorrer isoladamente ou em associação, uma vez que sua ocorrência já foi vinculada a umidade ambiental durante o armazenamento dos ovos (Jeffrey & Darago, 1940), idade (Samiullah e Chousalkar, 2014) e linhagem das poedeiras (Wang et al., 2016).

Nas condições em que a presente pesquisa foi realizada, conclui-se que a incidência de ovos com casca vítrea é influenciada pelo ITU a associação da temperatura e umidade do ar.

Referências:

Baker RC, Curtiss R. Individual hen differences in egg shell mottling and the relationship of shell mottling to clutch size, internal quality and weight loss. *Poultry Science* 1957; 36(4):904-08.
<https://doi.org/10.3382/ps.0360904>

Buffington DE, Collier RJ, Canton GH. Shade Management systems to reduce heat stress for dairy cows. St. Joseph: American Society of Agricultural Engineers, 1982, 16 p.

Buffington DE, Collazo-Arocho A, Canton, GHD, Thatcher WW, Collier RJ. Black globe-humidity comfort index for dairy cows. St. Joseph: American Society of Agricultural Engineers 1997; 19 (77): 4517.

Davis J A. Elementary survey analysis. 1 ed. Dallas; Dallas/ Englewood: Prentice-Hall, 1971.

Farmer M, Ronald Sr DA, Eckmen MK. Calcium metabolism in broiler breeder hens. 2. The influence of the time of feeding on calcium status of the digestive system and egg shell quality. Poultry Science 1983; 62(3):465-71. <https://doi.org/10.3382/ps.0620465>

Holst WF, Almquist HJ, Lorenz FW. A study of shell texture of hen's egg. Poultry Science 1932; 11(3):144-49. <https://doi.org/10.3382/ps.0110144>

Hunton P. Research on eggshell structure and quality: An historical overview. Revista Brasileira de Ciência Avícola. 2005; 7(2):67-71. <https://doi.org/10.1590/S1516-635X2005000200001>

Jeffrey FP, Darago V. Effect of high humidity on egg quality during short holding periods. Bulletin, New Jersey Agricultural Experiment Station 1940; 682:16 pp.

Ketta M, Tumová E. Eggshell structure, measurements, and quality-affecting factors in laying hens: a review. Czech Journal of Animal Science 2016; 61(7):299-309. <https://doi.org/10.17221/46/2015-CJAS>

Lin H, Mertens K, Kemps B, Govaerts T, De Ketelaere B, De Baerdemaeker J, Decuypere E, Buyse J. New approach of testing the effect of heat stress on eggshell quality: Mechanical and material properties of eggshell and membrane. British Poultry Science 2004; 45(4):476–82. <https://doi.org/10.1080/00071660400001173>

Mashaly, MM, Hendricks GL3rd, Kalama MA, Gehad AE, Abbas AO, Patterson P H. Effect of heat stress on production parameters and immune responses of commercial laying hens. Poultry Science 2004; 83(6):889-94. <https://doi.org/10.1093/ps/83.6.889>

Mazzuco H, Bertechine AG. Critical points on egg production: causes, importance and incidence of eggshell breaking and defects. *Ciência e Agrotecnologia* 2014; 38(1):7-14. <https://doi.org/10.1590/S1413-70542014000100001>

Morais SRP, Yanagi Júnior T, Oliveira ALR de, Yanagi S de NM, Café MB. Classification of the temperature and humidity index (THI), aptitude of the region, and conditions of comfort for broiler and layer hens in Brazil. In: *Proceedings of the International Conference of Agricultural Engineering*; 2008; Iguassu Falls City: Brazilian Congress of Agricultural Engineering, International Livestock Environment Symposium; 2008, ref. 14.

Odom TW, Harrison PC, Bottje W G. Effects of thermal induced respiratory alkalosis on blood ionized calcium levels in the domestic hen. *Poultry Science* 1986; 65(3):570-3. <https://doi.org/10.3382/ps.0650570>

Pombo CR. Efeito do tratamento térmico de ovos inteiros na perda de peso e características de qualidade interna. [Dissertação]. Rio de Janeiro (RJ): Faculdade de Veterinária, Universidade Federal Fluminense; 2003.

Sahin K, Orhan C, Smith M, Sahun N. Molecular targets of dietary phytochemicals for the alleviation of heat stress in poultry. *Worlds Poultry Science Journal* 2013; 69(1):113-24. <https://doi.org/10.1017/S004393391300010X>

Samiullah JRR, Chousalkar KK. Effect of production system and flock age on egg quality and total bacterial load in commercial laying hens. *The Journal of Applied Poultry Research* 2014; (23):59-70. <https://doi.org/10.3382/japr.2013-00805>

Solomon SE 1991. Translucency. In: *Egg and Eggshell Quality*. Wolfe Publishing Limited. Aylesbury: England: UK 1996. p. 111-121.

Talbot CJ, Tyler C. A study of the fundamental cause of natural translucent areas in egg shells. *British Poultry Science* 1974; 15(2):197-204. <https://doi.org/10.1080/00071667408416096>

Vilela DR, Carvalho LSS, Fagundes NS, Fernandes EA. Qualidade interna e externa de ovos de poedeiras comerciais com cascas normal e vítrea. *Ciência Animal Brasileira* 2016; 17(4):509-18. <https://doi.org/10.1590/1089-6891v17i421535>

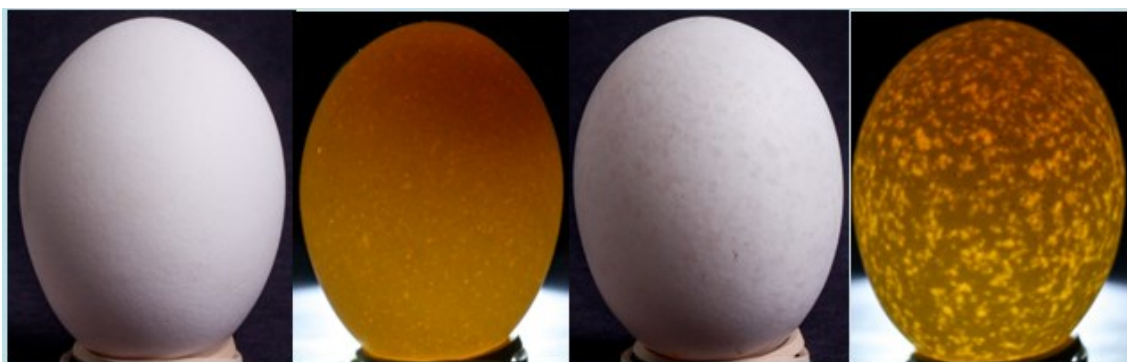
Wang DH, Hua LN, Gao Y, Liu J, Yang X, Ning Z. Research progress on formation of translucent eggshell. *China Poultry* 2016; 38(8):44-8.

Wang DH, Li YL, Liu L, Liu JS, Bao M, Yang N, Cheng HZ, Ning ZH, Traits of eggshells and shell membranes of translucent eggs. *Poultry Science* 2017; 96(2):351-8. <https://doi.org/10.3382/ps/pew328>

CAPÍTULO 2 - FATORES AMBIENTAIS NA PRODUÇÃO DE OVOS DE CASCA VÍTREA

LETÍCIA SOUZA SILVA CARVALHO^{1*}, SAMANTHA DE FÁTIMA HARMBACH LOURENÇO²,
KAMILA DE ÁVILA BATISTA³, LUIS ANTÔNIO JARIA BARBOSA⁴, EDNALDO CARVALHO
GUIMARÃES⁵, EVANDRO DE ABREU FERNANDES⁶

Figura 1 - Ovos de casca normal e vítrea, respectivamente, vistos na luz branca e contra luz no fundo preto.

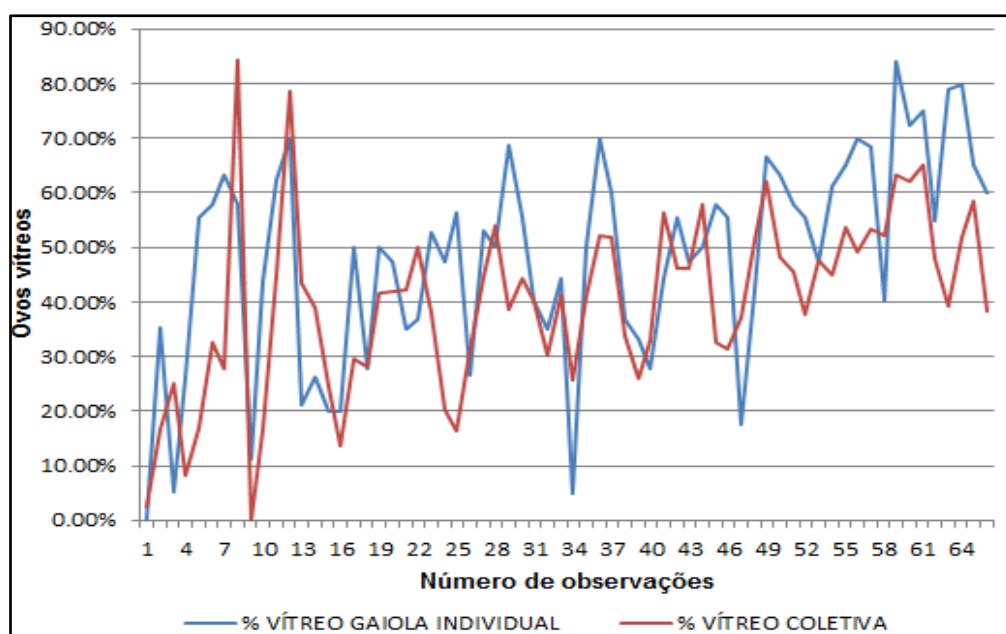


Fonte: Arquivo Pessoal.

CAPÍTULO 2 - FATORES AMBIENTAIS NA PRODUÇÃO DE OVOS DE CASCA VÍTEA

LETÍCIA SOUZA SILVA CARVALHO^{1*}, SAMANTHA DE FÁTIMA HARMBACH LOURENÇO²,
KAMILA DE ÁVILA BATISTA³, LUIS ANTÔNIO JARIA BARBOSA⁴, EDNALDO CARVALHO
GUIMARÃES⁵, EVANDRO DE ABREU FERNANDES⁶

Figura 2 – Percentual de ovos de casca vítrea em gaiolas individuais e coletivas.



CAPÍTULO 3

QUALIDADE DE OVOS COMERCIAIS DE CASCA VÍTREA

QUALITY OF COMMERCIAL EGGS WITH VITREOUS EGGSHELL

Abstract: The objective of this study was to evaluate the internal and external quality and the bromatological composition of the eggs of vitreous shell. Three egg samples were collected and 20 eggs of normal shell and 20 eggs of vitreous shell were collected for quality and bromatological evaluation, divided into five replicates with four eggs each replicate. In the first and last collection another 20 eggs of each type of shell were selected to determine the resistance of the shell. The variables evaluated were: Haugh units, yolk index, yolk pH, albumen pH, percentages of yolk, albumen and shell, bromatological composition of albumin and yolk with determination of percentages of dry matter, mineral matter, crude protein and ethereal extract (for yolk only). For evaluation of the shell, the average porosity per cm², shell thickness and percentages of mineral matter, calcium and phosphorus were measured. The results were submitted to analysis of variance and the means were compared by the Tukey test at 5% of significance. The thickness of the shell for eggs with vitreous shell was higher and the average pores per cm² smaller than the eggs of normal shell, and the resistance between the different shells was similar. The parameters of internal and bromatological quality were similar for eggs of normal and vitreous shell. The vitreous shell of the layers eggs do not compromise the egg shell quality in list that normal egg shell, ensuring the purpose to keep and to maintain the components quality to inside of the egg, and this type of the shell do not influenced the quality of that internal components.

Key words: Bromatological Composition. Commercial Eggs. Vitreous Appearance.

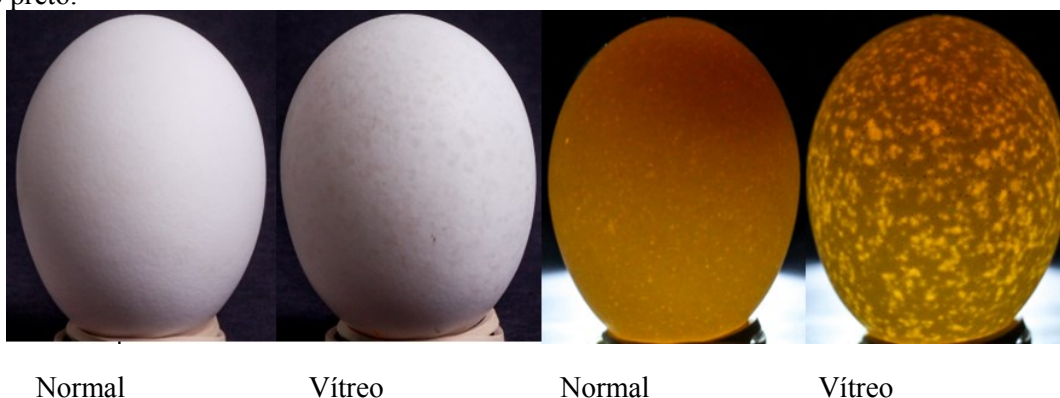
Introdução

A casca do ovo é uma embalagem natural que garante que o valor nutritivo do ovo de consumo chegue à mesa do consumidor livre de patógenos. A casca é uma estrutura policristalina composta por 95% de carbonato de cálcio, 3,5% de proteínas, 1,5% de água, além de polissacarídeos e proteoglicanos que compõe sua matriz orgânica (NYS et al., 2004).

A integridade da casca influencia sobremaneira a qualidade interna dos ovos. Neste sentido, alterações na estrutura e a presença de trincas, podem fragilizar a casca favorecendo a penetração de microrganismos, comprometendo assim a qualidade do conteúdo interno.

A casca vítrea, amplamente observada em ovos nas granjas e pontos de varejo, tem despertado o interesse de pesquisadores e produtores. Ela se caracteriza pela presença de pontos acinzentados e vitrificados de diâmetros variados distribuídos pela superfície externa da casca (Figura 1), que se tornam mais evidentes 24 horas após a postura e aumentam com o tempo de estocagem (SAMIULLAH; CHOUSALKAR, 2014) ou exposição no varejo. A presença dos pontos vítreos confere um aspecto desuniforme à casca, induzindo no consumidor dúvidas quanto a sua integridade, e consequentemente, qualidade do conteúdo.

Figura 1 – Ovos de casca normal e vítrea, vistos respectivamente, na luz branca e na luz no fundo preto.



A influência do aspecto vítreo da casca sobre a qualidade interna dos ovos ainda é pouco conhecida. Desta forma, objetivou-se avaliar a qualidade externa de ovos com casca vítrea e se o aspecto vítreo da casca é capaz de influenciar na qualidade interna e composição bromatológica do conteúdo.

Material e Métodos

A pesquisa foi autorizada pela Comissão de Ética na Utilização de Animais (CEUA/UFU) sob o número 255/13. Foram utilizadas 200 galinhas poedeiras da linhagem Dekalb White, com 60 semanas de idade, oriundas de um lote comercial em produção na granja Natu'Ovos Somai Nordeste, Uberlândia - MG.

As aves foram transferidas para Granja Experimental – AVIEX – Fazenda do Glória, Universidade Federal de Uberlândia (UFU), em galpão de alvenaria com laterais teladas e telhado em fibro-cimento, com sete metros de largura e duas fileiras centrais de gaiolas (50x45)cm justapostas. As galinhas foram aleatoriamente distribuídas em número de cinco aves por gaiola.

A ração de postura formulada de acordo com os níveis nutricionais recomendados à linhagem Dekalb White (Tabela 1), foi fornecida durante todo período experimental pela empresa doadora das aves e oferecida uma média diária de 110 gramas de ração por ave, sendo 40% (44 gramas) pela manhã (8:00h) e 60% (66 gramas) a tarde (15:00h), em comedouros lineares dispostos frontalmente as gaiolas. A água foi ofertada *ad libitum* em bebedouros tipo nipple, um em cada gaiola. Foi mantido um programa de 17 horas de luz entre natural e artificial durante o período experimental.

Tabela 1. Composição percentual de ingredientes da ração de postura.

Ingredientes	Quantidade (%)
Milho 7,8	66,31
Farelo Soja 46,5	18,77
Calcário	8,86
Farinha de Carne e Ossos 45%	5,29
*PX POST – MC 700g DL-Met	0,40
Sal Comum	0,21
Bicarbonato de Sódio	0,10
DL-Metionina	0,06
Nutrientes	Quantidade (%)
Proteína Bruta	16,52
Cálcio	4,15
Fósforo Disponível	0,45
Ácido Linoleico	1,42
Lisina Digestível	0,72
Metionina Digestível	0,38
Metionina + Cistina Digestível	0,61
Energia Metabolizável (kcal EM/kg)	2.700

* Composição do Premix Vitamínico, Mineral e Aditivos: Níveis de Garantia por Quilo do Produto: ácido fólico (min) 125mcg; ácido pantotênico (min) 1.610mg; biotina (min) 3,75mg; colina (min) 52,2g; niacina (min) 5.000mg; Vit-A (min) 2.000.000UI; Vit- B1 (min) 50mg; Vit-B12 (min) 2.500mcg; Vit-B2 (min) 750mg; Vit-B6 (min) 425mg; Vit-D3 575.000UI; Vit-E (min) 3.750UI; Vit-K3 (min) 250mg; Se (min) 62,5mg; Cu (min) 19,75g; Fe (min) 7.500mg; I (min) 250mg; Mn (min) 15g; Zn (min) 15g; Halquinol 7.500mg, DL-Met 175g. Adicionar 4kg/t de ração.

Após duas semanas de adaptação das aves ao novo ambiente de criação e ao manejo, deu-se início a pesquisa. Foi feito um delineamento em esquema fatorial contendo dois tipos de casca (normal e vítrea) e avaliação das poedeiras em três idades (66, 70 e 74 semanas). Para avaliação da qualidade dos ovos foram realizadas três coletas de ovos, uma a cada 28 dias. Após a postura, os ovos eram acondicionados em bandejas de 30 ovos e armazenados por 48 horas no interior do galpão para

facilitar a classificação dos ovos em casca normal e casca vítrea com auxílio de ovoscópio de luz direta. Seguindo este protocolo diário ao final de cada 28 de produção uma amostra de 20 ovos com maior intensidade de pontos vítreos na casca e outros 20 ovos de casca normal, 72 horas após a postura foram enviados ao Laboratório de Análise de Matéria Prima e Ração – LAMRA, Faculdade de Medicina Veterinária – UFU, para serem analisados. Ainda da produção de ovos dos primeiros 28 dias e do terceiro e últimos 28 dias de experimentação foram amostrados outros 20 ovos de cada tipo de casca, normal e vítrea, e enviados a Granja Somai Nordeste – Montes Claros, para realização de teste de resistência através do equipamento Digital Egg Tester (DET6000).

Os ovos amostrados foram identificados e pesados em balança eletrônica Marte com precisão de 0,05 grama. Em seguida rompida a casca e o conteúdo (gema+albúmen) acomodado em superfície de vidro plana e nivelada para realizar as medidas de altura e diâmetro de albúmen denso (mm) e altura e diâmetro de gema, com auxílio de paquímetro digital de seis polegadas, marca *ZAAS Precision*, acoplado a uma base tripé, para os cálculos de Unidade Haugh ($UH = 100 \log (h + 7,57 - 1,7W^{0,37})$) (HAUGH, 1937) e Índice de Gema (altura/diâmetro) (SHARP; POWELL, 1930).

Em seguida, procedeu-se a separação dos componentes dos ovos para pesagem individual de albúmen, gema e casca e determinação das respectivas porcentagens em relação ao peso do ovo.

A cada quatro ovos, os albumens, gemas e cascas foram, respectivamente, agrupados em número de quatro constituindo uma amostra, perfazendo assim, cinco amostras compostas para ovos de cada tipo de casca. As cinco amostras de albúmen e gema, tiveram seu pH determinado por pHgâmetro, modelo mPA210, marca MS TECNOPON Instrumentação.

Em seguida, as amostras foram distribuídas em estufa de circulação forçada durante 72 horas, após este período, foram resfriadas em temperatura ambiente e novamente pesadas para cálculo da matéria seca de albúmen e gema. Para a determinação da composição bromatológica de albúmen e gema calculou o percentual de matéria seca, matéria mineral, proteína bruta (método de Kjeldahl) e extrato etéreo (Extrator Soxhlet), este último, apenas para gema.

As cascas foram lavadas em água corrente para retirada de resíduos de albúmen, tiveram suas membranas internas removidas e foram mantidas em temperatura ambiente para secagem e em seguida suas face interna foram corada com solução de azul de metileno (1g/100mL de etanol a 70%) para a difusão da cor azul através dos poros, facilitando assim, a visualização dos mesmos na face externa, onde foram feitas marcações de $1 \times 1 \text{ cm}^2$ nos polos maior, menor e meridiano. E com auxílio de uma lupa procedeu-se a contagem dos poros, conforme Peebles e Brake (1985). A espessura da casca nos polos maior, menor e meridiano foi medida com auxílio de micrômetro digital da marca Mitutoyo, e os valores médios expressos em milímetros (mm).

Ao final as quatro cascas que compunham cada repetição de cada um dos tipos de vítreo e normal foram agrupadas e moídas em moinho convencional de facas. Em seguida, três sub amostras de cada repetição foram pesadas e destinadas à determinação do percentual de matéria mineral, cálcio e fósforo pelo método de digestão por Nitro-Perclórico no Laboratório de Análise de Solo (LABAS) da Universidade Federal de Uberlândia.

Todas as análises laboratoriais seguiram as recomendações do Guia de Métodos Analíticos do Compêndio Brasileiro de Alimentação Animal (2009).

Os resultados obtidos foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas entre si pelo teste de Tukey a 5% de significância no programa estatístico SISVAR.

Resultados

Ovos de casca normal e vítrea apresentaram porcentagens de casca, matéria mineral, e resistência de casca, semelhantes entre si, independente da idade da galinha (Tabela 2). Todavia, para as variáveis Ca (%), fósforo, P (%), espessura da casca, EC (mm), número de poros (cm^2) e resistência da casca RC (kgf) apresentaram interação com a idade das poedeiras.

Tabela 2 – Parâmetros de qualidade de casca de ovos: percentagem de casca, matéria mineral (MM), cálcio (Ca), fósforo (P), espessura de casca (EC) (mm), número de poros por cm² e resistência da casca (RC) (kgf) das cascas de ovos normal e vítrea.

Casca	Casca (%)	MM (%)	Ca (%)	P (%)	EC (mm)	Poros (cm ²)	RC (kgf)
Normal	8,851	96,648	40,809	0,846	0,364	110,259	4,041
Vítrea	8,758	96,568	40,912	0,824	0,369	106,780	4,062
Pvalor	0,494	0,686	0,724	0,712	0,002	0,001	21,89
Idade Poedeiras	Casca (%)	MM (%)	Ca (%)	P (%)	EC (mm)	Poros (cm ²)	RC (kgf)
66	8,799	96,314	40,414	0,815	0,369	100,34	4,361
70	8,880	96,873	41,679	0,710	0,367	107,04	-
74	8,735	96,637	40,487	0,981	0,362	118,18	3,743
Pvalor	0,680 ^{ns}	0,084 ^{ns}	0,002*	0,038*	<0,001*	<0,001*	0,018*

Letras minúsculas na mesma coluna diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de significância.

*Interação significativa pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade; ns – não significativo.

No desdobramento das interações notou-se que para a concentração de cálcio nas cascas normais manteve-se constante nas três idades testadas enquanto nas cascas vítreas às 70 semanas de idade apresentou uma concentração significativamente maior, mas dentro de cada idade não observou-se diferença de %Ca entre as cascas normais e vítreas (Tabela 3). O percentual de fósforo permaneceu constante naqueles ovos de casca normais nas três idades estudadas, enquanto para casca vítrea observou-se redução da concentração de fósforo nas 70 semanas de idade, todavia em cada idade analisada não houve diferença entre os dois tipos de casca. A espessura da casca normal permaneceu semelhante entre as idades avaliadas, enquanto a casca vítrea reduziu naquelas aves às 74 semanas de idade, por outro lado às 66 e 70 semanas de idade a casca vítrea foi mais espessa que a casca normal. O número de poros por centímetro quadrado aumentou para ovos de casca normal à medida que as poedeiras envelheceram, enquanto para a casca vítrea houve um aumento do número de 66 para 70 semanas mantendo inalterado naquela última, mas ao comparar os dois tipos de casca observa-se que mantiveram iguais nas duas primeiras idades estudadas, pois às 74 semanas as cascas vítreas tinham um número de poros menor do que a casca dos ovos normais. A resistência da casca de ovos de casca normal permaneceu constante, no entanto, os ovos com casca vítrea apresentaram menor resistência quando produzidos por poedeiras mais velhas e mais uma vez não observou diferença entre casca normal e vítrea dentro das idades testadas.

Tabela 3 – Desdobramento da interação poros (cm²), espessura de casca (mm²), percentual de cálcio, fósforo e resistência de casca de ovos de casca normal e vítrea, para tipo de casca e ciclo.

Cálcio (%): Tipo Casca x Idade das Poedeiras				
Tipo de Casca	66	70	74	Pvalor
Normal	40,338 ^{aA}	41,353 ^{aA}	40,736 ^{aA}	0,142
Vítrea	40,489 ^B	42,006 ^{aA}	40,239 ^{aB}	0,003
Pvalor	0,764	0,203	0,330	
Fósforo (%): Tipo Casca x Idade das Poedeiras				
Tipo de Casca	66	70	74	Pvalor
Normal	0,820 ^{aA}	0,760 ^{aA}	0,960 ^{aA}	0,155
Vítrea	0,810 ^{aAB}	0,660 ^{aB}	1,003 ^{aA}	0,009
Pvalor	0,923	0,341	0,677	
Espessura (mm ²): Tipo Casca x Idade das Poedeiras				
Tipo de Casca	66	70	74	Pvalor
Normal	0,366 ^{bA}	0,365 ^{bA}	0,361 ^{aA}	0,115
Vítrea	0,373 ^{aA}	0,370 ^{aA}	0,363 ^{aB}	0,001
Pvalor	0,008	0,099	0,339	
Poros (cm ²): Tipo de casca x Idade das Poedeiras				

Tipo de Casca	66	70	74	Pvalor
Normal	100,716 ^{aC}	108,411 ^{aB}	121,650 ^{aA}	<0,001
Vítrea	99,966 ^{aC}	105,666 ^{aB}	114,708 ^{bB}	<0,001
Pvalor	0,679	0,132	<0,001	
Resistência (kgf): Tipo Casca x Idade das Poedeiras				
Tipo de Casca	66	70	74	Pvalor
Normal	4,199 ^{aA}	-	3,901 ^{aA}	0,327
Vítrea	4,507 ^{aA}	-	3,644 ^{aB}	0,014
Pvalor	0,312		0,424	

Letras maiúsculas diferentes na mesma linha e minúsculas na mesma coluna diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de significância.

O percentual de gema e Unidades Haugh, índice não diferiram estatisticamente entre os ovos de casca normal e vítrea (Tabela 4). No entanto, nas variáveis percentagem de albúmen e Índice de Gema observou-se que houve interação das cascas em estudo com as idades estudadas neste teste.

Tabela 4 – Parâmetro de qualidade interna de ovos com casca normal e vítrea: percentagem de albúmen (Alb) e gema, unidades Haugh (UH) e índice de gema (IG).

Tipo de Casca	PO (g)	Alb (%)	Gema (%)	UH	IG
Normal	61,645 ^b	63,852	27,297	64,740	0,380
Vítrea	63,481 ^a	64,276	26,966	66,552	0,381
Pvalor	0,029	0,830	0,532	0,105	0,861
Idade Poedeiras	PO (g)	Alb (%)	Gema (%)	UH	IG
66	63,199	63,709	27,492	65,187	0,392
70	61,807	64,278	26,842	65,489	0,371
74	62,682	64,205	27,060	65,263	0,377
Pvalor	0,389 ^{ns}	<0,001*	0,146 ^{ns}	0,430 ^{ns}	0,0009*

*Interação significativa pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade; ns- não significativo.

No desdobramento das interações verifica-se que o percentual de albúmen dos ovos com casca normal aumentou ao longo dos três ciclos de 28 dias avaliados, enquanto para casca vítrea a percentagem aumentou das 66 semanas de vida para 70 semanas embora tenha permanecido constante a partir de 70 semanas, mais uma vez não foi observado diferença para esta variável para os ovos normal e vítreo, dentro de cada idade avaliada. O índice de gema variou em ovos de casca vítrea produzidos por poedeiras com 70 semanas de idade, embora dentro de cada período estudado as duas cascas mantiveram se iguais (Tabela 5).

Tabela 5 – Desdobramento da interação de percentagem de albúmen, unidades Haugh, índice de gema para tipo de casca e ciclo.

Albúmen (%): Tipo Casca x Idade Poedeiras				
Tipo de Casca	66	70	74	Pvalor
Normal	63,475 ^{aC}	64,017 ^{aB}	64,064 ^{aA}	<0,001
Vítrea	63,944 ^{aB}	64,539 ^{aA}	64,346 ^{aA}	<0,001
Pvalor	0,890	0,081	0,129	
Índice de Gema: Tipo Casca x Idade Poedeiras				
Tipo de Casca	66	70	74	Pvalor
Normal	0,389 ^{aA}	0,373 ^{aA}	0,377 ^{aA}	0,117
Vítrea	0,395 ^{aA}	0,368 ^{aB}	0,378 ^{aAB}	0,004
Pvalor	0,446	0,541	0,878	

*Letras maiúsculas diferentes na mesma linha e minúsculas na mesma coluna diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de significância.

Na composição bromatológica dos conteúdos internos dos ovos com casca normal e vítrea não diferiram na gema a matéria seca e o extrato etéreo enquanto para matéria mineral, proteína bruta e pH da gema observou-se interação das cascas normais e vítreas e os períodos estudados. Para a percentagem de albúmen verificou-se interação casca x idade para todos os parâmetros, MS, MM, PB e pH. (Tabela 6).

Tabela 6 – Percentual de matéria seca (MS), matéria mineral (MM), proteína bruta (PB) e pH de albúmen e gema, e extrato etéreo (EE) de gema de ovos de casca normal e casca vítrea.

Tipo de Casca	Albúmen				Gema				
	MS (%)	MM (%)	PB (%)	pH	MS (%)	MM (%)	PB (%)	EE (%)	pH
Normal	12,323	0,751	11,570	9,188	49,994	1,951	16,701	31,348	5,978
Vítrea	12,128	0,766	11,371	9,761	49,569	1,966	16,592	30,988	5,974
Pvalor	0,2545	0,754	0,319	0,506	0,314	0,726	0,710	0,095	0,846
Idade Poedeiras	MS (%)	MM (%)	PB (%)	pH	MS (%)	MM (%)	PB (%)	EE (%)	pH
	MS (%)	MM (%)	PB (%)	pH	MS (%)	MM (%)	PB (%)	EE (%)	pH
66	11,860	0,710 ^b	11,149	9,350	49,200	1,748	15,996	31,001	6,010
70	12,689	0,799 ^a	11,888	9,090	49,861	2,012	17,436	30,413	5,759
74	12,128	0,751 ^b	11,378	9,109	50,285	2,115	16,508	31,664	6,160
Pvalor	0,001*	0,0004*	0,011*	<0,0001*	0,119	<0,001*	<0,001*	0,071 ^{ns}	<0,0001*

*Interação significativa pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade; ns – não significativo

No desdobramento das interações para albúmen observa-se que a matéria seca, matéria mineral, percentual de proteína e pH sofreram variação semelhante ao longo dos ciclos para ovos com ambos os tipos de casca, e aos 70 dias de idades houve um acréscimo em todas as variáveis estudadas, mas há que ressaltar que dentro de cada idade os valores percentuais de MS, MM, PB e pH mantiveram iguais entre aqueles ovos de casca normal com os de casca vítrea (Tabela 7).

Tabela 7 - Desdobramento da interação do percentual de matéria seca, matéria mineral, proteína e pH de albúmen para tipo de casca e ciclo.

Matéria Seca (%): Tipo Casca x Idade Poedeiras				
Tipo de Casca	66	70	74	Pvalor
Normal	12,108 ^{aB}	12,856 ^{aA}	12,006 ^{aB}	0,013
Vítrea	11,611 ^{aB}	12,521 ^{aA}	12,251 ^{aAB}	0,012
Pvalor	0,099	0,260	0,406	
Matéria Mineral (%): Tipo Casca x Idade Poedeiras				
Tipo de Casca	66	70	74	Pvalor
Normal	0,725 ^{aB}	0,794 ^{aA}	0,733 ^{aAB}	0,033
Vítrea	0,694 ^{aB}	0,804 ^{aA}	0,769 ^{aA}	0,001
Pvalor	0,258	0,700	0,199	
Proteína Bruta (%): Tipo Casca x Idade Poedeiras				
Tipo de Casca	66	70	74	Pvalor
Normal	9,907 ^{aAB}	10,376 ^{aA}	9,417 ^{aB}	0,001
Vítrea	9,440 ^{aB}	10,103 ^{aA}	9,740 ^{aAB}	0,031
Pvalor	0,060	0,259	0,184	
pH: Tipo Casca x Idade Poedeiras				
Tipo de Casca	66	70	74	Pvalor
Normal	9,332 ^{aA}	9,090 ^{aB}	9,144 ^{aB}	<0,0001
Vítrea	9,368 ^{aA}	9,090 ^{aB}	9,074 ^{aB}	<0,0001
Pvalor	0,228	1,000	0,024	

*Letras maiúsculas diferentes na mesma linha e minúsculas na mesma coluna diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de significância.

Nos desdobramentos das interações observadas nas variáveis estudadas da gema, verifica-se que a matéria mineral de ambas as cascas foi significativamente menor às 66 semanas de idade aumentando às 70 semanas e permanecendo constante às 74 semanas de idade, ressaltando que também dentro de cada idade casca normal e casca vítrea tinham as mesmas concentrações. A proteína bruta ao longo do período de três ciclos de 28 dias manteve-se igual para ambas as cascas exceto aos 66 semanas onde os ovos de casca normal tinham uma concentração de proteína menor. Quando comparados dentro de cada idade mais uma vez não foi observado nenhuma diferença. O pH das gemas de ambos os tipos de casca na duração do teste foi igual dentro de tipo de casca, sendo o mais alto pH observado aos 74 semanas de idade, aos 70 observa-se o menor valor de pH, enquanto nos primeiros 28 dias (66) do teste o pH da gema foi intermediário entre 70 e 74 semanas (Tabela 8).

Tabela 8 - Desdobramento da interação do percentual de matéria mineral, proteína bruta e pH de gema para tipo de casca e ciclo.

Matéria Mineral (%): Tipo de Casca x Idade Poedeiras				
Tipo de Casca	66	70	74	Pvalor
Normal	1,737 ^{aB}	2,105 ^{aA}	1,989 ^{aA}	0,0002
Vítrea	1,759 ^{aB}	2,126 ^{aA}	2,035 ^{aA}	<0,0001
Pvalor	0,761	0,776	0,532	
Proteína Bruta: Tipo Casca x Idade Poedeiras				
Tipo de Casca	66	70	74	Pvalor
Normal	15,923 ^{aB}	17,642 ^{aA}	16,537 ^{aAB}	0,006
Vítrea	16,068 ^{aA}	17,230 ^{aA}	16,479 ^{aA}	0,078
Pvalor	0,773	0,416	0,908	
pH: Tipo Casca x Idade Poedeiras				
Tipo de Casca	66	70	74	Pvalor
Normal	6,002 ^{aB}	5,758 ^{aC}	6,174 ^{aA}	<0,0001
Vítrea	6,018 ^{aB}	5,760 ^{aC}	6,146 ^{aA}	<0,0001
Pvalor	0,567	0,942	0,320	

*Letras maiúsculas diferentes na mesma linha e minúsculas na mesma coluna diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de significância.

Discussão

Desde as primeiras pesquisas sobre ovos de casca vítrea na década de 1930, havia grande preocupação em compreender se a suposta fragilidade da casca poderia afetar a qualidade interna dos ovos, tinham seu valor de venda reduzido por acreditarem que após a postura, sua qualidade declinava mais rapidamente que a qualidade interna dos ovos de casca normal (BAKER; CURTISS, 1957).

É escassa a literatura a respeito dos aspectos que envolvem os ovos de casca vítrea e suas implicações. No entanto, nos últimos anos, com o consumidor cada vez mais exigente, a notoriedade dos ovos de casca com aspecto vítreo vem aumentando, tornando crescente a rejeição, por parte do consumidor, dos ovos com esse tipo de casca. Portanto, a preferência de parte dos consumidores por ovos de casca com característica homogênea reforça a necessidade de compreender se o aspecto vítreo, assim como outras características da casca, é capaz de afetar a qualidade interna dos ovos.

Ao longo das avaliações, foi possível verificar que a mesma galinha poedeira produziu alternadamente ovos com casca normal e vítrea, portanto, variações significativas no percentual dos principais minerais que compõe a casca não eram esperadas. O percentual de casca para ovos comerciais brancos é cerca de 9,0% (OBA et al., 2013; MELLO et al., 2011; STEFANELLO et al., 2014), compatível com os valores médios apresentados para casca de ovos normal e vítrea do presente estudo. Entretanto, foi possível verificar que a casca vítrea apresentou variação no teor de cálcio e fósforo entre os ciclos, fato não observado nos ovos de casca normal, pois apresentou percentual de

cálcio e fósforo estatisticamente constante durante todo o período de avaliação, o que leva a inferência de que a composição percentual dos minerais cálcio e fósforo da casca normal é mais constante em comparação com a casca vítrea.

Na espessura da casca evidenciou cascas de ovos vítreos mais espessas que as cascas com aparência normal. Na contagem de poros, a casca vítrea apresentou menos poros por centímetro quadrado que a casca normal. Fato também retratado por Almquist e Burmester (1934) que aventaram a hipótese que a menor porosidade da casca vítrea ocorria em função da maior quantidade de material orgânico que preenche os poros que atravessam a casca, e que o conteúdo orgânico seria responsável pela maior adsorção de umidade na casca, proporcionando aspecto desuniforme a casca vítrea, que vista contra a luz apresenta maior translucidez que a casca de ovos com aspecto normal.

Baker e Curtiss (1958), relataram contagem de poros semelhantes para ovos de ambos os tipos de casca, divergindo dos resultados deste trabalho. Talbot e Tyler (1974) apontaram alterações na distribuição de material orgânico e inorgânico da casca como responsável pelo acúmulo desuniforme da umidade nas cascas vítreas, e descreveram que as cascas normais eram mais finas que as vítreas, mas, contrariamente ao presente estudo, relataram cascas mais porosas quando o aspecto vítreo estava presente.

Recentemente, Wang et al. (2017) relataram maior espessura em casca de ovos com aspecto vítreo, muito embora, não tenham observado diferenças no número de poros. Os pesquisadores destacaram ainda, que apesar das cascas vítreas serem mais espessas, há evidências de que a membrana da casca seja mais fina que a membrana dos ovos de casca normal.

A espessura média esperada para casca de ovos de poedeiras de ovos brancos é de cerca de 0,36 mm (STEFANELLO et al., 2014). No presente estudo, apesar das cascas vítreas terem se mostrado mais espessas, a resistência média entre as cascas não apresentou qualquer diferença, muito provavelmente, em função dos valores semelhantes de matéria mineral, cálcio e fósforo, o que leva a aventar a hipótese de que a maior espessura da casca é conferida em função de maior conteúdo orgânico na casca como sugerido por Almquist e Burmester (1934). Possivelmente, ovos vítreos com a mesma espessura de casca que ovos normais podem resultar em cascas mais frágeis.

As divergências encontradas na literatura sobre número de poros em ovos com casca normal e vítrea podem estar associados a fatores como linhagem, idade das poedeiras e até mesmo o emprego de diferentes técnicas que possibilitam a visualização e contagem do número de poros.

À medida que aumenta a idade da poedeira a qualidade da casca tende a diminuir (CARVALHO et al., 2007), fato que foi evidenciado no último ciclo do presente trabalho, em ambos os tipos de casca, pela diminuição no percentual de cálcio concomitante aumento do fósforo, seguido de redução na resistência e espessura da casca, além do aumento no número de poros.

Com relação à qualidade interna, o peso dos ovos com casca vítrea foi maior, isso possivelmente ocorreu em função do reduzido número de aves e a quantidade limitada de ovos que se dispunha para análise, não facultando a possibilidade de padronização do peso dos ovos. O critério de classificação dos ovos para análise ocorreu em função da integridade da casca e presença de múltiplos pontos vítreos em sua superfície, sendo que poedeiras a 66 semanas de idade havia reduzido número de ovos com casca vítrea e quando as aves atingiram 70 semanas de idade ocorreu aumento, havendo pequena quantidade de ovos com casca normal, não permitindo, portanto, a seleção de ovos com peso aproximado para os dois tipos de casca. Nos ovos utilizados para teste de resistência pelo Digital Egg Tester não houve diferença no peso.

A percentagem dos componentes do albúmen, gema e casca apresentaram-se semelhantes entre os tipos de ovos avaliados e coerentes com os valores de referência para poedeiras na faixa de idade pesquisada (OBA et al., 2013).

Os valores de Unidades Haugh e Índice de Gema do presente estudo corroboram com os relatos Kraemer et al. (2003) para ovos de poedeiras comerciais armazenados por 72 horas em temperatura ambiente. De acordo com o Programa de Controle de Qualidade dos Estados Unidos (USDA, 2000) ovos de excelente qualidade (AA) apresentam valores de UH igual ou maior que 72; ovos entre 60 e 72 são classificados como ovos de alta qualidade (A) e ovos de baixa qualidade (B) apresentam UH inferior a 60. Desta forma, em ovos mantidos à temperatura ambiente por 72 horas ocorre declínio da qualidade da faixa de valores considerada AA para A (EUA, 1972).

Logo após a postura os ovos perdem qualidade gradativamente. Em aproximadamente 72 horas de armazenamento o albúmen denso se torna mais liquefeito, e consequentemente, o albúmen perde qualidade (OLIVEIRA; OLIVEIRA, 2013), fato que justifica os ovos do presente estudo terem apresentando qualidade A, uma vez que sofreram armazenamento por 72 horas antes do processamento das amostras. Desta forma, os ovos de casca normal e de casca vítrea apresentaram alta qualidade após três dias de armazenamento a temperatura ambiente, revelando, portanto qualidade semelhante entre os tipos de ovos, assim como já demonstrado anteriormente por outros pesquisadores (HOLST et al., 1932; JEFFREY; DARAGO, 1940; BAKER; CURTISS, 1957; BAKER; CURTISS, 1958; VILELA et al., 2016).

Apesar das controversas encontradas na literatura sobre o que de fato diferencia a casca normal da casca vítrea, há unanimidade em relação à semelhança na qualidade interna de ovos de ambos os tipos de casca.

A composição de matéria seca, matéria mineral, proteína bruta de albúmen e gema, e extrato etéreo de gema foram semelhantes aos relatos de Vilela et al., (2012) e Sartori et al., (2009) para poedeiras comerciais. Na avaliação bromatológica evidenciou-se a semelhança entre ovos de casca normal e vítrea no percentual dos principais compostos que integram albúmen e gema, assim como durante o período estudado de 84 dias ou três ciclos de 28 dias.

Conclusão

O aspecto vítreo da casca de ovos de galinhas poedeiras não compromete a sua qualidade em relação aqueles ovos de casca normal, garantindo o importante papel da casca dos ovos em preservar e manter a qualidade dos componentes internos que também não são afetados pela característica vítrea da casca.

QUALIDADE DE OVOS COMERCIAIS COM CASCA VÍTREA

Resumo: Objetivou-se avaliar a qualidade interna, externa e composição bromatológica dos ovos de casca vítrea. Foram feitas três coletas de ovos sendo coletados 20 ovos de casca normal e 20 ovos de casca vítrea para avaliação bromatológica e de qualidade, divididos em cinco repetições com quatro ovos cada repetição. Na primeira e na última coleta outros 20 ovos de cada tipo de casca foram selecionados para determinação da resistência da casca. As variáveis avaliadas foram: unidades Haugh, índice de gema, pH de gema, pH de albúmen, percentagens de gema, albúmen e casca, composição bromatológica de albúmen e gema com determinação dos percentuais de matéria seca, matéria mineral, proteína bruta e extrato etéreo (apenas para gema). Para avaliação da casca mensurou-se a média de poros por cm², espessura da casca e percentuais de matéria mineral, cálcio e fósforo. Os resultados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de significância. A espessura da casca para ovos de casca vítrea foi maior e a média de poros por cm² menor que dos ovos de casca normal, sendo que a resistência entre as diferentes cascas foi semelhante. Os parâmetros de qualidade interna e bromatológica foram semelhantes para ovos de casca normal e vítrea. A casca vítrea de ovos de galinhas poedeiras não compromete a qualidade da casca em relação aqueles ovos de casca normal, garantindo o importante papel de preservar e manter a qualidade dos componentes internos que também não são afetados pelas características vítreas da casca.

Palavras-chave: Aspecto Vítreo. Composição Bromatológica. Qualidade de Casca.

Referências

ALQUIMIST, H. J.; BURMESTER, B.R. Characteristics of an abnormal type of egg shell. *Poultry Science*, Champaign, v. 13, n. 2, p. 116-122, Mar. 1934. <https://doi.org/10.3382/ps.0130116>

BAKER, R. C.; CURTTIS, R. Individual hen differences in egg shell mottling and the relationship of the shell mottling to clutch size, internal quality and weight loss. **Poultry Science**, Champaign, v. 36, p. 904-908, Jul. 1957. <https://doi.org/10.3382/ps.0360904>

BAKER, R. C.; CURTISS, R. Strain differences in egg shell mottling, internal quality, shell thickness, specific gravity, and the interrelationships between these factors. **Poultry Science**, Champaign, v. 37, p. 1086-1090, Sep. 1958. <https://doi.org/10.3382/ps.0371086>

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

COMPÊNDIO BRASILEIRO DE ALIMENTAÇÃO ANIMAL 2009 – SINDIRAÇÕES. Paginação descontinuada.

EUA. United States Department of Agricultura (USDA). **Egg Grading Manual/Agriculture** Handbook no 75, Washington, 1972.

HAUGH, R. R. The Haugh unit for measuring egg quality. **United States Egg Poultry Magazine**, Chicago, v. 43, p. 552-555, 1937.

HOLST, W. F.; ALQUIMIST, H. J.; LORENZ, F. W. A study of shell texture of the hen's egg. **Poultry Science**, v. 11, n. 3, 1932. <https://doi.org/10.3382/ps.0110144>

JEFFREY F. P; DARAGO V. Effect of high humidity on egg quality during short holding periods. Bulletin, New Jersey Agricultural Experiment Station 1940; 682:16 pp.

KRAEMER, F. B.; HÜTTEN, G. C.; TEIXEIRA, C. E.; PARDI, H. S.; MANO, S. Avaliação da qualidade interna de ovos em função da variação da temperatura de armazenamento. **Revista Brasileira de Ciência Veterinária**, Niteroi, v. 10, n. 3, p. 145-151, 2003. <https://doi.org/10.4322/rbcv.2015.290>

MELLO, J. L. M.; SOUZA, P. A.; GANECO, A. G.; DOURADO, R. C.; BERTON, M. P.; COSTA, T. I. R. Qualidade interna de ovos comerciais frescos de casca branca e casca vermelha. **Revista Científica de Produção Animal**, Teresina, v. 13, n. 1, p. 156-159, 2011. <https://doi.org/10.15528/2176-4158/rcpa.v13n1p156-159>

NYS, Y.; GAUTRON, J.; GARCIA-RUIZ, J. M.; HINCKE, M. T. Avian eggshell mineralization: biochemical and functional characterization of matrix proteins. **Comptes Rendus Palevol**, Paris, v. 3, p. 549-562, Oct. 2004. <https://doi.org/10.1016/j.crpv.2004.08.002>

OLIVEIRA, B. L. de; OLIVEIRA, D. D. de. **Qualidade e Tecnologia de Ovos**. 1. ed. Lavras, MG: UFLA, 2013. 223p.

OBA, A.; PINHEIRO, J. W.; SILVA, C. A.; CASTRO-GOMEZ, R. J. H.; BENITEZ, C. R.; UENO, F. Y.; BORGES, C. A.; ALMEIDA, M. Características produtivas, qualitativas e microbiológicas de galinhas poedeiras alimentadas com diferentes níveis de complex enzimático. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 34, n. 6, supplement 2, p. 4179-4186, 2013. <https://doi.org/10.5433/1679-0359.2013v34n6Supl2p4179>

PEEBLES, E. D.; BRAKE, J. Relationship of egg shell to stage of embryonic development in broiler breeders. **Poultry Science**, Champaign, v. 64, n. 12, p. 2388-1391, Dec. 1985. <https://doi.org/10.3382/ps.0642388>

SAMIULLAH, J. R. R.; CHOUSALKAR, K. K. Effect of production system and flock age on egg quality and total bacterial load in commercial laying hens. **The Journal of Applied Poultry Research**, Athens, v. 23, p. 59-70, 2014. <https://doi.org/10.3382/japr.2013-00805>

STEFANELLO, C.; SANTOS, T. C.; MURAKAMI, A. E.; MARTINS, E. N.; CARNEIRO, T. C. Productive performance, eggshell quality, and eggshell ultrastructure of laying hens fed diets supplemented with organic trace minerals. *Poultry Science*, Champaign, v. 93, p. 104-113, 2014. <https://doi.org/10.3382/ps.2013-03190>

SARTORI, E. V.; CANNIATTI-BRAZACA, S.G.; CRUZ, S. H.; GAZIOLA, S. A. Concentração de proteínas em gemas de ovos de poedeiras (*Gallus gallus*) nos diferentes ciclos de postura e sua interferência na disponibilidade de ferro. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 29, n. 3, p. 481-487, 2009. <https://doi.org/10.1590/S0101-20612009000300004>

SHARP, P. F.; POWELL, C. K. Decrease in internal quality of hen's eggs during storage as by the yolk. **Industrial & Engineering Chemistry Research**, Washington, v. 22, n. 8, Aug. 1930. <https://doi.org/10.1021/ie50248a031>

TALBOT, C. J.; TYLER, C. A study of the fundamental cause of natural translucent areas in egg shells. **British Poultry Science**, London, v. 15, p. 197-204. <https://doi.org/10.1080/00071667408416096>

USDA. Unites States Department of Agriculture. Egg-Grading Manual. 56p. 2000. Available in: Access in: May 2017.

VILELA, D. R.; CARVALHO, L. S. S.; FAGUNDES, N. S.; FERNANDES, E. A. Qualidade interna e externa de ovos de poedeiras comerciais com casca normal e vítrea. *Ciência Animal Brasileira*. Goiânia, v. 17, n. 4, p. 509-518, 2016. <https://doi.org/10.1590/1089-6891v17i421535>

WANG, D. H.; LI, Y. L.; LIU, L.; LIU, J. S.; BAO, M.; YANG, N.; CHENG, H. Z.; NING, Z. H. Traits of eggshells and shell membranes of translucent eggs. **Poultry Science**, Champaing, v. 96, n. 2, p. 351-358, Feb. 2017. <https://doi.org/10.3382/ps/pew328>

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25

CAPÍTULO 4

CARACTERIZAÇÃO DA CASCA VÍTREA DE OVOS COMERCIAIS POR ESPECTROSCOPIA RAMAN E ESPECTROSCOPIA DE INFRAVERMELHO COM TRANSFORMADA DE FOURIER COM REFLECTÂNCIA TOTAL ATENUADA

(Redigido conforme as normas da Revista Brazilian Journal of Poultry Science)

**CARACTERIZAÇÃO DA CASCA VÍTREA DE OVOS COMERCIAIS
POR ESPECTROSCOPIA RAMAN E ESPECTROSCOPIA DE
INFRAVERMELHO COM TRANSFORMADA DE FOURIER COM
REFLECTÂNCIA TOTAL ATENUADA**

LETÍCIA SOUZA SILVA CARVALHO^{1*}, FLAVIA SOUZA GOMES CROSARA², MARINA
CRUVINEL ASSUNÇÃO SILVA MENDONÇA², ANIELE CRISTHINI ALMEIDA SILVA³, NOELIO
OLIVEIRA DANTAS³, EVANDRO DE ABREU FERNANDES⁶

¹Doutoranda em Ciências Veterinárias da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade
Federal de Uberlândia.

²Doutoranda em Ciências Veterinárias da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade
Federal de Uberlândia.

³Prof. Dr Instituto de Física da Universidade Federal de Uberlândia.

⁶Prof. Dr. Associado da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Federal de
Uberlândia.

51 **Resumo:** Objetivou-se caracterizar os principais espectros de origem mineral e orgânica da
52 casca normal e vítrea através da Espectroscopia Raman e Espectroscopia de Infravermelho
53 com Transformada de Fourier com Reflectância Total Atenuada (ATR-FTIR). Seis ovos de
54 casca normal e seis de casca vítrea tiveram seus conteúdos retirados e analisados em três
55 pontos na região equatorial da casca por Espectroscopia Raman utilizando as linhas de
56 excitação 633 nm e 785 nm. Dois fragmentos de casca com aproximadamente 1cm² foram
57 retirados da região equatorial de cada casca para obtenção dos espectros em FTIR. Os
58 resultados mostraram semelhanças entre as composições das cascas normal e vítrea, no
59 entanto, a casca vítrea apresentou maior conteúdo orgânico e maior desorganização na
60 distribuição dos compostos orgânicos e carbonato de cálcio.

61 **Palavras-chave:** Espectros da Casca. Ovos Comerciais. Translucidez da Casca.

62

63 Introdução

64 A mineralização da casca do ovo é o processo de calcificação mais rápido conhecido na
65 natureza (Nys *et al.*, 1991). A casca é um complexo biocerâmico com requintadas propriedades
66 que vão desde a proteção do conteúdo interno contra danos físicos e predação por pequenos
67 animais, invasão de microrganismos (Hincke *et al.*, 2012) até a regulação de troca de gases
68 metabólicos e água (Hincke *et al.*, 2008).

69 A área mineralizada da casca do ovo é composta por 95% de carbonato de cálcio, na
70 forma de calcita (polimorfo de carbonato mais estável a temperatura ambiente), além de 3,5%
71 de matriz orgânica composta de proteoglicanos, glicoproteínas e principalmente de proteínas
72 fibrilares com ligações cruzadas de dissulfetos e colágenos tipo I, V e X (Arias *et al.*, 1993;
73 Leach, 1982; Nys *et al.*, 1999).

74 A presença de áreas vitrificadas com aspecto translúcido, quando vistas contra a luz, foi
75 atribuída a um maior conteúdo orgânico naquelas regiões da casca favorecendo o acúmulo de
76 umidade (Almquist & Burmester, 1934) ou por alterações na distribuição de material orgânico
77 contribuindo para o acúmulo desuniforme da umidade (Talbot & Tyler, 1974).

78 No entanto, se o aspecto vítreo afeta a casca ainda não foi totalmente esclarecido, ainda
79 mais que esta aparência vítrea demonstra um caráter transitório que a casca assume após a
80 postura, mas com a retirada do conteúdo interno do ovo em pouco tempo volta a uma
81 aparência inteiramente normal. Comportamento que torna difícil o estudo dos ovos de casca
82 vítrea, demandando o emprego de técnicas de avaliações rápidas, sem a necessidade da

preparação prévia das amostras, e assim contribuir para a elucidação e caracterização do aspecto vítreo da casca.

A espectroscopia Raman consiste no espalhamento inelástico da radiação incidente na amostra e interação dos modos normais de vibração. A diferença dos comprimentos de onda entre a luz dispersa e incidente corresponde aos modos vibracionais moleculares e leva a formação de bandas em deslocamentos de frequência característica no espectro Raman (Bazin *et al.*, 2009).

A espectroscopia de Infravermelho é baseada nas vibrações dos átomos das moléculas ativas (Stuart, 2005), havendo uma mudança no momento do dipolo elétrico da molécula após absorção de luz que devido à excitação do nível de energia vibracional para um nível de energia mais elevado fornece informações sobre a estrutura e interações moleculares (Mudunkotuwa *et al.*, 2014). Na Reflectância Total Atenuada (ATR) a radiação produzida é totalmente refletida na superfície interna do cristal. A intensidade da radiação sofre atenuação pelas múltiplas reflexões sofridas ao longo da amostra, ocorrendo então, a reflectância atenuada produzindo um espectro de superfície (Souza, 2009).

Diante do exposto, objetivou-se caracterizar e comparar a casca de ovos com aspecto normal e vítreo utilizando a Espectroscopia Raman e a Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier com Reflectância Total Atenuada (ATR/FTIR).

Material e Métodos

Os ovos oriundos da granja Natu`Ovos Somai Nordeste, Uberlândia – MG foram classificados quanto ao tipo de casca no dia da postura, selecionados seis ovos de casca normal e seis ovos de casca vítrea com média de peso de 64,7 gramas produzidos por galinhas poedeiras da linhagem Lohmann LSL, com 60 semanas de idade.

Os ovos foram encaminhados ao Instituto de Física da Universidade Federal de Uberlândia (INFIS) para análise por Espectroscopia Raman. Os ovos tiveram seu conteúdo cuidadosamente retirado, e as cascas normal e vítrea, foram analisadas em três pontos na região equatorial por microscópio Raman modelo LabRAM HR Evolution com detector HJY Detector e objetiva de 100x Vis. As amostras foram excitadas por laser CLASS 3B produzindo luz altamente polarizada a 633nm e 785nm, coletado com resolução de 2 cm^{-1} e precisão de 1 cm^{-1} nas faixas entre 50 cm^{-1} e 4000 cm^{-1} .

Com a perda do aspecto vítreo da casca após o esvaziamento do conteúdo, procedeu-se a imersão de todas as cascas em água destilada para que os pontos vítreos reaparecessem, como descrito por Holst *et al.* (1932). As áreas vítreas foram novamente

visualizadas e após secagem das cascas em temperatura ambiente, dois fragmentos de aproximadamente 1 cm^2 do meridiano dos ovos contendo pontos vítreos foram retirados de cada uma das seis cascas vítreas, assim como, dois fragmentos do meridiano de cada casca classificada como normal foram seccionados e encaminhados ao Centro de Pesquisa em Biomecânica, Biomateriais e Biologia Celular (CPBio) da Universidade Federal de Uberlândia, onde foram lidas três regiões em cada fragmento de casca em Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier com Reflectância Total Atenuada (ATR/FTIR) em faixa espectral de 400 a 4000 cm^{-1} com resolução de 2 cm^{-1} .

Resultados

Espectroscopia Raman

Os espectros das cascas normal e vítrea, na linha de excitação 633nm, foram semelhantes, exceto por diminuição no alargamento da banda e diminuição da intensidade entre, aproximadamente, 600 cm^{-1} e 1500 cm^{-1} na casca vítrea (Figura 1).

Na linha de excitação 633nm, no espectro Raman da casca normal as bandas 156, 279, 1086 cm^{-1} são associadas ao carbonato de cálcio na forma de calcita (Wehrmeister *et al.*, 2010), a banda 1003 cm^{-1} corresponde a fenilalanina (Schulmerich *et al.*, 2007; Wopenka *et al.*, 2008; Gourion-Arsiquaud *et al.*, 2009) e as bandas 1652 cm^{-1} e 1540 cm^{-1} correspondentes aos modos vibracionais de amida I (Morris & Mandair, 2011) e amida II (Sato & Martinho, 2018), respectivamente.

No espectro Raman da região vítrea observou-se, assim como na casca normal, bandas características de calcita (156 , 282 e 1084 cm^{-1}) (Wehrmeister *et al.*, 2011) e fenilalanina (1003 cm^{-1}) (Schulmerich *et al.*, 2007; Wopenka *et al.*, 2008; Gourion-Arsiquaud *et al.*, 2009), e amida III (1162 e 1256 cm^{-1}) (Grauw *et al.*, 1996). Adicionalmente, houve aumento na intensidade da banda em torno de 1652 cm^{-1} , dando indícios que parte do composto fenilalanina foi transformado em amida II.

Na linha de excitação 633nm, observou-se distribuição uniforme do carbonato de cálcio na casca normal, enquanto na casca vítrea, o presente composto distribui-se de maneira desuniforme (Figuras 2 e 3).

Destaca-se a presença de amida em ambos os tipos de casca, no entanto, observou-se maior proporção de amida I na casca normal em comparação com a casca vítrea, enquanto na casca vítrea detectou-se mais amida III (Figuras 2 e 3).

Nos espectros das cascas normal e vítrea, na linha de excitação 785nm, notou-se diferenças quanto ao alargamento das bandas e intensidade dos picos (Figura 4).

No espectro Raman, linha de excitação 785nm, nas cascas normal e vítrea, observou-se bandas em torno de 152, 277, 713 e 1080 cm^{-1} que correspondem a carbonato de cálcio na fase calcita (Wehrmeister *et al.*, 2011) e 1564 cm^{-1} C=C de anéis aromáticos (Morris & Mandair, 2011). Todavia, houve diminuição na intensidade das bandas em torno de 713 cm^{-1} e 1083 cm^{-1} sugerindo diminuição da cristalinidade. Adicionalmente, ocorreu uma intensificação e alargamento da banda em torno de 1564 cm^{-1} associada aos modos C=C de anéis aromáticos (Phe), indicando uma desordem local.

Na linha de excitação 785nm, evidenciou-se ampla distribuição de carbonato de cálcio em ambos os tipos de casca, enquanto na casca vítrea observou-se menor distribuição de amida I na casca em comparação com a casca normal (Figura 5).

ATR-FTIR

Nos espectros de infravermelho da casca normal foram observadas bandas em torno de 568 cm^{-1} , 707 cm^{-1} , 865 cm^{-1} , 1031 cm^{-1} e 1388 cm^{-1} que correspondem aos modos vibracionais dos seguintes compostos inorgânicos: fosfato de cálcio (Pellegrino & Biltz, 1970), calcita (Rodríguez-Navarro *et al.*, 2015) carbonato (Rodríguez-Navarro *et al.*, 2013) e vibração de alongamento de grupos fosfato (Choudhary *et al.*, 2015), respectivamente (Figura 6).

Os compostos orgânicos são identificados com o aparecimento das bandas em torno de 1261 cm^{-1} como amida III (Cai & Singh, 2004), 1505 cm^{-1} amida II (Garidel & Schott, 2006), 1540 cm^{-1} e 1647 cm^{-1} amida I (Rodríguez-Navarro *et al.*, 2013; Rodríguez-Navarro *et al.*, 2015) e 3290 cm^{-1} corresponde a amida III (Rodríguez-Navarro *et al.*, 2013). Além disso, ainda apareceram as bandas em torno 2921 cm^{-1} (Rodríguez-Navarro *et al.*, 2013) e 2852 cm^{-1} correspondentes a presença de lipídeos e 2958 cm^{-1} carbonato de magnésio (Rodríguez-Navarro *et al.*, 2015).

Nos espectros de infravermelho da região vítrea, determinadas bandas dos compostos inorgânicos e orgânicos sofreram alterações (Figura 7). Foram observados deslocamentos das bandas de carbonato de cálcio de 707 cm^{-1} para 696 cm^{-1} e variação nas posições das bandas em 1022 cm^{-1} e 1396 cm^{-1} características de grupos carbonatos e fosfatos. Nos compostos orgânicos também se observou alterações, contudo, os modos 1240 cm^{-1} , 1540 cm^{-1} , 2852 cm^{-1} e 2958 cm^{-1} associados a grupo carboxílico em lactonas, amida II, alongamento simétrico C-H de lipídeos e carbonato de magnésio permaneceram inalterados.

Ainda na região vítrea, observou-se um aumento na intensidade da banda em torno de 1394 cm^{-1} relacionada a carbonato de cálcio (Figura 8), bem como intensificação das bandas relacionadas a amidas (1504 cm^{-1} , 1540 cm^{-1} , 1647 cm^{-1} e 3276 cm^{-1}) e lipídeos (2852 cm^{-1}). A formação da região vítrea parece associar-se ao aumento de amida. Além disso, ocorreu um aumento na intensidade da banda em torno de 568 cm^{-1} indicando um aumento na quantidade de fosfato de cálcio.

A espectroscopia Raman evidenciou que o mineral carbonato de cálcio está amplamente distribuído nos dois tipos de casca, normal e vítrea, no entanto, a casca normal foi composta por maior conteúdo e distribuição mais uniforme de amida I em comparação com a casca vítrea, além disso, na casca vítrea evidenciou-se bandas características de amida III. Ademais, observou-se uma intensificação da banda em torno de 1083 cm^{-1} (Figura 1a) no Raman, efeito relacionado à diminuição de fenilalanina, deixando exposta a parte inorgânica, em excelente acordo com os resultados do FTIR (Figura 8). Adicionalmente, ocorreu uma intensificação e alargamento da banda em torno de 1656 cm^{-1} associada à presença de amida I, sugerindo uma desordem local.

Os resultados do FTIR reafirmaram os achados da espectroscopia Raman de que ambas as cascas apresentaram os mesmos compostos e o deslocamento e alteração da banda de carbonato de cálcio na casca vítrea evidencia uma desordem local. As variações nas posições das bandas indicaram alteração dos grupos carbonatos e fosfatos. E houve diferença na distribuição de conteúdo orgânico da casca, sendo a casca vítrea mais rica em compostos orgânicos se comparada a casca normal.

Discussão

O aspecto desuniforme da casca desperta atenção de pesquisadores desde o século XIX. Nathusius (1868) propôs a hipótese de que os poros eram selados por material orgânico nas cascas vítreas, sugerindo que o material orgânico apresentava distribuição diferente da casca normal.

A realização de pesquisas sobre casca vítrea em países de diferentes continentes como América (Almquist & Burmester, 1934; Baker & Curtiss, 1957; Vilela *et al.*, 2016); Europa (Tyler & Geake, 1964; Talbot & Tyler), Oceania (Chousalkar *et al.*, 2010; Gole *et al.*, 2014; Samiullah & Chousalkar, 2014) e Ásia (Wang *et al.*, 2017) indica que sua ocorrência é globalizada.

Ao longo das décadas trabalhos pontuais foram publicados sobre o tema, no entanto, os aspectos que envolvem as características que conferem o aspecto vítreo ainda não foram completamente compreendidos.

Neste estudo, o carbonato de cálcio na forma de calcita foi o composto inorgânico mais frequentemente observado em ambas as cascas tanto na espectroscopia Raman quanto no FTIR. De acordo com Nys *et al.* (2004), este é o principal e mais abundante composto inorgânico da casca, sendo encontrado exclusivamente na forma de calcita após a postura do ovo.

Apesar da igualdade de composição e distribuição da calcita nos dois tipos de casca, o espectro Raman da casca vítrea evidenciou diminuição da intensidade das bandas em torno de 713 cm^{-1} e 1083 cm^{-1} , algumas das regiões correspondentes a picos de calcita, sugerindo uma diminuição da cristalinidade.

Diferentes formas e tamanhos dos cristais podem contribuir para o alargamento das bandas de absorção (Serna & Iglesias, 1986) sugerindo que apesar de possuírem a mesma composição, pode haver diferenças na cristalinidade dos compostos entre os tipos de casca, contribuindo, desta forma, para a composição do aspecto vítreo da casca.

Durante o processo de formação da casca ocorrem alterações na expressão gênica no útero, responsáveis pela composição da matriz orgânica da casca que, por sua vez, regula o processo de mineralização (Gautron *et al.*, 1997).

Desta forma, os compostos proteicos contidos nas estruturas biominerais da casca podem influenciar a estrutura final dos compostos fosfato e carbonato de cálcio, através da nucleação, crescimento (Hincke *et al.*, 2000) e controle da mineralização da casca, contribuindo assim, na organização e propriedades mecânicas da mesma (Nys *et al.*, 1999).

A diminuição da cristalinidade do carbonato de cálcio possivelmente ocorreu em função de diferenças no tamanho, morfologia ou até mesmo orientação dos cristais de calcita, provavelmente em decorrência das diferenças na distribuição e composição das amidas presentes na casca vítrea.

Alguns trabalhos apontaram a distribuição desuniforme de umidade na casca como responsável por proporcionar a aparência vítrea (Holst *et al.*, 1932; Almquist & Burmester, 1934; Tyler & Geake, 1964; Tyler & Standen, 1969).

Posteriormente, Talbot & Tyler (1974) descreveram o maior teor de proteína na casca e a distribuição diferente deste conteúdo orgânico como responsável pela produção do aspecto vítreo favorecendo a retenção de umidade na casca.

Possivelmente, alterações na expressão gênica durante a formação do ovo contribuem para síntese de composto proteicos da matriz orgânica da casca com ligeiras diferenças promovendo alterações no processo de deposição dos compostos orgânicos e inorgânicos da casca.

Os espectros da casca vítrea evidenciaram ocorrência de desordem local tanto para o composto carbonato de cálcio, quanto para amida, sugerindo que o grau de cristalinidade do carbonato de cálcio na forma de calcita, bem como, a variação no conteúdo de amida da casca contribui para a formação do aspecto vítreo.

Na casca vítrea observou-se maior distribuição de conteúdo orgânico, quando comparada a casca normal, o que possivelmente contribui para absorção e permanência de umidade que confere o aspecto vítreo da casca.

A composição química das cascas normal e vítrea foi semelhante, no entanto, a casca vítrea apresentou maior grau de desorganização na sua estrutura e maior conteúdo orgânico em comparação com a casca normal.

Referências

Alquimist HJ, Burmester BR. Characteristics of an abnormal type of egg shell. Poultry Science 1934; 13(2):116-122. <https://doi.org/10.3382/ps.0130116>

Arias JL, Fink DJ, Xiao SQ, Heuer AH, Caplan AI. Biomineralization and eggshells: cell-mediated acellular compartments of mineralized extracellular matrix. International Review Cytology 1993; 45:217-250. [https://doi.org/10.1016/S0074-7696\(08\)60428-3](https://doi.org/10.1016/S0074-7696(08)60428-3)

Baker RC, Curtiss R. Individual hen differences in egg shell mottling and the relationship of shell mottling to clutch size, internal quality and weight loss. Poultry Science 1957; 36(4):904-908. <https://doi.org/10.3382/ps.0360904>

Bazin D, Chappard C, Combes C, Carpentier X, Rouziere S, Andre G, Matzen G, Allix M, Thiaudiere D, Reguer S, Jungers P, Daudon M. Diffraction techniques and vibrational spectroscopy opportunities to characterise bones. Osteoporosis International 2009; 20(6):1065–1075. <https://doi.org/10.1007/s00198-009-0868-3>

Cai S, Singh BR. A distinct utility of the amide III Infrared band for secundar structure estimation of aqueous protein solution using partial least squares methods. Biochemistry 2004; 43(9):2541-2549. <https://doi.org/10.1021/bi030149y>

Chousalkar KK, Flynn P, Sutherland M, Roberts JR, Cheetham BF. Recovery os *Salmonella* and *Escherichia coli* from commercial egg shells and effect of translucency on bacterial

- penetration in eggs. International Journal of food Microbiology 2010; (142):207-213.
<https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2010.06.029>
- Choudhary R, Koppala S, Sasikumar S. Bioactivity studies of calcium magnesium silicate prepared from eggshell waste by sol-gel combustion synthesis. Journal of Asian Ceramic Societies 2015; 3(2):173-177. <https://doi.org/10.1016/j.jascer.2015.01.002>
- Garidel P, Schott H. Forrier-Transform Midinfrared Spectroscopy for Analysis and Screening of liquid protein formulations. Part 2: Detailed analysis and applications. Bioprocess Technical 2006; 48-55. <https://doi.org/10.1016/j.jascer.2015.01.002>
- Gautron J, Hincke MT, Nys Y. Precursor matrix proteins in the uterine fluid change with stages of eggshell formation in hens, Connective Tissue Research 1997; 36(3): 195–210.
<https://doi.org/10.3109/03008209709160220>
- Gole VC, Roberts JR, Sexton M, May D, Kiermeier A, Chousalkar KK. Effect of egg washing and correlation between cuticle and egg penetration by various *Salmonella* strains. International Journal of Food Microbiology 2014; (182-183):18-25.
<https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2014.04.030>
- Gourion-Arsiquaud S, Burket JC, Havill LM, Di Carlo E, Doty SB, Mendelsohn R, van der Meulen MC, Boskey AL. Spatial variation in osteonal bone properties relative to tissue and animal age. Journal of Bone and Mineral Research 2009; 24(7):1271–1281.
<https://doi.org/10.1359/jbmr.090201>
- Grauw CJ, Bruijn JD, Otto C, Greve j. Investigation of bone and calcium phosphate coatings and crystallinity determination using Raman Microspectroscopy. Cells and Materials 1996; 6(1-3):57-62.
- Hincke MT, Gautron J, Panhéleux M, Garcia-Ruiz JM, McKee MD, Nys Y. Identification and localization of lysozyme as a component of the eggshell membranes and shell matrix. Matrix Biology 2000; 19(5):443–453. [https://doi.org/10.1016/S0945-053X\(00\)00095-0](https://doi.org/10.1016/S0945-053X(00)00095-0)

- Hincke MT, Nys Y, Gautron J, Mann K, Rodriguez-Navarro AB, Mackee MD. The eggshell: structure, composition and mineralization. *Frontiers in Bioscience* 2012; 17:1266-1280. <https://doi.org/10.2741/3985>
- Hincke MT, Wellman-Labadie O, McKee MD, Gautron J, Nys Y, Mann K. Biosynthesis and structural assembly of eggshell components. In: *Egg Bioscience and iotechnology*, Chapter 2. Ed: Mine Y. John Wiley and Sons; 2008. 97-128. <https://doi.org/10.1002/9780470181249.ch2>
- Holst WF, Almquist HJ, Lorenz FW. A study of shell texture of the hen's egg. *Poultry Science* 1932; 11(3):144-149. <https://doi.org/10.3382/ps.0110144>
- Leach RM. Biochemistry of the organic matrix of the eggshell. *Poultry Science* 1982; 61:2040–2047. <https://doi.org/10.3382/ps.0612040>
- Morris MD, Mandair GS. Raman assessment of bone quality. *Clinical Orthopaedic Related Research* 2011; 469(8):2160-2169. <https://doi.org/10.1007/s11999-010-1692-y>
- Mudunkotuwa IA, Minshid AAL, Grassian VH. ATR-FTIR spectroscopy as a tool to probe surface adsorption on nanoparticles at the liquid– solid interface in environmentally and biologically relevant media. *The Analyst* 2014; 139(5):870–881. <https://doi.org/10.1039/C3AN01684F>
- Nathusius WV, Ueber die Hiillen, welche den Dotter des Vogeleies Umgeben. *Zeitschrift für wissenschaftliche Zoologie* 1868; 18:225-270.
- Nys Y, Gautron J, Garcia-Ruiz JM, Hincke MT. Avian eggshell mineralization: biochemical and functional characterization of matrix proteins. *Comptes Rendus Palevol* 2004; 3:549-562. <https://doi.org/10.1016/j.crpv.2004.08.002>
- Nys Y, Hincke M, Arias JL, Garcia-Ruiz JM, Solomon SE, Avian eggshell mineralization. *Poultry and Avian. Biology Reviews* 1999; 10(3):143–166.

Nys Y, Zawadzki J, Gautron J, Mills AD. Whitening of brown-shelled eggs: mineral composition of uterine fluid and rate of protoporphyrin deposition. *Poultry Science* 1991; 70(5):1236–1245. <https://doi.org/10.3382/ps.0701236>

Pellegrino ED, Biltz RM. Calcium carbonate in medullary bone. *Calcified Tissue Research* 1970; 6:168-171. <https://doi.org/10.1007/BF02196196>

Rodríguez-Navarro AB, Domínguez-Gasca N, Muñoz A, Ortega-Huertas M. Change in the eggshell cuticle with hen and egg freshness. *Poultry Science* 2013; 92(11): 3026-3035. 3026–3035. <https://doi.org/10.3382/ps.2013-03230>

Rodríguez-Navarro AB, Marie P, Nys Y, Hincke MT, Gautron J. Amorphous calcium carbonate controls avian eggshell mineralization: A new paradigm for understanding rapid eggshell calcification. *Journal of Structural Biology* 2015; 190(3): 291-303. <https://doi.org/10.1016/j.jsb.2015.04.014>

Samiullah JRR, Chousalkar KK. Effect of production system and flock age on egg quality and total bacterial load in commercial laying hens. *The Journal of Applied Poultry Research* 2014; 23:59-70. <https://doi.org/10.3382/japr.2013-00805>

Sato ET, Martinho H. First-principles calculations of Raman vibrational modes in the fingerprint region for connective tissue. *Biomedical Optics Express* 2018; 9(4): 1728-1734. <https://doi.org/10.1364/BOE.9.001728>

Schulmerich MV, Dooley KA, Vanasse TM, Goldstein SA, Morris MD. Subsurface and transcutaneous Raman spectroscopy and mapping using concentric illumination rings and collection with a circular fiber-optic array. *Applied Spectroscopy*. 2007; 61(7): 671–678. <https://doi.org/10.1366/000370207781393307>

Serna CJ, Iglesias JE. Nature of protohaematite and hydrohaematite. *Journal of Materials Science Letters* 1986; 5:901-902. <https://doi.org/10.1007/BF01729267>

Souza RM. ATR: avanço da Espectroscopia de Infravermelho na análise de materiais plásticos. *Boletim de Tecnologia e Desenvolvimento de embalagens* 2009; 21(3):1-3.

Stuart BH. Biological Applications. In: (Ed.). Infrared Spectroscopy: Fundamentals and Applications: John Wiley & Sons; 2005. p.137-165. <https://doi.org/10.1002/0470011149.ch7>

Talbot CJ, Tyler C. A study of the fundamental cause of natural translucent areas in egg shells. British Poultry Science 1974; 15: 97-204. <https://doi.org/10.1080/00071667408416096>

• Tyler C, Geake FH. The effect of water on egg shell strength including a study of the translucent areas of the shell. British Poultry Science 1964; 5:277-284. <https://doi.org/10.1080/00071666408415541>

• Tyler C, Standen N. The artificial production of translucent streaks on egg shells and various factors influencing their development. British Poultry Science 1969; 10:359-369. <https://doi.org/10.1080/00071666908415781>

Vilela DR, Carvalho LSS, Fagundes NS, Fernandes EA. Qualidade interna e externa de ovos de poedeiras comerciais com casca normal e vítrea. Ciência Animal Brasileira 2016; 17(4):509-518. <https://doi.org/10.1590/1089-6891v17i421535>

Wang DH, Li YJ, Liu L, Liu JS, Bao M, Yang N, Zhuo-Cheng H, Ning ZH. Traits of eggshell and shell membranes of translucent eggs. Poultry Science 2017; 96(2):351-358. <https://doi.org/10.3382/ps/pew328>

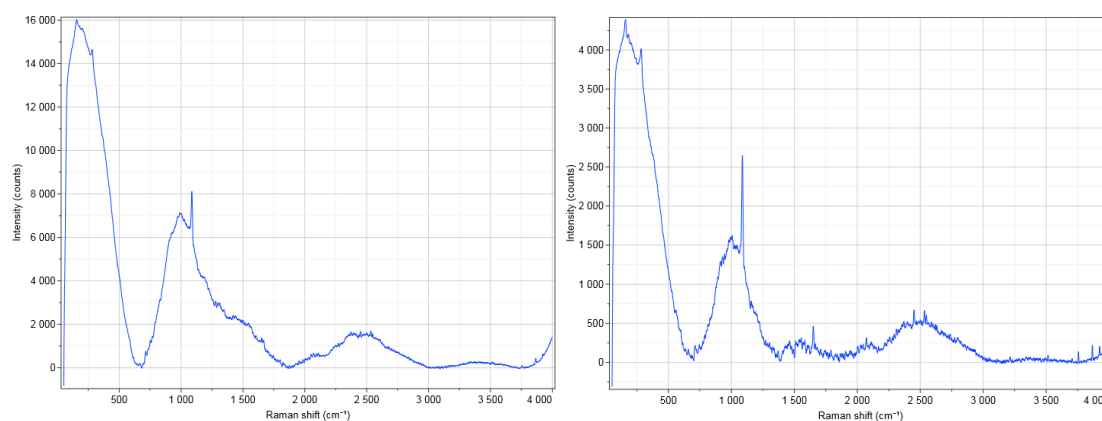
Wehrmeister U, Jacob DE, Soldati AL, Loges N, Häger T, Hofmeister W. Amorphous, nanocrystalline and crystalline calcium carbonates in biological material. Journal of Raman Spectroscopy 2011; 42:926-935. <https://doi.org/10.1002/jrs.2835>

Wopenka B, Kent A, Pasteris JD, Yoon Y, Thomopoulos S. The tendon-to-bone transition of the rotator cuff: a preliminar Raman spectroscopic study documenting the gradual mineralization across the insertion in rat tissue samples. Applied Spectroscopy. 2008; 62(12):1285–1294. <https://doi.org/10.1366/000370208786822179>

**CARACTERIZAÇÃO DA CASCA VÍTREA DE OVOS COMERCIAIS POR ESPECTROSCOPIA
RAMAN E ESPECTROSCOPIA DE INFRAVERMELHO COM TRANSFORMADA DE
FOURIER COM REFLECTÂNCIA TOTAL ATENUADA**

LETÍCIA SOUZA SILVA CARVALHO^{1*}, FLAVIA SOUZA GOMES CROSARA², MARINA
CRUVINEL ASSUNÇÃO SILVA MENDONÇA², ANIELE CRISTHINI ALMEIDA SILVA³,
NOELIO OLIVEIRA DANTAS³, EVANDRO DE ABREU FERNANDES⁶

Figura 1. Espectros Raman obtidos das cascas, normal e vítrea, respectivamente, utilizando a
linha 633 nm.



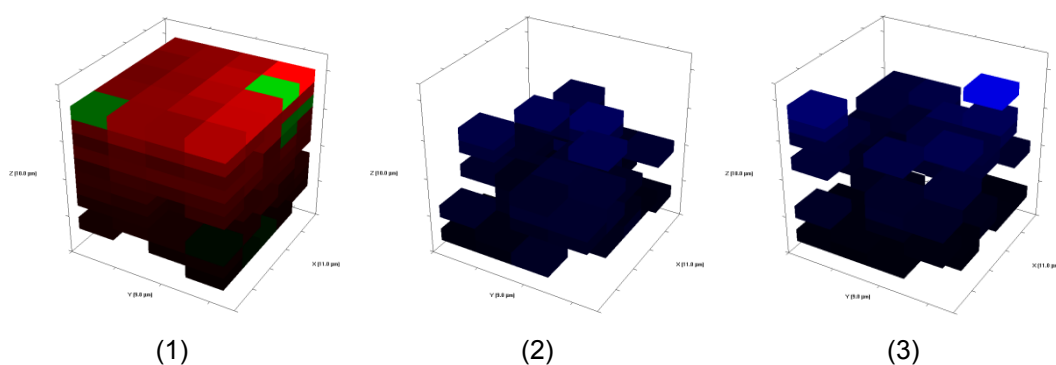
a) Espectro casca normal

b) Espectro casca vítrea

CARACTERIZAÇÃO DA CASCA VÍTREA DE OVOS COMERCIAIS POR ESPECTROSCOPIA RAMAN E ESPECTROSCOPIA DE INFRAVERMELHO COM TRANSFORMADA DE FOURIER COM REFLECTÂNCIA TOTAL ATENUADA

LETÍCIA SOUZA SILVA CARVALHO^{1*}, FLAVIA SOUZA GOMES CROSARA², MARINA CRUVINEL ASSUNÇÃO SILVA MENDONÇA², ANIELE CRISTHINI ALMEIDA SILVA³, NOELIO OLIVEIRA DANTAS³, EVANDRO DE ABREU FERNANDES⁶

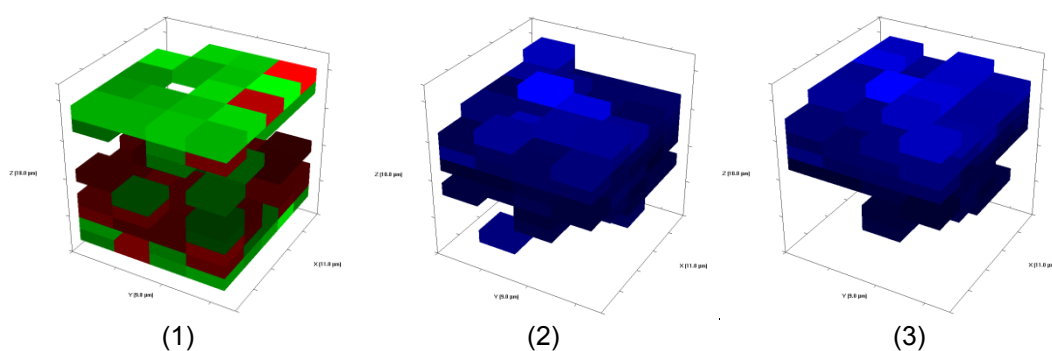
Figura 2. Representação tridimensional da distribuição volumétrica correspondente as bandas Raman selecionadas relacionadas aos modos vibracionais de carbonato de cálcio na forma de calcita (1), amida I (2) e fenilalanina (3) do espectro de infravermelho obtidos da casca normal do ovo utilizando a linha 633 nm.



**CARACTERIZAÇÃO DA CASCA VÍTREA DE OVOS COMERCIAIS POR ESPECTROSCOPIA
RAMAN E ESPECTROSCOPIA INFRAVERMELHA COM TRANSFORMADA DE FOURIER
COM REFLECTÂNCIA TOTAL ATENUADA**

LETÍCIA SOUZA SILVA CARVALHO^{1*}, FLAVIA SOUZA GOMES CROSARA², MARINA
CRUVINEL ASSUNÇÃO SILVA MENDONÇA², ANIELE CRISTHINI ALMEIDA SILVA³, NOELIO
OLIVEIRA DANTAS³, EVANDRO DE ABREU FERNANDES⁶

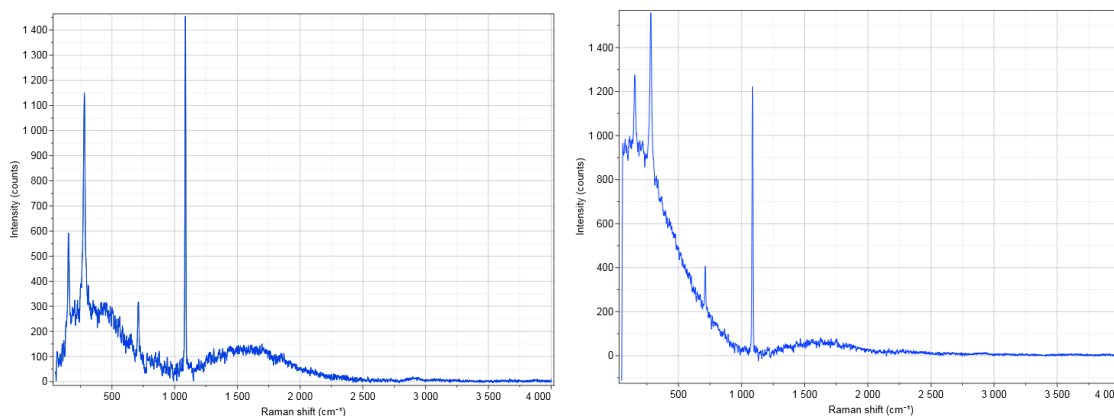
Figura 3. Representação tridimensional da distribuição volumétrica correspondente as bandas
Raman selecionadas relacionadas aos modos vibracionais de carbonato de cálcio na forma de
calcita (1), amida III (2) e fenilalanina (3) do espectro de infravermelho obtidos da casca vítrea
do ovo utilizando a linha 633 nm.



CARACTERIZAÇÃO DA CASCA VÍTREA DE OVOS COMERCIAIS POR ESPECTROSCOPIA RAMAN E ESPECTROSCOPIA DE INFRAVERMELHO COM TRANSFORMADA DE FOURIER COM REFLECTÂNCIA TOTAL ATENUADA

LETÍCIA SOUZA SILVA CARVALHO^{1*}, FLAVIA SOUZA GOMES CROSARA², MARINA CRUVINEL ASSUNÇÃO SILVA MENDONÇA², ANIELE CRISTHINI ALMEIDA SILVA³, NOELIO OLIVEIRA DANTAS³, EVANDRO DE ABREU FERNANDES⁶

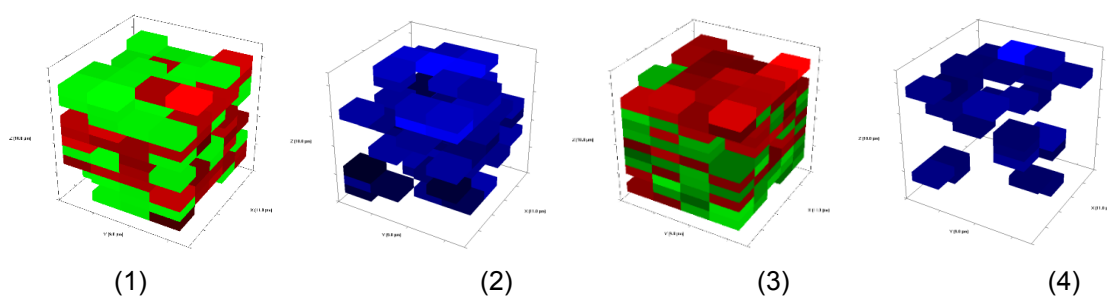
Figura 4. Espectros Raman obtidos, respectivamente, das cascas normal e vítrea utilizando a linha 785 nm.



CARACTERIZAÇÃO DA CASCA VÍTREA DE OVOS COMERCIAIS POR ESPECTROSCOPIA RAMAN E ESPECTROSCOPIA DE INFRAVERMELHO COM TRANSFORMADA DE FOURIER COM REFLECTÂNCIA TOTAL ATENUADA

LETÍCIA SOUZA SILVA CARVALHO^{1*}, FLAVIA SOUZA GOMES CROSARA², MARINA CRUVINEL ASSUNÇÃO SILVA MENDONÇA², ANIELE CRISTHINI ALMEIDA SILVA³, NOELIO OLIVEIRA DANTAS³, EVANDRO DE ABREU FERNANDES⁶

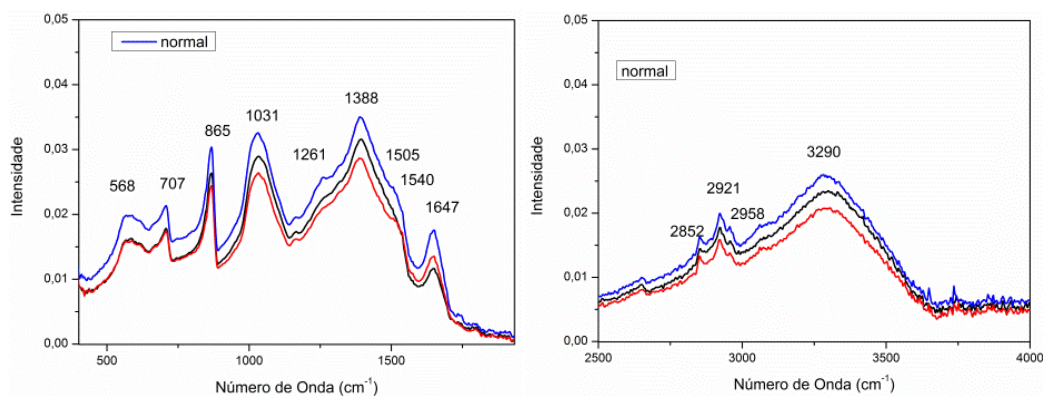
Figura 5. Representação tridimensional da distribuição volumétrica correspondente as bandas Raman selecionadas relacionadas aos modos vibracionais de carbonato de cálcio na forma de calcita (1) e amida I (2) do espectro de infravermelho obtidos da casca normal e carbonato de cálcio na forma de calcita (3) e amida I (4) obtidos da casca vítrea utilizando a linha 785 nm.



CARACTERIZAÇÃO DA CASCA VÍTREA DE OVOS COMERCIAIS POR ESPECTROSCOPIA RAMAN E ESPECTROSCOPIA DE INFRAVERMELHO COM TRANSFORMADA DE FOURIER COM REFLECTÂNCIA TOTAL ATENUADA

LETÍCIA SOUZA SILVA CARVALHO^{1*}, FLAVIA SOUZA GOMES CROSARA², MARINA CRUVINEL ASSUNÇÃO SILVA MENDONÇA², ANIELE CRISTHINI ALMEIDA SILVA³, NOELIO OLIVEIRA DANTAS³, EVANDRO DE ABREU FERNANDES⁶

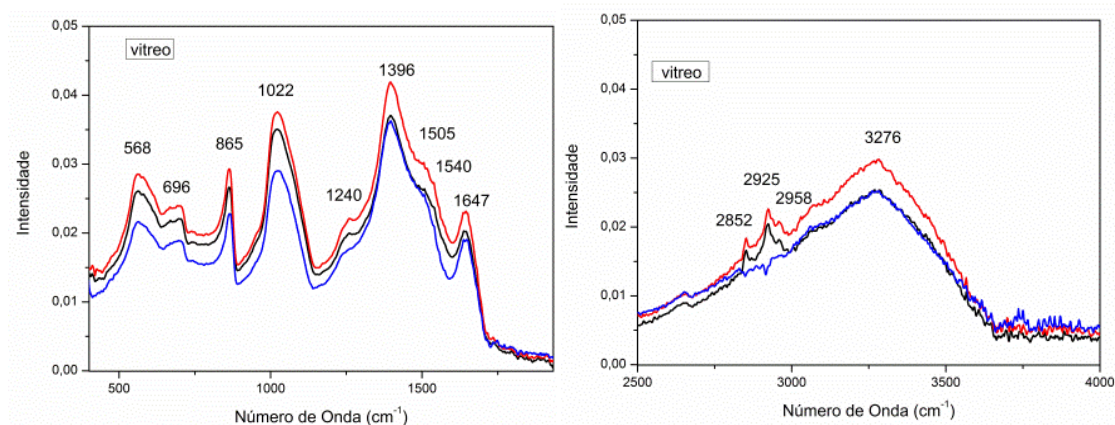
Figura 6. Espectros de infravermelho obtidos na região normal da casca do ovo em três pontos na região equatorial da casca.



CARACTERIZAÇÃO DA CASCA VÍTREA DE OVOS COMERCIAIS POR ESPECTROSCOPIA RAMAN E ESPECTROSCOPIA DE INFRAVERMELHO COM TRANSFORMADA DE FOURIER COM REFLECTÂNCIA TOTAL ATENUADA

LETÍCIA SOUZA SILVA CARVALHO^{1*}, FLAVIA SOUZA GOMES CROSARA², MARINA CRUVINEL ASSUNÇÃO SILVA MENDONÇA², ANIELE CRISTHINI ALMEIDA SILVA³, NOELIO OLIVEIRA DANTAS³, EVANDRO DE ABREU FERNANDES⁶

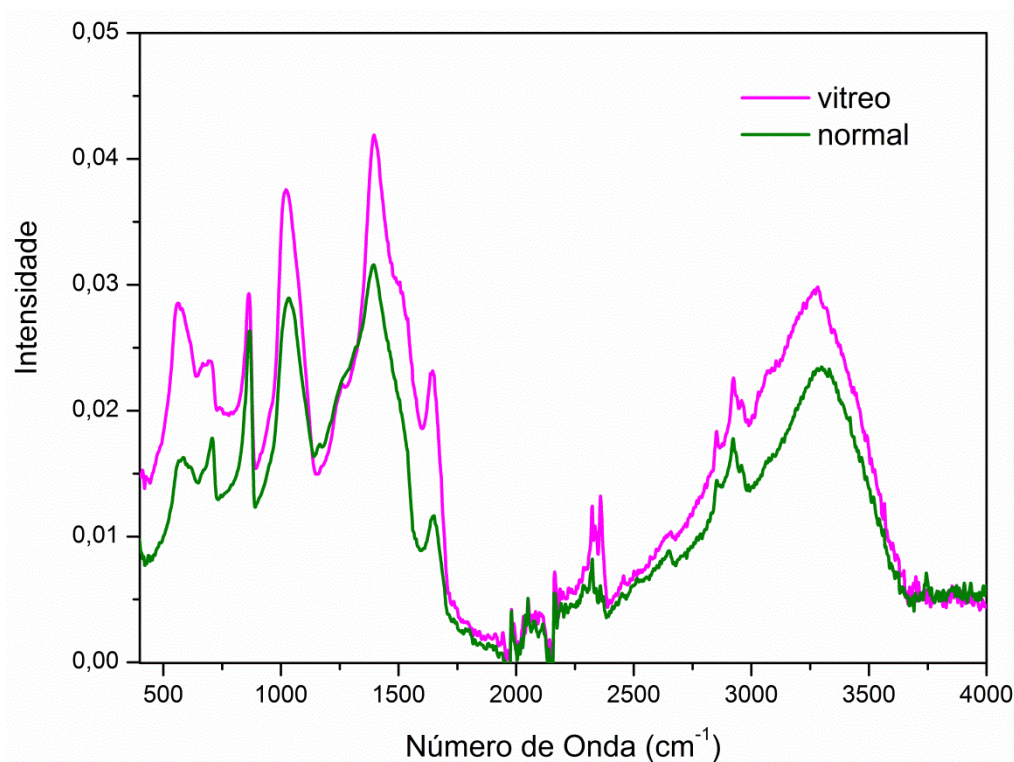
Figura 7. Espectros de infravermelho obtidos na região vitrea da casca do ovo em três pontos na região equatorial da casca.



CARACTERIZAÇÃO DA CASCA VÍTREA DE OVOS COMERCIAIS POR ESPECTROSCOPIA RAMAN E ESPECTROSCOPIA DE INFRAVERMELHO COM TRANSFORMADA DE FOURIER COM REFLECTÂNCIA TOTAL ATENUADA

LETÍCIA SOUZA SILVA CARVALHO^{1*}, FLAVIA SOUZA GOMES CROSARA², MARINA CRUVINEL ASSUNÇÃO SILVA MENDONÇA², ANIELE CRISTHINI ALMEIDA SILVA³, NOELIO OLIVEIRA DANTAS³, EVANDRO DE ABREU FERNANDES⁶

Figura 8. Espectros de infravermelho obtidos na região normal e vitrea da casca do ovo.



CONSIDERAÇÕES FINAIS

Foi evidenciado na pesquisa que fatores ambientais como temperatura e umidade podem influenciar a ocorrência de ovos de casca vítrea, no entanto, o aspecto vítreo da casca não compromete a qualidade e a composição bromatológica dos ovos. As cascas normal e vítrea apresentam a mesma composição, muito embora a distribuição e a proporção de alguns compostos variam entre elas.

A casca vítrea tem ocorrência globalizada, e sabendo que parâmetros da casca como espessura, porosidade e resistência variam com a linhagem da poedeira, mais estudos se fazem necessários para esclarecer quais outros fatores, sejam eles endógenos ou exógenos, contribuem para ocorrência de ovos de casca vítrea e suas implicações em ovos de consumo ou incubação.

ANEXOS

NORMAS DA REVISTA BRAZILIAN JOURNAL OF POULTRY SCIENCE

Instruções para autores

A publicação da Revista Brasileira de Ciência Avícola é coordenada pela comissão editorial da FACTA (Fundação APINCO de Ciência e Tecnologia Avícolas). Todas as conclusões e resultados publicados são de responsabilidade integral do(s) autor(es).

A Revista Brasileira de Ciência Avícola é publicada trimestralmente e aceita apenas trabalhos originais de pesquisa que sejam relevantes à área de ciência avícola. As áreas consideradas para publicação são: Bioquímica e Biologia Celular; Construção, Ambiente e Bem-estar; Aves Silvestres; Produção e Manejo; Imunologia, Doenças Avícolas e Controle; Aves de Postura e Produção de Codornas; Nutrição; Fisiologia, Genética, Reprodução e Incubação; Tecnologia, Processamento e Segurança Alimentar.

O objetivo principal da Revista é o de publicar artigos científicos e técnicos completos, assim como revisões de literatura na área de ciência avícola, escritos por pesquisadores e especialistas da área. Os autores que gostariam de publicar uma revisão de literatura, um editorial ou uma revisão técnica devem entrar em contato com o editor da Revista.

Todos os manuscritos devem ser enviados em inglês e serão avaliados de modo confidencial e imparcial.

O envio de um manuscrito à Revista Brasileira de Ciência Avícola significa que:

1. O artigo nunca foi publicado.
2. O artigo não está sendo enviado para publicação em outro lugar.
3. Todos os autores aprovaram o envio do artigo a Revista Brasileira de Ciência Avícola.
4. Todos os autores obtiveram permissão para publicar por parte dos empregadores ou instituições às quais são filiados.
5. As permissões necessárias, incluindo a aprovação ética, foram obtidas. Serão desconsiderados os trabalhos que descrevam experimentos que demonstram uma falta de preocupação com os padrões éticos e de bem estar animal.

O manuscrito deve ser enviado pelo sistema ScholarOne: <https://mc04.manuscriptcentral.com/rbca-scielo>, as outras correspondências devem ser enviadas preferencialmente por email ou por correio para:

Brazilian Journal of Poultry Science**FACTA – Fundação APINCO de Ciência e Tecnologia Avícolas**

Avenida Andrade Neves, 2501

13070-001 – Campinas, SP, Brasil

Tel. 55 (19) 3243-6555

Fax. 55 (19) 3243-8542

E-mail: revista@facta.org.br

PREPARAÇÃO DO MANUSCRITO**Artigos científicos**

O manuscrito deve conter os resultados de pesquisas originais que contribuem de modo relevante para o avanço da ciência avícola. Se alguma parte dos resultados já tiver sido publicada anteriormente como um resumo ou pequeno trabalho em algum evento científico, esta informação precisa constar no trabalho. Manuscritos que tragam novos conceitos, metodologias ou abordagens experimentais inovadoras terão prioridade.

O manuscrito deve ter as seguintes sessões:

Título

Autor(es)

Endereço para correspondência

Resumo

Palavras-chave

Introdução

Materiais e métodos

Resultados

Discussão

Referencias

Agradecimentos que devem ser incluídos após a Discussão

As sessões Resultados e Discussão podem ser apresentadas em conjunto. O resumo deve ter no máximo 250 (duzentas e cinquenta) palavras. As palavras-chave devem vir imediatamente após o resumo, em ordem alfabética, devem ser no máximo 5 (cinco) e devem ser palavras ou expressões que identifiquem o conteúdo do artigo.

Notas técnicas e Estudos de caso

Notas técnicas e estudos de caso devem ter a mesma estrutura de artigos científicos, incluindo as sessões (Introdução, Resumo, Material e métodos, Resultados, Discussão, Agradecimentos e Referências). Estas devem ser apresentadas em um texto com no máximo 1000 (mil) palavras, sem contar o Resumo e Referências, e não devem conter mais de três figuras e/ou tabelas.

Artigos técnicos

Artigos técnicos devem apresentar o desenvolvimento de novas metodologias e/ou técnicas que possam ser utilizadas de modo a contribuir para a área de ciência avícola. Estes artigos devem ter todas as sessões dos artigos científicos.

Editoriais e Revisões de convidados

Editoriais e Revisões de convidados serão publicadas somente através de convite. As revisões devem seguir as normas editoriais dos artigos científicos, porém sem as sessões Materiais e Métodos, Resultados e Discussão.

LAYOUT DO MANUSCRITO

Formato: cada manuscrito original deve ser devidamente identificado pelo título e nome(s) do(s) autor(es). A fonte utilizada deve ser Arial (tamanhos de fonte: 16pt para o título, 14pt para os subtítulos no corpo do texto e 12pt para o corpo do texto), em espaçamento duplo e em papel A4 (21,0 x 29,7cm) com margens de 1,5 cm. As linhas e páginas devem ser numeradas consecutivamente. O manuscrito deve ser salvo em .doc (Microsoft Word ou editor de texto compatível). Somente nomenclaturas oficiais e reconhecidas serão aceitas. Abreviações não devem ser utilizadas no título.

folha de rosto: todos os manuscritos devem ter uma folha de rosto com o título, o(s) nome(s) completo(s) do(s) autor(es) e a instituição de

origem. Uma nota de rodapé com o endereço para correspondência completo e o email do autor a quem principal deve ser incluída nesta página.

Tabelas: as tabelas devem ser numeradas consecutivamente em números indo-arábicos e devem ter um título descritivo. Todas as explicações devem ser dadas em uma legenda imediatamente abaixo da figura. Todas as abreviações que apareçam na tabela devem ser explicadas nesta legenda, mesmo que sejam também explicadas no corpo do texto. As tabelas devem poder ser compreendidas sem qualquer referencia ao corpo do texto.

Ilustrações (fotografias, gráficos e desenhos): as ilustrações devem ser numeradas consecutivamente em números indo-arábicos e devem ser enviadas no mesmo documento (arquivo) mas em páginas separadas, que devem também trazer o nome do artigo, o(s) nome(s) do(s) autor(es) e a indicação do local no corpo do texto onde a ilustração deve aparecer. Fotografias, figuras e material escaneado devem ser enviados em alta resolução (no mínimo 600 dpi) e no formato .tif ou .jpg. As figuras serão publicadas em preto e branco. Um acordo em relação aos custos da impressão colorida deve ser firmado caso o autor deseje publicar as ilustrações coloridas.

Unidades: o Sistema Internacional de Unidades (SI) deve ser usado para medidas e abreviações.

Referências: as referências devem aparecer em ordem alfabética de acordo com o sobrenome do autor. A lista completa de referências deve ser mencionada. Todos os autores de cada artigo devem ser citados.

Exemplos:

Bakst MR, Gupta K, Akuffo V. Comparative development of the turkey and chicken embryo from cleavage through hypoblast formation. Poultry Science 1997; 76(1):83-90.

Bouzoubaa K, Nagaraja KV. Epidemiological studies on the incidence of salmonellosis in chicken breeder/hatchery operations in Marocco. In: Snoeyenbos GH, editor. Proceedings of the International Symposium on Salmonella;1984; Kenneth Square,PA: American Association Avian Pathologists; 1985. p.337.

Briceno WNO, Guimarães FCR, Cruz FGG. Efeitos da densidade populacional de frangos de corte em época quente no município de Manaus. In: 10º Congresso Brasileiro de Avicultura; 1987; Natal, Rio Grande do Norte. Brasil. p. 131-2.

Gabriel JE. Efeitos do nível energético da ração e do estresse térmico na expressão da proteína de choque térmico Hsp70 e nos níveis do seu mRNA no fígado de frangos de corte em diferentes estágios de desenvolvimento. [Dissertation]. Jaboticabal (SP): Universidade Estadual Paulista; 1996.

Ginsburg M. Primordial germ cell development in avians. Poultry Science 1997; 76(1):91-5.

Simon VA, Oliveira C. Vacinação em avicultura através da água de bebida. In: Macari M, editor. Água na avicultura industrial. Jaboticabal: Funep-Unesp; 1996. p. 73-85.

Summers JD, Leeson S. Commercial poultry nutrition. 2 ed. New York; N.Y / State Manual Book & Periodical Services; 1997.

Citações no corpo do texto: o sobrenome do autor deve ser seguido pelo ano em parênteses. No caso de dois autores, os dois sobrenomes devem aparecer. No caso de mais de dois autores, a citação deve ser feita usando-se o sobrenome do primeiro autor seguido pela expressão *et al.* (em itálico).

Exemplos: Simon (1996)

Silva & Silva (1988)

Briceno et al. (1987)

nomes científicos de microorganismos: seguir as recomendações do Berg's Manual

Taxas: a taxa para publicação é de US \$ 400,00 (quatrocentos dólares) por artigo aprovado.

Versão editorada: Uma versão editorada e diagramada será enviada ao autor cujos dados para correspondência aparecem na página de rosto do manuscrito. Eventuais correções feitas pelo autor nesta versão devem ser retornadas em até três dias, preferencialmente via fax. O editor se reserva o direito de enviar o manuscrito para a impressão sem o envio da versão editorada ao autor. O editor não deve ser considerado responsável por eventuais erros que apareçam no artigo publicado.

Direitos autorais: a transferência dos direitos autorais do artigo à FACTA é uma das condições para publicação na Revista Brasileira de Ciência Avícola. Os autores podem usar o artigo após a publicação sem autorização prévia da FACTA contanto que os devidos créditos sejam dados à Revista como o local original de publicação. Os autores são responsáveis pela obtenção de permissões para reproduzir no artigo materiais de outras fontes que sejam protegidos por direitos autorais.

Normas da Revista Bioscience Journal

Condições para submissão

Como parte do processo de submissão, os autores são obrigados a verificar a conformidade da submissão em relação a todos os itens listados a seguir. As submissões que não estiverem de acordo com as normas serão devolvidas aos autores.

- A contribuição é original e inédita, e não está sendo avaliada para publicação por outra revista; caso contrário, deve-se justificar em Comentários ao editor.
- O arquivo da submissão está em formato Microsoft Word, OpenOffice ou RTF.
- O texto está em espaço simples; usa uma fonte de 11-pontos; emprega itálico ao invés de sublinhar (exceto em endereços URL); com figuras e tabelas inseridas no texto, e não em seu final.
- A identificação de autoria deste trabalho foi removida do arquivo (word) e da opção Propriedades no Word, garantindo desta forma o critério de sigilo da revista. O texto cumpre com as normas de formatação da revista citados em Diretrizes para os autores na seção Sobre.
- No momento da submissão on line, o autor principal deverá enviar um ofício assinado por todos os autores, solicitando a submissão do artigo e a sua possível publicação, exclusivamente nesta revista. O ofício deverá ser digitalizado e transferido em Arquivos de Submissão.
- Todos os endereços URL no texto (ex.: <http://pkp.ubc.ca>) estão ativos.
- O artigo está sendo submetido corretamente na seção correspondente, de acordo com a sua área.
- Os manuscritos mesmo apresentando relevância científica e estando metodologicamente corretos poderão ser recusados se apresentados de forma desorganizada e fora das normas da Bioscience Journal. Manuscritos bem escritos e apresentados de acordo com as normas são revisados com maior rapidez e, também, exigindo menor esforço dos revisores.
- Será cobrada taxa de publicação, no valor de R\$ 40,00 (quarenta reais) por página publicada, dos trabalhos aprovados, para autores nacionais e \$ 40 (quarenta dólares ou 40 euros) para autores estrangeiros (A forma de pagamento será informada posteriormente).
- Todos os itens acima são requisitos básicos para a submissão de um artigo e, caso não estejam de acordo com as normas da revista, ou os metadados não estejam preenchidos corretamente, o referido artigo NÃO SERÁ considerado para avaliação.

Diretrizes para Autores

A redação deve primar pela clareza, brevidade e concisão. O texto deve ser digitado em fonte Times New Roman, tamanho 11, espaço simples e com margem de, no mínimo, 2 cm. Todas as linhas deverão ser numeradas. Os trabalhos deverão ser apresentados sem identificação de autores. Os nomes dos autores, titulação e endereço de trabalho deverão ser apresentados nos metadados da submissão e, na carta de encaminhamento. Figuras e tabelas deverão ser inseridas no texto, o mais próximo possível de sua citação.

O artigo será encaminhado a três (03) revisores da área, no menor tempo possível, sem a identificação dos autores e, será considerado aprovado com 02 pareceres favoráveis.

Serão aceitos somente trabalhos redigidos em inglês, com apresentação de certificado de revisão feito por um expert na língua inglesa.

A revista se reserva o direito de efetuar alterações de ordem normativa, ortográfica e gramatical nos originais, com vistas a manter o padrão culto da língua, respeitando, porém, o estilo dos autores. As provas finais serão enviadas aos autores, juntamente com o boleto para pagamento da publicação.

Os trabalhos publicados passarão a ser propriedade da revista Bioscience Journal, ficando sua reimpressão, total ou parcial, sujeita a autorização expressa da direção da revista. Deve ser consignada a fonte de publicação original.

Não serão fornecidas separatas. Os artigos estarão disponíveis para impressão, no formato PDF, no endereço eletrônico da revista.

Será cobrada taxa de publicação, no valor de R\$ 40,00 (quarenta reais) por página publicada, dos trabalhos aprovados, para autores nacionais e \$ 40 (quarenta dólares) para autores estrangeiros. (A forma de pagamento será informada posteriormente).

Após a avaliação e aprovação do artigo, a revista classificará as colaborações de acordo com as seguintes categorias:

1. Artigos originais - Artigos que apresentem contribuição inteiramente nova ao conhecimento e permitam que outros investigadores, baseados no texto escrito, possam julgar as conclusões, verificar a exatidão das análises e deduções do autor e repetir a investigação se assim o desejarem. Devem conter: Título, Resumo (com 200

a 400 palavras) e Palavras-chave em Inglês, Introdução, Material e Métodos, Resultados, Discussão (ou Resultados e Discussão) e Conclusão (opcional), Agradecimentos (se couber). Título, Resumo (com 200 a 400 palavras) e Palavras-chaves em português e Referências. Os trabalhos não devem exceder a 20 páginas (incluindo texto, referências, figuras e anexos).

2. Artigos de Revisão - Artigos que apresentem revisão ampla e atualizada de assunto de interesse da comunidade científica e que ofereçam contribuição significativa para a área de conhecimento abordada. Devem conter: Título, Resumo (com 200 a 400 palavras) e Palavras-chave em inglês, Introdução, Desenvolvimento, Conclusão, Agradecimentos (se couber). Título, Resumo (com 200 a 400 palavras) e Palavras-chaves em português e Referências. Os trabalhos não devem exceder a 30 páginas (incluindo texto, referências, figuras e eventuais anexos). Nesta categoria de trabalho só serão aceitas para submissão contribuições feitas a convite dos editores (Geral ou Associados).

3. Relato de caso(s) - Artigos predominantemente clínicos, de alta relevância e atualidade, com relatos originais das áreas clínica e básica. Devem conter: Título, Resumo (com 200 a 400 palavras) e Palavras-chave em inglês, Introdução, Relato do caso, Discussão, Conclusão(opcional), Agradecimentos (caso necessário). Título, Resumo (com 200 a 400 palavras) e Palavras-chaves em português e Referências. Os trabalhos não devem exceder 10 páginas, (incluindo texto, referências, figuras e eventuais anexos)

4. Comunicação - Artigo não original, demonstrando a experiência de um grupo ou de um serviço, abrangendo preferencialmente ensino, pesquisa, políticas de saúde e exercício profissional. Ou ainda, que relate os resultados (parciais ou não) de trabalho que ofereça informações relevantes para o conhecimento científico, mas não permitam conclusões robustas. Deve conter: Título, Resumo (com 200 a 400 palavras) e Palavras-chave em inglês, Introdução, Conteúdo, Agradecimentos (caso necessário). Título, Resumo (com 200 a 400 palavras) e Palavras-chaves em português e Referências. Os trabalhos não devem exceder 10 páginas, incluídos os anexos.

Apresentação dos Trabalhos

Formato: Todas as colaborações devem ser enviadas por meio do Sistema Eletrônico de Editoração de Revista - SEER, endereço: <http://www.seer.ufu.br/index.php/biosciencejournal/submission/wizard>

O texto deve estar gravado em extensão RTF (Rich Text Format) ou em formato Microsoft Word (2010). Os metadados deverão ser obrigatoriamente preenchidos com o título do trabalho, nome(s) do(s) autor(es), último grau acadêmico, instituição que trabalha, endereço postal, telefone, fax e e-mail.

O texto será escrito cordialmente, com intercalação de tabelas e figuras, já inseridas no texto, em quantidade mínima necessária para a sua compreensão.

No corpo do trabalho não deverá constar os nomes dos autores, que deverão ser encaminhados separadamente, com dados pessoais (títulos, endereço para correspondência, e-mail e Instituição a que está ligado), como medida de sigilo.

Título do trabalho: O título deve ser breve e suficientemente específico e descritivo, contendo as palavras-chave que representem o conteúdo do texto separadas por ponto, ambos acompanhados de sua tradução para o português.

Resumo: Deve ser elaborado um resumo informativo com cerca de 200 a 400 palavras, incluindo objetivo, método, resultado, conclusão, acompanhado de sua tradução para o português. Ambos devem ter, no máximo, 800 palavras.

Palavras-chave: As palavras-chave e keywords não devem repetir palavras do título, devendo-se incluir o nome científico das espécies estudadas. As palavras devem ser separadas por ponto e iniciadas com letra maiúscula. Os autores devem apresentar de 3 a 6 termos, considerando que um termo pode ser composto de duas ou mais palavras.

Agradecimentos: Agradecimentos a auxílios recebidos para a elaboração do trabalho deverão ser mencionados no final do artigo, antes das referências.

Notas: Notas contidas no artigo devem ser indicadas com um asterisco imediatamente depois da frase a que diz respeito. As notas deverão vir no rodapé da página correspondente. Excepcionalmente poderão ser adotados números para as notas junto com asteriscos em uma mesma página, e nesse caso as notas com asteriscos antecedem as notas com número, não importando a ordem dessas notas

no texto. Apêndices: Apêndices podem ser empregados no caso de listagens extensivas, estatísticas e outros elementos de suporte.

Figuras e tabelas: Fotografias nítidas (preto e branco ou em cores), gráficos e tabelas em preto e branco (estritamente indispensáveis à clareza do texto) serão aceitos, e deverão ser assinalados, no texto, pelo seu número de ordem, nos locais onde devem ser intercalados. Se as ilustrações enviadas já tiverem sido publicadas, mencionar a fonte. (vide normas para elaboração de figuras, na próxima seção).

Os manuscritos, ainda que apresentem relevância científica e estejam metodologicamente corretos, poderão ser recusados se não apresentarem a devida organização e se estiverem fora das normas da Bioscience Journal.

NORMAS PARA ELABORAÇÃO DE FIGURAS

1. As figuras podem ser feitas em softwares de preferência dos autores (Excel, Sigma Plot, etc.), devendo ser inseridas e enviadas em formato TIFF ou JPG com resolução mínima de 300 dpi.
2. As figuras deverão ter largura máxima de 8,0 cm ou 16,0 cm.
3. Os títulos e a escala dos eixos x e y deverão ser em Times New Roman tamanho 11. As linhas dos eixos e demais linhas (e.g., curvas de regressão) deverão ter espessura de 0,3 mm. Todas as informações contidas no interior da figura (e.g., equações, legendas) deverão ser em Times New Roman tamanho 10 ou no mínimo 8. São dispensáveis as bordas, direita e superior, em gráficos.
4. Todas as figuras deverão ser inseridas convenientemente no texto logo após a sua chamada, consecutivamente e em números arábicos. As figuras deverão ser inseridas no texto por meio do comando Inserir Imagem/Figura Arquivo□.
5. As figuras podem ser constituídas por múltiplos gráficos, tanto na horizontal como na vertical, respeitando a largura máxima de 16,0 cm e 8,0 cm, respectivamente. Quando se tratar de figuras com vários gráficos, os mesmos deverão ser identificados por letras (A, B, C, D) em maiúsculo entre parênteses, fonte Times New Roman tamanho 11. Trabalhos que tenham sido consultados e mencionados no texto são da responsabilidade do autor.

Informação oriunda de comunicação pessoal, trabalhos em andamento e os não-publicados não devem ser incluídos na lista de referências, mas indicados em nota de rodapé da página em que forem citados.

Referências: NBR 6023/2002. A exatidão e adequação das referências a trabalhos que tenham sido consultados e mencionados no texto são da responsabilidade do autor. Informação oriunda de comunicação pessoal, trabalhos em andamento e os não publicados não devem ser incluídos na lista de referências, mas indicados em nota de rodapé da página onde forem citados.

As referências incluídas no final de cada artigo devem ser escritas em páginas separadas do texto principal, em ordem alfabética de acordo com as normas da ABNT NBR-6023, ago. 2002. Na lista de Referências, no final do artigo, todos os autores devem ser mencionados. Não é permitido o uso da expressão et al.

Observar os exemplos das referências abaixo:

Livro no todo:

GRAZIANI, Mário. Cirurgia buco-maxilo-facial. 6. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1976. 676 p.

Capítulo de livro sem autoria própria:

PERRINS, C. M. Social systems. In: _____. Avian ecology. Glasgow: Blackie, 1983. cap. 2, p. 7-32.

Capítulo de livro com autoria própria:

GETTY, R. The Gross and microscopic occurrence and distribution of spontaneous atherosclerosis in the arteries of swine. In: ROBERT JUNIOR.; A., ATRAUSS, R. (Ed.). Comparative atherosclerosis. New York: Harper & Row, 1965. p. 11-20.

Monografias, Dissertações e Teses:

CORRALES, Edith Alba Lua Segovia. Verificação dos efeitos genotóxicos dos agentes antineoplásicos citrato de tamoxifen e paclitaxel. 1997. 84 f. Dissertação (Mestrado em Genética e Bioquímica) - Curso de Pós-Graduação em Genética e Bioquímica, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 1997.

Trabalhos apresentados em eventos: Congressos, Seminários, Reuniões...

NOVIS, Jorge Augusto. Extensão das ações de saúde na área rural. In: CONFERÊNCIA NACIONAL DE SAÚDE, 7., 1980, Brasília. Anais... Brasília: Centro de Documentação do Ministério da Saúde, 1980. p. 37-43.

Artigos de periódicos:

COHEN, B. I.; CONDOS, S.; DEUTSCH, A. S.; MUSIKANT, B. L. La fuerza de fractura de tres tipos de materiales para el muñon en combinacion com tres espigas endodontiacales distintas. R. Cent. C. Biomed. Univ. Fed. Uberlândia, Uberlândia, v. 13, n. 1, p. 69-76, dez. 1997.

Obs.: Quanto ao título de periódicos, deve-se adotar um único padrão. Na lista de Referências todos os títulos de periódicos devem vir abreviados ou todos por extenso e, em negrito.

Nota:

Quando se tratar de documento eletrônico, deve-se fazer a referência normal, acrescentando-se ao final informações sobre a descrição do meio ou suporte.

Exemplo:

Capítulo de livro com autoria própria disponível em CD-ROM:

FAUSTO, A. I. da F.; CERVINI, R. (Org.). O trabalho e a rua. In: BIBLIOTECA nacional dos direitos da criança. Porto Alegre: Associação dos Juizes do Rio Grande do Sul, 1995. 1 CD-ROM.

Artigo de periódicos em meio eletrônico:

ROCHA-BARREIRA, C. A. Caracterização da gônada e ciclo reprodutivo da *Collisella subrugosa* (Gastropoda: Acmaeidae) no Nordeste do Brasil. *Brazilian Journal of Biology*, São Carlos, v. 62, n. 4b, nov. 2002. Disponível em: Acesso em: 20 abr. 2003.

Recomendações: Recomenda-se que se observem as normas da ABNT referentes à apresentação de artigos em publicações periódicas (NBR 6023/2002), apresentação de citações em documentos (NBR 10.520/2002), apresentação de

originais (NBR 12256), norma para datar (NBR 5892), numeração progressiva das seções de um documento (6024/2003) e resumos (NBR 6028/2003), bem como a norma de apresentação tabular do IBGE.