

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
CURSO DE ZOOTECNIA**

JAQUELINE KUHLEN MAYER

**COMPARAÇÃO DO PERFIL DE CAROTENOIDES,
VITAMINAS A E E DA GEMA DE OVOS COMERCIALIZADOS
COMO ORGÂNICOS, CAIPIRAS E CONVENCIONAIS NA
GRANDE FLORIANOPOLIS**

**FLORIANÓPOLIS - SC
2014**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
CURSO DE ZOOTECNIA**

JAQUELINE KUHLEN MAYER

**COMPARAÇÃO DO PERFIL DE CAROTENOIDES,
VITAMINAS A E E DA GEMA DE OVOS COMERCIALIZADOS
COMO ORGÂNICOS, CAIPIRAS E CONVENCIONAIS NA
GRANDE FLORIANÓPOLIS**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado
como exigência para obtenção do Diploma de
Graduação em Zootecnia da Universidade Federal
de Santa Catarina.

Orientadora: Prof. Shirley Kuhnen

**FLORIANÓPOLIS - SC
2014**

Jaqueline Kuhnen Mayer

**COMPARAÇÃO DO PERFIL DE CAROTENOIDES,
VITAMINAS A E E DA GEMA DE OVOS COMERCIALIZADOS
COMO ORGÂNICOS, CAIPIRAS E CONVENCIONAIS NA
GRANDE FLORIANÓPOLIS**

Esta Monografia de Trabalho de Conclusão de Curso foi julgada aprovada e adequada para obtenção do grau de Zootecnista.

Florianópolis, 27 de Junho de 2014.

Banca Examinadora:

Prof.^a Shirley Kuhnen, Dr.^a
Orientadora
Universidade Federal de Santa Catarina - UFSC

Fernanda Ramlov, Dr.^a
Universidade Federal de Santa Catarina - UFSC

Nelton Antônio Menezes, Mestre
Fundação de Amparo à Pesquisa e Inovação de Santa Catarina (FAPESC)

Este trabalho é dedicado a minha família!

AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço a Deus por todas as oportunidades de crescimento ao longo desse período e pelas pessoas maravilhosas que colocaste em meu caminho.!

Agradeço à minha família, sempre me incentivando, pelo apoio afetivo, psicológico e material ao longo dessa jornada. Obrigada pelos exemplos e valores compartilhados. Pai, obrigada pelas caronas até a faculdade e horas de sono perdidas para me buscar após uma saída de campo, obrigada pela ajuda financeira mãe, sei o quanto é difícil!!! Amo vocês! Obrigada Mana e cunhado pelas ajudas quando necessário!

Ao Leandro que durante toda a graduação esteve do meu lado, às vezes um pouco incompreensível, mas no fim sempre me apoiando. Obrigada por aturar meu mau humor nos finais de semestre (e durante todo ele também, rsrs). Obrigada por ter abdicado de suas horas de lazer apenas para me fazer companhia quando precisava estudar. Te amo!

Obrigada professora Shirley pela oportunidade de crescimento profissional, confiança, orientação e dedicação. Agradeço a paciência e compreensão durante todo o processo do TCC.

Aos colegas do LMBV que durante muito tempo compartilhamos experiências e conhecimentos.

Aos queridos colegas do LABIMA e ex-integrantes, pela ajuda, horas de descontração, fofocas. Com certeza levarei todos vocês comigo com um carinho imenso. Obrigada Amábile, Antonio (pelas conversas e caronas, sua calma sempre contagiando o ambiente e sua risada inigualável rsrs, muito obrigada!), Bruna, Bruno (pela parceria nos projetos e muitas horas de conversa e apoio, muito obrigada!), Daline (pelas conversas, ajudas, horas de descontração, muito obrigada!), Jhônatan (o que seria de mim sem sua ajuda??? MUIIIITO obrigada!!! Pelos feriados trabalhando, conversas e dedicação, muiito Obrigada!!!), Lauana (minha pequena, obrigada pela paciência, ajuda, dedicação, caronas, conversas e muitas fofocas!!! Muito obrigada!), Samira (pelas conversas, ajudas, horas de descontração, muito obrigada!) e Thiago.

Não poderia deixar de agradecer uma pessoa suuuuper especial, Susane Lopes, ou Susy! Querida amiga, companheira por muito tempo de laboratório, onde

inicie meus trabalhos. Muito obrigada por compartilhar seus conhecimentos comigo, tenho que agradecer pela paciência e dedicação, pois muito do que sei hoje em questões laboratoriais devo a você! Agradeço pelas horas de trabalho que tivemos juntas, sempre focando sobre as novelas! Os cafezinhos da tarde no LMBV nunca mais foram os mesmos! Além de compartilhar os momentos bons, também tiveram os de desespero juntas, pois nada dava certo com aqueles extratos, mas por fim, hoje você é mestre e eu? Quase graduada! Ainda temos muito a trilhar e brilhar! Muito obrigada!

Agradeço aos professores do curso de zootecnia por todo conhecimento transmitido além da amizade.

Por fim agradeço a todos que me ajudaram a concluir mais essa etapa da graduação, de forma direta ou indireta. Agradeço aos meus colegas pelas ajudas, discussões e claro pelas confraternizações! Meu muito obrigada a Bruna, Camila, Christian, Daniela, Fernando, Joel, Patrícia, Priscila e Thais o meu MUITO obrigada!

Obrigada!!

“O valor das coisas não está no tempo que elas duram, mas na intensidade com que acontecem. Por isso, existem momentos inesquecíveis, coisas inexplicáveis e pessoas incomparáveis.”

(Fernando Pessoa)

RESUMO

Os carotenoides são pigmentos vegetais transferidos as gemas dos ovos através da dieta, conferindo cor peculiar às mesmas. Dessa forma, os teores de carotenoides nos ovos e de outros constituintes bioativos podem variar em decorrência de diferenças do sistema de produção. O presente trabalho teve como objetivo comparar o perfil de carotenoides, vitamina A e E nas gemas de ovos produzidos em sistemas de criação convencional (CON), caipira (CAI) e orgânico certificado (ORG). Ovos de dois lotes de três (CON e CAI/ n=6) e duas (ORG/ n=4) marcas foram adquiridos em estabelecimentos comerciais na região da Grande Florianópolis (SC). Os carotenoides foram extraídos a partir de 2,5 g de gema (peso fresco) em solução de NaCl 5%, seguido da adição de etanol e hexano (1:1 v/v). Após centrifugação (3.600 rpm, 20 min) e re-extração com hexano (2x), o resíduo foi saponificado (KOH 10%) e lavado com água destilada (3x). Após centrifugação (3.000 rpm, 5min), os extratos foram submetidos a varredura UV-Vis em espectrofotômetro (200-700 nm) e analisados por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE). Foram encontrados 10 carotenoides diferentes, sendo as xantofilas luteína e zeaxantina os compostos majoritários nos extratos analisados. Os conteúdos de carotenoides totais determinado por UV-vis, luteína, zeaxantina e vitamina E nas gemas dos ovos caipiras foram superiores aos convencionais, enquanto os dos ovos orgânicos não diferiram dos outros dois sistemas ($p < 0,05$). Adicionalmente, através da análise dos perfis espectrais usando PCA (PC1 e PC2) foi possível discriminar as amostras de acordo com o sistema de produção. Enquanto a totalidade das amostras ORG e CON separaram-se das demais, metade das amostras CAI foram discriminadas e as restantes agruparam-se com os tratamentos ORG ou CON. Tais resultados foram confirmados pela análise por CLAE, a qual evidenciou um perfil carotenóidico distinto de acordo com o sistema de produção. Em conjunto, tais resultados podem ser explicados pelas diferenças na alimentação dos animais em cada um dos sistemas. Enquanto no sistema CON e ORG tem-se uma dieta controlada, basicamente composta por grãos, a alimentação no sistema CAI é mais diversificada, incluindo forrageiras, folhas diversas, restos de vegetais e alguns grãos. Destaca-se ainda o perfil carotenóidico como marcador químico para distinção de ovos de sistemas alternativos, aplicando-se a técnica de PCA aos perfis UV-vis.

Palavras-chave: carotenoides, ovos, sistemas de criação, vitamina A, vitamina E.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 – Perfil Espectral UV-Visível (400-500 nm) dos extratos hexânicos obtidos da gema dos ovos produzidos nos sistemas convencional, orgânico e caipira.....31
- Figura 2 – Distribuição fatorial de PC1 e PC2 dos perfis espectrais UV-Visível (400-500 nm) dos extratos hexânicos obtidos das gemas de ovos de sistemas de criação caipira (CAI), convencional (CON) e orgânico (ORG).....32
- Figura 3 – Loading dos perfis espectrais UV-Visível (400-500 nm) dos extratos hexânicos obtidos das gemas de ovos de sistemas de criação caipira (CAI), convencional (CON) e orgânico (ORG).....33
- Figura 4 – Distribuição de carotenoides não identificados detectados por CLAE nas gemas de ovos caipiras, convencionais e orgânicos separados por marca NI 1 ($\lambda_{Max}=419/438/465$); NI 2 ($\lambda_{Max}=446/470$); NI 3 ($\lambda_{Max}=475$); NI 4 ($\lambda_{Max}=461/464/468$); NI 5 ($\lambda_{Max}=445/473$); NI 6 ($\lambda_{Max}=453/476$); NI 7 ($\lambda_{Max}=428/473$) e NI 8 ($\lambda_{Max}=449$).....36

LISTA DE TABELAS

Tabela 1- Categorias de ovos conforme características internas avaliadas através do método de ovoscopia.....	15
Tabela 2- Conteúdo médio de carotenoides totais*, luteína** e zeaxantina** ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$, peso seco) nas gemas dos ovos dos sistemas convencional (CON), orgânico (ORG) e caipira (CAI).....	34
Tabela 3- Conteúdos médios de vitamina A e E ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$, peso seco) determinados por CLAE, nas gemas dos ovos dos sistemas convencional (CON), orgânico (ORG) e caipira (CAI).....	37

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

CAI – Caipira

CLAE – Cromatografia Líquida de Alta Eficiência

CON – Convencional

IN – Instrução Normativa

ORG – Orgânico

PCA – Análise dos Componentes Principais

Se – Selênio

µg – micrograma

nm – nanômetro

mL – mililitro

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	13
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	14
2.1 PRODUÇÃO DE OVOS	14
2.2 COMPOSIÇÃO QUÍMICA DOS OVOS	16
2.3 PIGMENTOS CAROTENOÍDICOS E VITAMINAS LIPOSSOLÚVEIS	17
2.4 SISTEMAS DE PRODUÇÃO DE OVOS	21
3. OBJETIVOS	28
3.1 OBJETIVO GERAL.....	28
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	28
4. METODOLOGIA.....	29
4.1 AMOSTRAGEM	29
4.2 PREPARAÇÃO DAS AMOSTRAS	29
4.3 DETERMINAÇÃO DO PERFIL DE CAROTENOIDES E VITAMINAS LIPOSSOLÚVEIS.....	30
4.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA	30
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	31
5.1 COMPARAÇÃO DOS PERFIS ESPECTRAIS UV-VISÍVEL DOS EXTRATOS BRUTO DA GEMA VIA ANÁLISE DOS COMPONENTES PRINCIPAIS (PCA).....	31
5.2 CONTEÚDO DE CAROTENOIDES, VITAMINAS A e E	33
6. CONCLUSÕES	38
7. REFERÊNCIAS.....	39

1. INTRODUÇÃO

No Brasil, a produção de ovos é uma atividade econômica importante, utilizada basicamente para o abastecimento do mercado interno, destinando-se mais ao consumo *in natura*. O ovo é um alimento considerado nutricionalmente completo, rico em proteínas e com baixo teor de gordura, contendo todos os aminoácidos essenciais e fornecendo vitaminas e minerais. Para muitos consumidores, a qualidade deste alimento está apenas relacionada com o prazo de validade, enquanto para outros, as características sensoriais são também importantes. Para comercialização e para critério de qualidade, apenas as características de casca e peso dos ovos tem sido utilizado, mas atualmente os consumidores estão mais preocupados com a alimentação, sendo necessário à implantação de outros métodos para avaliar o alimento que chega à mesa da população.

Em termos de composição existem diferenças entre a clara e a gema do ovo. Enquanto a clara é constituída principalmente por água e proteínas, a gema é constituída principalmente por água, lipídeos e proteínas. A fração lipídica da gema contém alto teor de carotenoides, os quais influenciam na coloração das mesmas, sendo esta característica utilizada por alguns consumidores como sinal de qualidade.

É sabido que a nutrição das galinhas poedeiras e o sistema de criação influenciam significativamente nas características sensoriais e na composição química dos ovos (NARDONE & VALFRÈ, 1999). De maneira geral, ovos provenientes de sistemas que utilizam pastagens para a alimentação das galinhas apresentam maiores conteúdos de pigmentos carotenóidicos na gema (STADELMAN & COTTERILL, 1986). Apesar das xantofilas serem os carotenoides majoritários nos ovos, perfis distintos podem ser encontrados em decorrência do sistema de criação.

É crescente a procura por alimentos provenientes de sistemas de criação mais “limpos” e que visam o bem estar animal. Entretanto, ainda há poucos estudos relacionados a comparação da qualidade dos alimentos provenientes desses sistemas frente aos convencionais. Sendo assim, o presente trabalho teve como objetivo comparar o perfil de carotenoides, vitaminas A e E na gema de ovos orgânicos, caipiras e convencionais.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 PRODUÇÃO DE OVOS

O ovo comercial é o produto final da galinha de postura, que consegue transformar recursos alimentares de valor biológico inferior em um produto de alta qualidade nutricional para o consumo humano (BERTECHINI, 2003). Este setor caracteriza-se pela produção para consumo *in natura* (94,5%) e industrializado (5,50%). A produção é oriunda predominantemente do sistema de criação em gaiolas, com granjas de cria (0-6 semanas) e recria (7-16 semanas) separada das granjas de produção (UBA, 2008). Boa parte desta é comercializada no mercado interno (99%), tendo o setor se adequado nos últimos anos para incrementar as exportações (1%) (UBA, 2013).

A produção mundial de ovos, em 2011, ficou em torno de 1,22 trilhões de unidades. O Brasil produziu cerca de 41 bilhões de unidades, ficando em sétimo no ranking mundial, perdendo para países como China (482.974 bilhões) e Estados Unidos (91.855 bilhões) (FAO, 2013). No Brasil, a produção de ovos é uma atividade econômica importante, destinada basicamente para o abastecimento do mercado interno (~99%). Em 2012, o consumo *per capita* de ovos foi de 161,53 unidades (UBA, 2013). Segundo o Relatório anual da UBA (2013), o plantel de poedeiras no país chegou a aproximadamente 86 milhões de aves em 2012. As regiões de maior destaque foram o sudeste com 50,2%, seguido do sul com 20,1% e o nordeste do país com 15,7% (ANUALPEC, 2012). O estado de São Paulo destaca-se na produção Brasileira, representando 36,59% da produção. O estado de Santa Catarina, por sua vez, representa apenas 2,31% desta produção (UBA, 2013).

No Brasil, o Decreto nº 56.585, de 20 de julho de 1965 do Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento, estabelece as especificações para a classificação e fiscalização dos ovos. A classificação é realizada em grupos (branco ou de cor), classes (A, B ou C) e tipos, conforme seu peso (extra, grande, médio e pequeno) de acordo com as características mostradas na Tabela 1. O período e a temperatura de estocagem, além do grau de manipulação após postura são usados para classificar os ovos nas classes A, B e C. Os ovos da classe A são

exclusivamente frescos, enquanto B e C correspondem a ovos frescos, refrigerados e conservados. Os ovos da categoria C não são destinados ao consumo *in natura*, sendo utilizados como matéria-prima nas indústrias alimentícias (BENITES; FURTADO & SEIBEL, 2005).

Como critério de qualidade, apenas características da casca e peso dos ovos tem sido utilizado para padronizar a comercialização (ALCÂNTARA, 2012). O aspecto externo da casca tem sido considerado determinante, devendo estar limpa, íntegra e sem deformações (ALCÂNTARA, 2012). Cascas resistentes ajudam a proteger a parte interna do ovo e dependem de rações com níveis suficientes e equilibrados de nutrientes como cálcio, fósforo e vitamina D3. Grandes deformações na casca prejudicam o visual e ainda podem indicar problemas sanitários nas poedeiras (PROVENZANO et al., 2007).

Tabela 1. Categorias de ovos conforme características internas avaliadas através do método de ovoscopia.

Parte a qualificar	Categoria A	Categoria B	Categoria C
Casca e cutícula	Limpa, íntegra e sem deformação	Limpa, íntegra, permitindo-se ligeira deformação e discretamente manchada.	Limpa, íntegra, admitindo-se defeitos de textura, contorno e manchada.
Câmara de ar	Fixa e com no máximo 4 mm de altura.	Fixa e com no máximo 6 mm de altura.	Solta e com no máximo 10 mm de altura.
Clara do ovo	Límpida, transparente, consistente, centralizada e com as chalazas intactas.	Límpida, transparente, relativamente consistente e com as chalazas intactas.	Com ligeira turvação, relativamente consistente e com as chalazas intactas.
Gema do ovo	Translúcida, consistente, centralizada, e sem desenvolvimento de germe.	Consistente, ligeiramente descentralizada e deformada, porém com contorno definido e sem desenvolvimento de germe.	Descentralizada e deformada, porém com contorno definido e sem desenvolvimento de germe.

Fonte: Adaptado do Decreto nº 56.585, de 20 de julho de 1965 (MAPA).

2.2 COMPOSIÇÃO QUÍMICA DOS OVOS

A associação entre o colesterol e o desenvolvimento de doenças cardiovasculares, resultou a partir da década de 70, na recomendação de um consumo inferior a 300 mg/dia de colesterol pela American Heart Association (AHA) (AGUIAR; ZAFFARI & HÜBSCHER, 2009). Desde então, o ovo foi considerado um vilão da alimentação “saudável”, devido ao seu conteúdo de colesterol, cerca de 200 mg/unidade (NOVELLO, et al., 2006). Este valor tem sido usado para justificar a ingestão restrita de 3 a 4 ovos por semana (AGUIAR; ZAFFARI & HÜBSCHER, 2009). Entretanto, é sabido que o colesterol participa de funções importantes no organismo, como precursor de hormônios e na constituição das membranas celulares (DOMINGUES & DIEHL, 2012). Além disso, apenas $\frac{1}{3}$ do colesterol do ovo é absorvido pelo organismo, tendo alguns trabalhos demonstrado que o seu consumo aumenta os teores de HDL circulante (“colesterol bom”). O HDL é considerado um fator preventivo contra a aterosclerose, além de possuir fosfolipídios que são capazes de interferir na absorção do colesterol, diminuindo sua captação pelo intestino (DOMINGUES & DIEHL, 2012). De fato, tem-se considerado que o consumo de uma unidade diária de ovo não interfere nos níveis normais de colesterol no sangue (MOURA, 2001). Por outro lado, Goodrow et al. (2006) verificaram que o consumo diário de ovos, como fonte dos carotenoides luteína e zeaxantina, por indivíduos com idade acima de 60 anos, após quatro semanas, resultou no aumento das concentrações de luteína (26%) e zeaxantina (38%) no plasma sanguíneo. Com isso, o ovo passou a ser reconhecido por contribuir para uma nutrição de qualidade aos seres humanos, contendo constituintes necessários ao desenvolvimento físico humano (SANTOS FILHO; SCHLINDWEIN; SCHEUERMANN, 2009).

O ovo é considerado nutricionalmente completo, sendo uma fonte proteica rica, com baixo teor de gordura, contendo em seu componente lipídico maiores concentrações de ácidos graxos insaturados (SARCINELLI et al., 2007). O ovo tem aproximadamente 150 calorias (cal/100g), sendo constituído majoritariamente por água (~51% peso fresco) e proteínas (~16% peso fresco), seguido de lipídeos (~3,6% peso fresco), minerais (~1,7% peso fresco) e carboidratos (~0,6% peso fresco). Em relação ao peso seco do ovo, a proporção de proteínas e lipídeos é 2:1

(HUOPALAHTI et al., 2007). O ovo contém todos os aminoácidos essenciais e fornece vitaminas e minerais (vitamina A, vitamina D, ácido fólico, riboflavina, vitamina B12, colina, ferro, potássio, fósforo e zinco, por exemplo) (GESSULLI, 1999).

Em termos de composição, há diferenças entre a clara e a gema do ovo. A clara representa cerca de 70% do peso do ovo e é constituída principalmente por água (~85% peso fresco) e proteínas (~10% peso fresco) (HUOPALAHTI et al., 2007), contendo um baixo teor de gorduras (~0,15% peso fresco), e consequentemente um baixo valor calórico. A gema, por sua vez, representa aproximadamente 30% do peso do ovo e é constituída basicamente por água (~50% peso fresco), lipídeos (~32% peso fresco), ~10 mg de carotenoides/kg de ovo, além de proteínas (~17% peso fresco) e carboidratos (~1,8% peso fresco) (GESSULLI, 1999).

As composições vitamínicas da clara e da gema diferem em quantidade e qualidade. A clara tem baixo teor de vitaminas, contendo apenas as do complexo B. Em contraste, a gema possui maior conteúdo de vitaminas, tanto de vitaminas lipossolúveis quanto hidrossolúveis, com a notória ausência do ácido ascórbico (vitamina C) e altos conteúdos de vitamina A (550 UI), D (50 UI) além de vitamina E (1mg/100g) (BENITES; FURTADO & SEIBEL, 2005).

2.3 PIGMENTOS CAROTENOÍDICOS E VITAMINAS LIPOSSOLÚVEIS

Dentre todos os pigmentos presentes nos organismos vivos, são os carotenoides os mais amplamente distribuídos na natureza. Eles são encontrados em todos os vegetais e animais, sendo que os animais são incapazes de sintetizá-los. Neste caso, a sua incorporação ocorre através da ingestão de matéria vegetal (MÍNGUEZ-MORQUERA, 2002).

Os carotenoides são produtos do metabolismo secundário, pertencentes ao grupo dos terpenos, responsáveis pela coloração amarela, laranja e vermelha de vários tecidos fotossintéticos e não-fotossintéticos (MÍNGUEZ-MORQUERA, 2002). Modificações na estrutura cíclica dos grupos terminais e a introdução de funções oxigenadas são responsáveis por originar diferentes carotenoides. Tais grupos

funcionais conferem assim cores características além de propriedade antioxidante a esses compostos (RAO & RAO, 2007). Em geral, os carotenoides podem ser classificados em dois grandes grupos: os carotenos, formados por hidrocarbonetos e as xantofilas, que contêm funções oxigenadas (MÍNGUEZ-MORQUERA, 2002). A principal função dos carotenoides é a atividade pró-vitamina A, porém são também conhecidos por exercerem outras funções tais como antioxidante, antiúlceras, anticarcinogênica e moduladores do sistema imunológico, atuando também na diferenciação e comunicação celular (BENDICH & OLSON, 1989). Além disso, conferem coloração e cheiro peculiar a diversos produtos, sendo essas características um excelente indicador de qualidade responsável pela atração de muitos consumidores (RAO & RAO, 2007).

Nos últimos 70 anos, diversos estudos tem mostrado que os pigmentos carotenóidicos presentes em frutas, vegetais e produtos de origem animal como o ovo, são a principal fonte de vitamina A para a população, especialmente nos países em desenvolvimento, onde a deficiência de vitamina é um problema de saúde pública (MÍNGUEZ-MORQUERA, 2002). O ovo é uma excelente fonte dos carotenoides luteína e zeaxantina (MÍNGUEZ-MOSQUEIRA et al., 2002; HUOPALAHTI, 2007; RAO & RAO, 2007; RUTH et al., 2011; BRULC, et al., 2013), embora tenha sido também relatada a presença de β -caroteno e cantaxantina (MÍNGUEZ-MOSQUEIRA et al., 2002; RUTH et al., 2011).

Os carotenoides são, assim, compostos de grande importância dietética, não só como precursores de vitamina A, mas também como moléculas que fazem parte de proteção da célula e atração do consumidor, pois conferem cor aos alimentos, que é a primeira característica perceptível de consumo de um alimento, conferindo expectativas de qualidade e sabor. Em consequência, o conteúdo e a composição de carotenoides são importantes fatores na avaliação nutricional de frutas, verduras e alimentos em geral (MÍNGUEZ-MOSQUEIRA et al., 2002). Apesar do reconhecimento do papel benéfico dos carotenoides na saúde humana, os mesmos não são considerados como nutrientes essenciais. Com isso, não tem-se um valor para ingestão dietética dos mesmos (RAO & RAO, 2007).

Para que um carotenoide possua atividade pró-vitamina A, este deve apresentar pelo menos um anel- β em sua estrutura química (OLSON, 1993). O β -caroteno é o principal carotenoide com atividade pró-vitamina A (MÍNGUEZ-MORQUERA, 2002). A conversão em retinol se dá através da ação da enzima β -

caroteno-15, 15'-dioxigenase na mucosa intestinal, que atua principalmente sobre o β -caroteno, gerando duas moléculas de retinal, subsequentemente reduzidas à retinol (vitamina A). Este é então esterificado a uma longa cadeia de ácidos graxos, transportado e armazenado no fígado (MÍNGUEZ-MOSQUEIRA et al., 2002). Ensaio *in vitro* realizados pela FAO/WHO em 1967 estabeleceram que somente metade do β -caroteno é convertido em retinol e apenas $\frac{1}{3}$ dos carotenoides é absorvido no intestino. Sendo assim, apenas $\frac{1}{6}$ do β -caroteno ingerido é metabolicamente disponível como vitamina A (MÍNGUEZ-MOSQUEIRA et al., 2002). Após a ingestão e absorção parcial, os carotenoides são depositados em diversos tecidos, estando a maior concentração, no plasma sanguíneo, sempre associados a lipoproteínas, principalmente a lipoproteína de baixa densidade (LDL) e muito baixa densidade (VLDL) (LUO, et al., 2009). Com isso Bianchi & Antunes (1999) sugerem que deve haver um consumo mínimo de gordura para aumentar a absorção e o transporte desses compostos. O consumo elevado de fibras, por exemplo, leva a uma diminuição da absorção de gorduras e conseqüentemente de outras substâncias lipossolúveis, tais como os carotenoides.

Para os animais, os carotenoides são incorporados através da dieta e armazenados em diferentes tecidos (MÍNGUEZ-MOSQUEIRA et al., 2002). O sistema digestivo das aves é tão complexo quanto o de outros animais, apresentando pequenas diferenças. Ao invés de boca as aves são dotadas de bico, possuem papo no esôfago e um estômago muscular, a moela. A absorção de nutrientes ocorre no intestino, os quais podem ser transportados para o fígado, onde os componentes da gema se formam sob influência do estrogênio. Posteriormente, os carotenoides são transportados para o ovário e depositados nos folículos em desenvolvimento (SOUZA-SOARES & SIEWERDT, 2005). A gema de ovo tem sua cor amarela graças principalmente às xantofilas (luteína e zeaxantina) e outros carotenoides (MÍNGUEZ-MOSQUEIRA et al., 2002). Segundo Huopalahti (2007), o grupo dos carotenos são os principais carotenoides encontrado no sangue das galinhas alimentadas com milho e alfafa. Entretanto, após a ingestão desses alimentos pela ave, os carotenos são em grande parte oxidados para formar as xantofilas. Na produção de ovos, as fontes de carotenoides na dieta podem ser naturais, como por exemplo, pelo consumo de milho ou folhas verdes e ou sintéticos, como por exemplo, incorporação de cantaxantina à dieta (GARCIA et al., 2002).

A vitamina A existe em duas formas principais, *all-trans*-ácidos retinoicos (ATRA) e 9-*cis*-ácido retinoico (9-*cis*-RA), e juntamente com o retinaldeído e os retinil ésteres, compõem a classe dos retinoides, comumente encontrados no fígado, gema de ovo, derivados lácteos e triglicerídeos de peixe (SANTOS, 2012). O fígado é o principal local de armazenamento de vitamina A, em condições nutricionais normais, podendo ser oxidada ou transportada para outros órgãos do corpo humano. A vitamina A é essencial para o crescimento e o desenvolvimento dos seres humanos, tendo um importante papel na diferenciação tecidual e na manutenção da visão e das células das mucosas, sendo associada à prevenção de desenvolvimento de tumores da bexiga, mama, estômago e pele (BIANCHI & ANTUNES, 1999). A ausência de vitamina A na dieta tem também sido associada a problemas no desenvolvimento embrionário, no sistema imunológico, função cerebral, visão entre outros (PINO-LAGOS et al., 2008).

A vitamina E é um componente dos óleos vegetais encontrada na natureza em quatro formas diferentes α , β , γ e δ -tocoferol, sendo α -tocoferol a forma mais amplamente distribuída em tecidos e no plasma de animais (BIANCHI & ANTUNES, 1999). Frutas e vegetais são consideradas fontes ricas de vitamina E. Entretanto, não são as únicas fontes da dieta, podendo ser também encontrado em nozes, sementes, cereais, ovos e margarinas. De maneira geral, são capazes de interromper a produção de radicais livres no metabolismo de lipídeos, atuando como antioxidantes (MÍNGUEZ-MOSQUEIRA et al., 2002). Dessa forma, a vitamina E tem sido associada a tratamentos de uma série de manifestações cutâneas, incluindo melasmas (manchas escuras na pele), síndrome de unhas amarelas, dermatites atópicas e controle de cicatrização, devido ao desempenho importante na desagregação de colágeno da pele (SANTOS, 2012). Além de impedir ou minimizar os danos provocados por radicais livres associados com doenças específicas, incluindo câncer, artrite, catarata e o envelhecimento (BIANCHI & ANTUNES, 1999; ZIMMERMANN & KIRSTEN, 2008).

A vitamina E é encontrada em vários tecidos do organismo e sua deficiência pode ocasionar vários problemas para a saúde, incluindo alterações reprodutivas, aumento de susceptibilidade a infecções, problemas produtivos e distrofia muscular nutricional (RADOSTITS et al., 2002). Os danos oxidativos podem ser inibidos pela ação antioxidante dessa vitamina, juntamente com a glutatona, a vitamina C e os carotenoides, constituindo um dos principais mecanismos da defesa endógena do

organismo (RILEY, 1994). Vitamina E combinada com selênio (Se) atuam como protetores das membranas celulares contra o estresse oxidativo. Enquanto o Se é cofator da enzima antioxidante glutathione peroxidase, responsável pela neutralização dos efeitos tóxicos do peróxido de hidrogênio no citosol, a vitamina E atua na prevenção da lipoperoxidação das membranas biológicas (RADOSTITS et al., 2002).

Muitos produtores rurais recorrem à adição de compostos carotenóidicos na dieta dos animais para assim incorporá-los em seus produtos finais. Na produção de aves, alfafa e milho, são usados como fonte de luteína e zeaxantina, respectivamente, que são incorporados para a coloração da pele, e em particular, da gema do ovo (MÍNGUEZ-MOSQUEIRA et al., 2002; BRULC et al., 2013).

2.4 SISTEMAS DE PRODUÇÃO DE OVOS

Atualmente o sistema convencional de criação de galinhas é o mais difundido por apresentar altos índices de produção. No entanto, mesmo que estas condições proporcionem maiores ganhos econômicos, manejos como debicagem, muda forçada, alta densidade populacional, entre outros, afetam o bem-estar das aves (PASIAN & GAMEIRO, 2007). As aves são alojadas em baterias de gaiolas com densidade de 13 aves/m², nas quais a movimentação é mínima, sendo privadas de manifestarem seus comportamentos naturais (TAUSON, 2005). Lana (2000) cita como vantagens deste tipo de criação, a produção de ovos limpos, controle do consumo bem como de nutrientes da ração, melhor aproveitamento das instalações e a facilidade de vacinação dos animais. Já como desvantagens, a autora destaca o elevado custo inicial de produção, problemas com parasitas, dificuldade no tratamento de doenças e a falta de liberdade das aves, fazendo com que o estresse possa acarretar em atos como o canibalismo.

Por outro lado, as aves alojadas em gaiolas convencionais têm sua capacidade de movimentação bastante limitada fato que favorece a manifestação de problemas metabólicos, pois os ossos desses animais se tornam mais frágeis e susceptíveis a fraturas, fadiga de gaiola e osteoporose. Ocorrem também problemas com o empenamento, devido atrito do corpo da ave com o piso da gaiola o qual é feito com arame, e ainda restrição da manifestação do comportamento natural que infringe umas das cinco liberdades avaliadas no bem-estar que é a liberdade de comportamento (TAUSON, 2005).

Neste sistema, as aves confinadas em grandes galpões, as rações contém antibióticos que são também utilizados para promover o maior crescimento das aves, e aditivos químicos são introduzidos para endurecer a casca dos ovos e aumentar a coloração da gema (AZEVEDO, 2003). A alimentação das aves é comercial, composta basicamente por milho e soja oriundos de sistemas convencionais de produção, sem distinção de uso de transgênicos, além do uso de antibióticos promotores de crescimento, os quais podem contribuir para o aparecimento de microrganismos resistentes (DUARTE, 2011).

Existem diversas doenças que acometem a galinha de postura, sendo as mais comuns as de origem bacteriana, como *Salmonella* e *Colibacilose*. Embora também ocorram doenças causadas por vírus e fungos. Devido a alta densidade nesse sistema de criação, a disseminação pelo plantel pode ocorrer rapidamente, dificultando o manejo necessário ao tratamento. Além disso, em decorrência de dificuldades de mão de obra, funcionários que tem contato com aves doentes também manejam aves saudáveis, realizando procedimentos de rotina diária, contribuindo para a disseminação de doenças entre os lotes (ABREU, 2014).

As linhagens mais utilizadas na postura comercial são Hyline, Isa Badcock, Lohmann, entre outras. Para a seleção destas aves, são consideradas características como produção no ciclo de postura, taxa de produção diária, com baixos índices de conversão alimentar e mortalidade (LANA, 2000).

Em contraponto ao sistema convencional, é crescente o interesse da população por alimentos produzidos por sistemas alternativos. Dentre esses, o sistema caipira, ou semi-extensivo, é o mais difundido. Sua produção é justificada pela subsistência das famílias que utilizam a comercialização dos ovos como fonte de renda adicional (CIOCCA, et al., 1995). No Brasil, o Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento dispõem de um Ofício Circular / DISPOA nº 60/99 de 04 de novembro de 1999 e ofício circular DOI/DIPOA nº 012/2000 que define normas para o registro de ovos oriundos desse sistema.

As galinhas poedeiras deverão ser alimentadas com dietas exclusivamente de origem vegetal, sendo proibida a colocação de pigmentos sintéticos na ração; O sistema de criação deverá ser o mesmo adotado para as galinhas criadas em sistema extensivos, livres ao pastoreio, recomenda-se 3 m² de pasto por ave; O local de postura, não necessita ser pré-estabelecido, mas recomenda-se que sejam construídos locais cobertos onde previamente estarão fixados os locais de postura, de fácil acesso denominados "Ninhos", facultando-se a iluminação artificial; Deverá ser assegurado ao produto garantias da sua obtenção nos aspectos

referentes a higiene e sanidade, levando em conta como referência o número de coleta de ovos no mínimo de 5 coletas diárias e a guarda dos mesmos em sua sala de ovos apropriada e com controle sanitário; É vedada a reutilização de embalagens ou bandejas para o produto; É indispensável o relacionamento das granjas produtoras junto ao Serviço de Inspeção Federal com a apresentação de toda a documentação inerente ao processo (DISPOA 60/99 de 04/11/99).

Neste caso, a linhagem da galinha, na maioria das vezes, não é definida, embora existam linhagens específicas para esse tipo de criação, como Isa Brow, EMBRAPA 051, entre outras (SANTOS, 2009). A alimentação pode ser variada, além da ração, pode-se oferecer ao animal alimentos verdes tais como legumes e frutas (FERREIRA, [200-]). Além disso, alguns produtores incluem na alimentação das aves, gramíneas e/ou leguminosas em áreas de pastagens anexas as instalações (STADELMAN & COTTERILL, 1986). Santos (2009) cita alguns tipos de gramíneas e/ou leguminosas amplamente utilizados para o pastoreio dos animais por resistirem ao pisoteio, apresentando bom índice de rebrote. Segundo aquele autor, tifton (*Cynodon nlemfuensis*), braquiária (*Brachiaria decumbens*), coast-cross (*Cynodon dactylon*), entre outros, dependendo da região, podem ser utilizados como forrageiras para esses animais. É importante destacar que a criação de galinhas caipira favorece o bem-estar animal, pois os animais têm a possibilidade de expressarem comportamentos naturais, como banho de areia, empoleirar, ciscar e procurar ninho (SANTOS, 2009).

Outro sistema de produção sustentável que começa a aparecer no mercado Brasileiro é o orgânico. Este modelo visa à produtividade sem agredir o meio ambiente, buscando a segurança e a rentabilidade para o produtor. Em particular, na produção de ovos orgânicos, há uma maior atenção com a alimentação dos animais, nas instalações, no manejo humanitário, na escolha de animais, na sanidade e até nos cuidados higiênico-sanitários durante todo o processamento do produto quando comparado ao sistema convencional (SOARES, 2012). O sistema orgânico deve estar de acordo com a legislação vigente que regulamenta a produção de alimentos orgânicos através da IN 46 (MAPA, 2011). A IN 46 de 6 de outubro de 2011 estabelece normas para a alimentação fornecida aos animais que deve ser produzida na própria unidade ou ser oriunda de outra, devendo ser oriunda de manejo orgânico. Não é permitido o manejo de debicagem, muda forçada, devendo-se ainda respeitar a densidade máxima de 6 aves/m², bem como um mínimo de 8 horas por dia no escuro. O tratamento de doenças deve ser preferencialmente por

fitoterápicos e homeopáticos. Caso haja necessidade de tratamento com substâncias químicas sintéticas, fica vedada a sua comercialização como produtos orgânicos.

Ainda segundo a IN 46/11, no manejo orgânico, as aves devem dispor de piquetes para o pastoreio, sendo necessária uma área de 3 m²/ave em sistema extensivo ou 1 m²/ave em sistema de piquete rotacionado. O uso de pastagem para a alimentação da galinha é comum em sistema orgânico, dando-se preferência para as gramíneas e/ou leguminosas mais macias como tifton (*Cinodon nlemfuensis*), coast-cross (*Cynodon dactylon*) e amendoim forrageiro (*Arachis pintoï*). Para que ocorra o melhor aproveitamento do pasto, recomenda-se a rotação de piquetes e plantio de árvores para o sombreamento dos animais (VIEIRA, 2012). No entanto, como a pastagem não atende as exigências nutricionais dos animais, é importante a complementação da alimentação através do fornecimento de grãos comumente utilizados na ração, tubérculos, sementes, frutas, raízes, caules e restos de hortaliças (VIEIRA, 2012).

Segundo Nardone e Valfrè (1999), o sistema de criação bem como a nutrição das galinhas poedeiras podem influenciar significativamente nas características sensoriais e na composição química dos ovos. Ovos provenientes de sistemas que utilizam pastagens para a alimentação das galinhas, por exemplo, apresentam maiores teores de pigmentos carotenóidicos na gema (STADELMAN & COTTERILL, 1986). No entanto, além da dieta, outros fatores podem influenciar na deposição desses pigmentos na gema do ovo. A absorção dos carotenoides, por exemplo, pode ser afetada pela raça da galinha, pelo teor de gordura na alimentação, vitaminas na alimentação e sexo do animal (RUTH et al., 2011).

Em 2011, a área mundial de produção orgânica chegou a 37,2 milhões de ha, sendo produzida em 162 países com mais de 1,8 milhões de produtores (FAO, 2013). A Oceania se destacou em área de produção, com aproximadamente 13 milhões de ha, seguido do continente Americano com 12 milhões de ha e da Europa com aproximadamente 8 milhões de ha (FAO, 2013). O Brasil, possui uma área de produção de aproximadamente 2,0 milhões de ha (FAO, 2013).

No início dos anos 60, após os danos ambientais causados pelo modelo convencional da agricultura, surgiu o conceito de agricultura alternativa, onde está inserida a agricultura orgânica (MADAIL et al., [200-]). O início do processo da certificação de produtos ocorreu na França devido a exigências do mercado e por

imposição governamental que estabeleceu critérios para a comercialização dos mesmos, tais como observações, registros, análises e pareceres (BLANC & KLEDAL, 2012).

No Brasil, o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento publicou a IN 007, de 17 de maio de 1999 visando o estabelecimento de normas para a produção de produtos orgânicos animais e vegetais.

Considera-se sistema orgânico de produção agropecuária e industrial, todo aquele em que se adotam tecnologias que otimizem o uso de recursos naturais e sócio-econômicos, respeitando a integridade cultural e tendo por objetivo a auto-sustentação no tempo e no espaço, a maximização dos benefícios sociais, a minimização da dependência de energias não renováveis e a eliminação do emprego de agrotóxicos e outros insumos artificiais tóxicos, organismos geneticamente modificados-OGM/transgênicos ou radiações ionizantes em qualquer fase do processo de produção, armazenamento e de consumo, e entre os mesmos, privilegiando a preservação da saúde ambiental e humana (MAPA, 1999).

Ainda segundo a IN 007/99, o sistema deve respeitar o bem estar animal; manter um nível higiênico em todo o processo criatório, compatível com as normas de saúde pública vigentes; adotar técnicas sanitárias preventivas sem o emprego de produtos proibidos; contemplar uma alimentação nutritiva, sadia e farta, incluindo água sem a presença de aditivos químicos e/ou estimulantes; dispor de instalações higiênicas, funcionais e confortáveis; praticar um manejo capaz de maximizar uma produção de alta qualidade biológica e econômica; e utilizar raças, cruzamentos e o melhoramento genético (não organismos geneticamente modificados/transgênicos), compatíveis tanto com as condições ambientais e com estímulo à biodiversidade.

No que se refere a produção animal, ainda segundo a IN 007/99, espera-se a maximização da captação e uso de energia solar; auto-suficiência alimentar orgânica; diminuição da dependência de recursos externos no processo produtivo; associação de espécies vegetais e animais; criação a campo; abrigos naturais com árvores; quebra-ventos; conservação das pastagens com silagem ou fenação (desde que de origem orgânica); mineralização com sal marinho; suplementos vitamínicos a base de óleo de fígado de peixe e levedura; emprego da homeopatia, fitoterapia e acupuntura.

Nas últimas décadas, diversos produtos alternativos tem surgido, como frangos caipira e orgânico e ovos provenientes desses sistemas, sendo opções para consumidores preocupados com a saúde, segurança alimentar, meio ambiente e produção sustentável (CARBONE, et al., [200-]). Neste sentido, é importante que o

mercado consiga entregar regularmente os produtos em maior escala, a preços cada vez mais acessíveis. No Brasil, verificou-se que os fatores decisivos para a escolha da população em consumir produtos mais naturais eram a preocupação com o meio ambiente e uma qualidade de vida saudável (~80%) (LOMBARDI et al., 2003). Alves (2012) também destaca que a demanda pelo consumo dos produtos orgânicos se dá em primeiro lugar pela preocupação com a saúde, e que não sejam produzidos utilizando-se transgênicos.

Mizumoto (2008) relata que alimentos orgânicos são mais saborosos, devido aos ácidos orgânicos não nitrogenados, que são substâncias determinantes do sabor, e que são reduzidas pelo efeito de fertilizantes à base de nitrogênio. Eles também oferecem sabor e coloração mais intenso nas verduras e frutas, além de tecidos e cascas mais firmes em ovos e carnes.

A aplicação de boas práticas de produção e em especial as que visam à preservação do meio ambiente, bem como o bem-estar animal e dos trabalhadores, devem ser consideradas para o progresso da atividade avícola e para a inserção definitiva do setor no mercado mundial de ovos e produtos a base de ovos (UBA, 2008). O bem estar animal parte do princípio de que os animais são seres sencientes e devem ser tratados de maneira que não sofram desnecessariamente. Isso inclui os animais que estão sob cuidados humanos, desde o manejo nas granjas e fazendas, até o transporte ou a hora do abate (SILVA & MIRANDA, 2009). Segundo Alves (2006), questões relacionadas ao bem-estar dos animais em condições intensivas, além da utilização dos recursos naturais, assumirão um papel cada vez mais importante no contexto da produção mundial. Para a Farm Animal Welfare Council (FAWC, 2014), uma galinha satisfeita é uma ave livre para se alimentar, se exercitar, se alisar com o bico, se arrastar no chão, se refugiar no poleiro sempre que se sentir vulnerável, assim como para fazer um ninho no qual vai pôr seus ovos. Na produção intensiva, muitas vezes, não se permite que as aves tenham acesso a essas liberdades. Desse modo, tem-se buscado nos sistemas de produção alternativos o bem estar dos animais e produtos mais saudáveis para a alimentação humana (SILVA & MIRANDA, 2009).

No Brasil são raros os estudos sobre a influência dos sistemas de produção sobre a coloração das gemas ou o conteúdo de vitaminas (BISCARO & CANNIATTI-BRAZACA, 2006). Dessa forma, considerando as diferenças entre os sistemas de produção, incluindo ciclo de produção, raça, alimentação, condições de higiene e

uso de antibióticos, o presente trabalho teve como objetivo comparar o conteúdo de carotenoides, vitaminas A e E na gema de ovos provenientes dos sistemas convencional, caipira e orgânico).

3.OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Comparar a qualidade da gema de ovos oriundos de sistema de criação caipira, convencional ou orgânico certificado, comercializados na região da Grande Florianópolis, com ênfase no perfil de compostos bioativos.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar o conteúdo de carotenoides totais por espectrofotometria UV-Vis nas gemas dos ovos em estudo;

- Comparar os perfis espectrais UV-Visível (400-500 nm) dos extratos carotenóidicos via Análise dos Componentes Principais (PCA).

- Determinar o perfil de carotenoides das gemas de ovos produzidos em sistemas convencional, orgânico e caipira por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE);

- Determinar o conteúdo das vitaminas lipossolúveis, A e E, nas gemas de ovos comercializados como caipira, convencional e orgânico na região da Grande Florianópolis por CLAE.

4. METODOLOGIA

4.1 AMOSTRAGEM

Foram adquiridos ovos de dois lotes de três marcas caipiras e convencionais e de duas marcas orgânicas, com certificação, comercializados na região da Grande Florianópolis. Esses foram adquiridos em redes de supermercados e feiras da região e levadas ao laboratório para posterior análise. De acordo com o sistema de produção, as marcas constituíram os tratamentos: (a) caipira (CAI) (n=6), (b) convencional (CON) (n=6) e (c) orgânico (ORG) (n=4). Três ovos de cada lote foram selecionados aleatoriamente para realização das extrações, totalizando 18 e 12 repetições para os tratamentos CAI/CON e ORG, respectivamente. As gemas das três unidades de cada um dos lotes foram homogeneizadas e armazenadas a -80°C. O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado em sistema fatorial de 3x3x2.

4.2 PREPARAÇÃO DAS AMOSTRAS

Os carotenoides e as vitaminas lipossolúveis foram extraídos utilizando a metodologia descrita por Ruth et al. (2011). Para isso, adicionou-se 3,5 mL de NaCl (5%) à 2,5 g de gema (peso fresco), seguido da adição de 2,5 mL de etanol e 2,5 mL de hexano. As amostras foram homogeneizadas e centrifugadas por 10 minutos a 3.600 rpm. O sobrenadante foi coletado e o pellet re-extraído. Os sobrenadantes foram reunidos e saponificados pela adição de 1 mL de KOH (10% em metanol) por 1 hora. Após esse período, as amostras foram lavadas com 10 mL de água destilada (3x) e as frações organosolventes combinadas e centrifugadas por 5 minutos a 3.000 rpm. O sobrenadante foi coletado e submetido a varredura em espectrofotometria UV-Visível (200-700 nm) (Bel SPECTRO LGS53). A concentração de carotenoides foi calculada utilizando-se a fórmula de Lambert-Beer ($\epsilon=2589 \text{ L}\cdot\text{cm}^{-1}\cdot\text{mol}^{-1}$ para luteína em hexano). Os perfis UV-Vis entre 400-500 nm foram submetidos à análise quimiométrica, através da Análise dos Componentes Principais (PCA), utilizando matrizes de correlação, no programa Unscrambler (9.1).

4.3 DETERMINAÇÃO DO PERFIL DE CAROTENOIDES E VITAMINAS LIPOSSOLÚVEIS

Os extratos bruto foram inicialmente submetidos a um procedimento de clean-up, visando a remoção de gordura. Para isso, os mesmos foram homogeneizados com a adição de 15 mL da solução metanol:acetonitrila:isopropanol (54:44:2 v/v/v), seguido de repouso por 3 horas, a temperatura ambiente e sob o abrigo da luz. Em seguida, foram mantidos a 4°C, overnight. Os sobrenadantes foram coletados e analisados em cromatógrafo líquido (Thermo Fisher Scientific, DionexUltiMate® 3000) equipado com coluna C16 de fase reversa (Acclaim® Polar Advantage 120, 3 µm C16, 4,6 x 150 mm, Thermo Fisher Scientific) e pré-coluna (Acclaim® Polar Advantage, 5µm, 4,6x10mm), operando em 285, 325 e 450 nm para vitamina E, vitamina A e carotenoides, respectivamente. A eluição consistiu de água (fase móvel A) e metanol:acetonitrila:isopropanol (54:44:2 v/v/v, fase móvel B). Um gradiente binário de A:B de 5:95 a 0:100 (8 min), com tempo de corrida de 20 min e um fluxo de 1,25 mL/min foram utilizados à 35°C. A identificação dos compostos de interesse (luteína, zeaxantina, β-caroteno, vitamina A e vitamina E) teve por base os tempos de retenção de compostos padrões (Sigma-Aldrich), obtidos sob as mesmas condições experimentais. Para a quantificação dos compostos foram utilizadas curva padrão de β-caroteno (10 à 1000 µg/mL; $r^2=0,9705$), vitamina A (10 à 100 µg/mL; $r^2=0,9545$) e vitamina E (10 à 100 µg/mL; $r^2=0,9994$). Desse modo os resultados foram expressos em µg.g⁻¹ de equivalente de β-caroteno, α-tocoferol e retinol. As análises foram realizadas em triplicatas.

4.4 ANALISE ESTATISTICA

Os conteúdos médios dos compostos de interesse foram comparados utilizando-se a análise de variância (ANOVA), seguido do teste de Tukey (5%) no programa SAS (versão 9.0). As varreduras dos extratos bruto também foram submetidas à análise quimiométrica, através da Análise de Componentes Principais (PCA), utilizando matrizes de correlação, utilizando o programa Unscrambler (9.1).

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 COMPARAÇÃO DOS PERFIS ESPECTRAIS UV-VISÍVEL DOS EXTRATOS BRUTO DA GEMA VIA ANÁLISE DOS COMPONENTES PRINCIPAIS (PCA)

Os perfis espectrais UV-Visível (400-500 nm) dos extratos hexânicos obtidos das gemas estão mostrados na Figura 1. A análise dos espectros revelou perfis similares entre as amostras, tendo sido encontrado os maiores valores de absorbância na região entre 400-500 nm, característicos para compostos carotenóidicos. As pequenas discrepâncias entre os perfis, embora existam, são difíceis de serem identificadas a olho nu, justificando o emprego da análise multivariada dos dados. O emprego dessas ferramentas, em especial a análise de PCA, tem sido utilizado, atualmente para distinção dos perfis espectrais UV-Visível, de infravermelho ou de ressonância magnética nuclear de matrizes complexas, como as do presente estudo (KUHNNEN et al., 2010a; KUHNNEN et al., 2010b; MARASCHIN et al., 2012; KUHNNEN et al., 2014). O PCA permite a identificação, na estrutura dos dados, de padrões de similaridade, representados pela localização próxima aos eixos componentes principais (LEARDI, 2003). Diante dessa possibilidade, procedeu-se com a análise do PCA dos perfis espectrais UV-Visível visando detectar possíveis padrões de agrupamento indicativos de diferenças de composição carotenóidica, considerando o potencial desse marcador químico para distinção dos ovos em função do sistema de produção.

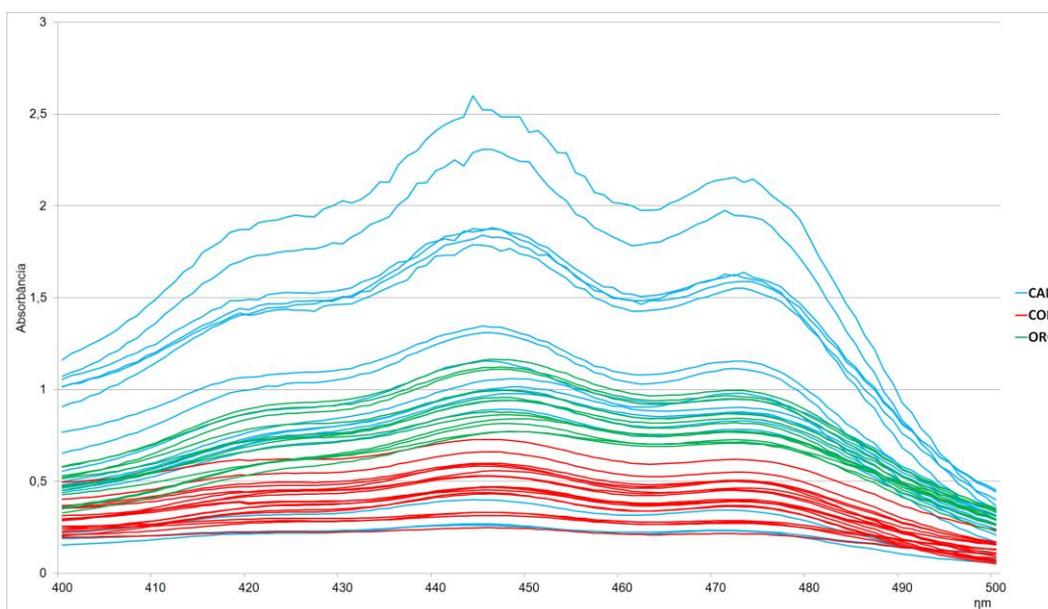


Figura 1- Perfil espectral UV-Visível (400-500 nm) dos extratos hexânicos obtidos da gema dos ovos produzidos nos sistemas convencional, orgânico e caipira.

A análise dos perfis espectrais usando PCA (PC1 e PC2) explicou em 96% a variância total dos dados, separando as amostras de acordo com o sistema de produção conforme mostrado na Figura 2. As amostras ORG localizaram-se predominantemente em PC1+ e PC2+. Já as amostras CON separaram-se das demais em PC1+ e PC2-, enquanto metade das amostras CAI foram discriminadas em PC1- e PC2-, as demais agruparam-se com os tratamentos ORG ou CON. Tais resultados sugerem a distinção da composição carotenóidica dos ovos entre os tratamentos, os quais foram evidenciados pela análise usando CLAE.

No presente trabalho, sugere-se que a distinção dos extratos da gema produzidos pelos tratamentos CAI, CON e ORG, resulte da influência da composição carotenóidica oriunda das pastagens.

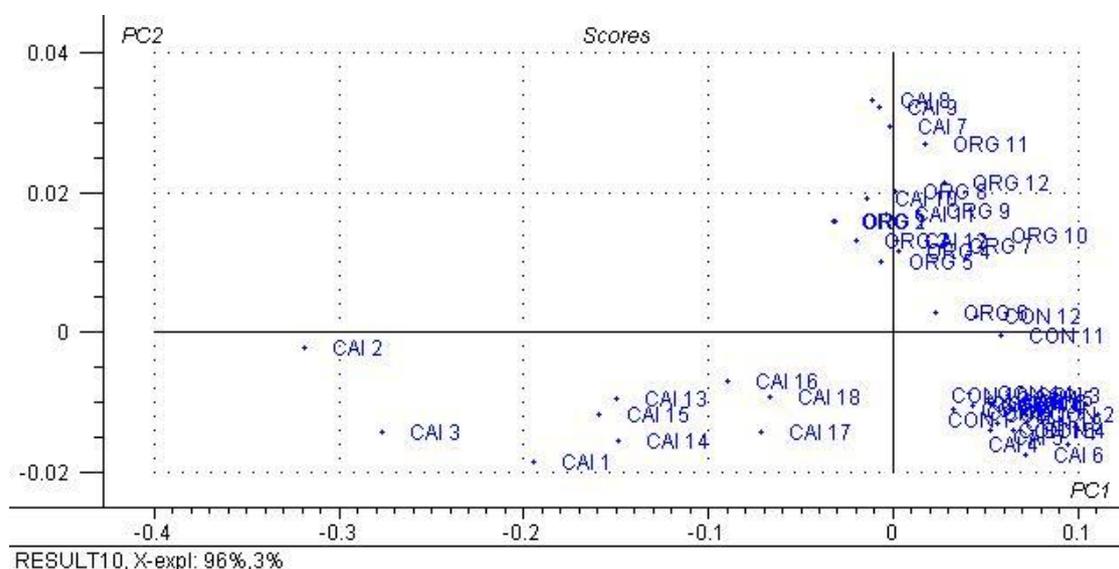


Figura 2: Distribuição fatorial de PC1 e PC2 dos perfis espectrais UV-Visível (400-500 nm) dos extratos hexânicos obtidos das gemas de ovos de sistemas de criação caipira (CAI), convencional (CON) e orgânico (ORG).

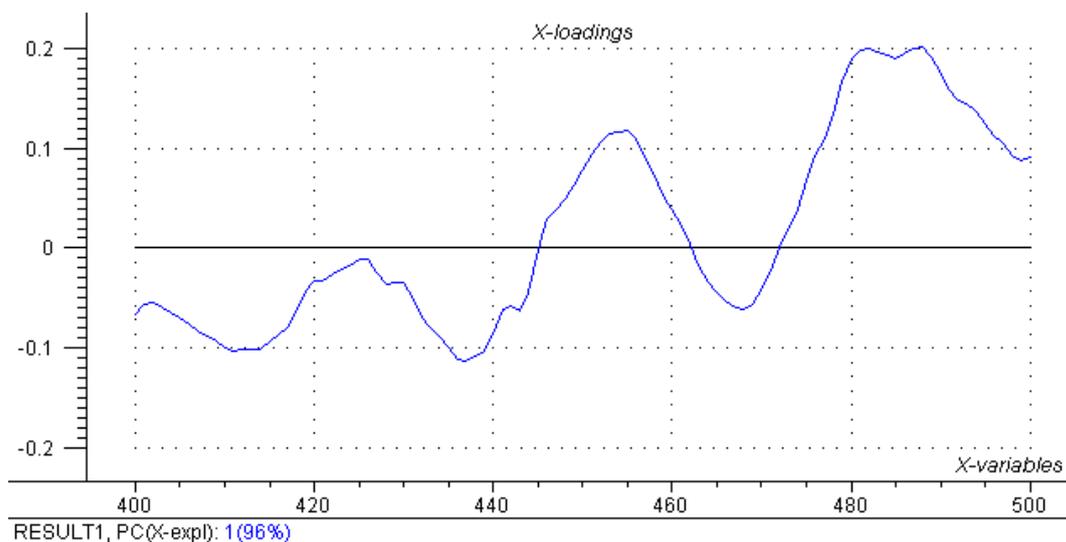


Figura 3: Loading dos perfis espectrais UV-Visível (400-500 nm) dos extratos hexânicos obtidos das gemas de ovos de sistemas de criação caipira (CAI), convencional (CON) e orgânico (ORG).

A Figura 3 que mostra os resultados de *loadings* da análise de PCA dos perfis espectrais UV-Vis (400-500 nm), indicou que as amostras CAI foram discriminadas em PC1- pelos comprimentos de onda entre 400 a 445 nm e as demais em PC1+ por comprimentos de onda acima de 445 nm.

5.2 CONTEÚDO DE CAROTENOIDES, VITAMINAS A e E

Os conteúdos de carotenoides totais, calculados através da fórmula de Lambert-Beer, encontrados nas gemas dos ovos provenientes de diferentes sistemas de criação, estão mostrados na Tabela 2. Os conteúdos variaram de 89,14 a 668,98 $\mu\text{g.g}^{-1}$ (peso seco), tendo sido o maior valor encontrado nos ovos de uma das amostras do tratamento CAI e o menor no tratamento CON. Os ovos do sistema CAI mostraram maior variação no conteúdo de carotenoides (92,85 a 668,98 $\mu\text{g.g}^{-1}$), seguido de CON (89,14 a 198,50 $\mu\text{g.g}^{-1}$) e ORG (234,67 a 337,60 $\mu\text{g.g}^{-1}$). Os ovos do tratamento CAI tinham maior conteúdo de carotenoides comparado ao CON, enquanto o conteúdo nos ovos do sistema ORG não diferiu entre os tratamentos ($p < 0,05$). É importante notar que os conteúdos não diferiram entre as marcas de um mesmo tratamento ($p > 0,05$).

A análise dos extratos carotenóidicos via CLAE, por sua vez, evidenciou a presença de 10 carotenoides, tendo sido possível a identificação dos constituintes majoritários, as xantofilas luteína e zeaxantina. Cabe destacar que no presente

estudo, o carotenoide β -caroteno não foi detectado nas amostras analisadas. Os conteúdos de luteína e zeaxantina variaram de 146,46 a 2128,35 e 80,44 a 1092,78 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ (peso seco), respectivamente. Para luteína, o maior valor foi encontrado nos ovos de um dos lotes do tratamento CAI e o menor no tratamento CON. Já para zeaxantina, os valores mínimos e máximos foram encontrados nas amostras do tratamento CAI. O predomínio de luteína e zeaxantina em relação aos outros pigmentos estão de acordo com os resultados encontrados por Ruth et al. (2011) e Schlatterer & Breithaupt (2006). De maneira similar, Hammershoj et al. (2010), ao avaliar o conteúdo de carotenoides nas gemas de ovos de galinhas suplementadas com diferentes variedades de cenoura na Dinamarca, verificaram ser a luteína o carotenoide majoritário (65% do total de carotenoides). No entanto, os autores encontraram β -caroteno, o qual variou segundo o tratamento.

Os conteúdos de luteína e zeaxantina encontrados nas gemas dos ovos obtidos de diferentes sistemas de criação estão mostrados na Tabela 2. De maneira similar ao conteúdo de carotenoides totais, os conteúdos de luteína e zeaxantina foram superiores nos ovos do sistema CAI comparado aos ovos convencionais ($p < 0,05$). Os ovos orgânicos, por sua vez, não diferiram dos caipiras e convencionais ($p > 0,05$). Esses resultados diferem daqueles encontrados por Ruth et al. (2011) ao comparar os conteúdos de carotenoides nas gema de ovos produzidos em fazendas orgânicas, caipiras e convencionais na Holanda e Nova Zelândia. Neste caso, os maiores conteúdos de luteína e zeaxantina foram observados nos ovos produzidos no sistema orgânico.

Tabela 2 - Conteúdo médio de carotenoides totais*, luteína** e zeaxantina** ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$, peso seco) nas gemas dos ovos dos sistemas convencional (CON), orgânico (ORG) e caipira (CAI).

SISTEMAS	Carotenoides totais	Luteína	Zeaxantina
CAI	378,54 (196,36)a	1081,99 (736,18)a	604,55 (351,31)a
CON	145,19 (37,98)b	288,73 (80,11)b	192,65 (80,10)b
ORG	308,26 (41,70) a,b	569,89 (159,83)a,b	194,70 (72,25)a,b

*Determinado via espectrofotometria UV-Vis, **Determinado por CLAE. Os valores entre parênteses representam o desvio padrão da média. Médias na mesma coluna, seguidas de letras distintas diferem entre si ($p < 0,05$).

Através do presente estudo foi possível, ainda, observar um aumento de 160% no conteúdo de carotenoides totais em ovos do sistema caipira comparados aos convencionais e 112% em ovos orgânicos comparados aos convencionais. Esses resultados diferem do resultado encontrado por Skrivan & Englmaierová (2014) que observou um aumento de 50% em ovos de galinhas alimentadas com ração com introdução sequencial a pastagem em comparação a galinhas que receberam apenas ração. É importante destacar que ao comparar os resultados encontrados nas gemas de ovos provenientes de sistemas distintos de criação em um estudo realizado na Polônia, nossos resultados apresentam conteúdos 75% superiores de luteína (HAMULKA et al., 2005). O presente estudo também revelou que ovos caipiras possuem quase quatro vezes mais luteína do que os ovos convencionais e os ovos orgânicos quase duas vezes mais luteína do que os ovos convencionais. Já no trabalho realizado por Leth et al. (2000), os ovos orgânicos da Dinamarca possuíam de duas a três vezes mais luteína do que os ovos convencionais e no Reino Unido, os ovos convencionais possuíam de duas a quatro vezes mais luteína do que nos ovos orgânicos. Neste caso, o autor relata que isso deve estar relacionado aos tipos de cereais utilizados na dieta das aves.

Cabe destacar que os valores médios determinados por UV-vis diferiram dos obtidos via CLAE, tendo a técnica colorimétrica sub-estimado as concentrações nas amostras. No entanto, as diferenças entre os tratamentos permaneceram as mesmas independentemente da técnica utilizada. De maneira geral, os resultados encontrados evidenciaram os efeitos positivos do sistema caipira sobre os teores de carotenoides nas gemas dos ovos. Já os ovos orgânicos mostraram conteúdos intermediários de carotenoides, também evidenciando a qualidade diferenciada do alimento produzido por esse sistema.

Além das xantofilas, luteína e zeaxantina, outros carotenoides foram encontrados nas amostras, os quais não puderam ser identificados comparando-os com padrões comerciais. Os conteúdos dos carotenoides não identificados, segundo a marca e o tratamento estão mostrados na Figura 4. É possível perceber um perfil de carotenoides distinto entre as amostras analisadas. Nos tratamentos ORG e CAI um número maior de carotenoides diferentes foi detectado comparado ao CON. No entanto, entre as marcas caipiras verificou-se distinção do perfil carotenóidico. Da mesma forma, o perfil encontrado diferiu entre as amostras ORG e CAI.

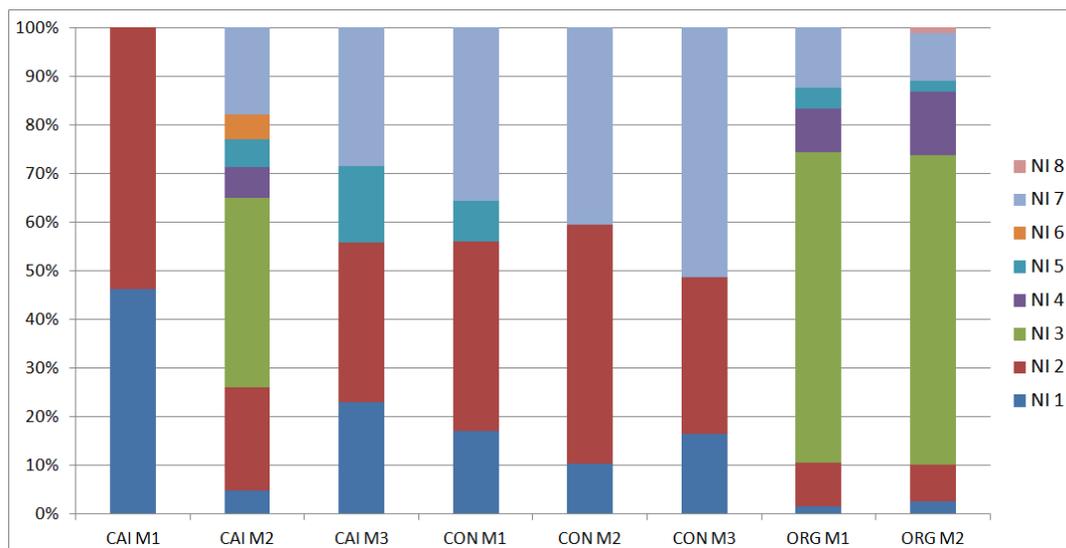


Figura 4: Distribuição de carotenoides não identificados detectados por CLAE nas gemas de ovos caipiras, convencionais e orgânicos separados por marca. NI 1 ($\lambda_{Max}=419/438/465$); NI 2 ($\lambda_{Max}=446/470$); NI 3 ($\lambda_{Max}=475$); NI 4 ($\lambda_{Max}=461/464/468$); NI 5 ($\lambda_{Max}=445/473$); NI 6 ($\lambda_{Max}=453/476$); NI 7 ($\lambda_{Max}=428/473$) e NI 8 ($\lambda_{Max}=449$).

Esses resultados explicam, em parte, a discriminação das amostras de acordo com o sistema de produção usando a análise de PCA (Figura 2), bem como o agrupamento de algumas amostras CAI com as amostras ORG ou CON. É importante notar que a possibilidade de utilizar a análise de PCA dos perfis UV-vis dos extratos hexânicos para autenticação dos ovos, segundo o sistema de produção, é de grande interesse, considerando a rapidez e o baixo custo das análises.

Os resultados encontrados no presente trabalho estão de acordo com estudos anteriores. Ruth et al. (2011), por exemplo, também encontraram dez carotenoides nas gemas de ovos de sistemas de produção distintos, na Holanda e Nova Zelândia. Assim como no presente trabalho, não foi possível a identificação de todos os carotenoides, tendo sido identificado às xantofilas luteína e zeaxantina, além de cantaxantina e β -caroteno. Dessa forma, fica evidenciado o papel dos carotenoides nos ovos como marcadores de produção a pasto, mas não do sistema de produção orgânico, que pode, muitas vezes, fazer uso de alimentos concentrados e outros suplementos em substituição as pastagens frescas desde que também sejam orgânicos.

O conteúdo de vitaminas lipossolúveis A e E nas gemas dos ovos provenientes de sistemas de criação distintos estão mostrados na Tabela 3. O

conteúdo de vitaminas lipossolúveis A e E nas gemas variaram de 7,50 a 55,03 e 6,88 a 55,58 $\mu\text{g.g}^{-1}$ (peso seco) respectivamente. Para a vitamina E, o maior valor foi encontrado em um dos lotes do tratamento CAI e o menor no tratamento CON, já para vitamina A ambos foram encontrados em lotes do tratamento CAI. Os ovos do sistema CAI mostraram maior variação nos conteúdos das vitaminas A e E (7,50 a 55,03 $\mu\text{g.g}^{-1}$ e 11,54 a 55,58 $\mu\text{g.g}^{-1}$ respectivamente) seguido de CON (15,18 a 34,92 $\mu\text{g.g}^{-1}$ e 6,88 a 22,01 $\mu\text{g.g}^{-1}$ respectivamente) e ORG (20,50 a 31,33 $\mu\text{g.g}^{-1}$ e 12,98 a 19,42 $\mu\text{g.g}^{-1}$ respectivamente). Os conteúdos também não diferiram entre marcas de um mesmo tratamento ($p>0,05$). Conteúdos maiores de vitamina E foram encontrados nos ovos caipiras comparado ao convencional. Os ovos orgânicos, novamente, mostraram conteúdos intermediários de vitamina E, não diferindo dos outros dois tratamentos. Já os conteúdos de vitamina A não diferiram entre os sistemas de criação.

Tabela 3- Conteúdos médios de vitamina A e E ($\mu\text{g.g}^{-1}$, peso seco) determinados por CLAE, nas gema dos ovos dos sistemas convencional (CON), orgânico (ORG) e caipira (CAI).

	Vitamina A	Vitamina E
CAI	34,25 (16,96) a	41,67 (15,69) a
CON	21,37 (6,58) a	12,59 (5,47) b
ORG	23,38 (4,12) a	19,49 (2,78) a,b

Os valores entre parênteses representam o desvio padrão da média. Médias na mesma coluna, seguidas de letras distintas diferem entre si ($p<0,05$).

Da mesma forma que no presente estudo, Mizumoto (2008) por sua vez, ao avaliar o teor de vitamina A de gema de ovos convencionais brancos, convencionais vermelhos, misto e orgânico na cidade de Piracicaba – SP não encontrou diferença entre eles. Resultado similar a Mizumoto foi encontrado por Skrivan & Englmaierová (2014) que não encontrou diferenças nos conteúdos das vitaminas A em ovos de galinhas com alimentação balanceada e alimentação balanceada com introdução sequencial a pastagem. Matt et al. (2009), também observou conteúdos inferiores de retinol, α -tocoferol, β -tocoferol e γ -tocoferol em ovos orgânicos quando comparados aos ovos de galinhas criados em sistema convencional na Estônia.

6. CONCLUSÕES

Nossos resultados mostraram que os conteúdos de carotenoides e vitamina E nas gemas dos ovos caipiras foram superiores ao convencional, enquanto os ovos orgânicos possuíam conteúdos intermediários. Além disso, os ovos produzidos em sistemas alternativos possuíam perfil carotenóidico com maior diversidade de compostos. Ambos resultados decorrem possivelmente das diferenças na alimentação dos animais. Enquanto no sistema CON e ORG tem-se uma dieta controlada, basicamente composta por grãos, a alimentação no sistema CAI é mais diversificada, incluindo forrageiras, folhas diversas, restos de vegetais e alguns grãos. Além disso, nossos resultados sugerem que o perfil carotenóidico possa ser usado como marcador químico para distinção do ovo de sistemas alternativos, utilizando a aplicação do PCA aos perfis UV-vis.

7. REFERÊNCIAS

ABREU, J. T. **Doenças respiratórias aviárias: Prevalência, importância econômica e diagnóstico.** XV Simpósio Brasil Sul de Avicultura. Chapecó – SC, p. 92-111, 2014.

AGUIAR, M. dos S.; ZAFFARI, S.; HÜBSCHER, G. H. **O ovo e sua contribuição na saúde humana.** Revista Saúde e ambiente / Health and Environment Journal, v. 10 n. 1, jun, 2009.

ALCÂNTARA, J. B. **Qualidade físico-química de ovos comerciais: avaliação e manutenção de qualidade.** Escola de Veterinária e Zootecnia. Universidade Federal de Goiás. Goiânia – GO, 31p., 2012.

ALVES, E. M; CUNHA, W. L. **A importância da agricultura orgânica na visão social e ecológica.** Revista F@pciência. Apucarana – PR. ISSN 1984-2333, v. 9, n. 1, p. 01-07, 2012.

ALVES, S. P. **Uso da Zootecnia de Precisão na Avaliação do Bem-Estar Bioclimático de Aves Poedeiras em Diferentes Sistemas de Criação.** Piracicaba, Tese (Doutorado em Agronomia, área de Física do Ambiente Agrícola) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz – ESALQ, USP. 128p., 2006.

ANUALPEC. **Anuário da Pecuária Brasileira.** São Paulo: FNP & Consultoria, 369p., 2012.

AZEVEDO, E. **Alimentos orgânicos – ampliando os conceitos de saúde humana, ambiental e social.** Ed. Florianópolis. Ed. Insular. 200p., 2003.

BENDICH, A. & OLSON J.A. Biological actions of carotenoids. **FASEB Journal** 3, p. 1927–1932, 1989.

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

BERTECHINI, A. G. **Mitos e verdades sobre o ovo de consumo**. Conferência APINCO. Campinas – SP, p. 19, 2003.

BIANCHI, M. L. P. & ANTUNES, L. M. G. **Radicais livres e os principais antioxidantes da dieta**. Revista de Nutrição, Campinas, v.12, n.2, p.123-130, 1999.

BISCARO, L. M.; CANNIATTI-BRAZACA, S. G. **Cor, betacaroteno e colesterol em gema de ovos obtidos de poedeiras que receberam diferentes dietas**. Ciênc. agrotec., Lavras, v. 30, n. 6, p. 1130-1134, nov./dez., 2006.

BLANC, J. & KLEDAL, P. The organic sector of Brazil: prospects and constraints of facilitating smallholder inclusion. **Journal of Rural Studies**, 28(1), 2012.

BRULC, L.; SIMONOVSKA, B.; VOVK, I.; GLAVNIK, V. Determination of egg yolk xanthophylls by isocratic high-performance liquid chromatography. **Journal of Chromatography A**, 1938 (2013) 134-141).

CARBONE, G. T.; SATO, G. S.; MOORI, R. G. **Cadeia Produtiva de frango caipira no Interior do estado de São Paulo: Uma alternativa de Microempresa de Agronegócio**. [200-]. Disponível em: [www.aval.org.br/images/stories/trabalhos_cientificos/6 .pdf](http://www.aval.org.br/images/stories/trabalhos_cientificos/6.pdf). Acesso em: Maio 2014.

CIOCCA, M. L. S.; CARDOSO, S.; FRANZOSI, R. **Criação de galinhas em sistemas semi-extensivos**. Porto Alegre (RS): Pallotti, 111p.,1995.

DOMINGUES, R. D.; DIEHL, G. N. **Mitos e verdades sobre o consumo de carne de frango e ovos**. Informativo técnico, nº 03, ano 03 – Março de 2012

DUARTE, K. F. **Avanços em nutrição de frangos de corte e poedeiras**. 2011. Disponível em:

<http://www.agrolink.com.br/colunistas/ColunaDetalhe.aspx?CodColuna=3996>.

Acesso em Maio de 2014.

FAO - Food and Agriculture Organization of the United Nations. **Perspectivas de la agricultura y del desarrollo rural en las Américas 2013: una mirada hacia América Latina y el Caribe**. Disponível em <http://www.rlc.fao.org/en/publications>. Acessado em: Abril, 2014.

FAWC. **Farm Animal Welfare Council**. Disponível em: <http://www.fawc.org.uk/>. Acesso em: Abril 2014.

FERREIRA, D. A. **Criação de Galinha caipira**. Emater – MG. [200-].

GARCIA, E. A. et al. **Efeito dos níveis de cantaxantina na dieta sobre o desempenho e qualidade dos ovos de poedeiras comerciais**. Rev. Brasileira de Ciência Avícola, v.4 / n.1, 7p., 2002.

GESSULLI, O. P. **Avicultura alternativa: sistema ecologicamente correto que busca o bem estar animal e a qualidade do produto**. Porto Feliz: OPG Ed., 218p., 1999.

GOODROW, E. F; WILSON, T. A.; HOUDE, S. C.; VISHWANATHAN, R.; SCOLLIN, P. A.; HANDELMAN, G.; NICOLSI, R. J. Consumption of one egg per day increases serum lutein and zeaxanthin concentrations in older adults without Altering Serun Lipid and Lipoprotein Cholesterol Concentrations. **The Journal of Nutrition**. July 2006.

HAMMERSHOJ, M.; KIDMOSE, U.; STEENFELDT, S. Deposition of carotenoids in egg yolk by short-term supplement of coloured carrot (*Daucus carota*) varieties as forage material for egg-laying hens. **Journal Sci Food Agric**; v.90, p.1163-1171, 2010.

HAMULKA, J.; KOCZARA, J.; GRONEK, M. Lutein content of selected polish foods and estimation of its intake. **Pol. Journal Food Nutr. Sci.** Vol 14/55, n. 2, p. 201-206, 2005.

HUOPALAHTI, R. et al. Bioactive Egg Compounds. **Editora Springer**, p. 298, 2007.

KUHNEN, S.; OGLIARI, J. B.; DIAS, P. F.; BOFFO, E. F.; CORREIA, I.; FERREIRA, A. G.; DELGADILLO, I.; MARASCHIN, M. ATR-FTIR spectroscopy and chemometric analysis applied to discrimination of landrace maize flours produced in southern Brazil. **International Journal of Food Science and Technology.** V. 45, p.1673–1681 1673 (a), 2010.

KUHNEN, S.; OGLIARI, J. B.; DIAS, P. F.; SANTOS, M. S.; FERREIRA, A. G.; BONHAM, C. C.; WOOD, K. V.; MARASCHIN, M. Metabolic Fingerprint of Brazilian Maize Landraces Silk (Stigma/Styles) Using NMR Spectroscopy and Chemometric Methods. **Journal Agric. Food Chem.** V. 58, p 2194-2200, 2010.

KUHNEN, S.; MOACYR, J. R.; MAYER, J. K.; NAVARRO, B. B.; TREVISAN, R.; HONORATO, L. A.; MARASCHIN, M.; FILHO, L. C. P. M. Phenolic content and ferric reducing-antioxidant power of cow's milk produced in different pasture-based production systems in southern Brazil. **Journal Sci Food Agric.** 2014.

LANA, G. R. Q. **Avicultura.** Ed. Rural. Recife: UFRPE, 2000.

LEARDI, R. Chemometrics in data analysis. In: **A user-friendly guide to multivariate calibration and classification.** NAES, T; ISAKSSON, T; FEARN, T; DAVIES, T. NIR Publications, West Sussex. 2003.

LETH, T.; JAKOBSEN, J.; ANDERSEN, N. L. The intake of carotenoids in Denmark. **Eur Journal Lipid Sci Techol.** V. 102, p.128-132, 2000.

LOMBARDI, M. F. S.; MOORI, R. G.; SATO, G. S. **Estudo do mercado para produtos orgânicos através de análise fatorial.** Anais XLI Congresso Brasileiro da SOBER. Juiz de Fora – MG. Julho de 2003.

LUO, M.; et al. Prospective analysis of serum carotenoids, vitamin A and tocopherols in adults with short bowel syndrome undergoing intestinal rehabilitation. **Nutrition**. V. 25(4), p. 400-107, 2009.

MADAIL, J. C. M.; BELARMINO, L. C. BINI, D. A. **Evolução da produção e mercado de produtos orgânicos no Brasil e no Mundo**. Pelotas – RS. [200-].

MARASCHIN, M.; KUHNEN, S.; LEMOS , P. M.M.; OLIVEIRA, S. K. et al. Metabolomics and Chemometrics as Tools for Chemo(bio)diversity Analysis - Maize Landraces and Propolis **Chemometrics in Practical Applications**. 2012.

MATT, D.; VEROMANN, E.; LUIK, A. Effect of housing systems on biochemical composition of chicken eggs. **Agronomy Research**, n. 7, p.662-667, 2009.

MÍNGUEZ-MOSQUEIRA, I. M.; HORNERO-MÉNDEZ, D.; PÉREZ-GÁLVEZ, A. Carotenoids and Provitamin A in Functional Foods. **CRC Press LLC**, 2002.

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. **Instrução Normativa nº 46, de 06 de outubro de 2011**.

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. **Instrução Normativa nº 007, de 17 de maio de 1999**.

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. **Decreto nº 56.585, de 20 de Julho de 1965**.

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. **Ofício Circular / DISPOA nº 60/99 de 04 de novembro de 1999**.

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. **Ofício Circular / DISPOA nº 12/2000**.

MIZUMOTO, E. M.; CANNIATTI-BRAZACA, S. G.; MACHADO, F. M. V. F. **Avaliação química e sensorial de ovos obtidos por diferentes tratamentos.** Ciência e Tecnologia de Alimentos – Campinas – SP, p.60-65, jan/mar. 2008.

MOURA, E. C. **Ovo e colesterol: pesquisa quebra tabu.** Brasil news 2001. Disponível em: <http://www.brasilnews.com.br/fonte2.php3?Codreg=216&CodNext=999>. Acesso em Maio de 2014.

NARDONE, A.; VALFRÈ, F. Effects of changing production methods on quality of meat, milk and eggs. **Livestock Production Science**, p.165 –182, 1999.

NOVELLO, D., et al. **Ovo: conceitos, análises e controvérsias na saúde humana.** Organo Oficial de la Sociedad Latinoamericana de Nutrición. Vol 56, nº 4, 2006.

OLSON, J.A. Vitamin A and carotenoids as antioxidants in a physiological context. **J. Nutr. Sci. Vitaminol.** v. 39, S57–S65, 1993

PASIAN, I. M.; GAMEIRO, A. H. **Mercado para a criação de poedeiras em sistemas do tipo orgânico, caipira e convencional.** XLV Congresso da Sober – Londrina – PR. 20p., 2007.

PINO-LAGOS, K.; BENSON, M. J.; NOELLE, R. J. Retinoic Acid in the Immune System. **Ann N Y Acad Sci.** 1143p, 2008.

PROVENZANO, L. et al. **Avaliação da tipificação e classificação de ovos comercializados na cidade do Rio de Janeiro/RJ – Brasil.** Revista Brasileira de Ciência Veterinária, v. 14, n. 1, p. 19-22, jan./abr. 2007.

RADOSTITS, E. M.; GAY, C. C.; BLOOND, D. C.; HINCHCLIFF, K. W. **Deficiência de selênio e vitamina E.** Clinica Veterinária. 9ª edição. Guanabara Koogan. São Paulo, p. 1364-1384. 2002.

RAO, A.V; RAO, L. G. Carotenoids and human health. **Pharmacological Research**. V. 55, p. 207-216, 2007.

RILEY, P.A. Free radicals in biology: oxidative stress and the effects of ionizing radiation. **International Journal of Radiation Biology, London**, v.65, n.1, p.27-33, 1994.

RODRIGUES, K.R.M.; SALAY, E. **Atitudes de granjeiros, atacadistas, varejistas e consumidores em relação à qualidade sanitária do ovo de galinha in natura**. Revista da Nutrição, Campinas, v.14, n.3, p. 185-193, 2001.

RUTH, S. V. et al. Authentication of organic and conventional eggs by carotenoid profiling. **Food Chemistry - Sevilla, Spain**, p.1299-1305, 2011.

SANTOS, A.L.F. **Estudo da Interação das Vitaminas A e E em microesferas de Quitosana: liberação controlada e fluidos gastrointestinais e em cremes hidratantes**. Tese de Doutorado. Universidade de Brasília. Instituto de Química. 2012.

SANTOS FILHO, J. I.; SCHLINDWEIN, M. M.; SCHEUERMANN, G. N. **Fatores determinantes do consumo de ovos no Brasil**. Revista de Economia Agrícola, São Paulo, v. 56, n. 2, p. 37-46, julho, 2009.

SANTOS, M. V; RIBEIRO, A. G. P.; CARVALHO, L. S. **Criação de galinha caipira: Para a produção de ovos em sistema semi-intensivo**. Programa Rio Rural. Manual técnico. 32 p. 2009.

SARCINELLI, M. F.; VENTURINI, K. S.; SILVA, L. C. **Característica do Ovo**. Boletim Técnico - Universidade Federal do Espírito Santo – ES. 7p, 2007.

SCHLATTERER, J.; BREITHAUPT, D. E. Xanthophylls in commercial egg yolks: quantification and identification by HPLC and LC-(APCI) MS using a C30 phase. **J. Agric. Food Chem.** 2006.

SILVA, I. J. O.; MIRANDA, K. O. S. **Impactos do bem-estar na produção de ovos**. Thesis – São Paulo - ano VI, n.11, p. 89 – 115, 2009.

SKRIVAN, M.; ENGLMAIEROVÁ, M. The deposition of carotenoids and α -tocopherol in hen eggs produced under a combination of sequential feeding and grazing. **Animal Feed Science and Technology**. n.190, p. 79-86, 2014.

SOARES, J. P. G. **Sistemas orgânicos de produção animal**. Seropédica – RJ. 12p, 2012.

SOUZA-SOARES, L. A.; SIEWERDT, F. **Aves e Ovos**. Editora UFPEL. Pelotas – RS, p. 138, 2005.

STADELMAN, W. J.; COTTERILL, O. J. Egg science and technology. 3. ed. **Westport: AVI Publishing**, 449p., 1986.

TAUSON, R. Management and housing systems for layers – effects on welfare and production. **World's Poultry Science Journal**. Ithaca. v.61, p.477-490, 2005.

UNIÃO BRASILEIRA DE AVICULTURA (UBA). **Protocolo de boas práticas de produção de ovos**. 53 p, 2008.

UNIÃO BRASILEIRA DE AVICULTURA (UBA). **Relatório Anual 2012**. p.89-98, 2013.

VIEIRA, J. S. M. **Criação de Galinhas caipiras em sistema orgânico**. 2012

ZIMMERMANN, A. M.; KIRSTEN, V. R. **Alimentos com função antioxidante em doenças crônicas: Uma abordagem clinica**. Ciências da Saúde, Santa Maria, v. 9, n. 1, p. 51-69, 2008.