

Efeito do armazenamento e da cantaxantina dietética sobre a qualidade do ovo fértil e o desenvolvimento embrionário

[The effect of storage and dietary canthaxanthin on fertile egg quality and embryonic development]

J.S.R. Rocha¹, V.M. Barbosa¹, L.J.C. Lara², N.C. Baião^{2*}, S.V. Cançado², A.M.Q. Lana², M.A. Pompeu¹, R.J.C. Vasconcelos¹, A.L.C. Machado¹, D.J.A. Miranda¹, M.N.S. Fernandes¹, P.M.M. Mendes¹

¹Aluna de pós-graduação – EV-UFGM – Belo Horizonte, MG

²Escola de Veterinária – Universidade Federal de Minas Gerais – Belo Horizonte, MG

RESUMO

O presente experimento foi conduzido em lote de matrizes Cobb desde 46 até 60 semanas de idade. Os tratamentos foram definidos pelas dietas (com e sem adição de 6ppm de cantaxantina na dieta das matrizes) e pelos períodos de armazenamento dos ovos (três e sete dias), em delineamento inteiramente ao acaso, em arranjo fatorial 2x2 (duas dietas x dois períodos de armazenamento). A cantaxantina dietética elevou o escore de cor da gema de sete para 14. O armazenamento dos ovos por sete dias prejudicou a qualidade dos ovos, promoveu oxidação de ácidos graxos da gema e retardou o desenvolvimento embrionário.

Palavras-chave: antioxidante, ácido graxo, carotenoide, gema, TBARS

ABSTRACT

This trial was done with Cobb broiler breeders. Treatments were defined by the diets (with and without 6ppm canthaxanthin added to broiler breeder diets) and periods of egg storage (three and seven days) in a completely randomized factorial 2 x 2 design (two diets x two periods of egg storage). The dietary canthaxanthin increased the yolk color score from 7 to 14. Egg storage for seven days reduced egg quality, promoted oxidation of yolk fatty acids and delayed embryonic development.

Keyword: antioxidant, fatty acid, carotenoid, yolk, TBARS

INTRODUÇÃO

Ovos em casca são considerados resistentes à oxidação lipídica, entretanto pesquisas com ovos comerciais demonstraram que os lipídios da gema sofrem oxidação durante o período de armazenamento (Franchini *et al.*, 2002; Cherian *et al.*, 2007; Giampietro *et al.*, 2008). A reação de radicais livres (RL) com ácidos graxos inicia um processo em cadeia conhecido como peroxidação em sistemas vivos e rancidez oxidativa em alimentos. Segundo Silva *et al.* (1999), é possível distinguir essas três etapas de evolução oxidativa da seguinte forma: a) desaparecimento dos substratos de oxidação –

lipídio insaturado, oxigênio; b) aparecimento dos produtos primários de oxidação – peróxidos e hidroperóxidos; e c) aparecimento dos produtos secundários de oxidação, obtidos por cisão e rearranjo dos peróxidos. Os peróxidos são intermediários instáveis, portanto eles são decompostos pela interação com radicais livres, e os produtos secundários são produzidos no decurso da decomposição dos primários. Entre esses, um dos principais é o malondialdeído. O malondialdeído (MDA) é muito utilizado para avaliar a oxidação lipídica em alimentos e principalmente o estresse oxidativo em amostras biológicas, por meio do teste de substâncias reativas com o ácido tiobarbitúrico, conhecido como TBARS (Lima e Abdalla, 2001).

Recebido em 1 de julho de 2011

Aceito em 26 de novembro de 2012

*Autor para correspondência (*corresponding author*)

E-mail: baiiao@vet.ufmg.br

Na literatura, a oxidação dos lipídios da gema não é citada como causa dos efeitos negativos do armazenamento sobre o desenvolvimento embrionário e o rendimento de incubação. As explicações se baseiam nas mudanças físicas que ocorrem no ovo, especialmente no albúmen, tais como aumento do pH do albúmen, que se torna mais liquefeito (Lapão *et al.*, 1999; Xavier *et al.*, 2008) e redução do índice de gema em razão do enfraquecimento da membrana perivitelina (Kirunda e Mckee, 2000). A deterioração da qualidade do albúmen influencia o desenvolvimento embrionário. Walsh *et al.* (1995) afirmaram que a taxa de consumo de oxigênio pelo embrião é equivalente à perda de água pelos ovos durante a incubação. Em ovos armazenados por longos períodos, a perda de peso durante o armazenamento é alta, reduzindo a quantidade de água para ser perdida durante a incubação. Desta forma, embriões provenientes de ovos armazenados por longos períodos possuem menor aporte de oxigênio, o que reduz o metabolismo celular e acarreta atraso e redução no desenvolvimento embrionário. De acordo com Schmidt *et al.* (2002), a ativação do desenvolvimento embrionário precoce ocorre por meio de enzimas pH-dependentes. O armazenamento prolongado aumenta o pH excessivamente e, por conseguinte, influencia negativamente o início do desenvolvimento do embrião.

Os carotenoides possuem importante papel antioxidante (Böhm *et al.*, 1997) e a cantaxantina está incluída nesse grupo. Adicionada à dieta das matrizes, ela poderia exercer seu papel antioxidante no embrião, protegendo os tecidos embrionários ricos em ácidos graxos poli-insaturados durante a incubação e, no ovo, protegendo os nutrientes da gema durante o armazenamento para serem utilizados pelo embrião em desenvolvimento. Com base nesses aspectos, o objetivo deste experimento foi avaliar a influência do período de armazenamento dos ovos e da adição de cantaxantina à dieta das matrizes pesadas sobre a qualidade dos ovos, ácidos graxos da gema, desenvolvimento do embrião e estabilidade oxidativa do saco vitelino do pinto.

MATERIAL E MÉTODOS

Neste experimento, foram utilizadas matrizes pesadas da linhagem Cobb, sendo 16000 fêmeas

e 1600 machos. A metodologia utilizada foi aprovada pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal da UFMG, e o número do certificado do protocolo CETEA é 144/2009.

As rações experimentais foram oferecidas desde 46 até 60 semanas de idade. A formulação da dieta foi a de rotina da granja para machos e fêmeas (Tab. 1), com exceção da suplementação ou não de 6ppm de cantaxantina, segundo os tratamentos.

Os ovos foram coletados quando as aves estavam com 59 semanas de idade, no período de sete e três dias antes da incubação, para compor os dois períodos de armazenamento. Permaneceram armazenados em temperatura entre 19 e 20°C e umidade relativa em torno de 75% na sala de ovos do incubatório. Eles foram provenientes das coletas matinais, eliminando-se os da primeira coleta, e pesavam entre 64 e 76,5g.

Os tratamentos, definidos pela dieta e pelos períodos de armazenamento, foram: A3 – ovos produzidos pelas matrizes alimentadas com cantaxantina e armazenados por três dias; A7 – ovos produzidos pelas matrizes alimentadas com cantaxantina e armazenados por sete dias; B3 – ovos produzidos pelas matrizes alimentadas com ração controle, sem cantaxantina, e armazenados por três dias; e B7 – ovos produzidos pelas matrizes alimentadas com ração controle, sem cantaxantina, e armazenados por sete dias.

Para as avaliações de gema e albúmen, foram utilizados 72 ovos no dia da incubação, sendo 18 ovos de cada um dos quatro tratamentos. Cada ovo ou gema foi considerado uma repetição. As porcentagens de gema e albúmen foram obtidas conforme metodologia de Rocha *et al.* (2008). Os ovos foram pesados individualmente e foram quebrados. As gemas, separadas manualmente, foram pesadas individualmente. As cascas lavadas em água corrente para a retirada dos resíduos do albúmen foram secas em temperatura ambiente por 24 horas antes da pesagem individual. O peso do albúmen foi obtido pela diferença entre os pesos do ovo inteiro e da gema e da casca. As porcentagens de gema, casca e albúmen em relação ao peso do ovo foram calculadas por meio da fórmula: peso do componente/peso do ovo x 100. A cor da gema foi determinada mediante a utilização do leque colorimétrico da DSM, com escore variando de

um (amarelo claro) a 15 (laranja avermelhado). A altura e a largura da gema foram avaliadas por paquímetro Vonder 150mm. No momento dessa aferição, a gema se encontrava livre do albúmen. As medidas foram registradas para cálculo do índice da gema (IG = altura/largura). Para medir o pH da gema e do albúmen, cada três gemas e três albumens dos ovos utilizados nas respostas acima constituíram um *pool* de três gemas e três albumens, sendo cada *pool* considerado uma repetição. Portanto, foram seis repetições por tratamento para essa resposta. O pH da gema e

do albúmen foi aferido por meio de pHmetro digital modelo PG1800, marca Gehaka. Cada *pool* de gema e de albúmen foi acondicionado em copos descartáveis de 50mL. O suporte do eletrodo do pHmetro foi ajustado de forma que a ponta do eletrodo ficasse completamente imersa dentro do *pool* de gema ou albúmen. O equilíbrio no *display* foi aguardado e a leitura foi efetuada. Após cada medição, o eletrodo foi bem enxaguado com água e enxugado com papel absorvente macio.

Tabela 1. Composição percentual e valores nutricionais calculados das rações das matrizes

Ingredientes	Composição percentual			
	Com cantaxantina		Sem cantaxantina	
	Fêmeas	Machos	Fêmeas	Machos
Milho moído	62,3	60,0	62,3	60,0
Farelo de soja 45,5% PB	13,6	9,5	13,6	9,5
Farinha de carne e osso 46% PB	1,8	2,3	1,8	2,3
Farelo de trigo	14,2	25,8	14,2	25,8
Calcário	7,3	1,6	7,3	1,6
Sal comum	0,4	0,4	0,4	0,4
Suplemento vitamínico Mineral	0,4	0,4	0,4	0,4
Carophyll Red® *	0,006	0,006	-	-
TOTAL	100,0	100,0		
Níveis nutricionais				
Energia (kcal/g)	2720	2750	2720	2750
Proteína bruta (%)	14,4	14,5	14,4	14,5
Cálcio (%)	3,20	1,10	3,20	1,10
Fósforo total (%)	0,60	0,72	0,60	0,72
Fósforo disponível (%)	0,35	0,42	0,35	0,42
Lisina total (%)	0,67	0,64	0,67	0,64
Met + Cis total (%)	0,54	0,55	0,54	0,55
Metionina total (%)	0,29	0,29	0,29	0,29
Sódio (%)	0,18	0,18	0,18	0,18
Cantaxantina (mg/kg) *	6,00	6,00	-	-

* Carophyll Red® contém 10% de cantaxantina e foi utilizado na dieta de machos e fêmeas do galpão 1.

Cada kg de suplemento vitamínico mineral contém: vit. A – 2.250.000UI; vit. D3 – 650.000UI; vit. E – 3.500mg; vit. K3 – 400mg; vit. B1 – 550mg; vit. B2 – 1.500mg; vit. B6 – 750mg; vit. B12 – 2.500mcg; niacina – 7.500mg; ácido pantotênico – 3.750mg; ácido fólico – 150mg; biotina – 25mg; colina – 84.630mg; metionina – 99.000mg; cobre – 24.950mg; ferro – 12.500mg; manganês – 17.500mg; zinco – 12.500mg; iodo – 300mg; selênio – 50mg; bacitracina de zinco – 18750mg; fitase – 75ftu; BHT – 25.000mg.

Para avaliar os ácidos graxos das gemas dos ovos, foram utilizados 120 ovos, sendo 30 de cada tratamento. Os ovos foram quebrados e as gemas coletadas no dia da incubação. Os ácidos graxos presentes nas amostras compostas por um *pool* de cinco gemas liofilizadas foram separados por cromatografia gasosa em cromatógrafo gasoso capilar – CGC AGILENT 68650 SERIES GC SYSTEM; coluna capilar: DB-23 AGILENT (50% cyanopropil) – methylpolysiloxane,

dimensões 60m, diâmetro interno: 0,25mm, 0,25µm filme; condições de operação do cromatógrafo: fluxo coluna = 1,00mL/min; velocidade linear = 24cm/seg; temperatura do detector: 280°C; temperatura do injetor: 250°C; temperatura do forno: 110°C – 5min; 110 – 215°C (5°C/min), 215°C – 24min; gás de arraste: hélio; volume injetado: 1,0µL. Para compor as variáveis, foram somados os ácidos graxos saturados (C12:0, C14:0, C15:0,

C16:0, C17:0, 18:0, C20:0, C22:0, C24:0), monoinsaturados (C16:1, C17:1, C18:1, C18:1 trans, C20:1) e poli-insaturados (C18:2 trans, C18:2, C18:3 trans, C18:3, C18:4 C20:4, C22:5, C22:6). Cada *pool* de cinco gemas foi considerado uma repetição, e foram seis repetições por tratamento.

Para as avaliações de perda de peso dos ovos, foram utilizadas 14 bandejas com 84 ovos por tratamento, sendo a bandeja considerada uma repetição. A perda de peso dos ovos foi avaliada em dois períodos, durante o armazenamento e a incubação. Para essa avaliação, as bandejas vazias foram pesadas e, após receberem os ovos, as bandejas com ovos foram pesadas no dia da coleta, no dia da incubação e no dia da transferência, sendo esta última realizada com 19 dias. O peso médio do ovo foi calculado para expressar a perda de peso, em porcentagem, em relação ao peso do ovo no dia da coleta.

Para as avaliações de peso absoluto e matéria seca dos embriões aos 18 dias de incubação, foram utilizados 20 ovos por tratamento, sendo cada embrião considerado uma repetição. Os ovos foram quebrados e os embriões vivos foram retirados e imediatamente abatidos por deslocamento cervical. O peso inicial do embrião foi registrado, por meio de balança de 0,01g, modelo AS2000C, marca Marte. O embrião foi moído e congelado a -40°C, liofilizado por 72 horas, seco em estufa a 105°C por 12 horas e, após esses procedimentos, foi novamente pesado para registro do peso final. A porcentagem de matéria seca do embrião foi obtida dividindo-se o peso final pelo peso inicial e multiplicando-se o valor por 100.

Foram coletados ao acaso 30 pintos por tratamento à eclosão, portanto 120 pintos ao todo. Os pintos foram abatidos por deslocamento cervical, pesados em balança com precisão de 0,01g, e o peso absoluto foi registrado. O saco vitelino de cada pinto foi retirado, pesado em balança com precisão de 0,01g, e o peso absoluto foi registrado. O peso relativo do saco vitelino foi calculado dividindo-se o peso absoluto do saco vitelino pelo peso absoluto do pinto e multiplicando-se o valor por 100.

Foram utilizados os sacos vitelinos de 240 pintos recém-eclodidos, coletados ao acaso, sendo 60 sacos vitelinos de cada um dos

quatro tratamentos, para quantificação de malondialdeído, pelo método de TBARS proposto por Tarladgis *et al.* (1960). As amostras para essa análise foram constituídas por um *pool* de 10 sacos vitelinos, as quais foram congeladas a -40°C, liofilizadas por 72 horas e armazenadas até o momento das análises. Cada *pool* foi considerado uma repetição e cada tratamento foi constituído por seis repetições.

O delineamento experimental foi inteiramente ao acaso, em esquema fatorial 2x2, sendo duas dietas e dois períodos de armazenamento. Foram 18 repetições para porcentagem de componentes dos ovos, cor e IG, seis repetições para pH da gema e albúmen, quatro repetições para composição em ácidos graxos da gema, 14 repetições para perda de peso dos ovos, 20 repetições para peso e matéria seca do embrião, 30 repetições para peso do pinto e saco vitelino, e seis repetições para estabilidade oxidativa do saco vitelino do pinto. A variável “valor de TBARS no saco vitelino do pinto” foi transformada pela equação: variável x variável. Os dados normais e homogêneos foram submetidos às análises de variância, e as médias foram comparadas pelos testes F, de Tukey e SNK (Sampaio, 2002). As medianas das respostas não normais e homogêneas foram comparadas pelo teste de Kruskal-Wallis, utilizando-se o programa SAEG, versão 9.1 (Sistema..., 2005).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados de porcentagens de gema e albúmen, índice de gema, altura de albúmen, escore de coloração da gema, pH da gema e do albúmen estão apresentados na Tab. 2. Não houve interação entre os tratamentos cantaxantina na dieta e armazenamento dos ovos para essas variáveis.

Independentemente do armazenamento, a adição de cantaxantina à dieta das matrizes não influenciou ($P>0,05$) as porcentagens de gema e albúmen. Independentemente da dieta das matrizes, o período de armazenamento por sete dias aumentou ($P\leq 0,05$) a porcentagem de gema e reduziu ($P\leq 0,05$) a de albúmen comparado a três dias. Esses resultados estão de acordo com Lapão *et al.* (1999). Durante o armazenamento, ocorre movimentação de água do albúmen para a gema em razão da diferença de pressão osmótica.

Tabela 2. Porcentagem de gema (PG), porcentagem de albúmen (PA), índice de gema (IG), altura de albúmen (AA), escore de coloração da gema (Cor), pH da gema (pHG) e do albúmen (pHA), de acordo com as dietas e os períodos de armazenamento dos ovos

Tratamentos		PG (%)*	PA (%)*	IG (%)*	AA (mm)*	Cor**	pHG	pHA
Cantaxantina (ppm)	Armazenamento (dias)							
6		30,1A	61,0A	0,380A	6,97A	14,0A	6,25A	9,32A
0		30,0A	61,0A	0,375A	6,87A	7,0B	6,28A	9,33A
	3	29,5b	61,6a	0,382a	7,51a	11,0a	6,27a	9,21b
	7	30,6a	60,3b	0,372a	6,32b	10,0a	6,26a	9,44a
6	3	29,9	61,5	0,383	7,60	14,0	6,26	9,22
6	7	30,4	60,4	0,378	6,33	13,0	6,23	9,42
0	3	29,2	61,8	0,381	7,42	8,0	6,28	9,20
0	7	30,8	60,2	0,368	6,31	6,0	6,29	9,46
CV (%)		6,1	3,2%	6,9	14,4	-	1,0	0,5

Letras distintas, maiúsculas para cantaxantina e minúsculas para armazenamento, diferem entre si pelos testes F* e de Kruskal-Wallis** ($P \leq 0,05$).

A dieta e os períodos de armazenamento não influenciaram ($P > 0,05$) o índice de gema. Esse resultado está em desacordo com os apresentados por Kirunda e McKee (2000). Isto pode ter ocorrido devido ao fato de as medidas de altura e largura da gema terem sido realizadas na gema livre de albúmen. De acordo com Reijrink *et al.* (2008), a resistência da membrana vitelina depende da viscosidade da camada calazífera que circunda a gema. Desta forma, a ausência do albúmen pode ter influenciado a resistência da membrana vitelina em todos os tratamentos, tornando os índices de gemas semelhantes.

A adição de cantaxantina à dieta das matrizes não influenciou ($P > 0,05$) a altura de albúmen. O período de armazenamento por sete dias reduziu ($P \leq 0,00001$) a altura de albúmen comparado aos ovos armazenados por três dias. Esses resultados estão de acordo com Lapão *et al.* (1999) e Xavier *et al.* (2008). Durante o armazenamento, o ácido carbônico (H_2CO_3) se dissocia em água (H_2O) e dióxido de carbono (CO_2). O dióxido de carbono é liberado para o ambiente, elevando o pH do albúmen e tornando-o mais liquefeito (Romanoff e Romanoff, 1963). Essas mudanças reduzem a altura de albúmen.

A adição de cantaxantina à dieta das matrizes resultou em maior ($P \leq 0,01$) escore de coloração da gema quando comparado aos ovos provenientes de matrizes que não receberam cantaxantina na dieta. O período de armazenamento não influenciou ($P > 0,05$) o escore de cor da gema. Esses resultados estão de acordo com Garcia *et al.* (2002). A pigmentação

resulta da deposição de xantofilas (grupo de pigmentos carotenoides) na gema do ovo. O produto comercial utilizado neste experimento possui 10% de cantaxantina, pigmento vermelho, que acentua a coloração da gema. Ao ser consumida, a cantaxantina é empacotada nos portomícrons. Estes são liberados do enterócito, através da veia porta, e seguem para o fígado. Parte desses portomícrons sofre metabolismo hepático para formar a VLDLg (g = gema, sigla traduzida do inglês VLDLy, sendo y = yolk), que é a lipoproteína de muito baixa densidade modificada encontrada no plasma das galinhas em postura, cuja função é transportar triglicerídeos e vitaminas lipossolúveis ao oócito para posterior nutrição do embrião que se desenvolverá dentro do ovo (Rocha *et al.*, 2009). Desta forma, a cantaxantina segue no núcleo da VLDLg até o oócito em formação, pigmentando a gema.

As dietas e os períodos de armazenamento não influenciaram ($P > 0,05$) o pH da gema. Esses resultados estão de acordo com Bakst e Holm (2003), os quais afirmaram que, durante o armazenamento, a gema mantém-se levemente ácida, com pH em torno de 6,5.

A adição de cantaxantina à dieta das matrizes não influenciou ($P > 0,05$) o pH do albúmen. O período de armazenamento por sete dias aumentou ($P \leq 0,00001$) o pH do albúmen quando comparado aos ovos armazenados por três dias. Esses resultados estão de acordo com Lapão *et al.* (1999), Bakst e Holm (2003) e Xavier *et al.* (2008). O ácido carbônico (H_2CO_3) é um dos

Efeito do armazenamento e da cantaxantina...

componentes do sistema tampão do albúmen. Durante o armazenamento, esse ácido dissocia-se em água e gás carbônico. Este último é liberado ao ambiente, através dos poros da casca do ovo, elevando o pH do albúmen.

Os resultados referentes à composição em ácidos graxos da gema estão apresentados na Tab. 3. Não houve interação entre os tratamentos cantaxantina na dieta e o armazenamento dos ovos para essas respostas.

Tabela 3. Composição em ácidos graxos saturados (SAT), monoinsaturados (MUFA) e poli-insaturados (PUFA) da gema de ovo liofilizada, de acordo com as dietas e os períodos de armazenamento dos ovos

Tratamentos		SAT (% m/m)	MUFA (% m/m)	PUFA (% m/m)
Cantaxantina (ppm)	Armazenamento (dias)			
6		34,14A	45,84A	17,31A
0		34,13A	45,36A	17,64A
	3	33,86b	45,99a	17,31a
	7	34,42a	45,21b	17,64a
6	3	33,98	46,18	17,05
6	7	34,30	45,50	17,57
0	3	33,73	45,80	17,57
0	7	34,54	44,93	17,71
CV (%)		1,1	1,6	3,8

Letras distintas, maiúsculas para cantaxantina e minúsculas para armazenamento, diferem entre si pelo teste F* ($P \leq 0,05$).

A dieta não influenciou ($P > 0,05$) a quantidade de ácidos graxos saturados, monoinsaturados e poli-insaturados da gema. O período de armazenamento por sete dias aumentou ($P \leq 0,05$) a quantidade de ácidos graxos saturados e reduziu ($P \leq 0,05$) a quantidade de ácidos graxos monoinsaturados da gema quando comparado ao período de apenas três dias. A composição em ácidos graxos poli-insaturados da gema não foi afetada pelos períodos de armazenamento. Era esperado que a dieta não influenciasse a quantidade de ácidos graxos da gema, já que a única diferença entre estas foi a adição de cantaxantina. O período de armazenamento por sete dias provocou a oxidação dos ácidos graxos monoinsaturados, que são mais instáveis do que os saturados devido à presença de uma ligação dupla. A oxidação dos ácidos graxos monoinsaturados promoveu a redução dos ácidos graxos totais da amostra e o aumento relativo dos saturados na gema, já que o cálculo deste último é realizado pela divisão dos ácidos graxos saturados pelos ácidos graxos totais da amostra. Era esperado que o período de armazenamento por sete dias reduzisse os ácidos graxos poli-insaturados, já que quanto maior a insaturação do ácido graxo, maior a susceptibilidade deste à peroxidação (Hogg e Kalyanaraman, 1999). Entretanto, foi observada peroxidação apenas dos ácidos graxos monoinsaturados. Isto pode ter ocorrido em

razão da maior quantidade de ácidos graxos monoinsaturados presentes na gema, em quantidade quase três vezes superior aos ácidos graxos poli-insaturados. A maior presença de substratos “ácidos graxos monoinsaturados” ocasionou ação mais significativa dos radicais livres sobre estes, visto que o ácido oleico é o ácido graxo presente em maior quantidade na gema do ovo (Davis e Reeves, 2002) e, portanto, foi o mais afetado.

Os resultados referentes à perda de peso dos ovos durante o armazenamento e a incubação, ao peso e à matéria seca do embrião aos 18 dias de incubação, ao peso do pinto ao nascimento e ao peso relativo do saco vitelino estão demonstrados na Tab. 4. Não houve interação entre os tratamentos cantaxantina da dieta e armazenamento dos ovos para essas variáveis.

A dieta das matrizes não influenciou ($P > 0,05$) a perda de peso no armazenamento e na incubação. O período de armazenamento por sete dias aumentou ($P \leq 0,05$) a perda de peso dos ovos durante o armazenamento quando comparado ao período mais curto de apenas três dias. A perda de peso durante a incubação não foi influenciada ($P > 0,05$) pelos períodos de armazenamento. Neste experimento, foram utilizados ovos de matrizes velhas, portanto a perda de peso destes

é facilitada pela menor espessura da casca. Ainda, o maior período de armazenamento resultou em aumento do pH do albúmen, tornando-o mais liquefeito. Essas características da casca e do albúmen dos ovos, associadas ao

próprio aumento no período de armazenamento de três para sete dias, acarretam maior saída de água para o meio externo, resultando em maior perda de peso no armazenamento.

Tabela 4. Perda de peso dos ovos durante o armazenamento (PPA) e a incubação (PPI), peso (PE18) e matéria seca do embrião aos 18 dias de incubação (MS18), peso do pinto ao nascimento (PP) e peso relativo do saco vitelino (PSV), de acordo com as dietas e os períodos de armazenamento dos ovos

Tratamentos		PPA (%)**	PPI (%)*	PE18 (g)*	MS18 (%)*	PP (g)*	PSV (%)*
Cantaxantina (ppm)	Armazenamento (dias)						
6		1,1	11,9A	32,0A	17,4A	48,3A	14,4A
0		1,1	12,1A	32,1A	17,2A	48,8A	14,1A
	3	0,7 b	12,0a	32,7a	17,7a	48,9a	14,5a
	7	1,4 a	12,0a	31,4b	17,0b	48,2a	14,0a
6	3	0,7	12,0	32,8	17,7	48,6	14,8
6	7	1,4	11,8	31,1	17,1	48,0	14,0
0	3	0,7	12,0	32,6	17,6	49,2	14,2
0	7	1,4	12,1	31,7	16,8	48,3	13,9
CV (%)		-	3,7	5,8	6,3	5,9	20,3

Letras distintas, maiúsculas para cantaxantina e minúsculas para armazenamento, diferem entre si pelos testes F* e de Kruskal-Wallis** (P≤0,05).

A adição de cantaxantina à dieta das matrizes não influenciou (p>0,05) o peso e a matéria seca do embrião aos 18 dias. O período de armazenamento de sete dias reduziu (p≤0,01) o peso e a matéria seca do embrião aos 18 dias quando comparado aos ovos armazenados por três dias. Esses resultados estão de acordo com Mather e Laughlin (1976; 1977), Walsh *et al.* (1995), Christensen *et al.* (2002), Schmidt *et al.* (2002), Tona *et al.* (2003) e Fassenko (2007). Segundo Schmidt *et al.* (2002), o armazenamento aumenta excessivamente o pH, interferindo na ativação do desenvolvimento embrionário precoce realizada por enzimas pH-dependentes. Além disso, embriões provenientes de ovos armazenados por mais tempo apresentam aumento tardio na produção de corticosterona, necessária para estimular a conversão de T₄ em T₃, sendo o aporte adequado deste último hormônio essencial para o crescimento, desenvolvimento e metabolismo do embrião (Tona *et al.*, 2003). Desta forma, o período prolongado de armazenamento dos ovos atrasa o desenvolvimento embrionário e reduz a taxa metabólica do embrião, resultando em embriões mais leves e em menor deposição de tecidos corporais aos 18 dias de incubação.

As dietas e os períodos de armazenamento não influenciaram (P>0,05) o peso do pinto e do

saco vitelino. Ao nascimento, não foi possível verificar retardo no desenvolvimento embrionário ou redução do metabolismo em razão do período de armazenamento. Isso pode ter ocorrido porque, após a eclosão, os pintos encontram-se no mesmo estágio de desenvolvimento. No caso dos embriões, eles foram retirados dos ovos aos 18 dias no mesmo momento em todos os tratamentos; desta forma, foi possível observar as diferenças no desenvolvimento embrionário. Segundo Rocha *et al.* (2008), os pesos absoluto e relativo do saco vitelino são influenciados pelo tamanho do ovo. Como neste experimento o peso dos ovos foi limitado entre 64 e 76,5g em todos os tratamentos, o efeito deste sobre o saco vitelino foi eliminado.

Os resultados referentes à estabilidade oxidativa do saco vitelino estão apresentados na Tab. 5. Houve interação entre os tratamentos cantaxantina na dieta e armazenamento dos ovos para o valor de TBARS do saco vitelino.

Os sacos vitelinos dos pintos provenientes dos ovos armazenados por sete dias e das matrizes alimentadas com cantaxantina na dieta apresentaram menor valor de TBARS do que os dos demais tratamentos. O valor de TBARS do saco vitelino indica o estresse oxidativo da

amostra, portanto era esperado que o saco vitelino dos pintos provenientes de matrizes alimentadas com cantaxantina e ovos armazenados por sete dias apresentasse maior valor de TBARS do que o dos demais tratamentos. As análises laboratoriais indicaram o contrário, pois, de acordo com os valores de TBARS, este tratamento apresentou menor peroxidação. Isso pode ter ocorrido em razão da falta de especificidade do TBARS, já que, segundo Fellenberg e Speisky (2006), o MDA não é o único produto da oxidação dos lipídios que reage com o ácido tiobarbitúrico. Os demais tratamentos podem ter apresentado valores muito baixos de MDA, provocando a reação de outras substâncias (aldeídos não provenientes de oxidação lipídica) com o ácido tiobarbitúrico, superestimando os resultados. A cromatografia gasosa analisa os substratos da oxidação, portanto, ao serem oxidados, os ácidos graxos desaparecem e os residuais são quantificados nessa análise. Desta forma, ela deveria ter sido utilizada em combinação com o TBARS para melhor entendimento do que ocorreu na amostra.

Tabela 5. Valor de TBARS (mg de malondialdeído/kg de saco vitelino) do saco vitelino de acordo com as dietas e os períodos de armazenamento dos ovos

Cantaxantina (ppm)	Armazenamento (dias)	
	3	7
6	0,53Aa	0,48Aa
0	0,55Aa	0,13Bb

Letras distintas, minúsculas na linha e maiúsculas na coluna, são diferentes pelo teste SNK ($P \leq 0,00001$). CV=22,1%.

CONCLUSÕES

O armazenamento dos ovos férteis por sete dias prejudica-lhes a qualidade, promove oxidação de ácidos graxos monoinsaturados da gema e retarda o desenvolvimento embrionário. A adição de cantaxantina à dieta das matrizes aumentou a pigmentação da gema, sem demonstrar efeito antioxidante sobre os ácidos graxos desta.

AGRADECIMENTOS

Ao CNPq, à FAPEMIG, à DSM e à Granja Rio Minas.

REFERÊNCIAS

- BAKST, M.R.; HOLM, L. Impact of egg storage on carbonic anhydrase activity during early embryogenesis in turkey. *Poult. Sci.*, v.82, p.1193-1197, 2003.
- BÖHM, F.; EDGE, R.; LAND, E.J. *et al.* Carotenoids enhance vitamin E antioxidant efficiency. *J. Am. Chem. Soc.*, v.119, p.621-622, 1997.
- CHERIAN, G.; TRABER, M.G.; GOEGER, M.P.; LEONARD, S.W. Conjugated linoleic acid and fish oil in laying hen diets: effects on egg fatty acids, thiobarbituric acid reactive substances, and tocopherols during storage. *Poult. Sci.*, v.86, p.953-958, 2007.
- CHRISTENSEN, V.L.; WINELAND, M.J.; FAZENKO, G.M.; DONALDSON, W.E. egg storage alters weight of supply and demand organs of broiler chicken embryos. *Poult. Sci.*, v.81, p.1738-1743, 2002.
- DAVIS, C.; REEVES, R. High value opportunities from the chicken egg. *Rural industries research & development corporation*. Kingston: 2002, 61p.
- FASENKO, G.M. Egg storage and the embryo. *Poult. Sci.*, v.86, p.1020-1024, 2007.
- FELLENBERG, M.A.; SPEISKY, H. Antioxidants: their effects on broiler oxidative stress and its meat oxidative stability. *W. Poult. Sci. J.*, v.62, p.53-70, 2006.
- FRANCHINI, A.; SIRRI, F.; TALLARICO, N. *et al.* Oxidative stability and sensory and functional properties of eggs from laying hens fed supranutritional doses of vitamins E and C. *Poult. Sci.*, v.81, p.1744-1750, 2002.
- GARCIA, E.A.; MENDES, A.A.; PIZZOLANTE, C.C. *et al.* Efeito dos níveis de cantaxantina na dieta sobre o desempenho e qualidade dos ovos de poedeiras comerciais. *Rev. Bras. Cienc. Avic.*, v.4, p.1-7, 2002.
- GIAMPIETRO, A.; SCATOLINI, A.M.; BOIAGO, M.M. *et al.* Estudo da metodologia de TBARS em ovos. *Rev. Aviseite*, n.13, p.18-18, 2008.
- HOGG, N.; KALYANARAMAN, B. Nitric oxide and lipid peroxidation. *Biochimica et Biophysica Acta*, v.1411, p.378-384, 1999.

- KIRUNDA, D.F.K.; McKEE, S.R. Relating quality characteristics of aged eggs and fresh eggs to vitelline membrane strength as determined by a texture analyzer. *Poult. Sci.*, v.79, p.1189-1193, 2000.
- LAPÃO, C.; GAMA, L.T.; SOARES, M.C. Effects of broiler breeder age and length of egg storage on albumen characteristics and hatchability. *Poult. Sci.*, v.78, p.640-645, 1999.
- LIMA, E.S.; ABDALLA, D.S.P. Peroxidação lipídica: mecanismos e avaliação em amostras biológicas. *Rev. Bras. Cienc. Farm.*, v.37, p.293-303, 2001.
- MATHER, C.M.; LAUGHLIN, K.F. Storage of hatching eggs: the effect on early embryonic development. *Brit. Poult. Sci.*, v.18, p.597-603, 1977.
- MATHER, C.M.; LAUGHLIN, K.F. Storage of hatching eggs: the effect on total incubation period. *Brit. Poult. Sci.*, v.17, p.471-479, 1976.
- REIJRINK, I.A.M.; MEIJERHOF, R.; KEMP, B.; VAN DER BRAND, A. The chicken embryo and its micro environment during egg storage and early incubation. *W. Poult. Sci. Assoc.*, v.64, p.581-598, 2008.
- ROCHA, J.S.R.; LARA, L.J.C. ; BAIAO, N.C. Transporte de lipídios para a gema do ovo. *Cad. Tec. Vet. Zootec.*, v.61, p.17-27, 2009.
- ROCHA, J.S.R.; LARA, L.J.C.; BAIÃO, N.C. *et al.* Efeito da classificação dos ovos sobre o rendimento de incubação e os pesos do pinto e do saco vitelino. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, v.60, p.979-986, 2008.
- ROMANOFF, A.L.; ROMANOFF, A.J. *The avian egg*. 2.ed. New York: John Wiley & Sons, 1963. 918p.
- SAMPAIO, I.B.M. *Estatística aplicada à experimentação animal*. 2.ed. Belo Horizonte: FEPMVZ, 2002. 265p.
- SCHMIDT, G.S.; FIGUEIREDO, E.A.P.; AVILA, V.S. Incubação: estocagem de ovos férteis. *Embrapa Comunicado Técnico*, n. 303, 2002, 5 p.
- SILVA, F.A.M.; BORGES, M.F.M.; FERREIRA, M.A. Métodos para avaliação do grau de oxidação lipídica e da capacidade antioxidante. *Quím. Nova*, v.22, p.94-103, 1999.
- SISTEMA de análises estatísticas – SAEG. Versão 9.0. Viçosa: UFV, 2005.
- TARLADGIS, B.G.; WATTS, B.M.; YOUNATHAN, M.T. A distillation methodology for the quantitation determination of malonaldeide in rancid foods. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, v.37, p.44-48, 1960.
- TONA, K.; MALHEIROS, R.D.; BAMELIS, F. *et al.* Effects of storage time on incubating egg gas pressure, thyroid hormones, and corticosterone levels in embryos and on their hatching parameters. *Poult. Sci.*, v.82, p.840-845, 2003.
- WALSH, T.J.; RIZK, R.E.; BRAKE, J. Effects of temperature and carbon dioxide on albumen characteristics weight loss, and early embryonic mortality of long stored hatching eggs. *Poult. Sci.*, v.74, p.1403-1410, 1995.
- XAVIER, I.M.C.; CANÇADO, S.V.; FIGUEIREDO, T.C. *et al.* Qualidade de ovos de consumo submetidos a diferentes condições de armazenamento. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, v.60, p.953-959, 2008.