

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos
Área de Bromatologia

Óxidos de colesterol em ovo em pó comercial: ocorrência e
efeito do processamento e da adição de tocoferóis no produto
armazenado

Marliz Klaumann Julca Medina

Tese para obtenção do grau de
DOUTOR

Orientador:
Prof. Dr. Alfredo Tenuta Filho

São Paulo
2009

Marliz Klaumann Julca Medina

Óxidos de colesterol em ovo em pó comercial: ocorrência e efeito do processamento e da adição de tocoferóis no produto armazenado

Comissão Julgadora
da
Tese para obtenção do grau de Doutor

Prof. Dr. Alfredo Tenuta Filho
orientador/presidente

1º. examinador

2º. examinador

3º. examinador

4º. examinador

São Paulo, _____ de _____.

Dedico este trabalho a minha mãe
que com a sua força de determinação
me incentivou a continuar.
Muita saudade.

Ao meu pai que me apoiou
na obtenção de um novo conhecimento e
na importância de seguir em frente.

A minha irmã que dividiu comigo
todas as dificuldades enfrentadas
durante este período.

AGRADECIMENTOS

A Deus por iluminar meu caminho e me dar saúde e paz;

Ao Prof. Dr. Alfredo Tenuta Filho pelo apoio, compreensão e orientação;

Ao Departamento de Alimentos e Nutrição Experimental da Faculdade de Ciências Farmacêuticas – USP e a coordenadora Profa. Dra. Bernadette Dora Gombossy de Melo Franco, e a vice-coordenadora Profa. Dra. Beatriz Rosana Cordenunsi, da Comissão de Pós-graduação por esta oportunidade de enriquecimento cultural;

A CAPES pelo auxílio financeiro através da bolsa de pesquisa;

À FAMAOVOS Indústria e Comércio de Ovos Ltda., na pessoa de Giuliana Bellacosa, pelo fornecimento das amostras de ovos analisadas;

A DANISCO Brasil Ltda., na pessoa de Henrique Araújo, pelo fornecimento das amostras de antioxidante;

À Profa. Dra. Inar Alves de Castro pela realização da análise estatística dos resultados;

À Cleonice, Edílson e Mônica, secretários do Departamento de Alimentos e Nutrição Experimental, pela ajuda;

À Elaine e Jorge, secretários da seção de pós-graduação, pelo auxílio dispensado, sempre com muita eficiência;

Ao Carlão, Junior e Withi pela companhia ao lado do computador;

A todos os colegas do departamento que de alguma forma colaboraram, direta ou indiretamente, para a realização deste trabalho.

Muito obrigada.

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS	IV
LISTA DE FIGURAS	VIII
LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS	IX
RESUMO	XI
ABSTRACT	XII
1. INTRODUÇÃO	01
2. REVISÃO DA LITERATURA	03
2.1 Valor nutricional do ovo	03
2.2 Colesterol	06
2.3 Óxidos de colesterol	08
2.3.1 Formação	10
2.3.2 Fatores de oxidação	14
2.3.3 Óxidos de colesterol no ovo em pó	15
2.4 Processamentos de ovos	18
2.4.1 Ovo líquido pasteurizado	20
2.4.2 Ovo em pó	23
2.5 Antioxidantes	27
2.5.1 Adição de antioxidantes no ovo em pó	28
3. OBJETIVOS	32
3.1 Objetivo Geral	32
3.2 Objetivos específicos	32
4. MATERIAL E MÉTODOS	33
4.1 Reagentes	33

4.2 Planejamento	33
4.2.1 Caracterização de amostras comerciais de ovo integral em pó e a ocorrência de óxidos de colesterol	34
4.2.2 Avaliação do efeito do processamento de ovo integral em pó na estabilidade oxidativa do colesterol e de ácidos graxos	36
4.2.3 Avaliação do efeito da adição de tocoferóis ao ovo integral em pó armazenado sobre a estabilidade oxidativa do colesterol	36
4.3 Métodos analíticos	38
4.3.1 Umidade	38
4.3.2 Lipídeos totais	39
4.3.3 Substâncias que reagem ao ácido tiobarbitúrico (TBARS)	39
4.3.4 Colesterol total e óxidos de colesterol livres	40
4.3.5 Carotenóides totais	42
4.3.6 Ácidos graxos livres	44
4.3.7 Fenólicos totais	44
4.4 Análises Estatísticas	45
4.4.1 Caracterização de amostras comerciais de ovo integral em pó e a ocorrência de óxidos de colesterol	45
4.4.2 Avaliação do efeito do processamento de ovo integral em pó na estabilidade oxidativa do colesterol e de ácidos graxos	46
4.4.3 Avaliação do efeito da adição de tocoferóis ao ovo integral em pó armazenado sobre a estabilidade oxidativa do colesterol	46
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	47

5.1 Caracterização de amostras comerciais de ovo integral em pó e a ocorrência de óxidos de colesterol	47
5.1.1 Umidade, lipídeos totais e Colesterol	47
5.1.2 Substâncias que reagem ao ácido tiobarbitúrico - TBARS	51
5.1.3 Óxidos de colesterol	53
5.2 Avaliação do efeito do processamento de ovo integral em pó na estabilidade oxidativa do colesterol e de ácidos graxos	59
5.2.1 Umidade e lipídeos totais	60
5.2.2 Substâncias que reagem ao ácido tiobarbitúrico - TBARS	61
5.2.3 Ácidos graxos livres	62
5.2.4 Carotenóides totais	64
5.2.5 Colesterol	68
5.2.6 Óxidos de colesterol	68
5.2.7 Fenólicos totais	73
5.3 Avaliação do efeito da adição de tocoferóis ao ovo integral em pó armazenado sobre a estabilidade oxidativa do colesterol	75
5.3.1 Umidade e lipídeos totais	76
5.3.2 Colesterol	78
5.3.3 Substâncias que reagem ao ácido tiobarbitúrico	79
5.3.4 Ácidos graxos livres	82
5.3.5 Carotenóides totais	85
5.3.6 Óxidos de colesterol	87
6. CONCLUSÕES	95
7. REFERÊNCIAS	96

LISTA DE TABELAS

Tabela 1.	Composição química do ovo integral cru e ovo integral em pó (g/100g)	04
Tabela 2.	Vitaminas e minerais presentes no ovo inteiro cru e ovo integral em pó	05
Tabela 3.	Consumo <i>per capita</i> de ovos e seus produtos nos Estados Unidos	20
Tabela 4.	Parâmetros de pasteurização de produtos de ovo líquido autorizados pela legislação americana	22
Tabela 5.	Requisitos de tempo/temperatura para pasteurização de produtos líquidos de ovo segundo a legislação brasileira	23
Tabela 6.	Dados das amostras de ovo integral em pó utilizadas	35
Tabela 7.	Laudo técnico do GUARDIAN™ TOCO 70	37
Tabela 8.	Parâmetros de validação da metodologia para colesterol e óxidos de colesterol	42
Tabela 9.	Umidade, lipídeos totais e colesterol em amostras de ovo integral em pó comercial da marca A, analisadas ao 60º dia após a fabricação e o armazenamento por até 180 dias	48
Tabela 10.	Umidade, lipídeos totais e colesterol em amostras de ovo integral em pó comercial da marca A, analisadas ao 60º dia após a fabricação e o armazenamento por até 180 dias	49
Tabela 11.	Umidade, lipídeos totais e colesterol em amostras de ovo integral em pó comercial da marca C, analisadas ao 60º dia após a fabricação e o armazenamento por até 180 dias	50

Tabela 12.	Substâncias que reagem ao ácido tiobarbitúrico - TBARS (mg/kg, em base seca) em amostras de ovo integral em pó, analisadas ao 60º dia após a fabricação e o armazenamento por até 180 dias, referentes às marcas A, B e C	51
Tabela 13.	7-cetocolesterol (7-Ceto) ($\mu\text{g/g}$ de lipídeos) em amostras de ovo integral em pó, analisadas ao 60º dia após a fabricação e o armazenamento por até 180 dias, referentes às marcas A, B e C	54
Tabela 14.	25-hidroxicolesterol (25-OH) ($\mu\text{g/g}$ de lipídeos) em amostras de ovo integral em pó, analisadas ao 60º dia após a fabricação e o armazenamento por até 180 dias, referentes às marcas A, B e C	55
Tabela 15.	Umidade e lipídeos totais em amostras de ovo líquido integral pasteurizado e ovo integral em pó	60
Tabela 16.	Substâncias que reagem ao ácido tiobarbitúrico – TBARS (mg/kg) em amostras de ovo líquido integral pasteurizado e ovo integral em pó	61
Tabela 17.	Ácidos graxos livres (% de ácido oléico) em amostras de ovo líquido integral pasteurizado e ovo integral em pó	64
Tabela 18.	Carotenóides totais ($\mu\text{g/g}$) em amostras de ovo líquido integral pasteurizado e ovo integral em pó	65
Tabela 19.	Colesterol (mg/100g) em amostras de ovo líquido integral pasteurizado e ovo integral em pó	68
Tabela 20.	7-cetocolesterol ($\mu\text{g/g}$ de lipídeos) em amostras de ovo líquido integral pasteurizado e ovo integral em pó	69

Tabela 21.	7 α -hidroxicolesterol ($\mu\text{g/g}$ de lipídeos) em amostras de ovo líquido integral pasteurizado e ovo integral em pó	69
Tabela 22.	7 β -hidroxicolesterol ($\mu\text{g/g}$ de lipídeos) em amostras de ovo líquido integral pasteurizado e ovo integral em pó	70
Tabela 23.	25-hidroxicolesterol ($\mu\text{g/g}$ de lipídeos) em amostras de ovo líquido integral pasteurizado e ovo integral em pó	70
Tabela 24.	Fenólicos totais (mg de ácido gálico / 100g de amostra) em amostras de ovo líquido integral pasteurizado e ovo integral em pó	73
Tabela 25.	Umidade (g/100g) e lipídeos totais (g/100g) em amostras de ovo integral em pó adicionadas ou não de tocoferóis e armazenadas por até 90 dias	77
Tabela 26.	Colesterol (mg/100g) em amostras de ovo integral em pó adicionadas ou não de tocoferóis e armazenadas por 90 dias	78
Tabela 27.	Substâncias que reagem ao ácido tiobarbitúrico -TBARS (mg/kg) em amostras de ovo integral em pó adicionadas (com AO) ou não (sem AO) de tocoferóis e armazenadas por até 90 dias	80
Tabela 28.	Ácidos graxos livres (% de ácido oléico) em amostras de ovo integral em pó adicionadas (com AO) ou não (sem AO) de tocoferóis e armazenadas por até 90 dias	83
Tabela 29.	Carotenóides totais ($\mu\text{g/g}$) em amostras de ovo integral em pó adicionadas (com AO) ou não (sem AO) de tocoferóis e armazenadas por até 90 dias	86

Tabela 30.	7-cetocolesterol ($\mu\text{g/g}$ de lipídeos) em amostras de ovo integral em pó adicionadas (com AO) ou não (sem AO) de tocoferóis e armazenadas por até 90 dias	89
Tabela 31.	7 α -hidroxicolesterol ($\mu\text{g/g}$ de lipídeos) em amostras de ovo integral em pó adicionadas (com AO) ou não (sem AO) de tocoferóis e armazenadas por até 90 dias	90
Tabela 32.	7 β -hidroxicolesterol ($\mu\text{g/g}$ de lipídeos) em amostras de ovo integral em pó adicionadas (com AO) ou não (sem AO) de tocoferóis e armazenadas por até 90 dias	91
Tabela 33.	25-hidroxicolesterol ($\mu\text{g/g}$ de lipídeos) em amostras de ovo integral em pó adicionadas (com AO) ou não (sem AO) de tocoferóis e armazenadas por até 90 dias	92

LISTA DE FIGURAS

Figura 1.	Estrutura química do colesterol livre e esterificado	07
Figura 2.	Esquema da estrutura básica mostrando as diferenças entre o colesterol e óxidos comuns (R1 e R2)	09
Figura 3.	Autoxidação do colesterol	13
Figura 4.	Planejamento experimental utilizado para a caracterização de amostras comerciais e avaliação da ocorrência de OsC livres	35
Figura 5.	Planejamento utilizado para a avaliação do efeito da adição de tocoferóis ao ovo integral em pó armazenado sobre a estabilidade oxidativa do colesterol	38
Figura 6.	Comportamento do 7-Ceto ($\mu\text{g/g}$ de lipídeos) em amostras de ovo integral em pó, analisadas ao 60º dia após a fabricação e o armazenamento por até 180 dias, referentes às marcas A, B e C	56
Figura 7.	Comportamento da umidade ($\text{g}/100 \text{ g}$) (Tabelas 9,10 e 11) e do 7-Ceto ($\mu\text{g/g}$ de lipídeos) (Tabela 13) em amostras de ovo integral em pó, analisadas ao 60º dia após a fabricação e o armazenamento por até 180 dias, referentes às marcas A, B e C	58
Figura 8.	Tendência da termodegradação do colesterol a 170°C , avaliada por cromatografia líquida de alta eficiência	72

LISTA DE ABREVIATURAS

25-OH	25-hidroxicolesterol
5,6 α -epoxi	5,6 α -epoxicolesterol
5,6 β -epoxi	5,6 β -epoxicolesterol
7 α -OH	7 α -hidroxicolesterol
7 β -OH	7 β -hidroxicolesterol
7-Ceto	7-cetocolesterol
α -TF	α -tocoferol
ACT	Acetato de α -tocoferol
AO	Antioxidante
BHA	Butilato de hidróxianisol (<i>butylated hydroxyanisole</i>)
BHT	butilhidroxitolueno (<i>Butylated hydroxytoluene</i>)
DAM	Malonaldeído ou dialdeído malônico
DP	Desvio-padrão
GT70	GUARDIAN™ TOCO 70
HDL	Lipoproteínas de alta densidade
LD	Limite de detecção
LDL	Lipoproteínas de baixa densidade
LQ	Limite de quantificação
LT	Lipídeos totais
OsC	Óxidos de colesterol
PUFA	Ácido graxo poliinsaturado
TBA	Ácido tiobarbitúrico
TBARS	Substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico

TBHQ	Terc Butil Hidroquinona (<i>Tert-butylhydroquinone</i>)
TCA	Ácido tricloroacético
TEP	1,1,3,3-tetraetoxipropano
Triol	Colestanotriol

Óxidos de colesterol em ovo em pó comercial: ocorrência e efeito do processamento e da adição de tocoferóis no produto armazenado

O ovo em pó é amplamente utilizado na indústria de alimentos, sendo reconhecidamente rico em óxidos de colesterol (OsC) devido às altas temperaturas utilizadas durante o processo. O armazenamento em embalagens inadequadas, presença de ar e a alta concentração lipídica do produto são fatores adicionais para sua formação. Os óxidos de colesterol formados, por sua vez, apresentam propriedades biológicas prejudiciais à saúde, relacionadas com a aterogenicidade, citotoxicidade, carcinogenicidade e mutagenicidade, além de outras manifestações que prejudicam a biossíntese do colesterol no organismo e a permeabilidade da membrana celular. Os objetivos do estudo foram caracterizar amostras comerciais de ovo integral em pó e a ocorrência de óxidos de colesterol, avaliar o efeito do processamento por atomização comercial na estabilidade oxidativa do colesterol e de ácidos graxos, e avaliar o efeito da adição de tocoferóis (aditivo comercial) ao ovo em pó armazenado (90 dias) à temperatura ambiente sobre a estabilidade oxidativa do colesterol. Foram encontrados 7-cetocolesterol (7-Ceto) e 25-hidroxicolesterol (25-OH) em todas as marcas analisadas, mas somente o 7-Ceto teve um aumento expressivo durante o armazenamento de até 180 dias, independente da marca. A atomização gerou redução das TBARS e dos carotenóides totais somente em alguns lotes analisados e redução expressiva nos ácidos graxos livres e fenólicos totais em todos os lotes. Com relação aos óxidos de colesterol, não houve o efeito esperado. Houve aumento do 7-Ceto, 7 α -hidroxicolesterol e 7 β -hidroxicolesterol somente em poucos lotes. A adição do antioxidante (AO) não evitou o aumento das TBARS e dos ácidos graxos livres, ou redução dos carotenóides totais ao longo do tempo (90 dias). Apesar da atomização não causar o efeito esperado nos OsC, o armazenamento aumentou significativamente os valores de 7-Ceto a partir dos 60 dias na maioria dos lotes. Não foi encontrada diferença estatística entre os valores de 25-OH devido à alta variação nos mesmos. Contudo a adição de AO reduziu a formação de alguns OsC e das TBARS, em relação ao seu controle no mesmo período, demonstrando uma melhora significativa no produto final.

Palavras-Chave: Óxidos de colesterol. Ovo em pó. Atomização. Armazenamento. Antioxidante.

Cholesterol oxides in commercial egg powder: occurrence and effect of processing
and the addition of tocopherols in the product stored

Egg powder is widely used in food industry, being recognized as rich in cholesterol oxides (Cops) due to the high temperatures used during the process. The storage in inadequate packaging, the presence of air and high lipid concentration of the product are additional factors for their formation. The cholesterol oxides formed have biological properties harmful to health, like atherogenicity, cytotoxicity, mutagenicity and carcinogenicity, and other events that affect the cholesterol biosynthesis in the body and the membrane permeability. The aim of this study was to evaluate the occurrence of cholesterol oxides in commercial product, the effect of atomization in the liquid egg, and oxidative stability of cholesterol in egg powder storage with the addition of an commercial antioxidant (GUARDIAN™ TOCO 70). It was found 7-ketocholesterol (7-k) and 25-hydroxycholesterol (25-OH) in all brands tested, but only the 7-k increased significantly during the storage of up to 180 days, regardless of brand. The spray-dryer generated reduction of TBARS and total carotenoids only in some samples analyzed and significant reduction in free fatty acids and total phenolics in all lots. There wasn't the expected effect for the cops. There was an increase of 7-k, 7 α -hydroxycholesterol and 7 β -hydroxycholesterol only in a few lots. The addition of antioxidant (AO) did not prevent the increase in TBARS and free fatty acids, or reduction of total carotenoids over time (90 days). Despite the spray-dryer does not cause the expected effect on the Cops, storage significantly increased the values of 7-k from 60 days in most lots. There was no statistical difference between the values of 25-OH due to their high variation. However the addition of AO reduced the formation of some Cops and TBARS in relation to its control over the same period, showing a significant improvement in the final product.

Key words: Cholesterol oxides. Whole egg powder. Spray-dry. Storage. Antioxidant.

1 INTRODUÇÃO

A União Brasileira de Avicultura (UBA) relatou que em 2007 foram produzidas 67.367.363 caixas de ovos de galinha, com 30 dúzias cada. Em 2008, no período de janeiro a agosto, a produção foi de 41.671.446 caixas, com uma redução de 9,51% no mesmo período do ano anterior.

Apesar disso, a indústria de produção de ovos tende a crescer visando à exportação do produto *in natura* ou mesmo do ovo em pó. Uma prova disso é o esforço crescente dos produtores de Minas Gerais. O estado é atualmente o segundo maior produtor de ovos do país, com um volume de quase 200 mil toneladas em 2008. Já exporta 10% da sua produção, que representa 60% da exportação brasileira de ovos *in natura*, para países do Oriente Médio, principalmente os Emirados Árabes Unidos, Omã e Catar. Outro grande comprador de ovos para consumo é a África, seguido pelo Caribe e Japão.

Isso se deve ao preço pago pelo produto no exterior. Os dados do Ministério de Desenvolvimento, Indústria e Comércio Exterior (MDIC) mostram que a cotação do ovo teve aumento de 14,8%, nos dois últimos anos, com o quilo passando de US\$ 1,15 em 2007 para US\$ 1,43 em 2008. Atualmente o mercado interno paga entre R\$2,50 e R\$2,78 (cotação de 23/02/2009).

Entretanto, as exportações não visam somente o ovo *in natura*, o ovo em pó também tem o seu mercado externo garantido. São Paulo é o maior produtor de ovos do Brasil, representando cerca de 40% da produção total. Além disso, é o maior produtor de ovo em pó nacional contando com quatro fábricas. As vantagens do ovo em pó, com relação ao ovo *in natura*, são o aumento do período da validade do produto e seu custo-benefício.

A validade dos ovos *in natura* é cerca de 30 dias, a do ovo líquido pasteurizado de 15 dias, mantido refrigerado, enquanto a do ovo em pó varia de 6 a 12 meses.

O ovo em pó é destinado aos setores de panificação, indústrias de massa, pães de queijo, biscoitos, confeitarias e cozinhas industriais. Apesar do custo de produção do ovo em pó ser alto, o ganho é obtido com a redução das perdas durante o transporte e armazenagem, onde boa parte dos ovos *in natura* é perdida.

Em julho de 2008, o Rio Grande do Sul se tornou o quarto estado brasileiro a produzir ovo em pó. A Naturovos, em Salvador do Sul, no Vale do Caí investiu na compra de um equipamento com capacidade de produção de 150 toneladas ao mês, e na ampliação de sua granja para atender a demanda da produção. Esta produção é destinada ao mercado interno e externo, com destino a Europa, Oriente Médio e Ásia, apenas no mercado atacadista, para indústrias de alimentos.

Deste modo geral, a indústria do ovo em pó tende a crescer com a finalidade de atender a alta produção de ovos e fornecer um produto de custo-benefício satisfatório para os mercados interno e externo.

Estudos com o objetivo de quantificar, reduzir ou eliminar a oxidação lipídica (ácidos graxos e colesterol) em ovo em pó, que acarreta a formação de substâncias tóxicas à saúde e a conseqüente deterioração, se tornam necessários para a avaliação do processo industrial e obtenção de um produto adequado.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Valor nutricional do ovo

O ovo é um alimento com propriedades nutricionais excepcionais, onde se destaca o valor biológico de sua proteína (SIM, 1998; BERTECHINI, 2003; INSTITUTO DE ESTÚDIOS DEL HUEVO, 2003). A composição em aminoácidos essenciais é o reflexo do alto valor biológico do produto, tornando o ovo uma referência em estudos nutricionais envolvendo proteína (TESEDO et al., 2006).

A casca representa 12% da composição do ovo, sendo formada basicamente de camadas de cristais de carbonato de cálcio. A clara, ou albúmen, participa com 56%. É constituída por mais de 13 proteínas, sendo a ovoalbumina e ovotransferrina as principais (66% da proteína total da clara). A gema representa 32% do ovo e contém a maior fração de nutrientes essenciais, como vitaminas, proteínas, fosfolípidos, ácidos graxos essenciais e minerais (BERTECHINI, 2003).

Apesar de ser um alimento quase completo, o ovo é deficiente de vitamina C e pobre em cálcio, uma vez que a maioria deste nutriente está presente na casca, como carbonato. Além disso, a quantidade de ácidos graxos, vitaminas e minerais depende da presença destes nutrientes na dieta das aves, podendo ainda variar com a idade, raça ou linhagem e estação do ano. Estas variações geralmente são discretas para a maioria dos nutrientes, com exceção dos ácidos graxos (STADELMAN e SCHMIEDER, 2005).

O ovo é também um alimento multifuncional. Certos componentes seus tem a habilidade de se coagular, quando aquecidos, e outros atuam como emulsificante ou formador de espuma, quando submetidos à agitação. Por isso o ovo pode ser usado

em alguns doces e coberturas açucaradas, dando cor ou sabor, e minimizando a formação de cristais (STADELMAN e SCHMIEDER, 2005).

Nas Tabelas 1 e 2 constam a composição química básica, de vitaminas e minerais do ovo.

Tabela 1 - Composição química do ovo integral cru e ovo integral em pó (g/100g)

Componente	Ovo integral cru	Ovo integral em pó
Umidade	71,94	4,00
Proteínas	13,86	44,00
Lipídeos totais	11,66	38,00
Carboidratos totais	1,42	9,00
Cinzas	1,12	5,00

Fonte: Faculdade de Ciências Farmacêuticas/USP, 2009.

Segundo NOBLE et al. (1990), os lipídeos representam 33% do peso total da gema e 65% de sua matéria seca. Como sua origem é plasmática, a principal fração lipídica da gema são os triglicérides (63,2%), seguidos dos fosfolipídeos (29,7%) e colesterol livre (4,9%). O colesterol esterificado representa 1,3% e os ácidos graxos livres 0,9%.

Segundo o IBGE (INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA, 2008), no 1º trimestre de 2008 foram produzidas 570,5 mil dúzias de ovos de galinha pelas unidades produtoras com efetivos acima de 10.000 aves poedeiras, seja de ovos para incubação e produção de matrizes ou para consumo. Ao comparar esse volume de produção com o obtido no mesmo período de 2007, verificou-se aumento de produção de 8,2%. Existe, no entanto, um baixo consumo de ovos no Brasil, quando comparado a outros países. TESEDO et al. (2006) afirmam que cada europeu consome 252 ovos/ano, sendo de 320 ovos/ano a estimativa para os norte-americanos. O presidente da Associação Paulista de Avicultura, Érico Pozzer, afirmou que o consumo *per capita* brasileiro é de 132 ovos

por habitante/ano (V CONGRESSO DE PRODUÇÃO, COMERCIALIZAÇÃO E CONSUMO DE OVOS, 2007).

Tabela 2 - Vitaminas e minerais presentes no ovo inteiro cru e ovo integral em pó

	Unidade	Ovo integral cru	Ovo integral em pó
Minerais			
Cálcio, Ca	mg	53	231
Ferro, Fe	mg	1,83	3,79
Magnésio, Mg	mg	12	42
Fósforo, P	mg	191	831
Potássio, K	mg	134	493
Sódio, Na	mg	140	523
Zinco, Zn	mg	1,11	5,28
Cobre, Cu	mg	0,102	0,196
Manganês, Mn	mg	0,038	0,125
Flúor, F	mcg	1,1	n.c.
Selênio, Se	mcg	31,7	119,6
Vitaminas			
Tiamina	mg	0,069	0,125
Riboflavina	mg	0,478	1,540
Niacina	mg	0,070	0,305
Ácido pantotênico	mg	1,438	5,905
Vitamina B-6	mg	0,143	0,388
Folato, total	mcg	47	171
Folato, alimento	mcg	47	171
Folate, (DFE)	mcg_DFE	47	171
Colina, total	mg	251,1	1007,2
Betaína	mg	0,6	n.c.
Vitamina B-12	mcg	1,29	3,95
Vitamina A, RAE	mcg_RAE	140	275
Retinol	mcg	139	270
Caroteno, beta	mcg	10	41
Criptoxantina, beta	mcg	9	36
Vitamina A	IU	487	997
Luteína + zeaxantina	mcg	331	1329
Vitamina E (alfa-tocoferol)	mg	0,97	3,88
Tocoferol, beta	mg	0,02	n.c.
Tocoferol, gama	mg	0,50	n.c.
Tocoferol, delta	mg	0,02	n.c.
Vitamina D	IU	35	188
Vitamina K (filoquinona)	mcg	0,3	1,2

USDA National Nutrient Database for Standard Reference, Release 21 (2008)

n.c. = não consta na tabela.

DFE = equivalentes de folato dietético.

RAE = Equivalente de Atividade de Retinol.

O ovo integral cru ou em pó não possuem vitamina C, ácido fólico, α -caroteno e licopeno.

Com o baixo consumo de ovos, perdemos a oportunidade de consumir um alimento ricamente composto de substâncias essenciais. O ovo apresenta a maior quantidade de nutrientes essenciais totais à nutrição humana em relação ao seu conteúdo calórico quando comparado com qualquer outro alimento (BERTECHINI, 2003).

A percepção negativa do alto conteúdo de colesterol tornou o ovo um alimento a ser evitado, pela relação com doenças cardiovasculares (SIM, 1998). Contudo, novos estudos baseados em evidências clínicas e epidemiológicas relatam que o colesterol da dieta não é fator de incidência de doenças cardiovasculares. O problema é que nem todo aumento do colesterol plasmático está relacionado ao aumento do risco de doenças cardiovasculares, especialmente quando a intervenção, restrição do colesterol através da dieta, não altera os valores de lipoproteínas de baixa densidade (LDL) e lipoproteínas de alta densidade (HDL) (McNAMARA, 2005). Além disso, não há relação comprovada entre o consumo de ovos e o aumento do nível de frações do colesterol, consideradas maléficas à saúde. É importante esclarecer que o ovo é um alimento altamente nutritivo e de baixo custo (BRANDÃO et al., 2005).

2.2 Colesterol

O colesterol é um esteroide de 27 carbonos presente em todos os tecidos animais. Sua estrutura química (Figura 1a) é composta por um núcleo policíclico, com quatro anéis ligados entre si (A, B, C e D), uma cadeia lateral hidrocarbônica ramificada, ligada ao C-17 no anel D, um grupo hidroxila β -orientado ligado ao C-3 do anel A, e uma dupla ligação entre o C-5 e o C-6 do anel B. Quando o colesterol

está na sua forma esterificada, existe um resíduo de ácido graxo ligado ao C-3 (ligação éster) no lugar do grupo hidroxila (Figura 1b) (MAERKER, 1987; FENTON, 1992; MONTGOMERY, 1994; KING, 1995; FNB/IOM, 2004).

Está presente na membrana celular de todos os tecidos de origem animal, regulando a sua fluidez, e pode ocorrer em plantas, em mínima quantidade, e em algas marinhas (WASOWICZ, 2003; ROCHA et al., 2007).

Participa do metabolismo de vitaminas lipossolúveis, A, D, E e K, sendo ainda o principal precursor da pró-vitamina D₃ e de hormônios esteróides, como o estrógeno, testosterona e aldosterona. Ainda possui um importante papel na síntese dos ácidos biliares (FENTON, 1992; FAUST e JASSAL, 1993; FNB/IOM, 2004).

O colesterol é mais abundante nos tecidos que mais sintetizam ou que possuam membranas densamente agrupadas em maior número, como o fígado, medula espinhal e cérebro.

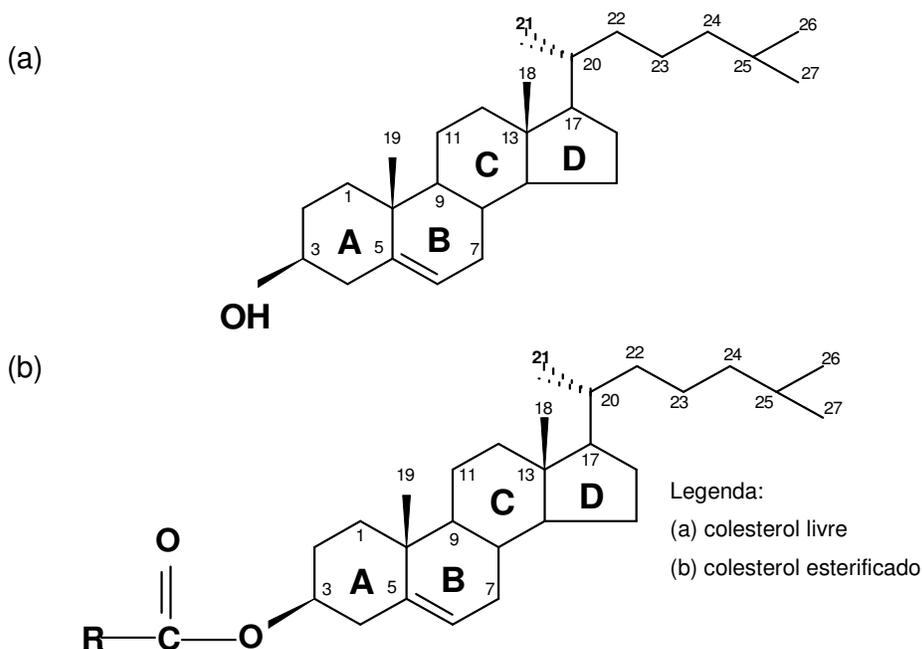


Figura 1 - Estrutura química do colesterol livre e esterificado
Fonte: GUARDIOLA et al, 2002

2.3 Óxidos de colesterol

Devido à insaturação presente entre o C-5 e C-6, o colesterol se torna susceptível a oxidação (SMITH 1981; MAERKER, 1987). Os óxidos de colesterol (OsC) são estudados devido à sua ligação com uma série de atuações biológicas deletérias e doenças em humanos, incluindo aterogênese, citotoxicidade, mutagênese e carcinogênese (IMAI et al. 1980; SMITH e JOHNSON, 1989; FONTANA et al., 1992; GUARDIOLA et al., 1996; LIENSEISEN e WOLFRAM, 1998a; TAI et al., 1999; O'BRIEN et al. 2000; GUARDIOLA et al., 2002; MORALES-AIZPURÚA e TENUTA-FILHO, 2002). Além disso, são capazes de mudar as propriedades da membrana celular e inibir a ação da hidroximetilglutaril-CoA redutase (HMG-CoA redutase), utilizada na biossíntese do colesterol, inibindo assim a formação do colesterol (MOREL e LIN, 1996; SCHROEPFER, 2000). Curiosamente o mecanismo de inibição da HMG-CoA redutase é utilizado, através das estatinas, para a redução do colesterol hepático e o aumento do número de receptores da LDL (MARQUES, 2001).

Dezenas de OsC já foram identificadas. Os mais comuns em alimentos são: 7-cetocolesterol (7-Ceto), 7 α -hidroxicolesterol (7 α -OH), 7 β -hidroxicolesterol (7 β -OH), 5,6 α -epoxicolesterol (5,6 α -epoxi), 5,6 β -epoxicolesterol (5,6 β -epoxi), 20-hidroxicolesterol (20-OH), 22-hidroxicolesterol (22-OH), 25-hidroxicolesterol (25-OH), 26-hidroxicolesterol (26-OH) e colestanoetriol (Triol) (TAI et al., 1999; WASOWICZ, 2003).

Os óxidos de colesterol possuem uma estrutura similar à do colesterol, mas contém um oxigênio funcional adicional como o grupo hidroxila, ou um grupo

cetônico ou um grupo epóxido, no núcleo esteróide ou na cadeia lateral da molécula (Figura 2) (MOREL e LIN, 1996).

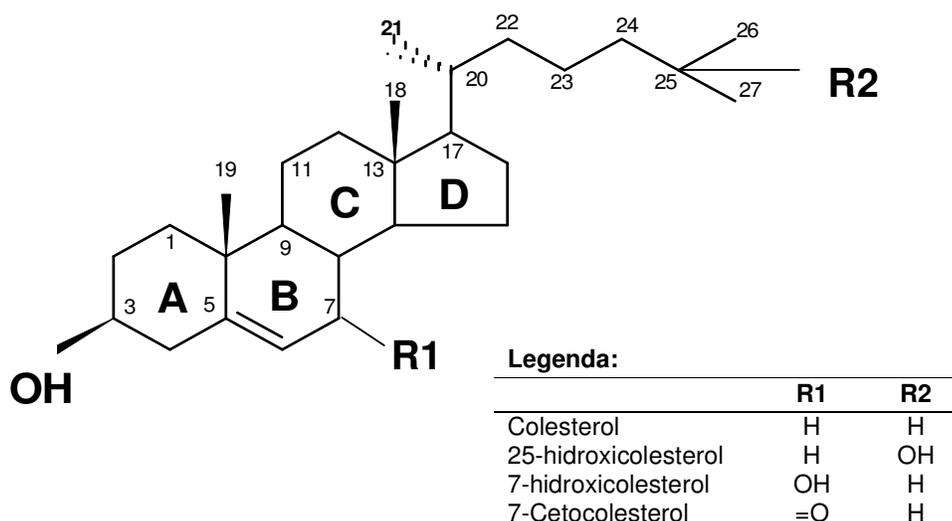


Figura 2 - Esquema da estrutura básica mostrando as diferenças entre o colesterol e óxidos comuns (R1 e R2)

Fonte: MOREL e LIN, 1996.

OsC estão presentes em nossa dieta e são encontrados em alimentos com alto teor de colesterol como carnes, ovos, manteiga, queijos (O'BRIEN et al., 2000) e pescado (GUARDIOLA et al., 2002). Outros alimentos como pães e biscoitos podem conter OsC, uma vez que para sua fabricação são usados ingredientes como manteiga, ovos ou leite (ADDIS et al., 1996; GUARDIOLA et al., 2002). ZUNIN et al. (1995) encontraram quantidades significativas de 7-cetocolesterol em biscoitos preparados com ovo em pó.

Geralmente o OsC mais encontrado em alimentos é o 7-Ceto e, por isso, é considerado indicador da oxidação do colesterol (ADDIS et al., 1996; MORALES-AIZPURÚA e TENUTA-FILHO, 2002; HUR et al., 2007). Em contrapartida, o 25-OH e o Triol ocorrem em concentrações muito baixas. Mesmo

assim HUR et al. (2007) afirmam que a quantidade total de OsC pré-existente no alimento frequentemente varia em torno de 1% do colesterol total, alcançando um valor de 10% , ou mais, ocasionalmente.

Segundo LYONS e BROWN (1999), o 7-Ceto é o OsC mais encontrado em placas aterogênicas, sendo mais aterogênico que o próprio colesterol. KUMAR e SINGHAL (1991) sugeriram que os óxidos mais aterogênicos são o 25-OH e Triol, pelo seu efeito citotóxico.

Altos níveis de OsC são encontrados em tecidos ricos em colesterol, como cérebro, estrias gordurosas ou placas ateroscleróticas nas quais a concentração de OsC pode ser até 100 vezes mais do que a do plasma (BROWN e JESSUP, 1999).

2.3.1 Formação

A oxidação do colesterol ocorre pela insaturação presente no anel B e posições alílicas a ele, e pela presença de dois átomos de carbono terciários na cadeia lateral (MAERKER, 1987). Apesar do C4 representar um ponto sensível à oxidação na estrutura da molécula, devido a presença do grupo hidroxila em C3 e de um carbono terciário em C5, raramente são produzidos óxidos oriundos do C4 (WASOWICZ, 2003).

Nos seres vivos, os óxidos de colesterol de origem endógena podem ser formados tanto por via enzimática como não-enzimática, por autooxidação (GUARDIOLA et al., 1996; LEONARDUZZI et al., 2002; WASOWICZ, 2003).

Pela via enzimática, a oxidação ocorre basicamente no fígado e em tecidos geradores de hormônios esteróides. Os óxidos produzidos possuem papel fisiológico conhecido na biossíntese dos ácidos biliares e hormônios esteróides (CRASTES DE

PAULET et al., 1990; GUARDIOLA et al., 1995a; GUARDIOLA et al., 1996; SMITH, 1996). Deste modo é impossível afirmar se os OsC prejudiciais ao organismo são provenientes dos alimentos ou foram gerados endogenamente (WASOWICZ, 2003).

Nos alimentos, os óxidos são formados por mecanismos não-enzimáticos conhecidos como autooxidação, peroxidação lipídica e oxidação fotoquímica, sendo o primeiro o mais conhecido (SMITH, 1990; LINSEISEN e WOLFRAM, 1998a). Todos os alimentos que contém colesterol são susceptíveis à formação dos óxidos, especialmente aqueles que foram desidratados, com o uso de altas temperaturas e/ou processados na presença de oxigênio.

Em todas estas condições, os alimentos são expostos às formas reativas do oxigênio, como a triplete ou singlete ($^3\text{O}_2$ e $^1\text{O}_2$, respectivamente), peróxido de hidrogênio (H_2O_2), radical hidroxila (OH) e as formas diatômicas (O_2) e triatômicas (O_3) do oxigênio (LINSEISEN e WOLFRAM, 1998b; LEONARDUZZI et al., 2002).

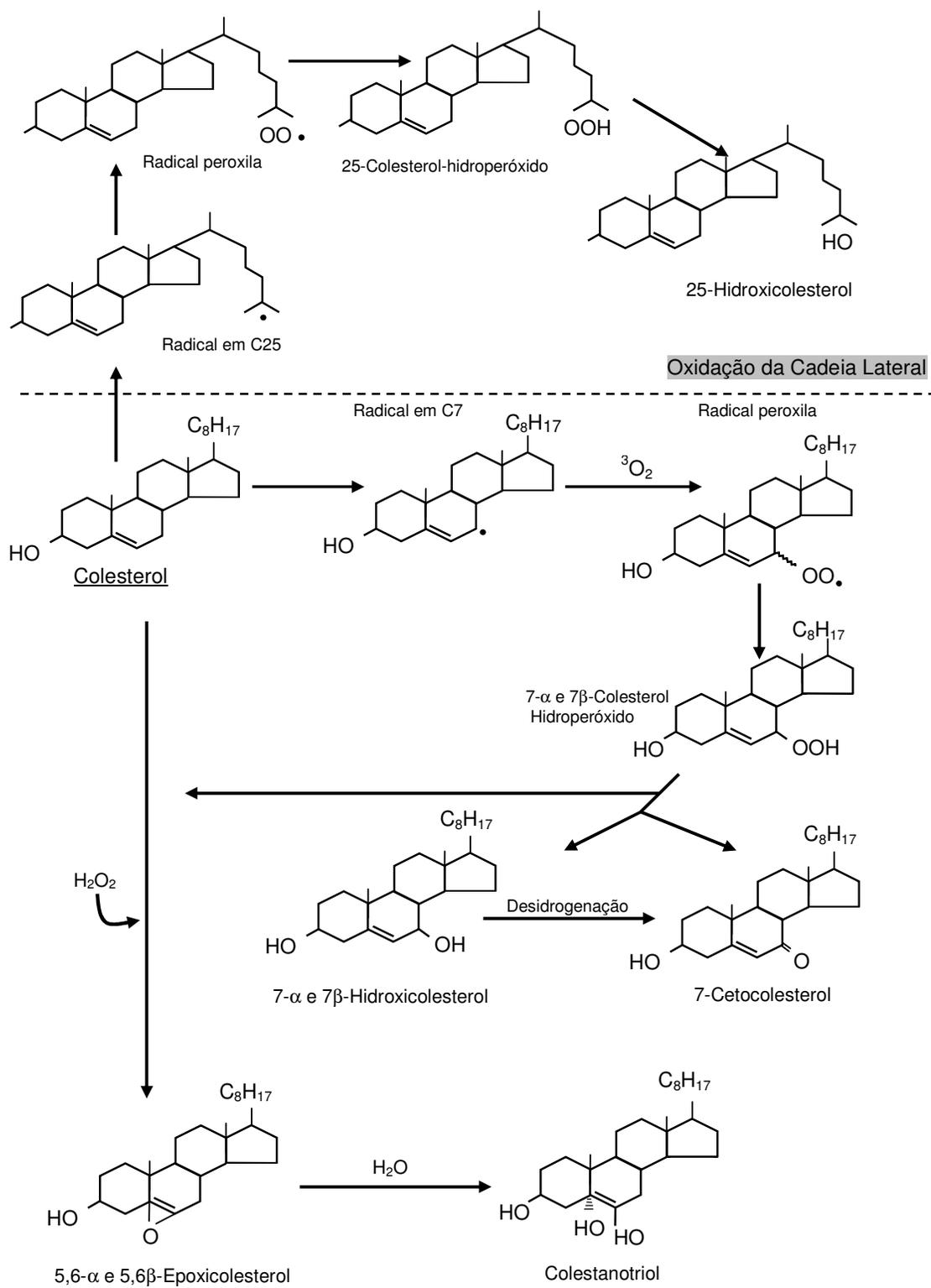
A autooxidação é uma cadeia de reações envolvendo radicais livres, provenientes da oxidação de outras gorduras ou do próprio colesterol (RAVIA e WATSON, 2002). Geralmente é causada pelo oxigênio triplete ($^3\text{O}_2$), formando um radical no carbono alílico 7, gerado por radiação ou outro radical. Este radical gerado reage com o oxigênio triplete formando um radical peroxila que se estabiliza com a fixação do hidrogênio, formando o colesterol 7 α - e 7 β -hidroperóxido. Estes hidroperóxidos são termicamente instáveis e se decompõem em 7 α - e 7 β -OH e, posteriormente, em 7-Ceto (GUARDIOLA et al., 2002).

Outro mecanismo de oxidação tem chamado a atenção, no qual acil-ésteres de colesterol formados com ácidos graxos poliinsaturados estão sujeitos à oxidação, inicialmente produzindo ésteres de colesterol envolvendo hidroperóxidos de ácidos

graxos com posterior reação destes para ésteres de 7-colesterol hidroperóxidos. As formas epiméricas de 7-colesterol hidroperóxidos são reduzidas para liberar 7 α -OH e 7 β -OH, ou são desidrogenados, gerando 7-Ceto (WASOWICZ, 2003; LEITINGER, 2003).

Na cadeia lateral podem ocorrer reações de transferência de radicais que formam radicais peroxila e seus correspondentes hidroperóxidos. Estes, por sua vez, dão lugar a uma série de hidroxicolesteróis (20-OH, 24-OH, 25-OH, 26-OH e 27-OH) (GUARDIOLA et al., 1995a). Destes, os que se destacam, são os formados a partir dos carbonos terciários da cadeia lateral, o 20-OH e 25-OH (MAERKER, 1987).

Outros óxidos são formados pela interação de um radical hidroperoxila com o colesterol, na presença do peróxido de hidrogênio. É o caso do 5,6 α - e 5,6 β -epoxi que, através da hidratação em meio ácido formará o Triol (GUARDIOLA et al., 2002). O processo de autoxidação está demonstrado na figura 3.



Fonte: Smith, 1987; Smith, 1990; Moura, 1999.

Figura 3 - Autoxidação do colesterol

2.3.2 Fatores de oxidação

A extensão da oxidação do colesterol nos alimentos depende mais da composição do alimento em si, bem como da tecnologia utilizada para o seu processamento (WASOWICZ, 2003). É sabido que quantidades muito altas de OsC são encontradas no ovo em pó (ZUNIN et al., 1996). Mas a quantidade de OsC formados nos alimentos parece depender mais dos fatores de oxidação envolvidos do que da quantidade de colesterol existente (RAVIA e WATSON, 2002). Um exemplo disso está nos alimentos em pó. São encontrados aproximadamente 200 e 30 $\mu\text{g/g}$ de OsC em ovo em pó (PIE, SPAHIS e SEILLAN, 1990) e em leite em pó (CHAN et al., 1993), respectivamente, enquanto ovos e leite frescos contém somente traços ou nenhum OsC detectável (SARANTINOS, O'DEA e SINCLAIR, 1993; GUARDIOLA et al., 2002).

Outro caso semelhante foi relatado por TSAI e HUDSON (1984) ao encontrarem epoxicolesteróis (α e β) em ovo ou gema desidratados frescos, sendo que os mesmos não foram identificados em ovos frescos ou liofilizados.

Os OsC podem ser gerados durante o processamento quando exposto a altas temperaturas, oxigênio, radiação e radicais livres (CSALLANY et al., 1989; MAERKER e JONES, 1992). Além disso, o armazenamento inadequado pode levar à sua formação (BRINKERHOFF et al., 2002). De uma forma geral, luz, calor, atividade de água, oxigênio, pH e a presença íons metálicos são os principais fatores que influenciam a formação de OsC durante processamento ou armazenamento (MORGAN e ARMSTRONG, 1992; SANDER et al., 1989; AHN et al., 1999; TAI et al., 1999; MORALES-AIZPURÚA e TENUTA-FILHO, 2002; OBARA et al., 2006; HUR et al., 2007).

Outro fator a ser considerado é o perfil lipídico do alimento. Segundo a literatura, a peroxidação de ácidos graxos insaturados em pescado precede a oxidação do colesterol, produzindo radicais livres que atuam como aceleradores desta última (PANIANGVAIT et al., 1995; TAI et al., 2000). LI et al. (1996) incorporaram padrão de colesterol (testado para ausência de OsC) em óleos de girassol, dendê, linhaça e peixe, aquecendo todos a 110°C por 22 horas. Inicialmente apenas óleo de peixe continha OsC, 11,6 µg/g. O resultado encontrado foi a formação de 28,5; 56,5; 31,3 e 152,2 µg/g de OsC total para linhaça, girassol, dendê e óleo de peixe respectivamente. Este último foi o único no qual o Triol ocorreu.

O macarrão produzido com ovo em pó pode conter grande quantidade de óxidos, em função de os métodos de secagem da massa utilizarem temperaturas que variam de 70 a 90°C, durante 10 horas, ou mais. O tempo e a temperatura devem portanto ser monitorados (ZUNIN et al., 1996), principalmente quando a secagem é por aquecimento direto, o qual produz mais OsC que método indireto (LAI et al., 1995).

2.3.3 Óxidos de colesterol no ovo em pó

Conforme o que foi anteriormente descrito, o ovo em pó é particularmente rico em óxidos de colesterol. Por serem amplamente utilizados na indústria de panificação e de macarrão, o ovo fresco ou em pó, assim como alimentos que os contenham, foram motivos de atenção em vários estudos envolvendo a oxidação do colesterol.

SARANTINOS, O'DEA e SINCLAIR (1993) encontraram cerca de 55 a 113 mg/100g de OsC total em gema em pó, sendo os epóxidos os mais abundantes. Também descobriram que ovos fritos, mesmo em condições domésticas, resultam na formação de OsC.

Segundo PANIANVGAIT et al. (1995), ovos desidratados por atomização, bem como cozidos ou fritos, foram incluídos em estudos de diversos autores. O conteúdo de OsC totais nestes produtos variou de 0 a 200 µg/g.

Dados da literatura fornecem valores variados, como por exemplo, 79 µg/g para gema em pó e 111 µg/g para ovo integral em pó. Porém, um fato relevante é a presença de 25-OH e Triol em ovos e seus produtos quando desidratados por atomização (TAI et al., 2000).

Segundo O'BRIEN et al. (2000), os epoxicolesteróis (α e β) foram relatados em maior concentração em ovos e derivados. Alimentos como macarrão, bolos, biscoitos e maionese também são fonte significativas de OsC.

LERCKER e RODRIGUEZ-ESTRADA (2000) quantificaram o 7-Ceto em vários alimentos de origem animal, bem como naqueles com adição de ovos. Em ovo integral em pó, com 44% de lipídeos, foram encontrados de 2,9 a 10,4 mg de 7-Ceto por quilo de lipídeos.

TENUTA-FILHO et al. (2003) relataram concentrações de $110,54 \pm 11,82$ µg/g e $112,67 \pm 13,52$ µg/g de 7-Ceto e 25-OH, respectivamente, em gema em pó. O 7-Ceto e 25-OH não foram detectados em gema fresca.

BOSELLI et al. (2004a) avaliaram a adição de ovo fresco orgânico (a), ovo comercial (b) ou ovo em pó reconstituído (c), na preparação doméstica de macarrão. Em comparação com o macarrão comercial, o preparado domesticamente continha a metade do colesterol encontrado. Os conteúdos de OsC encontrados foi 1,7, 3,5 e

3,6 µg/g nas amostras “a”, “b” e “c” respectivamente. Além disso, o processo caseiro (secagem por 48 horas a 30° C) levou a formação de 7-Ceto e 7α-OH ao invés de 5,6α-epoxi.

Ao avaliarem 5 marcas de ovo em pó comercial, ESCARABAJAL e TENUTA-FILHO (2005) encontraram em média $84,01 \pm 5,34$ µg de 7-Ceto livre/g de lipídeos, em todos os lotes analisados. Foi constatada uma correlação significativa ($r = 0,8093$) entre o 7-Ceto e as substâncias que reagem ao ácido tiobarbitúrico (TBARS).

MORALES-AIZPURÚA e TENUTA-FILHO (2005) avaliaram o efeito do armazenamento a 4 e 25°C, na ausência de luz, sobre a oxidação do colesterol em maionese comercial. Na amostra controle (com 15 dias de fabricação) foi verificada uma concentração de 7-Ceto de $1,99 \pm 0,59$ µg/g. Com exceção do 7-Ceto ($5,78 \pm 0,61$ µg/g para 4°C e $5,72 \pm 0,73$ µg/g para 25°C), nenhum outro óxido entre os examinados foi encontrado nas amostras armazenadas durante 135 dias/4°C e 75 dias/25°C. Aos 165 dias de armazenamento, as concentrações de OsC totais atingiram $20,34 \pm 1,34$ µg/g (com $7,38 \pm 1,14$ µg/g de 7-Ceto) e $30,16 \pm 1,13$ µg/g (com $7,15 \pm 1,61$ µg/g de 7-Ceto), a 4 e 25°C respectivamente.

Ao avaliarem o efeito do processamento (atomização e liofilização) e da atividade de água em ovo integral e gema, OBARA et al. (2006) encontraram uma maior formação de OsC total no produto atomizado em comparação ao liofilizado. Porém, após o armazenamento de 3 meses em temperatura ambiente, foi constatado que o ovo integral em pó (43,53 a 45,10 % de lipídeos) continha uma quantidade maior de OsC em relação a gema em pó (60,19 a 63,38 % de lipídeos), independentemente do processamento utilizado. Isso demonstra a influência da umidade e da atividade de água na amostra, mesmo em pequena quantidade.

MAZALLI et al. (2006) avaliaram métodos de quantificação do colesterol e seus óxidos em ovo em pó comercial e encontraram $2,5 \pm 0,38$ mg/g, $5,18 \pm 0,50$ mg/g, $6,17 \pm 0,88$ mg/g, $9,73 \pm 1,09$ mg/g e $17,63 \pm 1,87$ mg/g de 7-Ceto, 7 α -OH, 7 β -OH, 5,6 α -epoxi e 5,6 β -epoxi respectivamente, em base seca. Na gema de ovo fresco foram relatados valores baixos de 7-Ceto, 7 α -OH e 7 β -OH e ausência de epóxidos.

Ao avaliarem o efeito do armazenamento na formação de OsC e na estabilidade de ácidos graxos em ovo em pó, MAZALLI e BRAGGAGNOLO (2007) demonstraram aumento da quantidade dos óxidos com simultânea redução de ácidos graxos poliinsaturados. A quantidade inicial encontrada nas amostras foi de 1 a 8; 3 a 6; 4 a 9; 3 a 10 e 6 a 18 μ g/g de 7-Ceto, 7 β -OH, 7 α -OH, 5,6 α -epoxi e 5,6 β -epoxi, respectivamente. Ainda foi constatada a presença de ácidos graxos *trans*, o que causa certa preocupação pelo amplo uso do ovo em pó na indústria alimentícia. No Brasil não existe legislação que determine uma quantidade máxima permitida de gordura *trans* nos alimentos processados, porém a Organização Pan-americana de Saúde (OPAS) com o objetivo de eliminar estas gorduras nas Américas propõe, entre outras medidas, sua limitação de até 5% nos alimentos processados. Ainda solicita a declaração a apresentação do conteúdo de gorduras *trans* nos fast foods e a limitação da venda de alimentos contendo este tipo de gordura nas escolas (BRASIL, 2009).

2.4 Processamentos de ovos

A indústria de ovos evoluiu muito com a melhoria de equipamentos e novas tecnologias de pasteurização e secagem. O aprimoramento tecnológico fez com que

o consumo crescesse ao longo dos anos. Aproximadamente 30% do consumo atual de ovos são na forma de produtos processados (Tabela 3). O consumo *per capita* de ovos *in natura* também aumentou (FRONING, 2008).

Um dos fatores que contribuiu ao incremento do consumo de ovos e seus produtos industriais foi o fato de que não existe relação comprovada entre o aumento do colesterol plasmático com a ingestão de ovos (LEE e GRIFFIN, 2006).

A partir dos ovos são produzidos muitos produtos, para segmentos de mercado como: maionese, massas, panificação, doces, sorvetes, achocolatados, bebidas, cosméticos, ração animal, nutrição esportiva, entre outros. Exemplos mais conhecidos são: ovo líquido, gema e clara pasteurizadas, gema congelada com adição prévia de sal ou açúcar, ovo integral, clara e gema em pó, além de modificações específicas, como uso de determinada proporção de gema em pó para maionese (uso industrial), ou adição de insumos, como o preparado à base de gema pasteurizada para quindim (uso doméstico). Atualmente no Brasil, a produção industrial baseia-se nos produtos pasteurizados e atomizados. Uma parcela menor do mercado atua na liofilização.

Tabela 3 – Consumo *per capita* de ovos e seus produtos nos Estados Unidos

Ano	Consumo total de ovos (unidade)	Produtos de ovos (%)
1996	234,6	28,0
1997	235,7	29,1
1998	239,7	29,3
1999	249,8	30,1
2000	251,7	30,5
2001	252,8	30,2
2002	255,9	30,6
2003	254,7	28,7
2004	257,1	29,8
2005	255,1	30,9

Fonte: American Egg Board (2006, junho)

2.4.1 Ovo líquido pasteurizado

A pasteurização visa fornecer um produto homogêneo e livre de microorganismos patogênicos como a salmonela. Segundo CUNNINGHAM (1994), a pasteurização de ovos se tornou praticamente obrigatória a partir de junho de 1966, com a regularização das inspeções em plantas de produção norte americanas. Em 1970, foi decretado que todos os produtos de ovos deveriam estar livres de salmonela através de processos de pasteurização adequados.

Na fabricação de um produto líquido pasteurizado, o ovo *in natura* passa por uma série de etapas. Inicialmente é realizado o recebimento e armazenamento da matéria- prima, com os ovos são já classificados. Ocorre então a higienização automatizada através de lavagem em solução alcalina, com escovas, para a

remoção de sujidades aderidas. Depois, os ovos seguem para a ovoscopia, onde é feita a verificação da qualidade interna do produto.

A quebra automática dos ovos é feita em equipamentos próprios e higienizados com regularidade. A própria máquina executa a separação da gema, clara, ovo integral e cascas. Nesta etapa, 100% dos ovos são inspecionados; existindo alguma irregularidade, o ovo será descartado do processo, através de mecanismo de segurança existente.

Após a etapa de quebra, a clara, a gema e o ovo integral são filtrados em linhas independentes, para remoção das chalazas e membranas, e conduzidos aos tanques de padronização, onde será feita a mistura de gema e clara, como também adição de insumos. É nesta etapa que são realizadas as formulações necessárias, como a adição de sal ou açúcar.

A pasteurização é feita em equipamento próprio. Seu fundamento baseia-se na utilização de alta temperatura durante um período curto de tempo com rápida refrigeração posterior, sem promover o cozimento do produto e não afetando o seu sabor, odor, cor e valores nutricionais. Os produtos são embalados e armazenados em câmara fria para posterior distribuição (FAMAOVOS INDÚSTRIA E COMÉRCIO DE OVOS LTDA., 2009).

A tabela 4 mostra parâmetros de pasteurização aprovados pela legislação americana (USDA, 1980; FDA, 2002). As temperaturas e tempos mínimos exigidos para a pasteurização mudam conforme a formulação utilizada no produto. No Brasil, a pasteurização dos produtos líquidos de ovos é regulada pela Portaria nº 01 “Normas Gerais de Inspeção de Ovos e Derivados”, da Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA (BRASIL, 1990). O processo deverá estar sob condições e requisitos definidos de tempo e temperatura ajustados às características

de cada produto, garantindo desta forma a eficiência completa dos procedimentos de pasteurização utilizados (Tabela 5).

Tabela 4 – Parâmetros de pasteurização de produtos de ovo líquido autorizados pela legislação americana

Produtos de ovo líquido	Temperatura mínima (°C)	Tempo mínimo requerido (min.)
Clara sem aditivos	56,7-55,6	3,5-6,2
Ovo integral	60,0	3,5
Mistura de ovo integral (< 2% de ingredientes que não sejam ovos)	61,1-60,0	3,5-6,2
Ovo integral fortificado (24-36% de sólidos, 2-12% de aditivos)	62,2-61,1	3,5-6,2
Ovo integral salgado (≥ 2%)	63,2-62,2	3,5-6,2
Ovo integral com açúcar (≥ 2%)	61,1-60,0	3,5-6,2
Gema líquida	61,1-60,0	3,5-6,2
Gema líquida salgada (≥ 2%)	63,3-62,2	3,5-6,2
Gema líquida com açúcar (≥ 2%)	63,3-62,2	3,5-6,2

Fonte: FDA (2002); USDA (1980).

Há muita semelhança entre os valores aceitos na legislação americana (Tabela 4) e brasileira (Tabela 5) em relação à temperatura. No entanto, em alguns casos, há uma diferença considerável no tempo mínimo requerido para alguns produtos, como por exemplo, misturas de ovo integral com menos de 2% de ingredientes que não sejam ovos.

Tabela 5 - Requisitos de tempo/temperatura para pasteurização de produtos líquidos de ovo segundo a legislação brasileira

Produtos líquidos	Requisitos mínimos de temperatura (°C)	Requisitos mínimos de tempo (minutos)
Clara de ovo (sem utilização de produtos químicos)	56,7 – 55,5	3,5 – 6,0
Ovo integral	60,0	3,5
Misturas c/ ovo integral (com menos de 2% de ingredientes que não sejam ovos)	61,0	3,5
Ovo integral fortificado e misturas (24 -38% de sólidos de ovo, ≤ 2% de ingredientes que não sejam ovos)	62,0 – 61,0	3,5 – 6,2
Ovo integral salgado (c/ 2% mais de sal adicionado)	63,5	3,5
Ovo integral doce (≤ 2% de açúcar adicionado)	61,0	3,5
Gema pura	61,0 – 60,0	3,5 – 6,2
Gema doce (≤ 2% de açúcar adicionado)	63,5 – 62,0	3,5 – 6,2
Gema salgada (2 12% de adicionado)	63,5 – 62,0	3,5 – 6,2

Fonte: Brasil, 1990.

2.4.2 Ovo em pó

A desidratação faz com que a água (essencial ao desenvolvimento de microorganismos contaminantes) ao ser removida traga benefícios ao alimento: concentração de nutrientes, diminuição do peso e volume, praticidade no manuseio e transporte, utilização da produção de ovos excedente e o aumento do prazo de validade, principalmente. Um exemplo disso, é o aumento de 7-10 dias do prazo de

validade sob refrigeração do ovo líquido pasteurizado, para 6 meses a 1 ano do ovo em pó, com a vantagem deste último não necessitar mais da refrigeração.

A produção de ovo em pó nos Estados Unidos começou na década de 30, estimulada posteriormente pela necessidade do exército americano por alimentos em pó (FRONING, 2008). No Brasil, a produção de ovos é mais recente e a pioneira, em larga escala, foi a Sohovos em 1975. Esta empresa começou a produzir ovo em pó com atomizador próprio somente em 1994; antes disso, alugava torres de desidratação de leite para a produção.

Basicamente existem dois métodos que podem ser utilizados para a desidratação de alimentos: baixa temperatura (liofilização) e alta temperatura (atomização). Os equipamentos utilizados para isso podem variar um pouco, utilizando desidratação em placas ou cilindros.

A liofilização é o processo de retirada de água dos alimentos por meio da sublimação. O alimento é submetido rapidamente a baixas temperaturas e colocado em câmaras de alto vácuo. Com isto, a água de seu interior passa diretamente do estado sólido para o gasoso, sem rompimento das paredes celulares ou perda de nutrientes (LIOTÉCNICA TECNOLOGIA DE ALIMENTOS, 2009). Uma das principais vantagens deste método é justamente o uso de baixa temperatura, o que não geraria a oxidação lipídica.

A atomização, ou *spray-drying*, tornou-se o mais importante método para a desidratação de alimentos líquidos, como leite, café e ovo, sendo também amplamente utilizado na indústria química e farmacêutica. É um método onde soluções ou suspensões são rapidamente desidratadas pela pulverização do líquido em forma de gotículas em uma câmara climatizada. Consiste dos seguintes passos:

- ✓ Pré-concentração de líquidos;

- ✓ Atomização (criação de gotículas);
- ✓ Secagem em fluxo de calor, gás seco (normalmente ar);
- ✓ Separação de pó do gás úmido;
- ✓ Refrigeração;
- ✓ Embalagem do produto.

Normalmente são necessárias altas temperaturas para a desidratação por atomização. Mesmo assim, é possível que o calor cause menos danos aos produtos devido ao resfriamento evaporativo posterior e ao curto tempo de exposição do material desidratado em altas temperaturas (MALVERN INSTRUMENTS LTD, 2009).

No caso do ovo em pó, o processo é realizado a partir do armazenamento do ovo líquido pasteurizado resfriado em tanques-pulmão isotérmicos. Do tanque-pulmão, o produto é bombeado por meio de bomba sanitária, vazão regulável, que fornece pressão suficiente para que o mesmo seja pulverizado no topo da câmara de desidratação, onde se converte em névoa fina.

O produto então, na forma de pequenas gotículas, entra em contato com uma corrente de ar quente, com temperatura de entrada de 200 °C a 220 °C, transformando-se em partículas desidratadas que se sedimentam no fundo cônico da torre de desidratação.

A corrente de ar quente e o produto em pó seguem para os ciclones especiais, nos quais ocorre a separação do ar e do material sólido. A temperatura de saída do ar é a que controla a umidade do produto, variando de 88 a 90°C. O ar é eliminado pela chaminé enquanto o sólido, após passar por uma válvula rotativa, é recolhido (desviado por gravidade) em duto, sendo submetido a seguir a uma peneira vibratória antes de ser ensacado. O produto desidratado apresenta umidade máxima de 4,0% (FAMAOVOS INDÚSTRIA E COMÉRCIO DE OVOS LTDA., 2009)

Ao contrário do que ocorre no caso da pasteurização, no Brasil não há legislação que limite a temperatura, mínima ou máxima, e tempo de desidratação, referentes ao ovo em pó. A Portaria Nº 01 da ANVISA (BRASIL, 1990) dá a definição de “ovo desidratado”, como sendo o produto resultante da desidratação do ovo, em conformidade com Art. 753 do Regulamento de Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal - RIISPOA (BRASIL, 1952), estabelecendo que o mesmo deve satisfazer às seguintes condições:

1. Não conter mais de 300.000 (trezentos mil) germes por grama e estar isento de germes patogênicos, leveduras ou outros que indiquem deterioração ou manipulação defeituosa;
2. Não conter mais de 6% (seis por cento) de umidade;
3. Revelar resíduo seco tendo aproximadamente a mesma composição que o deixado pelos ovos inteiros, ou pela clara ou pela gema;
4. Não conter conservadores, exceção feita para o sal (cloreto de sódio) ou açúcar, na proporção máxima de 10% (dez por cento), isoladamente ou quando associados, calculados sobre o resíduo seco;
5. Satisfazer outras exigências deste Regulamento na parte que lhes for aplicável.

O fabricante de ovo em pó determina a temperatura utilizada conforme o custo-benefício do produto final. A escolha ocorre de acordo com a entrada da matéria-prima e saída de ovo em pó. A temperatura determina a vazão da bomba. Quanto maior a temperatura, maior será a velocidade da bomba, uma vez que está enviando mais produto, e precisa se adequar à vazão, promovendo mais rapidez na desidratação. Por esse motivo, as temperaturas de entrada e saída são

dependentes da vazão da bomba e a diferença entre ambas garante a estabilidade do sistema.

Outro fator importante é o tipo de queimador e o gás utilizado no equipamento. O queimador pode ser de queima direta ou indireta e o gás normalmente é o ar quente, pelo custo mais baixo. Em estudos realizados com atomizadores menores (escala de laboratório) é empregado o nitrogênio, por ser um gás inerte.

2.5 Antioxidantes

Com a finalidade de minimizar os danos dos OsC à saúde humana, maneiras de prevenir ou reduzir a oxidação lipídica têm sido estudadas, sendo uma delas a utilização de antioxidantes. Uma vez que produtos de origem animal são fontes de OsC, a prevenção de sua formação durante o processamento, armazenamento ou preparação doméstica se torna importante (VALENZUELA, SANHUEZA e NIETO; 2003).

A dieta é importante na saúde humana. Desta forma, o ovo pode representar um alimento de qualidade indiscutível por ser uma fonte rica e balanceada de aminoácidos e ácidos graxos essenciais, além de vitaminas e minerais. Para melhorar a qualidade nutricional, alguns compostos podem ser adicionados ao ovo, por meio da ração, como ácidos graxos poliinsaturados (série ômega-3), vitaminas (carotenóides, vitamina E, etc) e minerais, como o selênio. Além do enriquecimento nutricional desejado, há um aumento na capacidade antioxidante do ovo, que será útil no processamento e armazenamento do produto (SURAI e SPARKS; 2001).

O uso de antioxidantes (artificiais ou naturais) em alimentos é regulado por legislação específica, que define principalmente a quantidade a ser adicionada (BRASIL, 1988). O antioxidante escolhido é adicionado diretamente na dieta das aves poedeiras (WAHLE, HOPPE e McINTOSH, 1993; LAI et al., 1996; GRUNE et al., 2001; GALOBART et al., 2001a; GALOBART et al., 2001b; GALOBART et al., 2001c; FRANCHINI et al., 2002; GALOBART et al., 2002; GÓMEZ, MENDONÇA-JUNIOR e MANCINI-FILHO, 2003; PITA et al., 2004; BOTSOGLOU et al., 2005; LIU et al., 2009) ou, no caso dos ovos, em fases de seus processamentos.

2.5.1 Adição de antioxidantes no ovo em pó

Antioxidantes naturais ou artificiais têm sido usados em pesquisas com ovo em pó. No momento, há a preocupação de pesquisadores procurando alternativas eficazes visando a substituição dos antioxidantes artificiais pelos de origem natural, devido a uma possível toxicidade com o uso prolongado. Nesse sentido, a vitamina E, extrato de alecrim, carotenóides e alguns flavonóides têm recebido muita atenção. Uma vez que a oxidação do colesterol ocorre por meio de radical livre, é natural o uso de antioxidantes que atuem de maneira eficaz contra a oxidação de ácidos graxos poliinsaturados, já que o mecanismo oxidativo é o mesmo. Entretanto, os resultados encontrados são diversos e até contraditórios (VALENZUELA, SANHUEZA e NIETO, 2003).

HUBER, PIKE e HUBER (1995) observaram que a adição de uma mistura de tocoferóis (230 µg/g lipídeos) ou BHA (100 µg/g lipídeos) reduzem significativamente a formação de 7-Ceto, 7α-OH e 7β-OH. Além disso, 230 µg de

palmitato de ascorbila/g de lipídeos reduziam a formação de 7-Ceto e 7 β -OH, durante o armazenamento de gema em pó mantida em condições de oxidação acelerada (presença de Cu⁺², a 60°C). Esses antioxidantes impediram a formação de Triol e epóxidos, durante o armazenamento.

Os antioxidantes citados anteriormente foram utilizados por BRINKERHOFF et al. (2002) durante um armazenamento estendido (36 meses) de gema em pó, em temperatura ambiente. O BHA e a mistura de tocoferóis inibiram a formação de 7-Ceto, mas não de 7 α -OH, 7 β -OH, Triol, 5,6 α -epoxi e 25-OH.

GUARDIOLA et al. (1997) avaliaram o efeito da adição de palmitato de ascorbila, dl- α -tocoferol e galato de propila em ovo em pó, sob várias condições. O uso de uma temperatura mais baixa durante a atomização resultou em menor formação de OsC, tanto no processo quanto no armazenamento. A embalagem laminada, sob vácuo, foi altamente eficiente na prevenção da oxidação do colesterol. O galato de propila (100 e 200 μ g/g) foi o mais eficaz na prevenção da redução de ácidos graxos poliinsaturados, formação de OsC e alteração da cor, durante o processamento e armazenamento. Um fato importante relatado, foi a ocorrência de sinergismo entre o palmitato de ascorbila e dl- α -tocoferol causando um efeito prooxidante, nas concentrações de 100 e 200 μ g/g.

LAI et al. (1995) demonstraram que o extrato de alecrim (500 μ g/g lipídeos) dificultou a formação de OsC, durante o processamento com sistema de aquecimento indireto e no armazenamento, de ovo em pó. Contudo, nem o extrato de alecrim e nem o TBHQ (Butilhidroquinona terciária), preveniram a formação de OsC em ovo em pó processado com sistema de aquecimento direto. Os autores atribuíram este fato à possível volatilização dos antioxidantes durante o processamento.

DU e AHN (2000) observaram que a adição de 100 µg/g de vitamina E ou BHT em gema de ovo, antes da atomização, evitou a formação de OsC durante o armazenamento no escuro, em temperatura ambiente, durante 3 meses.

A suplementação dietética das aves com altas concentrações de tocoferóis inibiu a formação de OsC em ovo em pó obtido com elevadas temperaturas durante a atomização (LAI et al., 1996)

Utilizando concentrações que variaram entre 25 e 200 mg de acetato de α -tocoferol (ACT), WAHLE, HOPPE e McINTOSH (1993) relataram a redução do total de OsC formado durante o armazenamento de 18 meses, no escuro, em temperatura ambiente.

GALOBART et al. (2002) também fizeram uso de 200 mg / kg de ACT na suplementação da dieta das aves, havendo uma redução efetiva na formação de OsC em ovo em pó enriquecido com ácidos graxos poliinsaturados (n-3 ou n-6), armazenado por 6 e 12 meses, no escuro, em temperatura ambiente.

LI, CHERIAN e SIM (1996) observaram que a suplementação da dieta das aves com uma mistura de tocoferóis (700 mg/kg), quando submetida ao enriquecimento com óleos de peixe (OP), óleo de linhaça (OL), óleo de dendê (OD) ou óleo de girassol (OG), respectivamente reduziu a concentração de OsC total em 62,4; 44,3; 62,9 e 46,1%, conforme foi verificado em gema em pó armazenada por 4 meses.

O mesmo ocorreu com LAI et al. (1996) que, ao suplementarem a dieta das aves com ACT (200mg/kg), inibiram a formação de OsC durante a atomização e armazenamento de ovo integral mesmo com o uso de aquecimento direto.

Em alguns dados já mencionados (WAHLE, HOPPE e McINTOSH, 1993; LI, CHERIAN e SIM, 1996; GALOBART et al., 2002), foi evidenciada uma

proteção efetiva do ACT somente para o ovo em pó armazenado, mas não no produto recém atomizado. Isso pode estar relacionado ao tipo de aquecimento existente no equipamento usado no estudo. Nos casos apontados foi empregado o aquecimento indireto, o qual propicia condições menos prejudiciais de oxidação.

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo Geral

- √ Avaliação do processo de produção do ovo integral em pó visando o conhecimento da estabilidade oxidativa do colesterol, em relação ao produto recém produzido, sob armazenamento e adicionado de antioxidantes.

3.2 Objetivos específicos

- √ Caracterização de amostras comerciais de ovo integral em pó e a ocorrência de óxidos de colesterol;
- √ Avaliação do efeito do processamento de ovo integral em pó por atomização comercial na estabilidade oxidativa do colesterol e de ácidos graxos;
- √ Avaliação do efeito da adição de tocoferóis (aditivo comercial) ao ovo integral em pó armazenado (90 dias) à temperatura ambiente sobre a estabilidade oxidativa do colesterol.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Reagentes

Foram usados o n-Hexano, grau HPLC – Vetec, código 2042, iso-propanol grau HPLC – Sigma-Aldrich, código 27.049-0, colesterol (5-cholesten-3 β -ol) - Sigma Chemical Co., código C8667, 7-cetocolesterol (3 β -hidroxicolest-5-en-7-ona) - Sigma Chemical Co., código C2394, 7 α -hidroxicolesterol (colest-5-en-3 β -7 α -diol) – Steraloids Inc., código C6420, 7 β -hidroxicolesterol (colest-5-en- β -7 β -diol) – Steraloids Inc., código C6430, 25-hidroxicolesterol (colest-5-en-3 β -25-diol) - Sigma Chemical Co., código H1015, hidroxitolueno butilado (*Butylated hydroxytoluene*) - Sigma Chemical Co., código W218405, além de acetona, ácido clorídrico, ácido tiobarbitúrico, ácido tricloroacético, álcool etílico, álcool metílico, clorofórmio, éter de petróleo, hexano, hidróxido de potássio, hidróxido de sódio e sulfato de sódio anidro, todos com grau de pureza analiticamente compatível.

4.2 Planejamento

Para o cumprimento dos objetivos o estudo foi dividido em três módulos, com enfoque: na ocorrência de óxidos de colesterol em amostras comerciais de ovo integral em pó; no efeito da atomização industrial, usada na obtenção de ovo integral em pó, sobre a estabilidade oxidativa do colesterol; e, no efeito de antioxidante natural comercial adicionado ao ovo integral em pó armazenado, sobre a estabilidade oxidativa do colesterol.

4.2.1 Caracterização de amostras comerciais de ovo integral em pó e a ocorrência de óxidos de colesterol

A primeira parte do trabalho teve como finalidade avaliar amostras disponíveis no mercado quanto à presença de óxidos de colesterol, adquiridas comercialmente ou obtidas por doação de indústrias produtoras. As análises foram realizadas quando cada amostra completou 60, 120 e 180 dias da data de fabricação. O armazenamento se deu à temperatura ambiente com as amostras mantidas nas embalagens originais. Antes de cada tomada de ensaio as amostras foram homogeneizadas mecanicamente sob atmosfera de nitrogênio. Após a tomada de ensaio, as amostras foram compactadas manualmente em suas embalagens originais, para a máxima retirada possível do ar residual, e lacradas empregando fita adesiva.

As análises realizadas foram: umidade, lipídeos totais e colesterol, apenas no 60º dia, TBARS e OsC livres (7-Ceto e 25-OH), conforme a figura 4 e tabela 6.

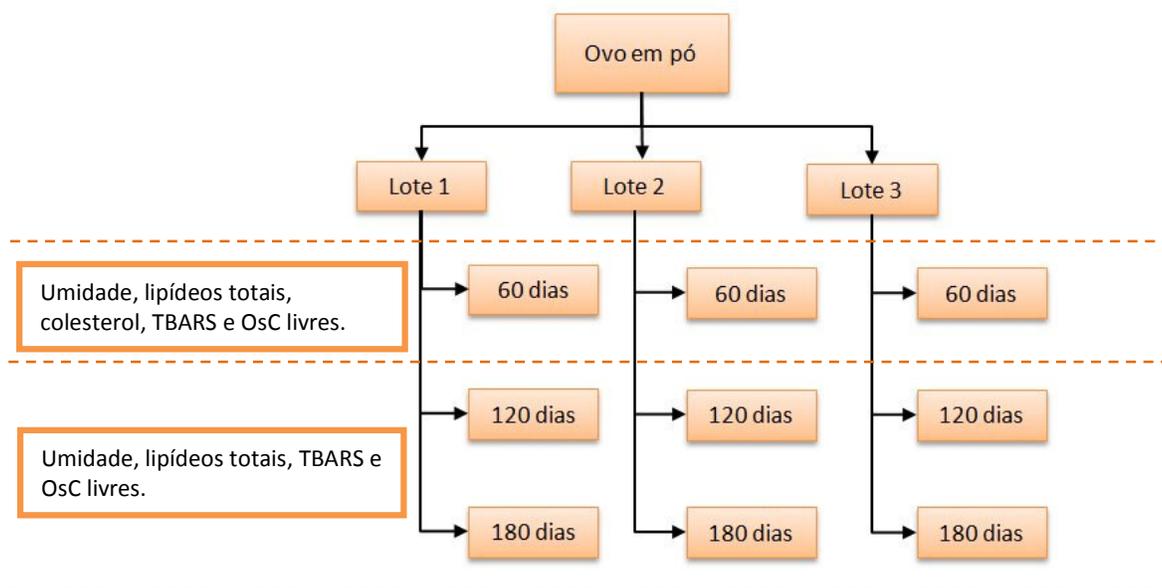


Figura 4 – Planejamento experimental utilizado para a caracterização de amostras comerciais e avaliação da ocorrência de OsC livres

Tabela 6 - Dados das amostras de ovo integral em pó utilizadas

	Lote	Fabricação	Validade
Marca A	I-60/07	08/07/2007	04/01/2008
	I-66/07	18/07/2007	14/01/2008
	I-76/07	10/08/2007	06/02/2008
Marca B	19307	31/07/2007	31/07/2008
	19507	03/08/2007	03/08/2008
	21607	22/09/2007	22/09/2008
Marca C	6909	16/09/2007	12 meses
	6920	19/09/2007	12 meses
	6962	01/10/2007	12 meses

4.2.2 Avaliação do efeito do processamento de ovo integral em pó na estabilidade oxidativa do colesterol e de ácidos graxos

Esta parte dependeu da obtenção de amostras industriais pertencentes ao mesmo lote e, por isso, foi contatada uma indústria cuja planta situava-se próxima ao local de estudo. Havendo um dia de intervalo, entre a pasteurização do ovo líquido integral e a sua atomização, as amostras industriais foram coletadas com dois dias de fabricação no caso da matéria-prima correspondente e um dia para o ovo em pó integral produzido.

As análises realizadas com o ovo líquido integral pasteurizado e o ovo em pó correspondente foram: umidade, lipídeos totais, colesterol, OsC livres (7-Ceto, 7 α -OH, 7 β -OH e 25-OH), TBARS, ácidos graxos livres, carotenóides totais e fenólicos totais.

4.2.3 Avaliação do efeito da adição de tocoferóis ao ovo integral em pó armazenado sobre a estabilidade oxidativa do colesterol

Foi selecionada uma das marcas de ovo integral em pó utilizadas anteriormente (Tabela 6) e estabelecido um período de armazenamento de 90 dias, com análises programadas a cada 30 dias (0, 30, 60 e 90 dias).

As amostras foram coletadas na própria indústria, com até 2 dias após a data de fabricação. Cada lote correspondeu a 1 quilo do produto, submetido a uma prévia homogeneização por meio de agitação manual em saco plástico, sob atmosfera de nitrogênio, durante 5 minutos, e repartido em duas partes.

A primeira parte foi novamente homogeneizada, sob atmosfera de nitrogênio, e repartida em 4 outras, para atender as análises das amostras controle (0,30,60 e 90 dias). À segunda parte foi adicionada 0,03% de tocoferóis, correspondentes ao antioxidante comercial GUARDIAN™ TOCO 70 (DANISCO®), cuja composição consta na tabela 7. O antioxidante foi previamente homogeneizado com amido de milho, que serviu como veículo, e nessa forma incorporado ao ovo integral em pó, na concentração de 1% do peso total da amostra, com auxílio de um processador de alimentos (Walita Philips RI7633/80 de 600W), com injeção constante de nitrogênio, durante 1 minuto. Por fim, o ovo integral em pó adicionado de antioxidante foi repartido em 4 partes iguais, para atender as análises programadas (0,30,60 e 90 dias). O uso de nitrogênio visava evitar uma oxidação adicional gerada pela homogeneização.

Tabela 7 – Laudo técnico do GUARDIAN™ TOCO 70

Composição	
Mistura natural de tocoferóis IP (E 306)	70
Óleo vegetal IP	30
Especificações físico-químicas	
Forma à 25°C	Líquido, viscoso
Cor	Red ou avermelhado a marrom
Tocoferóis totais	Mín. 70%
D-alfa tocoferol	Máx. 15%
(D-Beta, -Gama, -Delta) tocoferóis	Mín. 59%

Fornecido com a amostra, pelo fabricante.

Todas as porcentagens são por peso.

IP = Identidade preservada.

As amostras, com e sem antioxidante, foram individualmente mantidas em bolsas herméticas de polietileno de baixa densidade (ZipLoc®), permeáveis ao

oxigênio, durante o período de armazenamento. Cada bolsa foi compactada manualmente para a máxima retirada do ar. Antes da tomada de ensaio, cada amostra foi passada através de tamis de náilon ($0,2\text{mm}^2$), para homogeneização.

As análises realizadas foram: umidade, lipídeos totais, colesterol (somente no dia 0), OsC livres (7-Ceto, $7\alpha\text{-OH}$, $7\beta\text{-OH}$ e 25-OH), TBARS, ácidos graxos livres e carotenóides totais, conforme a figura 5.

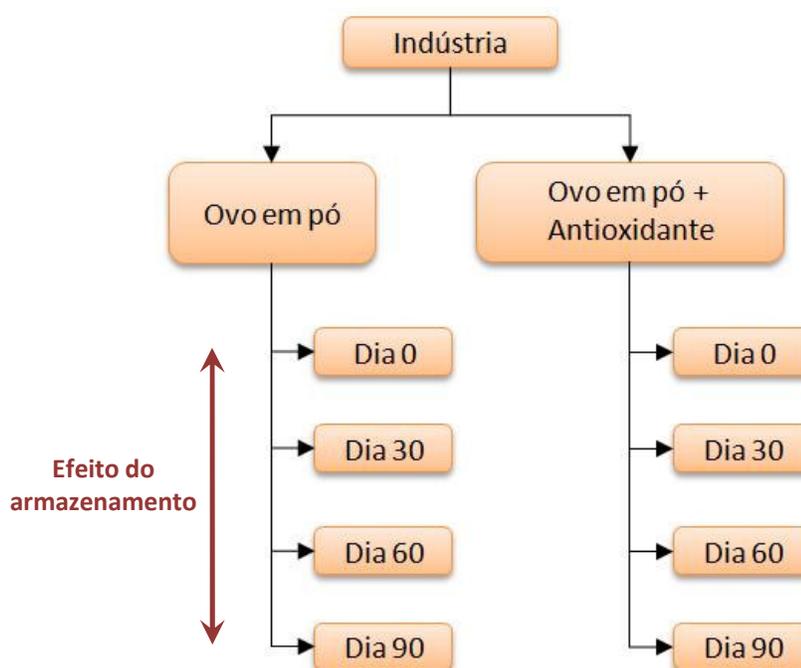


Figura 5 – Planejamento utilizado para a avaliação do efeito da adição de tocoferóis ao ovo integral em pó armazenado sobre a estabilidade oxidativa do colesterol

4.3 Métodos analíticos

4.3.1 Umidade

A umidade foi determinada gravimetricamente segundo as NORMAS ANALÍTICAS DO INSTITUTO ADOLFO LUTZ (2005). Amostra, com peso

aproximado de 2,5 g, foi colocada em cadinho de porcelana previamente tarado, dessecada em estufa a 105°C/18 horas, resfriada em cristizador contendo sílica gel e pesada.

4.3.2 Lipídeos totais

Os lipídeos totais foram determinados por gravimetria, após a extração com clorofórmio e metanol na proporção de 2:1(v:v), segundo os métodos de FOLCH et al. (1957), com adição de NaCl 0,88% (no caso do ovo líquido), e de FOLCH et al. (1957) adaptado por CSALLANY et al. (1989) (no caso do ovo em pó), com posterior rotaevaporação (32°C, sob vácuo) do solvente e aquecimento em estufa a 105°C/40 minutos e pesagem.

4.3.3 Substâncias que reagem ao ácido tiobarbitúrico (TBARS)

A amostra (5,0 g de ovo líquido ou 2,5 g de ovo em pó), pesada em tubo de centrífuga com capacidade de 250 mL, foi extraída por duas vezes consecutivas, seguidas de centrifugação (13200 xg, 20 minutos), com solução aquosa de ácido tricloroacético a 7,5%. Uma alíquota de 5 mL do extrato obtido filtrado em papel foi submetida à reação com 5 mL de ácido tiobarbitúrico a 0,02 M, em banho-de-água a 80°C, por 40 minutos. A absorbância foi lida em espectrofotômetro (Micronal, modelo B572) no comprimento de onda de 538nm. O método usado foi proposto por VYNCKE (1970). A curva padrão de dialdeído malônico (DAM) foi obtida a partir da hidrólise do TEP (1, 1, 3, 3-tetraethoxypropane), segundo BOTSOGLOU et al. (1994), com

concentração variando de 0,012 a 2,168 μg de DAM/5mL. A recuperação do analito adicionado à amostra, antes da extração, foi de 91,71%.

4.3.4 Colesterol e óxidos de colesterol livres

A extração do colesterol e dos seguintes óxidos: 7-Ceto, 25-OH, 7 α -OH e 7 β -OH foi feita segundo os métodos de FOLCH et al. (1957), com adição de NaCl 0,88%, para o ovo líquido, e de FOLCH et al. (1957) adaptado por CSALLANY et al. (1989), para o ovo em pó.

Para a determinação do colesterol, o extrato de clorofórmio foi evaporado, submetido à saponificação fria com solução metanólica de KOH 1N, segundo CHEN e CHEN (1994), e extraído em hexano PA, por meio de 3 lavagens sucessivas de 10 mL cada. O hexano foi rotaevaporado (32°C, sob vácuo) e o resíduo obtido mantido congelado no próprio balão de evaporação, com atmosfera de nitrogênio, até a quantificação.

Para a determinação dos óxidos de colesterol foi realizada uma extração em fase sólida (SPE – solid phase extraction), através de cartucho contendo florisil, segundo o método utilizado por PENAZZI et al. (1995). Uma alíquota de 50 a 60 mg de lipídeo proveniente do extrato de clorofórmio evaporado foi pesada em bequer de 10 mL. O cartucho de florisil foi preparado com duas lavagens de 2 mL de n-heptano PA cada, com posterior injeção da alíquota lipídica diluída em 0,5 mL de n-heptano/isopropanol (98:2).

O cartucho contendo a alíquota lipídica foi lavado com 1 mL de n-heptano/isopropanol (98:2), por 5 vezes consecutivas. O solvente residual do cartucho foi eliminado através de vácuo. Os óxidos retidos no cartucho foram eluídos

com 3 lavagens sucessivas de 2 mL cada de acetona PA e coletados em balão de evaporação. Em seguida a acetona foi rotaevaporadora (32°C, sob vácuo) e o resíduo obtido mantido congelado no próprio balão de evaporação, com atmosfera de nitrogênio, até a quantificação.

A quantificação do colesterol e dos óxidos mencionados acima foi feita por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), segundo CSALLANY et al. (1989). O cromatógrafo utilizado foi o da marca Shimadzu, modelo SCL-10AVP, com detector de fotodiodos (UV-VIS) SPD-M10ADVP, duas bombas LC-10ADVP e injetor automático SIL-10ADVP. A coluna utilizada foi a de sílica μ -Porasil de 3,9 x 300 mm, da marca Waters, com diâmetro de poro de 10 μ m.

A fase móvel utilizada para eluir o colesterol e o 25-OH foi a de n-hexano e iso-propanol, na proporção de 97:3 (v:v), no comprimento de onda de 206 nm. Para o 7-Ceto, 7 α -OH e 7 β -OH foi usada a fase móvel na proporção de 93:7 (v:v), com leitura também a 206 nm, com exceção do 7-Ceto (233 nm).

A metodologia usada é a de rotina e sua validação consta relatada em KITAHARA et al. (2002) e MORALES-AIZPURÚA e TENUTA-FILHO (2005) (Tabela 8). A opção feita neste trabalho pela quantificação apenas dos OsC livres (não-esterificados) decorreu do fato de constar em literatura a forte possibilidade de a saponificação usada vir a influenciar os resultados, por formação ou destruição de OsC (CSALLANY et al., 1989).

Tabela 8 - Parâmetros de validação da metodologia para colesterol e óxidos de colesterol

	Concentração (μg)	Limite de detecção (g)	Limite de quantificação (g)	Coefficiente de correlação	Recuperação (% \pm DP)
Colesterol	5-25	$1,09 \times 10^{-8}$	$3,62 \times 10^{-8}$	0,999	$95,38 \pm 2,83$
25-OH	0,1-0,5	$6,67 \times 10^{-9}$	$2,22 \times 10^{-8}$	0,993	$91,67 \pm 4,60$
7 α -OH	0,4-1,6	$3,11 \times 10^{-8}$	$1,03 \times 10^{-7}$	0,993	$72,07 \pm 4,09$
7 β -OH	0,4-1,6	$6,99 \times 10^{-8}$	$2,30 \times 10^{-7}$	0,998	$76,99 \pm 3,39$
7-Ceto	0,2-0,8	$2,02 \times 10^{-9}$	$6,73 \times 10^{-9}$	0,999	$96,90 \pm 2,50$

4.3.5 Carotenóides totais

A metodologia escolhida para a determinação de carotenóides totais correspondeu à extração exaustiva dos analitos com acetona fria, transferência para a fase de éter de petróleo (RODRIGUEZ-AMAYA, 1976; ALMEIDA e PENTEADO, 1988), saponificação fria (RODRIGUEZ-AMAYA, 2001) e eliminação da acetona, com as adaptações mencionadas. Todas as operações foram realizadas com proteção da incidência de luz.

Uma massa de 3,0 g de ovo líquido pasteurizado ou de 1,0 g de ovo integral em pó foi pesada em erlenmeyer de 125 mL, adicionada de 20 mL de acetona fria ($\pm 4^{\circ}\text{C}$) e agitada por 5 minutos. A mistura obtida foi filtrada a vácuo para um kitassato, usando cadinho de vidro de placa sinterizada. Sucessivas lavagens da amostra foram realizadas até que fosse completado um volume total de 80 mL de acetona.

Uma terça parte da acetona contendo os pigmentos foi transferida para um funil de separação contendo 20 mL de éter de petróleo. A separação entre as fases foi obtida com a adição de solução de cloreto de sódio, a 2,5%, sendo, em seguida,

descartada a fase inferior. O mesmo procedimento foi realizado com o restante da acetona.

Após a transferência dos pigmentos, foram feitas pelo menos cinco lavagens com água destilada para a remoção total da acetona. O éter de petróleo contendo os pigmentos foi então rotaevaporado (28°C, sob vácuo) e o resíduo obtido submetido à saponificação fria, com 20 mL de éter de petróleo contendo 0,01% de BHT e 20 mL de KOH metanólico, a 10 %, por 16 horas, no escuro. A mistura foi transferida para um funil de separação, sendo a fase inferior descartada. Novamente o éter de petróleo contendo os pigmentos foi lavado com água destilada, para a retirada total do KOH metanólico, e depois centrifugado a 15°C, a 13200 xg, 15 minutos, com a finalidade de eliminar interferências. O éter de petróleo foi então submetido à desidratação, com sulfato de sódio anidro, transferido para um balão volumétrico de 25 mL e o volume completado.

Uma alíquota da solução etérea foi utilizada para a leitura da absorbância em espectrofotômetro (Micronal, modelo B572), a 450nm. Para o cálculo da quantidade de carotenóides totais, foi utilizada a seguinte fórmula:

$$\frac{\mu\text{g de carotenóides / g de amostra}}{\text{amostra}} = \frac{\text{ABS} \times \text{Vol. do balão} \times 10^6}{100 \times E_{1\text{cm}}^{1\%} \times \text{Peso da amostra}}$$

Onde:

ABS = absorbância da amostra

Volume do balão = 25 mL

$E_{1\text{cm}}^{1\%} = 2360$ (coeficiente de absorvidade da luteína, em éter de petróleo; MARMION, 1991).

Peso da amostra = em gramas.

4.3.6 Ácidos graxos livres

A obtenção da fração lipídica foi segundo o método de FOLCH et al. (1957), com adição de NaCl 0,88%, para o ovo líquido, e o de FOLCH et al. (1957) adaptado por CSALLANY et al. (1989), para o ovo em pó. As amostras foram extraídas com clorofórmio/metanol (2:1, v/v), por 10 minutos, em agitador magnético e filtradas em papel de filtro (contendo 10,0 g sulfato de sódio anidro) para um balão de evaporação previamente tarado.

O solvente foi rotaevaporado (32°C, sob vácuo) e a amostra residual submetida a um fluxo de nitrogênio até peso constante. Foram adicionados 25 mL de álcool etílico (95%) previamente neutralizados, 4 gotas de fenolftaleína (indicador) e procedida a titulação com solução padronizada de hidróxido de sódio 0,1 M, até que o aparecimento da coloração rósea que persistisse por 30 segundos. O método foi realizado segundo a AOCS (1998) e os resultados apresentados expressos em porcentagem de ácido oléico.

4.3.7 Fenólicos totais

A extração de fenólicos totais foi feita segundo JOHNSON et al. (2008) e a quantificação de acordo com GENOVESE et al. (2008), com pequenas modificações. Em 0,750 g de ovo líquido ou em pó foram adicionados 20 mL de metanol (70:30, acidificado com 1% de HCl) e procedida a homogeneização por 40 minutos, em agitador magnético. O extrato foi centrifugado por 10 minutos, a 1000 xg, e o sobrenadante filtrado em papel comum contendo sulfato de sódio anidro. À uma alíquota de 0,25 mL do extrato foram adicionados 0,25 mL do

reagente de Folin-Ciocalteu, 2 mL de água destilada e, após 3 minutos, 0,25 mL de solução saturada de carbonato de sódio. A mistura foi homogeneizada e incubada em banho-de-água, a 37 °C, por 30 minutos e depois passada por membrana filtrante (Millipore®) com poro de 0,45 µm. A absorvância foi lida em espectrofotômetro (Micronal, modelo B572) no comprimento de onda de 750 nm. Os fenólicos totais foram expressos em mg de ácido gálico / 100 g de amostra, a partir da curva de calibração obtida com soluções padrão de ácido gálico em metanol (70:30, acidificado com 1% de HCl), com concentrações entre 1 a 40 mg / L.

4.4 Análises estatísticas

4.4.1 Caracterização de amostras comerciais de ovo integral em pó e a ocorrência de óxidos de colesterol

As variáveis determinadas na primeira etapa deste estudo, foram obtidas a partir de 3 lotes analisados em cada uma das três marcas, A, B e C. Através de uma análise prévia de dispersão foram observadas diferenças na obtenção das médias como conseqüência de valores discrepantes apresentados pelos lotes dentro de cada marca. Essa diferença foi confirmada pelo teste de homogeneidade de variâncias (Hartley). Desta forma, a opção feita foi por apresentar os resultados expressos como média \pm DP, e analisados separadamente por marcas, através de Análise de Variância para Medidas Repetidas (ANOVA-MR) seguidos de teste de Tukey HSD para identificação de contrastes significativos, adotando um valor α de 0,05 para a rejeição do erro tipo I. Os cálculos foram realizados através do software Statistica versão 7.1 (Statsoft Inc., Tulsa, OK, USA).

4.4.2 Avaliação do efeito do processamento de ovo integral em pó na estabilidade oxidativa do colesterol e de ácidos graxos

O efeito do processamento por atomização sobre os parâmetros, expressos como média \pm DP, determinados em amostras obtidas de três a cinco lotes de ovos, foi comparado sob base seca através de teste T para variáveis dependentes (antes e após processamento), sendo adotado um valor α de 0,05 para a rejeição do erro tipo I. Os cálculos foram realizados através do software Statistica versão 7.1 (Statsoft Inc., Tulsa, OK, USA).

4.4.3 Avaliação do efeito da adição de tocoferóis ao ovo integral em pó armazenado sobre a estabilidade oxidativa do colesterol

As variáveis determinadas na terceira etapa deste estudo, foram obtidas a partir de 5 lotes analisados. Através de uma análise de variância (ANOVA) prévia, foi observada diferença significativa entre os lotes. Desta forma, a opção foi apresentar os resultados expressos como média \pm DP, e analisados separadamente por lote, através de Análise de Variância para Medidas Repetidas (ANOVA-MR) seguidos de teste de Tukey HSD para identificação de contrastes significativos, adotando-se um valor α de 0,05 para a rejeição do erro tipo I. Os dados relativos ao colesterol foram tratados por ANOVA. Os cálculos foram realizados através do software Statistica versão 7.1 (Statsoft Inc., Tulsa, OK, USA).

5 - RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Caracterização de amostras comerciais de ovo integral em pó e a ocorrência de óxidos de colesterol

As amostras foram examinadas ao 60º dia após a data de fabricação e aos 120º e 180º dias de armazenamento. Este último serviu para avaliar possível hidratação do produto e a estabilidade oxidativa do colesterol, principalmente.

5.1.1 Umidade, lipídeos totais e Colesterol

Os resultados relativos à caracterização proposta (umidade, lipídeos totais e colesterol) em 3 lotes de amostras comerciais de ovo integral em pó, correspondentes a 3 marcas (A, B e C), constam nas tabelas 9 a 11.

Tabela 9 - Umidade, lipídeos totais e colesterol em amostras de ovo integral em pó comercial da marca A, analisadas ao 60^o dia após a fabricação e o armazenamento por até 180 dias

	Umidade (g/100g)	Lip. totais (g/100g)	Colesterol (mg/100g)
Laudo do fabricante			
Lote 1	2,10	-	-
Lote 2	1,20	-	-
Lote 3	1,70	-	-
60 dias			
Lote 1	3,20 ± 0,04	43,71 ± 0,76	1693,66 ± 19,00
Lote 2	2,77 ± 0,04	40,19 ± 0,70	2152,56 ± 77,45
Lote 3	2,41 ± 0,07	47,79 ± 0,30	2033,37 ± 83,00
120 dias			
Lote 1	4,42 ± 0,04	41,96 ± 0,76	n.a.
Lote 2	4,05 ± 0,06	45,06 ± 1,43	n.a.
Lote 3	3,54 ± 0,06	44,99 ± 1,71	n.a.
180 dias			
Lote 1	5,08 ± 0,07	41,82 ± 0,55	n.a.
Lote 2	4,71 ± 0,09	41,85 ± 0,60	n.a.
Lote 3	3,64 ± 0,04	46,04 ± 0,25	n.a.

Média ± desvio-padrão (n=3), em base seca (exceto para umidade).

Lip. totais = Lipídeos totais

n.a. = não analisado.

Tabela 10 - Umidade, lipídeos totais e colesterol em amostras de ovo integral em pó comercial da marca A, analisadas ao 60^o dia após a fabricação e o armazenamento por até 180 dias

	Umidade (g/100g)	Lip. totais (g/100g)	Colesterol (mg/100g)
Laudo do fabricante			
Lote 1	2,79	43,00	1620,00
Lote 2	2,96	40,50	1630,00
Lote 3	2,89	44,00	1690,00
60 dias			
Lote 1	2,65 ± 0,05	46,20 ± 0,07	2152,34 ± 84,53
Lote 2	2,66 ± 0,04	47,95 ± 1,00	2279,39 ± 148,52
Lote 3	3,39 ± 0,05	44,25 ± 1,77	1588,17 ± 20,57
120 dias			
Lote 1	3,65 ± 0,11	43,42 ± 0,88	n.a.
Lote 2	3,66 ± 0,19	43,69 ± 1,10	n.a.
Lote 3	3,73 ± 0,13	45,53 ± 0,14	n.a.
180 dias			
Lote 1	5,06 ± 0,13	44,08 ± 0,21	n.a.
Lote 2	4,31 ± 0,29	45,89 ± 1,26	n.a.
Lote 3	4,34 ± 0,02	45,56 ± 1,49	n.a.

Média ± desvio-padrão (n=3), em base seca (exceto para umidade).

Lip. totais = Lipídeos totais

n.a. = não analisado.

Tabela 11 - Umidade, lipídeos totais e colesterol em amostras de ovo integral em pó comercial da marca C, analisadas ao 60^o dia após a fabricação e o armazenamento por até 180 dias

	Umidade (g/100g)	Lip. totais (g/100g)	Colesterol (mg/100g)
Laudo do fabricante não acompanhou o produto			
60 dias			
Lote 1	4,94 ± 0,17	43,06 ± 0,28	1636,71 ± 15,37
Lote 2	4,34 ± 0,07	41,76 ± 0,78	1530,44 ± 15,52
Lote 3	4,17 ± 0,04	42,84 ± 0,53	1451,01 ± 15,69
120 dias			
Lote 1	5,13 ± 0,08	44,29 ± 0,54	n.a.
Lote 2	4,75 ± 0,06	45,47 ± 0,32	n.a.
Lote 3	4,58 ± 0,07	42,37 ± 1,18	n.a.
180 dias			
Lote 1	5,20 ± 0,05	45,36 ± 0,31	n.a.
Lote 2	5,10 ± 0,02	46,68 ± 0,20	n.a.
Lote 3	5,13 ± 0,16	42,29 ± 1,15	n.a.

Média ± desvio-padrão (n=3), em base seca (exceto para umidade).

Lip. totais = Lipídeos totais

n.a. = não analisado.

Não foi detectada grande variação nos teores de umidade, comparando os resultados obtidos com os dos laudos dos fornecedores (Tabelas 9 e 10). A umidade encontrada está na faixa de valores citada na literatura, 1,34 a 4,70 g/100g (CABONI et al. 2005; OBARA et al., 2006; MAZALLI e BRAGAGNOLO, 2007). Com o armazenamento houve aumento da umidade, o que era esperado, devido ao fato de o produto ser higroscópico e poder absorver até 2,5% do seu peso em água, ao longo do armazenamento (PRITZKER, 1944; CHRISTOPHER et al., 1985; DEMERTZIS et al., 1988, ESCARABAJAL e TENUTA-FILHO, 2005). Foi verificada variação não muito grande nas quantidades de lipídeos totais entre as amostras,

tendo sido maior no caso do colesterol, tipicamente ocorrendo em expressivos valores.

5.1.2 Substâncias que reagem ao ácido tiobarbitúrico - TBARS

Tabela 12 - Substâncias que reagem ao ácido tiobarbitúrico - TBARS (mg/kg, em base seca) em amostras de ovo integral em pó, analisadas ao 60º dia após a fabricação e o armazenamento por até 180 dias, referentes às marcas A, B e C

Marca	Lote	TBARS ¹			p ³
		60 dias	120 dias	180 dias	
A	1	0,97 ^a ± 0,01	1,28 ^g ± 0,03	1,38 ^h ± 0,02	<0,001
	2	0,61 ^e ± 0,01	1,06 ^{bc} ± 0,02	0,90 ^f ± 0,02	
	3	1,11 ^{cd} ± 0,04	1,08 ^d ± 0,09	0,99 ^{ab} ± 0,02	
p²		<0,001			
B	1	1,47 ^{abc} ± 0,13	1,38 ^{abc} ± 0,03	1,37 ^{abc} ± 0,01	<0,001
	2	1,48 ^{bc} ± 0,10	1,31 ^{ab} ± 0,02	1,29 ^a ± 0,03	
	3	1,56 ^c ± 0,08	1,26 ^a ± 0,10	1,27 ^{ab} ± 0,03	
p²		0,476			
C	1	0,71 ^c ± 0,01	0,58 ^{ab} ± 0,03	0,94 ^e ± 0,00	<0,001
	2	0,63 ^{ab} ± 0,04	0,55 ^a ± 0,04	0,74 ^c ± 0,02	
	3	0,60 ^b ± 0,02	0,89 ^d ± 0,05	0,91 ^d ± 0,06	
p²		<0,001			

¹ Valores expressos como média ± DP. Médias seguidas da mesma letra não diferem estatisticamente (p<0.05).

² Valor da probabilidade obtido por ANOVA-RM para diferenças entre os lotes.

³ Valor da probabilidade obtido por ANOVA-RM para diferenças entre os intervalos de tempo.

A oxidação de ácidos graxos nas amostras de ovo integral em pó foi demonstrada pelas TBARS, que variou de $0,55 \pm 0,04$ até $1,56 \pm 0,08$ mg/Kg ao longo do armazenamento de até 180 dias. Os lotes das marcas A e C variaram significativamente entre si, somente a marca B apresentou lotes homogêneos em cada tomada de ensaio (Tabela 12). Valor superior ($2,49 \pm 0,50$ mg/Kg, em base seca) aos da tabela 12 foi relatado por MEDINA (2005), detectado em gema frita de ovo previamente irradiado. ESCARABAJAL e TENUITA-FILHO (2005) encontraram TBARS variando de $0,43 \pm 0,04$ a $1,86 \pm 0,67$ mg/Kg, ao armazenarem ovo em pó em temperatura e luz ambientes por 224 dias.

Ao avaliar o efeito da radiação ionizante em produtos de ovos, FROEHLICH (2004) encontrou um aumento na concentração de dialdeído malônico com a elevação das doses (0,5 a 3,0 kGy) em todas as amostras analisadas (ovo líquido, ovo congelado, gema e ovo em pó). O maior aumento foi encontrado em ovo líquido e gema em pó, que pode ser explicado pela alta umidade e concentração de lipídeos destes produtos, respectivamente. A concentração de 2,67 mg/kg de DAM, observada no ovo líquido irradiado com 3,0 kGy, foi correlacionada com alteração sensorial do produto classificada como “moderadamente mais forte”.

Mesmo aos 180 dias não foram encontradas amostras com valores próximos a 2,67 mg/kg de DAM. Neste período houve um aumento médio máximo de 37,7, 13,0 e 32,7 % para as marcas A, B e C, respectivamente (Tabela 12). Além disso, o referido armazenamento proporcionou valores inferiores aos encontrados por ESCARABAJAL e TENUITA-FILHO (2005) com o mesmo período de tempo, provavelmente pelo fato de as amostras estarem protegidas em relação à luz.

5.1.3 Óxidos de colesterol

Os resultados relativos à ocorrência de óxidos de colesterol (7-Ceto e 25-OH) em 3 lotes de amostras comerciais de ovo integral em pó, correspondentes a 3 marcas (A, B e C), constam nas tabelas 13 e 14.

Todos os lotes analisados, independentes da marca, apresentaram 7-Ceto, óxido comum em alimentos (LERCKER e RODRIGUEZ-ESTRADA, 2000; TENUITA-FILHO et al., 2003) e diferiram entre si, mesmo sendo de um mesmo fornecedor (Tabela 13). A temperatura de processamento (BOSELLI et al., 2004, LAI et al., 1995) e o perfil lipídico do ovo (LI, CHERIAN e SIM, 1996) poderiam justificar tal variação. Houve, ainda, um aumento para o 7-Ceto em relação ao tempo de armazenamento (Figura 7), não observado com referência ao 25-OH (Tabela 14), devido ao seu coeficiente de variação ser elevado, propiciado sob o ponto de vista analítico por se tratar de óxido normalmente encontrado em menor concentração nos alimentos, comparados aos demais.

Tabela 13 - 7-cetocolesterol (7-Ceto) ($\mu\text{g/g}$ de lipídeos) em amostras de ovo integral em pó, analisadas ao 60^o dia após a fabricação e o armazenamento por até 180 dias, referentes às marcas A, B e C

Marca	Lote	7-Ceto ¹			p^3
		60 dias	120 dias	180 dias	
A	1	43,09 ^{ab} \pm 0,20	56,51 ^d \pm 3,82	59,40 ^d \pm 0,75	<0,001
	2	44,74 ^{abc} \pm 0,85	48,87 ^c \pm 1,78	58,30 ^d \pm 0,58	
	3	40,72 ^a \pm 1,46	44,94 ^{abc} \pm 0,84	47,38 ^{bc} \pm 0,56	
p^2		<0,001			
B	1	44,97 ^a \pm 0,51	52,45 ^b \pm 0,17	59,62 ^c \pm 1,09	<0,001
	2	56,45 ^e \pm 0,63	69,98 ^d \pm 1,28	71,25 ^d \pm 1,60	
	3	45,40 ^a \pm 0,31	51,41 ^b \pm 0,96	62,30 ^c \pm 1,22	
p^2		<0,001			
C	1	44,88 ^d \pm 0,38	51,10 ^e \pm 0,42	65,11 ^f \pm 0,17	<0,001
	2	41,71 ^a \pm 0,54	48,85 ^b \pm 1,04	55,38 ^c \pm 1,47	
	3	41,36 ^a \pm 0,52	47,86 ^b \pm 0,24	57,21 ^c \pm 0,73	
p^2		<0,001			

¹ Valores expressos como média \pm DP. Médias seguidas da mesma letra não diferem estatisticamente ($p < 0,05$).

² Valor da probabilidade obtido por ANOVA-RM para diferenças entre os lotes.

³ Valor da probabilidade obtido por ANOVA-RM para diferenças entre os intervalos de tempo.

Tabela 14 - 25-hidroxicolesterol (25-OH) ($\mu\text{g/g}$ de lipídeos) em amostras de ovo integral em pó, analisadas ao 60^o dia após a fabricação e o armazenamento por até 180 dias, referentes às marcas A, B e C

Marca	Lote	25-OH ¹			p^3
		60 dias	120 dias	180 dias	
A	1	9,75 ^c \pm 1,91	13,36 ^{abc} \pm 2,73	16,03 ^{ab} \pm 1,60	0,003
	2	25,84 ^d \pm 3,67	11,04 ^{ac} \pm 0,88	14,98 ^{abc} \pm 1,22	
	3	18,23 ^b \pm 0,98	16,38 ^{ab} \pm 3,16	15,36 ^{abc} \pm 0,74	
p^2		0,015			
B	1	14,40 ^a \pm 2,03	18,42 ^{ab} \pm 3,41	27,27 ^c \pm 3,42	0,071
	2	12,36 ^a \pm 0,52	15,28 ^a \pm 1,48	13,24 ^{ab} \pm 1,45	
	3	21,06 ^a \pm 2,94	12,22 ^a \pm 1,37	13,66 ^{bc} \pm 1,26	
p^2		0,001			
C	1	16,72 ^{ab} \pm 1,51	18,58 ^a \pm 1,68	16,01 ^{ab} \pm 1,52	0,172
	2	19,64 ^a \pm 2,17	8,16 ^{cd} \pm 0,98	12,70 ^{bd} \pm 1,59	
	3	8,00 ^c \pm 0,80	17,21 ^{ab} \pm 2,50	19,50 ^a \pm 1,21	
p^2		0,009			

¹ Valores expressos como média \pm DP. Médias seguidas da mesma letra não diferem estatisticamente ($p < 0,05$).

² Valor da probabilidade obtido por ANOVA-RM para diferenças entre os lotes.

³ Valor da probabilidade obtido por ANOVA-RM para diferenças entre os intervalos de tempo.

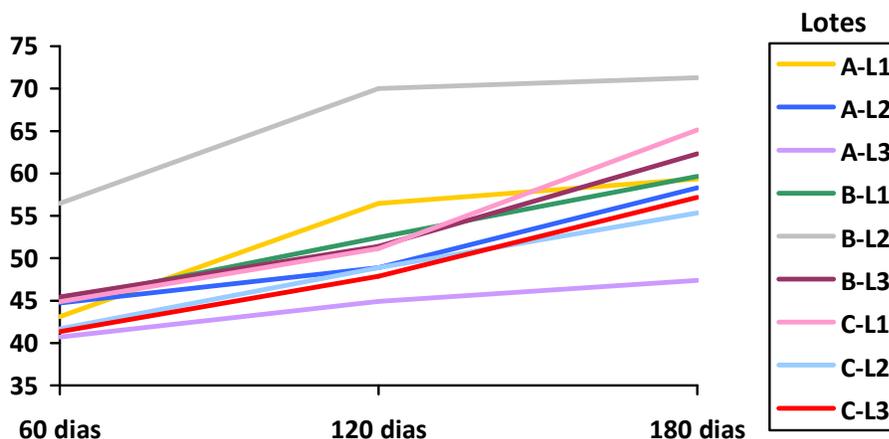


Figura 6: Comportamento do 7-Ceto ($\mu\text{g/g}$ de lipídeos) em amostras de ovo integral em pó, analisadas ao 60º dia após a fabricação e o armazenamento por até 180 dias, referentes às marcas A, B e C

A quantidade inicial de colesterol presente na amostra (Tabelas 9,10 e 11) não é fator predisponente para uma maior quantidade de óxidos formados. Os lotes A2 e B2 apresentaram quantidades semelhantes de colesterol, $2152,56 \pm 77,45$ e $2279,39 \pm 148,52$ (mg/100g), mas concentrações muito distintas de 7-Ceto, aos 180 dias, de $58,30 \pm 0,58$ e $71,25 \pm 1,60$ ($\mu\text{g/g}$ de lipídeos) (Tabela 3), respectivamente.

Segundo OBARA et al. (2006), a quantidade de água presente no produto final, bem como sua atividade, influencia a formação de OsC. Após 3 meses de armazenamento, as maiores concentrações de OsC encontradas foram em amostras com menor atividade de água, correspondentes ao ovo e gema em pó atomizados, com até $4,05 \pm 0,19$ e $2,78 \pm 0,24$ g/100 g de umidade, respectivamente.

Ao longo de 180 dias de armazenamento houve um aumento discreto na umidade do ovo integral em pó (Tabelas 9,10 e 11), com comportamento semelhante do 7-Ceto (Tabela 13), conforme demonstrado na figura 8.

No presente estudo, os teores de umidade (g/100g) das marcas A, B e C variaram ente $2,41 \pm 0,07$ a $5,08 \pm 0,07$; $2,65 \pm 0,05$ a $5,06 \pm 0,13$ e $4,17 \pm 0,04$ a $5,20 \pm 0,05$, respectivamente (Tabelas 9,10 e 11). O valor final máximo observado não foi muito superior ao ovo em pó estudado por OBARA et al. (2005). Os autores também avaliaram amostras com 8 e 12 % de umidade e atividade de água maior que a do controle, verificando um aumento menos expressivo na quantidade total de OsC.

As quantidades encontradas para o 7-Ceto permaneceram entre $40,72 \pm 1,46$ e $71,25 \pm 1,60$ $\mu\text{g/g}$ de lipídeos (Tabela 13) ou $19,46 \pm 0,80$ a $32,68 \pm 0,15$ $\mu\text{g/g}$ de ovo integral em pó. Estes valores estão muito próximos dos observados por ESCARABAJAL e TENUTA-FILHO (2005), quando analisaram 5 marcas comerciais de ovo integral em pó, encontrando em média $84,01 \pm 5,34$ μg de 7-Ceto/g de lipídeos.

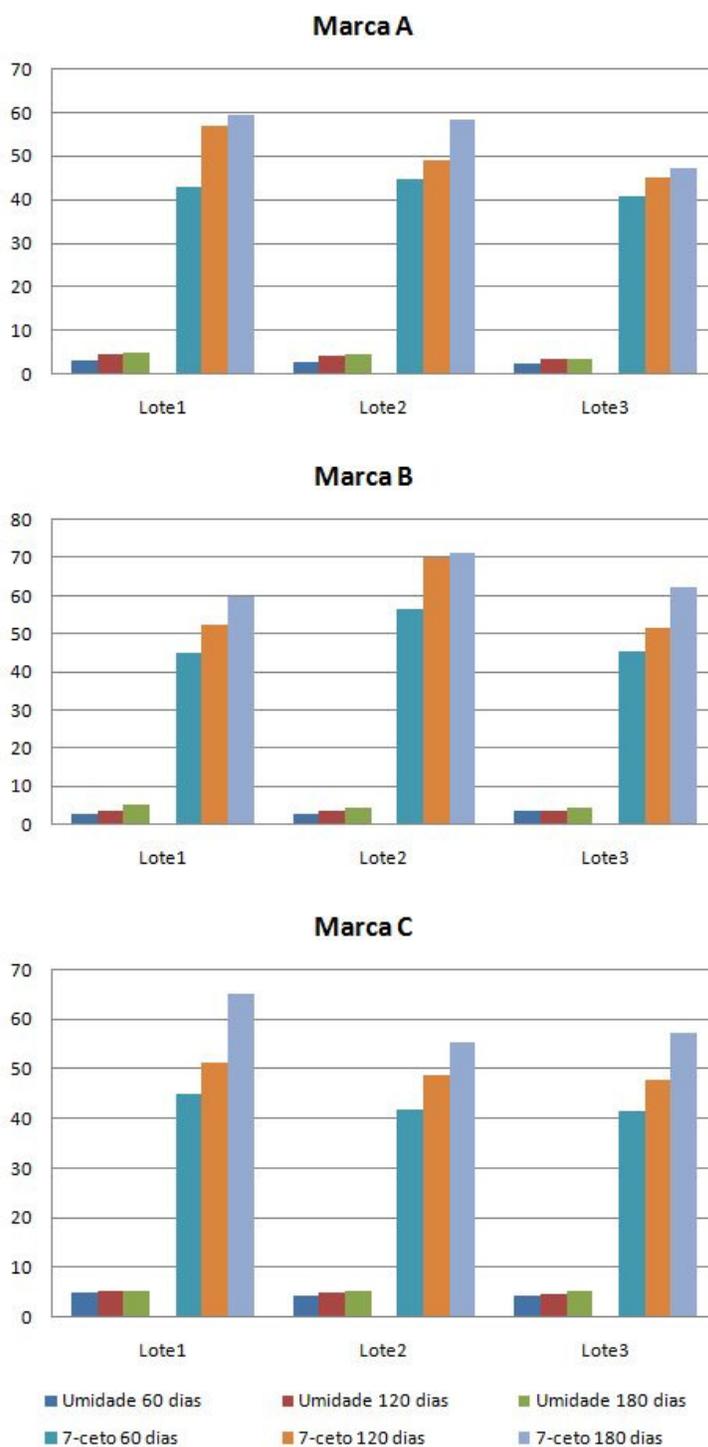


Figura 7 - Comportamento da umidade (g/100 g) (Tabelas 9,10 e 11) e do 7-Ceto ($\mu\text{g/g}$ de lipídeos) (Tabela 13) em amostras de ovo integral em pó, analisadas ao 60º dia após a fabricação e o armazenamento por até 180 dias, referentes às marcas A, B e C

Ao longo do armazenamento, o 25-OH também variou significativamente entre os lotes e fornecedores, porém sem que a diferença fosse significativa em alguns casos (Tabela 14), ao contrário do 7-Ceto (Tabela 13). O 25-OH variou de $8,00 \pm 0,80$ a $27,27 \pm 3,42$ $\mu\text{g/g}$ de lipídeos, ou de $3,47 \pm 0,35$ a $12,02 \pm 1,53$ $\mu\text{g/g}$ de ovo integral em pó.

As concentrações de 7-Ceto encontradas (Tabela 13) estão de acordo com as relatadas na literatura, porém, as de 25-OH (Tabela 14) permaneceram um pouco acima (0 a 10 $\mu\text{g/g}$ de ovo integral em pó) (SANDER et al., 1989; PIE, SPAHIS e SEILLAN, 1990; SARANTINOS, O'DEA e SINCLAIR, 1993; GALOBART et al., 2002; CABONI et al., 2005). Alguns estudos demonstraram alteração na concentração de ácidos graxos e a formação de OsC, como o 7-Ceto e o 25-OH, durante o armazenamento com exposição ao oxigênio ou à luz, além da interação de compostos provenientes da oxidação lipídica, que poderiam justificar este aumento do 25-OH (LI et al., 1996; GUARDIOLA et al., 1997; MAZALLI e BRAGGAGNOLO, 2007). Um fato relevante é a ocorrência de 25-OH no produto atomizado, sem que o mesmo fosse encontrado no ovo fresco (TAI et al., 2000), considerando que o referido óxido é altamente citotóxico (KUMAR e SINGHAL, 1991).

5.2 Avaliação do efeito do processamento de ovo integral em pó na estabilidade oxidativa do colesterol e de ácidos graxos

Os resultados foram apresentados nas tabelas 15 a 24, separados por parâmetros analisados e relativos a cinco lotes de amostras estudadas.

5.2.1 Umidade e lipídeos totais

Tabela 15 - Umidade e lipídeos totais em amostras de ovo líquido integral pasteurizado e ovo integral em pó

Parâmetro (g/100g)	Lote	Ovo líquido integral pasteurizado	Ovo integral em pó
Umidade	1	74,44 ± 0,07	2,73 ± 0,21
	2	73,17 ± 0,04	2,13 ± 0,12
	3	74,25 ± 0,10	2,70 ± 0,05
	4	74,36 ± 0,06	2,72 ± 0,12
	5	76,17 ± 0,23	4,31 ± 0,37
Lipídeos totais	1	12,54 ± 1,20	48,84 ± 3,74
	2	10,27 ± 0,33	45,29 ± 3,26
	3	10,18 ± 0,31	46,04 ± 0,52
	4	10,08 ± 0,14	41,51 ± 1,25
	5	10,79 ± 1,46	44,14 ± 0,54

Valores expressos como média ± DP (n=3), em base úmida.

Os valores de umidade detectados no ovo líquido integral pasteurizado (Tabela 15) são concordantes com os relatos da literatura (TORRES et. al., 2000; ESCARABAJAL e TENUTA-FILHO, 2005; USDA, 2009). Os relativos ao ovo integral em pó (Tabela 15), também estão homogeneamente de acordo com o encontrado na literatura (CABONI et al., 2005; OBARA et al., 2006; MAZALLI e BRAGAGNOLO, 2007) para amostras comerciais, exceto no caso do lote 5, cujo teor (4,31 ± 0,37g/100g) é somente um pouco superior ao máximo aceito comercialmente (4%) (FAMAOVOS INDÚSTRIA E COMÉRCIO DE OVOS, 2009). Umidade elevada em ovo em pó pode ser um indicativo de que a amostra foi estocada, conforme apontado anteriormente, ou houve falha durante o processamento.

Os lipídeos totais do ovo líquido integral pasteurizado variaram pouco entre si (Tabela 15) e se assemelharam aos indicados na literatura (10,5 a 11,8 %) (LI-CHAN e KIM, 2008). Já, os lipídeos totais encontrados em alguns lotes de ovo integral em pó se situaram um pouco acima dos relatados pela literatura (34 a 43,53%) (OBARA et al., 2006; MAZALLI e BRAGAGNOLO, 2007; USDA, 2009).

5.2.2 Substâncias que reagem ao ácido tiobarbitúrico - TBARS

Ao serem comparadas as quantidades de TBARS, entre o ovo líquido integral pasteurizado e ovo integral em pó, foi visto que as mesmas diferiram significativamente na maioria dos lotes, mostrando redução nos lotes 3 e 4, e um aumento no lote 2 (Tabela 16).

Tabela 16 – Substâncias que reagem ao ácido tiobarbitúrico – TBARS (mg/kg) em amostras de ovo líquido integral pasteurizado e ovo integral em pó

Lote	Amostras ¹		P ²
	Ovo líquido integral pasteurizado	Ovo integral em pó	
1	0,35 ± 0,02	0,33 ± 0,02	0,350
2	0,41 ± 0,02	0,59 ± 0,02	0,014
3	0,44 ± 0,03	0,23 ± 0,01	0,013
4	0,31 ± 0,01	0,23 ± 0,01	0,005
5	0,33 ± 0,03	0,33 ± 0,01	0,879

¹ Valores expressos como média ± DP (n=3), em base seca.

² Valor da probabilidade obtido por teste T.

THUNGMANEE, INTARAPICHET e THAIUDOM (2007) avaliaram o efeito da temperatura de entrada e taxa de alimentação (mL/minuto), na atomização no ovo em pó. O aumento da temperatura de entrada de 114 a 156°C e fixada a taxa de

alimentação em 14 mL/minuto, resultou em aumento das TBARS de 0,597 a 1,083 mg MDA/kg. Por outro lado, o aumento da taxa de alimentação de 6 a 24 mL/minuto com a temperatura de entrada fixada em 135 °C, causou decréscimo nas TBARS, de 1,069 a 0,564 mg MDA/kg.

A oxidação do ovo em pó diminuiu quando a atividade de água variou, de 0,237 a 0,399, e aumentou quando a atividade de água se elevou, o mesmo resultado encontrado por OBARA et al. (2006). Segundo ANGELO (1992), a água nos alimentos reduz a concentração de radicais livres por promover o término das reações de oxidação. Além de levar à recombinação de radicais livres com outras formas (não-radicais) de produtos que também resultam na redução da oxidação. Com baixa atividade de água não há água suficiente disponível para reduzir a concentração de radicais livres, por isso há uma alta taxa de oxidação lipídica.

O perfil lipídico do ovo líquido também influencia a oxidação lipídica. GALOBART et al. (2001) afirmaram que os valores de TBARS aumentaram até 10 vezes após a atomização. Mas a insaturação promovida nos ovos, por meio da suplementação dietéticas das aves com óleo de linhaça ou girassol, pode ter causado esse aumento drástico de TBARS no ovo em pó.

5.2.3 Ácidos graxos livres

Foi observada redução significativa de ácidos graxos livres em todos os lotes analisados, em média de 73,5 %, considerando os níveis presentes no ovo líquido integral pasteurizado e no ovo integral em pó (Tabela 17). Esta manifestação pode ter sido causada pela volatilização de ácidos graxos livres e/ou oxidação com posterior conversão em outros produtos (TOMPKINS e PERKINS, 2000).

A determinação da acidez pode fornecer um dado importante na avaliação do estado de conservação do óleo ou gordura. Um processo de decomposição, seja por hidrólise, oxidação ou fermentação, altera quase sempre a concentração dos íons hidrogênio. A decomposição dos glicerídeos é acelerada por aquecimento e pela luz, sendo a rancidez quase sempre acompanhada pela formação de ácidos graxos livres.

A velocidade de oxidação varia com o número, posição e geometria das duplas ligações. Por exemplo, as velocidades de oxidação dos ácidos araquidônico, linolênico, linoléico e oléico possuem entre si a seguinte relação: 40:20:10:1. A oxidação de ácidos graxos saturados é extremamente lenta. Praticamente os ácidos graxos saturados permanecem inalterados em temperatura ambiente, quando já é perceptível a rancidez dos ácidos graxos insaturados. Porém, em temperaturas elevadas, os ácidos graxos podem oxidar-se em velocidades significativas. Em geral, a velocidade de oxidação aumenta com a elevação da temperatura, uma vez que ocorre redução da solubilidade parcial do oxigênio entre a água e os lipídeos. Os ácidos graxos também podem oxidar mais rapidamente na forma livre do que conjugada com o acilglicerol (NAWAR, 2000).

Tabela 17 – Ácidos graxos livres (% de ácido oléico) em amostras de ovo líquido integral pasteurizado e ovo integral em pó

Lote	Amostras ¹		P ²
	Ovo líquido integral pasteurizado	Ovo integral em pó	
1	12,06 ± 0,45	2,48 ± 0,02	0,001
2	9,99 ± 0,27	3,03 ± 0,04	0,001
3	10,43 ± 0,36	2,65 ± 0,05	0,001
4	11,07 ± 0,37	3,60 ± 0,19	0,002
5	12,27 ± 0,20	2,89 ± 0,07	0,001

¹ Valores expressos como média ± DP (n=3), em base seca.

² Valor da probabilidade obtido por teste T.

5.2.4 Carotenóides totais

Em relação aos carotenóides totais, foi constatada perda significativa nos lotes 3 e 4, com discreta redução nos lotes 2 e 5 (Tabela 18). Carotenóides são pigmentos que variam do amarelo ao vermelho, podendo ser empregados como corantes naturais ou idênticos aos naturais, em alimentos, bebidas, cosméticos ou medicamentos. Além de contribuir com a cor, podem exercer atividade pro-vitamínica A e funções de antioxidante e proteção contra o câncer (ALMEIDA-MURADIAN e PENTEADO, 2003). Segundo BLOUNT, HOUSTON e MØLLER, (2000), os carotenóides presentes na gema possuem a função de proteger os tecidos vulneráveis das aves em desenvolvimento, de danos causados pelos radicais livres gerados no processo de oxidação lipídica.

Tabela 18 – Carotenóides totais ($\mu\text{g/g}$) em amostras de ovo líquido integral pasteurizado e ovo integral em pó

Lote	Amostras ¹		<i>P</i> ²
	Ovo líquido integral pasteurizado	Ovo integral em pó	
1	3,75 \pm 0,12	3,81 \pm 0,05	0,588
2	3,75 \pm 0,20	3,44 \pm 0,05	0,073
3	3,95 \pm 0,17	3,61 \pm 0,13	0,022
4	4,31 \pm 0,20	2,79 \pm 0,06	0,010
5	3,56 \pm 0,15	3,10 \pm 0,21	0,158

¹ Valores expressos como média \pm DP ($n=3$), expressos em base seca.

² Valor da probabilidade obtido por teste T.

São mais de 600 os carotenóides conhecidos, muitos deles com mais de 40 carbonos, divididos em dois grupos: hidrocarbonetos (α -, β - e γ -carotenos) e derivados oxigenados (xantofilas). Os carotenóides são instáveis à luz, calor e ácidos, promovendo a isomeração cis/trans (ALMEIDA-MURADIAN e PENTEADO, 2003), sendo ainda altamente sensíveis à radiação ionizante (BADR, 2006). São as moléculas mais eficientes para sequestrar os radicais livres, como o oxigênio singlete. Estima-se que cada molécula de carotenóide possa seqüestrar até 1000 moléculas de oxigênio singlete (BIANCHI e ANTUNES, 1999; LAGUERRE, LECOMTE e VILLENEUVE, 2007).

Os carotenóides com maior concentração na gema do ovo são as xantofilas, entre as quais, a luteína e zeaxantina, com 1274 a 2478 e 775 a 1288 $\mu\text{g}/100\text{g}$, respectivamente (SCHLATTERER e BREITHAUPT, 2006). KRINSKY e JOHNSON (2005) afirmaram que, apesar dos baixos valores encontrados em ovos, quando comparados com verduras e frutas, estudos recentes sugerem que a zeaxantina e luteína da gema sejam altamente biodisponíveis. CHUNG, RASMUSSEN e

JOHNSON (2004) forneceram refeições suplementadas com luteína, éster de luteína, espinafre ou ovo, para 10 homens, todas com a mesma concentração inicial de luteína. Verificaram, após 10 dias, que a concentração de luteína sérica nos indivíduos cujo grupo consumiu ovo era maior ($528,5 \pm 56,3$ nmol/L) que o que ingeriu espinafre ($326,1 \pm 43,5$ nmol/L).

Já, LAI et al. (1996) encontraram cerca de 13,73 e 15,27 $\mu\text{g/g}$ de carotenóides totais para ovo em pó atomizado com aquecimento direto e indireto, respectivamente.

A grande variação referente aos carotenóides totais encontrada na literatura pode estar relacionada à dieta das aves. SURAI e SPEAKE (1998) avaliaram a suplementação dietética de aves poedeiras e a transferência de carotenóides para a gema. Os ovos da dieta controle e suplementada continham 13,3 e 41,1 $\mu\text{g/g}$ de carotenóides totais, respectivamente. FREDRIKSSON, ELWINGER e PICKOVA (2006) relataram que, ao suplementarem a dieta das aves com 20% de microalgas, elevaram a concentração de carotenóides totais de 9,7 (controle) para 37 $\mu\text{g/g}$.

As rações comerciais contêm o milho amarelo como principal fonte de energia e de pigmentos naturais, como xantofilas, que contribuem para produção de gema de coloração alaranjada. Entretanto, em algumas regiões do País, o produtor pode substituir o milho, parcial ou totalmente, por sorgo, mandioca, farelo de arroz ou milheto, em função da necessidade de redução dos custos de produção.

BISCARO e CANNIATTI-BRAZACA (2006) avaliaram ovos de quatro produtores locais, todos com rações comerciais diferentes, verificando que cada ração fornecida influenciou significativamente a concentração de β -caroteno e colesterol, além de alterar cor da gema. O tratamento no qual a ração continha pó de pimentão vermelho, rico em xantofilas, foi o que apresentou o maior valor de a^*

(4,10±0,8), parâmetro que avalia a variação do vermelho (positivo) ao verde (negativo).

No presente estudo foram encontrados valores de carotenóides totais muito abaixo dos apresentados até o momento na literatura, exceto os resultados de BADR (2006). As amostras de ovo líquido integral pasteurizado e ovo integral em pó variaram entre $3,56 \pm 0,15$ a $4,31 \pm 0,20$ $\mu\text{g/g}$ e $2,79 \pm 0,06$ a $3,81 \pm 0,05$ $\mu\text{g/g}$ de carotenóides totais (Tabela 18), respectivamente. BADR (2006) ao demonstrar que carotenóides da gema de ovo são sensíveis ao processamento, no caso empregando radiação ionizante (4 kGy). O teor inicial de $6,222$ $\mu\text{g/g}$ foi reduzido a $3,121$ $\mu\text{g/g}$, ou em $\pm 50\%$, depois da irradiação. Com isso é possível considerar que outros tipos de processamentos também poderiam ter influência sobre os carotenóides totais, entre eles a pasteurização e a atomização realizadas em escala industrial.

Como demonstrado anteriormente, a concentração de carotenóides totais presente na gema do ovo é dependente da quantidade inicial na dieta das aves (SURAI e SPEAKE, 1998; FREDRIKSSON, ELWINGER e PICKOVA, 2006; BISCARO e CANNIATTI-BRAZACA, 2006).

É importante relatar ainda que em todos os estudos apontados a extração dos carotenóides foi feita com solventes orgânicos (hexano, éter de petróleo, metanol ou acetona). Em nenhum deles foi empregada a saponificação, quente ou fria. A saponificação é um meio eficaz de remoção de clorofilas e lípideos indesejáveis, que podem interferir com a separação cromatográfica e encurtar a vida útil da coluna do HPLC. Entretanto, aumenta o tempo de análise e pode provocar a formação de artefatos e degradação dos carotenóides (RODRIGUEZ-AMAYA, 2001). A saponificação realizada no presente trabalho envolveu o uso de BHT no meio de

reação com a finalidade de aumentar a segurança na estabilidade química dos analitos.

5.2.5 Colesterol

Os teores de colesterol verificados na tabela 19 indicaram ter havido aumento nos lotes 2 e 3 do ovo integral em pó, respectivamente de 7,9 e 6,7 %, em relação ao ovo integral líquido pasteurizado. A diferença observada não é relevante e pode ter ocorrido por imprecisão de amostragem adotada experimentalmente.

Tabela 19 – Colesterol (mg/100g) em amostras de ovo líquido integral pasteurizado e ovo integral em pó

Lote	Amostras ¹		P ²
	Ovo líquido integral pasteurizado	Ovo integral em pó	
1	1526,99 ± 33,60	1579,56 ± 35,97	0,130
2	1429,94 ± 16,23	1553,29 ± 15,48	0,015
3	1267,63 ± 17,28	1358,64 ± 15,77	0,026
4	1384,76 ± 18,99	1415,97 ± 14,14	0,112
5	1366,85 ± 12,38	1397,54 ± 21,44	0,230

¹ Valores expressos como média ± DP (n=3), em base seca.

² Valor da probabilidade obtido por teste T.

5.2.6 Óxidos de colesterol

Os óxidos de colesterol, 7-Ceto, 7 α -OH, 7 β -OH e 25-OH, encontrados no ovo líquido integral pasteurizado e no ovo integral em pó foram indicados nas tabelas 20, 21, 22 e 23.

Tabela 20 – 7-cetocolesterol ($\mu\text{g/g}$ de lipídeos) em amostras de ovo líquido integral pasteurizado e ovo integral em pó

Lote	Amostras ¹		P ²
	Ovo líquido integral pasteurizado	Ovo integral em pó	
1	37,53 \pm 1,16	39,76 \pm 1,42	0,267
2	41,50 \pm 2,50	41,52 \pm 2,11	0,995
3	41,23 \pm 2,54	39,91 \pm 2,89	0,712
4	28,90 \pm 1,55	35,73 \pm 0,60	0,029
5	32,89 \pm 2,38	32,18 \pm 0,74	0,703

¹ Valores expressos como média \pm DP (n=3).

² Valor da probabilidade obtido por teste T.

Tabela 21 – 7 α -hidroxicolesterol ($\mu\text{g/g}$ de lipídeos) em amostras de ovo líquido integral pasteurizado e ovo integral em pó

Lote	Amostras ¹		P ²
	Ovo líquido integral pasteurizado	Ovo integral em pó	
1	39,19 \pm 1,76	38,42 \pm 2,08	0,664
2	34,99 \pm 3,26	38,92 \pm 2,55	0,206
3	36,61 \pm 3,36	38,63 \pm 3,06	0,591
4	42,72 \pm 1,06	37,57 \pm 0,94	0,046
5	50,98 \pm 2,51	55,25 \pm 1,30	0,119

¹ Valores expressos como média \pm DP (n=3).

² Valor da probabilidade obtido por teste T.

Tabela 22 – 7 β -hidroxicolesterol ($\mu\text{g/g}$ de lipídeos) em amostras de ovo líquido integral pasteurizado e ovo integral em pó

Lote	Amostras ¹		P ²
	Ovo líquido integral pasteurizado	Ovo integral em pó	
1	28,97 \pm 2,71	26,44 \pm 0,56	0,260
2	26,01 \pm 1,62	29,00 \pm 1,85	0,272
3	30,77 \pm 0,70	31,53 \pm 2,28	0,630
4	31,65 \pm 0,96	49,55 \pm 1,72	0,007
5	27,94 \pm 2,29	35,96 \pm 0,29	0,020

¹ Valores expressos como média \pm DP (n=3).

² Valor da probabilidade obtido por teste T.

Tabela 23 – 25-hidroxicolesterol ($\mu\text{g/g}$ de lipídeos) em amostras de ovo líquido integral pasteurizado e ovo integral em pó

Lote	Amostras ¹		P ²
	Ovo líquido integral pasteurizado	Ovo integral em pó	
1	13,53 \pm 0,78	23,09 \pm 3,18	0,052
2	16,96 \pm 0,20	13,33 \pm 1,72	0,069
3	18,95 \pm 2,30	17,25 \pm 2,44	0,468
4	20,10 \pm 1,78	16,64 \pm 0,71	0,091
5	25,93 \pm 2,96	18,83 \pm 1,62	0,052

¹ Valores expressos como média \pm DP (n=3).

² Valor da probabilidade obtido por teste T.

Os resultados correspondentes aos OsC indicaram que somente no lote 4 houve aumento significativo de 7-Ceto no ovo integral em pó, comparado ao ovo líquido integral pasteurizado (Tabela 20), com redução de um de seus óxidos precursores, 7 α -OH (Tabela 21). Nos lotes 4 e 5 ocorreu aumento significativo relativo ao 7 β -OH (Tabela 22).

O 7 α -OH e o 7 β -OH permanecem praticamente estáveis em temperatura ambiente, mas são facilmente degradados acima de 160°C, sendo o isômero beta mais sensível que o alfa. (GUARDIOLA et al., 2002).

Segundo a tabela 23, as diferenças registradas nos resultados do 25-OH, entre o ovo líquido integral pasteurizado e o ovo integral em pó, não resultaram em significância estatística.

No presente trabalho não pôde ser estabelecida relação entre a estabilidade dos óxidos estudados e a temperatura e o tipo de aquecimento, usados na atomização para a obtenção do ovo integral em pó, por falta de acesso ao processamento industrial. Considerando os resultados obtidos, não houve um aumento muito expressivo nos óxidos analisados, causado pela atomização. No entanto, outros óxidos poderiam ter sido formados durante o processo industrial em apreço, como por exemplo, os isômeros α e β do 5,6-epoxicolesterol.

LERCKER, BORTOLOMEAZZI e PIZZALE (1998) avaliaram a degradação térmica do colesterol e constataram que após 8 horas a 170°C, o óxido mais encontrado foi o 7-ceto, seguido do 7 β -OH, 5,6 α -epoxicolesterol e, por fim, do 7 α -OH (Figura 9).

MAZALLI et al. (2006) quantificaram OsC em gema fresca e ovo integral em pó, verificando aumento nos valores de 7-Ceto, 7 α -OH e 7 β -OH. Foi constatada também a formação de 5,6 α -epoxi e 5,6 β -epoxi (ausentes na gema fresca), detectados em valores superiores aos dos demais óxidos analisados. Na gema fresca e ovo integral em pó foram encontrados 0,36 e 2,5 mg/g de 7-Ceto, respectivamente; enquanto no ovo em pó, houve a formação de 17,63 mg/g de 5,6 β -epoxi e 9,73 mg/g de 5,6 α -epoxi. Esse resultados são muito elevados.

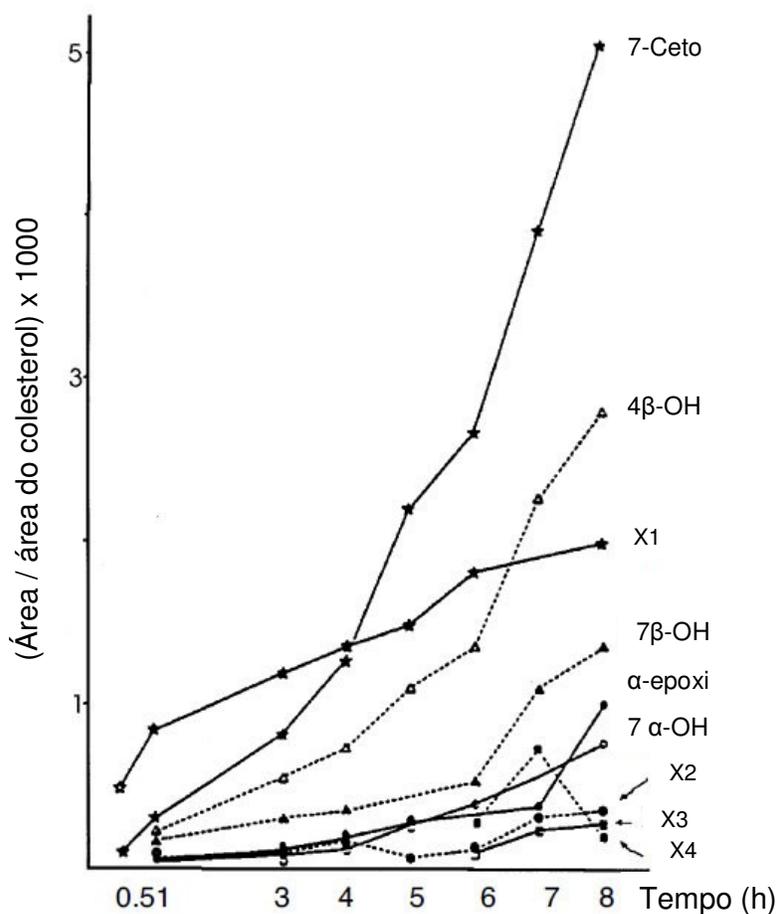


Figura 8. Tendência da termodegradação do colesterol a 170°C, avaliada por cromatografia líquida de alta eficiência (7-Ceto = 7-cetocolesterol; 4β-OH = 4β-hidroxicolesterol, 7β-OH = 7β-hidroxicolesterol; α-Epoxi = 5,6α-epoxicolesterol; 7α-OH = 7α-hidroxicolesterol). X1, X2, X3 e X4 são compostos não identificados

Fonte: LERCKER, BORTOLOMEAZZI, e PIZZALE (1998).

Outros estudos demonstraram que os epóxidos são os óxidos de colesterol mais predominantes em produtos de ovos, formados durante o processamento e armazenamento (NOUROOZ-ZADEH e APPELQVIST, 1988; SANDER et al, 1989; CABONI et al, 2005; OBARA et al, 2006; HUR, PARK e JOO, 2007).

5.2.7 Fenólicos totais

Compostos fenólicos totais foram quantificados no ovo líquido integral pasteurizado e ovo integral em pó, sendo os resultados correspondentes indicados na tabela 24.

Tabela 24 – Fenólicos totais (mg de ácido gálico / 100g de amostra) em amostras de ovo líquido integral pasteurizado e ovo integral em pó

Lote	Amostras ¹		P ²
	Ovo líquido integral pasteurizado	Ovo integral em pó	
1	115,76 ± 7,72	37,56 ± 1,69	0,002
2	111,58 ± 7,63	37,09 ± 1,28	0,003
3	112,96 ± 11,33	36,30 ± 1,65	0,005

¹ Valores expressos como média ± DP (n=3), expressos em base seca.

² Valor da probabilidade obtido por teste T.

A quantidade de fenólicos totais do ovo líquido integral pasteurizado sofreu redução significativa, considerando a quantificação feita no ovo integral em pó.

Os compostos fenólicos possuem amplo espectro de funções. Tradicionalmente, participam do aroma e cor nos vegetais e, mais atualmente, passaram a despertar interesse pelo seu potencial benéfico à saúde, como a ação antimicrobiana e antioxidante (HAARD e CHISM, 2000; MATERSKA e PERUCKA, 2005; VUORELA et al., 2005).

O ácido sinápico, um composto fenólico simples, encontrado na dieta dos animais, possui atividade bactericida contra a *Salmonella enterica*, subespécie *enterica*. No entanto, sua concentração em ovo é baixa (JOHNSON et al., 2008).

Considerando que a dieta de aves é composta, principalmente por ingredientes vegetais, compostos fenólicos podem ser transferidos para o ovo,

conferindo ao produto atividades antimicrobianas e antioxidantes naturais desejáveis (MERLUZZI et al., 2000).

A atividade antioxidante de fenólicos se dá pela inibição do processo de peroxidação lipídica que ocorre pelas propriedades de óxi-redução, reações que podem desempenhar um importante papel na absorção e neutralização de radicais livres, quelando o oxigênio triplete e singlete ou decompondo peróxidos (BIANCHI e ANTUNES, 1999; DEGÁSPARI e WASZCZYNSKYJ, 2004).

Medindo a eficiência de alguns ácidos fenólicos como antioxidantes em sistema lipídico, foi verificado que os ácidos protocatequínico, caféico, ferúlico, gálico e sinápico possuíam alto potencial (DZIEDZIC e HUDSON, 1984). Por outro lado, estes compostos, assim como os demais ácidos fenólicos, possuem baixa solubilidade em sistema lipídico, limitando em parte, sua utilização e seu potencial antioxidante (PRATT, 1992). Contudo, estas substâncias podem ser modificadas para se tornarem lipossolúveis, através de alquilação ou esterificação com ácidos graxos de cadeia longa ou alcoóis, podendo desenvolver um potencial antioxidante maior que o do α -tocoferol ou BHT (VON GADOW et al., 1997).

Ao avaliar compostos fenólicos em suco de uva, MALACRIDA e MOTTA (2005) observaram que o uso de altas temperaturas durante a extração, pasteurização e estocagem pode acarretar perdas na quantidade de compostos fenólicos. A redução de cerca de 60% nos fenólicos totais (Tabela 24) pode, portanto, estar relacionada ao processamento usado na obtenção do ovo integral em pó.

5.3 Avaliação do efeito da adição de tocoferóis ao ovo integral em pó armazenado sobre a estabilidade oxidativa do colesterol

A estabilidade oxidativa da fração lipídica de ovos não tem sido uma área de grande preocupação, uma vez que a capacidade antioxidante natural dos mesmos mantém suas propriedades durante relativo armazenamento prolongado.

A fosvitina, uma proteína da gema, e a conalbumina, do albúmen (clara), têm mostrado atividade antioxidante capaz de inibir reações catalisadas pelo Fe^{2+} e Cu^{2+} . Outros constituintes da gema do ovo, incluindo xantofilas, α -tocoferol e lecitina, têm demonstrado eficiência na prevenção da oxidação de lípideos (FLOROU-PANERI et al., 2006). SAKANAKA e TACHIBANA (2006) avaliaram a capacidade antioxidante de um hidrolisado desengordurado derivado de ovo (proteínas da gema). Constataram ser de 74,2 e 91,7%, respectivamente, a capacidade antioxidante do hidrolisado quando testado em relação aos métodos do DPPH• (2,2-difenil-1-picrilhidrazina) e sequestro de radical hidroxil. Observaram ainda que 0,5% do produto inibia a formação de TBARS em carne bovina moída e atum. Os resultados a que chegaram os autores permitem considerar um uso potencial do hidrolisado de ovo em pauta em produtos de ovos e outros alimentos

Apesar de os ovos frescos serem relativamente estáveis em relação à oxidação lipídica, quando processados são facilmente sujeitos a ela, em especial sob baixos valores de pH, presença de oxigênio, altas temperaturas, etc (PIKE e PENG, 1988; BOTSOGLOU et al., 1998). A susceptibilidade apontada destes produtos processados tem sido uma preocupação da indústria alimentícia. Por outro lado, com a criação de estratégias visando alterar a composição lipídica dos ovos, aumentando-lhes os teores de ácidos graxos poliinsaturados, há elevação

consequente do grau de insaturação, que contribui para a oxidação e leva a perdas nas características da qualidade: valor nutricional, aceitabilidade pelo consumidor, etc (CHERIAN, WOLFE e SIM, 1996).

5.3.1 Umidade e lipídeos totais

Na tabela 25 foram introduzidos os resultados de umidade e lipídeos totais, em amostras de ovo integral em pó adicionadas ou não de tocoferóis e armazenadas por até 90 dias. Da mesma forma, os resultados de colesterol, substâncias que reagem ao ácido tiobarbitúrico, ácidos graxos livres, carotenóides totais, 7-ceto, 7 α -OH, 7 β -OH e 25-OH foram mencionados nas tabelas 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32 e 33, respectivamente.

Tabela 25 - Umidade (g/100g) e lipídeos totais (g/100g) em amostras de ovo integral em pó adicionadas ou não de tocoferóis e armazenadas por até 90 dias

Lote			Dia 0	Dia 30	Dia 60	Dia 90
1	SAO	Umidade	2,73 ± 0,21	3,89 ± 0,18	4,80 ± 0,18	4,90 ± 0,08
		Lip. Totais	48,84 ± 3,74	48,12 ± 1,18	48,52 ± 0,34	49,17 ± 0,40
	CAO	Umidade	3,30 ± 0,26	4,05 ± 0,18	4,82 ± 0,24	4,93 ± 0,13
		Lip. Totais	48,58 ± 3,24	48,84 ± 1,58	48,37 ± 0,28	49,06 ± 0,09
2	SAO	Umidade	2,13 ± 0,12	4,12 ± 0,10	4,25 ± 0,12	4,79 ± 0,05
		Lip. Totais	45,29 ± 3,26	45,35 ± 1,56	45,64 ± 2,30	45,68 ± 0,75
	CAO	Umidade	2,47 ± 0,07	4,31 ± 0,11	4,40 ± 0,13	4,77 ± 0,10
		Lip. Totais	42,75 ± 0,75	41,92 ± 1,42	41,61 ± 1,55	42,63 ± 0,81
3	SAO	Umidade	2,70 ± 0,05	4,17 ± 0,11	4,53 ± 0,08	4,63 ± 0,19
		Lip. Totais	46,04 ± 0,52	46,30 ± 0,26	46,54 ± 0,82	46,41 ± 0,60
	CAO	Umidade	2,99 ± 0,11	4,25 ± 0,10	4,51 ± 0,08	4,57 ± 0,09
		Lip. Totais	46,42 ± 0,19	46,35 ± 0,05	46,23 ± 0,78	46,48 ± 0,26
4	SAO	Umidade	2,72 ± 0,12	3,96 ± 0,06	4,80 ± 0,04	5,09 ± 0,06
		Lip. Totais	41,51 ± 1,25	41,56 ± 0,59	42,00 ± 1,07	41,57 ± 0,34
	CAO	Umidade	2,83 ± 0,06	3,97 ± 0,06	4,53 ± 0,09	4,64 ± 0,18
		Lip. Totais	41,54 ± 1,25	41,06 ± 0,55	41,86 ± 0,44	41,55 ± 0,72
5	SAO	Umidade	4,31 ± 0,37	4,72 ± 0,01	5,16 ± 0,18	5,47 ± 0,07
		Lip. Totais	44,14 ± 0,54	44,12 ± 0,34	44,38 ± 0,88	44,60 ± 0,47
	CAO	Umidade	4,22 ± 0,29	4,74 ± 0,04	4,89 ± 0,16	5,35 ± 0,08
		Lip. Totais	43,76 ± 0,71	43,68 ± 0,15	43,56 ± 0,64	43,38 ± 0,28

Valores expressos como média ± DP (n=3) em base úmida.

SAO = sem antioxidante

CAO = com antioxidante

Lip. Totais = lipídeos totais

Conforme a tabela 25, as amostras adicionadas ou não de AO também mostraram elevação na umidade, assim como ocorreu no armazenamento dos produtos comerciais indicados na tabela 15. Como apontado antes, a hidratação observada é devida à natureza levemente higroscópica do ovo em pó (PRITZKER, 1944; CHRISTOPHER et al., 1985; DEMERTZIS et al., 1988).

Alguns lotes de amostras armazenadas com e sem AO (Tabela 25) apresentaram valores de lipídeos totais um pouco acima dos relatados pela literatura para ovo em pó, 34 a 43,53 % (OBARA et al., 2006; MAZALLI e BRAGAGNOLO, 2007; USDA, 2009); o mesmo se deu com amostras comerciais armazenadas por 180 dias (Tabela 15). A adição do AO comercial (0,03%), veiculado em óleo vegetal, não influenciou a concentração de lipídeos totais das amostras.

5.3.2 Colesterol

Tabela 26 - Colesterol (mg/100g) em amostras de ovo integral em pó adicionadas ou não de tocoferóis e armazenadas por 90 dias

Lote	Amostras ¹		P ²
	Com AO	Sem AO	
1	1595,73 ± 42,55	1579,56 ± 35,97	0,642
2	1602,51 ± 11,76	1553,29 ± 15,48	0,012
3	1372,94 ± 2,14	1358,64 ± 15,77	0,195
4	1403,72 ± 19,97	1415,94 ± 10,89	0,405
5	1384,44 ± 13,66	1397,48 ± 16,14	0,346

¹ Valores expressos como média ± DP (n=3), em base seca.

² Valor da probabilidade obtido por através de teste T para variáveis independentes.

A adição do AO comercial não afetou a concentração do colesterol na maioria das amostras (Tabela 26). Houve discreto aumento estatisticamente significativo no lote 2, em relação ao qual não foi possível estabelecer um motivo aparente.

5.3.3 Substâncias que reagem ao ácido tiobarbitúrico

Um aumento significativo nas TBARS a partir dos 30 dias de armazenamento foi observado na maioria das amostras não incorporadas de AO (Tabela 27). A adição de AO a base de tocoferóis promoveu uma discreta redução nas TBARS em todos os lotes analisados. Porém, esta redução ocorreu significativamente, em relação ao controle no mesmo período, na maioria das amostras a partir dos 60 dias de armazenamento.

Comparando os resultados da tabela 27 com os da tabela 12, aos 60 dias, uma faixa de concentração e variabilidade relativamente menores foram observadas (0,35 a 0,72 mg/kg de TBARS). Isso poderia ser explicado pela forma de manuseio das amostras em relação às embalagens. No armazenamento anterior, as amostras permaneceram em suas embalagens originais e foram abertas e homogeneizadas a cada tomada de ensaio, permitindo um manuseio maior e incorporação de ar. No armazenamento posterior cada tomada de ensaio derivou de uma amostra exclusiva para o dia e tratamento planejado.

Tabela 27 - Substâncias que reagem ao ácido tiobarbitúrico -TBARS (mg/kg) em amostras de ovo integral em pó adicionadas (com AO) ou não (sem AO) de tocoferóis e armazenadas por até 90 dias

Lote	Tempo (dias)								P (tempo) ²
	0		30		60		90		
	Sem AO	Com AO	Sem AO	Com AO	Sem AO	Com AO	Sem AO	Com AO	
1	0,33 ± 0,02 ^a	0,32 ± 0,02 ^a	0,49 ± 0,03 ^e	0,42 ± 0,00 ^d	0,65 ± 0,02 ^{bc}	0,61 ± 0,02 ^b	0,77 ± 0,01 ^f	0,70 ± 0,00 ^c	<0,001
P (amostra) ²	0,001								
2	0,59 ± 0,02 ^a	0,58 ± 0,01 ^a	0,65 ± 0,03 ^{ab}	0,59 ± 0,01 ^a	0,72 ± 0,02 ^b	0,68 ± 0,02 ^b	0,92 ± 0,01 ^c	0,81 ± 0,04 ^d	<0,001
P (amostra) ²	0,006								
3	0,24 ± 0,01 ^d	0,30 ± 0,02 ^e	0,47 ± 0,01 ^{ac}	0,40 ± 0,01 ^b	0,51 ± 0,02 ^a	0,43 ± 0,02 ^{bc}	0,63 ± 0,02 ^f	0,52 ± 0,01 ^a	<0,001
P (amostra) ²	0,002								
4	0,24 ± 0,01 ^a	0,24 ± 0,01 ^a	0,33 ± 0,01 ^{bc}	0,29 ± 0,02 ^{ac}	0,35 ± 0,01 ^b	0,37 ± 0,02 ^{bd}	0,44 ± 0,02 ^f	0,41 ± 0,01 ^{de}	<0,001
P (amostra) ²	0,160								
5	0,33 ± 0,01 ^a	0,32 ± 0,02 ^a	0,39 ± 0,02 ^a	0,35 ± 0,01 ^a	0,61 ± 0,02 ^b	0,53 ± 0,02 ^c	0,68 ± 0,04 ^b	0,64 ± 0,01 ^b	<0,001
P (amostra) ²	0,021								

¹ Valores expressos como média ± DP (n=3), em base seca.

² Valor da probabilidade obtido por através de ANOVA para medidas repetidas. Valores seguidos da mesma letra na linha não diferem estatisticamente (p<0.05).

O valor máximo encontrado, aos 90 dias, foi de $0,92 \pm 0,01$ mg/kg (Tabela 27), muito abaixo de 2,67 mg/kg, associado a menor aceitação sensorial do ovo previamente irradiado (FROEHLICH, 2004).

WAHLE, HOPPE e McINTOSH (1993) também encontraram um decréscimo das TBARS nas amostras de ovo em pó, quando houve suplementação da dieta das aves com vitamina E, em até 8 meses de armazenamento.

GRUNE et al. (2001) verificaram que, para prevenir o aumento da peroxidação lipídica em ovos enriquecidos com ácidos graxos poliinsaturados (n-3 e n-6), era necessária uma grande quantidade de vitamina E (80 UI/kg ou 54,5 mg/kg) adicionada à dieta das aves, uma vez que a alta insaturação contribuía para a oxidação lipídica.

Em contrapartida CHERIAN, WOLFE e SIM (1996) relataram que a inclusão de tocoferol adicionado com óleo de linhaça em dieta de aves poedeiras, promoveu uma redução significativa na concentração de MDA dos ovos. Porém, quando a adição de tocoferol foi feita com óleo de dendê, não houve redução alguma, evidenciando a influência da insaturação dos óleos nos valores das TBARS.

Resultado semelhante foi encontrado por GALOBART et al. (2001a) que ao suplementarem a dieta das aves com óleo de linhaça ou girassol encontraram valores maiores de TBARS para o ovo em pó suplementado com óleo de linhaça. Segundo os autores este fato se dá, não somente pela insaturação própria do óleo como também pela presença de peróxidos. A suplementação das dietas com 200 mg de α -tocoferol reduziu a formação das TBARS ao longo de 12 meses de armazenamento.

Um fato relevante a ser mencionado é que a suplementação da dieta das aves pode não promover o efeito antioxidante desejado no ovo em pó, uma vez que

a atomização reduz significativamente a concentração de tocoferóis adicionados, e aumenta a oxidação lipídica (GALOBART et al., 2001c).

5.3.4 Ácidos graxos livres

Com relação aos ácidos graxos livres, foi observado discreto aumento significativo ao longo do armazenamento, na maioria dos lotes analisados, a partir do 60º dia. Não foi constada diferença significativa entre os lotes, com exceção do lote 2. Não houve influência do antioxidante na concentração de ácidos graxos livres ao longo do armazenamento (Tabela 28).

Tabela 28 - Ácidos graxos livres (% de ácido oléico) em amostras de ovo integral em pó adicionadas (com AO) ou não (sem AO) de tocoferóis e armazenadas por até 90 dias

	Tempo (dias)								<i>P</i> (tempo) ²
	0		30		60		90		
Lote	Sem AO	Com AO	Sem AO	Com AO	Sem AO	Com AO	Sem AO	Com AO	
1	2,48 ± 0,02 ^{ab}	2,50 ± 0,07 ^{ab}	2,32 ± 0,06 ^{bc}	2,29 ± 0,04 ^c	2,45 ± 0,06 ^{abc}	2,49 ± 0,08 ^{ab}	2,57 ± 0,02 ^a	2,55 ± 0,03 ^a	<0,001
<i>P</i> (amostra) ²	0,960								
2	3,03 ± 0,04 ^c	3,14 ± 0,03 ^{bc}	3,28 ± 0,02 ^a	3,23 ± 0,03 ^{ab}	3,22 ± 0,02 ^{ab}	3,32 ± 0,02 ^a	3,57 ± 0,07 ^c	3,60 ± 0,08 ^c	<0,001
<i>P</i> (amostra) ²	0,038								
3	2,50 ± 0,05 ^a	2,55 ± 0,05 ^{ab}	2,56 ± 0,06 ^{ab}	2,66 ± 0,04 ^{abc}	2,73 ± 0,07 ^{bc}	2,65 ± 0,07 ^{abc}	2,79 ± 0,04 ^c	2,82 ± 0,06 ^c	<0,001
<i>P</i> (amostra) ²	0,119								
4	3,60 ± 0,19 ^a	3,63 ± 0,05 ^a	3,75 ± 0,16 ^a	3,84 ± 0,02 ^a	4,34 ± 0,03 ^b	4,43 ± 0,06 ^b	5,47 ± 0,10 ^c	5,36 ± 0,02 ^c	<0,001
<i>P</i> (amostra) ²	0,393								
5	2,88 ± 0,03 ^a	2,89 ± 0,06 ^a	2,99 ± 0,08 ^{abc}	2,93 ± 0,07 ^{ab}	3,06 ± 0,04 ^{abc}	2,99 ± 0,10 ^{abc}	3,20 ± 0,06 ^c	3,16 ± 0,04 ^{bc}	<0,001
<i>P</i> (amostra) ²	0,221								

¹ Valores expressos como média ± DP (n=3), em base seca.

² Valor da probabilidade obtido por através de ANOVA para medidas repetidas. Valores seguidos da mesma letra na linha não diferem estatisticamente ($p < 0.05$).

Paralelamente ao fato de o ovo ser reconhecido como fonte de colesterol, CHERIAN, HOLSONBAKE e GOEGER (2002) constataram que a composição de ácidos graxos de ovo branco comercial era de 35,2, 45,8 e 18,9 % para ácidos graxos saturados, monosaturados e poliinsaturados, respectivamente. Ou seja, a maior fração dos ácidos graxos presentes na gema são os monosaturados, com elevada concentração de ácido oléico, 42,6%.

SILVA et al. (2008) avaliaram a composição de ácidos graxos de ovos tipo caipira e granjeiro. Após constatarem diferenças significativas no perfil de ácidos graxos, relataram que era devido à dieta das aves. Ainda relataram que entre os ácidos graxos saturados, o que mais se destacou foi o palmítico (16:0). E entre os monoinsaturados, o ácido oléico (18:1 n-9) e para os poliinsaturados, o linolênico (18:2 n-6).

Em ovo integral em pó, ocorrem grandes perdas, principalmente nos ácidos graxos poliinsaturados, devido a altas temperaturas do processamento. Perdas adicionais por meio do armazenamento podem ser evitadas com o uso de embalagens laminadas à vácuo (GUARDIOLA et al, 1995b).

As altas temperaturas de atomização causam quebras de proteínas, o que modifica a estrutura das lipoproteínas e conseqüentemente torna o ovo em pó susceptível à oxidação lipídica (PIKE e PENG, 1988).

GUARDIOLA et al, (1995b) ao avaliarem o efeito do processamento e armazenamento no perfil de ácidos graxos, verificaram grande perda de poliinsaturados por meio da atomização, mas não pelo armazenamento. Também foi constatado que antioxidantes costumam ser pouco efetivos na deterioração de ácidos graxos quando o ovo é atomizado e armazenado em condições propícias de oxidação, uma vez que ocorrem interações entre os produtos oxidados formados.

5.3.5 Carotenóides totais

Os resultados de carotenóides totais mostraram uma variação significativa entre todos os lotes. Apesar de haver uma redução discreta ao longo do tempo, esta foi significativa somente a partir dos 30 dias para os lotes 4 e 5. Os lotes 1 e 2 diferiram significativamente somente aos 90 dias, enquanto o lote 3, aos 60 dias. A adição de AO evitou a perda de carotenóides apenas no lote 1, aos 90 dias; lote 4, aos 30 dias e lote 5, aos 60 e 90 dias (Tabela 29).

Tabela 29 - Carotenóides totais ($\mu\text{g/g}$) em amostras de ovo integral em pó adicionadas (com AO) ou não (sem AO) de tocoferóis e armazenadas por até 90 dias

Lote	Tempo (dias)								<i>P</i> (tempo) ²
	0		30		60		90		
	Sem AO	Com AO	Sem AO	Com AO	Sem AO	Com AO	Sem AO	Com AO	
1	3,81 ± 0,05 ^a	3,89 ± 0,12 ^a	3,60 ± 0,10 ^a	3,78 ± 0,06 ^a	3,63 ± 0,13 ^a	3,60 ± 0,17 ^a	2,54 ± 0,11 ^b	2,95 ± 0,13 ^c	<0,001
<i>P</i> (amostra) ²	0,007								
2	3,44 ± 0,06 ^{cd}	3,65 ± 0,06 ^d	3,24 ± 0,06 ^{abcd}	3,46 ± 0,23 ^{bcd}	3,12 ± 0,16 ^{abc}	3,16 ± 0,11 ^{abcd}	2,74 ± 0,13 ^a	2,96 ± 0,17 ^{ab}	<0,001
<i>P</i> (amostra) ²	0,019								
3	3,61 ± 0,13 ^{bc}	3,89 ± 0,06 ^c	3,26 ± 0,17 ^b	3,46 ± 0,17 ^b	2,43 ± 0,11 ^a	2,50 ± 0,07 ^a	2,36 ± 0,06 ^a	2,44 ± 0,07 ^a	<0,001
<i>P</i> (amostra) ²	0,044								
4	2,79 ± 0,06 ^b	3,08 ± 0,12 ^b	2,16 ± 0,13 ^a	2,64 ± 0,11 ^{bc}	2,11 ± 0,11 ^a	2,29 ± 0,13 ^{ac}	1,98 ± 0,11 ^a	2,07 ± 0,11 ^a	<0,001
<i>P</i> (amostra) ²	0,002								
5	3,20 ± 0,12 ^c	3,17 ± 0,13 ^c	2,22 ± 0,01 ^{ab}	2,44 ± 0,11 ^a	1,82 ± 0,06 ^b	2,29 ± 0,06 ^a	1,38 ± 0,06 ^{ab}	2,16 ± 0,17 ^d	<0,001
<i>P</i> (amostra) ²	<0,001								

¹ Valores expressos como média ± DP (n=3), em base seca.

² Valor da probabilidade obtido por através de ANOVA para medidas repetidas. Valores seguidos da mesma letra na linha não diferem estatisticamente ($p < 0,05$).

Durante o processamento dos alimentos os carotenóides podem sofrer modificações devido ao alto grau de insaturação dos mesmos, sendo susceptíveis à oxidação e isomerização (ALMEIDA-MURADIAN e PENTEADO, 2003).

O uso de carotenóides como antioxidantes pode ser eficaz para ovos em casca armazenados sob luz. Os carotenóides com 11 ou mais duplas ligações conjugadas são muito eficazes em sequestrar o oxigênio singlete, que é um mecanismo essencial na prevenção da oxidação (DI MASCIO, KAISER e SIES, 1989; MIN e LEE, 1996).

Contudo a sua susceptibilidade a altas temperaturas pode torná-lo um fator pro-oxidante. LAI et al. (1996) verificaram a influência da adição de carotenóides da páprica na estabilidade do colesterol em ovo integral em pó. Foi constatada uma perda significativa dos carotenóides através do processamento, com aquecimento direto ou indireto, com perda adicional de 22 a 33% pelo armazenamento de até 4 meses. A adição de α -tocoferol (200 mg/kg) reduziu as perdas pelo armazenamento de 39 para 25%.

Ao contrário do que foi relatado por LAI et al. (1996), a adição de tocoferóis não evitou a perda dos carotenóides totais ao longo do armazenamento, uma vez que não houve diferença significativa entre o controle e o tratamento para o mesmo período, na maioria dos lotes (Tabela 29).

5.3.6 Óxidos de colesterol

Com referência aos óxidos de colesterol, foi visto que o armazenamento promoveu um aumento significativo do 7-Ceto a partir dos 60 dias, com discreta

redução, aos 90 dias, nas amostras com antioxidante para a maioria dos lotes (Tabela 30).

Os valores de 7α -OH e o 7β -OH, não se alteraram expressivamente ao longo do tempo, por serem precursores do 7-cetocolesterol (Tabelas 31 e 32). A adição de AO promoveu uma discreta redução, significativa para a maioria das amostras, quando comparadas com o controle no mesmo período, para estes óxidos.

Em semelhança ao ocorrido na atomização (Tabela23) também não foram registradas diferenças nos resultados do 25-OH, em amostras de ovo integral em pó adicionadas ou não de tocoferóis e armazenadas por até 90 dias, não resultaram em significância estatística (Tabela 33).

Tabela 30 - 7-cetocolesterol ($\mu\text{g/g}$ de lipídeos) em amostras de ovo integral em pó adicionadas (com AO) ou não (sem AO) de tocoferóis e armazenadas por até 90 dias

	Tempo (dias)								<i>P</i> (tempo) ²
	0		30		60		90		
Lote	Sem AO	Com AO	Sem AO	Com AO	Sem AO	Com AO	Sem AO	Com AO	
1	39,8 ± 1,42 ^a	40,5 ± 1,22 ^a	39,6 ± 1,27 ^a	40,6 ± 0,52 ^a	38,7 ± 1,94 ^a	40,1 ± 0,80 ^a	45,6 ± 1,46 ^b	41,5 ± 0,90 ^{ab}	<0,001
<i>P</i> (amostra) ²	0,707								
2	41,5 ± 2,11 ^{ab}	37,6 ± 1,34 ^b	41,5 ± 1,41 ^{ab}	40,9 ± 1,04 ^{ab}	43,9 ± 1,37 ^{ac}	42,3 ± 0,59 ^{ab}	44,7 ± 1,32 ^{ac}	48,1 ± 0,86 ^c	<0,001
<i>P</i> (amostra) ²	0,014								
3	39,9 ± 2,89 ^a	38,0 ± 1,71 ^a	40,5 ± 0,67 ^a	40,8 ± 1,31 ^{ab}	45,3 ± 1,33 ^{bc}	42,3 ± 0,42 ^{ab}	50,7 ± 0,89 ^d	47,8 ± 0,65 ^{cd}	<0,001
<i>P</i> (amostra) ²	0,071								
4	35,7 ± 0,60 ^a	35,9 ± 1,54 ^a	34,7 ± 0,86 ^a	34,9 ± 1,19 ^a	39,5 ± 1,31 ^a	39,8 ± 0,48 ^a	46,2 ± 1,93 ^b	46,1 ± 3,02 ^b	<0,001
<i>P</i> (amostra) ²	0,874								
5	32,2 ± 0,74 ^a	32,4 ± 0,79 ^a	35,0 ± 1,66 ^a	43,6 ± 1,44 ^a	44,1 ± 0,11 ^b	44,8 ± 2,69 ^b	48,4 ± 3,64 ^b	43,3 ± 0,97 ^b	<0,001
<i>P</i> (amostra) ²	0,241								

¹ Valores expressos como média ± DP (n=3).

² Valor da probabilidade obtido por através de ANOVA para medidas repetidas. Valores seguidos da mesma letra na linha não diferem estatisticamente ($p < 0,05$).

Tabela 31 - 7 α -hidroxicolesterol ($\mu\text{g/g}$ de lipídeos) em amostras de ovo integral em pó adicionadas (com AO) ou não (sem AO) de tocoferóis e armazenadas por até 90 dias

Lote	Tempo (dias)								<i>P</i> (tempo) ²
	0		30		60		90		
	Sem AO	Com AO	Sem AO	Com AO	Sem AO	Com AO	Sem AO	Com AO	
1	38,4 \pm 2,08 ^a	42,0 \pm 4,62 ^a	73,0 \pm 7,60 ^{bc}	124,0 \pm 7,80 ^d	83,5 \pm 2,00 ^c	63,9 \pm 3,00 ^d	42,1 \pm 1,44 ^a	35,5 \pm 3,30 ^a	<0,001
<i>P</i> (amostra) ²	0,031								
2	38,9 \pm 2,59 ^a	41,7 \pm 1,69 ^a	44,0 \pm 2,30 ^a	33,0 \pm 2,90 ^a	77,8 \pm 2,90 ^b	79,8 \pm 6,10 ^b	38,3 \pm 1,47 ^a	38,0 \pm 3,25 ^a	<0,001
<i>P</i> (amostra) ²	0,257								
3	38,6 \pm 3,06 ^a	40,4 \pm 1,25 ^a	46,0 \pm 2,40 ^{ab}	44,0 \pm 2,90 ^{ab}	44,3 \pm 3,80 ^{ab}	41,8 \pm 1,40 ^{ab}	48,6 \pm 1,52 ^b	42,1 \pm 2,99 ^{ab}	0,014
<i>P</i> (amostra) ²	0,036								
4	37,6 \pm 0,94 ^b	40,8 \pm 1,09 ^{bc}	50,0 \pm 4,00 ^{ac}	38,0 \pm 1,70 ^b	52,0 \pm 4,10 ^a	49,7 \pm 3,40 ^{ac}	46,3 \pm 4,62 ^{abc}	54,6 \pm 1,55 ^a	<0,001
<i>P</i> (amostra) ²	0,743								
5	55,2 \pm 1,30 ^a	46,2 \pm 2,70 ^c	32,0 \pm 1,80 ^b	43,0 \pm 2,00 ^a	43,6 \pm 2,60 ^a	43,5 \pm 2,20 ^a	42,3 \pm 3,66 ^a	45,4 \pm 3,26 ^a	<0,001
<i>P</i> (amostra) ²	0,267								

¹ Valores expressos como média \pm DP ($n=3$).

² Valor da probabilidade obtido por através de ANOVA para medidas repetidas. Valores seguidos da mesma letra na linha não diferem estatisticamente ($p<0.05$).

Tabela 32 - 7 β -hidroxicolesterol ($\mu\text{g/g}$ de lípidos) em amostras de ovo integral em pó adicionadas (com AO) ou não (sem AO) de tocoferóis e armazenadas por até 90 dias

Lote	Tempo (dias)								<i>P</i> (tempo) ²
	0		30		60		90		
	Sem AO	Com AO	Sem AO	Com AO	Sem AO	Com AO	Sem AO	Com AO	
1	26,4 \pm 0,56 ^a	25,7 \pm 3,50 ^a	31,3 \pm 4,01 ^{ab}	28,8 \pm 0,68 ^{ab}	33,4 \pm 2,25 ^{ab}	26,3 \pm 2,07 ^a	29,5 \pm 1,19 ^{ab}	35,4 \pm 2,69 ^b	0,004
<i>P</i> (amostra) ²	0,367								
2	29,0 \pm 1,85 ^{ab}	24,4 \pm 0,38 ^b	32,4 \pm 3,41 ^{acd}	29,0 \pm 0,33 ^{abc}	31,3 \pm 2,65 ^{acd}	27,7 \pm 0,96 ^{ab}	37,2 \pm 1,49 ^d	36,3 \pm 1,83 ^{cd}	<0,001
<i>P</i> (amostra) ²	0,011								
3	31,5 \pm 2,28 ^{ab}	27,0 \pm 1,89 ^a	33,0 \pm 2,63 ^{abc}	30,0 \pm 2,28 ^a	38,9 \pm 1,49 ^{cd}	43,5 \pm 1,05 ^d	32,6 \pm 0,96 ^{abc}	37,5 \pm 0,08 ^{bcd}	<0,001
<i>P</i> (amostra) ²	0,474								
4	49,6 \pm 1,73 ^c	35,6 \pm 2,50 ^{ab}	31,7 \pm 1,64 ^{ab}	32,1 \pm 0,91 ^{ab}	37,9 \pm 2,71 ^b	31,8 \pm 2,12 ^{ab}	28,6 \pm 1,01 ^a	33,5 \pm 2,97 ^{ab}	<0,001
<i>P</i> (amostra) ²	0,002								
5	36,0 \pm 0,29 ^{ab}	29,6 \pm 0,73 ^a	40,1 \pm 2,34 ^{bc}	29,6 \pm 1,64 ^a	29,4 \pm 0,60 ^a	39,4 \pm 1,07 ^{bc}	34,1 \pm 2,30 ^{ab}	45,9 \pm 3,68 ^c	<0,001
<i>P</i> (amostra) ²	0,072								

¹ Valores expressos como média \pm DP ($n=3$).

² Valor da probabilidade obtido por através de ANOVA para medidas repetidas. Valores seguidos da mesma letra na linha não diferem estatisticamente ($p<0.05$).

Tabela 33 - 25-hidroxicolesterol ($\mu\text{g/g}$ de lipídeos) em amostras de ovo integral em pó adicionadas (com AO) ou não (sem AO) de tocoferóis e armazenadas por até 90 dias

Lote	Tempo (dias)								<i>P</i> (tempo) ²
	0		30		60		90		
	Sem AO	Com AO	Sem AO	Com AO	Sem AO	Com AO	Sem AO	Com AO	
1	23,1 ± 3,18 ^a	20,8 ± 3,04 ^{ac}	14,5 ± 1,08 ^{bc}	19,2 ± 2,87 ^{abc}	14,3 ± 0,84 ^b	17,1 ± 0,98 ^{abc}	23,1 ± 2,25 ^a	18,2 ± 1,97 ^{abc}	0,002
<i>P</i> (amostra) ²	0,871								
2	13,3 ± 1,72 ^{ab}	17,5 ± 2,08 ^{ab}	11,8 ± 1,13 ^a	10,0 ± 1,42 ^a	30,9 ± 3,12 ^c	19,3 ± 0,83 ^b	14,8 ± 1,74 ^{ab}	16,3 ± 1,38 ^{ab}	<0,001
<i>P</i> (amostra) ²	0,001								
3	17,2 ± 2,44 ^{ab}	31,2 ± 4,08 ^c	17,3 ± 1,60 ^{ab}	17,6 ± 1,60 ^{ab}	14,9 ± 1,47 ^b	23,8 ± 1,34 ^{ac}	29,4 ± 2,53 ^c	25,6 ± 1,99 ^{ac}	<0,001
<i>P</i> (amostra) ²	<0,001								
4	16,6 ± 0,71 ^{ab}	8,10 ± 0,96 ^e	13,1 ± 1,93 ^{ae}	24,7 ± 3,21 ^{cd}	24,3 ± 2,43 ^{bcd}	17,4 ± 1,42 ^{abc}	25,3 ± 3,06 ^d	18,1 ± 1,74 ^{abcd}	<0,001
<i>P</i> (amostra) ²	0,032								
5	18,8 ± 1,62 ^a	23,0 ± 2,87 ^{abc}	28,2 ± 2,38 ^c	24,3 ± 1,83 ^{abc}	20,5 ± 1,82 ^{ab}	21,6 ± 2,40 ^{abc}	18,8 ± 2,01 ^a	28,4 ± 2,88 ^{bc}	0,001
<i>P</i> (amostra) ²	0,105								

¹ Valores expressos como média ± DP (n=3).

² Valor da probabilidade obtido por através de ANOVA para medidas repetidas. Valores seguidos da mesma letra na linha não diferem estatisticamente ($p < 0.05$).

Muitas tentativas foram feitas para prevenir a oxidação do colesterol durante o processamento e armazenamento em produtos de ovos, como a adição de antioxidantes, uso de embalagens aluminizadas e a vácuo, e condições adequadas.

Os antioxidantes, por exemplo, foram estudados pela adição direta ao produto antes do armazenamento ou pela suplementação dietética das aves. Muitos antioxidantes sintéticos, como BHT, BHA e galato de propila foram testados pela adição direta (MORGAN e ARMSTRONG, 1987; HUBER, PIKE e HUBER, 1995; GUARDIOLA et al., 2004).

GUARDIOLA et al. (2002) afirmaram que o 7α -OH e o 7β -OH permaneceram praticamente estáveis em temperatura ambiente. Segundo MAZALLI et al. (2006), apesar do aumento nos valores de 7-ceto, 7α -OH e 7β -OH, em ovo integral em pó, os epóxidos mostraram valores superiores aos dos outros óxidos analisados. Acredita-se que os epóxidos sejam os OsC predominantes no ovo em pó (NOUROOZ-ZADEH e APPELQVIST, 1988; SANDER et al, 1989; CABONI et al, 2005; OBARA et al, 2006; HUR, PARK e JOO, 2007).

DU e AHN (2000) observaram que a adição de 100 mg/g de vitamina E ou BHT à gema de ovo antes da atomização preveniu a formação de óxidos durante o armazenamento em temperatura ambiente, por 3 meses, no escuro.

HUBER, PIKE e HUBER (1995) relataram que a adição de 230 mg/g lipídeos de uma mistura de tocoferóis reduziu significativamente a formação de 7-ceto, 7α -OH e 7β -OH.

Em contrapartida, BRINKERHOFF et al. (2002) verificaram que a adição de tocoferóis só inibiu a formação do 7-ceto em gema em pó armazenada por 36 meses, não influenciando na formação do 7α -OH, 7β -OH, 25-OH e 5,6 α -epoxi.

WAHLE, HOPPE e McINTOSH (1993) relataram que a adição de concentrações de até 200 mg de vitamina E / kg de ração afetou significativamente a formação dos óxidos de colesterol no ovo em pó armazenado por até 18 meses. Entre 4 e 8 meses ocorreram picos nas concentrações de 25-OH e Triol. Até os 4 meses não houve uma formação expressiva de 7-ceto, 7 α -OH e 7 β -OH, ocorrendo os picos destes óxidos entre 8 e 12 meses, diminuindo até os 18 meses.

Os resultados encontrados na literatura fornecem indícios de que a adição de vitamina E ou uma mistura de tocoferóis podem promover efeitos distintos na oxidação do colesterol (LI et al, 1996). Normalmente tem sido aceito que o α -tocoferol possui uma habilidade maior para doar hidrogênio do que o seu homólogo γ -tocoferol (VALENZUELA, SANHUEZA e NIETO, 2004).

Ao avaliarem o efeito inibidor do α -, β -, γ - e δ -tocoferol na oxidação do colesterol induzida por cloreto ferroso em lipossomas, VALENZUELA, SANHUEZA e NIETO (2002) observaram que todos os homólogos de tocoferol são capazes de inibir a formação de óxidos de colesterol, mas em diferentes graus. O α - e δ -tocoferol foram efetivos na inibição da formação de OsC, enquanto o β -tocoferol não promoveu efeito algum.

É importante salientar que o AO comercial (GUARDIAN™ TOCO 70) utilizado continha uma concentração máxima de 15% de α -tocoferol, sendo o restante formado por β -, γ - e δ -tocoferol (mínimo de 59%) (Tabela 7). Esta proporção não se mostrou efetiva, como era esperado, na redução da formação dos óxidos de colesterol estudados durante o armazenamento.

6. CONCLUSÕES

- Foi verificada a ocorrência de 7-Ceto e 25-OH em todas as amostras comerciais de ovo integral em pó analisadas no 60º dia após a data de fabricação, aumentando durante o armazenamento de até 180 dias no caso do 7-Ceto.

- A atomização industrial reduziu significativamente as TBARS, ácidos graxos livres, carotenóides totais e fenólicos totais, na maioria dos lotes analisados, não promovendo o aumento de 7-Ceto, 7 α -OH e 7 β -OH.

- O antioxidante comercial, à base de tocoferóis, não apresentou o efeito desejado. Promoveu discreta redução nas TBARS, a partir dos 60º dia de armazenamento, e do 7-Ceto aos 90 dias. E não impediu o aumento dos ácidos graxos livres, 7 α -OH e o 7 β -OH, bem como a perda de carotenóides totais.

7. REFERÊNCIAS

- ADDIS, P.B.; GUARDIOLA, F.; CODONY, R. **Analysis and health effects of cholesterol oxides. Food Lipids and Health.** New York: Marcel Dekker Inc., 1996. 473p.
- AHN, D.u.; Le, J.I.; Jo, C. and SELL, J.L. Analysis of cholesterol oxides in egg yolk and turkey meat. *Poultry Science*, v. 78, p. 1060-1064, 1999.
- ALMEIDA, L.B.; PENTEADO, M.V.C. Carotenoids Brazilian sweet potatoes (*Ipomoea batatas* Lam.). *J. Food Compos. Anal.*, Amsterdam, V.a, P. 341-352, 1988.
- ALMEIDA-MURADIAN; L.B.; PENTEADO, M.V.C. **Carotenóides.** In: PENTEADO, M.V.C., ed. **Vitaminas. Aspectos nutricionais, bioquímicos, clínicos e analíticos.** Barueri: Editora Manole Ltda., 2003. p. 1-52.
- ANGELO, A. J. **Lipid Oxidation in food.** American chemical society, Washington,DC, p. 1-13, 1992.
- AOCS (1998). **Official methods and recommended practices of the oil chemists society.** Champaign-Illinois: AOCS.
- ARABSHAHI-DELOUEE, S.; UROOJ, A. Antioxidant properties of various solvent extracts of mulberry (*Morus indica* L.) leaves. **Food Chem.**, v. 102, n. 4, p. 1233-1240, 2007.
- BERTECHINI, A.G. Mitos e verdades sobre ovos de consumo. In: CONFERÊNCIA APINCO 2003 DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVICOLAS, 2003, Campinas. **Anais Apinco 2003.** Campinas : FACTA, 2003. v. 1. p. 19-26.

- BIANCHI, M.L.P.; ANTUNES, L.M.G. Radicais livres e os principais antioxidantes da dieta. **Rev. Nutr.**, 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, 2006.
- BLOUNT, J.D.; HOUSTON D.C.; MØLLER, A.P. Why egg yolk is yellow. **Trends in Ecology & Evolution**, v. 15, n. 2, p. 47-49, 2000.
- BOSELLI, E.; CABONI, M.F.; FREGA, N.G.; LERCKER, G. Cholesterol oxidation in pasta produced with eggs of different origin. **Eur. Food Res. Technol.**, Berlim, v. 218, 410-414, 2004.
- BOTSOGLOU, N.A.; FLETOURIS, J.D.; PAPAGEORGIOU, E.G.; VASSILOPOULOS, V.N.; MANTIS, A.J.; TRAKATELLIS, A.G. Rapid, sensitive, and specific thiobarbituric acid method for measuring lipid peroxidation in animal tissue, food, and feedstuff samples. **J. Agric. Food Chem.**, Washington, v. 42, n. 9, p. 1931-1937, 1994.
- BOTSOGLOU, N.A.; YANNAKOPOULOS, A.L.; FLETOURIS, D.J.; TSERVENIGOUSI, A.S.; PSOMAS, I.O. Yolk fatty acid composition and cholesterol content in response to level and form of dietary flaxseed. **J. Food Agric. Chem.**, v.46, p.4652-4656, 1998.
- BOTSOGLOU, N.A.; FLOROU-PANERI, P.; NIKOLAKAKIS, I.; GIANNENAS, I.; V. DOTAS, V.; BOTSOGLOU, E.N.; AGGELOPOULOS, S. Effect of dietary saffron (*Crocus sativus L.*) on the oxidative stability of egg yolk. **British Poultry Science**, v. 46, n. 6, p. 701-707, 2005.

BRANDÃO, P.A.; COSTA, F.G.P.; BARROS, L.R., NASCIMENTO, G.A.J. Ácidos graxos e colesterol na alimentação humana. **Agropecuária Técnica**, v. 26, n. 1, p. 5-14, 2005.

BRASIL. Decreto n. 30691, de 29 de março de 1952. Aprova o novo Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal. **Diário Oficial da União**, Brasília, 07 julho 1952.

BRASIL. Resolução nº 4, de 24 de novembro de 1988. Aprova revisão das Tabelas I, III, IV e V referente a Aditivos Intencionais, bem como os Anexos I, II, III e VII, todas do Decreto n.º 55.871, de 26 de março de 1965. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, 19 de dezembro de 1988.

BRASIL. Portaria n.1, de 21 de fevereiro de 1990. A Agência Nacional de Vigilância Sanitária estabelece “Normas gerais de inspeção de ovos e derivados”. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, n. 44, 06 março 1990. Seção 1, p. 4321.

BRASIL. RESOLUÇÃO CNS Nº 408, DE 11 DE DEZEMBRO DE 2008. Diretrizes para a promoção da alimentação saudável com impacto na reversão da epidemia de obesidade e prevenção das doenças crônicas não transmissíveis **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, n. 45, 09 de março de 2009. Disponível em: <http://conselho.saude.gov.br/resolucoes/2008/Reso408.doc>. Acesso em 03 nov 2009.

BRINKERHOFF, B.E.; HUBBER, K.C.; HUBBER, C.S. PIKE, O.A. Effect of antioxidants on cholesterol oxidation in spray-dried egg yolk during extended ambient storage. **Food Chem. Toxicol.**, Oxford, v. 67, n. 8, p. 2857-2859, 2002.

- BROWN, A.J.; JESSUP, W. Oxysterols and atherosclerosis. **Atherosclerosis**, Shannon, v. 142, p. 1-28, 1999.
- CABONI, M.F.; BOSELLI, E.; MESSIAS, M.C.; VELAZCO, V.; FRATIANNI, A.; PANFILI, G.; MARCONI, E. Effect of processing and storage on the chemical quality markers of spray-dried whole egg. **Food Chem**, v. 92, p. 293-303, 2005.
- CHAN, S.H.; GRAY, J.I.; GOMAA, E.A. Cholesterol oxidation in whole milk powders as influenced by processing and packaging. *Food Chem.*, v. 47, n. 4, p. 321-328, 1993.
- CHEN, B.H.; CHEN, Y.C. - Evaluation of the analysis of cholesterol oxides by liquid chromatography. **J. Chromatogr. A**, Amsterdam, v.661, p.127-136, 1994.
- CHUNG, H-Y; RASMUSSEN, H.M.; JOHNSON, E.J. Lutein bioavailability is higher from lutein-enriched eggs than from supplements and spinach in men **J. Nutr.**, v. 134, p. 1887-1893, 2004.
- CHERIAN, G.; WOLFE, F.W.; SIM, J.S. Dietary oils with added tocopherols: effects on egg or tissue tocopherols, fatty acids, and oxidative stability. **Poultry Science**, v. 75, n. 3, p. 423-431, 1996.
- CHERIAN, G.; HOLSONBAKE, T.B.; GOEGER, M.P. Fatty acid composition and egg components of specialty eggs. **Poultry Sci.**, v. 81, p. 30-33, 2002.
- CHRISTOPHER, C.L.; SEYMOUR, G.G.; CHAIM, H.M. Thermodynamics of Water-Egg Powders Interaction. *J. Food Sci.*, v.50, n. 6, p. 1615-1617, 1985.

CRASTES DE PAULET, A. ; ASTRUC, M.E.; BASCOUL, J. ; DEFAY, R. Biological effects of oxysterols. In: CRASTES DE PAULET, A.; DOUSTE-BLAZY, L.; PAOLETTI, R., eds. **Free radicals, lipoproteins membrane lipids**. New York : Plenum Press, 1990. p. 291-300. (NATO ASI series. Series A, Life science,V. 189). (Proceedings of a NATO Advanced Research Workshop on Action of Free Radicals and Active Forms of Oxigen on Lipoproteins and Membrane Lipids: cellular interactions and atherogenesis, 1988, Bandol, France).

CSALLANY, A.S.; KINDOM, S.E.; ADDIS, P.B.; LEE, J. HPLC method for quantitation of cholesterol and four of its major oxidation products in muscle and liver tissues. **Lipids**, Champaign, v.24, n.7, p.645-651, 1989.

CUNNINGHAM, F.E. Egg-product pasteurization. In: STADELMAN, W.J. and COTTERIL, O.J. (eds). **Egg Science and Technology**, 4 ed., Binghamton: Food Products Press, 1994, p.289-315.

DEGÁSPARI, C.H.; WASZCZYNSKYJ, N. Propriedades antioxidantes de compostos fenólicos. **Visão Acadêmica**, Curitiba, v. 5, n. 1, p. 33-40, 2004.

DEMERTZIS, P.; KONTOMINAS, M.G. Study of water sorption of egg powders by inverse gas chromatography. **Zeitschrift fuer Lebensmittel-Untersuchung und -Forschung**, v. 186, n. 3, p. 213-217, 1988.

DZIEDZIC, S.Z., HUDSON, B.J.F. Phenolic acids and related compounds as antioxidants for edible oils. **Food Chem.**, v.14, p.45-51, 1984.

DI MASCIIO, P.; KAISER, S.; SIES, H. Lycopene as the most efficient biological carotenoid singlet oxygen quencher, **Arch. Biochem. Biophys.**, v. 274, p. 532-538, 1989.

DU, M.; AHN, D.U. Effects of Antioxidants and Packaging on Lipid and Cholesterol Oxidation and Color Changes of Irradiated Egg Yolk Powder, **J. Food Sci.**, v. 65, p. 625-629, 2000.

ESCARABAJAL, C.; TENUTA-FILHO, A. Colesterol e 7-cetocolesterol livre em macarrão contendo ovos. **Rev. Soc. Bras. Alim.**, São Paulo, v. 29, p. 51-60, 2005.

FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS/USP – Tabela Brasileira de Composição de Alimentos. Disponível em: <http://www.fcf.usp.br/Tabela/>. Acessado em: 03 fevereiro 2009.

FAMAOVOS INDÚSTRIA E COMÉRCIO DE OVOS. Processo – Ovo integral desidratado. Disponível em: <http://www.famaovos.com.br/>. Acessado em 23/09/2009.

FAUST, C.B. & JASSAL, S.S. Lipids – a consumers guide. **Edu. Chem.**, London, p. 15-17, 1993.

FOOD AND DRUG ADMINISTRATION. Pasteurization requirements. **Code of Federal Regulamentation**, 9:590, p. 570, 2002.

FENTON, M. Chromatographic separation of cholesterol in foods. **J. Chromatogr.**, Amsterdam, v. 624. p.369-388, 1992.

FLOROU-PANERI, P.; DOTAS, D.; MITSOPOULOS, I.; DOTAS, V.; BOTSOGLOU, E.; NIKOLAKAKIS, I.; BOTSOGLOU, N. Effect of feeding Rosemary and α -tocopheryl acetate on hen performance and egg quality. **J. Poultry Sci.**, v. 43, p. 143-149, 2006.

FNB/IOM. Food and Nutrition Board / Institute of Medicine. **Dietary Reference Intakes for energy, carbohydrates, fiber, fat, protein and amino acids (macronutrients)**. 936p. Disponível em www.nap.edu. Acesso em: 01 junho 2004.

FOLCH, J.; LESS, M.; STANLEY, S. A simple method for the isolation and purification of the total lipids from animal tissues. **J. Biol. Chem.**, Baltimore, v. 226, p. 497-509, 1957.

FONTANA, A.; ANTONIAZZI, F.; CIMINO, G.; MAZZA, G.; TRIVELLONE, E.; ZANONE, B. High resolution NMR detection of cholesterol oxides in spray-dried egg yolk. **J. Food Sci.**, Chicago, v.57, n.4, p. 869-872, 1992.

FRANCHINI, A.; SIRRI, F.; TALLARICO, N.; MINELLI, G.; IAFFALDANO, N.; MELUZZI, A. Oxidative stability and sensory and functional properties of eggs from laying hens fed supranutritional doses of vitamins E and C. **Poultry Science**, v. 81, p. 1744-1750, 2002.

FRONING, G.W. Egg products industry and future perspectives. In: MINE, Y. (eds). **Egg bioscience and biotechnology**, Hoboken: John Wiley & Sons Inc, 2008, p.307-325.

GALOBART, J.; BARROETA, A.C.; BAUCCELLS, M.D.; GUARDIOLA, F. Lipid oxidation in fresh and spray-dried eggs enriched with ω 3 and ω 6 polyunsaturated fatty acids during storage as affected by dietary vitamin E and canthaxanthin supplementation. **Poultry Science**, v. 80, p. 327-337, 2001a.

GALOBART, J.; BARROETA, A.C.; BAUCCELLS, M.D.; CODONY, R.; TERNES, W. Effect of dietary supplementation with Rosemary extract and α -Tocopheryl acetate on lipid oxidation in eggs enriched with ω 3-fatty acids. **Poultry Science**, v. 80, p. 460-467, 2001b.

- GALOBART, J.; BARROETA, A.C.; BAUCELLS, M.D.; CORTINAS, L.; GUARDIOLA, F. α -Tocopheryl transfer efficiency and lipid oxidation in fresh and spray-dried eggs enriched with ω 3-polyunsaturated fatty acids. **Poultry Science**, v. 80, p. 1496-1505, 2001c.
- GALOBART, J.; GUARDIOLA, F.; BARROETA, A.C.; LÓPEZ-FERRER, S.; BAUCELLS, M.D.; Influence of dietary supplementation with α -Tocopheryl acetate and canthaxanthin on cholesterol oxidation in ω 3 and ω 6 fatty acids-enriched spray-dried eggs. **Journal of Food Science**, v. 67, n. 7, p. 2460-2466, 2002.
- GENOVESE, M.I.; DA SILVA PINTO, M.; DE SOUZA SCHMIDT GOLÇALVES, A.E.; LAJOLO, F.M. Bioactive compounds and antioxidant capacity of exotic fruits and comercial frozen pulps from Brazil. **Food Sci. Tech. Int.**, v. 14, n. 3, p. 207-214, 2008.
- GÓMEZ, M.E.B.; MENDONÇA-JUNIOR, C.X.; MANCINI-FILHO, J. Estabilidad oxidativa de huevos enriquecidos con ácidos grasos poliinsaturados omega 3, frente a antioxidantes naturales. **Bras. J. of Pharm. Sci.**, v. 39, n. 4, p. 425-432, 2003.
- GRUNE, T.; KRÄMER, K.; HOPPE, P.P.; SIEMS, W. Enrichment of eggs with n-3 polyunsaturated fatty acids: Effects of vitamin E supplementation. **Lipids**, v. 36, n. 8, p. 833-838, 2001.
- GUARDIOLA, F.; CODONY, R.; RAFECAS, M.; BOATELLA, J. Formación de derivados oxidados del colesterol en alimentos. **Grasas Aceites**, Seville, v. 46, n. 3, p. 202-212, 1995a.

- GUARDIOLA, F.; CODONY, R.; MANICH, A.; RAFECAS, M.; BOATELLA, J. Stability of polyunsaturated fatty acids in egg powder processed and stored under various conditions. **J. Agric. Food Chem.**, v. 43, p. 2254-2259, 1995b.
- GUARDIOLA, F.; CODONY, R.; ADDIS, P.B.; RAFECAS, M.; BOATELLA, J. Biological effects of oxysterols: current status. **Food Chem. Toxicol.**, Oxford, v. 34, n. 2, p. 193-211, 1996.
- GUARDIOLA, F.; CODONY, R.; RAFECAS, M.; GRAU, A.; JORDAN, A.; BOATELLA, J. Oxysterol formation in spray-dried egg processed and stored under various conditions: prevention and relationship with other quality parameters, **J. Agric. Food Chem.**, v. 45, p. 2229-2243, 1997.
- GUARDIOLA, F.; DUTTA, P.C.; CODONY, R.; SAVAGE, G.P. **Cholesterol and Phytosterol Oxidation Products: Analysis, Occurrence, and Biological Effects**. Champaign:AOCS Press., 2002. 394p.
- GUARDIOLA, F.; GARCIA-CRUSSET, S.; BOU, R.; CODONY, R. Artifactual oxidation of cholesterol during the analysis of cholesterol oxidation products: protective effect of antioxidants. **J. AOAC Int.**, v. 87, n. 2, p. 493-498, 2004.
- HAARD, N.F.; CHISM, G.W. Características de los tejidos vegetales comestibles, p.1117-1199. In: FENNEMA, R.O. (Eds). **Química de los alimentos**, Zaragoza: Editorial Acribia S.A., 2000, 1258p.
- HUBER, K.C.; PIKE, O.A.; HUBER, C.S. Antioxidant inhibition of cholesterol oxidation in a spray-dried food system during accelerated storage. **J. Food Sci.**, v. 60, n. 5, p. 909-912, 1995

HUR, S.J.; PARK, G.B.; JOO, S.T. Formation of cholesterol oxidation products (COPs) in animal products. **Food Control**, v. 18, p. 939-947, 2007.

IMAI, H.; WERTHESSEN, N.T.; SUBRAMANYAM, V.; LEQUESNE, P.W.; SOLOWAY, A.H.; KANISAWA, M. Angiotoxicity of oxygenated sterols and possible precursors. **Science**, London, v. 207, n. 2, p. 651-653, 1980.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA - IBGE
Pesquisas Trimestrais do Abate de Animais, do Leite, do Couro e da
Produção de Ovos de Galinha. Disponível em:
http://www.ibge.gov.br/home/presidencia/noticias/noticia_impressao.php?id_noticia=1176 . Acessado em: 18 fevereiro 2009.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz**. 4ª ed.
São Paulo. 2005, v. 1, 1020p.

INSTITUTO DE ESTUDIOS DEL HUEVO, Composition. Disponível em:
<http://www.institutohuevo.com/scripts/composicion.asp>. Acesso em 19 junho 2005.

JONSON, M.L.; DAHIYA, J.P.; OLKOWSKI, A.A.; CLASSEN, H.L. The effect of dietary sinapic acid (4-hydroxy-3,5-dimethoxy-cinnamic acid) on gastrointestinal tract microbial fermentation, nutrient utilization, and egg quality in laying hens. **Poultry Science**, v. 87, p. 958-963, 2008.

KING, I.B. **Lipids in foods: chemistry and nomenclature. Handbook of lipids in human nutrition**. Boca Raton: CRC Press, 1995. 233p.

- KITAHARA, S.E.; MOURA, A.F.P.; TENUTA-FILHO, A. Validação de método de quantificação do colesterol e 7-cetocolesterol em ovo e hambúrguer. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS, 18, Porto Alegre: 2002. **Anais**, Porto Alegre: XVIII Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos, p. 3162-3166.
- KUMAR, N.; SINGHAL, O.P. Cholesterol oxides and atherosclerosis: a review. **J. Sci. Food Agric.**, London, v. 55, p. 497-510, 1991.
- LAGUERRE, M.; LECONTE, J.; VILLENEUVE, P. Evaluation of ability of antioxidants to counteract lipid oxidation: Existing methods, new trends and challenges. **Progress in lipid research**, v. 46, p. 244-288, 2007.
- LAI, S.-M.; GRAY, J.I.; BUCKLEY, D.J.; KELLY, P.M. Influence of free radicals and other factors on formation of cholesterol oxidation products in spray-dried whole egg. **J. Agric. Food Chem.**, Washington, v. 43, p. 1127-1131, 1995.
- LAI, S.-M.; GRAY, J.I.; PARTRIDGE, J.A.; FLEGAL, C.J. Stability of cholesterol and paprika carotenoids in egg powders as influenced by dietary and processing treatments. **J. Sci. Food Agric.**, v. 72, p. 171-178, 1996.
- LEE, A.; GRIFFIN, B. Dietary cholesterol, eggs and coronary heart disease risk in perspective. **British Nutrition Foundation - Nutrition Bulletin**, v. 31, p. 21-27, 2006.
- LEITINGER, N. Cholesterol ester oxidation products in atherosclerosis. **Molecular Aspects of Medicine**, v. 24, p. 239-250, 2003
- LEONARDUZZI, G.; SOTTERO, B.; POLI, G. Oxidized products of cholesterol: dietary and metabolic origin, and proatherosclerotic effects (review). **J. Nutr. Biochem.**, Stonehm, v. 13, p. 700-710, 2002.

- LERCKER, G.; BORTOLOMEAZZI, R.; PIZZALE, L. Thermal degradation of single methyl oleate hydroperoxides obtained from photosensitized oxidation. **J. Am. Oil Chem. Soc.**, v. 75, p. 1115–1120, 1998.
- LERCKER, G.; RODRIGUEZ-ESTRADA, M.T. Cholesterol Oxidation: Presence of 7-ketocholesterol in Different Food Products. **J. Food Compos. Anal.**, San Diego, v. 13, p. 625-631, 2000.
- LI, S.X.; CHERIAN, G.; AHN, D.U.; HARDIN, R.T.; SIM, J.S. Storage, heating, and tocopherols affect cholesterol oxide formation in food oils. **J. Agric. Food Chem.**, v. 44, p. 3830-3834, 1996.
- LI, S.X.; CHERIAN, G.; SIM, J.S. Cholesterol Oxidation in Egg Yolk Powder During Storage and Heating as Affected by Dietary Oils and Tocopherol. **J. Food Sci.**, v. 61, p. 721-725, 1996.
- LI-CHAN, E.C.Y.; KIM, H. Structure and chemical composition of eggs. In: MINE, Y. (eds). **Egg bioscience and biotechnology**, Hoboken: John Wiley & Sons Inc, 2008, p.1-98.
- LINSEISEN, J.; WOLFRAM, G. Origin, metabolism, and adverse health effects of cholesterol oxidation products. **Fett/Lipid**, Weinheim, v. 100, n. 6, p. 211-218, 1998a.
- LINSEISEN, J.; WOLFRAM, G. Absorption of Cholesterol Oxidation Products from Ordinary Foodstuff in Humans. **Ann. Nutr. Metab.**, Basel, v. 42, p. 221-230, 1998b.
- LIOTÉCNICA TECNOLOGIAS DE ALIMENTOS. A empresa – Tecnologia. Disponível em: <http://www.liotecnica.com.br/>. Acessado em 22/09/2009.

- LIU, X.D.; JANG, A.; LEE, B.D.; LEE, S.K.; LEE, M.; JO, C. Effect of dietary inclusion of medicinal herb extract mix in a poultry ration on the physic-chemical quality and oxidative stability of eggs. **Asian-Aust. J. Anim. Sci.**, v. 22, n. 3, p. 421-427, 2009.
- LYONS, M.A.; BROWN, A.J. Molecules in focus: 7-cetocolesterol. **The International Journal of Biochemistry and Cell Biology**, New York, v. 31, p. 369-375, 1999.
- MAERKER, G.; JONES, K.C. Gamma-irradiation of individual cholesterol oxidation products. **J. Am. Oil Chem. Soc.**, Champaign, v. 69, n. 5, p. 451-455, 1992.
- MAERKER, G. Cholesterol autoxidation - current status. **J. Am. Oil Chem. Soc.**, Champaign, v. 64, n. 3, p.388-392, 1987.
- MALACRIDA, C.R; MOTTA, S. Compostos fenólicos totais e antocianinas em suco de uva. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, Campinas, v. 25, n. 4, p. 659-664, 2005.
- MALVERN INSTRUMENTS LTD. Spray Drying and Atomization Overview. Disponível em: <http://www.malvern.com/ProcessEng/processes/spraydrying/overview.htm>. Acesso em 25 julho 2009.
- MARMION, D.M. **Handbook of U.S. Colorants: Foods, Drugs, Cosmetics, and Medical Devices**, 3rd ed., Wiley Interscience Publication, 1991, 592 p.
- MARQUES, F.B. Fármacos inibidores da redutase da HMGCoA. **Rev. Port. Clin. Geral**, v. 17, p. 141-148, 2001.

- MATERSKA, M.; PERUCKA, I. Antioxidant activity of the main phenolic compounds isolated from hot pepper fruit (*Capsicum annuum* L.). **J. Agric. Food Chem.**, v. 53, p. 1750-1756, 2005.
- MAZALLI, M.R.; BRAGGAGNOLO, N. Effect of storage on cholesterol oxide formation and fatty acid alterations in egg powder. **J. Agric. Food Chem.**, v. 55, p. 2743–2748, 2007.
- MAZALLI, M.R.; SAWAYA, A.C.H.F.; EBERLIN, M.N.; BRAGAGNOLO, N. HPLC Method for quantification and characterization of cholesterol and its oxidation products in eggs. **Lipids**, v. 41, n. 6, p. 615-622, 2006.
- McNAMARA, D.J. Eggs, plasma cholesterol, and heart disease risk. In: WATSON, R.R. (eds). **Eggs and health promotion**, Ames: Iowa State Press, 2002, p.03-08.
- MEDINA, M.K.J.M. **Efeito da radiação ionizante e do armazenamento sobre a estabilidade oxidativa do colesterol em ovos crus e processados**. São Paulo, 2005. 93f. Dissertação de Mestrado - Faculdade Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo.
- MELUZZI, A.; SIRRI, F.; MANFREDA, G.; TALLARICO, N.; FRANCHINI, A. Effects of Dietary Vitamin E on the Quality of Table Eggs Enriched with n-3 Long-Chain Fatty Acids. **Poultry Science**, v. 79, p. 539–545, 2000.
- MIN, D.B.; LEE, H.O. **Food Lipids and Health**. McDonald, R.E., and Min, D.B., (eds.), Marcel Dekker, New York., 1996, p. 241–268.
- MONTGOMERY, R.; CONWAY, T.W.; SPECTOR, A.A. - **Bioquímica, uma abordagem dirigida por casos**. 5ª edição, São Paulo, Artes Médicas, 1994. 477p.

- MORALES-AIZPURÚA, I. C.; TENUTA-FILHO, A. Oxidation of cholesterol in mayonnaise during storage. **Food Chem.**, Barking, v. 89, p. 611-615, 2005.
- MORALES-AIZPURÚA, I.C.; TENUTA-FILHO, A. Óxidos de colesterol: ocorrência em alimentos, formação e efeitos biológicos. **Rev. Bras. Ciênc. Farmac.**, São Paulo, v. 38, n. 4, p. 431-442, 2002.
- MOREL, D. W.; LIN, C. Y. Celular biochemistry of oxysterols derived from the diet or oxidation in vivo. **Nutr. Biochem.**, New York, v. 7, p. 495-506, 1996.
- MORGAN, J.N., AND ARMSTRONG, D.J. Formation of cholesterol-5,6-epoxides during spray-drying of egg yolk. **J. Food Sci.**, v. 52, p. 1224–1227, 1987.
- MORGAN, J.N.; ARMSTRONG, D.J. Quantification of cholesterol oxidation products in egg yolk powder spray-dried with direct heating. **J. Food Sci.**, Chicago, v. 57, n. 1, p. 43-45, 1992.
- MOURA, A.F.P. **Efeito do processamento térmico sobre a ocorrência do 7-cetocolesterol em camarão-rosa**. São Paulo, 1999. 87f. Dissertação de Mestrado - Faculdade Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo.
- NAWAR, W.W. Lípidos, p.269-382. In: FENNEMA, R.O. (Eds). **Química de los alimentos**, Zaragoza: Editorial Acribia S.A., 2000,1258p.
- NOBLE, R.C.; COCCHI, M.; TURCHETO, E. Egg fat – a case for concern? **World's Poultry Science Journal**, Ithaca, v. 446, p. 109-118, 1990.
- O'BRIEN, N.M.; O'CALLAGHAN, Y.C.; LYONS, N.M.; WOODS, J.A. Biological effects of dietary cholesterol oxidation products. **Irish J. Agric. Food Res.**, Dublin, v. 39, p. 265-273, 2000.

- OBARA, A.; OBIEDZINSKI, M.; KOLCZAK, T. The effect of water activity on cholesterol oxidation in spray- and freeze-dried egg powders. **Food Chem.**, v. 95, p. 173-179, 2006.
- PANIANGVAIT, P.; KING, A.J.; JONES, A.D.; GERMAN, B.G. Cholesterol oxides in foods of animal origin. A critical review. **J. Food Sci.**, Chicago, v. 60, n. 6, p.1159-1174,1995.
- PENAZZI, G.; CABONI, M. F.; ZUNIN, P.; EVANGELISTI, F.; TISCORNIA, E.; GALLINA TOSCHI, T.; LERCKER, G. Routine high-performance liquid chromatographic determination of free 7-ketocholesterol in some foods by two different analytical methods. **J. Am. Oil Chem. Soc.**, Champaign, v. 72, n. 12, p. 1523-1527, 1995.
- PIE, J.E., SPAHIS, K., SEILLAN, C. Evaluation of oxidative degradation of cholesterol in food and food ingredients: identification and quantification of cholesterol oxides. **J. Agric. Food Chem.**, v.38, p. 973-979, 1990.
- PIKE, O.A.; PENG, I.C. Effect of protein disruption by denaturation and hydrolysis on egg yolk lipid oxidation. **J. Food Sci.**, v. 53, p. 428–431, 1988.
- PITA, M.C.G.; PIBER-NETO, E.; NAKAOKA, L.M.; MENDONÇA-JUNIOR, C.X. Efeito da adição de ácidos graxos insaturados e de vitamina E à dieta de galinhas e seu reflexo na composição lipídica e incorporação de α -tocoferol na gema do ovo. **Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci.**, v. 41, n. 1, p. 25-31, 2004.
- PRATT, D.E. Natural antioxidants from plant material. In: HO, C.T., LEE, C.Y., HUANG, M.T. Phenolic compounds in food and their effects on health. Washington: American Chemical Society, 1992. p.54-71. (ACS Symposium Series, n.507).

- PRITZKER, J. Hygroscopicity and spoilage of dry egg powder. **Mitteilungen aus dem Gebiete der Lebensmitteluntersuchung und Hygiene**, v. 35, p. 341-344, 1944.
- RAVIA e WATSON, The correlation between cholesterol oxidation products and eggs. In: WATSON, R.R. (eds). **Eggs and health promotion**, Ames: Iowa State Press, 2002, p.03-08.
- ROCHA, H.S.; SILVA, C.C.M.S.; CALAND-NETO, L.B.; LOPES, J.A.D.; CITÓ, A.M.G.L.; CHAVES, M.H. Constituintes químicos das cascas do caule de *Cenostigma macrophyllum*: Ocorrência de colesterol. **Quím. Nova**, v. 30, n. 8, p. 1877-1881, 2007.
- RODRIGUEZ-AMAYA, D.B.; RAYMUNDO, L.C.; LEE, T.C.; SIMPSON, K. L.; CHICHESTER, C. O. Carotenoid pigment changes in ripening *Momordica charantia* Fruits. **Annals of Botany**, v. 40, p. 615-624, 1976.
- RODRIGUEZ-AMAYA, D.B. **A guide to carotenoid analysis in foods**. Washington: ILSI Press, 2001, 64p.
- SAKANAKA, S.; TACHIBANA, Y. Active oxygen scavenging activity of egg-yolk protein hydrolysates and their effects on lipid oxidation in beef and tuna homogenates. **Food Chem.**, v. 95, p. 243–24, 2006.
- SANDER, B.D.; ADDIS, P.B.; PARK, S.W.; SMITH, D.E. Quantification of Cholesterol Oxidation Products in a Variety of Foods. **J. Food Prot.**, Ames, v. 52, n. 2, p. 109-114, 1989.
- SARANTINOS, J.; O'DEA, K.; SINCLAIR, A. J. Cholesterol oxides in Australian foods: identification and quantification. **Food Aust.**, v.45, n.10, p.485-490, 1993.

SCHLATTERER, J.; BREITHAUPT, D. Xanthophylls in commercial egg yolk: Quantification and identification by HPLC and LC-(APCI) MS using a C30 phase. *J. Agric. Food Chem.*, v. 54, n. 6 p. 2267-2273, 2006.

SCHROEPFER, G.J. Oxysterols: modulators of cholesterol metabolism and other processes. ***Physiol. Rev.***, v. 80, p. 361-554, 2000.

SILVA, F.B.; TANAMATI, A.A.C.; STEVANATO, F.B.; ALMEIDA, V.V.; MATSUSHITA, M.; SOUZA, N.E.; VISENTAINER, J.V. Composição de ácidos graxos e colesterol na gema de ovos comerciais. *PUBVET*, v. 2, n. 12, 2008.

SIM, J. S. Designer eggs and their nutritional and functional significance. ***World Rev. Nutr. Diet.***, New York, v. 83, p. 89-101, 1998.

SMITH, L.L. Cholesterol autoxidation. **Plenum Press**, New York, p. 49-123, 1981. Apud: SMITH, L.L. Review of progress in sterol oxidation: 1987-1995. ***Lipids***, Champaign, v. 31, n. 5, p. 453-487, 1996.

SMITH, L.L. Cholesterol autoxidation 1981-1986. ***Chem. Phys. Lipids***, v. 44, n. 2-4, p. 87-125, 1987.

SMITH, L.L.; JOHNSON, H. Biological activities of oxysterols. ***Free Radical Biol. Med.***, New York, v. 7, p. 285-332, 1989.

SMITH, L.L. Mechanisms of formation of oxysterols: a general survey. ***Free Radical Lipoproteins and Membrane Lipids***. New York: Plenum Press, 1990, 409p.

- SMITH, L.L. Review of progress in sterol oxidation: 1987-1995. **Lipids**, Champaign, v. 31, n. 5, p. 453-487, 1996.
- STADELMAN, W.J.; SCHMIEDER, H. Functional uses of eggs – An overview. In: WATSON, R.R. (eds). **Eggs and health promotion**, Ames: Iowa State Press, 2002, p.03-08.
- SURAI, P.F.; B.K. SPEAKE. Distribution of carotenoids from the yolk to the tissues of the chick embryo. **J. Nutr. Biochem.**, v. 9, n. 11, p.645-651, 1998.
- SURAI, P.F.; SPARKS, N.H.C. Designer eggs: from improvement of egg composition to functional food. **Trends in Food Science & Technology**, v. 12, p. 7–16, 2001.
- TAI, C.-Y.; CHEN, Y.C.; CHEN, B.H. Analysis, formation and inhibition of cholesterol oxidation products in foods: an overview (Part I). **J. Food Drug Anal.**, Nankang, v. 7, n. 4, p. 243-257. 1999.
- TAI, C.-Y. ; CHEN, Y.C.; CHEN, B.H. Analysis, formation and inhibition of cholesterol oxidation products in foods : an overview (Part II). **J. Food Drug Anal.**, Nankang, v. 8, n. 1, p. 1-15. 2000.
- TENUTA-FILHO, A.; MORALES-AIZPURÚA, I.C.; MOURA, A.F.P.; KITAHARA, S.E. Óxidos de colesterol em alimentos. **Rev. Bras. Ciênc. Farmac.**, São Paulo, v. 39, n. 3, p. 319-325, 2003.
- TESEDO, J.; BARRADO, E.; SANZ, M.A.; TESEDO, A.; DE LA ROSA, F. Fatty Acid Profiles of Processed Chicken Egg Yolks. **J. Agric. Food Chem.**, v.54, n. 17, p. 6255-6260, 2006.

- TORRES, E.A.F.S.; CAMPOS, N.C.; DUARTE, G.M.L.; GABERLOTTI, M.L.; PHILIPPI, S.T; MINAZZI-RODRIGUES, R.S. Composição centesimal e valor calórico de alimentos de origem animal. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, v. 20, n. 2, p. 145-150, 2000.
- TSAI, L.-S.; HUDSON, C.A. Cholesterol oxides in commercial dry egg products: isolation and identification. **J. Food Sci.**, Chicago, v. 49, p. 1245-1248, 1984.
- THUNGMANEE, N.; INTARAPICHET, K.; THAIUDOM, S. Effects of spray-drying parameters on water activity, color, and oxidation of whole egg powder. In: AGRO-INDUSTRIAL CONFERENCE, 9, Bangkok, 2007. Disponível em: <http://iat.sut.ac.th/food/FIA2007/FIA2007/paper/P4-11-CP.pdf>. Acessado em 14 Out 2009.
- UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE. Regulations governing inspection of egg products. 7 **Code of Federal Regulations**, part. 2859, effective May 8, 1980.
- USDA National Nutrient Database for Standard Reference, Release 22, 2009. Disponível em: <http://www.nal.usda.gov/fnic/foodcomp/search/>. Acessado em 18 Ago 2007.
- V CONGRESSO DE PRODUÇÃO, COMERCIALIZAÇÃO E CONSUMO DE OVOS. Soluções para o setor em 2007. Disponível em: <http://www.apa.com.br/congresso/cobertura.htm>. Acesso em 19 janeiro 2007.
- VALENZUELA, A.; SANHUEZA, J.; NIETO, S. Cholesterol oxidation: health hazard and the role of antioxidants in prevention. **Biol. Res.**, v. 36, p. 291-302, 2003.

- VALENZUELA, A.; SANHUEZA, J.; NIETO, S. Cholesterol oxidized products in foods: potential health hazards and the role of antioxidants in prevention. **Grasas y Aceites**, v. 55, n. 3, p. 312-320, 2004.
- Von GADOW, A., JOUBERT, E., HANSMANN, C.F. Comparison of the antioxidant activity of aspalathin with that of other plant phenols of rooibos tea (*Aspalathus linearis*), α -tocopherol, BHT and BHA. *Journal Agriculture and Food Chemistry*, v. 45, p. 632-638, 1997.
- VUORELA, S.; KREANDER, K.; KARONEN, M.; NIEMINEN, R.; HÄMÄLÄINEN, M.; GALKIN, A.; LAITINEN, L.; SALMINEN, J-P.; MOILANEN, E.; PIHLAJA, K.; VUORELA, H.; VUORELA, P.; HEINONEN, M. Preclinical evaluation of rapeseed, raspberry, and pine bark phenolics for health related effects. **J. Agric. Food Chem.**, v. 53, p. 5922-5931, 2005.
- VYNCKE, W. Direct determination of the thiobarbituric acid value in trichloroacetic acid extracts of fish as a measure of oxidative rancidity. **Fette Seifen Anstrichm.**, Leinfelden, v.72, n.12, p.1084-1087, 1970.
- WASOWICZ, E. Cholesterol and phytosterols. In: SIBORSKI, Z.E.; KOLAKOWSKA, A. (eds). **Chemical and functional properties of food lipids**, Boca Raton: CRC Press, 2003, p.93-107.
- WAHLE, K.W.J.; HOPPE, P.P.; McINTOSH, G. Effects of storage and various intrinsic vitamin E concentrations on lipid oxidation in dried egg powders. **J. Sci. Food Agric.**, v. 61, p. 463-469, 1993.
- ZUNIN, P.; EVANGELISTI, F.; CABONI, M.F.; PENAZZI, G.; LERCKER, G.; TISCORNIA, E. Cholesterol oxidation in baked foods containing fresh and powdered eggs. **J. Food Sci.**, Chicago, v. 60, p. 913-916, 1995.

ZUNIN P.; EVANGELISTI, C.; CALCAGNO, C.; TISCORNIA, E. Cholesterol oxidation in dried egg pasta: detecting 7-ketocholesterol content. **Cereal Chem.**, v. 73, p. 691-694, 1996.