



INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE
BRASÍLIA

CAMPUS PLANALTINA

CURSO SUPERIOR DE TECNOLOGIA EM AGROECOLOGIA

GABRIEL DA SILVA OLIVEIRA

SANITIZAÇÃO DE OVOS CAPIRAS PARA INCUBAÇÃO ARTIFICIAL:
ALTERNATIVAS AO PARAFORMALDEÍDO

PLANALTINA – DF

2018



INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE
BRASÍLIA

CAMPUS PLANALTINA

CURSO SUPERIOR DE TECNOLOGIA EM AGROECOLOGIA

SANITIZAÇÃO DE OVOS CAPIRAS PARA INCUBAÇÃO ARTIFICIAL:
ALTERNATIVAS AO PARAFORMALDEÍDO

GABRIEL DA SILVA OLIVEIRA

Trabalho de Conclusão de Curso (TCC) do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Brasília (IFB), *Campus* Planaltina como parte das exigências para a obtenção do grau de Tecnólogo em Agroecologia.

Orientador: Prof. Dr. Vinícius Machado dos Santos

PLANALTINA – DF

2018



INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE
BRASÍLIA

CAMPUS PLANALTINA

CURSO SUPERIOR DE TECNOLOGIA EM AGROECOLOGIA

TERMO DE APROVAÇÃO

GABRIEL DA SILVA OLIVEIRA

SANITIZAÇÃO DE OVOS CAPIRAS PARA INCUBAÇÃO ARTIFICIAL:
ALTERNATIVAS AO PARAFORMALDEÍDO

**Trabalho de Conclusão de Curso – TCC, aprovado
como requisito parcial para obtenção do grau de
Tecnólogo em Agroecologia do Instituto Federal de
Educação, Ciência e Tecnologia de Brasília, *Campus*
Planaltina, pela seguinte banca examinadora:**

Prof. Dr. Vinícius Machado dos Santos
(Orientador)

Prof^a. MSc. Heloísa Alves de Figueiredo Sousa
(Primeira examinadora)

Prof^a. Dra. Edilsa Rosa da Silva
(Segunda examinadora)

Prof^a. Dra. Sheila Tavares Nascimento
(Terceira examinadora)

Planaltina - DF, 27 de junho de 2018.

DEDICATÓRIA

“Grandes realizações são possíveis quando se dá importância aos pequenos começos.”

(Lao-Tsé)

Dedico este trabalho à Deus, aos melhores pais do mundo Divonê e Demerval, as minhas irmãs Brenda e Silvana e ao meu irmão Romário, por sempre estarem ao meu lado e serem minha base, fazendo com que essa etapa seja concluída.

A vocês sou eternamente GRATO!

EU AMO MUITO VOCÊS!!!

AGRADECIMENTOS

Meus sinceros e especiais agradecimentos ao meu professor e orientador Dr. Vinícius Machado dos Santos, um profissional extremamente competente, pelo qual tenho grande admiração e respeito. Obrigado por ser presente, acreditar no meu potencial e abrir meus horizontes nessa jornada acadêmica. Obrigado pela oportunidade, compreensão, preocupação, confiança, ajuda, apoio, comprometimento, experiências, palavras de incentivo, conhecimentos, momentos de descontração, sábios conselhos e acima de tudo obrigado pela amizade, parceria e enorme contribuição na minha formação acadêmica. Foi essencial durante toda a realização desse trabalho. MINHA GRATIDÃO!

À Avifran – Avicultura Francesa, que forneceu os ovos e todo apoio necessário para realização deste trabalho.

Ao Paulo Rosa pelo apoio, ajuda e contribuição na realização desse trabalho.

À FAP-DF pela bolsa concedida.

A todos meus amigos do curso de Agroecologia, em especial à minha amiga Jullyana, pela ajuda durante todas as partes práticas do trabalho, pelos sábios conselhos, solidariedade e principalmente pela amizade.

Aos profissionais da Avicultura, Larissa, Patrício e Sr. Luiz pela ajuda.

A todos os profissionais (professoras e técnicas) da Agroindústria, por todo carinho, receptividade e suporte.

Ao Zeca, pelo apoio e ajuda na extração do óleo essencial no Laboratório de Química de Produtos Naturais do IF goiano, Campus Rio Verde.

Ao Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Brasília, campus Planaltina, por proporcionar a realização dessa pesquisa.

E a todos aqueles que contribuíram diretamente ou indiretamente para realização deste trabalho.

“sozinhos, pouco podemos fazer; juntos, podemos fazer muito”.

(Helen Keller)

ÍNDICE

RESUMO.....	ix
ABSTRACT.....	x
CAPÍTULO 1 - INTRODUÇÃO E REVISÃO DE LITERATURA.....	14
1. INTRODUÇÃO.....	15
2. OBJETIVOS.....	17
2.1. Objetivos específicos.....	17
3. REVISÃO DE LITERATURA.....	18
3.1. Avicultura brasileira.....	18
3.2. Incubação artificial de ovos.....	18
3.3. Manejo de ovos incubáveis.....	19
3.3.1. Coleta de ovos.....	19
3.3.1.1. Classificação dos ovos.....	20
3.3.1.1.1. Idade das matrizes.....	20
3.3.1.1.2. Integridade, forma e sujidade da casca.....	22
3.3.1.1.3. Peso do ovo.....	23
3.3.2. Sanitização de ovos incubáveis.....	24
3.3.2.1. Sanitização por fumigação (Formaldeído).....	24
3.3.2.2. Sanitização por pulverização.....	26
3.3.2.3. Sanitização por imersão.....	28
3.3.3. Sanitizantes alternativos para ovos incubáveis.....	29
3.3.3.1. Própolis.....	29
3.3.3.2. Óleos Essenciais.....	32
3.3.3.2.1. Cravo-da-índia (<i>Syzygium aromaticum</i>).....	33
3.3.3.3. Proteína hidrolisada do soro do leite de bovino.....	35
3.3.4. Armazenamento de ovos incubáveis.....	37
3.3.4.1. Fatores que interferem no armazenamento de ovos incubáveis.....	37
3.3.4.1.1. Temperatura.....	37

3.3.4.1.2. Umidade.....	38
3.3.4.1.3. Tempo.....	38
3.3.4.1.4. Viragem.....	39
3.3.5. Transporte.....	39
3.3.6. Incubação.....	40
3.3.6.1. Manejo de incubação.....	40
3.3.6.1.1. Pré-aquecimento.....	40
3.3.6.1.2. Incubação do ovo.....	41
3.3.6.1.3. Incubadoras.....	41
3.3.6.1.4. Fatores físicos responsáveis pelo desempenho de incubação.....	42
3.3.6.1.4.1. Temperatura.....	42
3.3.6.1.4.2. Umidade.....	42
3.3.6.1.4.3. Ventilação.....	43
3.3.6.1.4.4. Viragem.....	44
3.3.6.1.4.5. Posição do ovo.....	44
3.3.6.1.5. Ovoscopia.....	44
3.3.6.1.6. Transferência dos ovos para o nascedouro.....	45
3.3.6.1.7. Embriodiagnóstico.....	46
4. DESAFIOS DA SANITIZAÇÃO PARA PEQUENOS PRODUTORES.....	47
5. CONSIDERAÇÕES GERAIS.....	48
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	49
CAPÍTULO 2 - SANITIZANTES ALTERNATIVOS AO PARAFORMALDEÍDO NO MANEJO DE OVOS FÉRTEIS PARA INCUBAÇÃO.....	70
RESUMO.....	71
ABSTRACT.....	72
1. INTRODUÇÃO.....	73
2. MATERIAL E MÉTODOS.....	75
2.1. Local.....	75

2.2. Material experimental e delineamento estatístico.....	75
2.3. Obtenção e caracterização dos tratamentos.....	76
2.3.1. Álcool de cereais.....	76
2.3.2. Óleo essencial de cravo-da-índia (<i>Syzygium aromaticum</i>).....	76
2.3.3. Extrato etanólico de própolis.....	76
2.3.4. Paraformaldeído.....	77
2.4. Procedimentos experimentais.....	77
2.5. Incubação.....	78
2.6. Parâmetros avaliados.....	81
2.7. Parâmetros de qualidade da casca.....	82
2.7.1. Espessura da casa.....	82
2.8. Análise estatística.....	83
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	84
4. CONCLUSÕES.....	92
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	93

RESUMO

OLIVEIRA, Gabriel da Silva. (2018). **Sanitização de ovos caipiras para incubação artificial: alternativas ao paraformaldeído**. Monografia apresentada ao Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Brasília - *Campus Planaltina*, como parte dos requisitos para a obtenção do grau de Tecnólogo em Agroecologia.

A sanitização de ovos incubáveis, se resume em reduzir os microrganismos que estão contidos nos ovos após a postura. A fumigação com paraformaldeído é a técnica de sanitização de ovos férteis mais adotada no Brasil, porém, não é recomendado principalmente devido ao risco aos embriões e à saúde dos profissionais envolvidos na sua aplicação. Diante do exposto, o objetivo desse estudo foi avaliar a substituição do paraformaldeído por produtos alternativos, na sanitização de ovos incubáveis. Foram utilizados 304 ovos frescos para incubação artificial provenientes de matrizes da linhagem CPK, com 40 semanas de idade distribuídos entre os tratamentos de sanitização (álcool de cereais, óleo essencial de cravo-da-índia, extrato etanólico de própolis e paraformaldeído) de maneira aleatória. O delineamento experimental utilizado para as avaliações do rendimento de incubação foi em blocos casualizados, com 4 tratamentos e 4 repetições. Os parâmetros avaliados no experimento foram perda de peso (%), eclosão (%), eclodibilidade (%), fertilidade (%), mortalidade precoce e tardia (%) e rendimento de pintos (%). A perda de peso (%) dos ovos variou de 8,59 a 13,40% ($P < 0,0001$) entre os tratamentos. Essa perda foi menor nos ovos pulverizados com o extrato etanólico de própolis ($8,59 \pm 3,34\%$) quando comparada com as perdas observadas nos tratamentos com álcool de cereais ($13,40 \pm 2,87\%$), óleo essencial de cravo-da-índia ($12,96 \pm 3,33\%$) e paraformaldeído ($13,05 \pm 3,24\%$). A eclodibilidade ($51,39 \pm 5,81$) e a eclosão ($44,74 \pm 6,79$) dos ovos pulverizados com o extrato etanólico da própolis foram afetadas de maneira altamente negativa. As análises feitas nos ovos não eclodidos mostraram que a mortalidade tardia (%) foi maior quando comparada com a mortalidade precoce (%), para os tratamentos álcool de cereais ($12,14 \pm 4,72$; $2,86 \pm 3,30$), óleo essencial de cravo-da-índia ($4,60 \pm 5,95$; $3,03 \pm 3,50$) e extrato etanólico de própolis ($36,63 \pm 6,60$; $11,98 \pm 4,30$). O óleo essencial de cravo-da-índia quando utilizado como sanitizante por pulverização em ovos férteis, permitiu alta taxa de eclodibilidade, podendo ser, uma alternativa ao uso do paraformaldeído, fornecendo uma sanitização natural, segura e não tóxica para os ovos e profissionais envolvidos na sua aplicação.

Palavras-chaves: eclodibilidade, ovos férteis, sanitizantes, viabilidade.

ABSTRACT

OLIVEIRA, Gabriel da Silva. (2018). **Sanitization of hatching eggs for artificial incubation: alternatives to paraformaldehyde**. Monograph presented to the Federal Institute of Education, Science and Technology of Brasília - Planaltina Campus, as part of the requirements for obtaining the degree of Technologist in Agroecology.

The sanitization of hatching eggs aims to reduce the microorganisms that are contained in eggs after laying. Fumigation with paraformaldehyde is the technique of sanitization of fertile eggs more adopted in Brazil, however, it is not recommended mainly due to the risk to the embryos and the health of the professionals involved in its application. In view of the above, the objective of this study was to evaluate the substitution of paraformaldehyde by alternative products in the sanitization of hatching eggs. 304 fresh eggs were used for artificial incubation of matrices of the CPK breed, 40 weeks old, randomly distributed among the sanitization treatments (cereal alcohol, clove essential oil, ethanolic propolis extract and paraformaldehyde). The experimental design used for the evaluation of the incubation yield was randomized blocks, with 4 treatments and 4 replications. The parameters evaluated in the experiment were weight loss (%), hatching (%), hatchability (%), fertility (%), early and late mortality (%) and chicks yield (%). The weight loss (%) of the eggs ranged from 8.59 to 13.40% ($P < 0.0001$) among treatments. This loss was lower in the eggs sprayed with the propolis ethanolic extract ($8.59 \pm 3.34\%$) when compared to the losses observed in cereal alcohol treatments ($13.40 \pm 2.87\%$), clove essential oil ($12.96 \pm 3.33\%$) and paraformaldehyde ($13.05 \pm 3.24\%$). The hatchability (51.39 ± 5.81) and hatching (44.74 ± 6.79) of the eggs sprayed with the propolis ethanolic extract were affected in a highly negative manner. The analyzes performed on non-hatched eggs showed that late mortality (%) was higher when compared to early mortality (%), for cereal alcohol treatments (12.14 ± 4.72 , 2.86 ± 3.30), clove essential oil (4.60 ± 5.95 , 3.03 ± 3.50) and ethanolic propolis extract (36.63 ± 6.60 , 11.98 ± 4.30). Clove essential oil when used as a sanitizer by spraying on fertile eggs allowed high hatchability rates, and may be an alternative to the use of paraformaldehyde, providing a safe, non-toxic natural sanitization for the eggs and professionals involved in your application.

Keywords: fertile eggs, hatchability, sanitizers, viability.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

CAPÍTULO 2

Figura 2. 1 - Pulverização dos sanitizantes nos ovos no incubatório.....	78
Figura 2. 2 - Incubadora da marca Premium Ecológica® utilizada no experimento.....	78
Figura 2. 3 - Pesagem individual do ovo durante o processo de incubação.....	79
Figura 2. 4 - Data logger utilizado para registro da temperatura e umidade da sala de incubação.....	80
Figura 2. 5 - Exemplo de ovo infértil removido durante a ovoscopia.....	80
Figura 2. 6 - Período de nascimento das aves durante o processo de incubação.....	81
Figura 2. 7 - Pesagem das aves ao nascer.....	81
Figura 2. 8 - Mensuração da espessura da casca do ovo.....	83
Figura 2. 9 – Médias de perda de peso (%) dos ovos para os tratamentos álcool de cereais (A. de cereais), óleo essencial de cravo-da-índia (O. de cravo), extrato etanólico de própolis (E. de própolis) e paraformaldeído (Paraformol).....	84
Figura 2.10 - Fertilidade (%) dos ovos para os tratamentos álcool de cereais (A. de cereais), óleo essencial de cravo-da-índia (O. de cravo), extrato etanólico de própolis (E. de própolis) e paraformaldeído (Paraformol).....	85
Figura 2.11 - Eclosão (%) dos ovos para os tratamentos álcool de cereais (A. de cereais), óleo essencial de cravo-da-índia (O. de cravo), extrato etanólico de própolis (E. de própolis) e paraformaldeído (Paraformol).....	86

Figura 2.12 - Eclodibilidade (%) dos ovos para os tratamentos álcool de cereais (A. de cereais), óleo essencial de cravo-da-índia (O. de cravo), extrato etanólico de própolis (E. de própolis) e paraformaldeído (Paraformol).....	87
Figura 2.13 - Mortalidade tardia (%) para os tratamentos álcool de cereais (A. de cereais), óleo essencial de cravo-da-índia (O. de cravo), extrato etanólico de própolis (E. de própolis) e paraformaldeído (Paraformol).....	88
Figura 2.14 - Mortalidade precoce (%) para os tratamentos álcool de cereais (A. de cereais), óleo essencial de cravo-da-índia (O. de cravo), extrato etanólico de própolis (E. de própolis) e paraformaldeído (Paraformol).....	89
Figura 2.15 - Rendimento de pintos (%) para os tratamentos álcool de cereais (A. de cereais), óleo essencial de cravo-da-índia (O. de cravo), extrato etanólico de própolis (E. de própolis) e paraformaldeído (Paraformol).....	90

LISTA DE TABELAS**CAPÍTULO 2**

Tabela 2. 1 - Sanitizantes e suas respectivas concentrações utilizados no estudo..... 75

CAPÍTULO 1
INTRODUÇÃO E REVISÃO DE LITERATURA¹

¹Revisão de literatura aceita para publicação na Revista Eletrônica Nutritime – ISSN:1983-9006.

1. INTRODUÇÃO

A indústria avícola brasileira é destaque no mercado mundial devido aos altos índices de eficiência produtiva. Essa eficiência é resultado dos grandes esforços da cadeia avícola na área do melhoramento genético das linhagens de frango de corte, desenvolvimento de formulações compatíveis com as exigências nutricionais de cada fase da criação e novas tecnologias de manejo, sanidade e ambiência. Uma fase fundamental nesse processo, e que não pode ser negligenciada, é a incubação dos ovos.

A incubação artificial de ovos destaca-se por substituir de maneira eficiente, a prática de choco natural das aves (SILVA, 2005), contribuindo positivamente para a obtenção de excelentes índices zootécnicos e econômicos na avicultura industrial brasileira. Entretanto, como existe uma necessidade do aumento e do melhoramento da produção de frangos de corte devido à alta demanda e custo de produção, é crucial melhorar os percentuais de eclodibilidade e, sobretudo, a qualidade dos pintinhos de um dia, permitindo assim maior produtividade nos galpões de criação.

Antes da incubação, os ovos são submetidos ao processo de sanitização. Sabe-se que na maioria das vezes, a contaminação da casca dos ovos ocorre após a postura, seja por patógenos presentes na cama dos aviários ou provenientes dos ninhos de postura (ARAÚJO & ALBINO, 2011). Ovos com elevados níveis de contaminação podem resultar em perdas consideráveis na eclodibilidade e baixa qualidade dos pintos de um dia, conseqüentemente, aumento nos custos de produção. Sendo assim, faz-se necessária a aplicação de técnicas com objetivo de reduzir a carga microbiana presente sobre a casca dos ovos.

A fumigação do formaldeído é a técnica comumente mais utilizada na sanitização de ovos férteis. Apesar da sua fácil administração e eficiência contra um amplo espectro de microrganismos, o uso do paraformaldeído foi proibido em diversos países devido sua elevada toxicidade e o seu efeito carcinogênico (KUSSTATSCHER *et al.*, 2017). Nos incubatórios essa substância oferece alto risco aos embriões e a saúde de seus manuseadores. Por isso, vários estudos buscam produtos alternativos para sanitização de ovos incubáveis.

Dentre os métodos alternativos de sanitização de ovos incubáveis cita-se a própolis, uma substância resinosa coletada de várias partes das plantas por abelhas e misturada à cera, pólen e secreções salivares (CORRÊA, 2017). Tem como principais constituintes os compostos fenólicos e os flavonoides, estes os responsáveis por grande parte de sua ação farmacológica, com atividades: antimicrobiana, anti-inflamatória, antisséptico, anticariogênica, anticarcinogênica e antioxidante (SIMÕES *et al.*, 2008).

Os óleos essenciais são compostos complexos de substâncias voláteis, lipofílicas, odoríferas e líquidas (WOLFFENBUTTEL, 2007). São muito utilizados no controle de microrganismos, devido às suas propriedades antimicrobianas. O cravo-da-índia é um botão floral seco que confere um composto fenólico volátil, o eugenol (ASCENÇÃO & FILHO, 2013). Esse composto é responsável por grande parte dos efeitos farmacológicos atribuídos ao óleo de cravo, com atividades: antimicrobiano, antiviral, antiúlcera, antidiabético, antioxidante, antitumoral, anestésico, anti-inflamatório, antisséptico, inseticida e repelente (GUIMARÃES *et al.*, 2017).

As proteínas do soro são extraídas da porção aquosa do leite, gerada durante o processo de fabricação do queijo. A β - lactoglobulina e a α -lactoalbumina, a lactoferrina e a lactoperoxidase, são as principais proteínas majoritárias e minoritárias do soro leite, respectivamente (OLIVEIRA *et al.*, 2012). Essas possuem propriedades biológicas importantes, sendo a atividade antimicrobiana uma delas (HERNÁNDEZ, 2008; ALMEIDA *et al.*, 2013; CORRÊA, 2013; ILTCHENCO, 2016).

Devido à elevada carcinogenicidade e insalubridade da fumigação com paraformaldeído nos incubatórios (RUI *et al.*, 2011), pesquisas buscam substâncias alternativas, afim de substituir as características indesejáveis desse sanitizante, entretanto, mantendo uma eficácia semelhante. Diante do exposto, objetiva-se com esta pesquisa avaliar produtos alternativos ao paraformaldeído na sanitização de ovos férteis.

2. OBJETIVOS

O objetivo principal foi avaliar a substituição do paraformaldeído por produtos alternativos, na sanitização de ovos incubáveis.

2.1. Objetivos específicos

- Avaliar os efeitos dos sanitizantes sobre os parâmetros de eficiência de incubação (perda de peso, eclosão, eclodibilidade, fertilidade, mortalidade precoce e tardia);
- Avaliar os efeitos dos sanitizantes sobre o rendimento de pintos de um dia;
- Analisar a qualidade das cascas dos ovos após a incubação.

3. REVISÃO DE LITERATURA

3.1. Avicultura brasileira

O setor avícola é um dos principais pilares da economia brasileira. O Brasil é líder mundial no ranking de exportação de carne de frango, bem como o segundo maior produtor desse tipo de carne, ficando atrás apenas dos Estados Unidos (ABPA, 2017). Nesse contexto, a avicultura industrial brasileira se destaca no cenário nacional e internacional com uma das mais importantes cadeias produtivas de proteína animal dada sua elevada produtividade e, sobretudo, qualidade da carne e do ovo.

A avicultura caipira é uma alternativa diante do amplo mercado da cadeia avícola comercial brasileira. Vem se destacando no cenário nacional, principalmente por suas qualidades nutricionais e por ser um produto de características peculiares de cor, sabor e textura em comparação a carne do frango comercial. O aumento na produção de carne de frango caipira contribui para a competição entre empresas produtoras que, a cada dia, buscam um produto diferenciado e de melhor qualidade para atender às exigências do consumidor (VALENTIM, 2017).

3.2. Incubação artificial de ovos

A incubação artificial é reconhecida dentro da cadeia produtiva de aves como etapa fundamental na produção de frangos de corte. São nos incubatórios comerciais que são gerados, anualmente, milhares de pintinhos para ser alojados nos galpões de criação de frangos de corte no Brasil e no mundo. Em 2016, segundo dados do relatório anual da Associação Brasileira de Proteína Animal (ABPA), o Brasil exportou aproximadamente 9,3 milhões de toneladas de ovos férteis de galinhas para países da África, América Latina, Ásia, Oriente Médio, Países Baixos e Reino Unido (ABPA, 2017).

A incubação artificial de ovos ainda é uma tecnologia utilizada principalmente por grandes produtores e empresas. No entanto, quando adaptada pode se tornar acessível aos pequenos produtores de frangos caipiras e constituir uma ferramenta que irá potencializar essa produção. Em sistemas caipiras de criação a incubação artificial é pouca utilizada e

informações científicas sobre este processo são escassas, por isso, é muito comum a aplicação de parâmetros da avicultura industrial nestes sistemas alternativos de criação.

3.3. Manejo de ovos incubáveis

O manejo de ovos incubáveis é uma das mais importantes atividades do setor avícola, pois determina a qualidade dos pintinhos de um dia. O não cumprimento desse manejo implica em prejuízos que não atendem aos objetivos dessa atividade. É primordial salientar que a qualidade do ovo incubável está relacionada com o ambiente onde foi produzido e com o tipo de manejo que foi submetido (ARAÚJO & ALBINO, 2011), sendo assim, é importante que haja tanto na granja quanto no incubatório condições adequadas de biosseguridade que visem a sanidade dos ovos.

As etapas desse manejo são fundamentais, determinando resultado positivo para a produção avícola. Com isso, serão abordadas, detalhadamente, as etapas que compõem o manejo de ovos incubáveis, sendo estas: coleta de ovos, sanitização, armazenamento, transporte e a incubação.

3.3.1. Coleta de ovos

A coleta de ovos é uma etapa fundamental do manejo de ovos incubáveis. Recomenda-se que sejam realizadas pelo menos sete coletas de ovos diariamente (ARAÚJO & ALBINO, 2011), devendo ser mais concentradas no período da manhã, horário com maior concentração de postura (BERMUDEZ & BROWN, 2003). Objetiva-se com essa recomendação reduzir o número de ovos trincados, quebrados e postos na cama e, por conseguinte, reduzir a contaminação, o tempo de permanência dos ovos em ambiente contaminado e com condições de temperatura e umidade não controladas.

Os ovos podem ser contaminados durante a sua formação no trato reprodutivo das aves (JONES, 1991; SESTI, 2005). Parte dos microrganismos é aderida à casca quando o ovo passa pela cloaca, por onde passam também as fezes (WILLIAMS, 1970; SACCO *et al.*, 1989; MAULDIN, 2002). Porém, o principal momento de contaminação dos ovos é logo após a postura, devido ao contato da casca com superfícies sujas e ambiente contaminado (BOARD, 1969; QUARLES *et al.*, 1970; WALL *et al.*, 2008). Dessa forma,

é de extrema importância a realização de boas práticas de sanidade relacionadas tanto ao trato reprodutivo da ave quanto ao ambiente de postura (JONES, 1991).

O manejo dos ninhos contribui positivamente para a qualidade do ovo que será coletado. Segundo JONES (1991), a qualidade dos ovos será mantida quando a postura é feita em ninhos limpos contendo material absorvente, durável, textura média e com coleta frequente. Além disso, os ninhos devem ser escuros e com boa ventilação, devendo serem fechados à noite para impedir que as aves permaneçam dentro deles, evitando assim a contaminação da área com material fecal e posterior contaminação do ovo (BERMUDEZ & BROWN, 2003). BELL (2002) recomenda-se uma abertura de ninho para cada 4 ou 5 galinhas, pois a quantidade correta de ninhos irá ajudar a reduzir a postura dos ovos na cama.

A postura sobre a cama resulta na produção de ovos com altos níveis de contaminação. BARBOUR & NABUTT (1982) constataram maior contaminação bacteriana em ovos coletados na cama, que ovos recolhidos dos ninhos. Em um estudo sobre fatores que afetavam significativamente a eclodibilidade de ovos de matrizes Ross, HEIER & JARP (2001) identificaram que, dentre outros fatores, o uso de ovos coletados da cama esteve associado com piores resultados para essa variável. Portanto, é válido ressaltar que ovos postos sobre a cama devem ser coletados separadamente dos ovos de ninho, sendo necessário realizar a desinfecção das mãos antes da coleta, principalmente se os ovos de cama forem recolhidos inicialmente.

3.3.1.1. Classificação dos ovos

A classificação de ovos consiste em selecionar manualmente ou mecanicamente os ovos considerados como incubáveis, buscando com isso manter a uniformidade dos lotes. Sendo assim, os critérios básicos para proceder a classificação dos ovos são: idade das matrizes, integridade, forma e sujidade da casca e o peso do ovo.

3.3.1.1.1. Idade das matrizes

O conhecimento sobre a idade das matrizes é um fator muito importante durante a seleção de ovos. Para alguns autores a idade das aves é evidenciada por afetar a

qualidade interna e externa do ovo, peso do ovo e a qualidade do pinto de um dia (ROCHA, 2007; TANURE, 2008; FRANCISCO, 2011). É válido destacar que os ovos férteis perdem sua viabilidade com o avançar da idade da matriz, isto se dá por alguns fatores, os quais fazem com que o embrião perca sua viabilidade (SILVA, 2015).

SCHMIDT *et al.* (2003) afirmaram que os nutrientes necessários para o desenvolvimento do embrião, provenientes da composição química do ovo, são influenciados pela idade da matriz. Segundo TANURE (2008) aves jovens geram ovos menores, com baixo rendimento de incubação, pintos de pior qualidade e com menor peso pós eclosão. Isso pode estar relacionado às baixas concentrações de gema, fator essencial para o crescimento do embrião (BENTON JR & BRAKE, 1996; SUAREZ *et al.*, 1997; VIEIRA & MORAN JR., 1998).

A taxa de retenção de cálcio de uma matriz jovem atinge um índice de aproximadamente 60% enquanto que nas mais velhas, apenas 40% (OLIVEIRA *et al.*, 2009; COSTA *et al.*, 2011). Portanto, com a progressão da idade da ave a quantidade de cálcio depositado na casca não consegue acompanhar concomitantemente o aumento do tamanho do ovo ocasionando uma redução na quantidade de cálcio depositada por unidade de superfície e, conseqüente, diminuição na qualidade da casca (BENTON JR & BRAKE, 1996).

A relação entre a idade da ave e peso do ovo foi estudada por vários autores. PEEBLES *et al.* (2000a) avaliaram o peso do ovo por um mesmo lote de matrizes pesadas com 26, 31, 35, 41 e 47 semanas de idade, observaram que o peso do ovo aumentou com o aumento da idade. Utilizando ovos de matrizes Ross com 32 e 41 semanas de idade, JOSEPH & MORAN JR. (2005b) perceberam que o lote mais velho produziu ovos mais pesados. Desta maneira, ZAKARIA *et al.* (1983) concluíram que com o envelhecimento das matrizes, há o aumento do tamanho e do peso do ovo, visto que a mesma quantidade de gema produzida por síntese hepática é depositada em um número cada vez menor de folículos e, portanto, estes alcançam peso e tamanho superiores.

A idade da matriz também está correlacionada com o percentual de eclodibilidade. Avaliando a eclodibilidade dos ovos das matrizes pesadas Cobb desde 27 até 60 semanas de idade, TONA *et al.* (2001) observaram a melhor eclodibilidade dos ovos produzidos

quando as matrizes estavam com 40 a 42 semanas de idade. ROSA *et al.* (2002) incubaram ovos de matrizes pesadas com 34, 39, 53 e 63 semanas de idade e notaram que houve redução na eclodibilidade dos ovos à medida que as matrizes envelheciam. Isso pode ocorrer devido os embriões em desenvolvimento nos ovos maiores e pesados terem mais dificuldade para perder calor ao final da incubação. (FRENCH, 1997; BOERJAN, 2006; LOURENS *et al.*, 2006; ARAÚJO, 2013).

3.3.1.1.2. Integridade, forma e sujidade da casca

A casca do ovo é um material natural que envolve todo o seu conteúdo interno. Além disso, protege o embrião dos microrganismos, proporciona a difusão dos gases respiratórios, evita com que ocorra perda de umidade excessiva e, conseqüente, desidratação do ovo, e ainda é fonte de nutrientes, principalmente de cálcio, para o desenvolvimento do embrião (HUNTON, 2005; VILELA, 2012). Por se tratar de uma barreira protetiva, deve apresentar alta resistência aos impactos, sejam eles físicos ou mecânicos.

O formato do ovo tem grande influência sobre a resistência da casca. As variações no formato do ovo tornam o ovo mais frágil ou resistente à perfuração pelo pinto ao nascimento (SCHMIDT *et al.*, 2003). De acordo com ALBINO (2005), os formatos compridos ou excessivamente redondos possuem tendência de quebrar durante o processo de viragem nas incubadoras. Contudo, o ovo considerado ideal para incubação é o de formato ovalado (LAUVERS & ARAÚJO, 2011).

A qualidade e a espessura da casca são essenciais para o desenvolvimento do embrião. Segundo SAUTER & PETERSEN (1974), existe uma correlação entre a qualidade da casca e a penetração microbiana no ovo; quanto menor a densidade da casca, maior é a facilidade de os microrganismos introduzir-se no ovo. SCHMIDT *et al.* (2003), observaram que a espessura da casca inferior a 0,27mm dificilmente mantém o embrião vivo até o fim do ciclo da incubação, e que espessura entre 0,33 a 0,35mm obteve melhor resultado. Em outro estudo, NORTH (1972) constatou que ovos trincados, com casca deformada, casca mole, casca enrugada, achatados nos polos, não devem ser incubados, pois, todos esses fatores proporcionaram baixo rendimento de incubação.

De acordo com MURAROLLI (2008), ovos com casca suja podem ser incubados, desde que sejam em incubadoras separadas, pois apodrecem e explodem mais nas incubadoras devido a maior contaminação verificada nesses ovos. Desta maneira, ovos sujos têm menor taxa de eclodibilidade quando comparado aos limpos (ARAÚJO & ALBINO, 2011).

3.3.1.1.3. Peso do ovo

O peso do ovo varia com a idade da ave. Dessa forma, ovos mais pesados são produzidos por matrizes velhas, enquanto, ovos mais leves por matrizes jovens. O peso ideal do ovo incubável está entre 56g e 70g (SAULLU, 2007), sendo que 62 a 76% será o peso do pinto (SHANAWANY, 1987; YANNAKOPOULOS & TSERVENI-GOUSHI, 1987; SCHMIDT *et al.*, 2002). Admite-se como mínimo o peso de 50 g e não se limita o máximo, com exceção aos ovos de duas gemas (ARAÚJO & ALBINO, 2011).

A eclodibilidade em função do peso do ovo, tem sido investigada ao longo do tempo. BYERLY & MARSDEN (1938), CONNOR (1986), WILSON (1991) e TEIXEIRA *et al.* (2012) verificaram que a eclodibilidade dos ovos médios é melhor quando comparada à dos ovos maiores ou menores. Segundo FRENCH (1997), a eclodibilidade de ovos maiores é reduzida porque o aumento do conteúdo do ovo não é acompanhado do aumento proporcional da condutância térmica, prejudicando a perda de calor metabólico produzido pelo embrião.

Existe uma correlação positiva entre o peso do ovo e o peso do pinto ao nascer. Segundo LOURENS *et al.* (2006) incubaram ovos de um mesmo lote de aves Hybro classificados como ovos grandes, pesando entre 70 a 72g, e pequenos, com o peso variando de 54 a 56g e observaram que o tamanho dos ovos influenciou o peso dos pintos, pois os ovos pequenos originaram pintos menores e os ovos grandes pintos maiores. Portanto, a definição das faixas de peso é muito importante durante a classificação dos ovos, uma vez que ovos de diferentes pesos originam pintos de pesos diferentes, implicando em desuniformidade do lote.

3.3.2. Sanitização de ovos incubáveis

A sanitização de ovos incubáveis se resume em reduzir os microrganismos que estão contidos na casca dos ovos após a postura. São diversos os procedimentos adotados na indústria avícola para realizar essa sanitização. Os procedimentos ideais devem apresentar capacidade para reduzir os microrganismos da casca, segurança ao aplicador, e não menos importante, praticidade e custo acessível. Os métodos mais conhecidos e utilizados são a fumigação, a pulverização e a imersão (CONY *et al.*, 2008; OIE, 2010).

A ineficiência dos métodos de sanitização indubitavelmente acarretará em perdas significativas na eclodibilidade, aumento da mortalidade embrionária, elevada mortalidade dos pintos nos galpões, aves com padrão sanitário e desempenho ruim e, por conseguinte, aumento nos custos de produção. Entretanto, segundo BERRANG *et al.* (2000) a sanitização de ovos incubáveis torna-se, então, eficaz quando adequados procedimentos e parâmetros são aplicados.

NORTH (1972) avaliou o efeito do tempo decorrido após a postura do ovo sobre o número de bactérias da casca, verificou que após 1 hora o número de bactérias da casca estava entre 20.000 – 30.000 bactérias. Nesse contexto, ARAÚJO & ALBINO (2011) recomendam que a desinfecção dos ovos seja realizada no máximo 30 minutos após a postura, tentando assim reduzir a contaminação da casca e diminuir as chances de os microrganismos atravessarem a casca e contaminarem a clara e a gema.

3.3.2.1. Sanitização por fumigação (Formaldeído)

A fumigação dos ovos é o ato de propiciar a volatilização de um desinfetante (CONY, 2007). A fumigação com formaldeído é a técnica de sanitização de ovos férteis mais adotada no Brasil (BRANCO, 2017). Apesar do formaldeído deter o potencial de eliminar microrganismos, ter custo acessível e o processo de fumigação permitir que a desinfecção seja feita em muitos ovos concomitantemente (MAULDIN, 2002; GREZZI, 2008), não é recomendado principalmente devido ao risco à saúde dos profissionais envolvidos na sua aplicação (CLÍMACO, 2017).

O formaldeído é o elemento mais simples e o mais usado do grupo dos aldeídos, de fórmula molecular H_2CO . É um gás inflamável, incolor, tem um odor característico e

é altamente reativo. Na ausência de água se mostra estável e na presença dela tende a polimerizar-se espontaneamente, e assim formar um composto sólido denominado paraformaldeído (CARVALHO, 2013; BRANCO, 2017).

O processo de fumigação dos ovos incubáveis pode ser feito com o formaldeído em pó (paraformaldeído) ou com o mesmo produto em estado líquido associado ao permanganato de potássio (MACARI *et al.*, 2014). Esse processo deve ser realizado numa cabine especial, construída ou revestida de material impermeável e completamente fechado, com um exaustor para circulação e expulsão do gás durante e no término da operação, respectivamente. A temperatura recomendada é entre 25 e 33°C e a umidade relativa do ar acima em 75% (ARAÚJO & ALBINO, 2011). O tempo de exposição dos ovos ao processo vai depender dos fatores citados acima e da concentração do produto.

A utilização do formaldeído, em qualquer que seja o estado físico, é o principal método de ação para controle de microrganismos da casca de ovos na indústria avícola mundial (BRANCO, 2017). No estudo de WILLIAMS (1970), é comprovada a eficácia do processo e do produto. O autor comparou a diminuição de bactérias na casca dos ovos após a desinfecção por meio de fumigação com 5 níveis de formaldeído associado a permanganato de potássio. Concluiu-se que a redução bacteriana não teve diferença estatística, sendo de 99,82% na menor concentração e de 99,85% na maior.

É comprovado, portanto, que a fumigação com formaldeído é eficiente. Porém, esse método é questionável frente a algumas discussões. Em frangos de corte, HAYRETDAG & KOLANKAYA (2008) observaram efeito negativo da fumigação com formaldeído líquido e permanganato sobre as células do tecido da traqueia de embriões com 18 dias de incubação e dos pintinhos com 1 dia de idade. No estudo de FREITAS (2007) foram encontradas alterações ultra e micro estruturais na traqueia e pulmões, sendo as mais frequentes rupturas de membranas ciliares, aglutinação ciliar, área de descamação no epitélio e infiltração de heterofilos. ZEWEIL *et al.* (2015) concluíram que o formaldeído produz efeitos teratogênicos e tóxicos em embriões de pintinhos em desenvolvimento.

SCOTT & SWETNAM (1993b) com o objetivo de buscar uma alternativa econômica e eficiente ao formaldeído, testaram 23 desinfetantes (entre eles formalina,

glutaraldeído, compostos a base de amônia quaternária, compostos a base de fenol, compostos a base de peróxido de hidrogênio, produtos com presença de EDTA na sua formulação e ozônio) em relação à redução microbiana na casca de ovos. Os autores concluíram que apenas quatro (Virkon[®], basic G & H[®], sanimist[®] e o ozônio) não alcançaram a redução na contagem microbiológica e que os demais apresentaram desempenho igual ou melhor àquele encontrado com o formaldeído.

WHISTLER & SHELDON (1989b) analisaram a atuação bactericida do ozônio, sua influência na perda de umidade e o impacto no percentual de eclodibilidade. Nesse estudo, o ozônio apresentou bons resultados de desinfecção, próximos àqueles encontrados com formaldeído. SAMBERG & MEROZ (1995) citaram o uso de gás ozônio como possível desinfetante alternativo ao uso de formaldeído, por apresentar resultados similares.

KEITA *et al.* (2016) colocaram em questão substâncias alternativas viáveis ao formaldeído na desinfecção de ovos para incubação. Nesse contexto, testaram a termo a nebulização de dicloroisocianurato de sódio, a nebulização de peróxido de hidrogênio 6%, a aspersão de água oxidada eletrolisada e o peróxido de hidrogênio 30%. O peróxido de hidrogênio, seja a 6% ou a 30%, indicou consistentemente acima dos limites estabelecidos como seguros, enquanto os demais desinfetantes conseguiram respeitar os valores pré-determinados. Em contrapartida, foram justamente esses tratamentos os mais eficientes na eclosão de ovos férteis, sendo os únicos a se mostrarem estatisticamente superiores.

3.3.2.2. Sanitização por pulverização

A pulverização de ovos é um procedimento de desinfecção, no qual consiste em pulverizar ovos com solução desinfetante mediante utilização de um pulverizador. Este método é amplamente praticado, simples, econômico e quando bem aplicado reduz a contaminação dos ovos. MAULDIN (2002) cita várias soluções que podem ser utilizadas na pulverização de ovos, sendo soluções contendo quaternários de amônia, formaldeído, peróxido de hidrogênio, misturas de quaternários de amônia, formaldeído e fenóis.

O método de pulverização, assim como diversos outros modos de desinfecção, no objetivo de desinfetar os ovos adequadamente precisa seguir alguns parâmetros. De acordo com TURBLIN (2011), a seleção e diluição do desinfetante é um desses parâmetros, que, além de seguir critérios relacionados à atividade do desinfetante, não deve usar composto que prejudique a troca gasosa pela casca do ovo. A correta utilização é outra questão apontada pelo autor, que afirmou que para reduzir a maior quantidade de microrganismos a solução desinfetante tem que ser aplicada de maneira a atingir toda a superfície do ovo.

Estudos sobre a pulverização de desinfetantes em ovos incubáveis são encontrados na literatura. BRAKE & SHELDON (1990) avaliaram a contagem microbiológica da casca dos ovos pulverizados contra um grupo controle e verificaram que a redução bacteriana foi de 98% após a pulverização com amônia quaternária a 1,5 e 3%. Em outro estudo, SHELDON & BRAKE (1991) analisaram o resultado da eclodibilidade de ovos pulverizados com H₂O₂ comparando com dois grupos controle (seco e úmido) e formaldeído associado com permanganato de potássio. Foi verificada diferença estatística entre tratamentos apenas para mortalidade tardia (8 a 20 dias), onde o tratamento pulverização foi o que teve menor mortalidade (1,95%).

CONY (2007) avaliou a contaminação microbiana da casca de ovos incubáveis pulverizados com compostos de fenol sintético, digluconato de clorexidina, amônia quaternária, amônia associada à ureia e amônia associada à glutaraldeído, além do grupo controle sem desinfecção e controle com desinfecção por meio de formaldeído. Concluiu que os desinfetantes a base de amônia quaternária associada a glutaraldeído e fenol sintético foram ineficazes para redução microbiológica na casca por mesófilos totais.

Novos produtos para pulverização em ovos continuam a ser estudados (CLÍMACO, 2017). No estudo de FASENKO *et al.* (2009) foi analisado a pulverização de água oxidante eletrolisada ácida (EO ácida) como método alternativo ao uso de fumigação com formaldeído em ovos incubáveis. Ao testar a ação de EO ácida sobre a contagem microbiana da casca, os autores relataram redução significativa na carga microbiana da casca (2,5 log ufc/cm² versus 3,5 log ufc/cm² do tratamento sem desinfecção) e nenhuma alteração na cutícula foi notada. O desenvolvimento do embrião

e eclodibilidade também não foram prejudicados. BIALKA *et al.* (2004) verificaram que a EO ácida atua como eficiente microbicida e demonstrou capacidade de eliminar *E. coli* e *Salmonella enteritidis* em casca de ovos.

3.3.2.3. Sanitização por imersão

A imersão dos ovos em solução de desinfetantes é usada para a redução de microrganismos sobre a casca de ovos. Portanto, esse método é utilizado em algumas indústrias avícolas, porém, sua eficácia é controversa frente a algumas discussões. Segundo MAULDIN (2008), a falta de controle de temperatura e tempo são fatores que afetam a eficiência do método. Dados encontrados na literatura divergem sobre qual deve ser a temperatura e tempo ideais, encontrando-se estudos realizados com imersão em soluções entre 38 e 42°C (PROUDFOOT *et al.*, 1985), 35°C por 10 segundos (DONASSOLO & NETO, 2004), 30°C (SONCINI & BITTENCOURT, 2003), 25 e 43°C por 3 minutos (BARROS *et al.*, 2001), 45°C por 30 segundos (OLIVEIRA & SILVA, 2000).

Estudos com o uso do método de imersão de ovos em substâncias desinfetantes foram apresentados ao longo dos anos. COX & BAILEY (1991), realizaram uma comparação entre métodos de desinfecção, demonstrando-se que o método de imersão dos ovos em peróxido de hidrogênio (H₂O₂), poli-hexametileno-biguanida (PHMB) e formulações comerciais de glutaraldeído, amônia quaternária, fenol e composto virucida foi mais eficaz que os métodos de pulverização e nebulização com os mesmos desinfetantes.

DONASSOLO & NETO (2004) verificaram os percentuais de nascimento e contaminação microbiológica da casca de ovos imersos em solução desinfetante a base de compostos fenólicos e de ovos fumigados com formaldeído associado a permanganato de potássio, encontrando-se resultados superiores no processo de imersão nas análises microbiológicas, eclodibilidade e mortalidade de 0 a 7 dias de incubação e resultado inferior em relação à mortalidade entre 15 e 18 dias de incubação.

O uso de desinfecção de ovos incubáveis com desinfetantes considerados naturais (produto à base de orégano (0,2 e 0,4%), à base de cominho (0,2 e 0,4%) e com a mistura

dos dois (0,1+0,1% e 0,2+0,2%), por meio do método de imersão, foi estudado por ZEWEIL *et al.* (2015). Os autores concluíram que os desinfetantes naturais acima testados foram capazes de reduzir em 73,7% a contagem bacteriana da casca dos ovos.

ZEWEIL *et al.* (2015) observaram que os compostos químicos (peróxido de hidrogênio 5%, cloreto de sódio 10%, iodopovidona (2%), e peroximonosulfato de potássio 0,4% + cloreto de sódio 1,5%) utilizados para desinfecção de ovos pelo método de imersão causaram crescimento retardado, bicos malformados e fraqueza muscular de embriões de pintinhos em desenvolvimento.

3.3.3. Sanitizantes alternativos para ovos incubáveis

Devido aos efeitos adversos do formaldeído, pesquisadores buscam substâncias alternativas para sanitização de ovos incubáveis. Segundo TURBLIN (2008), o produto sanitizante deve ser eficaz na eliminação de microrganismos patogênicos, de baixo custo, fácil uso e aplicação, ativo em baixas concentrações e seguro para os ovos e pessoas envolvidas na sua aplicação. Além disso, BRAKE & SHELDON (1990) e MERIANOS (1991), citaram a necessidade de levar em consideração que diferentes fatores podem influenciar a atividade do sanitizante, assim como sua concentração, o tempo decorrido até a sanitização, qualidade de matéria orgânica presente na região que será sanitizada e os tipos de microrganismos que ele consegue eliminar.

3.3.3.1. Própolis

A própolis é uma resina de coloração e consistência variada produzida pelas abelhas por intermédio da utilização de substratos extraídos de diversas partes das plantas, como brotos, botões florais, casca, folhas e exsudatos resinosos (CUETO, 1989). Durante o processo de elaboração da própolis, as abelhas adicionam cera, juntamente com a enzima 13-glicosidase presente na sua saliva, acarretando a hidrólise dos flavonoides glicosilados em flavonoides agliconas (PARK & KOO, 1997; CASTALDO & CAPASSO, 2002; STRADIOTTI *et al.*, 2004). Elas de fato usam esta substância para vedar aberturas, proteger as colônias de insetos e microrganismos invasores e regular a temperatura dentro da colmeia (BANKOVA *et al.*, 2000; PARK *et al.*, 2002).

A própolis é considerada uma das misturas mais heterogêneas encontradas em fontes naturais (COSTA *et al.*, 2013). É composta por 50% de resina e bálsamo vegetal, 30% de cera, 10% de óleos essenciais, 5% de pólen e 5% de outros compostos, tendo variações conforme a vegetação na qual é coletada (COSTA & PEREIRA, 2002; KUMAZAWA *et al.*, 2004; PIETTA *et al.*, 2002; VARGAS *et al.*, 2004). Os compostos fenólicos e os flavonoides são os principais constituintes da própolis, pois são os responsáveis pela bioatividade contra vários microrganismos patogênicos (KOSALEC *et al.*, 2005; SIMÕES *et al.*, 2008).

A própolis é reconhecida pelas suas diversas propriedades biológicas, com atividades antiviral (HULEIHEL & ISANU, 2002; SCHNITZLER *et al.*, 2009; BÚFALO *et al.*, 2009; NOLKEMPER, *et al.*, 2010), antifúngica (OTA *et al.*, 2001; KOC *et al.*, 2005; QUINTERO *et al.*, 2008; CARDOSO *et al.*, 2009), antibacteriana (KUJUMGIEV *et al.*, 1999; SFORCIN *et al.*, 2000; VARGAS *et al.*, 2004; SALOMÃO *et al.*, 2009; CABRAL *et al.*, 2009; CARDOSO *et al.*, 2009), antiparasitária (DANTAS *et al.*, 2006; SALOMÃO *et al.*, 2009), anti-inflamatória (BORRELLI *et al.*, 2002; PAULINO *et al.*, 2008), antioxidante (CABRAL *et al.*, 2009; GREGORIS & STEVANATO, 2010), antitumoral (EL-KHAWAGA *et al.*, 2003; SFORCIN, 2007) e imunomoduladora (FISCHER *et al.*, 2007; PAGLIARONE, 2009).

As características da própolis estão vinculadas a sua origem botânica. Segundo MARCUCCI (1996), a cor da própolis pode variar do marrom escuro passando a uma tonalidade esverdeada até o marrom avermelhado. Possui um odor peculiar que pode alterar de uma amostra para outra. O ponto de fusão é variável entre 60 e 70°C, podendo atingir até 100 °C. É uma substância que apresenta boa consistência quando fria e que se torna maleável quando aquecida (BURDOCK, 1998). Além de tudo, apresenta baixa toxicidade inata (PINTO, 2011).

O extrato da própolis é o produto proveniente da extração dos componentes solúveis da própolis. Pode ser obtido por extração simples, quando a amostra é deixada em contato com o solvente a frio por um tempo determinado, com ou sem agitação, ou por uma extração exaustiva, que utiliza um aparelho com solvente aquecido, passando

continuamente através da amostra (JEFFERY *et al.*, 1992). O tempo de contato da própolis bruta com o solvente pode variar de um dia a meses.

Vários estudos descrevem diferentes métodos de extração de própolis utilizando diferentes solventes extratores. FERNANDES JR. *et al.* (1997) utilizaram extratos obtidos triturando 50 g de amostra em 100 ml de etanol 96 °GL. NAGAI *et al.* (2003) testaram as propriedades biológicas dos extratos aquosos de própolis obtidos com 50g de amostra e 5 volumes de água destilada, agitação a 20°C por um dia e uma reextração do resíduo por mais um dia. KUMAZAWA *et al.* (2004) utilizaram extrato etanólico obtido em temperatura ambiente por 24 horas. GOMES *et al.* (2016) usaram extrato feito com 35g de própolis bruta em 65 ml de álcool de cereais com agitação diária e temperatura ambiente durante 45 dias.

Apesar dos extratos etanólicos e aquosos serem os mais utilizados, outros solventes já foram usados para a obtenção dos extratos de própolis. HIGASHI & CASTRO (1994) utilizaram extratos em dimetilsulfóxido, triturando as amostras de própolis no solvente por 4 horas e filtrando. MARCUCCI *et al.* (2001) utilizaram extratos metanólicos de própolis, e 50 g de amostra foi extraída em aparelho de Soxhlet com metanol à quente por 8 horas. LACERDA *et al.* (2012) obtiveram extrato com 300 gramas de resina/própolis para 100 mL de hexano, repetindo-se o processo até que o solvente ficasse com coloração transparente em temperatura ambiente.

Trabalhos com o uso de própolis na sanitização de ovos férteis são encontrados na literatura. AYGUN *et al.* (2012), relataram que a pulverização com 15% de própolis reduziu a contagem total de bactérias aeróbicas após 1 dia de incubação em ovos de codorna. VILELA *et al.* (2012) avaliaram os níveis de contaminação da casca dos ovos férteis por mesófilos totais e fungos (*Aspergillus* e outros bolores), após a desinfecção com própolis e formaldeído. Concluíram que o tratamento com formaldeído e com própolis nas concentrações 240 µg e 24 µg não diferiram para atividade antibacteriana, já para atividade antifúngica a própolis nas concentrações 2.400 µg e 240 µg foram superiores. Esses resultados levaram os autores a afirmarem que a própolis é uma alternativa ao uso de formaldeído para desinfecção de ovos férteis.

3.3.3.2. Óleos Essenciais

Os óleos essenciais são produtos naturais, voláteis e complexos, oriundos do metabolismo secundário das plantas (CONTIERI, 2017). São especialmente encontrados nas famílias: *Asteraceae*, *Laminaceae*, *Lauraceae*, *Myrtaceae*, *Rutaceae* e *Apiaceae* (GONÇALVES, 2015). Podem estar estocados nas flores, folhas, nas cascas dos caules, madeira, raízes, rizomas, frutos ou sementes (WOLFFENBUTTEL, 2007). Embora todas as partes de uma planta possam acumular óleos essenciais, sua composição é determinada pela sua localização (SIMÕES & SPITZER, 2003; OUSSALAH *et al.*, 2007).

Os óleos essenciais são formados por uma série de substâncias químicas. De acordo com SIMÕES & SPITZER (2000), os principais constituintes desses óleos são os hidrocarbonetos, terpênicos, álcoois simples e terpênicos, aldeídos, cetonas, fenóis, ésteres, éteres, óxidos, peróxidos, furanos, ácidos orgânicos, lactonas e cumarinas e compostos contendo enxofre. Estes apresentam-se em diferentes concentrações e normalmente um deles é o composto majoritário, existindo outros em menores teores.

Diversos são os métodos usados na extração dos óleos essenciais. Segundo WOLFFENBUTTEL (2011), os métodos mais utilizados são a enfloração, hidrodestilação, arraste por vapor d'água, extração por solvente, extração por óleo, extração por extrusão ou prensagem, extração a vácuo e extração por CO₂ supercrítico. Vale destacar que o método escolhido para extração de determinado óleo essencial depende da região da planta, bem como para que finalidade o mesmo será usado (RABÊLO, 2010).

A atividade antimicrobiana dos óleos essenciais é comprovada cientificamente (SARTORATTO *et al.*, 2004; MOREIRA *et al.*, 2005; BUSATTA *et al.*, 2008; BARBOSA *et al.*, 2009; BIZZO *et al.*, 2009; CHINSEMBU, 2015). Essa atividade representa, de certa maneira, uma extensão da própria função que desempenham nas plantas, onde atuam na defesa destes organismos contra patógenos e predadores (CUTRIM, 2017). Devido à complexidade da composição química dos óleos essenciais, a inibição dos microrganismos não pode ser explicada por um único mecanismo de ação (DAFERERA, 2003).

A ação dos óleos essenciais na atividade antimicrobiana ocorre devido a sua alta hidrofobicidade. Esta permite que os óleos essenciais atravessem a parede celular bacteriana e a membrana citoplasmática, provocando a perda de íons, reduzindo assim o potencial de proteção da membrana. Ocorre também a depleção da função das bombas de prótons e redução de ATP, além de causar danos a proteínas, lipídios e organelas presentes no interior da célula bacteriana, ocasionando, assim, morte celular (PESAVENTO *et al.*, 2015).

A atividade antimicrobiana dos óleos essenciais é avaliada por meio da Concentração Inibitória Mínima (CIM). No entanto, os métodos utilizados para a determinação da CIM são os métodos de diluição e microdiluição em caldo e métodos de difusão em ágar. A utilização de solventes, detergentes ou agentes emulsificadores, DMSO (dimetil sulfóxido) e etanol facilita a dispersão dos óleos essenciais através do meio de cultura (GROPPO *et al.*, 2002).

3.3.3.2.1. Cravo-da-índia (*Syzygium aromaticum*)

A especiaria cravo-da-índia *Syzygium aromaticum*, da família *Myrtaceae*, é uma planta arbórea, perene, e atinge 15 m de altura. A copa é bem verde, de formato piramidal. As folhas são ovais, persistentes e de coloração verde brilhante. As flores brancas são agrupadas em inflorescências do tipo cacho e seus botões são colhidos quando sua cor muda de verde para carmim, sendo cuidadosamente dessecados ao sol. O fruto é do tipo baga e de formato alongado. Desenvolve-se em clima tropical e a propagação é feita por sementes (MAZZAFERA, 2003; SILVESTRI *et al.*, 2010).

O óleo essencial de cravo é uma substância fenólica obtida da destilação das folhas, caule e botões florais do cravo-da-índia (*Syzygium aromaticum*). Sua obtenção comercial é feita principalmente a partir dos botões florais secos, que contêm 17% de óleo essencial (ASCENÇÃO & FILHO, 2013). É constituído de eugenol, β -cariofileno, acetato de eugenila, ácido oleânico, triterpeno, benzaldeído, ceras vegetais, cetona, chavicol, resinas, taninos, ácido gálico, esteróis, esteróis glicosídicos, kaempferol e quercetina (MAZZAFERA, 2003).

O principal constituinte do óleo essencial de cravo-da-índia é o eugenol (ASCENÇÃO & FILHO, 2013). É um líquido fracamente amarelado, que escurece quando em contato prolongado com o ar, com aroma característico e com sabor ardente e picante (BARROS JR, 2011). Sua fórmula molecular é $C_{10}H_{12}O_2$ e massa molar 164g/mol (MOUCHREK FILHO, 2000). Destaca-se devido a sua lipossolubilidade, baixa toxicidade e por apresentar várias atividades biológicas, sendo uma delas a antimicrobiana (SCHERER *et al.*, 2009; PROBST, 2012; PILETTI, 2016; GUIMARÃES *et al.*, 2017). Seu mecanismo de ação ocorre em nível de membrana plasmática juntamente com a inativação de enzimas e ou no material genético celular (IZELLI, 2015).

De maneira geral, a dose de óleo de cravo necessária para eliminar ou reduzir o número de microrganismos foram estudados por vários autores. SILVESTRI *et al.* (2010) avaliaram o potencial antimicrobiano do óleo essencial de cravo-da-índia, concluíram que as concentrações inibitórias mínimas variaram de 0,2 mg/mL-1 a 0,6 mg/mL-1 para as bactérias gram-positivas e de 0,5 mg/mL-1 a 0,8 mg/mL-1 para as bactérias gram-negativas. ABDULLAH *et al.* (2015) testaram o óleo essencial de cravo-da-índia frente a seis diferentes microrganismos por meio do método de difusão em ágar e verificaram atividade antimicrobiana para todos os microrganismos avaliados entre as concentrações 0,312% e 1,25 %. BARBOSA *et al.* (2009) demonstraram que o óleo de cravo-da-índia apresentou ação antibacteriana na concentração 0,09% (v/v) frente a bactérias Gram positivas e 0,10% (v/v) frente a bactérias Gram negativas.

O óleo essencial de cravo-da-índia pode ser utilizado como sanitizante, em função de menores concentrações necessárias para a inibição microbiana (BERALDO *et al.*, 2013). OLIVEIRA (2011) avaliou a ação do sanitizante a base de óleo essencial de cravo-da-índia frente as bactérias *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli* isoladas de carcaças de ovinos. Concluiu que o sanitizante a 400 µL/mL eliminou totalmente as duas espécies. Embora já se tenha comprovado a ação sanificante do óleo de cravo, estudos com a utilização do mesmo na sanitização de ovos férteis ainda são escassos frente a outros sanitizantes mais comuns.

3.3.3.3. Proteína hidrolisada do soro do leite de bovino

O soro do leite bovino é um efluente líquido amarelado-esverdeado extraído com base na coagulação do leite no processo de fabricação de queijo. Apresenta cerca de 90% do volume de leite utilizado (OLIVEIRA, 2017), podendo ser adquirido por meio de três diferentes métodos: coagulação enzimática, coagulação ácida e separação física das micelas de caseína por microfiltração (ALVES *et al.*, 2014). Salienta-se que 20% dos sólidos totais deste soro são constituídos pelas proteínas do soro (RÉVILLION *et al.*, 2000).

As proteínas do soro de leite bovino são reconhecidas pelas suas funções biológicas, uma vez que apresentam uma ótima composição e biodisponibilidade de aminoácidos essenciais. Segundo PIRES *et al.* (2006) e OLIVEIRA *et al.* (2012), o alto valor biológico de uma proteína está relacionado com a sua composição, capacidade de digestibilidade, absorção e a oferta de aminoácidos essenciais e de nitrogênios totais. A β -lactoglobulina e a α -lactoalbumina são as principais proteínas majoritárias do soro de leite, perfazendo cerca de 75% do total das proteínas, ao passo que a lactoferrina e a lactoperoxidase destacam-se entre as minoritárias (SGARBIERI, 1996; SOUSA *et al.*, 2012; OLIVEIRA *et al.*, 2012).

A β -lactoglobulina é a principal e mais abundante proteína do soro do leite bovino, representando 10% da proteína total do leite ou cerca de 50% das proteínas do soro. Esta proteína globular com massa molar de 18,362 kDa, é constituída de 162 aminoácidos dispostos em uma cadeia simples de peptídeos, sendo sensíveis a pH ácido e altas temperaturas (ALMEIDA *et al.*, 2013; KHEM *et al.*, 2015). Uma das principais propriedades biológicas dos peptídeos derivados da β -lactoglobulina é a atividade antimicrobiana (HERNÁNDEZ, 2008).

A α -lactoalbumina é a segunda mais abundante proteína do soro do leite bovino, representando cerca de 20 % das proteínas totais do soro. Com massa molecular de 14,2 kDa, esta proteína é constituída de 123 aminoácidos e possui ponto isoelétrico em torno de 5,0 (HARAGUCHI, 2006; KHEM *et al.*, 2015). É tida como a proteína mais estável do soro quando submetida a variações térmicas (CRUZ, 2017). A atividade antimicrobiana contra bactérias patogênicas, como, por exemplo, *Escherichia coli* e

Staphylococcus aureus é uma das principais funções biológicas dos peptídeos derivados da α -lactoalbumina (ILTCHENCO, 2016).

A Lactoferrina é uma proteína globular multifuncional encontrada no soro do leite. Com massa molar em torno de 80 kDa, é formada por 689 aminoácidos e possui um ponto isoelétrico de 9,4 (ILTCHENCO, 2016). O efeito antimicrobiano da lactoferrina é comprovado cientificamente, esta inibe a proliferação e o crescimento de bactérias gram-positivas e gram-negativas (*Escherichia*, *Helicobacter*, *Listeria*, *Salmonella* e *Staphylococcus*), assim como leveduras, fungos filamentosos e protozoários por sequestrarem o ferro disponível no ambiente (ALMEIDA *et al.*, 2013; CORRÊA, 2013).

A Lactoperoxidase é uma proteína que compõe minoritariamente o soro do leite. É constituída de 612 aminoácidos e apresenta massa molar média de 78 kDa (ILTCHENCO, 2016). É conhecida por sua propriedade bactericida, na qual é responsável por catalisar a oxidação de tiocianatos em presença de peróxido de hidrogênio (ALMEIDA *et al.*, 2013). Entretanto, pesquisas mostraram que a lactoperoxidase pode ser desnaturada quando alcança temperaturas acima de 70°C (KUSSENDRAGER & HOOIJDONK, 2000; SANTOS *et al.*, 2011).

A hidrólise de proteínas pode ser realizada por meio de ácidos, bases e enzimas proteolíticas, sendo esta última mais vantajosa. A hidrólise ácida e alcalina são totalmente inespecíficas, podendo destruir aminoácidos e causar a racemização da maioria dos aminoácidos (BIASUTTI, 2006). A hidrólise enzimática é específica e trata-se de um processo que ocorre sem a degradação de outros componentes do meio e que permite o controle da funcionalidade do produto através da especificidade das enzimas utilizadas (MONTI & JOST, 1978; MANNHEIM & CHERYAN, 1992). Tem sido utilizado para melhorar as características de absorção das proteínas, buscando mantê-las na conformação original o tanto quanto possível (PACHECO *et al.*, 2005).

Através da hidrólise enzimática dessas proteínas são produzidos os peptídeos bioativos. Estes são definidos como fragmentos específicos de proteína, que desempenham várias funções biológicas, sendo uma delas a atividade antimicrobiana contra bactérias patogênicas, fungos, parasitas e vírus (MADUREIRA *et al.*, 2010). NANDHINI *et al.* (2015) com o objetivo de descobrir e caracterizar a atividade

antimicrobiana da proteína do soro de leite de vaca, frente as bactérias *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumonia*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilis* e os fungos *Aspergillus niger*, *Aspergillus flavus* e o *Candida albicans*, concluíram que a proteína do soro do leite tem forte atividade antibacteriana e antifúngica.

Dessa forma, estudos precisam ser realizados para testar o efeito antimicrobiano de um sanitizante à base de proteína hidrolisada do soro do leite como alternativa ao paraformaldeído na sanitização de ovos para incubação.

3.3.4. Armazenamento de ovos incubáveis

O armazenamento de ovos incubáveis é um procedimento fundamental e rotineiramente realizado na indústria avícola. Objetiva-se com esse processo evitar a mistura de ovos de lotes diferentes e com estado sanitário que possa comprometer o sucesso da incubação (SANTANA, 2014) e ainda, permitir incubar uma maior quantidade de ovos por vez. O ambiente onde os ovos são armazenados deve ser mantido limpo e desinfetado. Desta maneira, condições apropriadas de armazenamento são primordiais para prevenir qualquer alteração no desenvolvimento do embrião.

3.3.4.1. Fatores que interferem no armazenamento de ovos incubáveis

3.3.4.1.1. Temperatura

A temperatura da sala de armazenamento afeta diretamente no comportamento do desenvolvimento embrionário. Portanto, as granjas produtoras e os incubatórios, devem armazenar os ovos férteis a temperaturas inferiores ou igual ao zero fisiológico (21°C), para garantir a paralisação do desenvolvimento embrionário até o momento do início de incubação (FASENKO, 2007). Deste modo, obtendo nascimentos mais uniformes, uma vez que são incubados ovos em estágio de embriogênese similar.

Diversos estudos citam que a temperatura denominada zero fisiológico é inferior ou igual a 21°C (FASENKO *et al.*, 1992; CARTWRIGHT, 2001; WILSON, 2002; SCHMIDT *et al.*, 2003; BRITO, 2006; FASENKO, 2007; MENDES, 2014; SIMÕES, 2015). É válido salientar que mesmo que o desenvolvimento celular esteja praticamente

parado durante o zero fisiológico, processos metabólicos continuam a ocorrer (DIAS, 2011).

Temperaturas ideais para o armazenamento de ovos férteis variam conforme o tempo de armazenamento (DECUYPERE & MICHELS, 1992). De acordo com o GUIA DE MANEJO DE INCUBAÇÃO COBB® (2008), a armazenagem dos ovos por até 6 dias deve ser realizada entre 19 e 21 °C, de 7 a 10 dias entre 18 e 19 °C, e acima de 11 dias abaixo de 17°C. No estudo de DECUYPERE & MICHELS (1992) para períodos superiores a 14 dias de armazenamento, recomendam-se temperatura entre 13 e 14 °C. Destacar-se que no decorrer do armazenamento, temperatura e umidade relativa são inversamente correlacionadas. Desta forma, durante períodos mais longos de armazenagem, os ovos devem ser mantidos sob menores temperaturas e maiores umidades (NAKAGE, 2003).

3.3.4.1.2. Umidade

A perda de umidade do ovo acontece pelo processo de difusão (FRAZIER, 1976; POMBO, 2003; BRITO, 2006). No ambiente de armazenamento, a umidade relativa deve estar entre 70 a 90% (DECUYPERE & MICHELS, 1992; SCHMIDT *et al.*, 2002; BRITO, 2006; FURLAN, 2013) para evitar a desidratação embrionária e a criação de gotículas de condensação na casca do ovo (SCHMIDT *et al.*, 2002; Gomes, 2013). No entanto, umidade de armazenamento abaixo de 70%, gera o aumento da perda de água do ovo e, conseqüente, diminuição da viabilidade do embrião.

3.3.4.1.3. Tempo

O efeito do tempo de armazenamento de ovos férteis sobre a mortalidade embrionária e a eclodibilidade foi estudado por vários autores. SCHMIDT *et al.* (2009) observaram que ovos armazenados por mais de 3 dias, apresentaram uma redução de 1,17% na eclodibilidade e uma elevação de 1,15% na mortalidade embrionária diariamente. Portanto, a diminuição da eclodibilidade foi atribuída ao aumento significativo da mortalidade embrionária. PERSIKE (2015) demonstrou-se que após 6 dias de armazenamento a eclodibilidade diminui de 0,5 a 1,5% a cada dia e SILVA (2005) verificou 5,6% de mortalidade embrionária em ovos com 5 dias de armazenamento.

O armazenamento de ovos por pelo menos 3 dias é praticado para que ocorra adequada formação da câmara de ar (FURLAN, 2013). Entretanto, o armazenamento prolongado afeta a qualidade interna do ovo. Segundo LAPÃO *et al.* (1999), durante o armazenamento, há liberação de gás carbônico pelo ovo, resultando na elevação do pH do albúmen de 7,6 para 9,5. Em vista disso, o aumento do pH do albúmen ao longo do armazenamento está associado a uma redução na altura e na viscosidade do albúmen, logo, se o tempo de armazenamento for prolongado, ocorre uma deterioração exabundante do albúmen e, conseqüente, morte embrionária por desidratação (BRAKE *et al.*, 1997).

3.3.4.1.4. Viragem

A viragem de ovos na sala de armazenamento tem contribuído para melhores resultados na eclodibilidade. Segundo SCHMIDT *et al.* (2002b) notaram perdas de 0,8 a 2,8% na eclodibilidade em ovos armazenados no período de 5 e 10 dias, respectivamente, quando não se utiliza o sistema de viragem dos ovos. Em outro estudo, obteve-se melhora na eclodibilidade de ovos férteis virados a 90° quatro vezes por dia em comparação aos ovos que não foram virados (ELIBOL *et al.*, 2002). Vale destacar que a viragem evita o inadequado posicionamento do embrião (ROBERTSON, 1961), prevenindo adesões anormais. Entretanto, segundo DECUYPERE & MICHELS (1992) e SCHMIDT (2002) a viragem dos ovos é dispensável em ovos armazenados até 4 dias.

3.3.5. Transporte

Cuidados especiais com o transporte é imprescindível para evitar perdas de ovos férteis. Para tanto, o transporte dos ovos da granja para o incubatório deve ser feito nos horários mais frescos do dia, utilizando-se um caminhão baú climatizado, o qual deve ser mantido limpo e desinfetado (ARAÚJO & ALBINO, 2011). Recomenda-se que a temperatura ambiente do baú esteja abaixo do zero fisiológico, ou seja, abaixo de 21°C e a umidade relativa em torno de 75% (NAZARENO *et al.*, 2013a).

O grau de vibração que os ovos são submetidos durante o transporte pode afetar a qualidade interna e favorecer a ocorrência de trincas e rachaduras (MERTENS *et al.*,

2006). Alguns autores apontam que os níveis vibratórios podem variar com o tipo e peso da carga, tipo e a qualidade da estrada, velocidade, distância percorrida, suspensão, número de eixos do veículo, calibragem de pneus e com o tipo de amortecedores (IDAH *et al.*, 2009; ZHANG *et al.*, 2009; GEBRESENBET *et al.*, 2011; NAZARENO *et al.*, 2013a; 2013b). Em vista disso, instruir o motorista sobre os cuidados que devem ser tomados com a carga e com o veículo é importante para manter a integridade e qualidade dos ovos.

3.3.6. Incubação

3.3.6.1. Manejo de incubação

O manejo de incubação é uma prática essencial para que não ocorram perdas dos ovos férteis de qualidade dentro do incubatório. É imprescindível que essa atividade seja realizada de maneira rígida e cuidadosa, pois o sucesso da cadeia produtiva avícola está diretamente relacionado ao bom desempenho da incubação de ovos. É válido destacar que o conhecimento de cada fase do desenvolvimento embrionário é fundamental para melhor entender o processo de incubação e assim, realizar um bom manejo.

3.3.6.1.1. Pré-aquecimento

A prática de pre-aquecimento de ovos antes da incubação tem como finalidade, impedir o choque térmico nos embriões e propiciar o desenvolvimento embrionário uniforme no ciclo de incubação (GUIA DE MANEJO DE INCUBAÇÃO COBB®, 2008). Esse processo é apropriado para ovos armazenados por mais de 2 dias em baixas temperaturas (BRITO, 2006). Os ovos devem ser preaquecidos em ambiente com temperatura entre 24 e 26°C, umidade relativa do ar em torno de 60% e com boa ventilação por um período de aproximadamente 8 horas (MORO, 1994; SCHMIDT, 2002b; ALMEIDA, 2008). É no preaquecimento que se inicia os processos celulares de baixa intensidade nas células embrionárias, na qual, não devem mais ser interrompidos ou suspensos (BOERJAN, 2017).

3.3.6.1.2. Incubação do ovo

Depois de pre-aquecidos, os ovos são incubados. O período total de incubação de ovos de galinhas é de 21 dias (504 horas), sendo que os ovos passam 18 dias (432 horas) na incubadora e 3 dias (72 horas) no nascedouro. Entretanto, esse período pode variar em função da idade da matriz, qualidade da casca, tempo e temperatura de armazenamento dos ovos e a temperatura da incubadora e nascedouro (GUADAGNIN, 1994). Na sala de incubação a temperatura ideal deve estar entre 24 e 26°C, a umidade em torno de 50% e a troca de ar 10 m³/hora/1000 ovos (BRITO, 2006).

3.3.6.1.3. Incubadoras

Para realizar o processo de incubação artificial de ovos férteis, são amplamente utilizadas pela indústria avícola, incubadoras de estágio único e múltiplo. A principal diferença entre esses tipos de incubadora, é que as de estágio único são carregadas uma única vez durante o ciclo de incubação, logo, comporta embriões em mesmo estágio de desenvolvimento e as de estágio múltiplo são carregadas duas ou três vezes por semana, comportando embriões de diferentes fases de desenvolvimento (MESQUITA, 2011).

Nas incubadoras de estágio único é possível ajustar a temperatura, umidade e ventilação devido os embriões estarem na mesma fase de desenvolvimento, teoricamente resultando em maior eclodibilidade e pintos de maior qualidade (MESQUITA, 2013). Por outro lado, nas incubadoras de estágio múltiplo os ovos incubados a mais tempo cedem calor para os ovos recém incubados, possibilitando equilíbrio térmico dentro da máquina, entretanto, pode ocorrer uma elevação excessiva da temperatura que pode provocar mortalidade embrionária (CALIL, 2009).

As indústrias avícolas buscam constantemente aumentar a eclodibilidade e melhorar a qualidade e uniformidade dos pintos de um dia (FRENCH, 1997; FRANCISCO *et al.*, 2010). Com isso, as incubadoras devem atender de forma mais eficiente as necessidades fisiológicas do embrião em seu desenvolvimento (CALIL, 2007). Por esta razão, a incubação em estágio único é recomendada (BOERJAN, 2017).

3.3.6.1.4. Fatores físicos responsáveis pelo desempenho de incubação

A temperatura, a umidade, a ventilação e a viragem dos ovos são os aspectos físicos controlados dentro das incubadoras. Contudo, para que se tenha o sucesso do desenvolvimento embrionário durante a incubação, o perfeito equilíbrio entre estes parâmetros físicos se faz necessário.

3.3.6.1.4.1. Temperatura

A temperatura é um fator primordial durante a incubação de ovos, pois determina a velocidade do metabolismo do embrião e conseqüentemente seu grau de desenvolvimento (CALIL, 2007). ANCEL & VISSCHEDJIK (1993) afirmaram que a temperatura ideal para o desenvolvimento embrionário de frangos está entre 37,5 e 38°C. Nesse contexto, BAROTT (1937) e LOURENS *et al.* (2005) observaram melhores índices de eclodibilidade, desenvolvimento embrionário e desempenho no final do ciclo de incubação.

Oscilações da temperatura na incubação podem provocar deficiências na formação embrionária. MURAROLLI & MENDES (2003) concluíram que temperaturas baixas atrasam o nascimento dos pintos, provocam má cicatrização do umbigo, ovos bicados e não nascidos, enquanto que, temperaturas elevadas adiantam o nascimento, provocando o nascimento de pintos desidratados e com umbigos mal cicatrizados, além de alta mortalidade embrionária no final da incubação. Deste modo, é importante evidenciar que variações de $\pm 1^\circ\text{C}$ provoca grande impacto nos resultados da incubação (GUSTIN, 2003).

3.3.6.1.4.2. Umidade

O controle da umidade relativa no processo de incubação é realizado em função da pressão de saturação. O índice ideal de umidade constatado por vários autores está entre 50 a 65% (MEIR *et al.*, 1984; VICK *et al.*, 1993; COLLINS, 1998; BRUZUAL *et al.*, 2000; DECUYPERE *et al.*, 2003; MURAROLLI & MENDES, 2003; CAMARGO, 2011; FURLAN, 2013; VAN DER POL *et al.*, 2013).

É importante lembrar que durante a incubação o ovo perde água através dos poros da casca. Isso acontece, pois à medida que ocorre a perda, aumenta a entrada de oxigênio necessário para o metabolismo do embrião (ROBINSON, 2013). Entretanto, de acordo com GONZÁLES *et al.* (2009), a perda de água do ovo no período de incubação deve ser entre 10 e 14% para que ocorra um bom desenvolvimento embrionário.

O controle inadequado da umidade na incubadora prejudica o desenvolvimento embrionário. Em diversos estudos constataram-se que umidades muito altas antecipam a eclosão, acarreta nascimento de pintos molhados e pegajosos e mortalidade embrionária, por outro lado, umidades muito baixas geram perda excessiva de água e, conseqüente, desidratação, além de atrasar o nascimento dos pintos e causar mortalidade embrionária (MORENG & AVENS, 1990; TAYLOR, 1999; BRUZUAL *et al.*, 2000; PEEBLES *et al.*, 2000; DECUYPERE *et al.*, 2003; BARBOSA *et al.*, 2008).

3.3.6.1.4.3. Ventilação

O controle da ventilação contribui positivamente para manter a ambiência dentro da incubadora. Esse sistema tem como principal função fornecer O₂ e eliminar CO₂. Além disso, reduz a poeira, microrganismos, remove o calor produzido pelos ovos e contribui para manter a correta umidade relativa do ar (MURAROLLI & MENDES 2003; LAUVERS & FERREIRA, 2011). O ar fornecido para as incubadoras deve ser no mínimo 13,5 m³/hora/1000 ovos com temperatura do ar entre 24 e 27°C (GUIA DE MANEJO DE INCUBAÇÃO COBB®, 2008).

O adequado sistema de ventilação durante o desenvolvimento embrionário foi estudo por alguns autores. MAXWELL *et al.* (1990) constataram que o baixo teor de oxigênio durante a incubação resultou em pintos com lesões pulmonares e cardíacas precoces. Além disto, podendo causar mortalidade embrionária entre 13 e 21 dias (BRITO, 2006). JAENISCH *et al.* (1997) demonstraram que após adicionar 2% de oxigênio, totalizando 23% molar de oxigênio durante a incubação de ovos, percebeu-se redução parcial no grau de lesões no pulmão e coração das aves.

3.3.6.1.4.4. Viragem

O sistema de viragem dos ovos é fundamental durante a incubação. Os objetivos desse sistema é facilitar as trocas gasosas (O_2 e CO_2), promover o desenvolvimento correto das membranas extraembrionárias, prevenir a adesão do embrião nas membranas da casca, promover o acúmulo de proteínas no fluido amniótico e o crescimento da rede vascular (NEW, 1957; ROBERTSON, 1961; WILSON, 1991; DEEMING, 1996; CALIL, 2007). As incubadoras geralmente realizam o processo de viragem 24 vezes por dia, 1 viragem/hora, com um ângulo de 45° em relação ao eixo horizontal (ALMEIDA, 2008). No entanto, é comumente observado na indústria avícola a utilização da viragem até o 18º dia de incubação (SILVA, 2005).

A falta de viragem de ovos no processo de incubação afeta a embriogênese. Segundo GUSTIN (2003) a ausência de viragem no período de incubação ocasiona o atraso da formação de fluido do alantoide e do âmnio que auxiliam no crescimento do embrião, leva a aderência do embrião na membrana da casca e inibição das trocas de oxigênio e gás carbônico. Portanto, esses fatores tanto individualmente como coletivamente causam mortalidade precoce do embrião (RONBINSON, 2013) e, conseqüente, redução do percentual de eclodibilidade.

3.3.6.1.4.5. Posição do ovo

A posição dos ovos, ao colocá-los na incubadora, é essencial para o crescimento dos embriões. Os ovos devem ser posicionados com a ponta fina para baixo, ou seja, com a câmara de ar voltada para cima, para que as trocas de gases através da casca sejam normais e que os embriões não fiquem mal posicionados (RONDÓN & MURAKAMI, 1998). A posição inadequada dos ovos durante a incubação acarretará em um percentual de mortalidade embrionária superior a 10% (BRITO, 2006).

3.3.6.1.5. Ovoscopia

Durante o processo de incubação, é realizada a ovoscopia, objetivando-se avaliar a fertilidade dos ovos e determinar a mortalidade embrionária. É recomendado que esse procedimento seja realizado entre o 10ª e 14ª dia de incubação, utilizando-se um

ovoscópio (ARAÚJO & ALBINO, 2011). O conhecimento e a atenção na ovoscopia se faz necessário, pois o risco de erros (por exemplo, é retirado acidentalmente um ovo com um embrião normal, vivo) é evidente. Segundo CALIL (2007) a remoção dos ovos inférteis é uma excelente alternativa, uma vez que possibilita bom fluxo e maior velocidade de ar sobre os ovos, reduzindo a resistência e massa dentro da incubadora.

3.3.6.1.6. Transferência dos ovos para o nascedouro

A transferência dos ovos para o nascedouro ocorre entre o 18^a e 19^a dia de incubação. Essa etapa pode ser realizada manualmente ou mecanicamente (LAUVERS & FERREIRA, 2011), de maneira cuidadosa para evitar a quebra dos ovos e conseqüentemente morte dos embriões, pois nesse estágio a casca do ovo é mais frágil, pelo fato do embrião absorver o cálcio da casca para formação do seu esqueleto. Além disso, rapidez na transferência é fundamental para que não ocorra resfriamento dos ovos, já que isso pode resultar em morte dos embriões ou atraso dos nascimentos (ALMEIDA, 2008).

Na sala de nascedouro, a temperatura ideal deve estar entre 24 e 26°C, a umidade em torno de 50% e a troca de ar 30 m³/hora/1000 pintos (BRITO, 2006). Já a temperatura dentro do nascedouro deve estar em torno de 36,5 e 37°C, um pouco mais baixa do que a temperatura da incubadora, pois nessa fase a produção de calor do embrião é maior, evitando desta forma o aquecimento excessivo do pintinho. A umidade relativa do ar precisa estar entre 60 e 65%, para manter as membranas da casca macia e maleável, facilitando o nascimento do pinto (PETROCELLI, 2013).

O momento ideal para retirar os pintos do nascedouro é quando o percentual de nascimentos esteja em torno dos 95%, para garantir o rendimento e qualidade dos mesmos (GUSTIN, 1994). Caso contrário, ocorrerá perda na qualidade e quantidade de pintos nascidos. Segundo GUADAGNIN (1994), na retirada antecipada, nota-se uma grande quantidade de ovos bicados vivos e mortos, enquanto que na remoção retardada, ocorre à desidratação dos pintos.

3.3.6.1.7. Embriodiagnóstico

O embriodiagnóstico consiste em identificar as fases de mortalidade embrionária e determinar suas causas com o auxílio da ovoscopia e do processo de quebragem dos ovos. Posto isto, conhecer as aparências do embrião de galinha nos diferentes estágios de desenvolvimento bem como entender o que ocorre durante esse período é imprescindível para realizar essa técnica (FURLAN, 2013). O embriodiagnóstico classifica a mortalidade como precoce se ocorreu do 1^a ao 7^a dia, intermediária do 8^a ao 14^a dia e tardia do 15^a ao 21^a dia de incubação. Sendo que as principais causas das mortes estão correlacionadas com o armazenamento do ovo, idade e nutrição das matrizes, doenças, contaminação por bactéria ou fungo, genética, deformação da casca e casca trincada e erros de incubação (GUIA DE MANEJO DE INCUBAÇÃO COBB®, 2008).

4. DESAFIOS DA SANITIZAÇÃO PARA PEQUENOS PRODUTORES

A produção de frangos caipiras de corte é uma estratégia de agregação de renda para os pequenos produtores. No entanto, para que esse processo se torne produtivo, rentável e viável é necessário atender às exigências de genética, manejo, sanidade e nutrição. A adequação às condições de produção por parte dos pequenos produtores para obtenção de produtos de qualidade seguros e que resultem de uma exploração controlada do ambiente são desafios que contribuem para conformidade de produção.

Embora todas as fases produtivas sejam fundamentais para alcançar um resultado positivo, a importância da sanitização dos ovos férteis caipiras antes da incubação artificial deve ser levada em consideração. Afinal, quando não executada ou realizada de maneira inadequada, pode prejudicar toda a produção, já que esse processo tem como principal objetivo, diminuir ou eliminar microrganismos que podem comprometer a qualidade dos ovos e, conseqüentemente, dos pintos de um dia.

A sanitização de ovos é um grande desafio para os pequenos produtores. A escassez de informações, a falta de conhecimento sobre esse procedimento, a falta de recursos financeiros para se adequar às novas tecnologias, a falta de capacitação técnica e a dificuldade de encontrar uma sanitizante viável, faz com que esses produtores negligenciem esta etapa ou se tornem dependentes de grandes empresas. Com isso, vale destacar que um bom programa de sanitização é a base para uma boa saúde animal e humana, uma vez que a gravidade e a ocorrência das enfermidades estão diretamente relacionadas ao nível de contaminação do ambiente.

5. CONSIDERAÇÕES GERAIS

As etapas que envolvem o manejo de ovos incubáveis são importantes para se alcançar ótimos resultados econômicos e produtivos, visto que estes são a matéria-prima que dará origem aos pintos de um dia que, futuramente, se tornarão um alimento que chegará à mesa dos consumidores. Entretanto, um dos maiores problemas associados ao manejo de ovos incubáveis estão ligados às condições higiênico-sanitárias, descritas como inerentes ao processo e que ocorrem em função de diversos fatores, dentre os quais se pode citar, a capacitação técnica dos profissionais envolvidos nesse manejo.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABDULLAH, B.H.; HATEM, S.F.; JUMAA, W. A comparative study of the antibacterial activity of clove and rosemary essential oils on multidrug resistant bacteria. **UK Journal of Pharmaceutical and Biosciences**, v. 3, n. 1, p. 18-22, 2015.

ABPA. (ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE PROTEÍNA ANIMAL). **Relatório Anual ABPA 2017**. Disponível em: <<http://abpa-br.com.br/setores/avicultura/publicacoes/relatorios-anuais>>. Acesso em: 01/12/2017.

AFFONSO, R. S. *et al.* Aspectos Químicos e Biológicos do Óleo Essencial de Cravo da Índia. **Revista Virtual de Química**, v. 4, n. 2, p. 146-161, 2012.

AFROUZAN, H.; TAHIGHI, A.; ZAKERI, S. *et al.* Chemical Composition and Antimicrobial Activities of Iranian Propolis. **Iranian Biomedical Journal**, v. 22, n. 1 p. 50-65, 2018.

ALBINO, L.F.T. **Criação de Frango e Galinha Caipira: Avicultura Alternativa**. 2. ed. Viçosa - MG, p. 94-109, 2005.

ALMEIDA, C.C.; JÚNIOR, C.A.C.; SILVA, A. C. O. *et al.* Proteína do soro do leite: composição e suas propriedades funcionais. **Enciclopédia Biosfera**, v.9, n.16, p.1840-1854, 2013.

ALMEIDA, P.M. **Incubação artificial**. 2008. 59p. Monografia (Trabalho de conclusão do curso de Medicina Veterinária) - Universidade Federal de Goiás, 2008.

ALVES, M. P.; MOREIRA, R.O.; JUNIOR, P.H.R. *et al.* Soro de leite: tecnologias para o processamento de coprodutos. **Revista do Instituto Laticínios Cândido Tostes**, Juiz de Fora, v. 69, n. 3, p. 212-226, 2014.

ANCEL, A.; VISSCHEDIJK, A.H.J. Respiratory exchanges in the incubated egg of the domestic guinea fowl. **Respiration Physiology**, v. 91, p. 31-42, 1993.

ARAÚJO, I.C.S. **Parâmetros de incubação e condutância da casca de ovos de matrizes pesadas de diferentes idades e incubadoras**. 2013. 94 F. Tese (Mestrado em Ciências Animais) - Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2013.

ARAÚJO, W.A.G. & ALBINO, L.F.T. **Incubação Comercial**. 1. ed. Viçosa - MG: Transworld Research Network, 2011. 171p.

ASCENÇÃO, V.L. & FILHO, E.M.F. Extração, caracterização química e atividade antifúngica de óleo essencial *Syzygium aromaticum* (cravo-da-índia). **Cad. Pesq.**, São Luís, v. 20, p. 137-144, 2013.

AYGUN, A.; SERT, D.; COPUR, G. Effects of propolis on eggshell microbial activity, hatchability, and chick performance in Japanese quail (*Coturnix coturnix japonica*) eggs. **Poultry Science**, v. 91, n. 4, p. 1018–1025, 2012.

BANKOVA, V.; CASTRO, S.L.D.; MARCUCCI, M.C. Propolis: recent advances in chemistry and plant origin. **Revista Apidologie**, v. 31, p. 3-15, 2000.

BARBOSA, L.N.; RALL, V.L.M.; FERNANDES, A.A.H. *et al.* Essential oils against foodborne pathogens and spoilage bacteria in minced meat. **Foodborne Pathogens and Disease**, v.6, p.725-728, 2009.

BARBOSA, V.M., CANÇADO, F.V., BAIÃO, N.C., *et al.* Efeitos da umidade relativa do ar na incubadora e da idade da matriz leve sobre o rendimento da incubação. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.60, n.3, p.741-748, 2008.

BARBOUR, E.K. & NABBUT, N.H. Isolation of salmonella and some other potential pathogens from two chicken breeding farms in Saudi Arabia. **Avian Dis.**; v. 26, n. 2, p.:234-44, 1982.

BAROTT, H. G. Effects of Temperature, Humidity and Other Factors on Hatch of Eggs and on Energy Metabolism of Chick Embryos. **United States Department of Agriculture**, p. 553, 1937.

BARROS, M.R.; LIMA, E.T.; SAMPAIO H.M. *et al.* Sobrevivência de *Salmonella enteritidis* em ovos contaminados artificialmente após a desinfecção e armazenados em diferentes temperaturas. **Revista Brasileira de Ciências Avícolas**, Campinas, v.3, n.3, 2001.

BELL, D.D. Management in alternative housing systems. In: BELL, D.D.; WEAVER, W.D. **Commercial Chicken Meat and Egg Production**. 5a.ed. Norwell: Kluwer Academic Publishers, p.1041-1057, 2002.

BENTON JR., C.E. & BRAKE, J. The effect of broiler breeder age and length of egg storage on egg albumen during early incubation. **Poultry Science**, v. 75, p. 1069-1075, 1996.

BERALDO, C.; DANELUZZI, N.S.; SCANAVACCA, J. *et al.* Eficiência de óleos essenciais de canela e cravo-da-índia como sanitizantes na indústria de alimentos. **Pesq. Agropec. Trop.**, Goiânia, v. 43, n. 4, p. 436-440, 2013.

BERMUDEZ, A.J.; BROWN, B.S. Principles of disease prevention: Diagnosis and control. In: SAIF, Y.M. **Diseases of Poultry**. 11.ed. Iowa: Iowa State Press, p. 17-53, 2003.

BERRANG, M.E.; COX, N.A.; FRANK, J.E. *et al.* Hatching egg sanitation for prevention or reduction of human Enteropathogens: A Review. **J. Appl. Poult. Res.**, v. 9, p. 279- 284, 2000.

BEZERRA, R.M.N.; VEIGA, L.F.; CAETANO, A.C. *et al.* Caffeic acid phenethyl ester reduces the activation of the nuclear factor κ B pathway by high-fat diet-induced obesity in mice. **Metabolism Clinical and Experimental**, Philadelphia, v. 61, n. 11, p. 1606–1614, 2012.

BIALKA, K.L.; DEMIRCI, A.; KNABEL, S.J. *et al.* Efficacy of electrolyzed oxidizing water for the microbial safety and quality of eggs. **Poult. Sci.**, v. 83, p. 2071–2078, 2004.

BIASUTTI, E.A.R. **Otimização das condições da hidrólise enzimática das proteínas do soro de leite para obter elevado teor de oligopeptídeos: utilização da subtilisina e da pancreatina.** 2006. 88 p. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos) - Faculdade de Farmácia -Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG, 2006.

BIZZO, H.R.; HOVELL, A.M.C.; REZENDE, C.M. Óleos essenciais no Brasil: Aspectos gerais, desenvolvimento e perspectivas. **Quim. Nova**, v.32, p. 588-594, 2009.

BOARD, R. G. The microbiology of the hen's eggs. *Adv. Appl. Microbiol.*, v.11, p.245-281, 1969.

BOERJAN, M. **Incubação: Pré-aquecimento eficaz para a uniformidade dos pintos.** 2017. Disponível em: <<https://www.pasreform.com/pt/academia/perguntas-freq%C3%BCentes/incuba%C3%A7%C3%A3o/554-pr%C3%A9-aquecimento-%E2%80%93-eficaz-para-a-uniformidade-dos-pintos.html>>. Acesso em: 21/11/2017.

BOERJAN, M.L. Incubação em estágio único para melhorar a uniformidade. In: Conferência APINCO de Ciência e Tecnologia Avícola, Campinas, SP. **Anais...** Campinas: FACTA, p.325-333, 2006.

BORRELLI, F.; MAFFIA, P.; PINTO, L. *et al.* Phytochemical compounds involved in the anti-inflammatory effect of propolis extract. **Fitoterapia**, v. 73, n.1 p. 53 - 63, 2002.

BRAKE, J. & SHELDON, B.W. Effect of a quaternary ammonium sanitizer for hatching eggs on their contamination, permeability, water loss, and hatchability. **Poultry Science**, Savoy, IL, v. 69, p. 517-525, 1990.

BRAKE, J.; WALSH, T.J.; BENTON, C.E. *et al.* Egg Handling and Storage. **Poultry Science**, v.76, p.144–151,1997.

BRANCO, J.R.O. **Eficiência da luz ultravioleta na desinfecção de ovos férteis de reprodutoras pesadas.** 2017. 46 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Animais) - Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária - Universidade de Brasília, Brasília, 2017.

BRITO, A.B. Problemas microbiológicos na Incubação Artificial. Artigo técnico **POLINUTRI**, 2006. Disponível em: <<http://www.polinutri.com.br/upload/artigo/183.pdf>>. Acesso em: 14/12/2017

BRUZUAL, J.J.; PEAK, S.D.; PEEBLES E.D. Effects of relative humidity during incubation on hatchability and body weight of broiler chicks from young breeder's flocks. **Poultry Science**, v. 79, p. 1385-1391, 2000.

BUENO-SILVA, B.; ALENCAR, S.M.; KOO, H. *et al.* Anti-inflammatory and antimicrobial evaluation of neovestitol and vestitol isolated from Brazilian red propolis. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 61, n. 19, p. 4546-4550, 2013.

BÚFALO, M.C.; FIGUEIREDO, A.S.; DE SOUSA, J.P.B. *et al.* Anti-poliovirus activity of *Baccharis dracunculifolia* and propolis by cell viability determination and real-time PCR. **Journal of Applied Microbiology**, v. 107, p. 1669 - 1680, 2009.

BURDOCK, G.A. Review of the biological properties and toxicity of bee propolis. **Food and Chemical Toxicology**, n. 36, p. 347-363, 1998.

BUSATTA, C.; VIDAL, R.S.; POPIOLSKI, A.S. *et al.* Application of *Origanum majorana* L. essential oil as antimicrobial agent in sausage. **Food Microbiology**, v.25, p.207-211, 2008.

BYERLY, T.C. & MARSDEO, S.J. Weight and hatchability of turkey eggs. **Poult. Sci.**, v. 17, n. 4, p. 298-300, 1938.

CABRAL, I.S.R.; OLDONI, T.L.C.; PRADO, A. *et al.* Composição fenólica, atividade antibacteriana e antioxidante da própolis vermelha brasileira. **Química Nova**, v. 32, n. 6, 1523 - 1527, 2009.

CALIL, T.A.C. Incubação estágio único e estágio múltiplo. In: Simpósio Goiano de Avicultura, 9, 2009, Goiânia. **Anais...** Goiânia, 2009.

CALIL, T.A.C. Princípios básicos de Incubação. In: Anais da Conferência APINCO. Simpósio de Incubação, 2007, Campinas. **Anais...** Campinas: FACTA, 2007. p. 19 – 45.

CAMARGO, J. R. **Ambiência pré-porteira: o tempo de espera do incubatório e sua influência sobre o desempenho inicial de frangos de corte.** 2011.189p. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Escola Superior de Agricultura – Universidade de São Paulo, 2011.

CARDOSO, R.L.; MABONI, F.; MACHADO, G. *et al.* Antimicrobial activity of propolis extract against *Staphylococcus coagulase positive* and *Malassezia pachydermatis* of canine otitis. **Veterinary Microbiology**. In press, 2009.

CARTWRIGHT, A.L.; POWERS, T.G. Hatching Eggs in the Classroom: A Teacher's Guide. **Department of Poultry Science**, Texas Agricultural Extension Service, the Texas A&M University System. p. 1-10, 2001.

CARVALHO, S.C.P. **Avaliação do dano genético em trabalhadores de anatomia patológica expostos ao formaldeído.** 2013. 95 p. Dissertação (Mestrado em Medicina Legal) - Instituto de Ciências Médicas Abel Salazar - Universidade do Porto, Portugal, 2013.

CASTALDO, S. & CAPASSO, F. Propolis, an old remedy used in modern medicine. **Fitoterapia**, v. 1, p.1 - 6, 2002.

CHINSEMBU, K.C. Plants and other natural products used in the management of oral infections and improvement of oral healthy. **Acta Trop.**, v. 154, p. 6-18, 2015.

CLÍMACO, W.L.S. **Desinfetantes alternativos ao uso de formaldeído para desinfecção de ovos férteis.** 2017, 129 f. Tese (Doutorado em Produção Animal) - Escola de Veterinária - Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2017.

COLLINS, J. Ventilation is more than replacing stale air. **World Poultry**, v. 3, n. 14, p. 28-31, 1998.

CONNOR, J. K. The significance of age of breeder flock and chick weight in meat chicken production. In: **Poultry Information Exchange**, 11, 1986, Gold Coast, Queensland, Proceedings... Gold Coast: p. 37-50, 1986.

CONTIERI, N.B. **Avaliação da atividade antimicrobiana de óleos essenciais frente a isolados de *Staphylococcus spp.* e *Pasteurella spp.* oriundas da cavidade bucal de gatos domésticos.** 2017. 79 F. Dissertação (Mestrado em Biociência Animal) - Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos - Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2017.

CONY, H.C. **Métodos de desinfecção e princípios ativos desinfetantes e a contaminação, mortalidade embrionária e eclodibilidade de ovos e embriões de aves.** 2007. 101p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Faculdade de Agronomia - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2007.

CONY, H.C.; VIEIRA, S.L.; BERRES, J. *et al.* Técnicas de pulverização e imersão com distintos desinfetantes sobre ovos incubáveis. **Ciê. Rur.**, v. 38, n. 5, 2008.

CORRÊA, A.P.F. **Obtenção de peptídeos bioativos a partir da hidrólise enzimática de caseinato ovino e soro de queijo ovino.** 2013. 101 f. Tese (Doutorado em Microbiologia Agrícola e do Ambiente) - Instituto de Ciências Básicas da Saúde - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, 2013.

CORREA, F.T. **Ação antimicrobiana da própolis verde em microrganismos isolados e identificados na superfície de queijo tipo gorgonzola.** 2017. 58 p. Tese (Doutorado em Ciência dos Alimentos) -Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2017.

COSTA, A.S.; MACHADO, B.A.S.; UMSZA-GUEZ, M.A. *et al.* Levantamento dos estudos com a própolis produzida no estado da Bahia. **Sitientibus: Ciências Biológicas**, v. 13, p. 1-7, 2013.

COSTA, C.C. & PEREIRA, R.G. The influence of propolis on the rheological behaviour of pure honey. **Food Chemistry**, v. 76, p. 417-421, 2002.

COSTA, C.H.R.; BARRETO, S.L.T.; GOMES, P.C. *et al.* Níveis de fósforo disponível em dietas para codornas japonesas de 45 a 57 semanas de idade. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.40, p.2152-2160, 2011.

COX, N.A. & BAILEY, J.S. Effect of chemical treatments to eliminate *Salmonella* on hatching eggs. **Poult. Sci.**, v. 70 (Supp. 1), p. 154, 1991.

CRUZ, C.Z.P. **Imobilização de alcalase® em pó de sabugo de milho: hidrólise das proteínas do soro de queijo bovino e obtenção de peptídeos bioativos.** 2017. 104 f. Tese (Doutorado em Biotecnologia) – Instituto de Química - Universidade Estadual Paulista, Araraquara, SP, 2017.

CUETO, D.J. **Experiência clínica de los medicamentos elaborados con propoleo. In: ASIS, M., investigaciones cubanas sobre el propoleo: memórias del 1º simpósio sobre los efectos del propoleo em la salud humana y animal.** 1989. Varadero. Matanzas: Consejo Científico del Instituto de Medicina Veterinária, Cuba, p. 259-262, 1989.

CUTRIM, E.S.M. **Avaliação da atividade antimicrobiana e antioxidante dos óleos essenciais de *Zingiber officinale Roscoe* (gingibre) e *Rosmarinus officinalis L.* (alecrim) frente às bactérias patogênicas.** 2017. Monografia (Graduação em Química Industrial) - Universidade Federal do Maranhão, São Luís, 2017.

DAFERERA, D.J.; ZIOGAS, B.N.; POLISSIOU, M.G. The effectiveness of plant essential oils on the growth of *Botrytis cinerea*, *Fusarium spp.* and *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*. **Crop Protection**, v.22, p. 39-44, 2003.

DANTAS, A.P.; OLIVIERI, B.P.; GOMES, F.H.M. *et al.* Treatment of Trypanosoma cruzi-infected mice with propolis promotes changes in the immune response. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 103, p. 187 - 193, 2006.

DECUYPERE, E.; MALHEIROS, R.D.; MORAES, V.M.B. *et al.* Fisiologia do Embrião. In: MACARI, M., GONZALES, E. **Manejo da Incubação.** 2.ed. Jaboticabal-SP: FACTA, 2003. p. 65- 94.

DECUYPERE, K. & MICHELS, H. Incubation temperature as a management tool: a review. **World's Poultry Science Journal**, Cambridge, v. 48, p. 27-38, 1992.

DEEMING, D.C. Turning helps hatchability. **Poultry Misset**, v. 4, n. 4, p. 27, 1996.

DIAS, B.H.R.; TAVARES, T.M.; GOMES, F.R. *et al.* Influência da idade da matriz pesada e do tempo de armazenamento sobre a eclodibilidade dos ovos férteis. **Produção Animal-Avicultura**, Campinas, n. 48, p. 42-50, 2011.

DONASSOLO, E. & NETO, G.C.C. **Ação do Fenol Sintético e do Aldeído Fórmico na Proteção de Embriões de *Gallus gallus* para fins Comerciais.** 2004. 48f. Monografia (Trabalho de conclusão do curso de Ciências Biológicas) - Universidade Paranaense, Cascavel, 2004.

DUARTE, S.; KLEIN, M.I.; AIRES, C.P. *et al.* Influences of starch and sucrose on *Streptococcus mutans* biofilms. **Oral Microbiology and Immunology**, Copenhagen, v. 23, n. 3, p. 206–212, 2008.

ELIBOL, O.; PEAK, S.D.; BRAKE, J. Effect of Flock Age, Length of Egg Storage, and Frequency of Turning During Storage on Hatchability of Broiler Hatching Eggs. **Poultry Science**, v.81, p. 945-950, 2002.

EL-KHAWAGA O-A.Y.; SALEM, T.A.; ELSHAL, M.F. Protective role of Egyptian propolis against tumor in mice. **Clinica Chimica Acta**, v. 338, p. 11 - 16, 2003.

FASENKO, G.M. Egg Storage and the Embryo. **Poultry Science**, v. 86, p. 1020-1024, 2007.

FASENKO, G.M.; HARDIN, R.T.; ROBINSON, F.E. *et al.* Relationship of hen age and sequence position with fertility, hatchability, viability and preincubation embryonic development in broiler breeders. **Poultry Science**, v. 71, n. 8, p. 1374-1384, 1992.

FASENKO, G.M.; O’Dea Christopher, E. E. e McMullen, L. M. Spraying hatching eggs with electrolyzed oxidizing water reduces eggshell microbial load without compromising broiler production parameters. **Poult. Sci.**, v. 88, p.1121–1127, 2009.

FERNANDES JR, A.; LOPES, C.A.M.; SFORCIN, J.M. *et al.* Population analysis of susceptibility to propolis in reference strains of *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. **Journal of Venomous Animals and Toxins**, v. 3, n. 2, 1997.

FISCHER, G.; CONCEIÇÃO, F.R.; LEITE, F.P.L. *et al.* Immunomodulation produced by green propolis extract on humoral and cellular responses of mice immunized with SuHV-1. **Vaccine**, v. 25, p. 1250-1256, 2007.

FRANCISCO, N.S. **Idade da matriz e tempo de estocagem dos ovos no desenvolvimento de frangos de corte**. 2011. 61f. Dissertação (Mestrado em Produção Animal) – Faculdade de Ciências Agrárias – Universidade Federal da Grande Dourados, Mato Grosso do Sul, 2011.

FRANCISCO, N.S.; GARCIA, R.G.; SUNADA, N.S. *et al.* Fatores que interferem na incubação de ovos de frangos de corte. In: VI SIMPÓSIO DE CIÊNCIAS DA UNESP, 2010. Dracena, **Anais...** 2010.

FRAZIER, W. C. **Microbiologia de lós Alimentos**. 2 ed. Espanha: Ed. Acribia, 1976. 305P.

FREITAS, A.G. **Efeito da fumigação de nascedouros com formaldeído sobre o trato respiratório e desempenho de frangos de corte**. 2007. 44p. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) - Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária - Universidade Federal de Uberlândia, 2007.

FRENCH, N.A. Modeling incubation temperature: the effects of incubator design, embryonic development, and egg size. **Poultry Science**, v. 76, p. 124-133, 1997.

FURLAN, J.J.M. **Avaliação do manejo pré-incubação e incubação de ovos férteis sobre a qualidade do pintinho, desempenho e rendimento de carcaça de frangos de**

corte. 2013. 62f. Dissertação (Mestrado em Nutrição e Produção Animal) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia - Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2013.

GEBRESENBET, G.; ARADOM, S.; BULITTA, F.S. *et al.* Vibration levels and frequencies on vehicle and animals during transport. **Biosystems Engineering**, v.110, p.10-19, 2011.

GOBBO-NETO, L. & LOPES, N.P. Plantas medicinais: fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. **Quím. Nova.**, v.30, n. 2, 2007.

GOMES, M.F.F.; ÍTAVO, C.C.B.F.; LEAL, C.R.B. *et al.* Atividade antibacteriana in vitro da própolis marrom. **Pesq. Vet. Bras.**, Rio de Janeiro, v. 36, n. 4, p. 279-282, 2016.

GOMES, P.C.; REIS, R.S.; BARRETO, S.L. *et al.* **Tópicos em manejo de matrizes pesadas**. 1. ed. Viçosa - MG: UFV, 2013. 122p.

GONÇALVES, J.M. **Atividades biológicas e composição química dos óleos essenciais de *Achyrocline satureoides* (Lam) DC. e *Ageratum conyzoides* L. encontradas no semiárido baiano**. 2015. 111 f. Tese (Doutorado Acadêmico em Biotecnologia) - Universidade Estadual de Feira de Santana, Feira de Santana, 2015.

GONZÁLES, E. **Estágio múltiplo VS único de incubação artificial de ovos**. UNESP - campus Botucatu, 2009. Disponível em: <<https://www.aviculturaindustrial.com.br/imprensa/incubacao/20090831-081247-Y742>>. Acesso em: 07/01/2018.

GREGORIS, E. & STEVANATO, R. Correlations between polyphenolic composition and antioxidant activity of Venetian própolis. **Food and Chemical Toxicology**, v. 48, p. 76 - 82, 2010.

GREZZI, G. **Limpeza e Desinfecção na Avicultura**. 2008. Disponível em:< <https://pt.engormix.com/avicultura/artigos/limpeza-desinfeccao-avicultura-t36727.htm>>. Acesso em: 20/12/2017.

GROPPO, F.C.; RAMACCIATO, J.C.; SIMÕES, R.P. *et al.* Antimicrobial activity of garlic, tea tree oil and chlorexidine against oral micro-organisms. **International Dental Journal**, v. 52 n. 6, p. 433-437, 2002.

GUADAGNIN, C. Manejo da incubação transferência e nascimento. **Manejo da Incubação**. Campinas, S. P: Facta, 1994. p. 95 -108.

GUIMARÃES, C.C.; FERREIRA, T.C.; OLIVEIRA, R.C.F. *et al.* Atividade antimicrobiana in vitro do extrato aquoso e do óleo essencial do alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.) e do cravo-da-índia (*Caryophyllus aromaticus* L.) frente a cepas de *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*. **R. bras. Bioci.**, Porto Alegre, v. 15, n.2, p. 83-89, 2017.

GUSTIN, P.C. Biossegurança no incubatório. In: MACARI, M.; GONZÁLES, E. **Manejo da incubação**. Campinas: FACTA, 2003. p.297-352.

GUSTIN, P.C. Cuidados com o pinto na expedição, transporte e alojamento. **Manejo da Incubação**. Campinas, Facta, 1994. p. 109-147.

HARAGUCHI, F. K.; ABREU, W. C.; PAULA, H. Proteínas do soro do leite: composição, propriedades nutricionais, aplicações no esporte e benefícios para a saúde humana. **Revista de Nutrição**, n. 19, v. 4, p. 479-488, 2006.

HAYRETDAG, S. & KOLANKAYA, D. Investigation of the Effects of Pre-Incubation Formaldehyde Fumigation on the Tracheal Epithelium of Chicken Embryos and Chicks. **Turk. J. Vet. Anim. Sci.**, v. 32, n.4, p. 263-267, 2008.

HEIER, B.T. & JARP, J. An epidemiological study of the hatchability in broiler breeder flocks. **Poult. Sci.**, v. 80, p. 1132–1138, 2001.

HERNÁNDEZ, L.B.; RECIO, I.; AMIGO, L. β -lactoglobulin as Source of Bioactive Peptides. **Journal Amino Acids**, v. 35, n. 2, p. 257-265, 2008.

HIGASHI, K.O. & CASTRO, S.L.D. Propolis extracts are effective against *Trypanosoma cruzi* and have an impact on its interaction with host cells. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 43, p. 149-155, 1994.

HULEIHEL, M. & ISANU, V. Anti-Herpes Simplex Virus effect of an Aqueous Extract of propolis. **The Israel Medical Association Journal**, v. 4, p. 923-927, 2002.

HUNTON, P. Research on eggshell structure and quality: An historical overview. **Brazilian Journal of Poultry Science**, v. 7, n. 2, p. 67 – 71, 2005.

IDAH, P.A.; YISA, M.G.; AJISEGIRI, E.S.A. *et al.* Resonance frequency of Nigerian tomato fruit as related to prevention of damage during transportation. **Journal of Food Science and Technology**, v.46, p.153-155, 2009.

ILTCHENCO, S. **Concentração de proteínas de soro de leite por ultrafiltração**. 2016. 122 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) - Departamento De Ciências Agrárias - Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e Missões Uri Erechim, Erechim, RS, 2016.

IZELLI, T.F. **Avaliação da atividade antimicrobiana do cimento de óxido de zinco e eugenol modificado com óleo essencial de orégano**. 2015. 24f. Monografia (Graduação em Odontologia) - Universidade Estadual de Londrina, 2015.

JAENISCH, F.R.F.; BITENCURT, G.; SONCINI, R.A. *et al.* Resposta histológica no coração e pulmão de frangos submetidos a suplementação de oxigênio durante incubação. In: Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia, 38, 1997, Juiz de Fora - MG. **Anais...** Juiz de Fora: SBZ, 1997.

JEFFERY, G.H.; BASSETT, J.; MENDHAM, J. *et al.* **Análise Química Quantitativa**. ed. 5. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, RJ, 1992.

JONES, C.B. Egg hygiene: microbial contamination, significance and control. In: TULLET, S.G. *Avian Incubation*. London: Butterworth-Heinemann, p. 269-276. Presented work n° 22. **Poultry Science Symposium**, 1991.

JOSEPH, N.S.; MORAN JR., E.T. Effect of flock age and postemergent holdin in the hatcher on broiler live performance and further-processing yield. **Journal of Applied Poultry Research**, v. 14, p. 512-520, 2005b.

BARROS JR, F.R.S.B. **Estudo analítico e atividade antifúngica do óleo essencial dos frutos da *Pimenta dioica Lindl.*** 2011. 78 f. Dissertação (Mestrado em Química) - Universidade Federal do Maranhão, São Luís, 2011.

KEÏTA, A.; HUNEAU-SALAÛN, A.; GUILLOT, A. A multi-pronged approach to the search for an alternative to formaldehyde as an egg disinfectant without affecting worker health, hatching, or broiler production parameters. **Poultry Science**, v. 95, n. 7, p. 1609–1616, 2016.

KHEM, S. SMALL, D.M.; MAY, B.K. The behaviour of whey protein isolate in protecting *Lactobacillus plantarum*. **Food Chemistry**, v.190, p.717-723, 2015.

KOC, A. N.; SILICI, S.; AYANGIL, D. *et al.* Comparison of in vitro activities of antifungal drugs and ethanolic extract of propolis against *Trichophyton rubrum* and *T. mentagrophytes* by using a microdilution assay. **Mycoses**, v. 48, p. 205 - 210, 2005.

KOSALEC, I.; PEPELJNJAK, S.; BAKMAZ, M. *et al.* Flavonoid analysis and antimicrobial activity of commercially available propolis product. **Acta Pharm**, v. 55 p. 423-430, 2005.

KUJUMGIEV, A.; TSVETKOVA, I.; SERKEDJIEVA, Y. *et al.* Antibacterial, antifungal and antiviral activity of propolis of different geographic origin. **Journal Ethnopharmacol**, v.64, p. 235 - 240, 1999.

KUMAZAWA, S.; HAMASAKA, T.; NAKAYAMA, T. Antioxidant activity of propolis of various geographic origins. **Food Chemistry**, v. 84, p. 329-339, 2004.

KUSSENDRAGER, K.D. & HOOIJDONK, A.C.M.V. Lactoperoxidase: Physicochemical properties, occurrence, mechanism of action and applications. **British Journal of Nutrition**, v. 84, n. 1, p. S19 - S25, 2000.

KUSSTATSCHER, P.; CERNAVA, T.; LIEBMINGER, S. 2017. Replacing conventional decontamination of hatching eggs with a natural defense strategy based on antimicrobial, volatile pyrazines. **Scientific Reports**, v. 7, p. 13253, 2017.

LACERDA, L.; ISHIDA, A.K.N.; OLIVEIRA, L.C. *et al.* Atividade antimicrobiana de extratos hexânicos de própolis e resina das abelhas *Melípona flavolineata*, *Melípona seminigra*, *Melípona fasciculata*, *Frieseomelitta varia* e *Apis mellifera* sobre *Xanthomonas axonopodis* pv. *passiflorae*. **Congresso Brasileiro de Recursos Genéticos**. Belém-PA, 2012.

LAPÃO, C.; GAMA, L.T.; SOARES, M.C. Effects of broiler breeder age and length of egg storage on albumen characteristics and hatchability. **Poultry Science**, v.78, p. 640-645, 1999.

LAUVERS, G. & FERREIRA, V.P. Fatores que afetam a qualidade dos pintos de um dia, desde a incubação até recebimento na granja. **Revista científica eletrônica de medicina veterinária** – p.1679-7353, Minas Gerais, 2011.

LOURENS, A.; MOLENAAR, R.; VAN DEN BRAND, H. *et al.* Effect of egg size on heat production and the transition of energy from egg to hatchling. **Poultry Science**, v. 85, p. 770-776, 2006.

LOURENS, A.; VAN DEN BRAND, H.; MEIJERHOF, R. *et al.* Effect of eggshell temperature during incubation on embryo development, hatchability and post-hatch development. **Poultry Science**, v.84, p. 914-920, 2005.

MACARI, M.; MENDES, A.A; MENTEN, J.F. *et al.* Produção de Frangos de Corte. 2. ed. São Paulo: Campinas. **Fundação APINCO de Ciência e Tecnologia Agrícola**, Cap. 8, p.117- 119. Cap. 11, p.171- 173, 2014.

MADUREIRA, A.R.; TAVARES, T.; GOMES, A.M.P. *et al.* Invited review: physiological properties of bio - active peptides obtained from whey protein. **Journal of Dairy Science**, v. 93, n. 2, p. 437-455, 2010.

MANNHEIM, A.; CHERYAN, M. Enzyme-modified proteins from corn gluten meal: preparation and functional properties. **J. Am. Oil Chem. Soc.**, v. 69, p. 1163 - 1169, 1992.

MARCUCCI, M.C. Propriedades biológicas e terapêuticas dos constituintes químicos da própolis. **Química Nova**, v. 19, n. 5, p. 529-535, 1996.

MARCUCCI, M.C.; FERRERES, F.; GARCÍA-VIGUERA, C. *et al.* Phenolic compounds from Brazilian propolis with pharmacological activities. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 74, p. 105-112, 2001.

MAULDIN, J.M. Maintaining hatching egg quality. In: BELL, D.D.; WEAVER, W.D. **Commercial Chicken Meat and Egg Production**. 5th ed. Norwell: Kluwer Academic Publishers, p. 707-725, 2002.

MAULDIN, J.M. Reducing contamination of hatching eggs. Technical article, In: **Poultry Industry**, 2008. Disponível em: <<https://en.engormix.com/MA-poultry-industry/articles/reducingcontamination-hatching-eggs-t1014/p0.htm>>. Acesso em: 17/12/2017.

MAXWELL, M.H.; SPENCE, S.; ROBERTSON, G.W. *et al.* Hematological and morphological responses of broiler chicks to hypoxia. In: **Avian Pathology**. v.19, p. 23-40, 1990.

MAZZAFERA, P. Efeito alelopático do extrato alcoólico do cravo da Índia e eugenol. **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v. 26, n. 2, p. 231-238, 2003.

MEIR, M.; NIR, A.; AR, A. Increasing hatchability of turkey eggs by matching incubator humidity to shell conductance of individual eggs. **Poultry Science**, v. 63, p. 1489-1496, 1984.

MENDES, P.M.M. **Influência do aquecimento e armazenamento de ovos de matrizes pesadas sobre o rendimento de incubação**. 2014. 43p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Escola de Veterinária - Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2014.

MERIANOS, J.J. Quaternary ammonium antimicrobial compounds. In: BLOCK, S.S. **Disinfection, Sterilization and Preservation**. 4th ed. Philadelphia: Lea & Febiger, 1991. p.225-255.

MERTENS, K.; BAMELIS, F.; KEMPS, B. *et al.* Monitoring of eggshell breakage and eggshell strength in different production chains of consumption eggs. **Poultry Science**, Champaign, v. 85, p. 1670–1677, 2006.

MESQUITA, M.A. **Fatores que afetam o desenvolvimento de embriões de frangos de corte durante a incubação**. 2011. 36p. In: Seminários Aplicados do Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal. Escola de Veterinária e Zootecnia - Universidade Federal de Goiás, 2011.

MESQUITA, M.A. **Resultados produtivos no incubatório e na granja de frangos de corte utilizando sistema de incubação em estágio múltiplo e estágio único**. 2013. 90f. Dissertação (Mestrado em Ciências Animais) - Escola de Veterinária e Zootecnia - Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2013.

MONTI, J.C.; JOST, R. Solubilization of cheese whey protein by tripsin and a process to recover the active enzyme from digest. **Biotechnology and Bioengineering**, v.20, p. 1173-1185, 1978.

MOREIRA, M.R.; PONCE, A.G.; VALLE, C.E. *et al.* Inibitory parameters of essential oils to reduce a foodborne pathogen. **LWT Food Science and Technology**, v.38, p.565-570, 2005.

MORENG, R.E. & AVENS, J.S. **Ciência e produção de aves**. 4. ed. São Paulo: Roca, 1990.

MORO, D. Sistemas de ventilação. **Manejo da Incubação**. Campinas -SP: FACTA, 1994. p. 33 – 41.

MOUCHREK FILHO, V.E. **Estudos Analíticos e modificações químicas por metilação e acetilação do eugenol contido no óleo essencial extraído das folhas da espécie *Pimenta dioica* Lindl.** São Carlos. 2000, 124f. Tese (Doutorado em Química) - Instituto de Química - Universidade de São Paulo, São Carlos, 2000.

MURAROLLI, A. **Arte de Incubar parte 1, 2, 3 e 4**. 2008. Disponível em: <<http://www.avipa.com.br/arqs/biblioteca.html>>. Acesso em: 28/11/2017.

MURAROLLI, A. & MENDES, A.A. Manejo da incubação, transferência e nascimento do pinto. In: MACARI, M.; GONZÁLES, E. **Manejo da incubação**. Jaboticabal: FACTA, 2003.

NAGAI, T.; INOUE, R.; INOUE, H. *et al.* Preparation and antioxidant properties of water extract of propolis. **Food Chemistry**, v. 80, p. 29-33, 2003.

NAKAGE, E.S. **Efeito do período de armazenagem, da temperatura de incubação e da forma física da ração sobre o desenvolvimento embrionário, a eclosão e as características dos ovos de perdizes *Rhynchotus rufescens***. 2003. 79f. Dissertação (mestrado em Zootecnia) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias - Universidade Estadual Paulista, 2003.

NANDHINI, N.; KARTHIK, R.; SRIDHAR B. *et al.* Antimicrobial activity of whey protein from milk against different microbial pathogens. **Acta Biomedica Scientia**, v. 2, n. 3, p. 122-124, 2015.

NAZARENO, A.C.; SILVA, I.J.O.; VIEIRA, A.M.C. *et al.* Níveis de vibração e choques em diferentes estradas durante o transporte de ovos férteis. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.17, p.900-905, 2013b.

NAZARENO, A.C.; SILVA, I.J.O.; VIEIRA, F.M.C. *et al.* Caracterização do microclima dos diferentes layouts de caixas no transporte de ovos férteis. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.17, p.327-332, 2013a.

NEW, D.A.T. A critical period for the turning of hen's eggs. **Journal of embryology and experimental morphology**, v. 5, p. 293-299, 1957.

NOLKEMPER, S.; URGENREICHLING, J.; SENSCH, K. *et al.* Mechanism of herpes simplex virus type 2 suppression by propolis extracts. **Phytomedicine**, v. 17, p. 132 - 138, 2010.

NORTH, M.O. Commercial Chicken Production Manual. Westport: **The Avi Publishing**, p. 21-30, 1972.

OIE. In: **Terrestrial Animal Health Code, Chapter 6.4**. - Hygiene and disease security procedures in poultry breeding flocks and hatcheries, OIE. 2010.

OLDONI, T.L.C. **Isolamento e identificação de compostos com atividade antioxidante de uma nova variedade de própolis brasileira produzida por abelhas da espécie de *Apis mellifera***. 2007. 105 p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz - Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2007.

OLIVEIRA, D.F.; BRAVO C.E.C.; TONIAL I.B. Soro de leite: Um subproduto valioso. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v. 67, n. 385, p. 64-71, 2012.

OLIVEIRA, D.D. & SILVA, E.N. *Salmonella* em ovos comerciais: Ocorrência, condições de armazenamento e desinfecção da casca. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v.52, n.6, 2000.

OLIVEIRA, G.E.; FIGUEIREDO T.C.; SOUZA, M. R. *et al.* Bioactive amines and quality of egg from Dekalb hen under different storage conditions. **Poultry Science**, v.88, p.2428-2434, 2009.

OLIVEIRA, L. **Efeito inibitório dos óleos essenciais de alfavacão (*ocimum gratissimum* L.) e cravo-da-índia (*syzygium aromaticum* L.) e do suco de limão (*citruslatifolia tanaka*) frente às bactérias *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli* isoladas de carcaças de ovinos.** 2011. 97 p. Dissertação (Mestrado em Ciências Agrárias) - Instituto de Ciências Agrárias - Universidade Federal de Minas Gerais, Montes Claros, MG, 2011.

OLIVEIRA, W.J.C. **Otimização da rede logística de soro de leite nas mesorregiões Zona da Mata e Campo das Vertentes do Estado de Minas Gerais.** 2017. 80 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Agrícola e Ambiental) - Instituto de Tecnologia - Departamento de Engenharia - Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2017.

OTA, C.; UNTERKIRCHER, C.; FANTINATO, V. *et al.* Antifungal activity of própolis on different species of candida. **Mycoses**, v. 44, p. 375 - 378, 2001.

OUSSALAH, M.; CAILLET, S.; SAUCIER, L. *et al.* Inhibitory effects of selected plant essential oil on the growth of four pathogenic bacteria: *E. coli* 0157:H7, *Salmonella Typhimurium*, *Staphylococcus aureus* and *Listeria monocytogenes*. **Food Control**, Guildford, v. 18, n. 5, p. 414-420, 2007.

PACHECO, M.T.B.; DIAS, N.F.G.; BALDINI, V.L.S. *et al.* Propriedades funcionais de hidrolisados obtidos a partir de concentrados proteicos de soro de queijo. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 25, n. 2, p. 333-338, 2005.

PAGLIARONE, A.C.; MISSIMA, F.; ORSATTI, C.L. *et al.* Propolis effect on Th1/Th2 cytokines production by acutely stressed mice. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 125, p. 230 – 233, 2009.

PARK, Y.K. & KOO, M.H. Investigation of Flavonoid Aglycones in Propolis Collected by Two Different Varieties of Bees in the Same Regions. **Bioci. Biotech. Biochem.**, v. 61, n. 2, p. 367- 369, 1997.

PARK, Y.K.; ALENCAR, S.M.; SCAMPARINI, A.R.P. *et al.* Própolis produzida no sul do Brasil, Argentina e Uruguai: Evidências fitoquímicas de sua origem vegetal. **Ciência Rural**, v. 32, n. 6, p. 997-1003, 2002.

PAULINO, N.; ABREU, S.R.L.; UTO, Y. *et al.* Anti-inflammatory effects of a bioavailable compound, Artepillin C, in Brazilian própolis. **European Journal of Pharmacology**, v. 587, p. 296 - 301, 2008.

PEEBLES, E.D.; BURNHAM, M.R.; GARDNER, C.W. *et al.* Effects of incubational humidity and hen age on embryo composition in broiler hatching eggs from young breeders. **Poultry Science**, v. 80, n. 9, p. 1299-1304, 2000.

PEEBLES, E.D.; ZUMWALT, C.D.; DOYLE, S.M. *et al.* Effects of breeder age and dietary fat source and level on broiler breeder performance. **Poultry Science**, v. 79, p. 629-639, 2000a.

PELLEGRINI, A.; DETTLING, C.; THOMAS, U. *et al.* Isolation and characterization of four bactericidal domains in the bovine β -lactoglobulin. **Bioch Biophys Acta**, v. 1526, n. 2, p. 131-40, 2001.

PELLEGRINI, A.; THOMAS, U.; BRAMAZ, N. *et al.* Isolation and identification of three bactericidal domains in the bovine α -lactalbumin molecule. **Biochim. Biophys. Acta**, v. 1426, n. 3, p. 439-448, 1999.

PERSIKE, F.; SANTOS, E.; ESPÍNDOLA, M.L. *et al.* Produção e eclodibilidade de ovos da unidade de ensino e aprendizagem anacultura do Instituto Federal Catarinense - campus Araquari. In: **VIII MICTI - Mostra Nacional de Iniciação Científica e Tecnológica Interdisciplinar**, Santa Rosa do Sul, Santa Catarina, 2015.

PESAVENTO, G.; CALONICO, C.; BILIA, A.R. *et al.* Antibacterial activity of Oregano, *Rosmarinus* and *Thymus* essential oils against *Staphylococcus aureus* and *Listeria monocytogenes* in beef meatballs. **Food Control**, v. 54, p. 188-199, 2015.

PETROCELLI, A.T.M.M. **Influência da transferência de ovos para o nascedouro em diferentes momentos de incubação no rendimento de incubação e qualidade de pintos**. 2013. 55f. Dissertação (Mestrado em Ciências Agrárias) - Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2013.

PIETTA, P.G.; GARDANA, C.; PIETTA, A.M. Analytical methods for quality control of propolis. **Fitoterapia**, v. 73, p. 7-20, 2002.

PILETTI, R. **Obtenção e caracterização de microcápsulas de eugenol e de óleo de alho duplamente revestidas para aumento da estabilidade térmica**. 2016. 187 p. Tese (Doutorado em Engenharia Química) - Departamento de Engenharia Química e Engenharia de Alimentos - Universidade Federal de Santa, Florianópolis, 2016.

PINTO, L.M.A.; PRADO, N.R.T.; CARVALHO, L.B. Propriedades, usos e aplicações da própolis. **Rev. Eletronic. de Farm**, v. 8, n. 3, p. 76-100, 2011.

PIRES, C.V.; OLIVEIRA, M.G.A.; ROSA, J.C. *et al.* Qualidade nutricional e escore químico de aminoácidos de diferentes fontes proteicas. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 26, n. 1, p. 179-187, 2006.

POMBO, C.R. **Efeito do tratamento térmico de ovos inteiros na perda de peso e características de qualidade interna**. 2003. 74 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) - Faculdade de Veterinária - Universidade Federal Fluminense, Rio de Janeiro, 2003.

PROBST, I.S. **Atividade antibacteriana de óleos essenciais e avaliação de potencial sinérgico**. 2012. 112 f. Dissertação (Mestrado em Biologia Geral e Aplicada) - Instituto de Biociências de Botucatu - Universidade Estadual Paulista, São Paulo, 2012.

PROUDFOOT, F.G.; NASH, D.M; HULAN, H.W. Effects of glutaraldehyde surfactant solution on the hatchability of the hen's eggs. **Poultry Science**, Savoy, IL, v.64, p. 2400-2402, 1985.

QUARLES, C. L.; GENTRY, R. F. e BRESSLER, G. O. Bacterial contamination in poultry houses and its relationship to egg hatchability. **Poult. Sci.**, v. 49, p. 60-66, 1970.

QUINTERO, M.; OROZCO, A.; HERNÁNDEZ, F. *et al.* Efecto de extractos de propóleos mexicanos de *Apis mellifera* sobre el crecimiento in vitro de *Candida albicans*. **Revista Iberoamericana de Micología**, v. 25, p. 22-26, 2008.

RABÊLO, W.F. **Caracterização química, toxicidade e avaliação da atividade antibacteriana do óleo essencial do cravo da índia (*Syzygium aromaticum*)**. 2010. 77 p. Dissertação (Mestrado em Química Analítica) - Centro de Ciências Exatas e Tecnologia - Universidade Federal do Maranhão, São Luís, 2010.

RÉVILLION, J.P.; BRANDELLI, A.; AYUB M.A.Z. Produção de extratos de leveduras de uso alimentar a partir do soro de queijo: abordagem de elementos técnicos e mercadológicos relevantes. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 20 n. 2, 2000.

ROBERTSON, I.S. The influence of turning on the hatchability of hen's eggs. II. The effect of turning frequency on the pattern of mortality, the incidence of malpositions, malformations and dead embryos, with no somatic abnormality. **Journal of Agricultural Science**, v. 57, p. 39-47, 1961.

ROBINSON, F.E; FASENKO, G.M.; RENEMA, R.A. Optimizing chick production in broiler breeders. **Alberta Poultry Research Centre**, v.1, 2013.

ROCHA, J.S.R. **Efeitos da idade da matriz e do tamanho do ovo sobre os pesos dos componentes dos ovos, do pinto, do saco vitelino, a uniformidade, o desempenho e o rendimento de abate do frango de corte**. 2007. 48p. Dissertação (Mestrado em Produção Animal) - Escola de Veterinária - Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2007.

RONDÓN, E.O.O. & MURAKAMI, A.E. Fatores que interferem no desenvolvimento embrionário e seus efeitos nos problemas metabólicos pós-eclosão em frangos de corte. **Acta Scientiarum**, v. 20, n. 3, p. 373-382, 1998.

ROSA, P.S.; GUIDONI, A.L.; LIMA, I. L. *et al.* Influência da temperatura de incubação em ovos de matrizes de corte com diferentes idades e classificados por peso sobre os resultados de incubação. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 31, n. 2, p. 1011-1016, 2002.

RUI, B.R.; ANGRIMANI, D.S.R.; CRUZ, L.V. et al. Principais métodos de desinfecção e desinfetantes utilizados na avicultura: Revisão de literatura. **Revista científica eletrônica de medicina veterinária**, n. 16, 2011.

SACCO, R.E. *et al.* Effect of hatching egg sanitizers on embryonic survival and hatchability of turkey eggs from different lines and on eggs shell bacterial populations. **Poultry Science**, Savoy, IL, v.68, p. 1179- 1184, 1989.

SALOMÃO, K.; SOUZA, E.M.; PONS, A.H. *et al.* Brazilian Green Propolis: Effects In Vitro and In Vivo on *Trypanosoma cruzi*. **Evidence-based Complementar and Alternative Medicine**. In press, 2009.

SAMBERG, Y. & MEROZ, M. Application of disinfectants in poultry hatcheries. **Rev. sci. tech. Off. int. Epiz.**, v.14, n. 2, p. 365-380, 1995.

SANTANA, M.H.M.; GIVISIEZ, P.E.N.; JUNIOR, J.P.F. *et al.* incubação: principais parâmetros que interferem no desenvolvimento embrionário de aves. **Revista Eletrônica Nutritime**, v. 11, n. 2 - p. 3387– 3398, 2014.

SANTOS, M.J.; TEIXEIRA, J.A.; RODRIGUES, L.R. Fractionation and recovery of whey proteins by hydrophobic interaction chromatography. **Journal of Chromatography**, v. 879, n. 7-8, p. 475–479, 2011.

SARTORATTO, A. *et al.* Composition and antimicrobial activity of essential oils from aromatic plants used in Brazil. **Braz J Microbiol**, v.35, p.275-280, 2004.

SAULLU, J. **Influência das Características dos Ovos Sobre o Processo de Incubação**. 2007. Disponível em: <http://www.engormix.com/p_articles_view.asp?art=40&AREA=AVG>. Acesso em: 05/12/2017.

SAUTER, E.A. & PETERSEN, C.F. The effect of shell quality on penetration by various Salmonellae. **Poultry Science**, v. 53, n. 6, p. 2159–2162, 1974.

SCHERER, R.; WAGNER, R.; DUARTE, M.C.T. *et al.* Composição e atividades antioxidante e antimicrobiana dos óleos essenciais de cravo-da-índia, citronela e palmarosa. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v. 11, n. 4, p. 442-449, 2009.

SCHMIDT, G. S.; FIGUEIREDO, E. A. P.; ÁVILA, V. S. Fatores que afetam a qualidade do pinto de corte. **Avicultura Industrial**, n. 9, ed. 1105, p. 14-18, 2002b.

SCHMIDT, G.S.; FIGUEIREDO, E.A.P.; ÁVILA, V.S. **Incubação: Característica dos Ovos Incubados**. Circular técnica 35: Embrapa Suínos e Aves, 2003. 12p. Disponível em:< <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/124277/1/CIT-35.pdf>>. Acesso em: 20/10/2017.

SCHMIDT, G.S.; FIGUEIREDO, E.A.P.; AVILA, V.S. **Incubação: estocagem de ovos férteis**. Comunicado técnico 303: Embrapa Suínos e Aves, 2002. 5p. Disponível em:< <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/85203/1/DCOT-303.pdf>>. Acesso em: 17/11/2017.

SCHMIDT, G.S.; FIGUEIREDO, E.A.P.; SAATKAMP, M.G. *et al.* Effect of storage period and egg weight on embryo development and incubation results. **Brazilian Journal of Poultry Science**, v.11, n.1, p.01-05, 2009.

SCHNITZLER, P.; NEUNER, A.; NOLKEMPER, S. *et al.* Antiviral activity and mode of action of propolis extracts and selected compounds. **Phytotherapy Research**, In press, 2009.

SCOTT, T.A. & SWETNAM, C. Screening sanitizing agents and methods of application for hatching eggs II. Effectiveness against microorganisms on the egg shell. **J. Appl. Poultry Res**, v. 2, n. 1, p. 7-11, 1993b.

SCOTT, T.A.; SWETNAM, C.; KINSMAN, R. Screening sanitizing agents and methods of application for hatching eggs III. Effect of concentration and exposure time on embryo viability. **J. Appl. Poult. Res**, v. 2, p. 12-18, 1993.

SESTI, L.A.C. Biosseguridade em granjas de reprodutoras. In: MACARI, M.; MENDES, A.A. **Manejo de Matrizes de Corte**. Campinas: FACTA, p. 244- 317, 2005.

SFORCIN, J.M. Propolis and the immune system: a review. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 113, p. 1-14, 2007.

SFORCIN, J.M.; FERNANDES JR, A.; LOPES, C.A.M. *et al.* Seasonal effect on Brazilian propolis antibacterial activity. **Journal of Ethnopharmacology**, v.73, p. 243 - 249, 2000.

SGARBIERI, V.C. **Proteínas em alimentos proteicos: propriedades, degradações, modificações**. São Paulo: Varela, 1996.

SHANAWANY, M.M. Hatching weight in relation to egg weight in domestic birds. **World's Poultry Science Journal**, v.43, p. 107-115, 1987.

SHELDON, B.W. & BRAKE. J. Hydrogen peroxide as an alternative hatching egg disinfectant. **Poult. Sci.**, v. 70, p. 1092-1098, 1991.

SILVA, F. H. A. **Influência dos tempos de aquecimento e armazenamento de ovos férteis de reprodutoras pesadas sobre a eclodibilidade e características de pintos de 1 dia**. 2005. 102f. Dissertação (Mestrado em Qualidade e Produção Animal), Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2005.

SILVA, M.E.B. **Análise comparativa da eclosão de ovos em incubadoras de estágio único versus estágio múltiplo da avícola Pato Branco**. 2015. 22 f. Monografia (Trabalho de conclusão do Curso de Agronomia) - Departamento Acadêmico de Ciências Agrárias - Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Pato Branco, 2015.

SILVESTRI, J.D.F.; PAROUL, N.; CZYEWski, E. *et al.* Perfil da composição química e atividades antibacteriana e antioxidante do óleo essencial do cravo-da-índia (*Eugenia caryophyllata Thunb.*). **Rev. Ceres**, Viçosa, v. 57, n. 5, p. 589-594, 2010.

SIMÕES, C.C.; ARAÚJO, D.B.; ARAÚJO, R.P.C. Estudo in vitro e ex vivo da ação de diferentes concentrações de extratos de própolis frente aos microrganismos presentes na saliva de humanos. **Rev Bras Farmacogn**, v. 18, p. 84-89, 2008.

SIMÕES, C.M.O. & SPITZER, V. Óleos voláteis. In: SIMÕES, C. M. *et al.* **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 5. ed. Porto Alegre/Florianópolis: UFRGS/UFSC, cap. 18, p.467-495, 2003.

SIMÕES, C.M.O. & SPITZER, V. Óleos voláteis. In: SIMÕES, C. M. O. *et al.* **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 2. ed. Porto Alegre: UFRGS/UFSC, 2000. p. 394-412.

SIMÕES, C.T. **Incubação artificial: aspectos qualitativos e quantitativos a serem considerados na produção comercial de pintos**. 2015. Monografia (Trabalho de conclusão do curso de Medicina Veterinária) - Faculdade de Veterinária - Universidade Federal do Rio Grande Do Sul, Porto Alegre, 2015.

SONCINI, R.A. & BITTENCOURT, F.L. Contaminação dos ovos após a postura. In: MACARI, M.; GONZALES, E. **Manejo da Incubação**. 2.ed. Campinas: FACTA, 2003. p.442-445.

SOUSA, G.T.; LIRA, F.S.; ROSA J.C. *et al.* Dietary whey protein lessens several risk factors for metabolic diseases: a review. **Lipids in Health and Disease**, v.11, n. 67, 2012.

SPADOTI, L. M.; MORENO, I.; ALVES, A.T.S. *et al.* Peptídeos bioativos obtidos de proteínas do soro de queijo: potenciais ingredientes de alimentos promotores de saúde. **Indústria de Laticínios**, São Paulo, n. 15, p. 80-83, 2011.

STRADIOTTI, D.; QUEIROZ, A.C.; LANA, R.P. Ação da própolis sobre a desanimação de aminoácidos e a fermentação ruminal. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 33, n. 4, p. 1086- 1092, 2004.

SUAREZ, M.E.; WILSON, H.R.; MATHER, F.B. *et al.* Effect of strain and age of the broiler breeder female on incubation time and chick weight. **Poultry Science**, v. 76, p. 1029-1036, 1997.

TANURE, C.B.G.S. **Idade da matriz e período de armazenamento de ovos incubáveis no rendimento de incubação e desempenho inicial de poedeiras comerciais**. 2008. 64 f. Dissertação (Mestrado em Produção Animal) - Escola de Veterinária - Universidade Estadual de Goiás, 2008.

TAYLOR, G. High-yield breeds require special incubation. **World Poultry**, v. 3, n. 15, p. 27-29, 1999.

TEIXEIRA, B.B.; TEIXEIRA, R.B.; SILVA, L.P. *et al.* Estimação dos componentes de variância para as características de produção e de qualidade de ovos em matrizes de codorna de corte. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 42, n. 4, p. 713-717, 2012.

TONA, K.; BAMELIS, F.; COUCKE, W. *et al.* Relationship between broiler breeder's age and egg weight loss and embryonic mortality during incubation in large-scale conditions. **Journal of Applied Poultry Research**, v. 10, p. 221-227, 2001.

TURBLIN, V. Disinfection of hatching eggs importance and practical aspects. **CEVA Animal Health Asia**. N. 21, 2008. Disponível em: <http://www.thepoultrysite.com/focus/contents/ceva/OnlineBulletins/ob_2008/Article-No21-Nov08.pdf>. Acesso em: 03/12/2017.

TURBLIN, V. Good quality chicks from disinfected eggs. **World Poult.**, v. 27, p.1-3, 2011.

VALENCIA, D.; ALDAY, E.; ROBLES-ZEPEDA, R. *et al.* Seasonal effect on chemical composition and biological activities of Sonoran propolis. **Food Chemistry**, v. 131, n. 2, p.645-651, 2012.

VALENTIM, J.K.; BITTENCOURT, T.M.; RODRIGUES, R.F.M. *et al.* Utilização de probióticos para aves tipo caipira. **Revista Eletrônica Nutritime**, v. 14, n. 6, 2017.

VAN DER POL, C.W.; VAN ROOVERT-REIJRINK, I.I.; MAATJENS, C. M. *et al.* Effect of relative humidity during incubation at a set eggshell temperature and brooding temperature post hatch on embryonic mortality and chick quality. **Poultry Science**, v.92, p.2145-2155, 2013.

VARGAS, A.C.; LOGUERCIO, A.P.; WITT, N.M. *et al.* Atividade antimicrobiana “in vitro” de extrato alcoólico de própolis. **Ciência Rural**, v. 34, p. 159-163, 2004.

VICK, S.V.; BRAKE, J.; WALS, T.J. Relationship of incubation humidity and flock age to hatchability of broiler hatching eggs. **Poultry Science**, v. 72, p. 251-258, 1993.

VIEIRA, S.L., MORAN JR., E.T. Broiler chicks hatched from egg weight extremes and diverse breeder strains. **Journal of Applied Poultry Research**, Champaign, v.7, p. 392-402, 1998.

VILELA, C.O.; VARGAS, G.D.; FISCHER, G. *et al.* Propolis: a natural product as an alternative for disinfection of embryonated eggs for incubation. **Arq. Inst. Biol.**, São Paulo, v. 79, n. 2, p. 161-167, 2012.

VILELA, D.R. **Qualidade interna e externa de ovos de poedeiras comerciais com casca normal e vítrea**. 2012. 55f. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) – Faculdade de Medicina Veterinária - Universidade Federal de Uberlândia, Minas Gerais, 2012.

WALL, H.; TAUSON, R.; SORGJERD, S. Bacterial contamination of eggshells in furnished and conventional cages. **J. Appl. Poult. Res.**, v. 17, p. 11-16, 2008.

WHISTLER, P.E. & SHELDON, B.W. Biocidal activity of ozone versus formaldehyde against poultry pathogens inoculated in a prototype setter. **Poult. Sci.**, v 68, p. 1068-1073, 1989b.

WILLIAMS, J.E. Effect of high-level formaldehyde fumigation on bacterial populations on the surface of chicken hatching eggs. **Avian Diseases**, Kennett Square, Pa., v.14, n.2, p.386-391, 1970.

WILSON, H.R. Physiological requirements of the developing embryo: temperature and turning. In: TULLET, S.G. **Avian Incubation**. Butterworths, London, 1991. p.145-156.

WILSON, J.L. Factors Affecting Chick Quality. **The Poultry Informed Professional**, v.58, p.1-7, 2002.

WOLFFENBÜTTEL, A.N. **Base da química dos óleos essenciais e aromaterapia: Abordagem técnica e científica**. São Paulo: Roca, 2011. 312 p.

WOLFFENBUTTEL, A.N. **Óleos essenciais**. Informativo CRQ-V, Porto Alegre, ano 11, n. 105, p. 6-7, 2007. Disponível em: <http://www.oleoessencial.com.br/artigo_Adriana.pdf>. Acesso em: 10/01/2018.

YANNAKOPOULOS, A.L. & TSERVENI-GOUSHI, A.S. Research note: effect of breeder quail age and egg weight on chick weight. **Poultry Science**, v.66, p. 1558-1560, 1987.

ZAKARIA, A.H.; MIYAKI, T.; IMAI, K. The effect of aging on the ovarian follicular growth in laying hens. **Poultry Science**, v. 62, p. 670-674, 1983.

ZEWEIL, H.S.; RIZK, R.E.; BEKHET, G.M. *et al.* Comparing the effectiveness of egg disinfectants against bacteria and mitotic indices of developing chick embryos. **The J. of Basic & Appl.Zoo.**, v. 70, p. 1–15, 2015.

ZHANG, L.; YUE, H.Y.; ZHANG, H.J. *et al.* Transport stress in broilers: I. Blood metabolism, glycolytic potential, and meat quality. **Poultry Science**, v.88, p.2033-2041, 2009.

CAPÍTULO 2

SANITIZANTES ALTERNATIVOS AO PARAFORMALDEÍDO NO MANEJO DE OVOS FÉRTEIS PARA INCUBAÇÃO

RESUMO

O objetivo desse estudo foi avaliar a substituição do processo de sanitização de ovos incubáveis com paraformaldeído pela sanitização com extrato etanólico de própolis e/ou óleo essencial de cravo-da-índia, verificando seus efeitos sobre os parâmetros de eficiência da incubação. Foram utilizados 304 ovos frescos para incubação artificial provenientes de matrizes da linhagem CPK, com 40 semanas de idade distribuídos entre os tratamentos de sanitização (álcool de cereais, óleo essencial de cravo-da-índia, extrato etanólico de própolis e paraformaldeído) de maneira aleatória. O delineamento experimental utilizado para as avaliações do rendimento de incubação foi em blocos casualizados, com 4 tratamentos e 4 repetições. Os parâmetros avaliados no experimento foram perda de peso (%), eclosão (%), eclodibilidade (%), fertilidade (%), mortalidade precoce e tardia (%) e rendimento de pintos (%). A perda de peso (%) dos ovos variou de 8,59 a 13,40% ($P < 0,0001$) entre os tratamentos. Essa perda foi menor nos ovos pulverizados com o extrato etanólico de própolis ($8,59 \pm 3,34\%$) quando comparada com as perdas observadas nos tratamentos com álcool de cereais ($13,40 \pm 2,87\%$), óleo essencial de cravo-da-índia ($12,96 \pm 3,33\%$) e paraformaldeído ($13,05 \pm 3,24\%$). A eclodibilidade ($51,39 \pm 5,81$) e a eclosão ($44,74 \pm 6,79$) dos ovos pulverizados com o extrato etanólico da própolis foram afetadas de maneira altamente negativa. As análises feitas nos ovos não eclodidos mostraram que a mortalidade tardia (%) foi maior quando comparada com a mortalidade precoce (%), para os tratamentos álcool de cereais ($12,14 \pm 4,72$; $2,86 \pm 3,30$), óleo essencial de cravo-da-índia ($4,60 \pm 5,95$; $3,03 \pm 3,50$) e extrato etanólico de própolis ($36,63 \pm 6,60$; $11,98 \pm 4,30$). Os ovos pulverizados com álcool de cereais ($68,48 \pm 1,92$ %), óleo essencial de cravo-da-índia ($67,90 \pm 1,87$ %) e paraformaldeído ($67,80 \pm 1,85$ %) apresentaram rendimentos de pintos classificados como “ideal”. Por outro lado, ovos tratados com o extrato etanólico de própolis ($69,25 \pm 1,68$) apresentaram classificação “elevada”. O óleo essencial de cravo-da-índia quando utilizado como sanitizante por pulverização em ovos férteis, permitiu alta taxa de eclodibilidade, podendo ser, uma alternativa ao uso do paraformaldeído, fornecendo uma sanitização natural, segura e não tóxica para os ovos e profissionais envolvidos na sua aplicação.

Palavras-chaves: eclodibilidade, ovos férteis, sanitizantes, viabilidade.

ABSTRACT

The objective of this study was to evaluate the substitution of the sanitization process of fertile eggs with paraformaldehyde by the sanitization with ethanolic extract of propolis and/or clove essential oil, verifying their effects on the efficiency parameters of the incubation. 304 fresh eggs were used for artificial incubation of matrices of the CPK breed, 40 weeks old, randomly distributed among the sanitization treatments (cereal alcohol, clove essential oil, ethanolic propolis extract and paraformaldehyde). The experimental design used for the evaluation of the incubation yield was randomized blocks, with 4 treatments and 4 replications. The parameters evaluated in the experiment were weight loss (%), hatching (%), hatchability (%), fertility (%), early and late mortality (%) and chicks yield (%). The weight loss (%) of the eggs ranged from 8.59 to 13.40% ($P < 0.0001$) among treatments. This loss was lower in the eggs sprayed with the propolis ethanolic extract ($8.59 \pm 3.34\%$) when compared to the losses observed in cereal alcohol treatments ($13.40 \pm 2.87\%$), clove essential oil ($12.96 \pm 3.33\%$) and paraformaldehyde ($13.05 \pm 3.24\%$). The hatchability (51.39 ± 5.81) and hatching (44.74 ± 6.79) of the eggs sprayed with the propolis ethanolic extract were affected in a highly negative manner. The analyzes performed on non-hatched eggs showed that late mortality (%) was higher when compared to early mortality (%), for cereal alcohol treatments (12.14 ± 4.72 , 2.86 ± 3.30), clove essential oil (4.60 ± 5.95 , 3.03 ± 3.50) and ethanolic propolis extract (36.63 ± 6.60 , 11.98 ± 4.30). The eggs sprayed with cereal alcohol ($68.48 \pm 1.92\%$), clove essential oil ($67.90 \pm 1.87\%$) and paraformaldehyde ($67.80 \pm 1.85\%$) presented yields of chickens classified as "ideal". On the other hand, eggs treated with the propolis ethanolic extract (69.25 ± 1.68) presented a "high" classification. Clove essential oil when used as a sanitizer by spraying on fertile eggs allowed high hatchability rates, and may be an alternative to the use of paraformaldehyde, providing a safe, non-toxic natural sanitization for the eggs and professionals involved in your application.

Keywords: fertile eggs, hatchability, sanitizers, viability.

1. INTRODUÇÃO

A sanitização dos ovos para incubação é uma etapa essencial para garantir a produção de frangos de corte de alta qualidade. Sabe-se que a contaminação excessiva desses ovos pode levar à diminuição da capacidade de incubação, qualidade, crescimento e desempenho de pintinhos (SCOTT *et al.*, 1993). Em vista disso, o uso de um sanitizante eficaz na superfície da casca dos ovos é importante para reduzir o potencial de contaminação externa e interna. Contudo, a aplicação inadequada do sanitizante dará oportunidade aos microrganismos para penetrar nos ovos através dos poros da casca e, assim, atingir o embrião, acarretando problemas para o mesmo e, conseqüentemente, redução da eficiência de incubação (FARIA *et al.*, 2014).

A sanitização convencional de ovos para incubação é realizada principalmente pela fumigação do paraformaldeído (KUSSTATSCHER *et al.*, 2017). Essa técnica garante alta eficiência na redução de microrganismos potencialmente patogênicos (RUI *et al.*, 2011), porém utiliza produto comprovadamente envolvido na ocorrência de efeitos adversos sobre os embriões e efeitos prejudiciais à saúde dos profissionais das granjas e incubatórios (WALKER & SANDER, 2004; ZEWEIL *et al.*, 2015; KUSSTATSCHER *et al.*, 2017). Assim, há necessidade de produtos alternativos capazes de promover a sanitização em níveis adequados sem prejudicar a eficiência de incubação e que sejam inócuos ao embrião e aos profissionais envolvidos no processo de sanitização.

Dentre os candidatos a sanitizante, a própolis, uma substância resinosa produto de exsudatos vegetais colhidos por abelhas (CORRÊA, 2017), é bastante promissora, pois em virtude da presença de flavonoides e compostos fenólicos em sua composição (AFROUZAN *et al.*, 2018), possui reconhecida atividade antimicrobiana (TIVERON, 2015; FUJIMOTO, 2016), além de apresentar comportamento lipofílico, consistência dura e quebradiça (MENDÉZ, 2017) e baixa toxicidade inata (PINTO, 2011).

Outros candidatos alternativos ao paraformaldeído são os óleos essenciais. Esses compostos compreendem substâncias voláteis e lipofílicas produzidas pelas plantas e têm ação contra microrganismos patogênicos (MORAIS, 2009). De acordo com PUSKAROVA *et al.* (2017), o óleo essencial de cravo-da-índia possui forte efeito antimicrobiano e é caracterizado por alta volatilidade e pela presença de eugenol, β -

cariofileno e acetato de eugenila, entre seus constituintes. O eugenol, por sua vez, é a substância majoritária na composição de óleo essencial de cravo-da-índia e é responsável pela maior parte dos efeitos farmacológicos do óleo essencial de cravo-da-índia (PIERRE, 2009), além de apresentar baixa toxicidade (LINARD, 2008).

Os sanitizantes naturais, normalmente, precisam ser diluídos em veículos carreadores como, por exemplo, o álcool de cereais. Esse é um tipo de álcool etílico hidratado, extraído de cereais como milho, arroz, sorgo e trigo, produzido pelo processo dry-milling (hidrólise enzimática do amido de cereais) e, por utilizar enzimas e leveduras, é um processo totalmente natural, sendo largamente utilizado em indústrias de bebidas, indústrias alimentícias, indústrias farmacêuticas e indústrias de perfumaria e cosméticos (ROSA & GARCIA, 2009).

Os incubatórios comerciais ainda utilizam produtos com elevado poder carcinogênico e alta insalubridade (RUI *et al.*, 2011). Dessa forma, métodos alternativos e eficientes de sanitização de ovos para incubação precisam ser avaliados, objetivando tornar esse processo mais sustentável do ponto de vista ambiental e menos nocivo aos embriões das aves e à saúde dos profissionais. Diante do exposto, o objetivo desse estudo foi avaliar a substituição do processo de sanitização de ovos incubáveis com paraformaldeído pela sanitização com extrato etanólico de própolis e/ou óleo essencial de cravo-da-índia, verificando seus efeitos sobre os parâmetros de eficiência da incubação.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Local

O experimento foi desenvolvido no Laboratório de Ciências Avícolas (Unidade de Ensino e Produção – UEP Avicultura) do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Brasília – *Campus Planaltina*, localizado na rodovia BF 128 – Km 21, S/N – zona rural Planaltina, Brasília – DF, 15°39'27.8"S 47°41'41.3"W (Sistema de Coordenadas Geográficas, Latitude/Longitude, Datum WGS84), sob o certificado de aprovação expedido pelo CEUA – UnB nº 48/2018.

2.2. Material experimental e delineamento estatístico

Foram utilizados 304 ovos frescos para incubação artificial provenientes de matrizes da linhagem CPK, com 40 semanas de idade, oriundas do galpão de matrizes de um incubatório comercial, distribuídos entre os tratamentos de sanitização (álcool de cereais, óleo essencial de cravo-da-índia, extrato etanólico de própolis e paraformaldeído) de maneira aleatória, conforme apresentados na tabela 2.1. Para garantir a homogeneidade das amostras, os tratamentos receberam a mesma quantidade de ovos.

Tabela 2.1. Sanitizantes e suas respectivas concentrações utilizados no estudo.

Tratamentos	Descrição da solução	Concentrações	Forma de aplicação	Número de ovos utilizados
T1	Álcool de cereais	93,5%	Pulverização	76
T2	Óleo essencial de cravo-da-índia	0,6mg/ml	Pulverização	76
T3	Extrato etanólico de própolis	15%	Pulverização	76
T4	Paraformaldeído	6g/m ³	Fumigação	76

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado, com 4 tratamentos e 4 repetições por tratamento. Cada tratamento foi alocado em uma incubadora. Para as variáveis do rendimento da incubação (perda de peso, eclosão, eclodibilidade, fertilidade e mortalidade precoce e tardia), as repetições foram formadas por um pool de 19 ovos. Para as avaliações do rendimento de pintos e qualidade da casca,

os tratamentos foram analisados com 28 repetições cada, sendo o pinto e ovo considerado a repetição, respectivamente.

2.3. Obtenção e caracterização dos tratamentos

2.3.1. Álcool de cereais

O álcool de cereais utilizado no estudo foi o da marca Cromoline® (a 93,5%,). Nesse experimento, como o álcool de cereais foi utilizado como veículo carreador da própolis e do óleo essencial de cravo-da-índia, objetivou-se testar seu efeito individual na sanitização de ovos férteis.

2.3.2. Óleo essencial de cravo-da-índia (*Syzygium aromaticum*)

O óleo essencial foi obtido a partir de uma amostra comercial de cravo-da-índia, adquirida em mercado local em Planaltina – DF. A extração do óleo essencial foi realizada no Laboratório de Química de Produtos Naturais do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano – *Campus* Rio Verde. O óleo foi extraído conforme método preconizado por ASCENÇÃO & FILHO (2013), pelo método de arraste a vapor usando um sistema extrator Clevenger. Após a extração, o óleo essencial de cravo da índia foi diluído em álcool de cereais na concentração (0,6mg/ml) e teve seu potencial antimicrobiano por SILVESTRI *et al.* (2010), comprovando sua eficiência.

2.3.3. Extrato etanólico de própolis

A própolis foi obtida em um apiário comercial, localizado em Brasília – DF, apresentava coloração marrom clara e textura moldável. Antes do preparo do extrato, realizou-se a limpeza da amostra de própolis retirando-se pedras, abelhas mortas e qualquer outro corpo estranho. Para o preparo do extrato etanólico de própolis utilizou-se um método adaptado de AYGUN *et al.* (2012), o extrato foi preparado com 15% de própolis bruta e 85% de álcool de cereais a 93,5%, sob agitação constante e temperatura ambiente no período de 24 horas para aumentar a obtenção de um extrato mais homogêneo. Após este período, o extrato foi filtrado em filtro de papel da marca Melitta®.

2.3.4. Paraformaldeído

A concentração de 6g/m^3 de paraformaldeído foi utilizada para sanitização. A queima do produto, fumigação e exaustão, totalizaram 20 minutos, em ambiente hermeticamente fechado. A umidade relativa do ar e a temperatura dentro da câmara estava em 70% e 30 °C, respectivamente.

2.4. Procedimentos experimentais

A sanitização dos ovos foi realizada no incubatório comercial, parceiro desta pesquisa, localizado em Planaltina-DF. Antes da sanitização, realizou-se a higienização das mãos e da bancada utilizada, com álcool 70%. Os ovos dos tratamentos T1 (álcool de cereais), T2 (óleo essencial de cravo-da-índia) e T3 (extrato etanólico de própolis) foram alocados em suportes de tela de metal para a pulverização, enquanto, ovos pertencentes ao tratamento T4 (paraformaldeído) foram submetidos ao procedimento de fumigação do paraformaldeído. O período estimado entre a coleta dos ovos e a sanitização foi de 20 minutos.

A pulverização dos tratamentos T1, T2 e T3 foram realizados de maneira homogênea por toda a superfície dos ovos utilizando borrifadores manuais (Figura 2.1). Após a pulverização, os ovos permaneceram nos suportes para a secagem em temperatura ambiente por um período de 30 minutos. A fumigação, à base de paraformaldeído (T4), consistiu na exposição dos ovos, durante a sublimação do paraformaldeído.



Figura 2.1. Pulverização dos sanitizantes nos ovos no incubatório. Fonte: Arquivo pessoal.

2.5. Incubação

Antes da incubação, as incubadoras da marca Premium Ecológica® (Figura 2.2) passaram por um processo de higienização, na qual foram lavadas com água e sabão e, posteriormente, desinfetadas com lysoform® (0,02%), a 37,7°C por 4 horas, conforme recomendação do fabricante.



Figura 2.2. Incubadora da marca Premium Ecológica® utilizada no experimento. Fonte: Arquivo pessoal.

Na sala de incubação, todos os ovos foram separados, identificados e pesados individualmente em balança de precisão para a avaliação da perda de peso ao longo da incubação (Figura 2.3). Em seguida, foram transferidos para as incubadoras, uma para cada tratamento. Todas as incubadoras foram reguladas para manter a temperatura entre 37,7°C e 37,9°C e umidade relativa de 55 a 60%.

A viragem dos ovos foi programada para acontecer a cada duas horas, durante 10 segundos, até o 18^a dia de incubação. O monitoramento das máquinas foi realizado diariamente (manhã, tarde e noite) para acompanhar a temperatura e umidade no processo de incubação e, quando necessário, reabastecer os reservatórios de água de cada máquina.



Figura 2.3. Pesagem individual dos ovos durante o processo de incubação. Fonte: Arquivo pessoal.

A fim de garantir o correto funcionamento das incubadoras, a temperatura e a umidade relativa, na sala de incubação, foram monitoradas por um data logger (AK174, Akso®, São Leopoldo, RS, Brasil; Figura 2.4). Durante o experimento a temperatura e a umidade relativa da sala estavam 25 °C e 55%, respectivamente.



Figura 2.4. Data logger utilizado para registro da temperatura e umidade da sala de incubação. Fonte: Akso, 2018.

No 14º e 19º dia, realizou-se a ovoscopia de todos os ovos individualmente, com a utilização de um ovoscópio, para identificação e descarte de ovos inférteis e com mortalidade embrionária (Figura 2.5). Nesse mesmo período, foram realizadas também as pesagens de todos os ovos individualmente para obtenção do percentual de perda de peso para cada período. A partir do 19º dia, as incubadoras foram adaptadas para o período de nascimento. A máquina foi regulada para manter a temperatura em 36,6 °C e a umidade relativa foi mantida em torno de 65%. Nesse período, os ovos foram observados individualmente e registrado o número de aves nascidas (Figura 2.6), o respectivo peso (Figura 2.7).



Figura 2.5. Exemplo de ovo infértil removido durante a ovoscopia. Fonte: Arquivo pessoal.



Figura 2.6. Período de nascimento das aves durante o processo de incubação. Fonte: Arquivo pessoal.



Figura 2.7. Pesagem das aves ao nascer. Fonte: Arquivo pessoal.

Durante e ao final da incubação, foi realizado o procedimento de embriodiagnóstico para avaliação do período da morte dos embriões. A mortalidade embrionária foi classificada em precoce (1 a 13 dias) e tardia (14 a 21 dias). A classificação da mortalidade embrionária foi feita visualmente, a partir da quebra dos ovos a serem analisados.

2.6. Parâmetros avaliados

Foram calculados os percentuais de (1) perda de peso (%), (2) eclosão (%), (3) eclodibilidade (%), (4) fertilidade (%), (5) mortalidade precoce (%), (6) mortalidade

tardia (%) e o (7) rendimento de pintos (%), conforme o GUIA DE MANEJO DE INCUBAÇÃO COBB® (2008) e a AVIAGEN (2011), utilizando as seguintes fórmulas:

$$1) \text{ Perda de peso (\%)} = \frac{\text{Peso dos ovos incubados} - \text{Peso dos ovos na transferência}}{\text{Peso dos ovos incubados}} \times 100$$

$$2) \text{ Eclosão (\%)} = \frac{\text{Número de pintos nascidos}}{\text{Total de ovos incubados}} \times 100$$

$$3) \text{ Eclodibilidade (\%)} = \frac{\text{Número de pintos nascidos}}{\text{Total de ovos férteis}} \times 100$$

$$4) \text{ Fertilidade (\%)} = \frac{\text{Total de ovos férteis}}{\text{Total de ovos incubados}} \times 100$$

$$5) \text{ Mortalidade precoce (\%)} = \frac{\text{Número de pintos mortos entre 0 e 13 dias}}{\text{Total de ovos férteis}} \times 100$$

$$6) \text{ Mortalidade tardia (\%)} = \frac{\text{Número de pintos mortos entre 14 e 21 dias}}{\text{Total de ovos férteis}} \times 100$$

$$7) \text{ Rendimento de pintos (\%)} = \frac{\text{Peso inicial dos pintos}}{\text{Peso inicial dos ovos}} \times 100$$

2.7. Parâmetros de qualidade da casca

2.7.1. Espessura da casca

Após o término da incubação, a espessura da casca de cada ovo foi mensurada sem a remoção de suas membranas internas. Foram obtidas médias, a partir de três pontos distintos na região equatorial da casca, com auxílio de um paquímetro digital com 0,001mm de precisão (Figura 2.8).



Figura 2.8. Mensuração da espessura da casca do ovo. Fonte: Arquivo pessoal.

2.8. Análise estatística

Os dados foram submetidos à análise de variância (PROC GLM) com auxílio do programa estatístico SAS Studio® (University Edition) com posterior comparação das médias pelo teste de Tukey, em nível de significância de 5%.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Não houve diferença significativa ($P>0,05$) para o peso inicial dos ovos entre os tratamentos, média de $59,98\pm 4,78$. Esse resultado assegura o cuidado inicial na homogeneização dos tratamentos em função do peso médio dos ovos, permitindo inferir que possíveis variações no peso dos ovos, durante o período de incubação, deveram-se aos efeitos de cada tratamento.

Verificou-se diferença significativa entre os tratamentos para a perda de peso (%) dos ovos ($P<0,0001$; Figura 2.9). A perda de peso (%) dos ovos variou de 8,59 a 13,40%. Essa perda foi menor nos ovos pulverizados com o extrato etanólico da própolis ($8,59\pm 3,34\%$) quando comparada com as perdas observadas nos tratamentos com álcool de cereais ($13,40\pm 2,87\%$), óleo essencial de cravo-da-índia ($12,96\pm 3,33\%$) e paraformaldeído ($13,05\pm 3,2\%$). Corroborando com esses resultados, AYGUN *et al.* (2012) avaliando a incubação de ovos de codornas japonesas, observaram baixa perda de peso dos ovos pulverizados com solução de própolis a 5 (9,73%), 10 (9,28%) e 15% (9,21%). Os autores observaram que a própolis ocluiu os poros da casca, reduzindo a perda de umidade dos ovos durante a incubação.

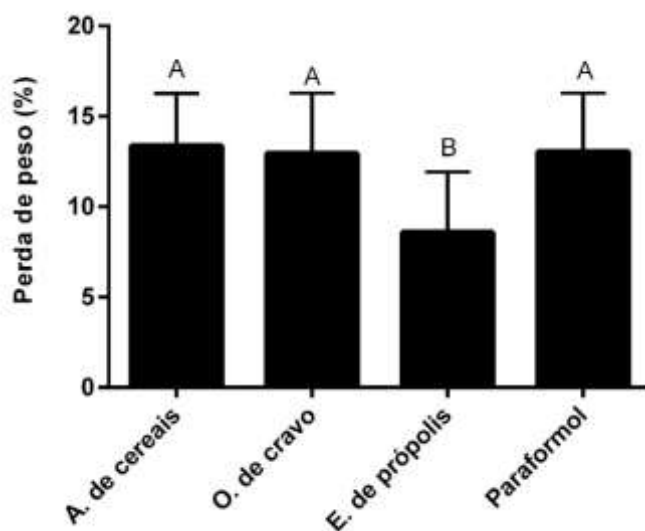


Figura 2.9. Médias de perda de peso (%) dos ovos incubados para os tratamentos álcool de cereais (A. de cereais), óleo essencial de cravo-da-índia (O. de cravo), extrato etanólico de própolis (E. de própolis) e paraformaldeído (Paraformol). Letras maiúsculas distintas diferem estatisticamente ($P<0,05$).

A perda de peso dos ovos, durante a incubação, é determinada pela difusão da água através da casca (TONA *et al.*, 2001). Estudos citam que o percentual ideal de perda de peso para bons resultados de eclosão está entre 10 e 15% (ROSA & ÁVILA, 2000; SCHMIDT *et al.*, 2002; GONZÁLES, 2009; MOLENAAR *et al.*, 2010). Nesse experimento, como a incubação de todos os ovos foi realizada em condições semelhantes de temperatura e umidade, a baixa perda de peso dos ovos pulverizados com extrato etanólico de própolis pode ser explicada pelo fato desse sanitizante criar um “revestimento” na casca do ovo, minimizando a perda de água através dos poros da casca.

Houve diferença significativa para a taxa fertilidade (%) dos ovos estudados ($P < 0,05$; Figura 2.10). Contudo, a fertilidade média para este estudo foi 91,44%, sendo considerada ideal para a idade das matrizes (40 semanas de idade), segundo o GUIA DE MANEJO DE INCUBAÇÃO COBB® (2008).

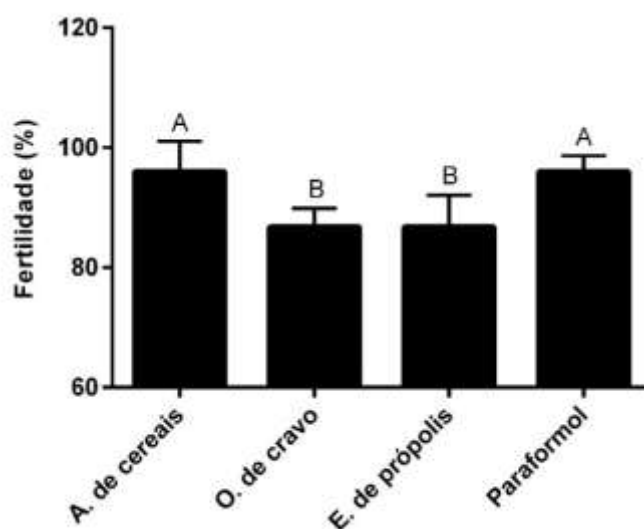


Figura 2.10. Fertilidade (%) dos ovos para os tratamentos álcool de cereais (A. decereais), óleo essencial de cravo-da-índia (O. de cravo), extrato etanólico de própolis (E.de própolis) e paraformaldeído (Paraformol).

Letras maiúsculas distintas diferem estatisticamente ($P < 0,05$).

Constatou-se diferença significativa entre os tratamentos para as variáveis eclosão ($P < 0,0001$; Figura 2.11) e eclodibilidade ($P < 0,0001$; Figura 2.12). Comparando-se a eclodibilidade (%) dos ovos pulverizados com álcool de cereais ($85,00 \pm 2,20$), óleo essencial de cravo-da-índia ($92,37 \pm 3,25$) e extrato etanólico de própolis ($51,39 \pm 5,81$) com ovos tratados com paraformaldeído ($94,44 \pm 4,54$), observou-se que os ovos tratados com o óleo essencial de cravo-da-índia apresentaram resultados tão eficientes quanto ao paraformaldeído. Esse resultado é corroborado com YILDIRIM *et al.* (2003), ULUCAY & YILDIRIM (2010), COPUR *et al.* (2010) e ZEWEIL *et al.* (2015) que, por sua vez, utilizaram óleos essenciais na sanitização de ovos para incubação e observaram não haver efeito negativo sobre a eclodibilidade dos ovos.

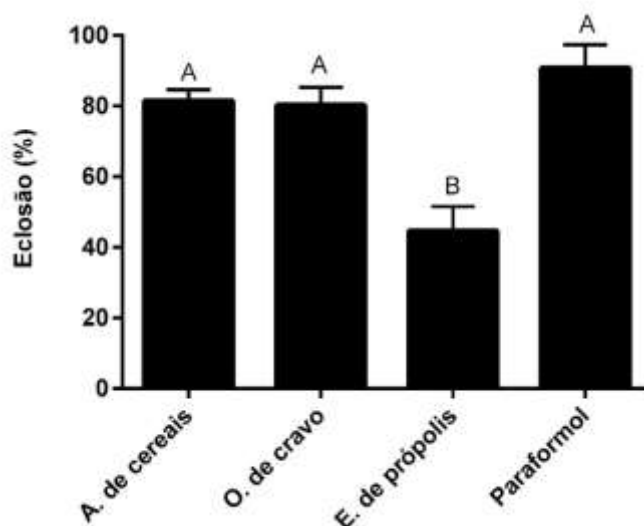


Figura 2.11. Eclosão (%) dos ovos para os tratamentos álcool de cereais (A. de cereais), óleo essencial de cravo-da-índia (O. de cravo), extrato etanólico de própolis (E. de própolis) e paraformaldeído (Paraformol).

Letras maiúsculas distintas diferem estatisticamente ($P < 0,05$).

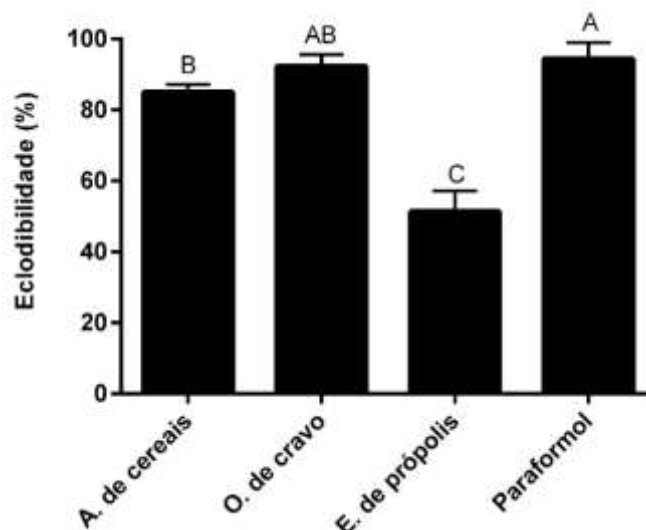


Figura 2.12. Eclodibilidade (%) dos ovos para os tratamentos álcool de cereais (A. de cereais), óleo essencial de cravo-da-índia (O. de cravo), extrato etanólico de própolis (E. de própolis) e paraformaldeído (Paraformol).

Letras maiúsculas distintas diferem estatisticamente ($P < 0,05$).

A eclodibilidade ($51,39 \pm 5,81$) e a eclosão ($44,74 \pm 6,79$) dos ovos pulverizados com o extrato etanólico da própolis foram afetadas negativamente. Esse resultado difere daqueles obtidos por AYGUN *et al.* (2012) e VILELA *et al.* (2012), que relataram que a própolis não prejudicou a eclodibilidade dos ovos. Contudo, sabe-se que a eclodibilidade está diretamente relacionada com a mortalidade embrionária. Nesse sentido, o baixo índice de eclodibilidade dos ovos tratados com o extrato etanólico de própolis, observado neste estudo, deve ter sido, provavelmente, à baixa perda de água durante a incubação dos ovos, fator que resultou na super-hidratação dos embriões e trocas gasosas deficientes e, conseqüente, mortalidade embrionária (RIBEIRO *et al.*, 2008).

As análises feitas nos ovos não eclodidos mostraram que a mortalidade tardia (%) (Figura 2.13) foi maior quando comparada com a mortalidade precoce (%) (Figura 2.14), para os tratamentos álcool de cereais ($12,14 \pm 4,72$; $2,86 \pm 3,30$), óleo essencial de cravo-da-índia ($4,60 \pm 5,95$; $3,03 \pm 3,50$) e extrato etanólico de própolis ($36,63 \pm 6,60$; $11,98 \pm 4,30$). Esse período é caracterizado pela virada do embrião para a câmara de ar para ventilar seus pulmões, redirecionar a circulação do sangue e retrair o saco vitelino para, enfim, eclodir (GUIA DE MANEJO DE INCUBAÇÃO COBB®, 2008). Nesse contexto, RONDÓN &

MURAKAMI (1998) descreveram que a vulnerabilidade do embrião nos últimos dias de incubação deve-se ao fato dos distúrbios nos mecanismos fisiológicos do embrião relacionados com a troca de gases.

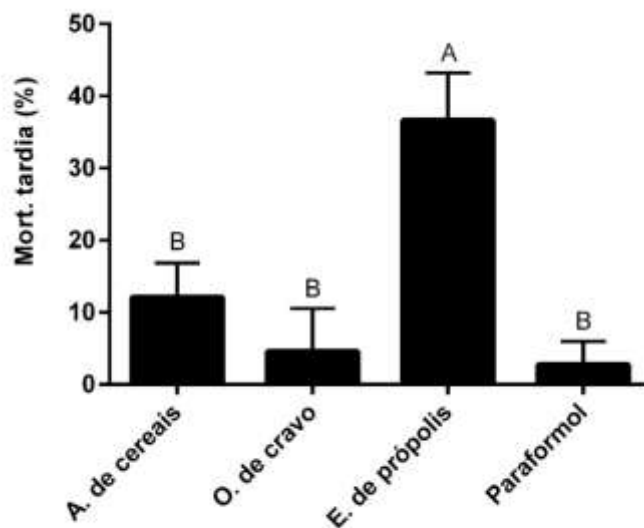


Figura 2.13. Mortalidade tardia (%) para os tratamentos álcool de cereais (A. de cereais), óleo essencial de cravo-da-índia (O. de cravo), extrato etanólico de própolis (E. de própolis) e paraformaldeído (Paraformol).

Letras maiúsculas distintas diferem estatisticamente ($P < 0,05$).

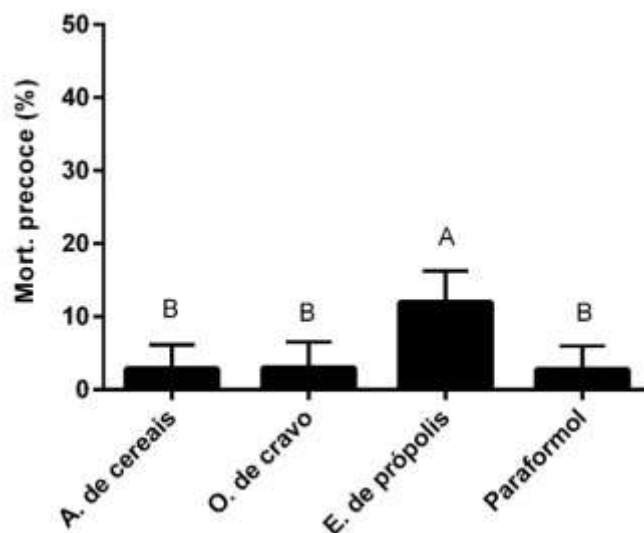


Figura 2.14. Mortalidade precoce (%) para os tratamentos álcool de cereais (A. de cereais), óleo essencial de cravo-da-índia (O. de cravo), extrato etanólico de própolis (E. de própolis) e paraformaldeído (Paraformol).

Letras maiúsculas distintas diferem estatisticamente ($P < 0,05$).

Não se notou diferença ($P > 0,05$) entre as médias dos tratamentos para as variáveis peso inicial dos ovos (g) e peso inicial dos pintos (g). No entanto, para a variável rendimento de pintos (%) foi detectada diferença ($P < 0,0001$; Figura 2.15) entre os tratamentos. Segundo a AVIAGEN (2011), o rendimento ideal de pintos (entre 67% e 69%) indica tempo e parâmetros de incubação corretos, além de pintos de melhor qualidade e desempenho (MABBETT, 2012).

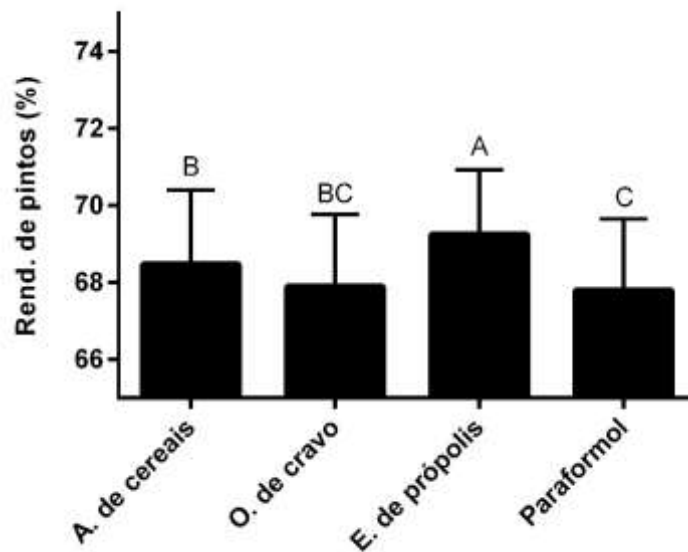


Figura 2.15. Rendimento de pintos (%) para os tratamentos álcool de cereais (A. de cereais), óleo essencial de cravo-da-índia (O. de cravo), extrato etanólico de própolis (E. de própolis) e paraformaldeído (Paraformol).

Letras maiúsculas distintas diferem estatisticamente ($P < 0,05$).

Neste estudo, ovos pulverizados com álcool de cereais ($68,48 \pm 1,92$ %), óleo essencial de cravo-da-índia ($67,90 \pm 1,87$ %) e paraformaldeído ($67,80 \pm 1,85$ %) apresentaram rendimentos de pintos classificados como “ideal”. Por outro lado, ovos tratados com o extrato etanólico de própolis ($69,25 \pm 1,68$) apresentaram classificação “elevada”, ou seja, os pintos com rendimento superior, quando alojados na granja, apresentarão comportamento lento, excesso de peso, serão menos barulhentos e não estarão prontos para se alimentar e beber água (AVIAGEN, 2011).

Os ovos analisados foram provenientes de poedeiras de mesma linhagem, idade e expostos a condições similares de incubação. Esses cuidados foram cruciais para minimizar possíveis variações que pudessem comprometer o desenvolvimento deste estudo. Descartando-se tais variações, o resultado obtido para os ovos tratados com própolis pode ser explicado em razão da retenção da umidade interna, motivo que acarretou o nascimento de pintos pegajosos. Portanto, não se recomenda o uso do extrato etanólico de própolis na sanitização de ovos férteis.

Não se observou diferença significativa ($P>0,05$) entre os tratamentos para a espessura da casca. A espessura média da casca dos ovos foi de $0,37\pm 0,029$ mm. Esse resultado, é considerado adequado para matrizes com 40 semanas de idade (ZITA *et al.*, 2009) e indica boa qualidade da casca dos ovos, pois segundo a literatura, ovos com cascas mais espessas, possuem menos chance de penetração bacteriana, propõe melhor utilização dos nutrientes contidos no ovo pelo embrião, oferece melhor proteção contra danos mecânicos e conseqüentemente, qualidade para que o embrião possa se desenvolver normalmente (NARUSHIN & ROMANOV, 2002; GUNTZEL, 2015).

Segundo NARUSHIN & ROMANOV (2002) a espessura da casca do ovo determina as trocas gasosas e perda de peso durante o período de incubação. SCHMIDT *et al.* (2003) observaram que a espessura da casca inferior a 0,27mm dificilmente mantém o embrião vivo no período de incubação, e que a espessura entre 0,33 a 0,35mm obteve melhor resultado. GUNTZEL (2015) descreveu que quanto mais finas forem as cascas, mais suscetíveis estarão a contaminações externas, devido à penetração bacteriana através da superfície do ovo.

4. CONCLUSÕES

O óleo essencial de cravo-da-índia quando utilizado como sanitizante, por pulverização em ovos férteis, permitiu alta taxa de eclodibilidade, podendo ser, uma alternativa ao uso do paraformaldeído, fornecendo uma sanitização natural, segura e não tóxica para os ovos e profissionais envolvidos na sua aplicação. No entanto, sugere-se que mais estudos sejam realizados para confirmar sua eficiência. Por outro lado, não se recomenda a utilização do extrato etanólico de própolis a 15% na sanitização de ovos incubáveis.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AFROUZAN, H.; TAHHIGHI, A.; ZAKERI, S. *et al.* Chemical Composition and Antimicrobial Activities of Iranian Propolis. **Iranian Biomedical Journal**, v. 22 n. 1, p. 50-65, 2018.

ASCENÇÃO, V.L. & FILHO, E.M.F. Extração, caracterização química e atividade antifúngica de óleo essencial *Syzygium aromaticum* (cravo-da-índia). **Cad. Pesq.**, São Luís, v. 20, p. 137-144, 2013.

AVIAGEN. **How to measure chick yield.** 2011. Disponível em: <http://en.aviagen.com/assets/Tech_Center/BB_Resources_Tools/Hatchery_How_Tos/02HowTo2MeasureChickYield.pdf>. Acesso em: 05/03/2018.

AYGUN, A.; SERT, D.; COPUR, G. Effects of propolis on eggshell microbial activity, hatchability, and chick performance in Japanese quail (*Coturnix coturnix japonica*) eggs. **Poultry Science**, v. 91, n. 4, p. 1018–1025, 2012.

COBB - VANTRESS BRASIL. **Guia de manejo de incubação.** 2008. Disponível em: <https://wp.ufpel.edu.br/avicultura/files/2012/04/Guia_incuba%C3%A7%C3%A3o_Cobb.pdf>. Acesso em: 03/02/2018.

COPUR, G.; ARSLAN, M.; DURU, M. *et al.* Use of oregano (*Origanum onites* L.) essential oil as hatching egg disinfectant. **African Journal of Biotechnology**, v. 8, n.17, p. 2531-2538, 2010.

CORREA, F.T. **Ação antimicrobiana da própolis verde em microrganismos isolados e identificados na superfície de queijo tipo gorgonzola.** 2017. 58 p. Tese (Doutorado em Ciência dos Alimentos) -Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2017.

FARIA, F.A.; FILHO, G.M.O.; NEVES, J. *et al.* Incubatorios - controle de qualidade. **Revista Faculdade Montes Belos**, v. 7, n. 1, p. 88 - 113, 2014.

FUJIMOTO, G. **Própolis verde: caracterização, potencial de atividade antimicrobiana e efeitos sobre biofilmes de *Enterococcus spp.*** 2016. 121p. Tese (Doutorado em Tecnologia de Alimentos) Faculdade de Engenharia de Alimentos - Universidade Estadual de Campinas, 2016.

GONSALVES, C.C. **Manejo e sanidade de matrizes de frangos de corte em produção e sistema produtor de ovos.** 2011. 84 f. Monografia (Graduação em Medicina Veterinária) - Faculdade de Ciências Biológicas - Universidade Tuiuti do Paraná, Curitiba, 2011.

GONZALES, E.; CALIL, T.; JASKULSKI, R. W. Qualidade da casca do ovo e produtividade do incubatório. In: IX Simpósio Goiano de Avicultura, Goiânia, 2009. **Anais eletrônicos...** [CD-ROM] Goiânia: AGA, p. 1- 18, 2009.

GUNTZEL, R.A. **Gravidade específica em ovos de matrizes pesadas.** 2015. 26 f. Monografia (Graduação em agronomia) - Departamento Acadêmico de Ciências Agrárias - Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Pato Branco, 2015.

KUSSTATSCHER, P.; CERNAVA, T.; LIEBMINGER, S. *et al.* Replacing conventional decontamination of hatching eggs with a natural defense strategy based on antimicrobial, volatile pyrazines. **Scientific Reports**, v. 7, p. 13253, 2017.

LINARD, C.F.B.M. **Estudo do efeito antinociceptivo do Eugenol**. Fortaleza, 2008. 90 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Fisiológicas) - Centro de Ciências da Saúde - Universidade Estadual do Ceará, Fortaleza, 2008.

MABBETT, T. **Tips for successful hatchery management**. 2012. Disponível em: <<http://www.fareasternagriculture.com/live-stock/poultry/tips-for-successful-hatchery-management>>. Acesso em: 02/02/2018.

MCGARY, S.; ESTEVEZ, I.; BAKST, M.R. *et al.* Phenotypic Traits as Reliable Indicators of Fertility in Male Broiler Breeders, **Poultry Science**, v. 81, n. 1, p. 102-111, 2002.

MENDÉZ, L.M.R. **Produção, caracterização e estudo da estabilidade de filmes à base de gelatina e extrato de própolis vermelha enriquecidos com óleos essenciais de manjeriço (*Ocimum basilicum*), cravo (*Syzygium aromaticum*) ou hortelã (*Mentha piperita*)**. 2017. 159f. Tese (Doutorado em Ciências da Engenharia de Alimentos) - Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos - Universidade de São Paulo, 2017.

MOLENAAR, R.; REIJRINK, I.A.M.; MEIJERHOF, R. *et al.* Meeting embryonic requirements of broilers throughout incubation: a review. **Rev. Bras. Cienc. Avic.**, v.12, n.3, p. 137-148, 2010.

MORAIS, L.A.S. Influência dos fatores abióticos na composição química dos óleos essenciais. **Horticultura Brasileira**, v.27, p. 4050-4063, 2009.

NARUSHIN, V.G. & ROMANOV, M.N. Egg physical characteristics and hatchability. **World's Poultry Science Journal**, v.58, n.3, p. 297-303, 2002.

PIERRE, R.O. **Óleo essencial e extrato de cravo-da-índia no controle de Colletotrichum gloeosporioides, agente da mancha manteigosa, em sementes e mudas de café**. 2009. 61 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2009.

PINTO, L.M.A.; PRADO, N.R.T.; CARVALHO, L.B. Propriedades, usos e aplicações da própolis. **Rev. Eletronic. de Farm.**, v. 8, n. 3, p. 76-100, 2011.

PUSKAROVA, A.; BUCKOVA, M.; KRAKOVA, L. *et al.* The antibacterial and antifungal activity of six essential oils and their cyto/genotoxicity to human HEL 12469 cells. **Scientific Reports**, v. 7, n. 1, p. 8211, 2017.

RIBEIRO, T.C.; MOREIRA, P.C.; OLIVEIRA, J.P. *et al.* Influência do peso, à incubação, na eclodibilidade de ovos de avestruz. **Estudos**, v. 35, n. 3, p. 501-516, 2008.

RONDÓN, E.O.O. & MURAKAMI, A. E. Fatores que interferem no desenvolvimento embrionário e seus efeitos nos problemas metabólicos pós-eclosão em frangos de corte. **Acta Scientiarum**, v.20, n. 3, p. 373-382, 1998.

ROSA, P.S. & AVILA, V.S. **Variáveis relacionadas ao rendimento da incubação de ovos em matrizes de frango de corte.** Comunicado Técnico, Embrapa Suínos e Aves, n.246, p. 1-3, 2000.

ROSA, S.E.S. & GARCIA, J.L. O etanol de segunda geração: limites e oportunidades. **Revista do BNDES**, n. 32, p. 117 – 156, 2009.

RUI, B.R.; ANGRIMANI, D.S.R.; CRUZ, L.V. *et al.* Principais métodos de desinfecção e desinfetantes utilizados na avicultura: Revisão de literatura. **Revista científica eletrônica de medicina veterinária**, n. 16, 2011.

SCHMIDT, G.S.; FIGUEIREDO, E.A.P.; ÁVILA, V.S. **Incubação: Característica dos ovos incubados.** Circular técnica 35: Embrapa Suínos e Aves, 2003. 12p. Disponível em:<<https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/124277/1/CIT-35.pdf>>. Acesso em: 28/01/2018.

SCHMIDT, G.S.; FIGUEIREDO, E.A.P.; ÁVILA, V.S. **Incubação: estocagem de ovos férteis.** Comunicado técnico 303: Embrapa Suínos e Aves, 2002. 5p. Disponível em:<<https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/85203/1/DCOT-303.pdf>>. Acesso em: 15/02/2018.

SCOTT, T.A.; SWETNAM, C.; KINSMAN, R. Screening sanitizing agents and methods of application for hatching eggs III. Effect of concentration and exposure time on embryo viability. **J. Appl. Poult. Res.**, v. 2, p. 12-18, 1993.

SILVESTRI, J.D.F.; PAROUL, N.; CZYEWski, E. *et al.* Perfil da composição química e atividades antibacteriana e antioxidante do óleo essencial do cravo-da-índia (*Eugenia caryophyllata* Thunb.). **Rev. Ceres**, Viçosa, v. 57, n. 5, p. 589-594, 2010.

TIVERON, A.P. **Caracterização e identificação de compostos com atividade antioxidante de própolis orgânica brasileira.** 2015. 124 p. Tese (Doutorado em Química na Agricultura e no Ambiente) - Centro de Energia Nuclear na Agricultura - Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2015.

TONA, K.; BAMELIS, F.; COUCKE, W. Relationship between broiler breeder's age and egg weight loss and embryonic mortality during incubation in large-scale conditions. **J. Appl. Poult. Res.**, v. 10, p. 221–227, 2001.

ULUCAY, I, O. & YILDIRIM, I. Hatching Traits of Quail (*Coturnix coturnix japonica*) Eggs Disinfected with Carvacrol, Cinnamaldehyde or Thymol. **Journal of Applied Animal Research**, v. 38, n. 1, p. 139-142, 2010.

VILELA, C.O.; VARGAS, G.D.; FISCHER, G. *et al.* Propolis: a natural product as an alternative for disinfection of embryonated eggs for incubation. **Arq. Inst. Biol.**, São Paulo, v. 79, n. 2, p. 161-167, 2012.

WALKER, S.E. & SANDER, J.E. Effect of BioSentry 904 and ethylenediaminetetraacetic acidtris disinfecting during incubation of chicken eggs on microbial levels and productivity of poultry. **Avian Diseases**, v.48, n. 2, p. 238-243, 2004.

YILDIRIM, I.; OZSAN, M.; YETISIR, R. The Use of Oregano (*Origanum vulgare* L) Essential Oil as Alternative Hatching Egg Disinfectant versus Formaldehyde Fumigation in Quails (*Coturnix coturnix japonica*) Eggs. **Revue Méd. Vét.**, v.5, n. 154, p. 367-370, 2003.

ZEWEIL, H.S.; RIZK, R.E.; BEKHET, G.M. *et al.* Comparing the effectiveness of egg disinfectants against bacteria and mitotic indices of developing chick embryos. **The J. of Basic & Appl.Zoo.**, v. 70, p. 1–15, 2015.

ZITA, L.; TUMOVÁ, E.; STOLC, L. Effects of genotype, age and their interaction on egg quality in brown-egg laying hens. **Acta Veterinaria Brno**, v. 78, p. 85-91, 2009.