

Sanitizantes alternativos ao uso do paraformaldeído para ovos incubáveis: revisão de literatura

Eclodibilidade, ovos férteis, sanitizantes, viabilidade.

Gabriel da Silva Oliveira¹

Vinícius Machado dos Santos^{1*}

¹Graduando do curso Superior Tecnologia em Agroecologia, Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Brasília - campus Planaltina, DF, Brasil.

*E-mail: vinicius.santos@ifb.edu.br.

¹ Professor do curso Superior Tecnologia em Agroecologia, Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Brasília - campus Planaltina, DF, Brasil.

RESUMO

Objetivou-se com essa revisão de literatura compilar informações relevantes sobre alternativas de sanitização de ovos para incubação. A sanitização dos ovos para incubação é 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. 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.

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



Nutri·Time

Revista Eletrônica

Vol. 15, Nº 04, jul./ago. de 2018

ISSN: 1983-9006

www.nutritime.com.br

A Nutritime Revista Eletrônica é uma publicação bimestral da Nutritime Ltda. Com o objetivo de divulgar revisões de literatura, artigos técnicos e científicos bem como resultados de pesquisa nas áreas de Ciência Animal, através do endereço eletrônico: <http://www.nutritime.com.br>. Todo o conteúdo expresso neste artigo é de inteira responsabilidade dos seus autores.

ALTERNATIVE SANITIZERS TO THE USE OF PARAFORMALDEHYDE FOR HATCHING EGGS: LITERATURE REVIEW

ABSTRACT

The objective of this literature review was to compile relevant information on alternatives to sanitization of hatching eggs. The sanitization of hatching eggs is essential to ensure the production of high-quality broiler chickens. It is known that excessive contamination of these eggs may lead to decreased incubation capacity, quality, growth and performance of chicks. In this point of view, the use of an effective sanitizer on the eggshell surface is important to reduce the potential for external and internal contamination.

Keyword: fertile eggs, hatchability, sanitizers, viability.

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 importante 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, 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 artificial 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. Ovos com elevados níveis de contaminação podem resultar em perdas consideráveis na eclodibilidade e baixa qualidade dos pintinhos de um dia, conseqüentemente aumento nos custos de produção. Assim, faz-se necessário 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 a sua elevada toxicidade e o seu efeito carcinogênico. Nos incubatórios, essa substância oferece alto risco aos embriões e à saúde de seus manuseadores (CLÍMACO, 2017; KUSSTATSCHER et al., 2017). 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 (BASTOS, 2010), com atividades: antimicrobiana, anti-inflamatória, antisséptico, anticariogênica, anticarcinogênica e antioxidante (CASTALDO & CAPASSO, 2002; DUARTE et al., 2008; OLDONI et al., 2011; BEZERRA et al., 2012; BUENO-SILVA et al., 2013; VALENCIA et al., 2012; TIVERON, 2015; FUJIMOTO, 2016; AFROUZAN et al., 2018).

Os óleos essenciais são compostos complexos de substâncias voláteis, lipofílicas, odoríferas e líquidas. 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 (PIERRE, 2009). 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 (GOBBO NETO & LOPES, 2007; AFFONSO, 2012; PUSKAROVA et al., 2017).

As proteínas do soro são extraídas da porção aquosa do leite, gerada durante o processo de fabricação do queijo (HARAGUCHI et al., 2006). A β -lactoglobulina e a α -lactoalbumina, a lactoferrina e a lactoperoxidase, são as principais proteínas majoritárias e minoritárias do soro leite, respectivamente. (ALMEIDA et al., 2013). Essas possuem propriedades biológicas importantes, sendo a atividade antimicrobiana uma delas (PELLEGRINI et al., 1999; PELLEGRINI et al., 2001; MADUREIRA et al., 2010; SPADOTI et al., 2011).

Devido à elevada carcinogenicidade e insalubridade da fumigação com paraformaldeído nos incubatórios, pesquisas buscam substâncias alternativas, a fim de substituir as características indesejáveis desse sanitizante, entretanto, mantendo uma eficácia semelhante. Diante do exposto, o objetivo desta revisão bibliográfica foi enfatizar produtos alternativos ao paraformaldeído na sanitização de ovos férteis.

Sanitização de ovos incubáveis

A sanitização de ovos incubáveis se resume em reduzir os microrganismos que estão contidos nos 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). No entanto, existem outros métodos à disposição.

A ineficiência dos métodos de sanitização indubitavelmente acarretará em perdas significativas na eclodibilidade, aumento da mortalidade embrionária, elevada mortalidade dos pintinhos 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.

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 de o formaldeído deter o potencial de eliminar microrganismos, ter custo acessível e o processo de fumigação permitir que a desinfecção seja feita em um grande número de 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 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. Porém, a eclodibilidade dos ovos tratados com formaldeído foi estatisticamente superior. 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.

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.

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 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.

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 a contagem bacteriana de maneira significativa.

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.

Sanitizantes alternativos para sanitização de 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.

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, 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 propri-

edades 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., 2008; 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.

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., 2006).

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 se apresentam 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 seja 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).

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 (JUNIOR, 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 utili-

zado 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 às 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.

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 aminoáci-

dos 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 final 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.

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 pintinhos 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.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

As etapas que envolvem o manejo de ovos incubáveis são de essencial importância para se alcançar ótimos resultados econômicos e produtivos, visto que estes são a matéria-prima que dará origem aos pintinhos de um dia que, futuramente, se tornarão um alimento que chegará à mesa dos consumidores. No entanto, um dos maiores problemas associados a esse manejo estão ligados às condições higiênico-sanitárias, descritas como inerentes ao processo e que ocorrem em função de diversos fatores.

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.
- 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.; 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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 κB 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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, p. 1523 - 1527, 2009.
- 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.
- 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.
- 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.; UMSZAGUEZ, 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.
- 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 com 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.
- 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.
- 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.; 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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 chlorhexidine against oral micro-organisms. *International Dental Journal*, v. 52 n. 6, p. 433-437, 2002.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- JEFFERY, G.H.; BASSETT, J.; MENDHAM, J. et al. *Análise Química Quantitativa*. ed. 5. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, RJ, 1992.
- JÚNIOR, 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-SALAÜN, 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.
- MACARI, M.; MENDES, A.A; MENTEN, J.F. et al. Produção de Frangos de Corte. 2. ed. São Paulo: Campinas, 2014. Fundação APINCO de Ciência e Tecnologia Agrícola, 2004. Cap. 8, p.117- 119. Cap. 11, p.171- 173
- 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.
- 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.
- MERIANOS, J.J. Quaternary ammonium antimicrobial compounds. In: BLOCK, S.S. *Disinfection, Sterilization and Preservation*. 4th ed. Philadelphia: Lea & Febiger, 1991. p.225-255.
- MONTI, J.C.; JOST, R. Solubilization of cheese whey protein by trypsin 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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, 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- SALOMÃO, K.; SOUZA, E.M.; PONS, A.H. et al. Brazilian Green Propolis: Effects In Vitro and In Vivo on *Trypanosoma cruzi*. *Evidence-based Complementary 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.
- 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.
- 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.
- 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.; 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.
- 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.
- SHELDON, B.W. & BRAKE. J. Hydrogen peroxide as an alternative hatching egg disinfectant. *Poult. Sci.*, v. 70, p. 1092-1098, 1991.
- 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.

- 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.
- 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.
- TURBLIN, V. Disinfection of hatching eggs importance and practical aspects. *Ceva Animal*. 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 Poultry*, 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- WOLFFENBÜTTEL, A.N. Base da química dos óleos essenciais e aromaterapia: Abordagem técnica e científica. São Paulo: Roca, 2011. 312 p.
- WOLFFENBÜTTEL, 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.
- 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.