

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
CENTRO DE ENERGIA NUCLEAR NA AGRICULTURA

MARCIA NALESSO COSTA HARDER

**Efeito da radiação gama em proteína alergênica de ovos de galinhas
poedeiras**

Piracicaba

2009

Livros Grátis

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

MARCIA NALESSO COSTA HARDER

Efeito da radiação gama em proteína alergênica de ovos de galinhas poedeiras

Tese apresentada ao Centro de Energia Nuclear na
Agricultura da Universidade de São Paulo para
obtenção do título de Doutor em Ciências

Área de Concentração: Energia Nuclear na Agricultura
e no Ambiente

Orientador: Prof. Dr. Valter Arthur

Co-Orientador: Profa. Dra. Solange G. C. Brazaca

**Piracicaba
2009**

AUTORIZO A DIVULGAÇÃO TOTAL OU PARCIAL DESTE TRABALHO, POR QUALQUER MEIO CONVENCIONAL OU ELETRÔNICO, PARA FINS DE ESTUDO E PESQUISA, DESDE QUE CITADA A FONTE.

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Seção Técnica de Biblioteca - CENA/USP

Harder, Marcia Nalesso Costa

Efeito da radiação gama em proteína alergênica de ovos de galinhas poedeiras / Marcia Nalesso Costa Harder; orientador Valter Arthur; co-orientadora Solange G. C. Brazaca. - - Piracicaba, 2009.

61 p.: fig.

Tese (Doutorado – Programa de Pós-Graduação em Ciências. Área de Concentração: Energia Nuclear na Agricultura e no Ambiente) – Centro de Energia Nuclear na Agricultura da Universidade de São Paulo.

1. Albuminas 2. Alergia e imunologia 3. Anticorpos 4. Elisa 5. Irradiação de alimentos 6. Proteínas do ovo I. Título

CDU 612.398:616-097

Ao meu querido marido Fernando

Às minhas queridas filhas Larissa e Isabela

Pelo amor, incentivo, paciência e por todas as horas juntos

Ofereço e Dedico

AGRADECIMENTOS

A Deus, por iluminar minha vida, meu caminho, para concluir mais esta etapa edificante e, assim levar Seu Nome a todos em minha volta.

Ao Centro de Energia Nuclear na Agricultura, em especial, ao Departamento de Radiobiologia e Ambiente, pela acolhida.

Ao meu orientador, Professor Dr. Valter Arthur, pela valorosa amizade, apoio, conselhos, confiança, ensinamentos, por saber que sempre posso contar com sua ajuda e pelo incentivo, que proporcionou abrir novos caminhos.

À CAPES e à FAPESP, respectivamente, pela importantíssima bolsa de estudos e pelo apoio financeiro ao projeto.

Em especial, aos meus pais Clélia e Odilon Costa, minha irmã Fernanda, meus familiares, de sangue e/ou agregados, os quais de alguma forma, sempre me ajudaram e me incentivaram.

Às amigas irmãs Taís Carolina e Lis, por estarem sempre comigo.

Aos Professores Dr. Vicente José Maria Savino e Dr. Antonio Augusto Domingos Coelho, pertencentes ao Departamento de Genética da ESALQ/USP, por mais uma vez acreditarem no meu trabalho, pela orientação e principalmente pelo valor da amizade.

Ao Prof. Dr. Carlos Tadeu dos Santos Dias e esposa, ao Eng. Agr. Silvio Bertolotti (Tatão) e à Dra. Salete Ap. Gaziola, para me lembrar de nunca esquecer quem me ofereceu ajuda. Também à Dra. Keila Duarte e seu esposo Luiz Humberto.

Aos amigos da pós-graduação, por todos os momentos de convívio.

Às técnicas, Lúcia Cristina Aparecida Santos Silva, Mônica Lanzoni Rossi e Débora Niero Mansi e Clarice Matraia, pela inestimável ajuda e companheirismo.

À secretária, Raquel Iracema da Silva Ermida, o que me faz lembrar todos os funcionários que mantêm a escola, além da inesquecível amizade e companheirismo.

Às amigas, Larissa, Lucélia, Érika, Tatiana, Andrea, Ju, Daniela, Adriana, assim como o pessoal da graduação pela amizade e companheirismo; às Brunas, por me ensinarem como se passa por cima de adversidades.

Ao Dr. Camilo Flamarion de Oliveira Franco, pesquisador da EMBRAPA, pela amizade e conselhos.

À Professora, Dra. Eneida Elisa Mello Costa, pelo incentivo, apoio e mesmo longe, sempre presente.

Aos professores do Centro de Energia Nuclear na Agricultura e do Instituto de Pesquisas Energéticas Nucleares, por todo ensinamento compartilhado.

Em especial e com afeto a, Fê, Lálá e Bebê, por fazerem parte da minha vida e pela nossa cumplicidade.

Aos Professores Dr. Hermas A. Germek, Dra. Gisele G. Bortoleto e Dr. Fábio C. Silva, pela oportunidade.

Ao Ccin, representado por Rogéria, Zuleide, Alessandra, Marta, também a todas as queridas, por cuidarem dos meus tesouros por um longo tempo e agora, ao Colégio Cidade de Piracicaba (Anglo), nas pessoas das professoras Eline, Andréia e Ana Cristina, pelo desmedido apoio, para que pudesse estudar com mais tranquilidade.

Aos meus amigos Milton e Zeca, aos que não nomeiei, porém sei que posso confiar e que estarão sempre comigo.

Ao IPEN e ao CENA, pelas irradiações necessárias ao projeto.

Às queridas secretárias da Pós-Graduação do CENA, Neuda, Sônia e Cláudia, pela amizade e apoio. Também à Alzira.

Aos companheiros dessa longa jornada no campus da ESALQ: César e Nivanda Ruiz, Zé Mário e Luciane Scafe, Renan, Professoras Neusa, Adriana e Marta; Fernanda, Luciano, Raul Sartori, obrigada pela ajuda, companheirismo e por estarem sempre comigo. Também aos de fora: Prof. Maria Elizabete S. Tocchini, Maíra, Maria Rita, Vivian e Bira, Lurdinha e Clô, Vanessa Perina, Fabrício Duarte, Gi e André, Lígia e Márcio, Alessandra e Júnior, todas as minhas amigas, por serem meu tesouro, pois quem tem amigos, tem um tesouro!

Aos meus anjos da carinha suja, por me fazerem entender o porquê e por me ensinarem a aprender.

Aos bibliotecários, em especial, à Beatriz Helena Giongo e Mídián Gustinelli, da ESALQ e, Renata Letícia Fini Mazzero, Raquel Cristina T. de Carvalho e Marília R. G. Henyei do CENA, pela ajuda e correções das minhas monografias, durante todo esse tempo.

A Professora Dra. Solange Guidolin Canniatti-Brazaca, pela competência na co-orientação deste trabalho, ensinamentos, e especial paciência.

Enfim, a todos que de alguma forma me ajudaram neste trabalho e não são citados aqui, os meus sinceros agradecimentos e também expressar toda a minha gratidão, admiração e respeito. Espero que de alguma maneira, realmente possa retribuir ao menos um pouco, o tanto que fizeram por mim e, que certamente não será esquecido jamais.

MUITO OBRIGADA!

“Pedras no caminho? Guardo todas. Um dia construirei um castelo.”

Fernando Pessoa

“O saber não basta, temos de o aplicar.

A vontade não basta, temos de atuar.”

Goethe

"Já escondi um AMOR com medo de perdê-lo, já perdi um AMOR por escondê-lo.
Já segurei nas mãos de alguém por medo, já tive tanto medo, ao ponto de nem sentir minhas mãos.
Já expulsei pessoas que amava de minha vida, já me arrependi por isso.
Já passei noites chorando até pegar no sono, já fui dormir tão feliz, ao ponto de nem conseguir fechar os olhos.
Já acreditei em amores perfeitos, já descobri que eles não existem.
Já amei pessoas que me decepcionaram, já decepcionei pessoas que me amaram.
Já passei horas na frente do espelho tentando descobrir quem sou, já tive tanta certeza de mim, ao ponto de querer sumir.
Já menti e me arrependi depois, já falei a verdade e também me arrependi.
Já fingi não dar importância às pessoas que amava, para mais tarde chorar quieta em meu canto.
Já sorri chorando lágrimas de tristeza, já chorei de tanto rir.
Já acreditei em pessoas que não valiam a pena, já deixei de acreditar nas que realmente valiam.
Já tive crises de riso quando não podia.
Já quebrei pratos, copos e vasos, de raiva.
Já senti muita falta de alguém, mas nunca lhe disse.
Já gritei quando deveria calar, já calei quando deveria gritar.
Muitas vezes deixei de falar o que penso para agradar uns, outras vezes falei o que não pensava para magoar outros.
Já fingi ser o que não sou para agradar uns, já fingi ser o que não sou para desagradar outros.
Já contei piadas e mais piadas sem graça, apenas para ver um amigo feliz.
Já inventei histórias com final feliz para dar esperança a quem precisava.
Já sonhei demais, ao ponto de confundir com a realidade...
Já tive medo do escuro, hoje no escuro "me acho, me agacho, fico ali".
Já cai inúmeras vezes achando que não iria me reerguer, já me reergui inúmeras vezes achando que não cairia mais.
Já liguei para quem não queria apenas para não ligar para quem realmente queria.
Já corri atrás de um carro, por ele levar embora, quem eu amava.
Já chamei pela mamãe no meio da noite fugindo de um pesadelo. Mas ela não apareceu e foi um pesadelo maior ainda.
Já chamei pessoas próximas de "amigo" e descobri que não eram... Algumas pessoas nunca precisei chamar de nada e sempre foram e serão especiais para mim.
Não me dêem fórmulas certas, porque eu não espero acertar sempre.
Não me mostre o que esperam de mim, porque vou seguir meu coração!
Não me façam ser o que não sou, não me convidem a ser igual, porque sinceramente sou diferente!
Não sei amar pela metade, não sei viver de mentiras, não sei voar com os pés no chão.
Sou sempre eu mesma, mas com certeza não serei a mesma pra SEMPRE! Gosto dos venenos mais lentos, das bebidas mais amargas, das drogas mais poderosas, das idéias mais insanas, dos pensamentos mais complexos, dos sentimentos mais fortes.
Tenho um apetite voraz e os delírios mais loucos. Você pode até me empurrar de um penhasco q eu vou dizer: - E daí? EU ADORO VOAR!"

Clarice Lispector

RESUMO

HARDER, M. N. C. 2009. **Efeito da radiação gama em proteínas alergênicas de ovos de galinhas poedeiras**. 61 f. Tese (Doutorado) – Centro de energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2009.

O ovo é o alimento naturalmente mais completo, uma vez que possui todos os nutrientes necessários, como vitaminas, aminoácidos e minerais essenciais para manter uma vida. Porém, em contra partida, possui várias proteínas promotoras de alergias em considerável parcela da população mundial. Para determinar as proteínas dos alimentos alergênicos, um dos testes mais utilizados é o imunoensaio tais como ELISA (ensaio imunoenzimático - enzyme linked immunosorbent assay), onde o anticorpo reconhece o antígeno e essa conexão é mostrada por um sistema enzimático, em outras palavras, a densidade óptica. O objetivo deste estudo foi determinar a eficiência do anticorpo policlonal, produzido em laboratório, para identificar a presença do antígeno ovomucóide em ovos tratados por irradiação gama para a sua desativação. Para avaliar os tratamentos, o anticorpo policlonal foi produzido em quatro (04) coelhos da raça Nova Zelândia, do sexo feminino, com 45 dias de vida, imunizadas com ovomucóide bioconjugado. Foi utilizado o adjuvante de Freund completo na primeira imunização e a solução tampão PBS, foram realizadas, posteriormente, quatro imunizações a cada quinze dias, mais um reforço 48 horas antes da retirada do plasma sanguíneo. O soro sanguíneo foi titulado por PTA-ELISA (Plate trapped antigen). Todos os procedimentos foram aprovados pelo Comitê de Ética e Experimentação Animal do Instituto de Ciência Animal e Pastagens (IZ) e precedida de acordo com as normas europeias para o bem-estar e ética animal. Foram utilizados ovos comerciais *in natura*, fornecidos pelo Departamento de Genética da Universidade de Agricultura "Luiz de Queiroz" - ESALQ / USP. As amostras foram submetidas à radiação gama proveniente de uma fonte de Co60, do tipo Multipropósito no Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares (IPEN), sob uma taxa de dose de 19,4 e 31.8Gy/hora, nas doses: 0 (controle); 10kGy; 20KGy e 30KGy, em todas as taxas. Pelo teste de ELISA, foi encontrado o alérgeno ovomucóide das amostras ovo e, pelo resultado apresentados, constatou-se que o tratamento da radiação não mostrou alterações significativas, quando avaliado por anticorpos policlonais. Assim, podemos concluir que o anticorpo produzido é capaz de identificar a proteína alergênica ovomucóide e, a irradiação gama em tais taxas não apresenta mudanças na estrutura da proteína, por esta forma de avaliação. Porém, apresentou algumas alterações na cor e viscosidade visual das amostras de ovos.

Palavras-chave: ovomucóide, anticorpos policlonais, ELISA, alergia alimentar

ABSTRACT

HARDER, M. N. C. **Gamma radiation effect on allergen protein of laying hen eggs.** 2009. 61 f. Tese (Doutorado) – Centro de energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2009.

The egg is the most complete natural food; it has all the necessary nutrients such as vitamins, aminoacids and essential minerals to maintain a life. However, although, has several proteins that promote allergies in considerable part of the world population. To determine allergenic food proteins, one of the most used tests is the immunoassays such as ELISA (enzyme linked immunosorbent assay), where the antibody recognizes the antigen and this connection is showed by an enzymatic system, in other words, optical density. The aim of this study was to determine the polyclonal antibody efficiency, produced in laboratory, to identify the presence the ovomucoid antigen in treated eggs by gamma irradiation for its inactivation. To evaluate the treatments, polyclonal antibody was produced in four New Zealand female rabbits, at 45 days old, immunized with bioconjugated ovomucoid. Was used Freund Complete Adjuvant at first immunization and PBS Buffer at four subsequently immunizations every fifteen days, plus a booster 48 hours before the blood retreated. The blood serum was tittered by PTA-ELISA (Plate trapped antigen). All procedures were approved by Institute of Animal Science and Pastures (IZ)'s Committee of Ethical and Animal Experimentation and preceded according to European Norms for ethical and animal welfare. It was used, *in nature*, commercial laying eggs, from the Genetic Department of Agricultural University "Luiz de Queiroz" – ESALQ/USP. So the samples were submitted to the gamma radiation coming from a source of Co⁶⁰, type Multipurpose at the Energetically Researches and Nuclear Institute (IPEN), under a dose rate of 19.4 and 31.8Gy/hour, in the doses: 0 (control); 10KGy; 20KGy and 30KGy, in all rates. By the ELISA's test we can find the egg allergen ovomucoid and the radiation treatment do not showed considerable changes. So we can concluded that the antibody produced is capable of identify the ovomucoid allergenic protein and the gamma irradiation in such rates does not shows changes in that protein, therefore showed some changes in the color and visual viscosity of the egg samples.

Keywords: ovomucoid, policlonal antibody, ELISA, food allergy

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	12
2	DESENVOLVIMENTO	14
2.1	O ovo	14
2.1.1	Irradiação de ovos	19
2.1.2	Legislação	21
2.1.3	Alterações estruturais provocadas pela irradiação	23
2.2	Alergia alimentar	24
2.2.1	Alergia a ovos	27
2.3	Imunologia	30
2.3.1	Deteção do índice alergênico	31
2.3.2	ELISA	32
3.	MATERIAL E MÉTODOS	35
3.1	Preparo das amostras	35
3.2	Tratamento	35
3.3	Avaliação dos tratamentos	35
3.3.1	Produção de anticorpos policlonais	35
3.4	Análise sensorial	39
3.5	Análise colorimétrica	40
3.5.1	Hunter Lab	40
3.6	Análise estatística	41

4.	RESULTADOS E DISCUSSÃO	42
4.1	Produção de anticorpos policlonais	43
4.2	Análise sensorial	44
4.3	Análise colorimétrica	46
5.	CONCLUSÃO	50
	REFERÊNCIAS	51
	ANEXOS	58

1 INTRODUÇÃO

A carne de aves e os ovos são considerados pelos nutricionistas como os alimentos com ótimo valor nutritivo, para todas as pessoas, quaisquer que sejam as idades ou necessidades nutricionais. O ovo é um alimento completo (ENGLERT, 1998). A irradiação de ovo em pó com doses acima de 10 kGy, não produz mudanças mensuráveis na acidez, nem nas vitaminas B₁ ou B₂ (KATUSIN-RAZEM et al., 1989; LEPKI, 1998).

A maior preocupação da indústria alimentícia hoje, com os ovos crus é a presença de patógenos, principalmente *Salmonella* ssp., porém, os processos comumente utilizados para eliminação desses microrganismos emprega calor tornando inviável a utilização do ovo na forma crua.

Devido às necessidades mundiais sobre a seguridade dos alimentos e aos problemas advindos do processo de armazenamento e processamento inadequados, houve a crescente busca de novos métodos de preservação dos alimentos. A irradiação deste material é disponibilizada como um método de preservação, tanto da matéria-prima *in natura* quanto como coadjuvante de processos industriais (VILLAVICENCIO, 1998).

Além da presença de patógenos, o ovo é um alimento rico em proteínas alergênicas. A técnica da irradiação de alimentos tem sido muito estudada para a eliminação, ou pelo menos, a minimização deste tipo de problema.

Quando as reações adversas a alimentos são causados por mecanismos imunológicos são ditas alergias alimentares, enquanto que, quando causadas por reações tóxicas, farmacológicas, metabólicas e/ou idiossincráticas, a substâncias químicas são ditas intolerâncias alimentares (PARKER; KRONDL; COLEMAN, 1993; MOREIRA, 2006).

As alergias são desordens que acometem cerca de 20% a 30% da população humana em países desenvolvidos, estando entre as doenças crônicas mais comuns (MATYSIAK-BUDNICK; HEYMAN, 2002; MOREIRA, 2006).

Os principais alimentos que têm sido citados como causadores de alergias alimentares são: leite, ovos, amendoim, castanhas, camarão, peixe e soja (BOCK, 1986; METCALFE, 1998; MOREIRA, 2006).

As análises de proteínas, lipídeos, carboidratos e ácidos nucleicos, têm sido examinados para a detecção de mudanças físico-químicas, e métodos para identificação de alimentos que foram submetidos à irradiação, têm sido desenvolvidos em vários países, pela detecção de radicais livres, análise de microestrutura, estudos de funções biológicas e análise de microflora (MUÑOZ et al., 1985), assim como, por técnicas de ELISA e Blotting, podemos determinar alterações estruturais nos mesmos nutrientes, devido à mesma exposição.

A molécula de DNA por causa de seu tamanho grande é um alvo fácil para a radiação ionizante, então, mudanças no DNA oferta potencial ser usado como um método de descoberta para o tratamento de irradiação, como exemplo o Teste do Cometa (VILLAVICENCIO et al., 2004).

Devido a sua alta especificidade, anticorpos têm sido utilizados para purificar, classificar, identificar substâncias de interesse biológico (TRIONE, 1988; DUARTE et al., 2002).

Os métodos sorológicos ganham cada vez mais importância no meio científico por serem bastante sensíveis e específicos na detecção de compostos químicos e biológicos. Atualmente, sabe-se que os anticorpos são capazes de detectar uma molécula de um antígeno protéico dentre mais de 108 moléculas similares (JANEWAY et al., 2007; FURTADO et al., 2008)

Estes métodos de detecção baseiam-se na capacidade dos anticorpos de reconhecer estruturas tridimensionais específicas de moléculas biológicas, tais como partes de proteínas ou polissacarídeos. Tais técnicas exercem papel importante como ferramentas de diagnóstico na medicina e, também, na patologia de plantas (LEVANONY et al., 1987; ARAUJO et al., 2005)

Aliando-se a idéia de um alimento nutricionalmente completo, porém potencialmente alergênico, este trabalho teve como objetivo avaliar os efeitos da radiação gama por fonte de Co^{60} em ovos de galinhas poedeiras, visando a diminuição da alergenicidade deste alimento, pela submissão à diferentes doses e taxas de doses. Para tanto, o produto, na forma *in natura* e liofilizada, foi submetido à avaliação da presença da proteína ovomucóide (OVM) por método imunoenzimático (ELISA). Além disso, foi mensurado o parâmetro cor e feita análise sensorial para avaliação da aceitação do produto.

2 DESENVOLVIMENTO

2.1 O ovo

Há algumas décadas, a função do ovo era praticamente a de gerar vida e, quando possível, alimentar pessoas. Hoje, com a tecnologia disponível, a contribuição de especialidades, como nutrologia e genética, e os avanços da informática, podemos com segurança dispor dele para a nossa nutrição, pois o ovo é um alimento simples e nutritivo, que complementa a dieta, e o que mais se aproxima do “alimento ideal”. Depois do leite materno, o ovo é considerado o alimento mais completo, reunindo quase todos os nutrientes necessários à vida, menos vitamina C e fibras (PUPPIN, 2004).

O ovo é altamente recomendado para todas as pessoas e seria desejável que se substitua a porção de carne (proteína), até três vezes semanais (caso não haja ressalvas), por pelo menos dois ovos por dia, seja frito, quente ou na forma de omelete, massas, bolos, maionese, sorvete, ou outras formas. A composição nutricional de carne de frango crua, leite integral e ovo cru, são apresentadas no Quadro 1:

Especificação	Carne de frango crua	Leite integral	Ovo cru (total s/ casca)
Calorias (cal)	112	68	162
Água (g)	74,5	87	74
Proteína (g)	20,5	3,5	12,8
Gorduras (g)	2,7	3,9	11,5
Cinzas (g)	1,1	0,7	1,0
Total carboidratos (g)	0	4,9	0,7
Cálcio (mg)	15	118	54
Fósforo (mg)	188	93	210
Ferro (mg)	1,8	0,1	2,7
Sódio (mg)	78	50	81
Potássio (mg)	320	140	100
Vitamina A (UI)	0	160	1140
Vitamina B ₁ (mg)	0,10	0,04	0,10
Vitamina B ₂ (mg)	0,24	0,17	0,29
Ac. nicotínico (mg)	5,6	0,1	0,1
Vitamina C (mg)	0	1	0

Quadro 1 - Composição nutricional (100g) de carne de frango crua, leite integral e ovo cru.
Fonte: Englert (1998)

O ovo apresenta teores de ferro que variam de 2,41 a 3,20mg/100g (ENGLERT, 1998; FRANCO, 2001; GERMANO, 2002; HARDER, 2005; HARDER et al., 2007;

FACULDADE..., 2009). Além de ser considerado fonte de ferro, apresenta, também, proteína de boa qualidade e gordura em quantidades significativas (HARDER, 2005).

O ovo é um dos ingredientes considerado pelos tecnologistas de alimentos, muito importante, pela grande diversidade de propriedades que e capaz de introduzir no alimento (LEPKI, 1998). As propriedades mais importantes são:

1. Aeração, pela propriedade única de espumar, o ovo incorpora ar dentro do alimento. Produtos de ovos podem conter agentes de cremosidade que melhora a formação da espuma;
2. Coagulação, o ovo pode ser convertido do estado líquido para o estado sólido ou semi-sólido utilizando-se processo de aquecimento, através do ajuste do pH, adicionando sal ou outro ingrediente;
3. Emulsificação, que é estabilização de uma suspensão de um líquido em outro. Essa propriedade é dada principalmente pela gema. Proteína e lipídeo de ovos inteiros e gema contribuem para esta propriedade já que contêm substâncias gordurosas extremamente divididas. O exemplo clássico de emulsão é a maionese, onde o ovo tem papel importante na emulsão de gorduras;
4. Cor, a cor amarelo-ouro da gema deriva dos carotenóides contidos na porção lipídica das lipoproteínas. Para o consumidor, a cor significa qualidade e valoriza o sabor de alguns produtos como massas, maionese e bolos;
5. Sabor, centenas de componentes voláteis contribuem para o sabor dos ovos, e mistura bem com muitos produtos alimentícios;
6. Abastecimento, os ovos estão disponíveis mundialmente, e alguma variação depende da raça da galinha poedeira;
7. Economia, os ovos são economicamente importantes, tanto para o consumidor quanto para o produtor de alimentos industrializados, sendo uma das fontes disponíveis de proteínas de alto valor biológico de mais baixo custo;
8. Nutricional, os ovos oferecem valor nutricional excelente e contêm particularmente alta quantidade de proteínas, que é utilizada para enriquecimento de produtos pobres em proteínas. Contêm ferro e grande gama de vitaminas incluindo A, D, E e algumas vitaminas do

complexo B. Também têm boa dose de minerais como potássio, fósforo, iodo e zinco. Apesar deste valor nutricional, tem baixo valor calórico aproximado a 75 calorias por ovo grande;

9. Natural, o interesse dos consumidores por alimentos naturais vem crescendo. Produtos de ovos são mais seguros do ponto de vista microbiológico, uma vez que são submetidos tradicionalmente a processos de pasteurização que utiliza calor para torná-los livres de *Salmonella* ssp, o que modifica pouco o produto.

O consumo, no Brasil é de 131 unidades/ano/habitante, número este, pequeno quando comparado ao México (375 unidades/ano/habitante); Japão (347 unidade/ano/habitante); Estados Unidos (358/unidades/ano/habitante), segundo UBA (União Brasileira de Avicultura) (2009).

O ovo de galinha contém todos os nutrientes essenciais em quantidade significantes. A ovoalbumina é uma das albuminas mais conhecidas. Ela coagula não só pela ação do calor (fervura), mas também, quando batida, sendo visualizada na espuma formada por pequeninas bolhas de ar. A avidina é uma antivitaminas presente em pequena porção na clara. Quando aquecida é destruída (YUDKIN, 1985; LEPKI, 1998).

O ovo em pó possui, em média, 47, 35% de proteína (FIGUEIREDO, 2001; HARDER, 2005; EGG PRODUCTS, 2009), superior a muitas fontes protéicas, além de ser de alto valor biológico. Sua proteína foi considerada durante muito tempo, a proteína padrão pela Organização para Alimentos e Agricultura da Organização Mundial de Saúde (FAO-OMS) (FAO, 1991; VIEIRA, 2000; FIGUEIREDO, 2001; HARDER, 2005). Ultimamente, a OMS estabeleceu uma proteína teórica como padrão, mesmo assim, a proteína do ovo é a que mais se aproxima, em sua composição em aminoácidos essenciais, da proteína padrão (VIEIRA, 2001; HARDER, 2005).

Essa riqueza de aminoácidos essenciais faz do ovo, especialmente valioso para ser utilizado em combinação com alimentos pobres em aminoácidos, como grãos de cereais, por exemplo (FIGUEIREDO, 2001).

As proteínas animais são importantes na dieta humana porque: fornecem aminoácidos essenciais, isto é, aqueles que o homem não é capaz de sintetizar; fornecem nitrogênio para síntese de todas as substâncias nitrogenadas do organismo; produzem energia (4kcal/g) (VIEIRA, 2000; HARDER, 2005).

Além da avidina, o inibidor de tripsina também é um fator antinutricional presente no ovo. A avidina, presente na albumina, se liga á vitamina biotina, formando o complexo avidina-biotina, que não é absorvido pelo intestino, causando avitaminose. Quando desnaturada pelo calor, não se liga mais a biotina (LEHNINGER, 1985; HARDER, 2005). Kratzer, Knolmann e Earl (1988), testando ovo em pó, observaram que, quando não suplementaram as aves com biotina, ocorreram sinais de deficiência dessa vitamina com mortalidade de 20% e que a suplementação com 500µg/kg foi o suficiente para suprir as necessidades das aves. Os autores concluíram que, um mau processamento, não inativa completamente a avidina, revelando assim, a importância também dos cuidados no processamento de ingredientes a fim de se obter produtos de qualidade.

Também está presente, principalmente, no albúmen do ovo, outra proteína chamada ovomucóide, uma das mais importantes substâncias inibidoras de tripsina (KATO; MATSUDA, 1997; HARDER, 2005).

Ovos secos ou desidratados são produzidos nos Estados Unidos desde 1930, mas sua procura foi mínima até a II Guerra Mundial, quando a produção aumentou para atender a demanda militar e de ajuda externa (PROMOVOS/APA, 1995). A qualidade dos primeiros produtos era incomparavelmente inferior a dos obtidos hoje (LEPKI, 1998). Também, nesta época, as pesquisas com irradiação tiveram um avanço, pois foi quando as fontes de radiação se tornaram disponíveis. Inicialmente foi utilizada nos Estados Unidos com a finalidade de controlar insetos e pragas de grãos e farinha de trigo (SANTIN, 2002).

Atualmente, ovos em pó ou na forma de líquido pasteurizado, são usados em grande variedade de produtos na indústria da alimentação, não estando disponíveis normalmente no mercado varejista. Por exemplo, a indústria de sorvetes, utiliza a gema do ovo na forma de pó ou congelada, que produz efeito pronunciado de melhoria do ‘corpo’ e textura. O seu uso é bastante recomendado em misturas com baixo teor de sólidos e em misturas onde a gordura é proveniente de manteiga ou gordura de leite anidra. A vantagem de usar gema de ovo está relacionada com os sólidos que são muito efetivos para aumentar a capacidade de aeração, provavelmente devido à lecitina presente. A desvantagem do seu uso, e que pode aumentar bastante o custo final do produto (VIOTTO, 1997; LEPKI, 1998).

A liofilização é um processo que se caracteriza pela retirada da água do alimento sem submetê-lo a altas temperaturas. Neste processo, o alimento, após uma etapa de preparo

(limpeza, corte e cozimento), é congelado a temperaturas de -40°C (quarenta graus centígrados negativos) e colocado em câmaras de alto vácuo. Com o aumento progressivo da temperatura e a manutenção da condição de baixíssima pressão (vácuo), atinge-se a temperatura necessária para obter a saída da água do alimento por sublimação. Dessa forma, o alimento não é exposto a altas temperaturas, e conseqüentemente, não ocorre a degradação do valor nutricional. O produto liofilizado, em base seca, possui características nutricionais equivalentes ao produto *in natura*. A vantagem relativa do *spray dryer* sobre a liofilização é o custo, este que pode ser diluído em produtos de valor agregado (ROSA; TSUKADA; FREITAS, 2007).

2.1.1 Irradiação de ovos

O uso da irradiação tem se tornado uma boa opção quando o uso do calor é inviável para a conservação de alimentos. A maior preocupação da indústria alimentícia hoje, com relação ao ovo cru, é a presença de patógenos, principalmente as enterobactérias, porém os processos comumente utilizados para eliminação desses microrganismos empregam calor tornando inviável a utilização do ovo na forma crua.

Bactérias patogênicas podem causar graves doenças. Humanos podem introduzir patógenos nos alimentos durante a produção, processamento, distribuição ou preparação. Alguns desses microrganismos são aptos a sobreviver tratamentos convencionais de preservação. Pasteurização a quente é um bom meio de descontaminação/desinfecção de alimentos líquidos, porém, não pode eficientemente executar o mesmo objetivo para alimentos sólidos. Trabalhos extensivos têm mostrado que a irradiação é eficiente em diminuir ou mesmo patógenos, como *Salmonella* ssp, que pode contaminar produtos aviários. Um dos processos incipientes de preservação dos alimentos é a irradiação. De todos os processos de conservação a irradiação é talvez, a que tem sido mais investigada. Os efeitos químicos e biológicos das radiações é o resultado de colisões de elétrons que produzem a ionização. Os elétrons podem ser introduzidos no produto tratado diretamente a partir de um acelerador de elétrons ou indiretamente por fótons gerados por uma fonte radioativa. A distribuição espacial e temporal do fluxo de elétrons gerados no produto, é característico da fonte e sua classificação depende das densidades de radicais livres formados e de suas meias-vidas (MCKEOWN; DREWEL, 1996; LEPKI, 1998).

As fontes de Cobalto 60 (Co^{60}) ($T_{1/2}=5,263$ anos, $b=0,314$ Mev, $g= 1,173$ e $1,332$ Mev) e elétrons acelerados são algumas das formas mais utilizadas no processamento de alimentos. Utilizando com fonte o Co^{60} , cujos raios gama têm poder de penetração bem maior do que aquele proveniente de feixes de elétrons, podem ser atingidos os objetivos de irradiar alimentos (DIEHL, 1995; LEPKI, 1998). Os raios gama são aplicados em alimentos de grande espessura ou volume, enquanto o feixe de elétrons usados em irradiações de superfície (SATIN, 2002).

Ferreira e Mastro (1998) trabalharam com radiação gama Co^{60} , que foi aplicada em amostras de clara em pó industrializada, gema e ovo inteiro a doses entre 0-25 kGy. As amostras irradiadas foram reidratadas e a viscosidade medida em viscosímetro a 5, 15 e 25°C. Irradiação com doses acima de 5 kGy, demonstrou que a contaminação bacteriana foi reduzida a níveis não detectáveis, também não houve variação de viscosidade de amostras de clara irradiada. Já amostras, inteiras ou gema, apresentaram algumas mudanças nas propriedades reológicas elevando-se a dose de radiação. Essas alterações foram devido à predominância da polimerização ou degradação, como resultado da irradiação. Observaram também que, a irradiação de gema em pó teve a cor reduzida proporcionalmente ao aumento da dose de radiação.

Irradiação de ovos com 2 ou 3 kGy reduziram a contaminação bacteriana, principalmente *Salmonella*, a níveis não detectáveis (TELLEZ et al., 1995). Irradiação da fração insolúvel da clara por volta de 3-4 kGy causou mudança física, visualmente observável no produto, como o incremento da viscosidade, e que pode ser fator limitante para a esterilização de ovo líquido e produtos de ovos (FOSSUM, 1973; FERREIRA; DEL MASTRO, 1998). Funções físico-químicas e propriedades funcionais de proteínas de produtos de ovos congelados mostraram que a irradiação gama causa grande perda na qualidade interna de ovos inteiros. As propriedades funcionais das proteínas da clara, incluindo as propriedades de espuma, emulsificação e geleificação, são mantidas ou significativamente melhoradas (MA et al., 1993). Esses autores concordam que, durante o processo de irradiação, ocorrem quebras de compostos como carotenóides, mais facilmente no alimento (ovo) em pó e na gema, por isso a facilidade de perda de cor, além de outros componentes, inclusive protéicos; ocorrem também peroxi e hidroperoxidação, justificando, por exemplo, as alterações organolépticas e tecnológicas; porém, obtém-se um produto realmente seguro para consumo.

A viscosidade aparentemente não mudou na clara e gema irradiada, isoladamente e/ou em conjunto, mas algumas mudanças puderam ser vistas no ovo inteiro. Quando a temperatura aumentou, a viscosidade decresceu. Quando a dose de 5 kGy foi empregada o aumento da viscosidade tornou-se aparente permanecendo constante a 15 kGy. A 25 kGy ocorreu aumento na viscosidade. A irradiação da gema em pó reduziu a cor em função da exposição à irradiação. Vários autores têm descrito que os carotenóides do ovo são muito sensíveis a irradiação, quando comparado com os carotenóides de vegetais secos (KATUSIN-RANZEM et al., 1989; FERREIRA; DEL MASTRO, 1998).

O ovo é o alimento alergênico mais frequentemente encontrado, e o consumo de determinada quantidade de ovo pode resultar em sintomas instantâneos, incluindo choque anafilático. A clara aparece ser mais alergênica que a gema. Entre as proteínas da clara, o ovoalbumina e o ovomucóide (OM) têm sido reconhecidos como as proteínas com maior poder alergênico. O OM uma glicoproteína com um peso molecular de 28 kDa, com ponto isoelétrico de 4,0 a 4,6, sendo constituída de 3 domínios distintos. OM é relativamente insensível ao calor a 100°C sob condições de pH ácido a neutro ($\text{pH} \leq 7$); no entanto, é facilmente desnaturada por temperatura a $< 80^\circ\text{C}$ em pH básico ($\text{pH} \geq 9$) (LEE et al., 2002).

As mudanças estruturais em alimentos alergênicos trazidas pela irradiação gama tem sido recentemente observada por muitos estudos, e desta maneira poderão reduzir alergenicidade ou antigenicidade por modificação e/ou destruição de epitopos de imunoglobulina E (IgE) que se liga a proteína dos alimentos (LEE et al., 2002).

2.1.2 Legislação

No Brasil, o primeiro Decreto-Lei com regras básicas para a irradiação surgiu em agosto de 1973. Duas portarias foram criadas posteriormente: a portaria nº. 09 DINAL/MS, de 08 de março de 1985 e a nº. 30 de 25 de setembro de 1989. Ambas foram revogadas pela Resolução RDC nº. 21 de 26 de janeiro de 2001, criada pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Esta resolução leva em consideração a necessidade de melhorias no controle sanitário, fitossanitário, zoossanitário, visando harmonizar as normas e regulamentos técnicos. É aplicada a todos os alimentos tratados por irradiação e determina que a mesma não possa ser utilizada em substituição as boas práticas de fabricação ou agrícolas. A resolução

vigente determina que qualquer alimento, poderá ser tratado por radiação, desde que sejam observadas as seguintes condições: a) a dose mínima absorvida deve ser suficiente para alcançar a finalidade pretendida; b) a dose máxima absorvida deve ser inferior aquela que comprometeria as propriedades funcionais e/ou os atributos sensoriais dos alimentos. A referida resolução também deixa claro que na rotulagem dos alimentos irradiados, além dos dizeres exigidos para os alimentos em geral e específico do alimento, deve constar no painel principal: “alimento tratado por processo de irradiação”. Deste modo não é especificada a dosagem máxima de radiação para um determinado alimento e transfere a responsabilidade do processo de irradiação ao fabricante ou fornecedor (BRASIL, 2001; FROEHLICH, 2004).

De acordo com o Codex Alimentarius (1984) são permitidas para uso em alimentos as seguintes radiações:

- a) raios gama de radionucleotídeos como Cobalto 60 (Co^{60}), com energia máxima de 1,332 MeV e meia vida de 5,263 anos, e Césio 137 (Ce^{137}) com energia máxima de 0,0662 MeV e meia vida de 30 anos;
- b) raios X gerados por máquinas operando com energia de até 5 MeV;
- c) elétrons gerados por máquinas operando com 10 MeV ou abaixo desse valor.

Em alimentos irradiados, um dos fatores importantes de ser avaliado é o aspecto sensorial do alimento após o processo de irradiação.

Os testes sensoriais afetivos qualitativos medem as respostas subjetivas de um pequeno subgrupo dos consumidores sobre as propriedades sensoriais do produto através da verbalização de seus sentimentos e opiniões sobre o produto, numa entrevista individual ou num pequeno grupo. Os métodos qualitativos são usados:

- a) para avaliar as respostas iniciais dos consumidores sobre o conceito e/ou protótipo de um produto, e;
- b) para conhecer o comportamento do consumidor em relação ao uso de um produto (FERREIRA, 2000).

2.1.3 Alterações estruturais provocadas pela irradiação

A absorção da radiação eletromagnética pelos tecidos biológicos que constituem o alimento é uma função da excitabilidade eletrônica das moléculas constituintes. No caso da radiação gama, a excitação eletrônica produzida, é suficiente para ejetar elétrons de seus respectivos orbitais resultando na ionização molecular. Um dos radicais livres mais importantes induzidos pela radiação, é a formação do radical hidroxila (HO^\cdot) que está envolvido nas reações de iniciação e propagação, da reação em cadeia responsável pelos efeitos da radiação (RILEY, 1994).

A unidade de dose (quantidade de energia absorvida por unidade de massa) (1) utilizada atualmente é o Gray:

$$1\text{Gy} = 1 \text{ joule/kg} \quad (1)$$

cujas equivalências com a unidade (2) usada anteriormente, o rad:

$$100 \text{ rad} = 1\text{Gy} \quad (2)$$

De acordo com Ma et al. (1993), as proteínas da gema são mais susceptíveis a quebra do que as proteínas da clara. A mudança química da radiação no ovo e gema em pó, irradiados, na presença de oxigênio, induz mudanças degradativas dos componentes lipídicos: a acumulação de hidroperóxidos lipídicos e a destruição de carotenóides. Para a indústria de alimentos, isto é tão importante quanto à deterioração de proteínas funcionais tal como a espuma da clara em pó e a capacidade de emulsificação da gema.

Ainda que similar, a química da irradiação de aminoácidos não pode ser diretamente extrapolada à peptídeos ou à proteínas. A contribuição observada é que os aminoácidos na forma de peptídeos mais complexos fornecem valiosas informações no estudo de proteínas mais complexas. Uma menor extensão de aminoácidos livres e peptídeos estão também presentes em alimentos e carnes (aproximadamente 2%) e por isso, serão tratados como componentes separados dos alimentos, não meramente como unidades monoméricas de proteínas. As reações de elétrons com proteínas conduzem à desaminação, quebra de peptídeos e ligação dissulfeto, formação de resíduos aromáticos e aminoácidos heterocíclicos. A extensão e proporção dessas reações dependem das condições e das proteínas que estão contidas neste sistema. Estas reações são incontáveis pela variedade de produtos radiológicos encontrados nos alimentos irradiados. As reações de radicais OH^\cdot com proteínas são

conduzidas para separação atômica de hidrogênio, adição de aromáticos, heterocíclicos e resíduos de aminoácidos contendo enxofre, bem como para a oxidação de alguns desses resíduos. Em sistemas de congelamento a contribuição do radical OH[•] irá diminuir grandemente e somente pequena fração do radical OH[•] que induz esses produtos irá estar presente na radapertização de alimentos com alta concentração de proteínas (JOSEPHSON; PETERSON, 1983).

2.2 Alergia Alimentar

Alimentos são essenciais para a vida, geralmente fonte de prazer, e normalmente está relacionado à identidade cultural de cada população. Ao longo da vida uma pessoa ingere aproximadamente duas a três toneladas de alimento. Não é surpresa, portanto, que alimentos estejam implicados em uma grande variedade de sintomas levando a transtornos na vida de indivíduos que acreditam possuir alergia alimentar (GRUMACH, 2001). Segundo ainda os mesmos autores, a primeira descrição de alergia alimentar foi feita por Hipócrates há mais de 2 mil anos, mas só a partir da década de 1980 estudos controlados começaram a esclarecer os diferentes aspectos da alergia alimentar. Enquanto isso, inúmeras publicações nos levaram a acreditar que qualquer sintoma conhecido do ser humano poderia ser causado por uma reação alérgica a um determinado alimento. Tem-se então que, alergia alimentar é um tema complexo e controverso e que o diagnóstico e tratamento satisfatórios, na maioria das vezes, não são possíveis.

Etimologicamente, a palavra ALERGIA deriva de da palavra ALLOS, que em grego significa estado alterado/outro e, ERGON, que significa energia/reação, e foi introduzida pela primeira vez em 1905 pelo pediatra austíaco, Clemens Von Piquet (1874-1924), para designar uma manifestação clínica (FERNANDES, 2005).

Moreira (2006) define alergia como sendo doenças crônicas caracterizadas por uma aumento na capacidade de linfócitos B de sintetizarem imunoglobulina do isotipo IgE contra antígenos que entram no organismo pela inalação, ingestão ou penetração pela pele conduzindo a uma hiperatividade imunológica, inflamação alérgica e, com perda de 20% de peso corpóreo, quando testado processo em animais.

Já Pereira, Moura e Constant (2008) definem como alergia alimentar como uma reação adversa a um antígeno alimentar mediada por mecanismos fundamentalmente imunológicos.

Relatam também que é um problema nutricional que aprestou um crescimento considerável nas últimas décadas, provavelmente devido à maior exposição da população a um número maior de alérgenos alimentares disponíveis. Vem se tornando um problema de saúde em todo o mundo, pois está associado a um impacto negativo na qualidade de vida.

Alergia é uma reação de hipersensibilidade iniciada por mecanismos imunológicos. A alergia pode ser mediada por anticorpos ou por células. Na grande maioria dos casos, o anticorpo responsável pela reação alérgica pertence ao isotipo IgE, podendo estes indivíduos serem referenciados como “sofrendo de uma alergia mediada por IgE”. Nem todas as reações alérgicas associadas a IgE ocorrem em indivíduos atópicos. Na alergia não IgE mediada, o anticorpo pode pertencer ao isotipo IgG ex. doença do soro, previamente referida como reação tipo III) (JOHANSSON et al., 2004).

Segundo o mesmo autor, alérgenos são antígenos que causam alergia. Muitos alérgenos que reagem com IgE e IgG são proteínas, muitas vezes com cadeias de hidratos de carbono que, em determinadas circunstâncias, têm sido referidos eles próprios como alérgenos. Raramente produtos químicos de baixo peso molecular como por exemplo, isocianatos e anidridos, que atuam como haptenos, são referidos como alérgenos.

Atopia é uma tendência pessoal ou familiar, freqüente na infância e na adolescência para se ficar sensibilizado e produzir IgE em resposta a uma exposição a alérgenos, geralmente proteínas. Como consequência, estes indivíduos podem desenvolver sintomas característicos de asma, rinoconjuntivite ou eczema. Os termos atopia e atópico devem ser reservados a descrever uma predisposição genética para ser IgE sensibilizado a alérgenos comuns durante uma exposição ambiental para a qual a maioria dos indivíduos não produz uma resposta prolongada IgE mediada. Assim, atopia é uma definição clínica para indivíduos que respondem com produção de altos níveis de IgE. O termo atopia não pode ser utilizado quando uma sensibilização à IgE não esteja documentada pela existência de tal anticorpo no soro ou por testes cutâneos positivos (JOHANSSON et al., 2004)

Reações adversas a alimentos (RAA) é a denominação empregada para qualquer reação anormal à ingestão de alimentos ou aditivos alimentares, independentemente de sua causa. Estas podem ser classificadas em intolerância e hipersensibilidade alimentar. Intolerância alimentar é o termo utilizado para designar uma reação fisiológica anormal a ingestão de alimentos ou aditivos alimentares, de natureza não imune. Estas reações podem

incluir: anormalidades metabólicas, reações à substâncias farmacológicas contidas em alimentos, reações tóxicas, entre outras. Hipersensibilidade alimentar ou alergia alimentar (AA) e a denominação utilizada para as RAA, que envolvem mecanismos imunológicos, resultando em grande variabilidade de manifestações clínicas. O mecanismo envolvendo a imunoglobulina E (IgE) é o mais comumente envolvido, o qual se caracteriza por rápida instalação e manifestações clínicas como: urticária, broncoespasmo e eventualmente anafilaxia. Quando reações imunológicas não medidas por IgE estão envolvidas, as manifestações clínicas se estabelecem mais tardiamente (horas ou dias), dificultando o diagnóstico da AA.

Quando as RAA são causadas por mecanismos imunológicos são ditas AA enquanto que quando causadas por reações tóxicas, farmacológicas, metabólicas ou idiossincráticas a substâncias químicas são ditas intolerâncias alimentares (PARKER et al., 1993; MOREIRA, 2006).

Por isso tudo, equivocadamente têm se considerado alergias e as intolerâncias como sinônimos, e grande parte desses efeitos adversos são responsabilizados por promoverem processos alérgicos (DE ANGELIS, 2006; PEREIRA et al., 2008) e, os principais alérgenos alimentares identificados são de natureza protéica (PEREIRA; MOURA; CONSTANT, 2008).

A alergia alimentar pode começar na infância e surge habitualmente quando na família existem casos de doenças atópicas (como a rinite alérgica ou a asma alérgica). O primeiro indício de predisposição alérgica pode ser uma erupção cutânea como o eczema (dermatite atópica). A referida erupção pode ser ou não acompanhada por sintomas gastrintestinais, como náuseas, vômitos e diarreia, e pode ou não ser causada por uma alergia alimentar. Quando a criança completa o seu primeiro ano de vida, o eczema já quase não é problema (MANUAL MERCK, 2007).

Segundo o mesmo autor, crianças com alergias a certos alimentos provavelmente contrairão outras doenças atópicas à medida que crescem como a asma alérgica e a rinite alérgica estacional. Contudo, nos adultos e crianças com mais de 10 anos é muito pouco provável que os alimentos sejam responsáveis pelos sintomas respiratórios, apesar das provas cutâneas (da pele) serem positivas. Os indivíduos alérgicos a alimentos podem reagir violentamente ao comer uma quantidade mínima da substância em questão. Pode ficar coberto

de uma erupção em todo o corpo, sentir a sua garganta inflamar-se até se fechar e ter dificuldades respiratórias. Uma queda repentina da tensão arterial pode causar enjôos e um colapso. Esta emergência, potencialmente mortal, recebe o nome de anafilaxia. Algumas pessoas só sofrem de anafilaxia quando efetuam exercícios físicos imediatamente depois de comer o alimento a que são alérgicas.

E nas últimas décadas, tem sido observado um aumento de problemas alérgicos promovidos por alimentos em crianças e jovens (LARRAMENDI, 2003; PEREIRA; MOURA; CONSTANT, 2008). Isto contribui negativamente para a qualidade de vida para a população e torna-se um problema de saúde pública que atinge o mundo todo (FERREIRA; SEIDMAN, 2005; LOPES et al., 2006; MOREIRA, 2006; PEREIRA; MOURA; CONSTANT, 2008).

Não existe tratamento específico para as alergias alimentares senão deixar de ingerir os alimentos que as desencadeiam.

A alergia Tipo I é caracterizada por uma imunoglobulina E (IgE) que media uma hipersensibilidade que aflige mais de um quarto da população mundial (GRUMACH, 2001).

Cerca de 2,5% da população mundial adulta sofre de algum tipo de alergia e certamente desconhece. Entre 100 e 125 pessoas morrem por ano nos EUA por causa de uma reação alérgica de origem alimentar (SANZ, 2001; PEREIRA; MOURA; CONSTANT, 2008).

2.2.1 Alergia a ovos

Os alérgenos alimentares são na sua maior parte representados por glicoproteínas hidrossolúveis com peso molecular entre 10 e 70 kDa, termoestáveis e resistentes à ação de ácidos e proteases, capazes de estimular resposta imunológica humoral (IgE) ou celular (SOLE et al., 2008).

Como o ovomucóide (Figura 1 e 2), além de ser uma glicoproteína, por apresentar estrutura glicosídica em sua molécula; apresenta peso molecular de 28 kDa, e; segundo a forma de indução da reação alérgica ao alimento, este pode ser classificado com: alérgeno de

classe I (por ingestão, proteínas ingeridas), possui características mais que suficientes, para ser considerada uma proteína alergênica.

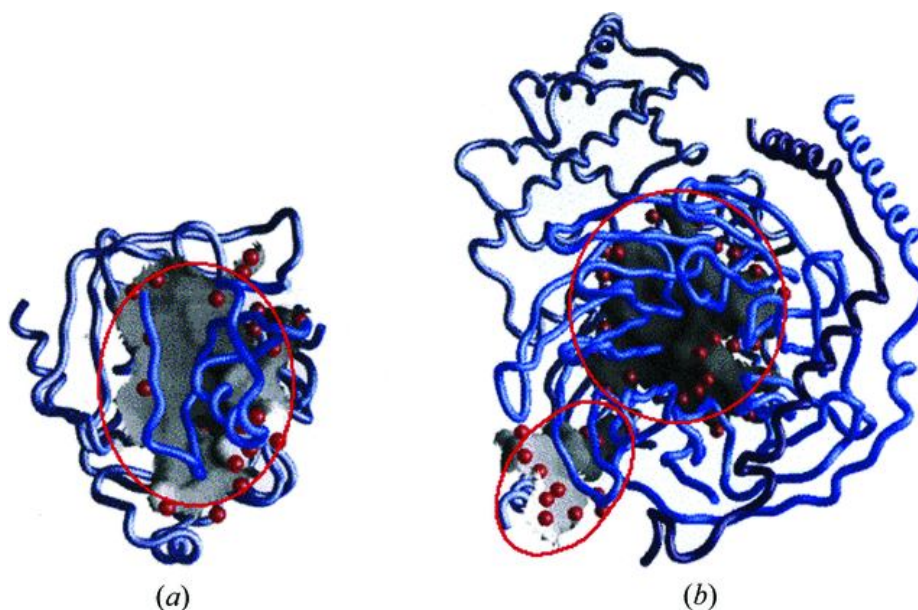


Figura 1 – Estrutura molecular da proteína ovomucóide: a) sítio ativo da proteína – região glicosídica; b) estrutura completa da proteína (JANIN et al., 2007)

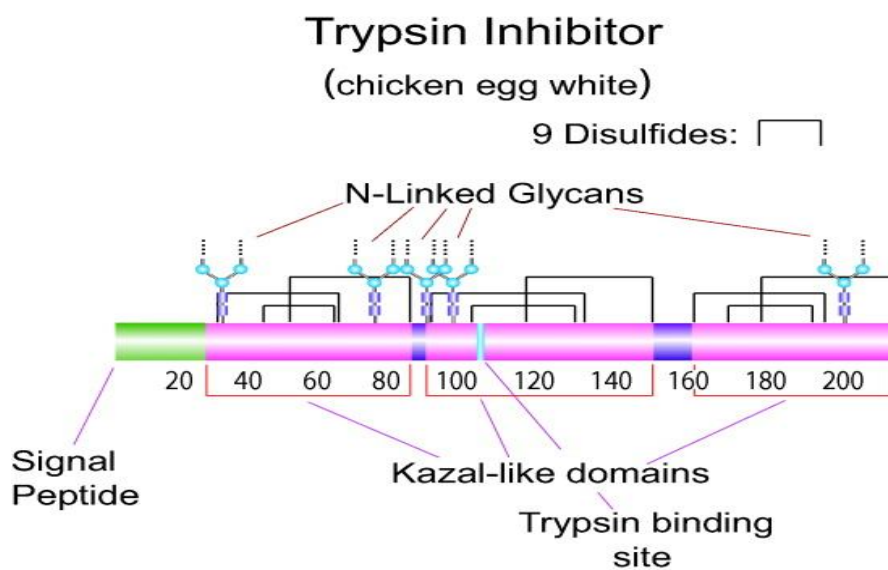


Figura 2 – Sequência de aminoácidos do ovomucóide (SIGMA-ALDRICH, 2009)

Mine e Rupa (2003), detectaram e determinaram a presença de alergia a ovomucóide em adolescente de 15 anos. Kusunoki et al. (2004) demonstraram em análises feitas por 15 anos, as diferenças alérgicas em vários grupos, utilizando vários alimentos que causam alergia, incluindo o ovo, considerando a proteína ovomucóide.

Este alimento apresenta grande importância na AA da criança, sendo um dos alimentos mais relacionados a AA nos Estados Unidos e, também em nosso meio. Apresenta vários constituintes protéicos, que podem desencadear AA, entre eles, ovomucóide, ovoalbumina, ovotransferrina e lisozima. A ovomucóide representa quase 10% do conteúdo protéico do ovo e é considerado o mais importante alérgeno (GRUMACH, 2001).

A alergia ao ovo é muito freqüente na infância (NEVOT; CASAS; LLEONART, 2003; SUZUKI et al., 2002), devido a imaturidade da barreira epitelial gastrointestinal, que permitem que mais proteínas passem pela barreira até a circulação sanguínea (SUZUKI et al., 2002).

Costuma aparecer antes dos dois anos de idade e em pelo menos 45% dos casos, ela não desaparece. Em geral, o alérgico ao ovo reage principalmente ao ingerir clara. A gema do ovo possui diversas proteínas, mas a clara contém os maiores alergênicos. Os principais alergênicos são: ovoalbumina, ovomucóide, ovotransferrina e lisozima. Há descrito, em alguns casos, uma relação entre a hipersensibilidade tipo I com sintomas respiratórios por antígenos de aves e a alergia alimentar a gema do ovo. Esta associação se conhece como síndrome ave-ovo. Esta síndrome é causada por uma sensibilização à albumina sérica da ave (α -livetina) e se caracteriza pelo desenvolvimento de sintomas respiratórios e digestivos após a ingestão de ovos ou contato com antígenos de aves. Os sintomas iniciais são: asma com ou sem rinoconjutivite pelo contato com as aves. Esta síndrome é descrita em adultos, principalmente mulheres, mas também pode afetar crianças. Predominam os sintomas digestivos e respiratórios sobre os cutâneos e a sensibilização à gema é maior que na clara. Nas crianças, a alergia a aves e ovos pode ser mais persistente; nem sempre se consegue uma tolerância e em todo caso ela aparece mais tarde. A sensibilização a outros neuroalérgenos também é superior no grupo de alérgicos a aves e ovos. Às vezes, a sensibilização ao ovo precede a uma sensibilização inalatória a proteína aviária e então se instala a síndrome ave-ovo (NEVOT; CASAS; LLEONART, 2003).

Mine e Zhang (2002) verificaram que para haver um decréscimo da alergenicidade do ovomucóide, foi necessário tanto tratamento físico, por aquecimento, quanto químico, por carboximetilação, tornando o processo longo e complicado. O processo de irradiação é uma opção para tornar esse processo mais viável, devido à sua agilidade de operação.

Embora alguns estudos tenham considerado a possibilidade da existência de uma relação direta entre alergia alimentar e alterações neurológicas, Basso (2004) verificou que a alergia alimentar influencia a atividade do Sistema Nervoso Central (SNC) e o comportamento de animais sensibilizados com ovoalbumina. Observando que os animais desenvolveram aversão a ingestão de solução contendo clara de ovo. Além disso, seus dados evidenciaram a participação de mecanismos dependentes de IgE e das fibras do tipo C na comunicação entre o cérebro e o intestino de animais com alergia alimentar.

Mirotti (2005) trabalhou com animais que possuíam um sistema imune imaturo, um grupo recebia uma dieta exclusiva de aminoácido e outro que recebia uma dieta contendo proteínas inteiras, observou que, no modelo de alergia alimentar, os animais imaturos apresentavam um quadro alérgico mais acentuado que os que recebiam dieta convencional, apresentando maiores níveis de IgE antígeno-específico e maior número de células caliciformes no intestino. Quando da imunização, os animais que recebiam dieta convencional rejeitaram solução de clara de ovo com 1% de sacarose, mas aceitaram a mesma solução com 4% de sacarose, enquanto que os animais que recebiam a dieta de aminoácidos rejeitaram essa solução de clara de ovo (alérgico) com 1, 4, 8 e 16% de sacarose, indicando a modulação de um comportamento aversivo.

2.3 Imunologia

Anticorpos são proteínas produzidas em resposta à presença de antígenos, inativando-os. Estima-se que o ser humano fabrica cerca de dois milhões de moléculas de anticorpos (DE ANGELIS, 2006; PEREIRA; MOURA; CONSTANT, 2008).

Durante uma reação alérgica, os mastócitos e basófilos são células efetoras, onde, durante uma reação alérgica, os basófilos migram para os tecidos afetados, e contribuem com diversos mediadores. Eles são orientados na produção de citocinas Th2 (IL-4 e IL-13), estimulando a síntese de IgE e a atopia (LOPES et al., 2006)

2.3.1 Detecção do índice alergênico

Hirose et al. (2004) obtiveram soro humano de crianças com reação alérgica a ovos; ovomucóide ativa e inativa; porém, este é facilmente agregável e torna difícil a extração pelo calor; e 3 tipos de anticorpos monoclonal; para que o teste ELISA sanduíche fosse estabelecido. Esse teste é apto a reconhecer as formas ativas e/ou desnaturadas de ovomucóide. O teste antígeno-anticorpo funciona da seguinte forma: os anticorpos monoclonais (mAbs) reagem com a proteína (ovomucóide), um dos mAbs secretados pelos hibridomas e do isotipo IgE e o outro tipo e o IgG. A especificidade dos mAbs e confirmada pelo Elisa kit específico da proteína a ser analisada.

A utilidade das características mAbs e teste ELISA são utilizadas em auxílio a rotulagem, monitoramento do processamento de alimentos, mecanismo ou mudança de proteína dietética *in vivo* (HIROSE et al., 2004).

Segundo Walsh et al. (2005) parece haver um desacordo dentro da literatura a respeito da alergenicidade das proteínas do ovo de galinha, por testes de uma maneira geral. Isto também se deve, em parte, ao uso de proteínas impuras como padrões. Além disso, em tais estudos, a maioria das proteínas da gema, que também contêm quantidade considerável de alérgenos, é ignorada. Usando teste cutâneo de alergia, os autores, utilizaram padrões isolados e, conseguiram agrupar os portadores de alergia por padrão de proteína da clara e gema, isoladamente e, reunir em um único grupo, os portadores de alergia a ovomucóide, por exemplo.

As análises de proteínas, lipídeos, carboidratos e ácidos nucleicos, têm sido examinados para a detecção de mudanças físico-químicas, e métodos para identificação de alimentos que foram submetidos à irradiação, têm sido desenvolvidos em vários países, pela detecção de radicais livres, análise de microestrutura, estudos de funções biológicas e análise de microflora. Essas técnicas de detecção também são empregadas com o objetivo de estabelecer métodos de identificação e controle de qualidade dos alimentos irradiados para o comércio internacional (MUÑOZ et al., 1985).

Por técnicas como ELISA e ImunoBlotting, podemos determinar alterações em elementos nutritivos, devido à exposição à irradiação nuclear, por exemplo.

Entretanto, nenhum método pode ser aplicado isoladamente para identificação de todos os produtos irradiados (LEPKI, 1998).

2.2.2.1 ELISA

Desde que haja uma proteína, é possível fazer um anticorpo que a reconheça e, com isso o uso de imunoenaios, baseados na reação antígeno-anticorpo têm sido estendido às mais diversas áreas da Ciência, seja na saúde humana, no diagnóstico de doenças animais, fitopatogênicos ou na área de xenobióticos, entre outras (DUARTE; PASCHOAL; GOMES, 2006).

Hoje, graças a técnicas de bioconjugação (HERMANSON, 1996; DUARTE; PASCHOAL; GOMES, 2006), é possível “transformar” qualquer substância ou molécula em “proteína” ou em imunógeno e assim estimular a produção de anticorpos específicos.

Nas ciências agrárias, os imunoenaios podem contribuir, no setor animal, para diagnóstico de doenças, quantificação de proteínas específicas, como calpastatina, leptina, caseína entre outras; marcadores de melhoramento genético, marcadores para qualidade de carne, adulterações em produtos de origem animal, detecção de mutações, quantificação de hormônios e detecção de contaminantes e substâncias de usos proibidos, como anabolizantes, agrotóxicos, antibióticos, entre outras; outra área de aplicação é para averiguar a qualidade de rações, com detecção de todo tipo de contaminante (aflotoxina, fumonisinas, ocratoxinas, por exemplo) e quantificação de aditivos, qualidade da água e solo (resíduos de agroquímicos na cadeia de produção) (DUARTE; PASCHOAL; GOMES, 2006).

A palavra imunoensaio significa ensaio baseado na reação antígeno-anticorpo (Ag/Ac) que é a base da imunologia e produção de vacinas. Baseado nesta premícia, diversos ensaios foram desenvolvidos, principalmente no século 20. As primeiras constatações da reação Ag/Ac vieram com o início da Imunologia, com os experimentos de Jenner (1749-1823), na tentativa de provar a existência de anticorpos e com isso a produção de vacinas, que só veio um século depois com Pasteur (1880) desenvolvendo a vacina anti-rábica, vacina para cólera aviária e carbúnculo (SORDELLI; OUBIÑA; CERQUETTI, 2004, DUARTE; PASCHOAL; GOMES, 2006; SORDELLI; OUBIÑA; CERQUETTI, 2009).

Em 1954 foi publicado o primeiro artigo sobre imunoensaios para quantificação de insulina, usando o radioimunoensaio (RIA – ensaio imunoenzimático onde o conjugado é marcado com um rádio isótopo) e em 1962, o primeiro artigo sobre imunoensaios enzimáticos (ELISA – “enzyme linked immunosorbent assay”) foi publicado (Figura 3), que substituíram o radioisótopo por uma enzima, tornando os ensaios mais baratos e mais fáceis de manusear, uma vez que trabalhar com radioisótopos é caro e há o problema da meia vida dos elementos (LUENGO, 2005, DUARTE; PASCHOAL; GOMES, 2006).

A técnica do ELISA usa um princípio semelhante à imunodeteção, com a diferença que no ELISA o antígeno é preso a uma superfície (geralmente de poliestireno) através de um anticorpo. Uma vez o antígeno ligado ao anticorpo imobilizado, este complexo pode ser reconhecido por um outro anticorpo, desta vez ligado a uma enzima que possa produzir um composto facilmente detectável (LENZ, 2004).

Segundo o mesmo autor, a grande vantagem desta técnica é que, como a detecção é uma reação enzimática, torna possível a detecção de quantidades muito reduzidas de antígeno, pois permitindo que a reação ocorra por um tempo elevado, consegue-se produzir uma quantidade considerável de alguma molécula detectável (fluoróforo, por exemplo).

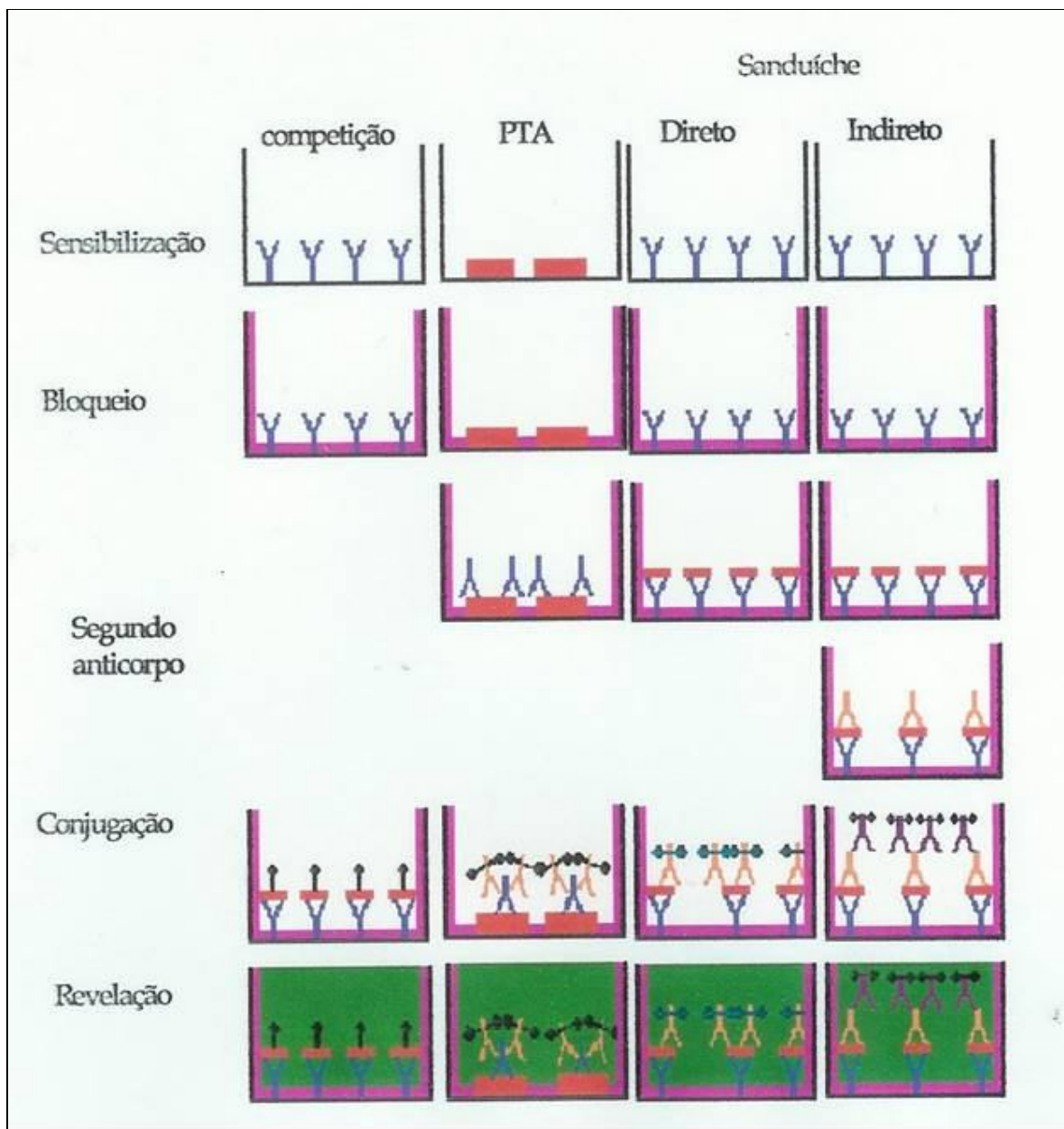


Figura 3 – Tipos de ELISA esquematizados. Da esquerda para direita, ELISA de competição, PTA (Plate trapped antigen), Sanduíche direto e indireto, mostrando na vertical os principais passos do ELISA – sensibilização, bloqueio, segundo anticorpo. Substância marcada (conjugação com a enzima) e revelação (Adaptado de DUARTE; PASCHOAL; GOMES, 2006)

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Preparo das amostras

Foram utilizados ovos, de galinha poedeiras, da linhagem Isa Brown, obtidos no setor de aves do Departamento de Genética da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” – ESALQ, da Universidade de São Paulo - USP na forma fresca (*in natura*), com aproximadamente 5 dias após postura, para apresentar as características do produto encontrado no mercado.

3.2 Tratamento

As amostras *in natura* e liofilizadas foram, respectivamente, submetidas com a própria casca e acondicionadas em sacos plásticos de polipropileno, à radiação gama, proveniente de uma fonte de Co^{60} tipo Multipropósito, no Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares (IPEN), sob taxas de doses de 19 kGy/hora e 31,8 kGy/hora, nas doses de: 0 (controle); 10 kGy; 20 kGy, 30 kGy.

Foram utilizadas duas taxas de doses diferentes, para avaliar alterações entre taxas crônicas e agudas.

3.3 Avaliação dos tratamentos

3.3.1 Produção de Anticorpos Policlonais

Quatro coelhas fêmeas foram imunizadas com o antígeno ovomucóide (Figuras 3-6), segundo protocolo descrito em Paschoal, Duarte e Meirelles (2004). Foi utilizado adjuvante completo de Freund na primeira imunização e foram realizadas quatro imunizações a cada 15 dias mais um Booster, 48 horas antes da sangria.

Os soros coletados foram titulados por PTA-ELISA (DUARTE et al., 2002).

Todos os procedimentos realizados foram aprovados pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal, do IZ e seguiram normas européias de ética e bem estar animal (COUNCIL OF EUROPE, 1986; DUARTE, 2007).

Foram necessários dois meses para obtenção da quantidade necessária de anticorpos para a realização deste trabalho.



Figura 3 – Alojamento dos animais, IZ Nova Odessa/SP



Figura 4 – Coleta de sangue no lóbulo da orelha esquerda para avaliação da imunização



Figura 5 – Imunização com ovomucóide



Figura 6 – Formação de abscesso pela aplicação de anticorpo

Durante a coleta de sangue, objetivou-se ser o mínimo estressante possível ao animal. Todo procedimento de sangria teve o aval do Comitê de Ética Animal local, o qual visou garantir que ocorresse o mínimo de dor aos animais, evitando que os mesmos exibissem sintomas de vasoconstrição, o que dificulta a coleta do sangue. Toda coleta ocorreu em local com temperatura suficientemente quente, ao redor de 22°C, para manter o animal aquecido e garantir a circulação de sangue nas regiões periféricas. O local estava permanentemente tranquilo, higiênico, confortável e sem fontes de estresse como: luz excessiva e presença de muitas pessoas estranhas. A sangria total foi feita com anestesia e por punção cardíaca para sangria total.

Para a coleta dos anticorpos, foi realizada a separação do plasma sanguíneo, por centrifugação e, após sua obtenção, as amostras foram submetidas à irradiação e, então, conduzidas às avaliações.

Primeiramente, foi realizada uma titulação dos soros de coelho, por ensaio imunoenzimático, onde a placa de polivinil de 96 orifícios foi sensibilizada com antígeno, colocando-se 50µl por poço, incubando por 1h a 37°C. Após, foi feito bloqueio dos sítios remanescente com 200µl de tampão bloqueio (TBI) por poço, por mais 1h a 37°C, retirou-se o excesso de líquido e após esse período, golpeou-se à placa contra uma superfície horizontal, sendo que, dessa forma, obtém-se uma secagem adequada da mesma.

Os orifícios foram lavados com tampão PBS (solução tampão fosfato) por 3 vezes. A placa foi seca do mesmo modo anterior, golpeando-a, até que o excesso de líquido fosse eliminado, com a mesma intenção anterior, de secagem.

Então, as placas foram incubadas por 1h a 37°C, com conjugado anti-immunoglobulina IgG de coelho marcado com peroxidase (leitura a 492nm).

Após mais 3 lavagens com PBS, a reação foi revelada utilizando como substrato para reação orto-fenilendiamina (OPD) contendo peróxido de hidrogênio, diluído em tampão OPD, no escuro, por 2 a 3 minutos e bloqueada com solução H₂S 2,5M e, posteriormente foi procedida à leitura em leitor de placa de ELISA (Bio Rad mod. 550).

Para determinação de proteínas alergênicas em alimentos, especificamente, para os ovos irradiados, foi utilizado o ELISA (Figura 7), onde os anticorpos reconhecem o antígeno (alérgeno) e esta ligação é revelada por um sistema enzimático, ou seja, coloração (DUARTE, 2008). Foi avaliada a eficácia desses anticorpos policlonais produzidos para determinação da presença do antígeno ovomucóide nos ovos tratados por irradiação gama para inativação do mesmo.

As leituras das amostras coletadas foram feitas, utilizando o teste de Bradford, em placa de ELISA, contendo 20µl da amostra (clara e gema) e 200µl do reagente de Bradford (Sigma). Os orifícios da placa que se mostraram azuis, foram considerados positivos e, então foi feita a leitura da amostra em leitora de ELISA a 595nm. A seguir foi calculada a quantidade de proteínas (alérgenos) de acordo com a equação da reta obtida pelos valores das leituras.

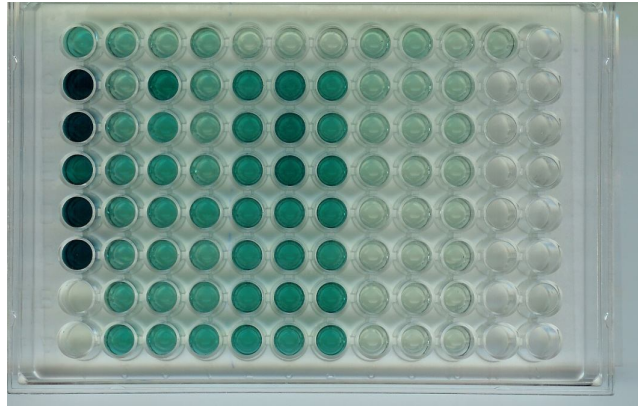


Figura 7 – Placa de ELISA (PTA-ELISA) para avaliação dos anticorpos produzidos para determinação da presença de ovomucóide nas amostras tratadas

3.4 Análise Sensorial

Foi utilizado teste de aceitabilidade de escala hedônica, já que é necessário conhecer o “status afetivo” dos consumidores com relação ao produto, inferindo a preferência, ou seja, as amostras mais preferidas são as mais aceitas e vice-versa (FERREIRA, 2000).

As escalas foram balanceadas, uma vez que apresentavam igual número de categorias positivas e negativas, evitando a indução do provador para o positivo ou negativo. Foi utilizada escala hedônica numérica, tornando-se mais fácil para o entendimento do provador.

Foi elaborado um questionário em forma de escala hedônica (Anexo 1), que foi apresentada uma para cada um dos provadores, para que pudessem redigir suas preferências.

As amostras foram apresentadas para um grupo de 41 provadores adultos, de ambos os sexos, com idade de 21 a 40 anos, sendo servidas sob delineamento de blocos completos balanceados com relação à ordem de apresentação das amostras.

As amostras foram cozidas em água quente por 5 minutos após fervura e, depois foram cortadas ao meio. Foi adicionado sal suficiente (2mg) em cada metade, para torná-las o mais próximo do hábito de consumo. Foram servidas em temperatura ambiente, acondicionadas em pratos brancos de plástico, para melhor visualização da amostra.

Apesar de deixá-las o mais próximo do hábito de consumo, sua ingestão não foi realizada, uma vez que não foi possível determinar sua segurança para ingestão, através de testes microbiológicos. Sendo avaliados somente os parâmetros: aroma, aparência e aceitação global.

Os provadores foram recrutados após o almoço, para que a sensação de fome não interferisse no resultado.

Os provadores foram acondicionados em cabines de prova, isoladamente, para que um não interferisse no resultado do outro. A luz branca foi à escolhida para a análise, uma vez que se fazia necessária à avaliação de aparência do produto.

3.5 Análise Colorimétrica

3.5.1 Hunter Lab

Para realização das análises colorimétricas e determinação quantitativa de cor, utilizou-se o equipamento Minolta Chroma Meter, Modelo CR-400 (Tóquio, Japão), com ele foi possível mensurar os parâmetros colorimétricos de L (luminosidade), a (intensidade de vermelho/verde) e b (intensidade de amarelo/azul), pelo sistema Hunter Lab, com fonte iluminante D65, calibrado em porcelana branca com padrão de $Y=93,7$; $x=0,3160$ e $y=0,3323$, de acordo com padrões pré-estabelecidos segundo Bible e Singha (1993).

Hunter Lab é uma medida instrumental de como nossos olhos vêem cor. Mede a cor de uma amostra e dão valores numéricos que correlata ao que vemos. Estas medidas objetivas aperfeiçoam a confiança nas decisões de qualidade. É uma escala de cor uniforme e as diferenças entre pontos são delineados. O sistema de cor Hunter Lab espacial é organizado em forma de cubo. O eixo de L corre do topo para baixo. O máximo para L é 100, o qual seria um perfeito difusor refletivo. O mínimo para L seria o zero, que seria o preto. O eixo a e b não tem nenhum limite numérico específico. a positivo é vermelho. a negativo é verde. b positivo é amarelo. b negativo é azul (HUNTER LAB, 2008).

O Croma é a relação entre os valores de a e b, onde se obtém o valor da cor real da amostra analisada. Hue-Angle é o ângulo formado entre a e b, indicando a saturação da cor da amostra (HARDER, 2005) (Anexos 2 e 3).

Para o cálculo do Croma foi utilizada a fórmula matemática (3) e, para se calcular Hue-Angle, utiliza-se a fórmula (4) (ESTEVES; CAVA, 2004).

$$C = \sqrt{a^2+b^2} \quad (3)$$

$$H^\circ = \arctg b^*/a^* \quad (4)$$

3.6 Análise Estatística

Os resultados foram submetidos a análise de variância, com teste F. Obtendo-se significância no teste F em nível de 5%, realizou-se a análise estatística dos dados com a aplicação do teste de Tukey. Estas análises foram realizadas pelo programa estatístico computacional SAS (STATISTICAL ANALYSIS SYSTEM, 1996).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Produção de Anticorpos Policlonais

Pelo gráfico, representado na Figura 8, pode-se observar a curva de calibração, e que esta reconheceu até 1ng de ovomucóide por mL da solução.

Os anticorpos policlonais, obtidos pelo plasma sanguíneo, produzidos nas coelhas (Figura 9) foram titulados por PTA-ELISA, do soro do mesmo, apresentando 3 curvas, como pode ser observado na figura abaixo.

O soro do coelho escolhido apresentou uma curva de calibração feita com diferentes concentrações de ovomucóide (padrão Sigma) representada na Figura 9. A equação da curva demonstra R com valor igual a 0,9018, que evidencia a curva de quantificação, apresentando valores próximos de 1.

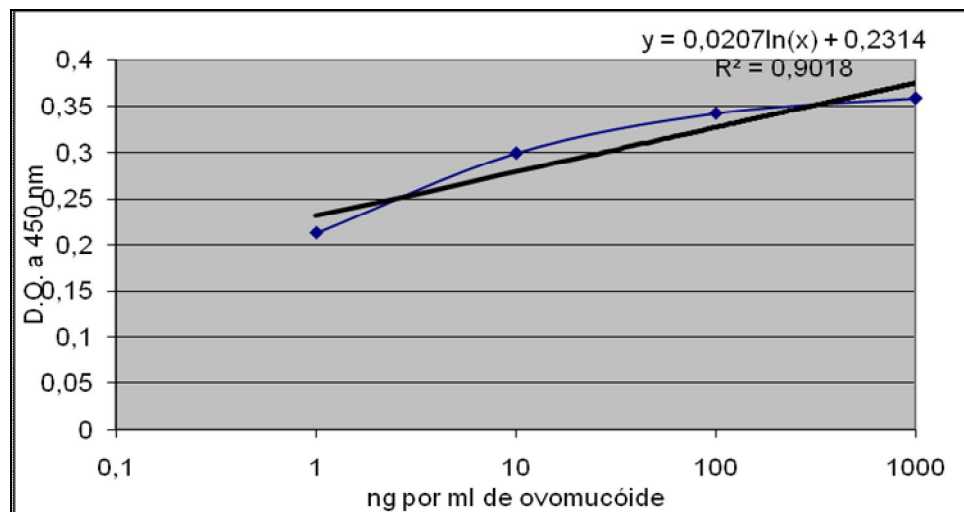


Figura 8 – Titulação dos soros de coelho para quantificação de ovomucóide em amostras de ovos

Os anticorpos utilizados na metodologia apresentaram sensibilidade para reconhecer o antígeno como ficou expresso no gráfico da curva de calibração.

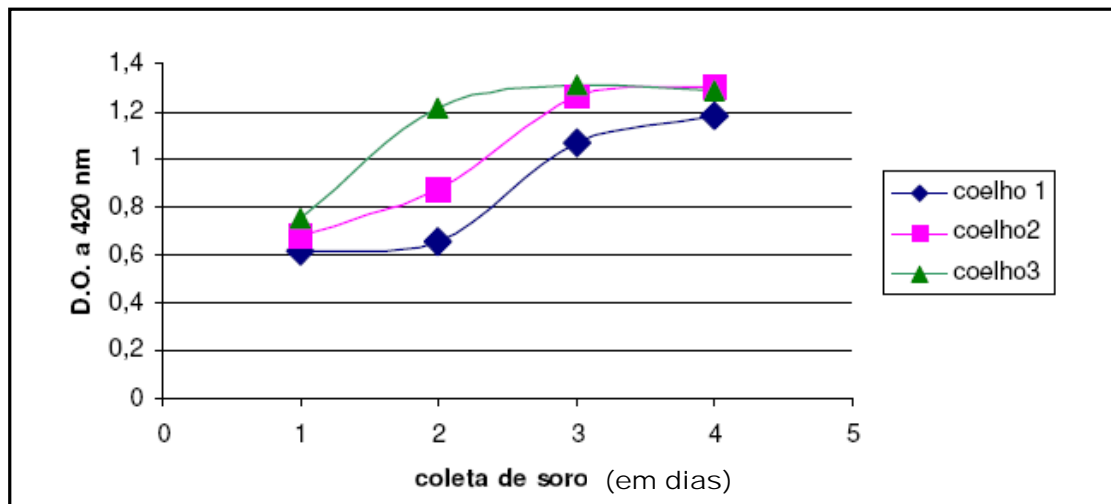


Figura 9 – Titulação da curva de produção de anticorpos policlonais das coelhas imunizadas. A coleta de soros foi realizada a cada 15 dias

Pela equação obtida pelo gráfico, obtiveram-se os seguintes valores calculados de ovomucóide para as amostras (Tabela 1).

Pela Tabela 1, pode-se então, observar que os anticorpos produzidos, em pequenas quantidades, conseguiram identificar as proteínas alergênicas presentes nas amostras.

Tabela 1 – Valores calculados de ovomucóide nas amostras (ng/ml de amostra)

Tratamento	Taxa de dose 19,4Gy/h		Taxa de dose 31,8 Gy/h	
	Clara	Gema	Clara	Gema
Controle	0,21205	0,185772	0,21205	0,185772
10kGy	0,214343	0,177873	0,213112	0,17877
20kGy	0,215653	0,180614	0,218848	0,182819
30kGy	0,217502	0,188575	0,218323	0,191945

Lee et al. (2002), apesar de ter utilizados, em conjunto com a irradiação, artifícios para alteração de pH, mesmo assim, os resultados apresentados são semelhantes com os obtidos nesta avaliação, onde por essa metodologia utilizada foi possível detectar a presença do antígeno ovomucóide.

Por conta dos dados serem calculados diretamente pela leitura das reações ocorridas pela metodologia do ELISA, os mesmos não são submetidos à análise estatística. Mesmo assim, observa-se que os resultados são relativamente iguais.

4.2 Análise Sensorial

Constam na Tabela 2, as médias dos valores obtidos pelas notas dos 41 provadores que participaram da análise sensorial, para ovo cozido, em escala hedônica.

Tabela 2 - Valores médios das notas dos provadores para os atributos: aroma, aparência e aceitação global para ovo cozido

TRATAMENTO	AROMA	APARÊNCIA	ACEITAÇÃO
Controle	5,65±1,98 ^{1a2}	6,75±1,62 ^a	6,54±1,96 ^a
Taxa de dose de 19,4kGy/h			
10kGy	4,50±2,20 ^{ab}	5,20±2,39 ^b	4,60±2,50 ^b
20kGy	2,93±1,62 ^{cd}	3,10±1,73 ^{cd}	3,48±1,72 ^{bc}
30kGy	2,70±1,88 ^{cd}	2,03±1,27 ^d	2,28±1,66 ^c
Taxa de dose de 31,8kGy/h			
10kGy	3,85±2,02 ^{bc}	4,10±1,98 ^{bc}	4,23±2,33 ^b
20kGy	2,43±1,63 ^d	2,23±1,14 ^d	2,60±1,56 ^c
30kGy	2,98±2,07 ^{cd}	1,93±1,42 ^{cd}	2,53±1,81 ^c

¹ Média ±Desvio padrão.

² Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey (P<0,05).

Na Tabela 3, constam as médias dos valores obtidos pelas notas dos 41 provadores que participaram da análise sensorial, para ovo liofilizados, em escala hedônica.

Tabela 3 – Valores médios das notas dos provadores para os atributos: aroma, aparência e aceitação global para ovo liofilizado

TRATAMENTO	AROMA	APARÊNCIA	ACEITAÇÃO
Controle	5,64±1,61 ^a	6,28±2,07 ^a	6,48±1,81 ^a
Taxa de dose de 19,4kGy/h			
10kGy	4,84±2,13 ^a	6,00±1,71 ^{ab}	6,04±1,43 ^{ab}
20kGy	4,60±2,33 ^a	4,48±1,85 ^{ab}	5,00±1,35 ^b
30kGy	5,32±1,79 ^a	4,98±1,66 ^{ab}	5,15±1,77 ^{ab}
Taxa de dose de 31,8kGy/h			
10kGy	4,84±2,13 ^a	5,12±1,69 ^{ab}	4,96±2,01 ^b
20kGy	5,16±1,93 ^a	5,60±1,73 ^{ab}	5,64±1,15 ^{ab}
30kGy	5,44±1,80 ^a	4,77±1,85 ^b	5,00±1,38 ^b

¹ Média ± Desvio padrão.

² Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey (P<0,05).

De uma maneira geral, para ovos cozidos e liofilizados (Tabelas 2 e 3), pode-se observar que houve diferença estatística ao nível de 5% entre os tratamentos. A amostra controle foi a mais aceita, seguida pela amostra irradiada com 10kGy em ambas as taxas de dose.

Com relação à diferenciação dos atributos: aroma, aparência e aceitação; houve diferença estatística ao nível de 5% entre os tratamentos, sendo o controle recebendo os maiores valores de aceitabilidade nos quesitos acima, seguido pelas amostras irradiadas com 10kGy em ambas as taxas de doses. Porém observa-se que as notas não foram superiores ao valor de 6,54 para o controle, indicando certa indiferença dos provadores com relação à amostra.

Além disso, os provadores apresentaram em seus depoimentos que acharam interessante as modificações por conta da irradiação; também informaram que não comprariam o produto por causa da alteração acentuada de cheiro e aparência, que em certo momento chega a dar asco e depreciaria na venda do produto; mas que comprariam as amostras irradiadas com 10kGy em ambas as taxas de doses e na dose de 20 kGy na taxa de dose de 19,4Gy/h.

Constam na Tabela 3 os dados das amostras liofilizadas, estas se apresentam de forma bastante diferenciada da do ovo *in natura*. A aprovação não diferiu do controle, além disso, nos comentários, diversos provadores assinalaram que houve redução considerável do odor, o que os agradou.

Vários pesquisadores já estudaram o ovo em pó, que é um produto muito utilizado na indústria de alimentos. De acordo com Kushida et al. (2005) e Salm, Rio Branco e Soares (2002), enfatizaram a ampla possibilidade de utilização de ovo em pó para formulações como pães, massas e outros, sendo inclusive estatisticamente aceita por provadores em teste sensorial realizado por Nicola, Kushida e Fiori (2004).

Como pode ser constatado, pelos resultados apresentados nas Tabelas 2 e 3 o efeito relacionado às alterações sensoriais promovidas pela radiação gama é maior nos ovos cozidos do que nos liofilizados devido ao maior teor de água existente nos cozidos, concordando com Ferreira e Del Mastro (1998), que atribui esta questão à liberação de metabólitos, devido à ação da irradiação, como exemplo, peroxidases.

4.3 Análise Colorimétrica

A Tabela 4 apresenta as médias dos valores obtidos pelo colorímetro, nos parâmetros L, a e b, e os valores calculados Croma e Hue-Angle (H°), para gema cozida.

Tabela 4 - Valores médios de L, a e b, e valores calculados de Cromo e H° de gema cozida

Tratamento	L	A	B	Croma	H°
Controle	45,63±1,71 ^{1c2}	-5,75±0,91 ^c	64,60±0,62 ^a	64,68±0,61 ^a	-1,48±0,03 ^d
Taxa de dose de 19,4kGy/h					
10kGy	67,45±8,30 ^{ab}	-8,90±0,69 ^f	45,05±2,04 ^b	45,92±1,89 ^b	-1,38±0,05 ^e
20kGy	56,50±6,05 ^{bc}	-7,50±0,56 ^d	28,08±2,76 ^c	29,06±2,81 ^d	-1,31±0,01 ^c
30kGy	75,75±0,30 ^a	-6,95±1,25 ^d	14,00±2,89 ^e	15,63±2,16 ^f	-1,11±0,04 ^b
Taxa de dose de 31,8kGy					
10kGy	68,85±6,60 ^{ab}	-8,20±0,70 ^e	43,40±2,98 ^b	44,17±0,93 ^c	-1,38±0,05 ^e
20kGy	58,65±11,79 ^{bc}	-2,70±1,33 ^a	22,20±0,70 ^{cd}	22,36±0,78 ^d	-1,45±0,06 ^d
30kGy	75,45±0,56 ^a	-5,55±0,19 ^b	16,90±2,92 ^{de}	17,79±2,06 ^e	-1,25±0,02 ^d

¹Média± Desvio padrão²Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey (P<0,05)

A Tabela 5 apresenta as médias dos valores obtidos pelo colorímetro, nos parâmetros L, a e b, e os valores calculados Cromo e Hue-Angle (H°), para clara cozida.

Tabela 5 - Valores médios de L, a e b, e valores calculados de Cromo e H° de clara cozida

Tratamento	L	A	B	Croma	H°
Controle	92,55±1,78 ^{1a2}	-7,30±3,53 ^a	10,15±2,16 ^{ab}	12,50±0,51 ^a	-0,95±0,04 ^c
Taxa de dose de 19,4kGy/h					
10kGy	82,95±1,01 ^b	-8,85±1,55 ^a	8,05±0,79 ^c	11,96±0,79 ^b	-0,74±0,20 ^b
20kGy	73,00±0,33 ^c	-7,28±0,37 ^a	1,90±0,03 ^e	7,52±0,63 ^d	-0,26±0,29 ^c
30kGy	63,85±1,23 ^d	-5,55±3,33 ^a	12,10±1,21 ^a	13,31±0,90 ^c	-1,14±0,23 ^e
Taxa de dose de 31,8kGy					
10kGy	88,55±4,02 ^{ab}	-5,45±3,50 ^a	8,60±2,47 ^{bc}	10,18±1,22 ^{bc}	-1,01±0,02 ^d
20kGy	82,75±0,62 ^b	-3,50±1,77 ^a	2,22±0,68 ^{de}	4,14±0,23 ^b	-0,57±0,11 ^a
30kGy	58,40±0,98 ^d	-6,15±0,98 ^a	4,00±1,64 ^d	7,34±2,03 ^a	-0,58±0,11 ^a

¹Média± Desvio padrão²Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey (P<0,05)

A Tabela 6 apresenta as médias dos valores obtidos pelo colorímetro, nos parâmetros L, a e b, e os valores calculados Cromo e Hue-Angle (H°), para gema crua.

Tabela 6 – Valores médios de L, a e b, e valores calculados de Cromo e H° de gema crua

Tratamento	L	A	B	Croma	H°
Controle	43,8 ^f	2,20 ^a	48,6 ^a	48,65 ^a	1,53 ^a
Taxa de dose 19,4kGy/h					
10kGy	42,5 ^g	-1,30 ^b	27,6 ^d	27,63 ^c	-1,52 ^g
20kGy	54,4 ^a	-4,90 ^f	23,00 ^f	23,52 ^e	-1,36 ^c
30kGy	46,8 ^e	-4,00 ^d	41,00 ^b	41,19 ^b	-1,47 ^e
Taxa de dose 31,8kGy/h					
10kGy	54,2 ^b	-4,10 ^e	17,00 ^g	17,49 ^f	-1,33 ^b
20kGy	51,2 ^c	-4,00 ^d	26,50 ^e	26,80 ^d	-1,42 ^d
30kGy	49,7 ^d	-2,40 ^c	33,8 ^c	10,68 ^g	-1,500 ^f

¹Média± Desvio padrão

²Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey (P<0,05)

De acordo com as Tabelas 4, 5 e 6, verifica-se que o processo de irradiação causou alterações relevantes, estatisticamente significativas ao nível de 5%, nas amostras analisadas no quesito cor (Figura 10), concordando com Dvořák et al. (2005) que, analisaram a cor de ovos irradiados, encontraram diferenças significativas, para os mesmos parâmetros analisados acima, encontraram diferenças já em doses a partir de 1kGy.

Também concorda com Ferreira e Del Mastro (1998), que mensuram considerável queda na coloração da gema de ovos submetidos à irradiação gama.

Observou-se, também, que taxas de doses agudas atenuam as alterações de cor provocadas pela radiação nas amostras.

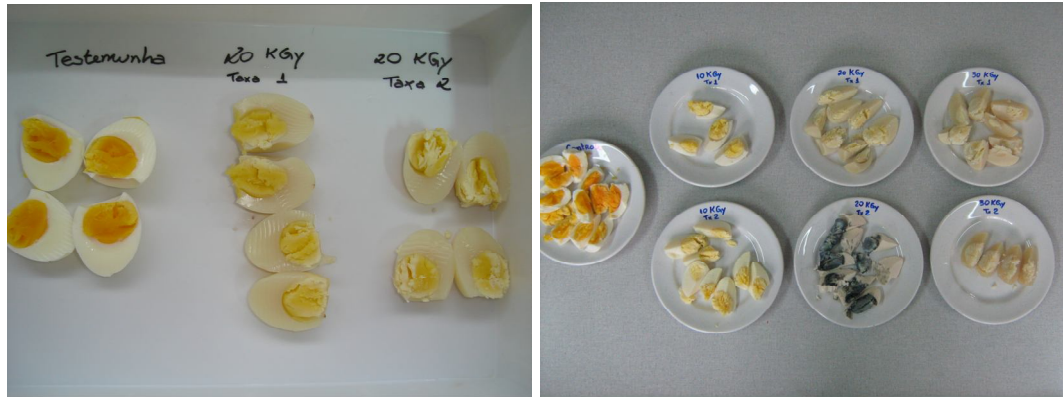


Figura 10 – Ovos irradiados: diferenças visualmente perceptíveis de cor

Como pode ser observado na Figura 10, existe um tratamento no qual o ovo aparece com coloração azul (lado direito). Este tratamento foi posteriormente repetido (lado esquerdo), sendo então descartada a amostra.

Concordando com Pereira, Moura e Constant (2008), é importante que haja investimentos em pesquisas no sentido de reduzir os danos causados por alimentos que contém alérgenos. Estudos na área de biotecnologia, biologia molecular, medicina, nutrição e agrárias em produção de alimentos podem apresentar-se como uma alternativa eficiente e segura.

5 CONCLUSÃO

Diante dos resultados apresentados, pode-se concluir que:

- O anticorpo policlonal produzido é capaz de identificar a proteína alergênica ovomucóide. O imunoensaio tipo ELISA, baseado em anticorpos policlonais pode ser utilizado para identificação e quantificação de ovomucóide em amostras de ovos controle (*in natura*) ou submetidos a diferentes tratamentos para eliminação desta proteína, como pela ação da radiação gama;
- Os provadores aceitaram e comprariam os ovos irradiados com 10kGy em ambas as taxas de doses e, os irradiados com 20kGy na taxa de dose de 19,4Gy/h;
- A irradiação causa alterações significativas nas cores da gema e clara cozidas e, da gema crua, taxas de doses agudas atenuam tal comportamento;
- A liofilização pode ser uma forma mais interessante de se apresentar as amostras para serem irradiadas, uma vez que apresentou aparente redução de odor, apontada pelos provadores.

REFERÊNCIAS

- BASSO, A. S. **Percepção neural da alergia alimentar**: envolvimento de mecanismos dependentes de IgE e das fibras nervosas do tipo C. 2004. 151 p. Tese (Doutorado em Patologia Experimental e Comparada) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2004.
- BRASIL. Resolução – RDC nº. 21 de 26 de Janeiro de 2001. Agência Nacional de Vigilância Sanitária aprova o Regulamento Técnico para Irradiação de Alimentos. **Diário Oficial da União, Brasília**, nº. 20-E, 29 jan. 2001. Seção 1, p. 35.
- BOCK, S. A. A critical evaluation of clinical trials in adverse reactions to foods in children. **Journal of Allergy and Clinical Immunology**, St. Louis, v. 78, n. 2, p. 165-174, 1986.
- CODEX ALIMENTARIUS COMMISSION. Codex General Standard for Irradiated Foods. **Codex Alimentarius**, Rome, v. 15, 1984.
- COUNCIL OF EUROPE. **European Convention for the protection of vertebrate animals used for the experimental and other scientific purposes**. Strasbourg, 1986. 51p.
- DE ANGELIS, R. C. **Alergias alimentares**: tentando entender por que existem pessoas sensíveis a determinados alimentos. São Paulo: Atheneu, 2006 124 p.
- DIELH, J. F. **Safety of irradiated food**. New York, Marcel Dekker, 1995. 345 p.
- DUARTE, K. M. R. Protocolos e normas para uso de animais de laboratório para produção de anticorpos e soros. **Boletim de Indústria Animal**, Nova Odessa, v. 64, n. 2, p. 167-177, 2007.
- DUARTE, K. M. R.; GOMES, L. H. **Biotecnologia na agropecuária**: anticorpos policlonais. Nova Odessa: Instituto de Zootecnia, 2006. 2 p. (Notícias IZ). Disponível em: www.iz.sp.gov.br/pdfs/1178130023.pdf. Acesso em: 30 nov 2009.
- DUARTE, K. M. R.; PASCHOAL, J. A. R; GOMES, L. H. Imunoensaios e Zootecnia: aplicações práticas. **Boletim da Indústria Animal**, Nova Odessa, v. 63, n. 2, p. 121-130, 2006.
- DUARTE, K. M. R.; GOMES, L. H.; ANDRINO, F. G.; LEAL JUNIOR, G. A; SILVA, F. H. B.; PASCHOAL, J. A. R; GIACOMELLI, A. M. B.; TAVARES, F. C. A. Identificação do vírus do mosaico do tomateiro (ToMV) tobamovirus, por meio de anticorpos monoclonais. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 59, n. 1, p. 107-112, 2002.
- DVOŘÁK, P.; KUNOVÁ, J.; STRAKOVÁ, E.; SUCHÝ P.; KUNOVÁ, V. Changes in the colour and the acidity number of egg yolk upon irradiation. **European Food Research and Technology**, Heidelberg, v. 221, p. 348-350, 2005.
- ENGLERT, S. I. **Avicultura**: tudo sobre raças, manejo e alimentação. 7. ed. Guaíba: Livraria e Editora Agropecuária, 1998. 238 p.

FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS. **Tabela brasileira de composição de alimentos:** projeto integrado de composição de alimentos. Disponível em: <www.fcf.usp.br/tabela/tbcmenu.php>. Acesso em: 27 ago. 2009.

FAO. **Necesidades de vitamina A, hierro, folato y Vitamina B₁₂:** informe de uma consulta FAO/OMS de expertos. Roma, 1991. 121 p. (Série Estudios FAO Alimentación y Nutrición).

FERNANDES, M. E. **Alergia alimentar em cães.** 2005. 104 p. Dissertação (Mestrado em Saúde Pública) – Faculdade de Saúde Pública, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2005.

FERREIRA, C. T.; SEIDMAN, E. Alergia alimentar: atualização prática do ponto de vista gastroenterológico. **Jornal de Pediatria**, Rio de Janeiro, v. 83, n. 1, p. 7-20, 2007.

FERREIRA, L. F. S.; DEL MASTRO, N. L. Rheological changes in irradiated chicken eggs. **Radiation Physics and Chemistry**, Oxford, v. 52, n. 1-6, p. 59-62, 1998.

FERREIRA, V. L. P. **Análise sensorial:** testes discriminativos e afetivos. Campinas: SBCTA, 2000. 127 p.

FIGUEIREDO, A. N. **O ovo em pó na alimentação de leitões recém-desmamados.** 2001. 61 p. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal e Pastagens) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2001.

FOSSUM, K.; UNDERDAL, B. Irradiation of chicken egg white. I. Effect on proteinase inhibitors. **Acta Veterinaria Scandinavica**, Kobenhavn, v. 14, p. 118-128, 1973.

FURATDO, R. F.; GUEDES, M. I. F.; ALVES, C. R.; DUTRA, R. A. F.; MOREIRA, A. C. O. M. **Produção de anticorpos policlonais anti-ricina:** metodologia científica. Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, 2008. 16 p. (Documentos, 116).

FRANCO, G. **Tabela de composição química dos alimentos.** Rio de Janeiro: Ed. Atheneu, 2001. 303p.

FROEHLICH, A. **Irradiação de ovo líquido, congelado e ovo, gema e clara em pó:** redução da população de *Salmonella enteritidis* e aspectos sensoriais e físico-químicos. 2004. 66 p. Tese (Doutorado em Microbiologia de Alimentos) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, 2004.

GERMANO, R. M. A. **Disponibilidade de ferro na presença de β -caroteno e o efeito dos interesses em combinações de alimentos.** 2002. 95 p. Dissertação (Mestrado em Ciência e tecnologia de Alimentos) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2002.

GRUMACH, A. S. **Alergia e imunologia na infância e na adolescência.** São Paulo: Ed. Atheneu, 2001.

HARDER, M. N. C. **Efeito do urucum (*Bixa orellana*) na alteração de características de ovos de galinhas poedeiras.** 2005. 74 p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2005.

HARDER, M. N. C.; CANNIATTI-BRAZACA, S. G.; COELHO, A. A. D.; SAVINO, V. J. M.; FRANCO, C. F. de O. Cholesterol and iron availability in yolk of laying hens feed with annatto (*Bixa orellana*). **Animal**, Cambridge, v. 1, n. 1, p. 477-482, 2007.

HERMANSON, G. T. **Bioconjugate techniques**. San Diego: Academic Press. 1996. 785 p.

HIROSE, J.; KITABATAKE, N.; KIMURA, A.; NARITA, H. Recognition of native and/or thermally induced denatured forms of the major food allergen, ovomucoide, by human IgE and mouse monoclonal IgG antibodies. **Bioscience, Biotechnology and Biochemistry**, Tokyo, v. 68, n. 12, p. 2490-2497, 2004.

HUNTER LAB. Hunter L, a, b Color Scale. **Applications Note**, Reston, v. 8, n. 9, 2008. Disponível em: http://www.hunterlab.com/appnotes/an08_96a.pdf. Acesso em: 20 nov. 2008.

JANEWAY, C. A.; TRAVERS, P.; WALPORT, M.; SHLMCHIK, M. J. **Imunobiologia: o sistema imunológico na saúde e na doença**. Porto Alegre: Artmed, 2007. 848 p.

JANIN, J.; RODIER, F.; CHAKRABARTI, P.; BAHADUR, R. P. Macromolecular recognition in the Protein Data Bank. **Acta Crystallographica**, Chester, v. 63, n. 1, p. 1-8, 2007.

JOHANSSON, S. G. O.; BIEBER, T.; DAHL, R.; FRIEDMANN, P. S.; LANIER, B. Q.; LOCKEY, R. F.; MOTALA, C.; ORTEGA, M. J.; PLATTS-MILLS, T. A. E.; RING, J. THIEN, F.; Van CAUWENBERGE, P.; WILLIAMS, H. C. Revised nomenclature for allergy for global use: Report of the Nomenclature Review Committee of the World Allergy Organization. **Journal of Allergy and Clinical Immunology**, St. Louis, v. 113, n. 4, p. 832-836, 2004.

JOSEPHSON, E. S.; PETERSON, M. S. **Preservation of food by ionizing radiation**. Boca Raton: CRC Press, 1983. v. 2, 70 p.

KATO, Y.; MATSUDA, T. Glycation of proteinous inhibitors: loss in trypsin inhibitory activity by the blocking of arginine and lysine residues at their reactive sites. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 45, n. 6, p. 3826-3831, 1997.

KATUSIN-RAZEM, B.; RAZEM, D.; MATIC, S.; MIHOKOVIC, V.; KOSTROMINSOOS, N.; MILANOVIC, N. Chemical and organoleptic proprieties of irradiated dried whole egg and egg yolk. **Journal of Food Protection**, Ames, v. 52, p. 781-786, 1989.

KRATZER, F. H.; KNOLLMAN, K.; EARL, L. Availability to chicks of biotin from dried egg products. **Journal of Nutrition**, Bethesda, v. 118, p. 604-608, 1988.

KUSHIDA, M. M.; NICOLA, A. D.; FIORI, F. C.; SCHIMIDT-HEBBEL, I.; RIBEIRO, O. C.; LIMA, V. C. C. A utilização de ovo em pó na gastronomia. In: CONGRESSO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DO CENTRO UNIVERSITÁRIO SENAC, 1., 2006, São Pedro. **Anais...** São Paulo: SENAC, 2006. 1 CD-ROM.

KUSUNOKI, T.; MIYANOMAE, T.; INOUE, Y.; ITOH, M.; YOSHIOKAL, T.; OKAFUJI, I.; NISHIKOMORIL, R.; HEIKEL, T.; NAKAHATAL, T. Changes in food allergen

sensitization rates of Japanese allergic children during the last 15 years. **Japanese Journal of Allergology**, Kyoto, v. 53, n. 7, p. 683-688, 2004.

LARRAMENDI, C. H. Proposal for a classification of food allergy. **Alergología e Inmunología Clínica**, Barcelona, v. 18, n. 2, p. 129-146, 2003.

LEE, J. W.; LEE, K. Y.; YOOK, H. S.; LEE, S. Y.; KIM, H. Y.; JO, C.; BYUN, M. W. Allergenicity of hen's egg ovomucoid gamma irradiated and heated under different pH conditions. **Journal of Food Protection**, Ames, v. 65, n. 7, p. 1196-1199, 2002.

LEHNINGER, A. L. **Nutrição humana**. In: _____: Princípios de bioquímica. São Paulo: Servier, 1985. Cap. 24, p. 537-564.

LENZ, G. **Métodos imunológicos**. Porto Alegre: UFRGS, 2004. 16 p. Disponível em: Disponível em: <http://www.ufrgs.br/biofis/Bio10003/MIMUNO.pdf>. Acesso em: 10 out 2009.

LEPKI, L. F. S. F. **Efeito da radiação ionizante na viscosidade do ovo industrializado**. 1998. 70 p. Dissertação (Mestrado) – Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, São Paulo, 1998.

LOPES, C.; RAVASQUEIRA, A.; SILVA, I.; CAIADO, J.; DUARTE, F.; DIDENKO, I.; SALGADO, M.; SILVA, S. P.; FERRÃO, A.; PITÉ, H.; PATRÍCIO, L.; BORREGO, L. M. Allergy School Hannover 2006: Allergy, from diagnosis to treatment. **Revista Portuguesa de Imunoalergologia**, Lisboa, v. 14, n. 4, p. 355-364, 2006.

LUENGO, M. B. Uma revisão histórica dos principais acontecimentos da imunologia e da farmacologia na busca do entendimento e tratamento de doenças inflamatórias. **Revista Eletrônica da Farmácia**, Goiânia, v. 2, n. 2, p. 64-72, 2005.

MA, C. Y.; HARWALKAR, V. R.; POSTE, L. M.; SAHASRABUDHE, M. R. Effect of gamma irradiation on the physicochemical and functional properties of frozen liquid egg products. **Food Research International**, Essex, v. 26, p. 247-254, 1993.

MANUAL MERCK. Alergia e intolerância alimentar. In: _____. **Doenças do sistema imunitário**. Disponível em: <<http://www.manualmerck.net/?url=/artigos/%3Fid%3D195%26cn%3D1683>>. Acesso em: 03 maio 2007.

MATYSIAK-BUDNICK, T.; HEYMAN, M. Food allergy and *Helicobacter pylori*. **Journal of Pediatric and Gastroenterology and Nutrition**, New York, v. 34, n. 1, p. 5-12, 2002.

McKEOWN, J.; DREWELL, N. H. Physical mechanisms of irradiation technologies and their characteristics effects. In: McMurray, C. H. **Detection methods for irradiated foods**. Cambridge: The Royal Society of Chemistry Information Services, 1996. 431 p.

METCALFE, D. D. Food allergy. **Journal of Primary Care of Medicine**, v. 25, n. 4, p. 819-829, 1998.

MINE, Y.; RUPA, P. Genetic attachment of undecane peptides to ovomucoid third domain can suppress the production of specific IgG and IgE antibodies. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, New York, v. 311, n. 1, p. 223-228, 2003.

MINE, Y.; ZHANG, J. W. Comparative studies on antigenicity and allergenicity of native and denatured egg white proteins. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 50, n. 9, p. 2679-2683, 2002.

MIROTTI, L. C. **Alergia alimentar e comportamento: efeito das proteínas da dieta**. 2005. 123 p. Dissertação (Mestrado em Patologia Experimental e Comparada) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, 2005.

MOREIRA, L. F. **Estudo dos componentes nutricionais e imunológicos na perda de peso em camundongos com alergia alimentar**. 2006. 75 p. Dissertação (Mestrado em Patologia Geral) – Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2006.

MUÑOZ, R. B.; SANCHES, M. V.; UZEATEGUI, E. A.; VACA, C. F. **Preservación de alimentos por irradiación**. Quito, Ecuador: Escuela Politecnica Nacional, 1985. 321 p.

NEVOT, F. S.; CASAS, R. S.; LLEONART, B. R. Mesa redonda: Reactividad cruzada de alergenos alimentarios – Síndrome ave-huevo em niños. **Allergologia et Immunopathologia**, Madrid, v. 31, n. 3, p. 161-165, 2003.

NICOLA, A. D.; KUSHIDA, M. M.; FIORI, F. C. A utilização do ovo em pó na gastronomia. In: CONGRESSO INTERNACIONAL DE GATRONOMIA, NUTRIÇÃO E QUALIDADE DE VIDA, 5., 2004, São Paulo. **Anais...** p. 39.

PARKER, S. L.; KRONDL, M.; COLEMAN, P. Foods perceived by adults as causing adverse reaction. **Journal of the American Dietetic Association**, Baltimore, v. 93, n. 1, p. 40-46, 1993.

PASCHOAL, J. R. A.; DUARTE, K. M. R.; MEIRELLES, C. F. Determinação de progesterona em plasma e leite de vacas: padronização de um ensaio ELISA. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, Belo Horizonte, v. 82, n. 2, p. 84-92, 2004.

PEREIRA, A. C. S.; MOURA, S. M.; CONSTANT, P. B. L. Alergia alimentar: sistema imunológico e principais alimentos envolvidos. **Semina: Ciências Biológicas e da Saúde**, Londrina, v. 29, n. 2, p. 180-200, 2008.

PROMOVOS/APA. **Revista Mundo do Ovo**, São Paulo, p. 70, 1995.

PUPPIN, S. **Ovo, o mito do colesterol**. Rio de Janeiro: Ed. Rio, 2004. 216 p.

ROSA, E. D.; TSUKADA, M.; FREITAS, L. A. P. **Secagem por atomização na indústria alimentícia: fundamentos e aplicações**. Uberaba: FAZU, 2006. Disponível em: <<http://www.fazu.br/novo/jornada2006/PALESTRAS/ENGE/palestra2.pdf>>. Acesso em: 17 maio 2007.

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

SALM, M. F.; RIO BRANCO, A. P. S.; SOARES, F. K. A utilização da inovação tecnológica para benefício da nutrição e da gastronomia: uma análise do ovo pasteurizado e desidratado. **Nutrição em Pauta**, São Paulo, v. 10, n. 54, p. 38-43, 2002.

SANTIN, M. Use of irradiation for microbial decontamination of meat: situation and perspectives. **Meat Science**, Barking, v. 62, p. 277-283, 2002.

SANZ, M. L. Inmunidad del tracto intestinal: procesamiento de antígenos. **Alergología e Inmunología Clínica**, Pamplona, v. 16, p. 58-62, 2001. Número Extraordinario, 2.

SIGMA-ALDRICH. **Trypsin**. St. Louis, 2009. Disponível em: http://www.sigmaaldrich.com/etc/medialib/life-science/biochemicals/migrationbiochemicals1/Trypsin_Processing.Par.0001.Image.382.gif. Acesso em: 30 out 2009.

SOLÉ, D.; SILVA, L. R.; ROSÁRIO FILHO, N. A.; SARNI, R. O. S. Consenso Brasileiro sobre Alergia Alimentar: 2007. **Revista Brasileira de Alergia e Imunopatologia**, Rio de Janeiro, v. 31, n. 2, p. 64-89, 2008.

SORDELLI, D.; OUBIÑA, J.; CERQUETTI, C. **Guia de técnicas imunológicas**. Buenos Aires: Facultad de Medicina, UBA, 2008. Disponível em: www.fmed.uba.ar/depto/microbiologia/guia01.pdf. Acesso em: 30 mar 2009.

SORDELLI, D.; OUBIÑA, J.; CERQUETTI, C. **Guia de técnicas imunológicas**. Buenos Aires: Facultad de Medicina, UBA, 2009. Disponível em: <http://www.fmed.uba.ar/depto/microbiologia/gutein.pdf>. Acesso em: 30 mar 2009.

SUZUKI, K.; INOUNE, R.; SAKAGUCHI, H.; AOKI, M.; KATO, Z.; KANEKO, H.; MATSUSHITA, S.; KONDO, N. The correlation between ovomucoid-derived peptides, human leucocyte antigen class II molecules and T cell receptor-complementarity region 3 compositions in patients with egg-white allergy. **Clinical & Experimental Allergy**, Oxford, v. 32, n. 8, p. 1223-1230, 2002.

TELLEZ, I. G.; TREJO, R. M.; SANCHEZ, R. E.; ENICEROS, R. M.; LUNA, Q. P.; ZAZUA, P.; HARGIS, B. M. Effect of gamma irradiation on commercial eggs experimentally inoculate with *Salmonella enteritidis*. **Radiation Physics and Chemistry**, Oxford, v. 46, n. 4-6, p. 789-792, 1995.

TRIONE, E. J. The use of monoclonal antibodies in plant pathology. In: HESS, W. M.; SINGH, R. S.; SHING, U. S.; WEBER, D. J. (Ed.). **Experimental and conceptual plant pathology**. New York: Gordon & Breach science Publishers, 1988. cap. 2, p. 33-43.

UBA. **Relatório Anual 2008**. Disponível em: http://www.uba.org.br/site3/arquivos/relatorio_08.pdf. acesso em: 10 out 2009.

VIEIRA, E. C. Os valores do ovo. **Avicultura Industrial**, São Paulo, v. 90, p. 117-119, 2000.

VILLAVICENCIO, A. L. C. H. **Avaliação dos efeitos da radiação ionizante de ⁶⁰Co em propriedades físicas, químicas e nutricionais dos feijões *Phaseolus vulgaris* L. e *Vigna***

unguiculata (L.) Walp. 1998. 138 p. Tese (Doutorado) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 1998.

VILLAVICENCIO, A. L. C. H.; ARAÚJO, M. M.; NARIN-HUACHACA, N. S.; MANCINI FILHO, J.; DELINCÉE, H. Identification of irradiated refrigerated poultry with the DNA comet assay. **Radiation Physics and Chemistry**, Oxford, v. 71, n. 1-2, p. 189-191, 2004.

VIOTTO, W. H. Efeito dos ingredientes e fator mais importante para sorvetes. **Engenharia de Alimentos**, São Paulo, v. 16, p. 18-21, 1997.

WALSH, B. J.; HILL, D. J.; MACOUN, P.; CAIRNS, D.; HOWDEN, M. E. H. Detection of four distinct groups of hen egg allergens binding IgE in the sera of children with egg allergy. **Allergologia et Immunopathologia**, Madrid, v. 33, n. 4, p. 183-195, 2005.

YUDKIN, J. **The penguin encyclopedia of nutrition**. New York: Viking Penguin Inc., 1985. p. 16, 38, 127-128.

ANEXOS

Anexo A: Ficha de avaliação sensorial

Produto testado:

Nome: _____ Idade: _____ Data: _____

Por favor, avalie as amostras utilizando a escala abaixo para descrever o quanto você gostou ou desgostou, em relação aos atributos

1- Desgostei muitíssimo

2- Desgostei muito

3- Desgostei regularmente

4- Desgostei ligeiramente

5- Indiferente

6- Gostei ligeiramente

7- Gostei regularmente

8- Gostei muito

9- Gostei muitíssimo

AMOSTRA (n°)	Aroma	Aparência	Aceitação global
--------------	-------	-----------	------------------

_____	_____	_____	_____
_____	_____	_____	_____
_____	_____	_____	_____
_____	_____	_____	_____

O que você mais gostou nas amostras? _____

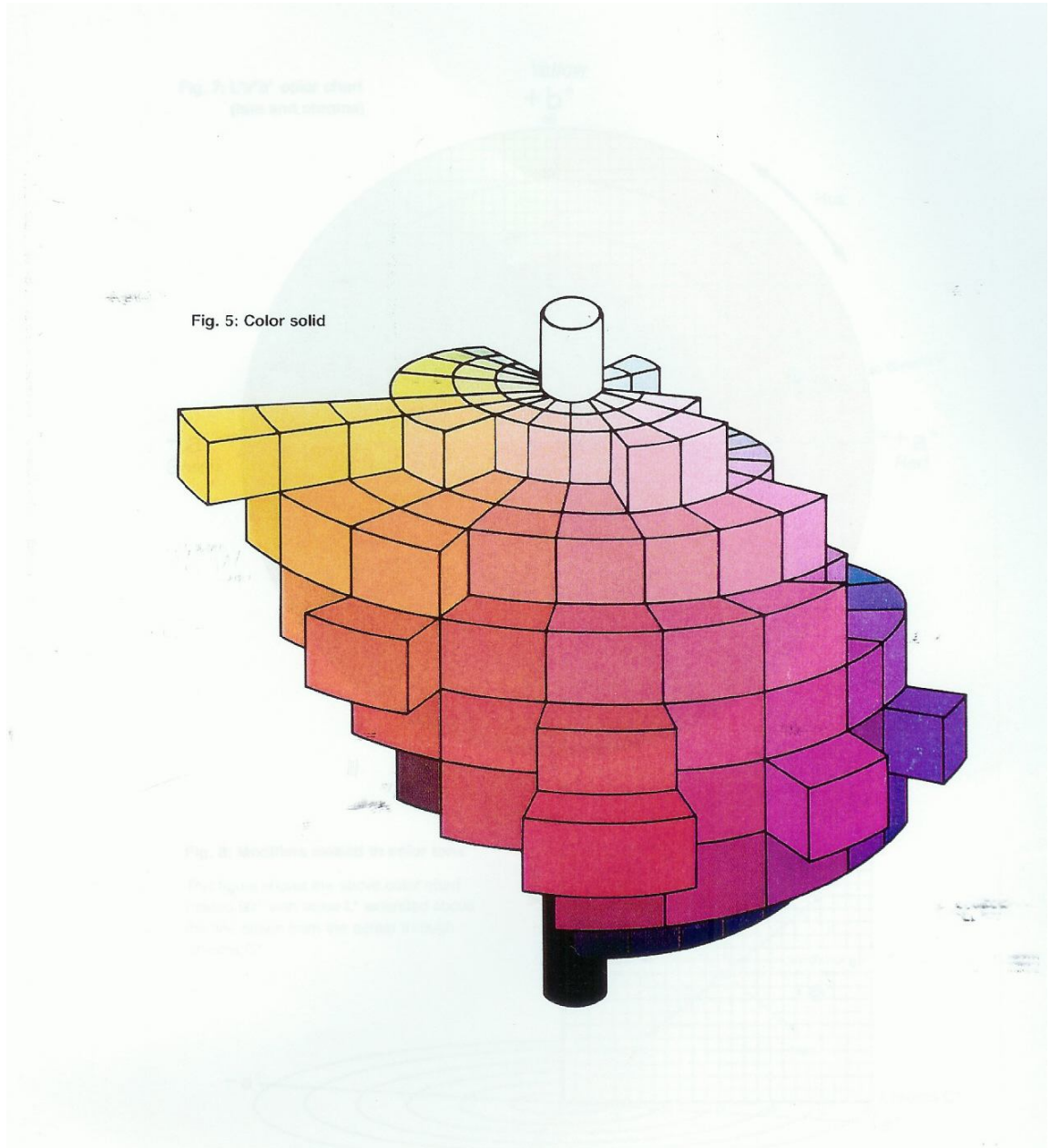
O que você menos gostou nas amostras? _____

Você compraria esse produto? _____

Comentários: _____

Fonte: Ferreira (2000).

Anexo B: Sólido de cores



Anexo C: Ábaco de cores – Valores de a^* , b^* e L

Fig. 7: $L^*a^*b^*$ color chart (hue and chroma)

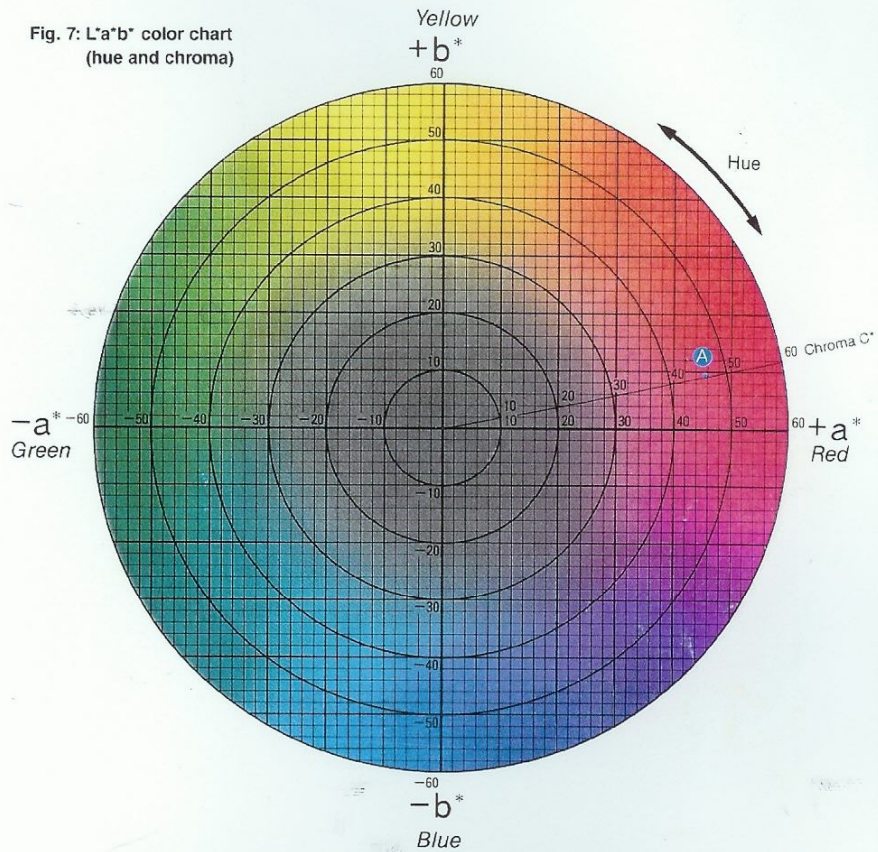
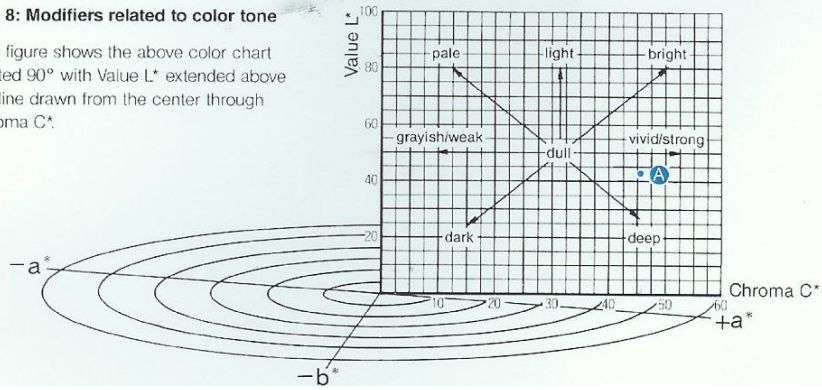


Fig. 8: Modifiers related to color tone

This figure shows the above color chart rotated 90° with Value L^* extended above the line drawn from the center through Chroma C^* .



Livros Grátis

(<http://www.livrosgratis.com.br>)

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)
[Baixar livros de Matemática](#)
[Baixar livros de Medicina](#)
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)
[Baixar livros de Meteorologia](#)
[Baixar Monografias e TCC](#)
[Baixar livros Multidisciplinar](#)
[Baixar livros de Música](#)
[Baixar livros de Psicologia](#)
[Baixar livros de Química](#)
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)
[Baixar livros de Serviço Social](#)
[Baixar livros de Sociologia](#)
[Baixar livros de Teologia](#)
[Baixar livros de Trabalho](#)
[Baixar livros de Turismo](#)