

QUALIDADE FÍSICA E BACTERIOLÓGICA DE OVOS OPACOS DE CODORNAS SANITIZADOS, REFRIGERADOS E CONTAMINADOS EXPERIMENTALMENTE POR *Salmonella enterica* SER. TYPHIMURIUM

PHYSICAL AND MICROBIOLOGICAL QUALITY OF OPAQUE, SANITIZED, AND CHILLED QUAIL EGGS EXPERIMENTALLY CONTAMINATED WITH *Salmonella enteric* SER. TYPHIMURIUM

Maria Juliana Ribeiro Lacerda¹
Nadja Susana Mogyca Leandro^{1*}
Maria Auxiliadora Andrade¹
Juliana Bonifácio Alcântara¹
Maria Luiza Ferreira Stringhini²
Marcos Barcellos Café¹

¹Escola de Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal de Goiás, Goiânia, GO, Brasil.

²Faculdade de Nutrição da Universidade Federal de Goiás, Goiânia, GO, Brasil.

*Autora para correspondência – mogyca@ufg.br

Resumo

Objetivou-se estudar a qualidade física, química e microbiológica de ovos de codornas contaminados artificialmente com *Salmonella enterica* ser. Typhimurium, sanitizados e armazenados a diferentes temperaturas (5 e 25 °C), durante 27 dias. Foram utilizados 768 ovos com cascas opacas e peso médio de 11g. O delineamento foi inteiramente casualizado em esquema fatorial 2x2x2 (contaminação x sanitização x refrigeração) com seis repetições e um ovo por parcela. Os ovos foram contaminados pelo manuseio com 1,5 x 10⁵ unidade formadoras de colônias (UFCs) e, de acordo com os tratamentos, foram sanitizados com solução com 5 ppm de Cl. Os dados foram submetidos à análise de variância e teste t. A contaminação bacteriana prejudicou o peso do ovo, uH, índice de gema e de albume e pH de gema e de albume, a partir de 18 dias de armazenamento. O tempo de estocagem dos ovos e a temperatura de armazenamento influenciaram a qualidade interna dos ovos de codornas em todas as variáveis estudadas. A pior qualidade interna foi observada em ovos armazenados na temperatura de 25 °C. A sanitização e a refrigeração reduziram o crescimento da *Salmonella* nos ovos contaminados. Ovos com casca opaca, quando não refrigerados, devem ser consumidos em até 18 dias após a postura. **Palavras-chave:** casca opaca; estocagem; ovos de codornas; *Salmonella enterica* ser. Typhimurium; sanitização.

Abstract

The objective of this study was to verify the physical, chemical and microbiological quality of Japanese quail eggs artificially contaminated with *Salmonella enterica* ser. Typhimurium. The eggs were sanitized and stored at different temperatures (between 5 and 25 °C) for 27 days. We used 768 eggs with opaque shells, typical pigments of the species, and average weight of 11 g. The experimental design was completely randomized in a 2x2x2 factorial arrangement (contamination x sanitation x cooling) with six replications and one egg per experimental unit. The eggs were contaminated by handling with 1.5 x 10⁵ colony forming unit (CFU) of *Salmonella*. Typhimurium / mL and sanitized according to the treatments with a 5 ppm Cl solution. The data were subjected to analysis of variance and t test. Bacterial contamination has damaged the egg weight, Haugh unit, yolk index and albumen,

and pH of yolk and albumen, from 18 days of storage. The egg storage time and storage temperature affected the internal quality of quail eggs in all variables. The worst internal quality was observed in eggs stored at 25 °C. The sanitation and cooling reduced the growth of *Salmonella* in contaminated eggs. Eggs in opaque shell, when not refrigerated, should be consumed within 18 days after laying.

Keywords: opaque shell; quail eggs; *Salmonella* Typhimurium; sanitization; storage.

Enviado em: 16 maio 2012

Aceito em: 25 novembro 2015

Introdução

O consumo de ovos de codornas tem aumentado nos últimos anos e estima-se que o consumo do brasileiro esteja aproximadamente em 9,5 ovos per capita por ano. A produção de ovos de qualidade é um fator de relevância, uma vez que é a qualidade que determina o sucesso do produto no mercado consumidor. Moura et al. ⁽¹⁾ relataram que a alimentação e a saúde humana caminham juntos e observaram mudanças no consumidor, que tem exigido produtos de qualidade diferenciada, higienizados, bem embalados e sem injúrias.

A procura dos consumidores por ovos de qualidade leva todos os envolvidos no processo de produção e distribuição de ovos a se preocuparem não só com as características externas, como peso, cor, integridade da casca e uniformidade, mas também com a manutenção da qualidade interna do ovo, que decresce logo após a postura ⁽²⁾. Bordin et al. ⁽³⁾ relataram que, embora a coturnicultura tenha se destacado no setor produtivo pelo amplo crescimento da atividade no Brasil, a legislação atual não faz menção à qualidade dos ovos de codornas, sendo a classificação específica para ovos de galinhas. Por outro lado, os produtos de origem animal podem ser veículos de importantes patógenos responsáveis por infecções alimentares como a salmonelose ⁽⁴⁾, já que relatos mostraram alta incidência dessa bactéria em codornas e na contaminação de ovos no mercado ⁽⁵⁾.

O processo de lavagem resulta em ovos de melhor aparência para comercialização e influencia na aceitação do produto pelo consumidor. De acordo com Stringhini et al. ⁽⁶⁾, outra vantagem da lavagem é a sanitização da casca, diminuindo a probabilidade de micro-organismos penetrarem pelos poros, contaminando o conteúdo dos ovos e, ainda, eliminando o risco de patógenos ao ser humano. No entanto, esses autores consideram a remoção da cutícula dos poros da casca como uma desvantagem do procedimento de lavagem dos ovos, o que facilita a entrada de micro-organismos, resultando na deterioração e diminuição do período de estocagem.

De acordo com Souza et al. ⁽⁷⁾ e Scott e Silversidest ⁽⁸⁾, quanto maior o tempo e a temperatura de armazenamento, pior a qualidade interna dos ovos. A refrigeração dos ovos durante a estocagem visa a retardar a velocidade de multiplicação de micro-organismos e aumentar a vida de prateleira do produto, sendo obrigatória em muitos países ⁽⁹⁾. Entretanto, nas condições do mercado interno brasileiro, 92% dos ovos são comercializados *in natura* sem refrigeração.

Stringhini et al. ⁽⁶⁾ verificaram que a refrigeração não evitou a penetração de *Pseudomonas aeruginosa* no ovo de galinha, pois os ovos contaminados experimentalmente na casca e refrigerados durante o armazenamento apresentaram essa bactéria no conteúdo. No entanto, o processo de refrigeração controlou a multiplicação de *Pseudomonas aeruginosa* na casca por até 30 dias, mas não foi eficiente para evitar a multiplicação bacteriana no conteúdo.

Os ovos de codornas no Brasil são produzidos, em sua maioria, por pequenos produtores, os quais não utilizam nenhum método de sanitização, assim como não refrigeram os ovos durante a estocagem antes da comercialização. Existem poucas informações científicas sobre qualidade de ovos de codornas e o Ministério da Agricultura e da Agência Rural não apresentam nenhuma normatização específica.

Portanto, a presente pesquisa foi desenvolvida com o intuito de avaliar a qualidade físico-química e microbiológica de ovos de codornas com casca opaca, submetidos à sanitização, contaminados artificialmente com *Salmonella enterica* ser. Typhimurium e armazenados sob-refrigeração ou temperatura ambiente durante 27 dias.

Material e Métodos

Foram utilizados 384 ovos de codornas da linhagem Japonesa, coletados diretamente do galpão de produção de uma granja comercial (no final do período vespertino), com o cuidado de padronizar o tamanho e o tipo de casca (opaca com pigmentos típicos da espécie), sendo que essa seleção foi realizada de maneira subjetiva através da visualização da casca do ovo. Após a coleta e seleção, os ovos foram transportados para o laboratório onde foram mantidos em temperatura ambiente e submetidos à radiação ultravioleta por 24 horas, com o objetivo de eliminar as possíveis bactérias, da casca, provenientes da granja. Foram utilizados 48 ovos para a avaliação da qualidade interna no tempo zero.

Os tratamentos foram uma combinação de três fatores (inoculação dos ovos com a bactéria, sanitização da casca e temperatura de armazenamento). O delineamento utilizado foi inteiramente casualizados em esquema fatorial 2x2x2, totalizando oito tratamentos com seis repetições, sendo o ovo considerado como a unidade experimental.

Os ovos do grupo contaminado foram inoculados na casca com *Salmonella enterica* ser. Typhimurium. O inóculo foi preparado com *Salmonella enterica* ser. Typhimurium isolada no Laboratório de Bacteriologia, em 2009, a partir de amostras oriundas de codornas, sendo que a concentração do inóculo foi de $1,0 \times 10^6$ UFC/mL. Para obtenção do inóculo, a cepa foi repicada em ágar verde brilhante e incubada a 37 °C por 18-24h. Em seguida, as células foram suspensas em solução salina tamponada a 0,85%, mantidas a 4 °C e concentração de $1,0 \times 10^6$ UFC/mL ajustada com auxílio da escala de Mac Farland ⁽¹⁰⁾ e a concentração foi confirmada pelo plaqueamento das diluições decimais seriadas em ágar verde brilhante, com posterior incubação a 37 °C e contagem das UFC de *Salmonella enterica* ser. Typhimurium.

Os ovos foram inoculados por exposição ao inóculo por contato com as mãos revestidas com luvas descartáveis, simulando possível contaminação cruzada dos ovos. Com auxílio de uma seringa de tuberculina com 0,1 mL de solução salina tamponada a 0,85% contendo a concentração de *Salmonella enterica* ser. Typhimurium desejada, foi depositado 0,05 mL diretamente nos ovos, em seguida foi espalhado com as mãos revestidas com luvas. Cada ovo foi mantido por um período de aproximadamente 10 segundos nas mãos sendo umedecidos, tendo sua superfície totalmente molhada pela solução.

Após a inoculação, os ovos passaram por fluxo laminar por 15 minutos para secagem da casca. Os ovos do grupo experimental sanitizados foram desinfetados com solução de cloro a 5 ppm, utilizando-se um “borrifador de água”.

O armazenamento dos ovos do grupo refrigerado foi realizado à temperatura de 5 °C em geladeira e umidade relativa de 60% e o dos ovos do grupo não refrigerados foi realizado à temperatura de 25 °C em estufa B.O.D. O período de armazenamento total do experimento foi de 27 dias, sendo que a cada nove dias 96 ovos foram avaliados quanto à qualidade física e microbiológica.

As variáveis de qualidade física dos ovos foram peso do ovo, gravidade específica, espessura de casca, porcentagem da gema, albúmen e casca, unidade Haugh, porcentagem de perda de peso, índice de gema, índice do albúmen, pH do albúmen e gema.

Para a análise microbiológica dos ovos, foram analisados pools de três cascas e três conteúdos por unidade experimental. Os procedimentos de análise microbiológica utilizados seguiram a Instrução Normativa nº 62, de 26 de Agosto de 2003 do Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento ⁽¹¹⁾. Após realizar o plaqueamento por superfície com 0,1 mL da diluição de cascas e conteúdo (gema e albúmen) em ágar MacConkey e Hectoen. As placas foram incubadas a 37 °C por 18-24 horas e, logo após, foi realizada a contagem de bactérias da casca (*Citrobacteriaceae*, *Enterobacteriaceae* e *Pseudomonas*). Já para o conteúdo, foi verificada apenas presença ou ausência da *Salmonella enterica* ser. Typhimurium.

Os resultados foram submetidos à análise de variância e foi aplicada regressão polinomial considerando-se o período de armazenamento dos ovos. Todas as análises foram realizadas fazendo-se uso do programa computacional Statistical Analysis System ⁽¹²⁾.

Resultados e Discussão

No tempo inicial, ou seja, antes da inoculação, sanitização e do armazenamento, foi realizada análise da qualidade física, química e microbiológica dos ovos opacos e os resultados indicaram que os ovos eram homogêneos. A gravidade específica variou de 1,070 a 1,075 para todos os ovos analisados, indicando boa qualidade de casca; o peso do ovo foi de 11,10 g; índice de albume foi 0,12 e de gema, 0,45; pH de albume, 7,66 e gema, 5,71; e uH = 93,97. Os resultados mostraram que os valores médios de qualidade externa e interna foram compatíveis com ovos frescos de codornas japonesas ⁽¹³⁾.

No período de nove dias de armazenamento (Tabela 1), pôde-se observar que não houve interação ($p > 0,05$) entre os fatores contaminação, sanitização e temperatura para índice de albume, porcentagem de albume e gema, pH de gema e unidade Haugh. Entretanto, constatou-se que houve efeito ($p < 0,05$) da temperatura de estocagem sobre índice de gema e porcentagem de gema, sendo que os ovos não refrigerados apresentaram diminuição da qualidade física em relação aos refrigerados.

Tabela 1: Valores médios de peso do ovo (PO), índice de albume (IA), porcentagem de albume (A%), pH de albume (pH A), índice de gema (IG), porcentagem de gema (G%), pH de gema (pH G), unidade Haugh (uH) de ovos de codornas inoculados, sanitizados e armazenados sob diferentes temperaturas por nove dias

Grupos experimentais	Variáveis Estudadas							
	PO (g)	IA	A (%)	pH (A)	IG	G (%)	pH (G)	UH
Inoculação								
Não inoculado	11,08	0,06	44,24	10,10	0,37	33,89	7,73	83,77b
Inoculado	10,80	0,07	46,62	9,59	0,37	34,33	7,83	85,68a
Sanitização								
Não Sanitizado	10,83	0,07	45,28	9,63	0,36	35,21a	7,94	84,86
Sanitizado	11,05	0,07	45,57	10,06	0,37	33,01b	7,62	84,59
Temperatura								
25 °C	10,47	0,06 b	46,55	9,96	0,33	35,34a	7,81	84,09
5 °C	11,47	0,07a	44,31	9,73	0,40	32,88b	7,75	85,36
Valores de p								
Inoc.	0,037*	0,187	0,139	0,066	0,730	0,601	0,571	0,046*
San.	0,106	0,929	0,856	0,118	0,158	0,010*	0,105	0,776
Refrig.	0,0001*	0,031*	0,163	0,384	0,0001*	0,004*	0,730	0,179
San.*Refrig.	0,0001*	0,789	0,491	0,775	0,960	0,237	0,144	0,800
Inoc.*San.	0,031*	0,067	0,135	0,252	0,404	0,892	0,500	0,274
Inoc.*Refrig.	0,0001*	0,187	0,716	0,047*	0,048*	0,460	0,115	0,334
Inoc.*San.*Refrig.	0,353	0,331	0,277	0,690	0,461	0,042*	0,310	0,074
CV (%)	4,13	22,32	12,02	9,50	7,79	8,37	8,44	3,80

Médias seguidas de letras iguais na mesma coluna não diferem pelo teste F (5%) em cada grupo experimental.

* = significância

Para peso dos ovos (Figura 1-A), houve interação ($p < 0,05$) entre inoculação e temperatura após nove dias de armazenamento. Ovos refrigerados apresentaram valores de peso de ovos maiores ($p < 0,05$) que os não-refrigerados. Os ovos contaminados com *Salmonella enterica* ser. Typhimurium e mantidos sob refrigeração não apresentaram diferença em relação aos não contaminados; no entanto, quando não foram refrigerados, o peso dos ovos do grupo contaminado foi menor do que o do grupo não contaminando ($p < 0,05$) (Figura 1-A).

Houve interação entre os grupos inoculados e sanitizados ($p < 0,05$); ovos inoculados apresentaram menor peso ($p < 0,05$) quando sanitizados (Figura 1-B). Esses dados sugerem que a sanitização favoreceu

a perda de peso de ovos quando contaminados. A perda de peso dos ovos está correlacionada com o número e dimensão dos poros, a espessura ou resistência da casca e com as condições ambientais; no entanto, uma alta concentração de poros, ou poros com diâmetros grandes, causa um efeito negativo devido à maior possibilidade de sua desidratação⁽¹⁴⁾. A redução de peso dos ovos pode ser determinada pela provável perda de amônia, nitrogênio e sulfeto de hidrogênio que são produtos da degradação química de seus constituintes orgânicos⁽¹⁵⁾.

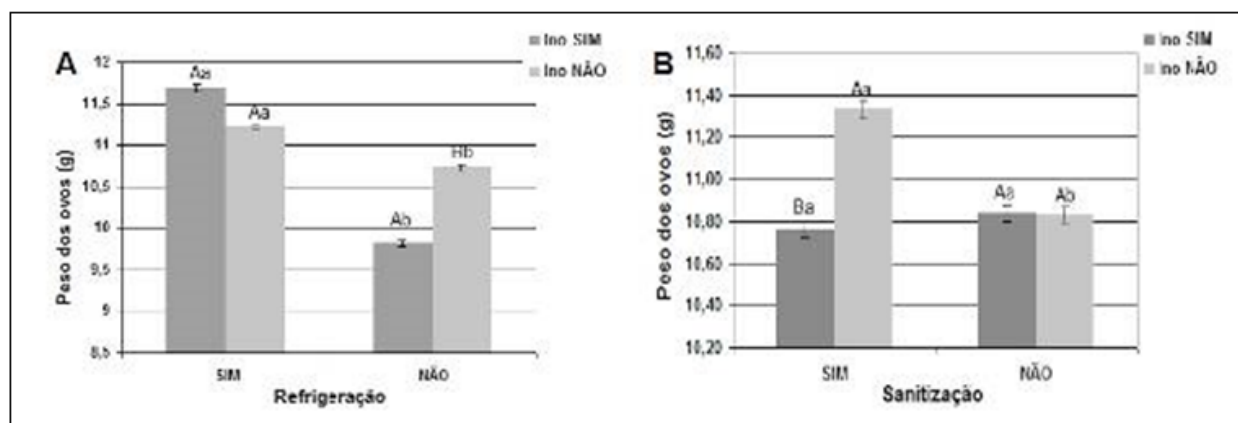


Figura 1: Interação de peso do ovo entre inoculação com *Salmonella enterica* ser. Typhimurium e refrigeração (A), inoculação e sanitização (B) e armazenamento por nove dias. Letras maiúsculas equivalem a médias estatisticamente diferentes no grupo refrigeração e letras minúsculas ao grupo inoculado (Fig.A). Letras maiúsculas equivalem ao grupo sanitizado e letras minúsculas ao grupo inoculado (Fig.B).

A redução do peso do ovo durante o armazenamento, segundo Samli et al.⁽¹⁶⁾, ocorre devido à transferência de umidade do albume para o ambiente externo por meio dos poros da casca, sendo que a velocidade da evaporação da água depende diretamente da temperatura e da ventilação do ambiente. Pinto e Silva⁽¹⁷⁾ constataram perda de peso de 1,04 g em ovos de poedeiras comerciais, lavados e contaminados com *Salmonella* Enteritides e mantidos a 8 °C por 14 dias. De acordo com esses autores, essa perda foi em decorrência da retirada da cutícula de proteção pela escovação durante a lavagem dos ovos, o que influenciou a velocidade de evaporação de água. Neste experimento, os ovos sanitizados, quando refrigerados, perderam mais peso do que os ovos não sanitizados; no entanto, os ovos de codornas sanitizados foram submetidos apenas à aspersão da água com 5 ppm de cloro.

Para a variável pH de albume (Figura 2), houve interação ($p < 0,05$) entre inoculação e refrigeração após nove dias de armazenamento. Quando os ovos foram refrigerados não houve efeito da contaminação sobre o pH; no entanto, em ovos não refrigerados, os dados sugerem que a presença da bactéria piorou a qualidade do albúmen (aumento do pH). As mudanças de pH, segundo Figueiredo et al.⁽¹⁸⁾, ocorrem nos primeiros dias após a postura e o declínio da sua qualidade é acelerado por altas temperaturas de armazenamento. Pinto e Silva⁽¹⁷⁾ citaram que o comportamento do pH do albume sofre alterações durante o período de armazenamento em altas temperaturas. Quando o ovo torna-se velho, ocorre a liberação de dióxido de carbono, aumentando os valores de pH em ovos de poedeiras, sendo que o albume sofre um clareamento e perde a viscosidade⁽¹⁶⁾.

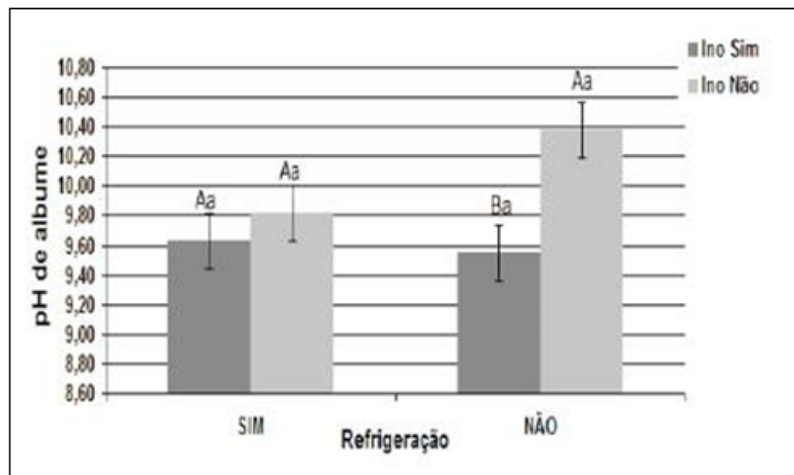


Figura 2: Desdobramento da interação significativa de pH de albúme entre inoculação de ovos com *Salmonella enterica* ser. Typhimurium e refrigeração por nove dias de armazenamento. Letras minúsculas equivalem ao grupo refrigeração e letras maiúsculas ao grupo inoculação.

Para o período de armazenamento de 18 dias (Tabela 2) pôde-se observar que não houve interação ($p > 0,05$) entre os grupos estudados para as variáveis índice de albúme e gema, porcentagem de albúme e gema, pH de albúme e gema e unidade Haugh. Entretanto, foi constatado que houve efeito ($p < 0,05$) da temperatura de estocagem sobre o índice de albúme e gema, porcentagem de albúme e gema, pH de albúme e gema e unidade Haugh, sendo que os ovos não refrigerados apresentaram diminuição da qualidade física em relação aos refrigerados.

Tabela 2: Valores médios de peso do ovo (PO), índice de albúme (IA), porcentagem de albúme (A%), pH de albúme (pH A), índice de gema (IG), porcentagem de gema (G%), pH de gema (pH G), unidade Haugh (UH) de ovos de codornas inoculados, sanitizados e armazenados sob diferentes temperaturas por 18 dias

Grupos experimentais	Variáveis Estudadas								
	Inoculação	PO (g)	IA	A (%)	pH (A)	IG	G (%)	pH (G)	UH
Não inoculado		10,85	0,06	30,59	10,35	0,34	34,70	7,28a	83,01
Inoculado		10,87	0,06	29,77	10,34	0,34	35,43	7,64b	82,46
Sanitização									
Não Sanitizado		10,88	0,06	29,82	10,35	0,34	36,05a	7,40	82,57
Sanitizado		10,84	0,06	30,53	10,35	0,34	34,08b	7,52	82,91
Temperatura									
25 °C		10,27	0,04b	27,62b	10,48a	0,26b	36,64a	7,66a	80,40b
5 °C		11,45	0,08a	32,74a	10,21b	0,42a	33,49b	7,26b	85,07a
Valores de p									
Inoc.		0,812	0,414	0,582	0,359	0,644	0,526	0,007*	0,581
San.		0,648	0,743	0,655	0,959	0,539	0,043*	0,340	0,735
Refrig.		0,0001*	0,0001*	0,001*	0,0001*	0,0001*	0,001*	0,003*	0,0001*
San.*Refrig.		0,0001*	0,414	0,153	0,540	0,817	0,832	0,377	0,289
Inoc.*San.		0,0001*	0,414	0,084	0,682	0,700	0,641	0,728	0,214
Inoc.*Refrig.		0,0001*	0,743	0,854	0,064	0,590	0,167	0,095	0,761
Inoc.*San.*Refrig.		0,784	0,743	0,618	0,959	1,000	0,375	0,146	0,625
CV (%)		2,16	26,94	3,45	0,54	10,84	2,07	5,97	4,16

Médias seguidas de letras iguais na mesma coluna não diferem pelo teste F (5%) em cada grupo experimental.

* = significância

Houve interação ($p < 0,05$) para o peso dos ovos (Figura 3-A) entre os fatores inoculação e refrigeração, sendo que as contaminações bacterianas em ovos não refrigerados proporcionaram menor peso dos ovos. A evaporação da água do ovo é um processo contínuo, tendo início no momento da postura e não cessando até que esteja completamente desidratado. A velocidade da perda de peso é acelerada em altas temperaturas ⁽¹⁹⁾ e retardada por alta umidade relativa (75 a 80%) ⁽²⁰⁾.

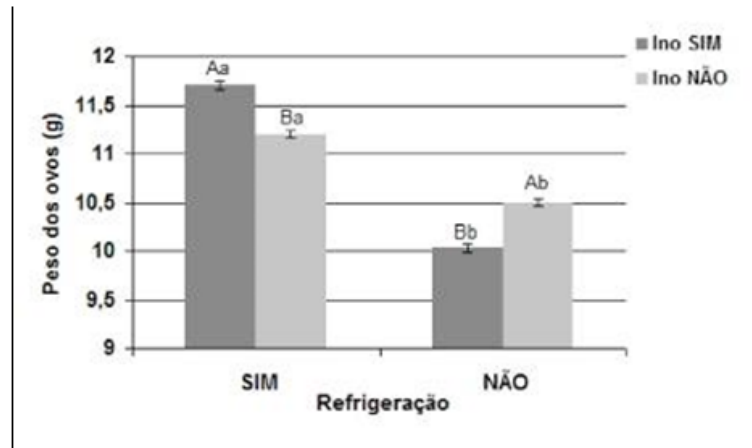


Figura 3: Interação significativa para peso de ovo entre inoculação e refrigeração quando armazenados por 18 dias. Letras minúsculas equivalem ao grupo refrigeração e letras maiúsculas ao grupo sanitização (Fig. A). Letras minúsculas equivalem ao grupo refrigeração e letras maiúsculas ao grupo inoculação (Fig.B).

No período de 27 dias de armazenamento (Tabela 3) não houve interação ($p > 0,05$) entre os fatores estudados para as variáveis: índice de albume e gema, porcentagem de albume, gema e unidade Haugh. Entretanto, constatou-se que houve efeito da temperatura de estocagem ($p < 0,05$) sobre o índice de albume e de gema, porcentagem de albume e de gema e unidade Haugh, sendo que os ovos não refrigerados apresentaram diminuição da qualidade física em relação aos refrigerados. Jones e Musgrove ⁽²¹⁾ verificaram perda de qualidade em ovos refrigerados por períodos longos (10 semanas). Houve efeito da inoculação ($p < 0,05$) para as variáveis porcentagem de albume e pH de gema. Houve interação ($p < 0,05$) para o pH de albume (Figura 4-A) entre sanitização e refrigeração. Quando os ovos foram refrigerados, melhores resultados puderam ser observados no grupo sanitizado (Figura 4-A), ou seja, quando não há possibilidade da refrigeração, a sanitização é uma alternativa que ajuda a manter a qualidade de albume. No entanto, Mendes et al. ⁽²⁰⁾, estudando ovos de poedeiras, verificaram que a refrigeração foi mais importante que a sanitização, já que não encontraram efeito da sanitização, independentemente da refrigeração.

Sabrani e Payne ⁽²²⁾, quando armazenaram ovos com casca íntegra a 12 °C e a 28 °C, observaram que o pH do albume piorou mais rapidamente em ovos armazenados em altas temperaturas. O albume tem seu potencial hidrogeniônico alterado rapidamente após a postura, aumentando o pH de 7,5 em ovos frescos para 9,5 após a primeira semana de armazenamento. Leandro et al. ⁽²³⁾ também encontraram um aumento no pH dos ovos de poedeiras armazenados em temperatura ambiente.

Para a mesma variável (Figura 5-B), houve interação ($p < 0,05$) entre a inoculação e sanitização. Ovos não inoculados apresentaram piores resultados do que os inoculados, independentemente da sanitização; esse fato pode estar relacionado com a presença de outras bactérias como: *Citrobacteriaceae*, *Enterobacteriaceae* e *Pseudomonas*.

Tabela 3: Valores médios de peso do ovo de casca opaca (PO), índice de albume (IA), porcentagem de albume (A%), pH de albume (pH A), índice de gema (IG), porcentagem de gema (G%), pH de gema (pH G), unidade Haugh (uH), contaminados ou não, sanitizados ou não e armazenados sob diferentes temperaturas por 27 dias

Grupos experimentais		Variáveis Estudadas						
Inoculação	PO (g)	IA	A (%)	pH (A)	IG	G (%)	pH (G)	UH
Não inoculado	10,67	0,05	36,76b	9,04	0,30	39,19	6,58a	80,03
Inoculado	10,59	0,06	41,36a	8,44	0,30	38,47	5,97b	81,93
Sanitização								
Não Sanitizado	10,59	0,06	40,10	8,70	0,30	40,02	6,40	81,48
Sanitizado	10,67	0,06	38,02	8,78	0,30	37,64	6,16	80,48
Temperatura								
25 °C	10,01	0,04b	35,70b	8,73	0,23b	40,44a	6,42	77,12b
5 °C	11,25	0,08a	42,42a	8,75	0,37a	37,22b	6,13	84,83a
Valores de p								
Inoc.	0,249	0,272	0,003*	0,0001*	0,571	0,594	0,0001*	0,096
San.	0,271	1,000	0,159	0,054	0,677	0,069	0,021*	0,372
Refrig.	0,0001*	0,0001*	0,0001*	0,760	0,0001*	0,019*	0,005*	0,0001*
San.*Refrig.	0,0001*	0,528	0,610	0,0001*	0,969	0,115	0,0001*	0,152
Inoc.*San.	0,0001*	0,345	0,978	0,0003*	0,909	0,145	0,211	0,255
Inoc.*Refrig.	0,0001*	0,087	0,469	0,505	0,850	0,275	0,550	0,117
Inoc.*San.*Refrig.	0,331	0,345	0,077	0,0001*	0,244	0,552	0,0001*	0,136
CV (%)	2,47	29,62	3,18	1,71	12,42	2,73	5,49	4,76

Médias seguidas de letras iguais na mesma coluna não diferem pelo teste F (5%) em cada grupo experimental.

* = significância

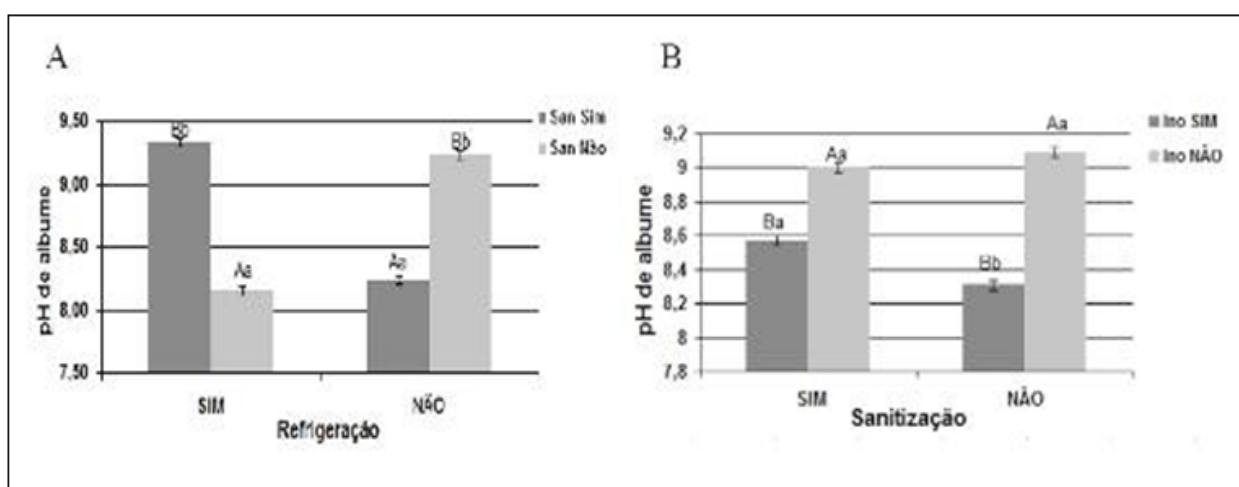


Figura 4; Desdobramento das interações significativas de pH de albume entre sanitização e refrigeração (A) e entre inoculação e sanitização (B) armazenados por 27 dias. Letras minúsculas equivalem ao grupo refrigeração e letras maiúsculas ao grupo sanitização (Fig.A). Letras minúsculas equivalem ao grupo sanitizado e letras maiúsculas ao grupo inoculado (Fig.B).

Na Figura 5-A está demonstrado um estudo de regressão em relação ao tempo de armazenamento (período total estudado – 27 dias) para unidade Haugh, dos ovos submetidos a refrigeração, inoculação e sanitização, e na Figura 5-B, de ovos não submetidos à sanitização. Os tratamentos sanitizados, combinados com inoculação ou com a refrigeração, apresentaram regressão linear negativa (Figura 5-A). Pôde-se observar que, aos 18 e 27 dias após o armazenamento, houve diferença entre as retas dos ovos refrigerados em relação aos ovos não refrigerados, mostrando um maior declínio para ovos não refrigerados. Do mesmo modo, os tratamentos não sanitizados, combinados com os outros fatores, apresentaram regressão linear negativa (Figura 5-B), sendo que ovos refrigerados apresentaram melhor valor do que ovos não refrigerados. Entretanto, não houve efeito da inoculação, mostrando que a presença da *Salmonella enterica* ser. Typhimurium não prejudicou a qualidade de UH. Do mesmo modo, Mendes et al. ⁽²⁰⁾ observaram que ovos de poedeiras contaminados com *Pseudomonas aeruginosa* e armazenados sob-refrigeração apresentaram melhores resultados de unidade Haugh, independentemente da contaminação; relataram ainda que a refrigeração foi capaz de manter a qualidade dos ovos mesmo contaminados.

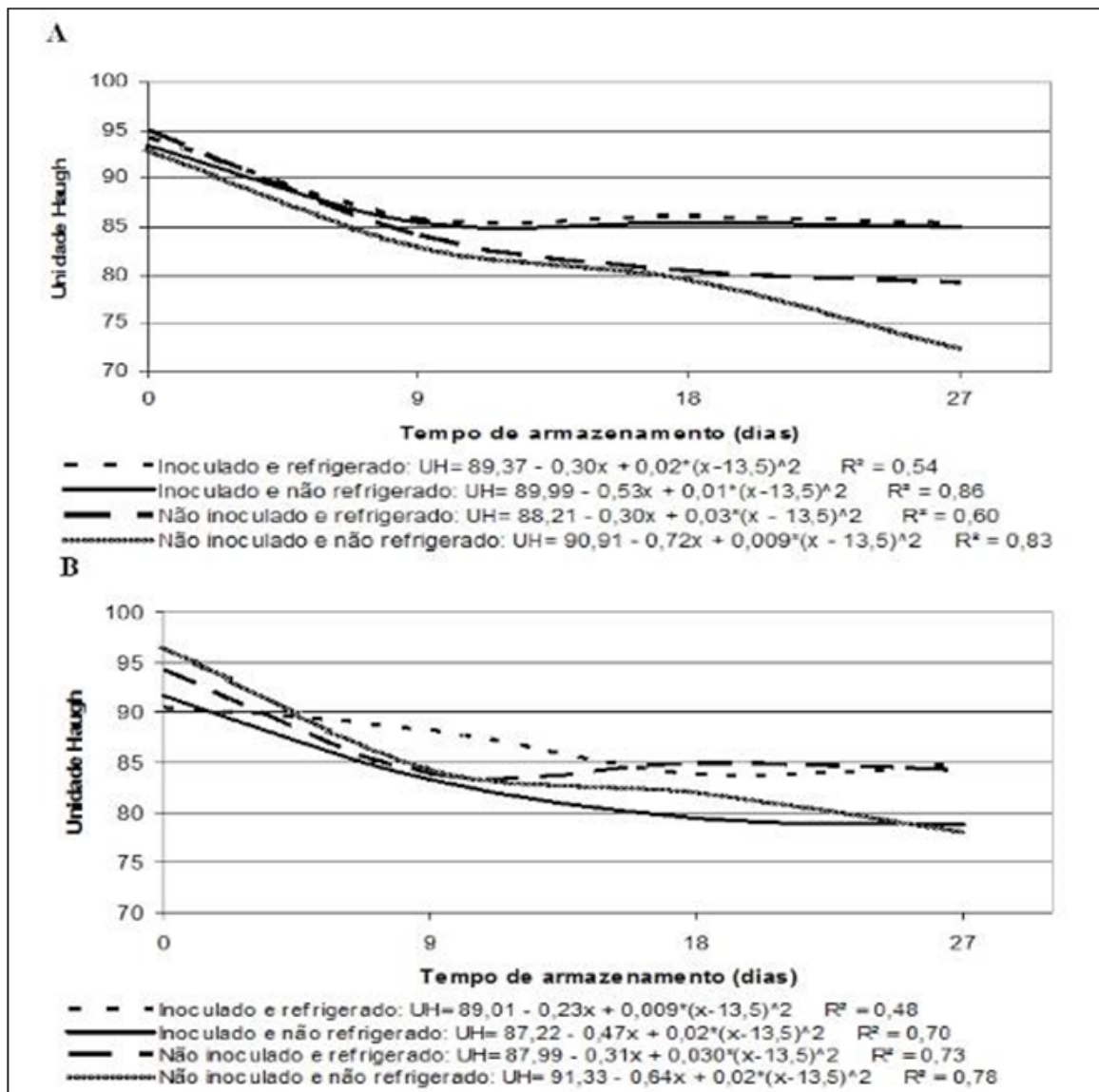


Figura 5: A = representa o grupo dos sanitizados e B = grupo não sanitizado. Valores da unidade Haugh dos ovos submetidos aos tratamentos de inoculação e refrigeração a 5 °C; inoculado e não refrigerado = 25 °C; não inoculado e refrigerado a 5 °C; não inoculado e não refrigerado = 25 °C durante 27 dias de armazenamento.

Os dados com relação ao estudo da contagem das UFC/g de bactérias (*Citrobacteriaceae*, *Enterobacteriaceae* e *Pseudomonas*) nas cascas dos ovos submetidos aos diferentes tratamentos, de acordo com o tempo de armazenamento (nove, 18 e 27 dias), estão apresentados na Tabela 4. Pôde-se observar valores de UFCs de colônias de bactérias entre 61,8 (2,55 log) a 32.457,9 (4,51 log), mostrando que mesmo os tratamentos nos quais os ovos não foram contaminados apresentaram bactérias como as *Citrobacteriaceae*, *Enterobacteriaceae* e *Pseudomonas* com nove dias após o armazenamento, sendo que no tempo zero a metodologia de eliminar bactérias na casca com ultra violeta foi eficiente.

Não houve efeito ($p > 0,05$) dos fatores estudados sob a quantidade de colônias das bactérias para os ovos armazenados por até nove dias. No entanto, Stringhini et al. ⁽⁶⁾, estudando o comportamento da bactéria *Pseudomonas aeruginosas* em ovos de poedeiras, verificaram que os ovos do tratamento contaminado com maior concentração de bactéria ($7,8 \times 10^2$ UFCs/mL) e armazenados a 25 °C apresentaram maior contagem da bactéria tanto na casca como no conteúdo aos 10 dias de armazenamento. As diferenças nos resultados podem estar relacionadas com as diferentes espécies de bactéria estudadas, concentração do inóculo, tipo do ovo (poedeira x codorna), entre outros.

Tabela 4: Valores médios da contagem de UFC das bactérias *Citrobacteriaceae*, *Enterobacteriaceae* e *Pseudomonas* encontradas nas cascas de ovos opacos, inoculados, sanitizados e armazenados sob diferentes temperaturas por 27 dias

Grupos Experimentais	Dias de armazenamento		
	Nº de Colônias (UFC/g)		
Inoculação	09	18	27
Não inoculado	6.361,30	358,10	580,40
Inoculado	10.863,70	34.801,60	28.613,40
Sanitização			
Não Sanitizado	6.121,30	31.359,10	6.166
Sanitizado	11.103,60	3.800,30	28.613,40
Temperatura			
25 °C	11.145,60	32.457,90	29.132
5 °C	6.079,40	2.701,80	61,80
Valor de p ¹			
Inoc.	0,703	0,004*	0,042*
San.	0,673	0,355	0,209
Refrig.	0,668	0,220	0,035*
San.*Refrig.	0,157	0,776	0,208
Ino.*San.	0,171	0,042*	0,234
Ino.*Refrig.	0,167	0,017*	0,042*
Ino.*San.*Refrig.	0,709	0,495	0,234
CV (%)	143,24	88,09	253,39

¹ Dados foram transformados em log para a análise estatística pelo teste F ($p < 0,05$).

* = significância

Houve interação ($p < 0,05$) para a inoculação e sanitização aos 18 dias de armazenamento e para a inoculação e refrigeração aos 18 e 27 dias de armazenamento para presença de bactérias na casca de ovos opacos (Tabela 5). Os ovos submetidos à inoculação e sanitização tiveram números menores ($p < 0,05$) de bactérias quando comparados com os ovos inoculados e não sanitizados (Tabela 5), mostrando que a sanitização pode ser um inibidor de crescimento *Salmonella enterica* ser. Typhimurium.

Houve interação ($p < 0,05$) entre os fatores de inoculação e refrigeração no tempo de 18 dias de armazenamento. Os ovos inoculados e refrigerados tiveram menor quantidade de bactérias quando comparado aos ovos inoculados e não refrigerados. Do mesmo modo, a refrigeração mostrou um efeito positivo sobre a inibição do desenvolvimento de colônias de bactérias (*Citrobacteriaceae*, *Enterobacteriaceae* e *Pseudomonas*) na casca de ovos opacos (Tabela 5). Stringhini et al. ⁽⁶⁾, estudando o comportamento da bactéria *Pseudomonas aeruginosa*, na casca de ovos de poedeiras, após 20 dias de estocagem, observaram que a refrigeração no armazenamento não foi capaz de controlar o crescimento bacteriano na casca dos grupos contaminados experimentalmente.

Ovos armazenados por 27 dias apresentaram interação para a inoculação e refrigeração e pôde-se observar que os ovos refrigerados, independentemente da contaminação, apresentaram menor crescimento de colônias de bactérias do que os não-refrigerados. Ovos contaminados e não refrigerados apresentaram o pior resultado, já que o resultado reflete a presença da *Salmonella enterica* ser. Typhimurium mais bactérias do ambiente (Tabela 5).

Os valores aceitáveis de bactérias nas cascas de ovos não foram estabelecidos pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. É desejável a menor carga bacteriana na casca a fim de diminuir o risco de penetração do micro-organismo no conteúdo. A contagem em placas de bactérias mesófilas é comumente empregada para indicar a qualidade sanitária dos alimentos ⁽⁶⁾.

Tabela 5: Desdobramento das interações significativas entre contaminação de ovos com *Citrobacteriaceae*, *Enterobacteriaceae* e *Pseudomonas* em cascas de ovos opacos, sanitizados e armazenamento sob diferentes temperaturas por 18 e 27 dias

18 dias de armazenamento		
	contaminação	
	sim	não
Sim sanitização	6.899,25Ab	7.101,87Ab
Não sanitização	72.703,88Ba	14,37 Ab
contaminação		
	sim	não
	Sim refrigeração	120,75Bb
Não refrigeração	64.795,10Aa	595,50Ab
27 dias de armazenamento		
	contaminação	
	sim	não
Sim refrigeração	33Bb	90,62Ab
Não refrigeração	57.193,70Aa	1.070,20Ab

Médias seguidas de mesmas letras maiúsculas (coluna) e minúsculas (linha) não diferem pelo teste t (5%).

Na Tabela 6 estão mostrados os valores de Unidade Formadora de Colônias (UFCs) de *Salmonella enterica* ser. Typhimurium na casca de ovos opacos, contaminados, sanitizados e estocados à temperatura de 5 °C ou 25 °C, no tempo 9, 18 e 27 dias após o armazenamento. Avaliações bacteriológicas das cascas e do conteúdo de ovos realizados no tempo zero, anteriormente à aplicação do inóculo, não detectaram a presença de *Salmonella enterica* ser. Typhimurium, mostrando que o manejo na inoculação dos ovos foi correto. Além disso, os ovos do grupo experimental controle (sem contaminação de *Salmonella enterica* ser. Typhimurium) permaneceram negativos bacteriologicamente durante os 27 dias de armazenamento.

Aos 9 e 18 dias houve efeito ($p < 0,05$) da inoculação, mostrando que nos ovos que não inoculados não houve presença de *Salmonella enterica* ser. Typhimurium. Ainda aos 18 dias de armazenamento, houve interação ($p < 0,05$) entre a sanitização e a refrigeração, mostrando que ovos mantidos sob refrigeração, quando não sanitizados, obtiveram maiores valores de UFCs quando comparados aos

ovos sanitizados (Tabela 6). Assim, considerando-se o desenvolvimento da *Salmonella* pôde-se inferir que tanto a sanitização como a refrigeração foram importantes no controle da *Salmonella* e, portanto, na qualidade bacteriológica do ovo.

Mendes et al. ⁽²⁰⁾ e Stringhini et al. ⁽⁶⁾ verificaram que, em ovos lavados, a carga bacteriana foi menor em relação aos ovos não lavados. Jones et al. ⁽²⁴⁾ observaram que ovos lavados apresentaram melhor qualidade microbiológica de casca e de conteúdo que os não lavados nas análises de mesófilos, bolores e leveduras, *Enterobacteriaceae* e *Pseudomonas* spp. quando armazenados por 10 semanas a 4 °C.

Tabela 6: Valores médios de contagem de colônias de *Salmonella enterica* ser. Typhimurium em cascas de ovos opacos, sanitizados e armazenados sob diferentes temperaturas por 27 dias

Grupos Experimentais	Dias de armazenamento		
	Número de colônias <i>Salmonella enterica</i> ser. Typhimurium		
Inoculação	9	18	27
Não inoculado	0a	0a	0
Inoculado	25.468,40b	9.900,30b	62,31
Sanitização			
Não Sanitizado	13.578,10	7.063,06	17,56
Sanitizado	11.891,30	2.838,25	45,75
Temperatura			
25 °C	22.001,90	4.928,13	62,31
5 °C	3.467,50	2.973,19	0
Valores de p			
Inoc.	0,0004*	0,0001*	0,0001*
San.	0,860	0,061	0,056
Refrig.	0,837	0,473	0,0001*
San.*Refrig.	0,925	0,029*	0,056
Ino.*San.	0,860	0,061	0,056
Ino.*Refrig.	0,837	0,473	0,0001*
Ino.*San.*Refrig.	0,925	0,029*	0,056
CV (%)	139,09	92,37	95,23

Médias seguidas de mesmas letras na coluna não diferem pelo teste t (5%).

*= significância.

Na Tabela 7 estão mostrados o desdobramento da interação entre os três fatores (inoculação, sanitização e refrigeração), no período de 18 dias de armazenamento, para crescimento da *Salmonella enterica* ser. Typhimurium. Não houve crescimento da *Salmonella* em ovos não inoculados, mostrando que o procedimento experimental foi adequado. Ovos sanitizados e refrigerados não diferiram ($p < 0,05$) de ovos não inoculados, mostrando que a associação da sanitização após a postura com a refrigeração durante o armazenamento foi eficaz no controle do desenvolvimento dessa bactéria.

Tabela 7: Desdobramento das interações triplas significativas entre inoculação de ovos com *Salmonella enterica* ser. Typhimurium e sanitização no período de armazenamento de 18 dias armazenados sob diferentes temperaturas

Tratamentos	Log UFC/g
Inoculação, não sanitização e refrigeração	3,75a
Inoculação, sanitização e não refrigeração	2,79a
Inoculação, não sanitização e não refrigeração	2,52a
Inoculação, sanitização e refrigeração	0,44c
Não inoculação, não sanitização e não refrigeração	0c
Não inoculação, não sanitização e refrigeração	0c
Não inoculação, sanitização e não refrigeração	0c
Não inoculação, sanitização e refrigeração	0c

Médias seguidas de letras iguais não diferem pelo teste t (5%).

Na Tabela 8 está apresentado o desdobramento da interação entre inoculação e refrigeração com 27 dias de armazenamento. Esses resultados mostraram que a refrigeração conseguiu diminuir o crescimento bacteriano e, conseqüentemente, proporcionou ovos de melhor qualidade.

Tabela 8: Desdobramento da interação significativa para número de *Salmonella enterica* ser. Typhimurium em ovos de casca opaca entre inoculação e refrigeração no período de armazenamento de 27 dias

Número de colônias de <i>Salmonella enterica</i> ser. Typhimurium (log UFC/g)		
Inoculação x Refrigeração		
Inoculação	Refrigeração	
	SIM	NÃO
SIM	0 Ab	1,68 Aa
NÃO	0 Ab	0 Bb

Médias seguidas de mesmas letras maiúsculas na coluna e minúscula na linha não diferem pelo teste t (5%).

Com relação à frequência de bactérias que penetraram no conteúdo dos ovos submetidos aos diferentes tratamentos em todo o período de armazenamento (Tabela 9), pôde-se observar que, nos tempos zero e 9 dias de armazenamento, não foram encontradas bactérias no conteúdo dos ovos. A presença de bactérias no conteúdo dos ovos pôde ser observada nos tempos de 18 e 27 dias de armazenamento, encontrando-se as bactérias *Enterobacteraceae* e *Salmonella*.

Mendes et al. ⁽²⁰⁾ encontraram aos 10 dias de armazenamento a presença de *Pseudomonas aeruginosa* no conteúdo de ovos de poedeiras. Da mesma forma, De Reu et al. ⁽²⁵⁾ constataram que as bactérias Gram-negativas móveis, como *Pseudomonas* spp., penetraram facilmente pelos poros das cascas dos ovos e que a contaminação interna ocorreu, frequentemente, após quatro a cinco dias de armazenamento, considerando pH favorável ao crescimento dessa bactéria entre 7,0 e 9,0.

Tabela 9: Ocorrência de micro-organismos identificados no conteúdo de ovos opacos (%) armazenados por 27 dias

Armazenamento (dias)	Tratamentos	Bactéria (Espécies)	Nº. de Presença	Frequência (%)
0	nenhum	-	0	0
9	nenhum	-	0	0
18	Inoc/ sani/ não refrig. não inoc/ sani/ refrig	Salmonella Citrobacter	2	50
27	Inoc/ não sani/ não refrig Não inoc/ não sani/ não refrig	Enterobacter	2	50

Cada grupo experimental com n= 6.

Conclusões

Ovos de codornas com casca opaca devem ser refrigerados a 5 °C durante a estocagem para manter a qualidade física e química, independente do índice de contaminação por bactérias.

A sanitização (5 ppm de cloro) e a refrigeração (5 °C) são eficientes na redução do crescimento da *Salmonella enterica* ser. Typhimurium em ovos de codornas contaminados experimentalmente.

Ovos com casca opaca quando não refrigerados devem ser consumidos em até 18 dias após a postura.

Referências

- 1 Moura AMA, Oliveira NTE, Thiebaut JTL, Melo TV. Efeito da temperatura de estocagem e do tipo de embalagem sobre a qualidade interna de ovos de codornas japonesas (*Coturnix japonica*). Ciênc. Agrotec. 2008; 32(2): 578-583.
- 2 Barreto SL de T, Quirino BJ de S., Brito CO, Umigi RT, Araujo MS, Rocha TC, Pereira, CG. Efeitos de níveis nutricionais de energia sobre o desempenho e a qualidade de ovos de codornas européias na fase inicial de postura. R. Bras. de Zootec. 2007; 36(1): 86-93.
- 3 Bordin RA, Pereira CAD, Eboli M, Artlheiro R, Freitas C. Avaliação microbiológica da eficiência do processo de fumigação em ovos incubáveis de codornas japonesas (*Coturnix coturnix japonica*). Arq. Inst. Biol. 2005; 72 (supl.1):36.
- 4 Oliveira DD, Silva EN. *Salmonella* em ovos comerciais: ocorrência, condições de armazenamento e desinfecção da casca. Arq. Bras. Med. Vet. Zootec. 2007; 52(6): 655-661.
- 5 Andrade MA, Café MB, Jayme SV, Rocha PT, Leandro NSM, Stringhini JH. Avaliação da qualidade bacteriológica de ovos de galinha comercializados em Goiânia, Goiás, Brasil. Ci. Anim. Bras. 2014; 5(4): 221-228.
- 6 Stringhini MLF, Andrade MA, Mesquita AJ, Rocha TR, Rezende, PM, Leandro NSM. Características bacteriológicas de ovos lavados e não lavados de granjas de produção comercial. Ci. Anim. Bras. 2009; 10(4): 1317-1327.
- 7 Souza P, Souza HBA, Barbosa JC, Gardini CHC, Neves MD. Effect of laying hens age on the egg quality maintained at room temperature. Ciência e Tecnologia de Alimentos. 1997; 17(1): 49-52.
- 8 Scott TA, Silversidest B. The effect of storage and strain of hen on egg quality. Poult. Sci. 2000; 79:1725-1729.
- 9 Wilks C, Parkinson G, Young P. International review of *Salmonella* Enteritidis (SE) epidemiology and control polices. Rural Industries Research and Development Corporation. 2000. Disponível em <http://rirdc>.

gov.au/reports/eggs. Acesso em: 25 set. 2009.

- 10 Fernández A, Lara C, Loste A, Calvo S, Marca MC. Control of *Salmonella enteritidis* phage type 4 experimental infection by fosfomycin in newly hatched chicks. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Disease*, Oxfor. 2001; 24: 207-216.
- 11 BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria da Defesa Agropecuária. Instrução Normativa n. 62 de 26/08/2003. Publicada em 18/09/2003. Métodos analíticos oficiais para análises microbiológicas para controle de produtos de origem animal e água. Brasília. DF: MAPA, 2008. 123 p. Disponível em <http://www.agricultura.gov.br/>. Acesso em: 30 set. 2009.
- 12 SAS – STATISTICAL ANALYSES SYSTEM. 2002. User's guide: statistics. Version 8. Cary: 2002.
- 13 Laganá C, Pizzolante CC, Togashi CK, Kakimoto SK, Saldanha ESPB, Alvares V. Influência de métodos de debicagem e do tipo de bebedouro no desempenho e na qualidade dos ovos de codornas japonesas. *R. Bras. de Zootec.* 2011; 40(6): 1217-1221.
- 14 Deeming, D C. Factors affecting hatchability during commercial incubation of ostrich (*Struthio camelus*) eggs. *British Poultry Science*.1995;36: 51-65.
- 15 Silversides FG, Budgell K. The relationships among measures of egg albumen height, pH, and whipping volume. *Poult. Sci.* 2014; 83: 1619-1623.
- 16 Samli HE, Aagma A, Senkoylu N. Effects of storage time and temperature on egg quality in old laying hens. *J. Appl. Poult. Res.*2005; 14:548–553.
- 17 Pinto AT, Silva EN. Ensaios de penetração de *Salmonella Enteritidis* em ovos de galinha com diferentes qualidades de casca, submetidos ou não a lavagem industrial e a duas temperaturas de armazenagem. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.* 2009; 61(5):1196-1202.
- 18 Figueiredo TC, Caçado SV, Viegas RP, Rêgo IOP, Lara LJC, Souza MR, Baião NC. Qualidade de ovos comerciais submetidos a diferentes condições de armazenamento *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.* 2011; 63(3): 712-720.
- 19 Araújo IC, Mesquita MA, Andrade MA, Castejon FV, Café MB, Arnhold E, Leandro NSM. Efeito do período e temperatura de armazenamento de ovos férteis sobre o rendimento de incubação e características de qualidade de codornas neonatas. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.* 2015; 67(6): 1693-1702.
- 20 Mendes FR, Leandro NSM, Andrade MA, Café MB, Santana ES, Stringhini JH. Qualidade física, química e microbiológica de ovos lavados, armazenados sob duas temperaturas e contaminados experimentalmente com *Pseudomonas aeruginosa*. *Ci. Anim. Bras.* 2014; 15(4): 444-450.
- 21 Jones DR, Musgrove MT. Effects of extended storage on egg quality factors. *Poult. Sci.* 2005; 84: 1774-1777.
- 22 Sabrani M, Payne CG. Effect of oiling on internal quality of eggs stored at 28 and 12°C. *Poult. Sci.* .1978; 19: 567-571.
- 23 Leandro NSM, Deus HAB, Stringhini JH, Café MB, Andrade MA, Carvalho FB. Aspectos de qualidade interna e externa de ovos comercializados em diferentes estabelecimentos na região de Goiânia. *Ci. Anim. Bras.* 2005; 6(2): 71-78.
- 24 Jones DR, Curtis PA, Anderson KE, Jones FT. Microbial contamination in inoculated shell eggs. II Effects of layer strain and egg storage. *Poult. Sci.* 2004; 83: 95-100.
- 25 De Reu K, Grijspeerd K, Heyndrickx M, Uyttendaele M, Debevere J, Herman L. Bacterial shell contamination in the egg collection chains of different housing systems for laying hens. *British Poultry Science.* 2006; 47(2): 163-172.