

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
ESCOLA DE VETERINÁRIA E ZOOTECNIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL**

**SANITIZAÇÃO E REFRIGERAÇÃO DE OVOS DE CODORNAS COMERCIAIS
CONTAMINADOS EXPERIMENTALMENTE POR *SALMONELLA*
TYPHIMURIUM**

Autor: Maria Juliana Ribeiro Lacerda
Orientadora: Prof^a. Dr^a. Nadja Susana Mogyca Leandro

Goiânia
2011

MARIA JULIANA RIBEIRO LACERDA

**SANITIZAÇÃO E REFRIGERAÇÃO DE OVOS DE CODORNAS
COMERCIAIS CONTAMINADOS EXPERIMENTALMENTE POR
SALMONELLA TYPHIMURIUM**

Dissertação apresentada como requisito parcial para a obtenção do grau de Mestre em Ciência Animal junto à Escola de Veterinária da Universidade Federal de Goiás.

Área de Concentração:
Produção Animal

Orientador:
Prof^a. Dr^a. Nadja Susana Mogyca Leandro

Comitê de Orientação:
Prof^a. Dr^a. Maria Auxiliadora Andrade – UFG
Prof^a. Dr^a. Maria Luiza Ferreira Stringhini – UFG

Goiânia
2011

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação na (CIP)
GPT/BC/UFG**

L131s Lacerda, Maria Juliana Ribeiro.
Sanitização e refrigeração de ovos de codornas comerciais contaminados experimentalmente por *Salmonella* Typhimurium [manuscrito] / Maria Juliana Ribeiro Lacerda. - 2011.
xv, 86 f. : il., figs, tabs.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Nadja Susana Mogyca Leandro;
Co-orientadora: Maria Auxiliadora de Andrade
Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Goiás, Escola de Veterinária e Zootecnia, 2011.
Bibliografia.
Inclui lista de figuras e tabelas.
Apêndices.

1. Ovos de codornas – Contaminação. 2. Ovos de codornas - I. Título.

MARIA JULIANA RIBEIRO LACERDA

Dissertação defendida e aprovada em 25/02/2011, pela Banca
Examinadora constituída pelos professores:


Prof. Dra. Neida Susana Molyos Leandro
(ORIENTADOR(A))


Prof. Dr. Jose Roberto Santos - MVZ/UNESP/Botucatu-SP


Prof. Dr. Marcos Barello Costa

AGRADECIMENTOS

A Deus que me acolhe, fortalece nos momentos mais difíceis e concede-me vida e saúde;

À Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, de forma especial ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal pela oportunidade de realizar este curso;

À minha família, de forma especial ao meu pai (Oscavo Lacerda), minha mãe (Marilu Ribeiro), meu irmão (Gustavo Lacerda) e meu esposo (Edson Souchie), por compreender e entender a minha ausência e pelas demonstrações de amor, carinho, incentivo na busca de meus objetivos;

Aos familiares (avós, tios, tias e primos) que direta e indiretamente participaram desta etapa de minha vida e torceram pela minha vitória;

Aos “mestres” Prof. Dra. Maria Auxiliadora Andrade pela paciência, amizade e ensinamento, colaboração durante e após os trabalhos experimentais; à Prof. Dra. Nadja Susana Mogyca Leandro, pela orientação e confiança mesmo a distancia; à Prof. Dra. Maria Luiza Stringhini por iniciar um projeto de grande valia, que resultou na hipótese de trabalho deste projeto; ao Prof. Dr. José Henrique Stringhini pelo apoio, confiança, sugestões que muito contribuíram para enriquecer este trabalho;

Aos professores Dr. José Roberto Sartori e Marcos Barcellos Café por aceitarem participar da minha banca de defesa de Mestrado;

Aos amigos Januária, Juliana Bonifácio por serem meu braço direito; Raphaela, Aline, Elisa, Gleida e Fernando pela colaboração, carinho, risos e companheirismo em todos os momentos em que passamos juntos e de forma especial à Fernanda Mendes por auxiliar-me sempre prontamente e ainda fazermos parte da mesma república;

À Médica Veterinária Maria Auxiliadora “Dorinha” pelas dicas, ensinamentos laboratoriais e companheirismo;

Aos alunos de graduação Tiago Dias e Dayanna pela colaboração na execução dos trabalhos e convívio agradável durante o curso;

De forma geral, a todos os amigos que fiz durante o curso de pós-graduação;

Aos funcionários da Instituição Acadêmica;

Ao produtor Médico Veterinário Dr. Jervásio por doar os ovos de codornas para a execução desse projeto;

E a todos que contribuíram com a realização deste trabalho.

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS	1
LISTA DE TABELAS	3
RESUMO	6
ABSTRACT	7
1 INTRODUÇÃO	8
2 REVISÃO DA LITERATURA	13
2.1 Segurança alimentar	13
2.2 Qualidade externa do ovo	14
2.2.1 Qualidade física do ovo de codorna	15
2.2.2 Qualidade microbiológica do ovo de codorna	17
2.3 <i>Salmonella</i> sp	17
2.4 Fatores que afetam a qualidade do ovo	18
2.4.1 Armazenamento X Temperatura	19
3 MATERIAL E MÉTODOS	21
3.1 Local	21
3.2 Tratamentos e delineamentos experimental	21
3.3 Preparação do inóculo e inoculação dos ovos	22
3.4 Contagem de <i>Salmonella</i> Typhimurium	23
3.5 Variáveis estudadas	23
3.5.1 Qualidade externa e interna do ovo	23
3.5.2 Qualidade bacteriológica do ovo	25
3.5.2.1 Análise microbiológica	25
3.5.3 Contagem da bactéria (presença e ausência)	27
3.6 Análises estatísticas	28
4 RESULTADOS E DISCUSSÕES	28
5 CONCLUSÃO	72
6 CONSIDERAÇÕES FINAIS	72
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	74

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1	A - Ovos de codornas com cascas opacas. B - Ovos de codornas com cascas brilhantes	21
FIGURA 2	Desdobramento da interação de peso do ovo entre inoculação com <i>Salmonella</i> Typhimurium e refrigeração (A), inoculação e sanitização (B) e sanitização e refrigeração (C) armazenamento por nove dias.	31
FIGURA 3	Desdobramento da interação de gravidade específica entre inoculação de ovos com <i>Salmonella</i> Typhimurium e sanitização por nove dias.	33
FIGURA 4	Desdobramento da interação significativas de pH de albume entre inoculação de ovos com <i>Salmonella</i> Typhimurium e refrigeração por nove dias de armazenamento.	34
FIGURA 5	Desdobramento da interação significativa de índice de gema entre inoculação de ovos e refrigeração de ovos de casca opaca armazenados por nove dias.	34
FIGURA 6	Desdobramento das interações significativas de peso de ovo entre sanitização e refrigeração (A) e inoculação e refrigeração (B) armazenados por 18 dias.	37
FIGURA 7	Desdobramento das interações significativas espessura de casca entre inoculação e refrigeração (A) e entre inoculação sob a sanitização (B) armazenados por 18 dias.	38
FIGURA 8	Desdobramento da interação significativa de percentagem de casca entre inoculação e sanitização armazenados por 18 dias.	39
FIGURA 9	Desdobramento das interações significativas de peso de ovo entre sanitização e refrigeração (A); inoculação e sanitização (B) e entre inoculação e refrigeração (C) armazenados por 27 dias.	41
FIGURA 10	Desdobramento das interações significativas de gravidade específica entre inoculação sob a refrigeração (A) e entre sanitização e refrigeração (B) armazenados por 27 dias.	42

FIGURA 11	Desdobramento das interações significativas de pH de albume entre sanitização e refrigeração (A) e entre inoculação e sanitização (B) armazenados por 27 dias.	43
FIGURA 12	Desdobramento da interação significativa de pH de gema entre sanitização e refrigeração armazenados por 27 dias.	44
FIGURA 13	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.	48
FIGURA 14	Gráfico de regressão dos fatores inoculação, não sanitização e refrigeração armazenados por 27 dias.	55
FIGURA 15	Valores de pH de albume de acordo com o ovos submetidos a inoculação com <i>Salmonella</i> Typhimurium em cascas brilhantes, sanitizados e refrigerados em função do tempo de armazenamento (dias).	67
FIGURA 16	Gráfico de regressão entre os fatores de inoculação, sanitização e refrigeração e entre inoculação, não sanitização e refrigeração armazenados por 27 dias.	71

LISTA DE TABELAS

TABELA 1	Valores médios de peso do ovo de casca opaca (PO), gravidade específica (GE), espessura de casca (EC), 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), porcentagem de casca (C%) unidade Haugh (uH), contaminados ou não, sanitizados ou não e armazenados sob diferentes temperaturas por nove dias.	30
TABELA 2	Valores médios de peso do ovo de casca opaca (PO), gravidade específica (GE), espessura de casca (EC), 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), porcentagem de casca (PC) unidade Haugh (uH), contaminados ou não, sanitizados ou não e armazenados sob diferentes temperaturas por 18 dias.	36
TABELA 3	Valores médios de peso do ovo de casca opaca (PO), gravidade específica (GE), espessura de casca (EC), 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), porcentagem de casca (PC) unidade Haugh (uH), contaminados ou não, sanitizados ou não e armazenados sob diferentes temperaturas por 27 dias.	40
TABELA 4	Valores médios de qualidade física e química dos ovos submetidos a contaminação, sanitização e refrigeração, considerando todos os períodos de armazenamento (0, 9, 18 e 27 dias).	46
TABELA 5	Valores médios da contagem de UFC das bactérias: <i>Citrobacteriaceae</i> , <i>Enterobacteriaceae</i> e <i>Pseudomonas</i> encontradas nas cascas de ovos opacos, inoculados, sanitizados e armazenados sob diferentes temperaturas por 27 dias.	49
TABELA 6	Desdobramento das interações significativas entre contaminação de ovos com <i>Citrobacteriaceae</i> , <i>Enterobacteriaceae</i> e <i>Pseudomonas</i> em cascas de ovos opacos, sanitizados e armazenamento sob diferentes temperaturas por 18 e 27 dias.	51

TABELA 7	Valores médios de contagem de colônias de <i>Salmonella</i> Typhimurium em cascas de ovos opacos, sanitizados e armazenados sob diferentes temperaturas por 27 dias	52
TABELA 8	Desdobramento das interações tripla significativas entre inoculação de ovos com <i>Salmonella</i> Typhimurium e sanitização no período de armazenamento de 18 dias armazenados sob diferentes temperaturas	53
TABELA 9	Desdobramento da interação significativa para número de <i>Salmonella</i> Typhimurium em ovos de casca opaca entre inoculação e refrigeração no período de armazenamento de 27 dias.	54
TABELA 10	Ocorrência de microrganismos identificados no conteúdo de ovos opacos (%) armazenados por 27 dias.	55
TABELA 11	Valores médios de peso do ovo de casca brilhante (PO), gravidade específica (GE), espessura de casca (EC), 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), porcentagem de casca (PC) unidade Haugh (uH), contaminados ou não, sanitizados ou não e armazenados sob diferentes temperaturas por nove dias	57
TABELA 12	Desdobramento das interações de gravidade específica entre inoculação e sanitização e entre inoculação e refrigeração de ovos de cascas brilhantes armazenados por nove dias	58
TABELA 13	Desdobramento da interação de índice de gema entre sanitização e refrigeração de ovos com casca brilhantes armazenados sob por nove dias	59
TABELA 14	Valores médios de peso dos ovos com cascas brilhantes (PO), gravidade específica (GE), espessura de casca (EC), 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), porcentagem de casca (PC) unidade Haugh (uH), contaminados ou não, sanitizados ou não e armazenados sob diferentes temperaturas por 18 dias	60

TABELA 15	Valores médios de pesos dos ovos com cascas brilhantes (PO), gravidade específica (GE), espessura de casca (EC), 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), porcentagem de casca (PC) unidade Haugh (uH), contaminados ou não, sanitizados ou não e armazenados sob diferentes temperaturas por 27 dias	62
TABELA 16	Desdobramento das interações de gravidade específica entre inoculação e sanitização e entre inoculação e refrigeração dos ovos de cascas brilhantes armazenados por 27 dias	63
TABELA 17	Desdobramento da interação de índice de gema entre sanitização e refrigeração de ovos com cascas brilhantes armazenados por 27 dias	64
TABELA 18	Valores médios de qualidade física e química dos ovos submetidos a contaminação, sanitização e refrigeração, considerando todos os períodos de armazenamento (0, 9, 18 e 27 dias)	65
TABELA 19	Valores médios da contagem de UFC de bactérias: <i>Citrobacteriaceae</i> , <i>Enterobacteriaceae</i> e <i>Pseudomonas</i> encontradas nas cascas de ovos brilhantes, inoculados, sanitizados e armazenados sob diferentes temperaturas por 27 dias	68
TABELA 20	Desdobramento da interação de números de bactérias <i>Citrobacteriaceae</i> , <i>Enterobacteriaceae</i> e <i>Pseudomonas</i> entre contaminação e sanitização no período de armazenamento de 18 dias	69
TABELA 21	Valores médios de contagem de colônias de <i>Salmonella</i> Typhimurium em cascas de ovos brilhantes, sanitizados e armazenados sob diferentes temperaturas por 27 dias	69
TABELA 22	Desdobramento da interação de números de <i>Salmonella</i> Typhimurium entre inoculação e sanitização no período de armazenamento de 18 dias	70
TABELA 23	Ocorrência de <i>Salmonella</i> Typhimurium identificados no conteúdo de ovos brilhantes (%) armazenados por 27 dias	72

RESUMO

Objetivou-se com este estudo verificar a qualidade física, química e microbiológica de ovos de codornas japonesas contaminados artificialmente com *Salmonella* Typhimurium, sanitizados e armazenados a diferentes temperaturas (5 e 25 °C) durante 27 dias. Foram utilizados 768 ovos com cascas opacas (Experimento 1) e brilhantes (Experimento 2) com pigmentos típicos da espécie e com peso médio de 11 g. O delineamento empregado foi inteiramente casualizados com esquema fatorial 2x2x2 (contaminação x sanitização x refrigeração) com seis repetições, sendo um ovo a unidade experimental. Os ovos foram contaminados pelo manuseio com $1,5 \times 10^5$ unidade formadoras de colônias (UFCs) de *Salmonella* Typhimurium/mL e de acordo com os tratamentos foram sanitizados com solução com 5ppm de Cl e armazenados a 5 ou 25 °C. Foi analisada a qualidade física (peso do ovo, gravidade específica, espessura de casca, percentagem de gema, albume e casca, unidade Haugh, índices de gema e albume), química (pH de gema e albume) e bacteriológica (contagem de bactérias na casca e no conteúdo do ovo). Os resultados de peso do ovo, uH, índice de gema e de albume e pH de gema e de albume, quando contaminados experimentalmente com *Salmonella* Typhimurium prejudicou a qualidade física do ovo a partir de 18 dias de armazenamento. Com relação a qualidade bacteriológica do ovo, a sanitização com 5 ppm de Cl pode ser uma alternativa simples e de baixo custo para reduzir a possibilidade de contaminação por *Salmonella* em ovos de codornas. Pode-se afirmar, que o tempo de estocagem dos ovos e a temperatura de armazenamento influenciaram a qualidade interna dos ovos de codornas em todas as variáveis estudadas. Esses resultados indicam que ovos com cascas opacas ou brilhantes, apresentaram pior qualidade interna com o aumento do tempo de armazenamento, principalmente na temperatura de 25 °C. Ovos de codornas com casca opaca ou brilhante, armazenados até 27 dias, devem ser sanitizados (5 ppm de cloro) e refrigerados a 5 °C durante a estocagem para manter a qualidade física e química, independentemente da contaminação por bactérias. A sanitização (5 ppm de Cl) e a refrigeração (temperatura de 5 °C) são eficientes na redução do crescimento da *Salmonella* em ovos de codornas contaminados experimentalmente.

Palavras-chave: casca brilhante, casca opaca, estocagem, ovos de codornas, *Salmonella* 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* Typhimurium, sanitized and stored at different temperatures (between 5 and 25 °C) for 27 days. We used 768 eggs with opaque shells (Experiment 1) and bright shells (Experiment 2) with 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, with one egg per experimental unit. The eggs were contaminated by handling with 1.5×10^5 colony forming unit (CFU) of *Salmonella* Typhimurium / mL and according to the treatments, sanitized with 5ppm Cl a solution, and stored at 5 or 25 ° C. The physical (egg weight, specific gravity, shell thickness, yolk, albumen and shell ratio, Haugh unit, yolk albumen index), chemical (pH of yolk and albumen) and bacteriological (bacterial count in eggshell and egg content) qualities were analyzed. Results of Experiment 1 showed a linear regression of storage time ($P < 0.05$) of storage time (up to 27 days) worsening the variables of egg weight, albumen and yolk index and albumen ratio. A quadratic effect ($p < 0.05$) of storage time worsening the pH of albumen and Haugh units. There was an interaction for the yolk pH variable between sanitation and refrigeration ($p < 0.05$) after 27 days, while those for non refrigerated eggs the best result was for sanitized eggs, showing the importance of sanitization. In Experiment 2 (eggs with bright shells) there was a linear effect ($P < 0.05$) of storage time (27 days), worsening the variables of egg weight, albumen ratio and Haugh units and quadratic effects ($p < 0.05$) worsening albumen index and pH. These results indicate that eggs with opaque or bright, had a poorer quality with increasing internal storage time, especially at 25 ° C. Quail eggs with opaque or bright shell, stored up to 27 days, should be sanitized (5 ppm of chlorine) and cooled to 5 ° C during storage to maintain physical and chemical qualities, regardless of bacterial contamination. The sanitization (5 ppm Cl) and cooling (5 ° C) are effective in reducing the growth of *Salmonella* in experimentally infected quail eggs.

Keywords: bright shell, opaque shell, storage, quail eggs, *Salmonella* Typhimurium, sanitization

1 INTRODUÇÃO

Na cadeia do agronegócio, a avicultura do Brasil tem se destacado nas últimas décadas, já que é um grande produtor e maior exportador de carne de frango, trazendo as principais somas das divisas brasileiras na atualidade. Com relação a coturnicultura, em 2002, o número de codornas alojadas foi de aproximadamente 6,2 milhões (IBGE, 2002) e com um crescimento constante de alojamento, estima-se que em 2010 o Brasil tenha alojado 14,68 milhões de codornas japonesas (BERTECHINI, 2010), sendo um crescimento na produção de ovos duas vezes maior em apenas oito anos.

As codornas foram utilizadas como cobaias em laboratórios e foram introduzida no Brasil no início da década de 60, devido a sua precocidade e pelo baixo custo de manutenção, sendo sua produção focada principalmente para a produção de ovos e carne (MURAKAMI & ARIKI, 1998).

De acordo com MURAKAMI & FURLAN (2002), dentro da avicultura, o setor de criação de codornas apresenta grande produtividade e rentabilidade, resultado do rápido crescimento das aves, da maturidade sexual precoce, da alta taxa de postura e do baixo consumo de ração. Assim, a criação de codornas pode ser considerada uma atividade rentável, quando tratada de forma profissional (ALBINO & BARRETO, 2003).

BARRETO et al. (2007) relataram que três espécies de codornas estão disponíveis para a exploração da coturnicultura industrial: a codorna americana ou “Bobwhite quail” (*Colinus virginianus*), a japonesa (*Coturnix coturnix japonica*) e a européia (*Coturnix coturnix coturnix*). Essas aves possuem características peculiares que direcionam suas aptidões para carne (européia e americana) ou ovos (japonesa).

De maneira geral, as codornas apresentam maturidade sexual precoce (35 a 42 dias), alta produtividade (média de 300 ovos/ano), grande número de aves em pequenos espaços (320 a 400 aves/m²), fácil manuseio, longevidade na produção (14 a 18 meses), alta rusticidade, baixo investimento inicial e, conseqüentemente, rápido retorno financeiro (ALBINO & BARRETO, 2003).

Por outro lado, a produção de ovos de qualidade é um outro fator de relevância, uma vez que é a qualidade que determina o sucesso do produto no mercado consumidor. A grande procura pelos consumidores por ovos de qualidade leva a 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 (BARRETO et al., 2007).

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. BORDIN et al. (2007a) relataram que embora, a coturnicultura tenha se destacado no setor produtivo pelo crescimento amplo da atividade no Brasil, a legislação atual não faz menção sobre qualidade dos ovos de codornas, sendo a classificação específica para ovos de galinhas. No entanto, como qualquer produto de origem animal, os ovos de codorna também são alimentos perecíveis, e estudos são necessários para proporcionar ao produtor medidas tecnológicas que passem retardar o processo de perda da qualidade do produto até o seu consumo (SOUZA & SOUZA, 1995).

Por outro lado, os produtos de origem animal podem ser veículos de importantes patógenos responsáveis por infecções alimentares como a salmonelose (OLIVEIRA & SILVA, 2007) causando surtos de toxinfecções alimentares de maior ou menos gravidade como diarreia, dor abdominal, febre, dor de cabeça, mal-estar, desidratação e calafrios (ANDRADE et al., 2004). As toxinfecções alimentares ocorrem, na maioria dos casos, pelas condições impróprias de processamento dos alimentos, tais como: higiene pessoal inadequada, de utensílios e de ambiente; manutenção de alimentos em temperaturas que favorecem o crescimento bacteriano; e emprego de matéria-prima contaminada (OLIVEIRA, 2006).

De acordo com OLSEN et al. (2001), o ovo é um dos alimentos mais implicado em surtos de salmonelose dentre seus derivados e carne de aves, devendo ser destacada a manipulação inadequada como o fator de contaminação cruzada.

Na literatura encontram-se relatados dois processos de contaminação dos ovos por *Salmonella*, um pela contaminação da gema do

ovo a partir do ovário ou oviduto infectado, antes da deposição da casca (FERREIRA & CAMPOS, 2008) e o outro logo após a postura, com o contato das excretas com a casca. CARDOSO et al. (2001) relataram que entre os meios mais prováveis de contaminação do ovo de poedeiras, está o do contato da casca com as excretas e que após a contaminação o microrganismo penetra no conteúdo do ovo através de rachaduras microscópicas e poros de cascas principalmente durante a lavagem.

OLIVEIRA & SILVA (2007) relataram que quando a contaminação dos os ovos ocorre via transovariana, os processos de desinfecção dos ovos após a postura não são eficientes.

Outro fator responsável pela contaminação das poedeiras ou indiretamente dos ovos, por *Salmonella*, é a ração composta com ingredientes de origem animal, mostrando a importância de programas de sanidade nos quais ocorra análise da ração, com coleta de amostras de forma adequada e em quantidades suficientes para análise microbiológica (FERREIRA & CAMPOS, 2008).

O homem também exerce papel importante na contaminação do alimento. O controle de saúde e higiene dos funcionários que manipulam os alimentos é necessário para evitar a contaminação do produto final. Dessa forma, mãos, devem ser conservadas limpas, assim como se indicam o uso de gorros de cabeça, uniformes de trabalho, luvas, máscaras, calçados e aventais (EVANGELISTA, 1989). Pesquisa realizada por STRINGHINI et al. (2009) mostrou que a maioria dos microrganismos isolados e identificados nos funcionários pertencia à microbiota natural do homem e estavam envolvidos diretamente na deterioração e na diminuição da vida de prateleira dos ovos, principalmente em relação as bactérias mesófilas.

BRASIL (2003) mostrou que a utilização de luvas e máscaras pelos funcionários durante a manipulação e embalagem do alimento diminuiu a contaminação das cascas dos ovos. Entretanto, a utilização correta desses equipamentos não desobriga a lavagem das mãos, a qual garante qualidade e segurança do alimento.

Para atender as exigências do Ministério da Agricultura e da Agência Rural, os ovos comercializados devem apresentar cascas limpas e íntegras. Não é obrigatório a lavagem como método de limpeza e sanitização dos ovos,

que deve ser de forma contínua e não por equipamentos de imersão, sendo que a água utilizada na lavagem deve ser diretamente canalizada no sistema de esgoto. Também, é permitida o uso de sanitizantes na água de lavagem, exceto os compostos de cloro em níveis superiores a 50 ppm ou compostos à base de iodo. A temperatura da água utilizada na limpeza dos ovos deve ser de 35 °C a 45 °C para promover expansão discreta do conteúdo do ovo, produzindo pressão positiva e evitar a contaminação por microrganismos. O equipamento de lavagem dos ovos tem que ser higienizado ao final de cada turno de trabalho ou quando necessário. Após a lavagem, a secagem e embalagem dos ovos devem ser realizadas observando-se os preceitos higiênicos recomendados para se evitar re-contaminação (AGÊNCIA RURAL, 2003).

LLOBERT et al. (1989) afirmaram que o processo de lavagem resulta em ovos de melhor aparência para comercialização e influencia na aceitação do produto pelo consumidor. De acordo com LAUDANNA (1995), outra vantagem da lavagem é a sanitização da casca, diminuindo a probabilidade de microrganismos penetrarem pelos poros, contaminando o conteúdo dos ovos e, ainda, eliminando o risco de patógenos ao homem.

De acordo com LAUDANNA (1995), existe desvantagem do procedimento de lavagem dos ovos que pode ser a remoção da cutícula dos poros da casca, o que facilita a entrada de microrganismos, resultando na deterioração e diminuição do período de estocagem. Por outro lado, é questionada a eficiência e a função da cutícula, já que CARDOSO et al. (2001) não encontraram relação entre a presença dessas películas com a penetração de *Salmonella* spp nos ovos de galinhas.

Com relação ao período de validade dos ovos, a Portaria n.1 de 21/02/1990 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (BRASIL, 1990) relata que o período para consumo de ovos frescos é de 30 dias para ovos de poedeiras. XAVIER et al. (2008) relataram que por não ser obrigatória a refrigeração no Brasil, os ovos comerciais são mantidos, desde o momento da postura até a distribuição final, em temperatura ambiente, sendo em alguns casos, refrigerados apenas nas casas dos consumidores.

Em muitos estabelecimentos brasileiros os ovos são comercializados em temperatura ambiente de aproximadamente 25 a 28 °C, sendo que a

temperatura recomendada, pela legislação vigente, para armazenamento do ovo fresco está entre 8 °C a 15 °C e a umidade relativa do ar entre 70 a 90%.

A diminuição da temperatura do ambiente de estocagem dos ovos visa retardar a velocidade de multiplicação de microrganismos e aumentar a vida de prateleira do produto, sendo obrigatório em muitos países (WILKS et al., 2000). Entretanto, nas condições do mercado interno brasileiro, 92% dos ovos são comercializados *in natura* sem refrigeração. De acordo com MURAKAMI & ARIKI (1998), quanto maior o tempo e a temperatura de armazenamento, pior a qualidade interna dos ovos. STRINGHINI et al. (2009) verificou 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.

MENDES (2010) estudando ovos de poedeiras contaminados artificialmente com *Pseudomonas aeruginosa*, não encontrou diferença nas contagens de colônias dessas bactérias, no conteúdo dos ovos lavados e não lavados mantidos em temperaturas de 5 ou 25 °C, com 10 dias de armazenamento. No entanto, com 20 e 30 dias de armazenamento, houve efeito da refrigeração, sendo um menor valor encontrado nos ovos mantidos sob refrigeração de 5 °C, independentemente da sanitização.

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. Diante do exposto existe a necessidade de medidas higiénico-sanitárias que assegurem o controle de patógenos nos ovos, para que esses cheguem ao consumidor em perfeitas condições sanitárias e, assim, ganhar a confiança dos consumidores, que atualmente buscam melhorias na qualidade do alimento.

Por outro lado, existem poucas informações científicas sobre qualidade de ovos de codornas e o Ministério da Agricultura e da Agência Rural não apresentam nenhuma normatização específica para ovos de codornas. Assim, a presente pesquisa foi desenvolvida com o intuito de avaliar a

qualidade físico-química e microbiológica de ovos de codornas com dois tipos de cascas (opacas ou brilhantes) submetidos a sanitização, contaminados artificialmente com *Salmonella* Typhimurium e armazenados sob refrigeração ou temperatura ambiente durante 27 dias.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Segurança alimentar e qualidade do ovo

A ausência nos alimentos de patógenos para o homem e de suas toxinas constitui-se numa exigência primária: se pressupõe que os alimentos não transmitirão enfermidades aos consumidores. Além disso, os alimentos de boa qualidade microbiológica devem apresentar níveis reduzidos de microrganismos deteriorantes (BENITEZ, 2000).

A contaminação biológica de alimentos é um problema de saúde pública no mundo todo. No país existe normatização para controle sanitário dos alimentos, como o Regulamento de Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal (RIISPOA), do Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA). Porém, ainda falta fiscalização efetiva e permanente na produção, conservação e comercialização de alimentos pelos serviços estaduais e municipais de vigilância sanitária, aos quais é delegado o poder de inspecionar e punir os infratores (BALBANI & BUTUGAN, 2001).

A qualidade da matéria-prima, a padronização do processamento e a manutenção das temperaturas desde a indústria até as gôndolas do supermercado têm sido citadas como parâmetros importantes para se evitar as toxinfecções alimentares cada vez mais freqüentes. A busca pela qualidade, seja na produção, transporte, armazenamento e consumo de alimentos é fator primordial na competição entre empresas para garantir o mercado (RICHARDS, 2003).

A qualidade do ovo está diretamente ligada a fatores genéticos, nutricionais, manejo, condições sanitárias, tempo e temperatura de armazenamento. Esses fatores podem alterar a vida comercial do ovo, bem como seu valor nutritivo, sabor, aroma e cor da gema (LLOBET et al., 1989).

Os ovos de galinha assim como os de codornas apresentam alta qualidade nutricional, porque possuem todos os aminoácidos essenciais para o homem, vitaminas, como retinol e complexo B e minerais como ferro, fósforo, iodo e cálcio (NEPA, 2006). Além de ser completo e equilibrado em nutrientes, é uma fonte de proteínas de baixo custo, podendo contribuir na melhoria da dieta de famílias de baixa renda (LEANDRO et al., 2005).

2.2 Qualidade externa do ovo

A coturnicultura de postura comercial registra perdas econômicas significativas devidas aos problemas de cascas danificadas ou de quebras dos ovos. É comum, os produtores de ovos comerciais terem grandes perdas de ovos em virtude da qualidade de casca, como quebrados ou trincados, e isso pode estar relacionado com vários fatores, como a idade da ave, nutrição (FURTADO et al., 2001), sanidade do plantel (OLIVEIRA, 2001) e ingredientes na ração (CARVALHO et al., 2007).

A casca constitui a proteção exterior do ovo e corresponde cerca de 9 a 12% do peso total do ovo dependendo do tamanho do mesmo e representa a primeira linha de defesa contra a contaminação bacteriana.

De acordo com BAIÃO & CANÇADO (1997), os métodos utilizados para avaliar a qualidade da casca em codornas são semelhantes aos utilizados em poedeiras e podem ser divididos em duas categorias: diretos e indiretos. Dentre os métodos mais comumente empregados, a espessura da casca, a percentagem da casca em relação ao peso do ovo e o peso da casca por unidade de superfície de área são definidos como métodos diretos; enquanto o peso específico ou gravidade específica do ovo é considerado um método indireto.

O teste da gravidade específica do ovo, é realizado mediante adição de NaCl na água e na determinação da densidade, sendo que, quanto mais concentrada a solução salina em que o ovo flutuar, mais espessa é a casca (HAMILTON, 1982). Outro método de avaliar a qualidade de casca é a verificação da espessura, a qual é realizada após a lavagem da casca sem conteúdo com água corrente para retirada dos restos que permanecem no interior e após secagem por 24 horas em temperatura ambiente e/ou em estufa

a 60 °C por 72 horas. Esse método é feito sem a remoção das membranas da casca em dois pontos distintos na área centro-transversal por meio de micrômetro (LIN et al., 2004).

A variação da cor da casca em ovos de codornas ocorre devido a característica de cada fêmea. Os ovos se apresentam salpicados de manchas castanho-escuras ou negras, com variações no tamanho e cores (amarelo, castanho-claro, esverdeadas). Essas manchas são deposição de minerais como ferro, cálcio, sódio, cobre entre outras (ALBINO & BARRETO, 2003). Os pigmentos da casca dos ovos de codorna são a biliverdina e a ovoporfirina (POOLE, 1965).

Os ovos pigmentados e com uma densa capa de gordura e de tonalidade opaca e azulada são os que permaneceram por longo período no oviduto, geralmente são de aves com postura de um ovo a cada 36 a 48 horas, e esses ovos apresentam redução da porosidade e portanto, diminuição da permeabilidade da casca. Os ovos com casca de pigmentação opaca apresentaram menor perda de peso durante o armazenamento do que os ovos de casca pigmentada brilhante (ALBINO & BARRETO, 2003).

Segundo ALBINO & BARRETO (2003), os ovos pigmentados e brilhantes de codornas japonesas são os que apresentam melhor qualidade, pois a pigmentação demonstra que o ovo permaneceu tempo suficiente no oviduto. Já os ovos com pouca pigmentação, são de aves de alta produção cujo ovo permaneceu tempo reduzido no oviduto, sendo considerados ovos imaturos.

2.2.1 Qualidade física do ovo de codorna

Como qualquer produto de origem animal, os ovos de codorna também são alimentos perecíveis e começam a perder sua qualidade interna imediatamente após a postura (SOUZA & SOUZA, 1995). Sendo assim, os ovos de codornas devem ser armazenados em locais frescos e comercializados no tempo máximo de 30 dias (BRASIL, 1990). Com 15 dias de armazenamento fora da geladeira, começa o processo de liquefação da clara, reduzindo a qualidade do ovo, pois ocorre desnaturação das proteínas (ALBINO & BARRETO, 2003). De acordo com FIORAVANTTI et al. (2004), os

ovos de codornas armazenados em temperatura ambiente devem ter um período de validade menor, que não ultrapasse 12 dias entre produção e o consumidor final; já os ovos mantidos sob refrigeração poderão ser armazenados por um período superior a 30 dias.

SOUZA & SOUZA (1995) estudando o tempo de armazenamento em relação à temperatura de estocagem de ovos de codornas, observaram que a refrigeração (8 °C) manteve a qualidade interna dos ovos por 21 dias de armazenamento. Trabalho realizado por SEIBEL & SOUZA-SORES (2003), mostrou que ocorreu perda de peso nos ovos de codorna de 5,41%, sem refrigeração, e a perda aumentou conforme o período de armazenamento.

Um dos métodos de avaliar a qualidade dos ovos é a unidade Haugh. MURAKAMI & ARIKI (1998) avaliaram a qualidade interna do ovo de codornas utilizando a unidade Haugh e relataram que os ovos armazenados em geladeira mantiveram a qualidade por 30 dias, enquanto os ovos na temperatura ambiente declinaram linearmente com o período de armazenamento.

ALLEONI & ANTUNES (2001) verificaram o escore da unidade Haugh de ovos de galinha e observaram regressão linear negativa, em função do tempo de armazenamento dos ovos, em ambas as temperaturas estudadas (8 ou 25 °C). A redução nos valores da unidade Haugh representaram declínio na qualidade do ovo. Do mesmo modo SEIBEL & SOUZA-SOARES (2003), estudando a qualidade interna de ovos de codornas, observaram decréscimo nos resultados de unidade Haugh e de índice gema para ovos de codornas durante o período de 1 a 45 dias de armazenamento após a postura. Com relação a qualidade da gema, o decréscimo observado no índice de gema ao longo do período armazenado foi em função do aumento do diâmetro da gema, devido a transição da água do albume através da membrana vitelina, ocorrendo migração de aproximadamente 2% da água do albume para a gema durante o armazenamento.

MURAKAMI & ARIKI (1998) utilizando o índice de gema como parâmetro de qualidade interna de ovo de codornas, concluíram que ovos armazenados em geladeira podem manter a qualidade por mais de 30 dias, enquanto que em ovos mantidos em temperatura ambiente sofrem um declínio linear da qualidade, nesse mesmo período de armazenamento. SEIBEL &

SOUZA-SOARES (2003) estudando a avaliação física de ovos de codorna no período de 1 a 45 dias de armazenamento, observaram que o índice da gema aumentou com o decorrer do tempo, e concluíram que houve transferência da água contida no albume para a gema.

2.2.2 Qualidade microbiológica do ovo de codorna

A garantia da qualidade do ovo levando-se em consideração a microbiologia e produtividade da granja, depende da adoção de medidas sanitárias voltadas a impedir a entrada de patógenos, bem como da redução da carga microbiana existente (OUCKAMA, 1996).

Os ovos têm sido apontados como veiculadores de diversas bactérias, principalmente do gênero *Salmonella*, causando surtos de toxinfecções alimentares de maior ou menos gravidade como diarreia, dor abdominal, febre, dor de cabeça, mal-estar, desidratação e calafrios (ANDRADE et al., 2004).

O monitoramento da contaminação de origem microbiana da casca de ovos, com o objetivo de avaliar o índice de contaminação microbiológica, deve ser adotado rotineiramente para se evitar o comprometimento das etapas sucessivas da cadeia produtiva e até mesmo ao consumidor (GUSTIM, 2003).

CARDOSO et al. (2001) relataram que entre os meios mais prováveis de contaminação estão o contato com as excretas das aves no momento da postura e a contaminação, por penetração do microrganismo, através de rachaduras microscópicas e poros de cascas após a lavagem.

BORDIN et al. (2007b) trabalhando com desinfecção de incubatório para ovos de codornas, observaram que o processo químico a base de formol líquido e permanganato de potássio foi eficiente na redução da contaminação por mesófilos totais da casca dos ovos, mas não na eliminação total dos contaminantes da mesma.

2.3 *Salmonella* sp

As *Salmonellas* pertencem à família *Enterobacteriaceae*, compreendendo cerca de 2.800 sorotipos bioquimicamente relacionados. Os organismos do gênero *Salmonella* são bacilos Gram-negativos, móveis por

flagelos peritríquios, anaeróbios facultativos, com catalase positiva e oxidase negativa (SANTOS et al., 2008).

De acordo com ADAMS & MOSS (1995), a temperatura ótima para o crescimento do microrganismo *Salmonella* é de 35- 37°C e a mínima é de 5°C, podendo alcançar o crescimento na temperatura máxima de 45°C. O pH ótimo para seu crescimento é 7,0 e quando os limites de pH para o crescimento são ultrapassados, ocorre a morte da *Salmonella*. São destruídas facilmente por desinfetantes comerciais, utilizados na indústria de alimentos, embora sejam capazes de sobreviver por muito tempo nos alimentos e em outros substratos (ICMSF, 1996).

COSTALUNGA & TONDO (2002) relataram que o risco de se desenvolver salmonelose pelo consumo de um alimento é influenciado por diversos fatores, entre eles a quantidade de *Salmonella* sp. presente e práticas de armazenamento e preparo do alimento. A dose infectante de *Salmonella* para humanos saudáveis varia entre 10^6 e 10^8 unidades formadoras de colônia (UFC), embora já tenham sido relatados casos de salmonelose com doses inferiores (HUMPHREY, 2004).

A contaminação mais freqüente ocorre devido a *Salmonella*, que pode ser transmitida por qualquer alimento, mas é encontrada principalmente em ovos, leite e carnes, especialmente a de frango. As aves podem contrair salmonelose por diferentes vias: via ovo: ocorre a transmissão vertical, através do ovário, ou transmissão horizontal, pela penetração da bactéria na casca do ovo, logo após a postura; e via sistema digestório ou respiratório: as aves contaminadas, ao eliminarem a bactéria juntamente com as excretas, contaminam o alimento, a água e o ar. A bactéria penetra no organismo pelo sistema digestório e, ou, respiratório, multiplica-se no tecido linfóide, invade a corrente circulatória e dissemina-se para os diversos órgãos e sistemas, sendo eliminada com as excretas (SANTOS et al., 2008).

2.4 Fatores que afetam a qualidade do ovo

A qualidade do ovo para consumo está diretamente ligada a fatores genéticos, nutricionais, manejo, condições sanitárias, tempo e temperatura de armazenagem. A linhagem, idade alimentação, temperatura, umidade relativa, duração do armazenamento, doenças e até mesmo a manipulação e coleta

automática de ovos, são fatores que exercem influência na qualidade interna dos ovos (LANA et al., 2008). Segundo XAVIER et al. (2008), por não ser obrigatória a refrigeração, os ovos comerciais são acondicionados, desde o momento da postura até a distribuição final, em temperatura ambiente, sendo, em alguns casos, refrigerados apenas nas casas dos consumidores.

2.4.1 Armazenamento X Temperatura

A temperatura e o período de armazenamento são fatores que mais influenciam na qualidade do albume e da gema. A velocidade das alterações no albume e na gema está associada com a temperatura e movimento de dióxido de carbono através da casca. O aumento nos valores do pH do albume durante o armazenamento está relacionado com a perda de dióxido de carbono para o ambiente externo, sendo acelerada em altas temperaturas. O H_2CO_3 , um dos componentes do sistema tampão do albume, dissocia-se formando água (H_2O) e gás carbônico (CO_2), sendo o CO_2 liberado para o ambiente o que provoca a elevação do pH do albume. Quanto menor a temperatura, menor será a velocidade de declínio da qualidade dos ovos (ORNELLAS, 2001).

FURTADO et al. (2001) relataram que 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 perda de água do ovo é responsável pela perda de peso do ovo durante o armazenamento. A velocidade de perda de peso é acelerada em altas temperaturas e retardada por alta umidade relativa. Para minimizar a perda de peso dos ovos é recomendado o armazenamento dos ovos em umidade relativa de 75 e 80%.

OLIVEIRA (2006) relatou que houve perda de peso dos ovos nas duas temperaturas de armazenamento estudadas (6 ou 25 °C). Essa perda foi mais acentuada a 25 ± 1 °C comparada a 6 ± 1 °C. De fato, uma perda de 5 % no peso dos ovos foi observada aos 40 dias quando os ovos foram armazenados a 6 ± 1 °C e aos 15 dias quando armazenados a 25 ± 1 °C. Aos 30 dias do armazenamento a 25 ± 1 °C observou uma perda de 7,7% do peso do ovo. Assim como o ovo inteiro, o albume sofreu redução do peso nas duas temperaturas de armazenamento. A perda de peso foi maior quando comparada à perda de peso do ovo, pois perde água não somente para o

ambiente externo, mas também para a gema (SILVERSIDES & BUDGELL , 2004).

A redução no peso do albume determina a redução nos pesos dos ovos e o aumento do peso da gema (SILVERSIDES et al.,1993). Conforme o ovo vai ficando mais velho, a membrana perivitelina vai se tornando mais fraca e torna-se mais elástica permitindo a entrada da água do albume, o que resulta no aumento do peso da gema. A liquefação do albume está associada com a dissolução da chalaza, que ocorre após o longo período de armazenamento (RUTZ et al., 2005). PASCOAL et al. (2008) avaliaram a perda de peso em ovos armazenados a 5 ± 1 °C e a 32 ± 2 °C e confirmaram que a perda de peso foi mais acentuada em ovos armazenados em temperatura ambiente.

SEIBEL & SOUZA-SOARES (2003) avaliando o peso dos ovos de codornas armazenados em diferentes períodos, observaram que quanto maior o período de armazenamento, maior foi a perda de peso dos ovos. SOUZA & SOUZA (1995) afirmaram que a perda de peso de ovos ocorre como consequência das trocas de umidade com o meio da estocagem.

MENDES et al. (2009) avaliaram a temperatura e o tempo de armazenamento de ovos de galinhas poedeiras e observaram que, a perda de peso dos ovos aumentou linearmente com o aumento do tempo de armazenagem em ambas as condições de armazenamento (temperatura ambiente e refrigerados). Entretanto, essas perdas foram maiores quando os ovos foram mantidos em temperatura ambiente durante o armazenamento.

A temperatura recomendada para o armazenamento de ovo de poedeira está entre 8 a 15 °C, com uma umidade relativa do ar entre 70 a 90% (STRINGHINI, 2008) Quando o armazenamento ultrapassa 30 dias, BAIÃO & CANÇADO (1997) recomendam temperaturas entre 4 a 12 °C ou próximo de 0 °C e para períodos longos, a umidade relativa de 70 e 80%. O armazenamento entre 0 a 1,5 °C com umidade relativa de 85 e 90%, mantém a qualidade física e microbiológica do ovo por seis meses (ORNELLAS, 2001).

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Local

Foram realizados dois experimento no Laboratório de Bacteriologia o Departamento de Medicina Veterinária da Universidade Federal de Goiás, no período de janeiro a abril de 2010. Sendo que o Experimento 1 foi estudado a qualidade de ovos de codornas japonesas com casca opaca e no Experimento 2 foram avaliados somente ovos com casca brilhante.

3.2 Tratamentos e delineamentos experimental

Foram utilizados 384 ovos de codornas da linhagem Japonesa, coletados no galpão de postura de granjas comerciais, para cada experimento. Os ovos foram coletados no dia da postura (no final do período vespertino) com o cuidado de padronizar o tamanho e o tipo de casca com pigmentos típicos da espécie, sendo que para o Experimento 1 foram selecionados somente ovos com casca opaca e para o Experimento 2, ovos com casca brilhante. Essa seleção foi realizada de maneira subjetiva através da visualização da casca do ovo (Figura 1). Após a coleta e seleção os ovos foram transportados para o laboratório onde foram mantidos em temperatura ambiente e foram submetidos a radiação ultravioleta por 24 horas, com o objetivo de eliminar as possíveis bactérias, da casca, provenientes da granja.

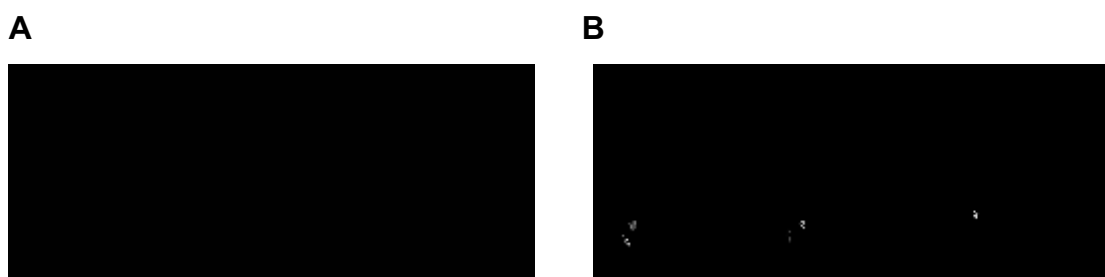


FIGURA 1A - Ovos de codornas com cascas opacas. B - Ovos de codornas com cascas brilhantes.

Os tratamentos foram uma combinação de três fatores (inoculação dos ovos com a bactéria *Salmonella* Typhimurium, sanitização (cloro 5ppm) e temperatura ambiente durante o período de armazenamento), assim o delineamento utilizado foi delineamento 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 0,1 mL de solução salina a 0,85% contendo 1×10^6 unidades formadoras de colônia- UFC/mL do microrganismo *Salmonella* Typhimurium. Os ovos foram contaminados após a avaliação de qualidade no tempo zero, sendo realizado no Laboratório de Bacteriologia do Departamento de Medicina Veterinária da Universidade Federal de Goiás. O armazenamento dos ovos do grupo refrigerado foi realizado com a temperatura de 5 °C em geladeira e umidade relativa de 60% e os ovos do grupo não refrigerados na 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 48 ovos foram avaliados quanto à qualidade física e microbiológica.

Para analisar a perda de peso dos ovos foi realizado um ensaio com 48 ovos, que foram pesados a cada três dias, totalizando oito tratamentos (2x2x2), sendo feito as combinações dos tratamentos utilizando seis ovos por tratamento.

3.3 Preparação do inóculo e inoculação dos ovos

O inóculo foi preparado com *Salmonella* Typhimurium isolada no Laboratório de Bacteriologia em 2009 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 (FERNÁNDEZ et al., 2001) 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*. Desta forma gerou-se o inóculo utilizado para a contaminação dos ovos.

Após permanência de 24 horas sob luz ultravioleta da câmara asséptica, os ovos foram inoculados por exposição ao inóculo de *Salmonella*

Typhimurium por contato com as mãos revestidas com luvas descartáveis, simulando possível contaminação cruzada dos ovos.

Com auxílio de uma seringa de tuberculina 0,1 mL de solução salina tamponada a 0,85% contendo a concentração de *Salmonella* Typhimurium desejada foram depositadas 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 secagem por fluxo laminar por 15 minutos da inoculação, os ovos que foram desinfetados passaram pelo processo de sanitização utilizando um “borrifador de água” borrifando sobre os ovos solução de cloro a 5ppm e após a secagem encaminhados para armazenamento em refrigerador e/ou estufa.

3.4 Contagem de *Salmonella* Typhimurium

A partir do tempo zero, e a cada sete dias, seis ovos de cada tratamento foram quebrados sendo casca e conteúdo assepticamente separados, formando-se pools de três cascas e três conteúdos.

Foram pesadas 2,5g de cascas e do conteúdo os quais foram transferidos para 22,5 mL de água peptonada. O material foi homogeneizado manualmente por 25 vezes e diluições decimais sucessivas e foram realizados utilizando-se 9 mL de solução salina peptonada 0,1%. Realizou-se plaqueamentos por superfície com 0,1 mL de diferentes diluições em ágar Mac Conkey e Hectoen os quais foram incubados a 37 °C por 18- 24 horas.

3.5 Variáveis estudadas

3.5.1 Qualidade externa e interna do ovo

A cada nove dias, a partir do tempo zero, seis ovos de cada tratamento foram submetidos às seguintes análises de qualidade:

Peso do ovo: os ovos foram pesados em balança digital Marte modelo AS500C, com divisão de 0,01 g. Este peso foi utilizado como valor de referência para posterior cálculo de cada fração do ovo (FLETCHER et al., 1981).

Gravidade específica: determinada por metodologia consagrada (HAMILTON & THOPSON, 1981). A padronização das soluções salinas para mensuração da gravidade específica foi realizada mediante adição de NaCl em água em temperatura ambiente e determinação de sua densidade com densímetro. Foram padronizadas 16 soluções com densidade entre 1,025 g/cm³ a 1,100 g/cm³, com subdivisões de 0,005 g/cm³.

Espessura de casca: as cascas foram lavadas em água corrente para retirada dos restos de albume que ainda permaneciam em seu interior. Após secagem por 24 horas em temperatura ambiente foram transferidas para uma estufa a 60 °C por 72 horas. A espessura da casca foi medida sem a remoção das membranas da casca, em dois pontos distintos na área centro-transversal por meio de micrômetro AMES 25M-5, com divisões de 0,01 mm (LIN et al., 2004).

Porcentagem da gema, albume e casca: foram obtidas pela pesagem (g) em balança digital, de cada uma das partes, sendo que este peso foi então dividido pelo peso do ovo e multiplicado por 100. O peso da casca foi obtido após secagem conforme descrito por SILVERSIDES et al. (1993).

Unidade Haugh (UH): os ovos foram quebrados e seu conteúdo colocado em superfície de vidro plana e nivelada. Foi medida a altura do albume (mm) por micrômetro tripé modelo AMES S – 6428. De posse dos valores de peso do ovo (g) e altura do albume (mm), foi utilizado a fórmula descrita por CARBÓ (1987) para o cálculo da UH:

$$UH = 100 \log (h + 7,57 - 1,7W^{0,37}), \text{ onde:}$$

h = altura do albume (mm)

W = peso do ovo (g)

Porcentagem de perda de peso: utilizou-se grupos de seis ovos identificados de cada tratamento totalizando 48 ovos, pesados de três em três dias.

Índice de gema: foi medido através da altura da gema com o mesmo micrômetro utilizado anteriormente e, com paquímetro, o diâmetro da gema (mm). Este índice foi calculado dividindo-se a altura da gema pelo valor do seu respectivo diâmetro.

Índice do albume: foi medida a altura do albume com micrômetro utilizado anteriormente e, com paquímetro, o diâmetro do albume transversal e

longitudinalmente (mm). Este índice foi dividido a altura da gema pelo valor da média das medidas do seu respectivo diâmetro.

pH do conteúdo dos ovos: após homogeneização do conteúdo dos ovos, esta medida foi determinada em pHmetro digital PHTEK modelo pHS-3B, calibrado previamente com soluções tampão pH 4 e 7 (BRASIL, 1999).

3.5.2 Qualidade bacteriológica do ovo

Para a análise microbiológica dos ovos, foram utilizados 192 ovos, sendo que para cada período foi utilizado 48 ovos, ou seja, seis ovos por tratamento.

3.5.2.1 Análise microbiológica

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 (BRASIL, 2003), sendo assim, foi realizado de acordo com as fases a seguir:

1ª Fase) Pré-enriquecimento em caldo não seletivo: foi feito a separação do conteúdo e a casca foi pesado separadamente fazendo-se um pool de 3 ovos. Após a pesagem de três conteúdos e três cascas, foram colocados diretamente em becker esterilizado. As cascas e conteúdo foram pesados e adicionados solução salina peptonada 0,1% de acordo com o peso, a qual constituiu a diluição 10^0 sendo homogeneizado.

2ª Fase) Foram transferidos 1 mL da mistura a tubos de ensaio contendo 9 mL de Caldo Selenito Cistina, a qual constituiu a diluição de 10^0 e depois foi feito a diluição transferindo 0,1 mL a tubos com 9 mL de solução salina peptonada a 0,85% até chegar a 1×10^{-3} .

3ª Fase) Isolamento e seleção: A partir de cada caldo de enriquecimento seletivo foram estriadas placas de ágar Mac Conkey e Hectoen as quais foram incubados a 37 °C por 18- 24 horas. Decorrido este tempo, foi realizada a detecção de colônias típicas de *Salmonella*.

4ª Fase) Confirmação preliminar das colônias típicas: Com o uso de uma agulha de inoculação removeu-se uma porção da massa de células do

centro de 3 colônias típicas de cada placa e inoculou-se em tubos inclinados de ágar Tríplice Açúcar Ferro (TSI) que foram incubados a $35^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}$ por 24 horas.

Foram consideradas como típicas de *Salmonella* as seguintes reações:

Em TSI - Rampa alcalina (vermelha) e fundo ácido (amarelo) com ou sem produção de H_2S (escurecimento do ágar).

As culturas TSI supostamente positivas foram submetidas também a provas bioquímicas e sorológicas, porque algumas salmonelas podem apresentar reações atípicas nestes meios.

5ª Fase) Testes bioquímicos para confirmação definitiva: As colônias típicas de *Salmonella* em TSI foram testadas para confirmação através das seguintes provas bioquímicas:

Teste de Urease: Transferiu-se uma alçada com inóculo da cultura em TSI para um tubo com Caldo Uréia de Christensen e incubou-se a 35°C por 24 horas. A permanência do meio em sua cor original (amarelo à pêssego) indicou teste negativo. A maioria das cepas de *Salmonella* são urease-negativa.

Teste da Motilidade: Uma alçada do inóculo da cultura em TSI foi transferida para um tubo com ágar SIM (o qual permite a detecção de H_2S , produção de indol e motilidade simultaneamente) e incubou-se a 35°C por 24 horas. Foram consideradas reações positivas para o H_2S , o enegrecimento do meio e para motilidade a observação de uma zona de desenvolvimento difuso a partir da linha de inoculação.

Vermelho de metila (VM): Uma alçada do inóculo da cultura em TSI foi transferida para o tubo com o Caldo de VM e incubou-se a 35°C por 24 horas. Após a incubação, foi adicionado o indicador vermelho de metila, o qual foi considerada reações positivas aquelas amostras que passou do amarelo para vermelho.

Já a produção de indol foi verificada após adição do reativo de Kovacs (paradimetilaminobenzaldeído), o qual é evidenciado pela formação de um anel de cor vermelha, na camada alcoólica superficial do meio.

Citrato Simmons: Uma alçada do inóculo da cultura em TSI foi transferida para um tubo com ágar Citrato e incubou-se a 35°C por 24 horas. Este teste determina se a bactéria é capaz de utilizar o citrato de sódio como

única fonte de carbono para o metabolismo e crescimento. Com a facilidade do transporte de citrato pela citrato-permease há a sua utilização pela citrase, com produção de hidróxido de amônia que eleva o pH, fazendo com que a reação se torne azul.

Malonato: Uma alçada do inóculo da cultura em TSI foi transferida para o tubo com o Caldo de malonato e incubou-se a 35°C por 24 horas. Essa prova determina a capacidade de uma bactéria de utilizar o meio como única fonte de carbono, alcalinizando o meio, tirando da bactéria sua principal fonte de energia e impedindo a formação de outros intermediários necessários ao metabolismo.

Lisina: Uma alçada do inóculo da cultura em TSI foi transferida para o tubo com lisina e lisina controle e incubou-se a 35°C por 24 horas. A reação ocorre preferencialmente em condições anaeróbias e ligeiramente ácidas, mas inicialmente ocorre a utilização da glicose do meio para enriquecimento da cultura e acidificação do meio.

6ª Fase) Teste sorológico: As colônias que apresentaram reações positivas em pelo menos um dos testes bioquímicos preliminares foram testadas utilizando a reação de aglutinação com soro somático polivalente.

Marcaram-se dois quadrados em uma lâmina de vidro e a partir da cultura de 24 horas em TSI transferiu-se uma alçada para cada um dos quadrados demarcados. Adicionou-se uma gota de solução salina estéril a cada quadrado, a cultura foi emulsionada e uma gota de anti-soro somático polivalente foi colocada em um dos quadrados. O quadrado sem o soro foi considerado o controle negativo. Quando ocorria aglutinação, o teste era considerado positivo para *Salmonella spp.*

3.5.3 Contagem da bactéria (presença e ausência)

Após realizar o plaqueamento por superfície com 0,1 mL da diluição de cascas e conteúdo em ágar MacConkey e Hectoen os quais foram incubados a 37 °C por 18- 24 horas, foi realizada a contagem de bactérias da casca. Já para o conteúdo, foi realizado apenas presença e ausência das bactérias.

3.6 Análises estatísticas

Os resultados paramétricos foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste t de Student, considerando o nível de 5% de probabilidade. Foi aplicado regressão polinomial considerando-se o período de armazenamento dos ovos. Todas as análises foram realizadas fazendo-se uso do programa computacional Statistical Analysis System (SAS, 2002).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foi realizada análise da qualidade física, química e microbiológica dos ovos opacos (Experimento 1) e brilhantes (Experimento 2) no tempo inicial, sendo que não houve diferença entre os grupos antes da submissão dos tratamentos ($p > 0,05$). Esses resultados indicam que os ovos inicialmente foram homogêneos e apresentavam valores médios das medidas de qualidade externa e interna para as variáveis (peso do ovo, índice de albume e gema, espessura de casca, porcentagem de albume e gema e pH de albume e gema) compatíveis com ovos frescos e de boa qualidade. 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 11,10g; índice de albume: 0,12 e de gema: 0,45; pH de albume: 7,66 e gema: 5,71 e uH=93,97.

Os dados médios dos ovos experimentais inicialmente estão de acordo com resultados encontrados em ovos frescos de codornas japonesas por PEDROSO et al. (1999); BRANDÃO et al. (2007) e LAGANÁ et al. (2009).

Na Tabela 1 estão apresentados os resultados do Experimento 1 (casca opaca), com relação a qualidade física e químicas dos ovos armazenados durante nove dias. Nesse período pode-se observar que não houve interação ($p > 0,05$) entre os fatores contaminação, sanitização e temperatura de armazenamento para as variáveis de espessura e porcentagem de casca, 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 a gravidade específica, índice de gema e porcentagem de gema, sendo que os ovos não refrigerados apresentaram diminuição da qualidade física em relação aos refrigerados após nove dias de armazenamento, assim como, houve efeito ($p < 0,05$) da sanitização dos ovos com cloro a 5 ppm sobre porcentagem de gema, sendo que ovos não contaminados apresentaram melhor resultado. E a contaminação com *Salmonella* Typhimurium influenciou a unidade Haugh ($p < 0,05$).

TABELA 1 – Valores médios de peso do ovo de casca opaca (PO), gravidade específica (GE), espessura de casca (EC), 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), porcentagem de casca (C%) unidade Haugh (uH), inoculados ou não, sanitizados ou não e armazenados sob diferentes temperaturas por nove dias.

Grupos experimentais			Variáveis de qualidade física								
Inoculação	PO (g)	GE (g/cm3)	EC (mm)	IA	A (%)	pH (A)	IG	G (%)	pH (G)	C (%)	uH
Não inoculado	11,08	1,053	0,13	0,06	44,24	10,10	0,37	33,89	7,73	1,18	83,77b
Inoculado	10,80	1,052	0,13	0,07	46,62	9,59	0,37	34,33	7,83	1,27	85,68a
Sanitização											
Não Sanitizado	10,83	1,048	0,14	0,07	45,28	9,63	0,36	35,21a	7,94	1,31	84,86
Sanitizado	11,05	1,057	0,12	0,07	45,57	10,06	0,37	33,01b	7,62	1,14	84,59
Temperatura											
25 °C	10,47	1,050b	0,12	0,06 b	46,55	9,96	0,33	35,34a	7,81	1,21	84,09
5 °C	11,47	1,056a	0,14	0,07a	44,31	9,73	0,40	32,88b	7,75	1,23	85,36
Valor de p											
Inoc.	0,037*	0,681	0,581	0,187	0,139	0,066	0,730	0,601	0,571	0,331	0,046*
San.	0,106	0,001*	0,123	0,929	0,856	0,118	0,158	0,010*	0,105	0,070	0,776
Refrig.	0,0001*	0,031*	0,059	0,031*	0,163	0,384	0,0001*	0,004*	0,730	0,786	0,179
San.*Refrig.	0,0001*	0,064	0,520	0,789	0,491	0,775	0,960	0,237	0,144	0,670	0,800
Inoc.*San.	0,031*	0,031*	0,926	0,067	0,135	0,252	0,404	0,892	0,500	0,335	0,274
Inoc.*Refrig.	0,0001*	0,805	0,854	0,187	0,716	0,047*	0,048*	0,460	0,115	0,264	0,334
Inoc.*San.*Refrig.	0,353	0,934	0,713	0,331	0,277	0,690	0,461	0,042*	0,310	0,489	0,074
CV (%)	4,13	0,82	23,38	22,32	12,02	9,50	7,79	8,37	8,44	25,49	3,80

Médias seguidas de letras iguais na mesma coluna não diferem pelo teste de t, com nível de significância de 5% cada grupo experimental

* = significância

Para peso dos ovos (Figura 2-A), houve interação ($p<0,05$) entre inoculação e temperatura após nove dias de armazenamento. Ovos refrigerados apresentam valores de peso de ovos maiores ($p<0,05$) que os não-refrigerados. Os ovos contaminados com *Salmonella* 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 contaminados foi menor do que do grupo não contaminando ($p<0,05$) (Figura 2-A). Do mesmo modo, ovos inoculados apresentaram melhor resultado de peso de ovo quando refrigerados.

Os ovos sanitizados apresentaram maior peso ($p<0,05$) quando não foram inoculados (Figura 2-B). Na Figura 2-C pode-se observar o gráfico da interação ($p<0,05$) entre sanitização e temperatura de estocagem, para a variável peso dos ovos. Os ovos dos grupos refrigerados apresentaram melhores valores de peso de ovos ($p<0,05$) quando não foram submetidos a sanitização, e os ovos não refrigerados, obteve-se melhor peso de ovo ($p<0,05$) quando submetidos a sanitização. ($p<0,05$). Assim, a refrigeração mostrou ser importante em ovos não sanitizados.

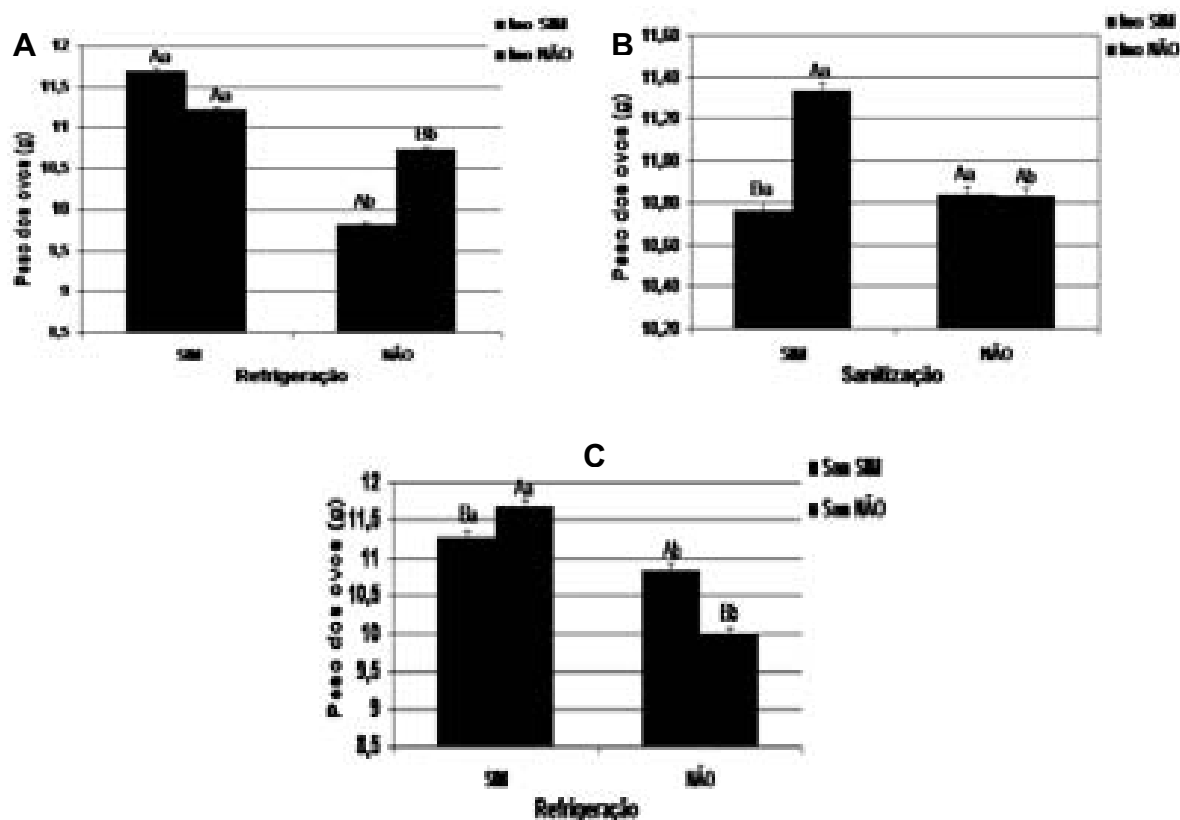


FIGURA 2 - Desdobramento da interação de peso do ovo entre inoculação com *Salmonella* Typhimurium e refrigeração (A), inoculação e

sanitização (B) e sanitização e refrigeração (C) armazenamento por nove dias. Letras maiúscula equivalem ao grupo inoculado e letras minúscula ao grupo refrigerado (Fig.A). Letras maiúscula equivalem ao grupo inoculado e letras minúscula ao grupo sanitizado (Fig.B). Letras maiúscula equivalem ao grupo sanitizado e letras minúscula ao grupo refrigerado (Fig.C).

A redução do peso do ovo durante o armazenamento segundo FARIA et al. (2002), 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 (2005) constatou perda de peso de 1,04g em ovos de poedeiras comerciais, lavados e contaminados com *Salmonella* Enteritides e mantidos a 8 °C por 14 dias. De acordo com o autor, essa perda foi em decorrência da retirada da cutícula de proteção pela escovação durante a lavagem dos ovos, o que influenciou na velocidade de evaporação de água. Neste experimento, ovos sanitizados quando refrigerados perderam mais peso do que ovos não sanitizados, no entanto, os ovos de codornas sanitizados foram submetidos apenas a aspersão da água com 5 ppm de cloro.

Para gravidade específica (Figura 3) houve interação ($p < 0,05$) entre sanitização e inoculação. Ovos sanitizados apresentaram valores de gravidade específica maiores ($p < 0,05$) do que os não-sanitizados. Os ovos contaminados com *Salmonella* Typhimurium e submetidos ao processo de sanitização, tiveram maiores valores de gravidades específicas ($p < 0,05$) em relação aos contaminados e não sanitizados. HAMILTON & THOMPSON (1981) e CARVALHO (2003) também observaram melhores valores da gravidade específica para ovos de codornas e poedeiras comerciais em menores temperaturas de armazenamento.

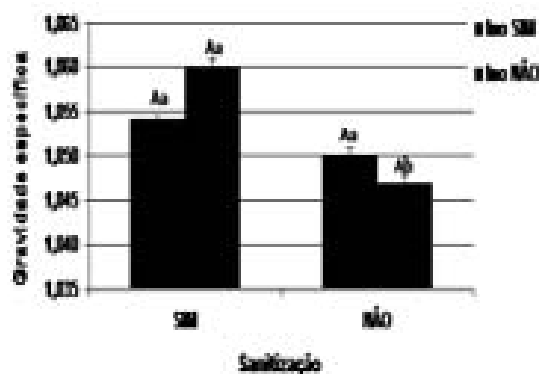


FIGURA 3 - Desdobramento da interação de gravidade específica entre inoculação de ovos com *Salmonella* Typhimurium e sanitização por nove dias. Letras minúsculas equivalem ao grupo sanitização e letras maiúsculas ao grupo inoculação.

Para a variável pH de albume (Figura 4) houve interação ($p < 0,05$) entre inoculação e refrigeração após nove dias de armazenamento. As mudanças de pH segundo CARBÓ (1987) ocorrem nos primeiros dias após a postura e que o declínio da sua qualidade é acelerado por altas temperaturas de armazenamento. Do mesmo modo, o tempo de armazenamento afeta a qualidade do ovo e pode ser observado um aumento no pH do albume (SCOTT & SILVERSIDES, 2000). Já MAYES & TAKEBALLI (1983) e PINTO (2005) citaram que o comportamento do pH da gema é pouco alterado, enquanto 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, atingindo-se valores de pH de até 9,5 em ovos de poedeira, sendo que o albume sofre um clareamento e perde a viscosidade. (ORDÓÑEZ, 2005). Quanto maior for a viscosidade do albume, maior será a barreira para difusão de gases e microrganismos.

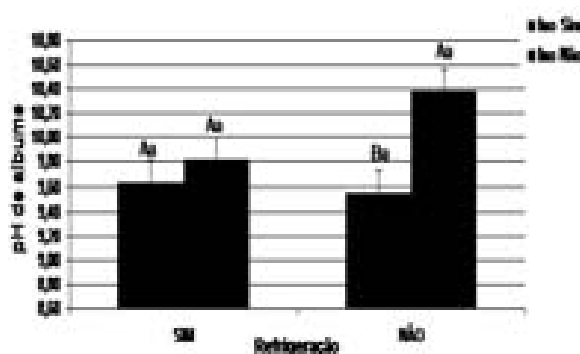


FIGURA 4 - Desdobramento da interação significativas de pH de albume entre inoculação de ovos com *Salmonella* Typhimurium e refrigeração

por nove dias de armazenamento. Letras minúsculas equivalem ao grupo refrigeração e letras maiúsculas ao grupo inoculação.

Na Figura 5 está apresentada a interação ($p < 0,05$) entre os fatores inoculação e refrigeração da variável índice de gema de ovos armazenados por nove dias. Os ovos submetidos a refrigeração tiveram valores superiores ($p < 0,05$) para índice de gema quando comparados com os mantidos em temperatura ambiente. Esse resultado concorda em partes com o relato de SOLOMON (1991), que afirmou que a qualidade da gema é pouco afetada até o sétimo dia de armazenamento, independentemente da temperatura ambiente. Após esse período, dependendo do tempo e da temperatura de armazenamento, a água do albume fluido atravessa a membrana vitelínica, por osmose, sendo retida na gema. Assim, o excesso de água na gema determina o aumento do tamanho e do peso da gema e, conseqüentemente, a perda da qualidade do ovo (MORENG & AVENS, 1990).

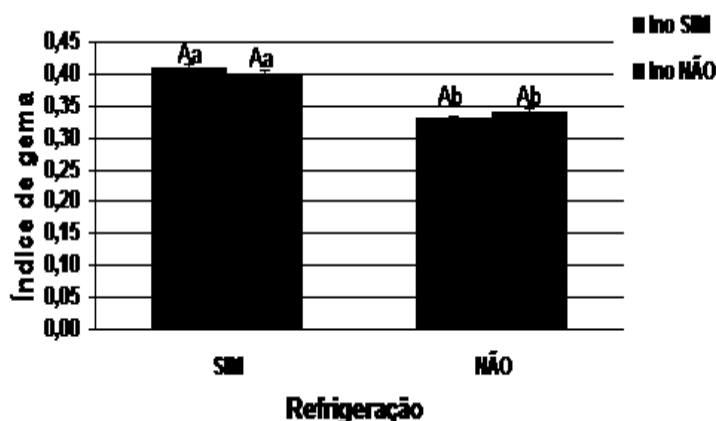


FIGURA 5 - Desdobramento da interação significativa de índice de gema entre inoculação de ovos e refrigeração de ovos de casca opaca armazenados por nove dias. Letras minúsculas equivalem ao grupo refrigeração e letras maiúsculas ao grupo inoculação.

Na Tabela 2 estão mostrados os resultados de qualidade de ovos para ovos submetidos aos tratamentos inoculação, sanitização e refrigeração durante o armazenamento de 18 dias (Experimento 1) e verificou-se que não houve interação ($p > 0,05$) entre os fatores estudados para as variáveis de gravidade específica, índice de albume e gema, porcentagem de albume e gema, pH de albume e gema e unidade Haugh.

Entretanto, constatou-se que houve efeito ($p < 0,05$) da temperatura de estocagem sobre a gravidade específica, índice de albume e gema,

porcentagem de albume, gema e casca, pH de albume e gema e unidade Haugh, sendo que os ovos não refrigerados apresentaram diminuição da qualidade física em relação aos refrigerados após 18 dias de armazenamento.

TABELA 2 – Valores médios de peso do ovo de casca opaca (PO), gravidade específica (GE), espessura de casca (EC), índice de albuma (IA), porcentagem de albuma (A%), pH de albuma (pH A), índice de gema (IG), porcentagem de gema (G%), pH de gema (pH G), porcentagem de casca (PC) unidade Haugh (uH), contaminados ou não, sanitizados ou não e armazenados sob diferentes temperaturas por 18 dias.

Grupos experimentais		Variáveis de qualidade física									
Inoculação	PO (g)	GE (g/cm ³)	EC (mm)	IA	A (%)	pH (A)	IG	G (%)	pH (G)	C (%)	uH
Não inoculado	10,85	1,037b	0,12	0,06	30,59	10,35	0,34	34,70	7,28a	1,17	83,01
Inoculado	10,87	1,042a	0,11	0,06	29,77	10,34	0,34	35,43	7,64b	1,03	82,46
Sanitização											
Não Sanitizado	10,88	1,036b	0,12	0,06	29,82	10,35	0,34	36,05a	7,40	1,12	82,57
Sanitizado	10,84	1,043a	0,11	0,06	30,53	10,35	0,34	34,08b	7,52	1,08	82,91
Temperatura											
25 °C	10,27	1,029b	0,12	0,04b	27,62b	10,48a	0,26b	36,64a	7,66a	1,18	80,40b
5 °C	11,45	1,050a	0,11	0,08a	32,74a	10,21b	0,42a	33,49b	7,26b	1,01	85,07a
Valores de p											
Inoc.	0,812	0,023*	0,039*	0,414	0,582	0,359	0,644	0,526	0,007*	0,081	0,581
San.	0,648	0,0009*	0,564	0,743	0,655	0,959	0,539	0,043*	0,340	0,891	0,735
Refrig.	0,0001*	0,0001*	0,406	0,0001*	0,001*	0,0001*	0,0001*	0,001*	0,003*	0,024*	0,0001*
San.*Refrig.	0,0001*	0,089	0,847	0,414	0,153	0,540	0,817	0,832	0,377	0,682	0,289
Inoc.*San.	0,0001*	0,611	0,021*	0,414	0,084	0,682	0,700	0,641	0,728	0,003*	0,214
Inoc.*Refrig.	0,0001*	0,362	0,021*	0,743	0,854	0,064	0,590	0,167	0,095	0,138	0,761
Inoc.*San.*Refrig.	0,784	0,132	0,406	0,743	0,618	0,959	1,000	0,375	0,146	0,496	0,625
CV (%)	2,16	0,67	18,73	26,94	3,45	0,54	10,84	2,07	5,97	0,95	4,16

Médias seguidas de letras iguais na mesma coluna não diferem pelo teste de t, com nível de significância de 5% cada grupo experimental

* = significância

Houve interação ($p < 0,05$) para peso dos ovos opacos (Figura 6-A) entre os fatores sanitização e refrigeração, aos 18 dias de armazenamento (Experimento 1). Os ovos não sanitizados tiveram maior peso ($p < 0,05$), quando foram submetidos à refrigeração a 5 °C, no entanto para ovos sanitizados pode-se observar o inverso, ou seja, melhor resultado para os não refrigerados. Constatou-se ainda, que ovos inoculados apresentaram melhor resultados de peso ($p < 0,05$) quando foram refrigerados (Figura 6-B).

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 e retardada por alta umidade relativa (75 a 80%) (MENDES, 2010). A perda de peso dos ovos está correlacionada com o número e dimensões dos poros, espessura ou resistência da casca, e com as condições ambientais (BRANDALIZE, 2001). Porém uma alta concentração de poros, ou poros com diâmetros grandes, causa um efeito negativo devido a maior possibilidade de sua desidratação (DEEMING, 1995).

BARBOSA et al. (2008) relatam que em estudos com ovos de poedeira armazenados em duas temperaturas, a perda de peso dos ovos aumentou linearmente com o aumento do tempo de estocagem, independentemente da temperatura de armazenamento (17 e 23 °C).

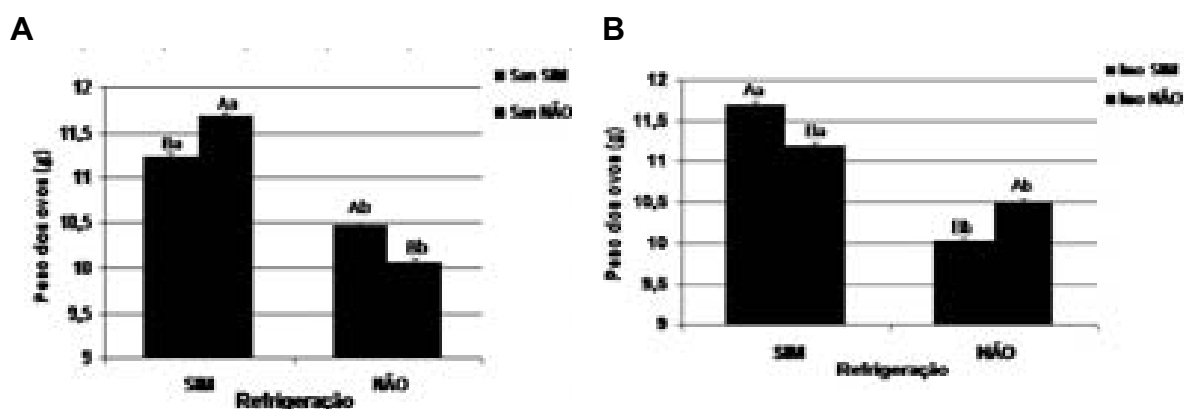


FIGURA 6 - Desdobramento das interações significativas de peso de ovo entre sanitização e refrigeração (A) e inoculação e refrigeração (B) armazenados por 18 dias. Letras minúsculas equivalem ao grupo refrigeração e letras maiúsculas ao grupo sanitização (Fig.A) Letras minúsculas equivalem ao grupo refrigeração e letras maiúsculas ao grupo inoculação (Fig.B).

Para a variável espessura de casca (Figura 7-A), houve interação ($p < 0,05$) entre os grupos refrigeração e inoculação, aos 18 dias de

armazenamento. Pode-se observar um melhor valor ($p < 0,05$) para os ovos não inoculados e não refrigerados. Houve interação ($p < 0,05$) entre inoculação e sanitização (Figura 7-B). Os ovos não inoculados e não sanitizados tiveram melhor espessura de casca quando comparados com os ovos inoculados e não sanitizados.

MESSENS et al. (2005) indicaram que quanto menor a espessura da casca maior é a chance de penetração dos microrganismos no conteúdo dos ovos, causando sua deterioração. ROSA et al. (2002) verificaram que aves mais velhas produzem ovos com casca mais fina e maior número de poros.

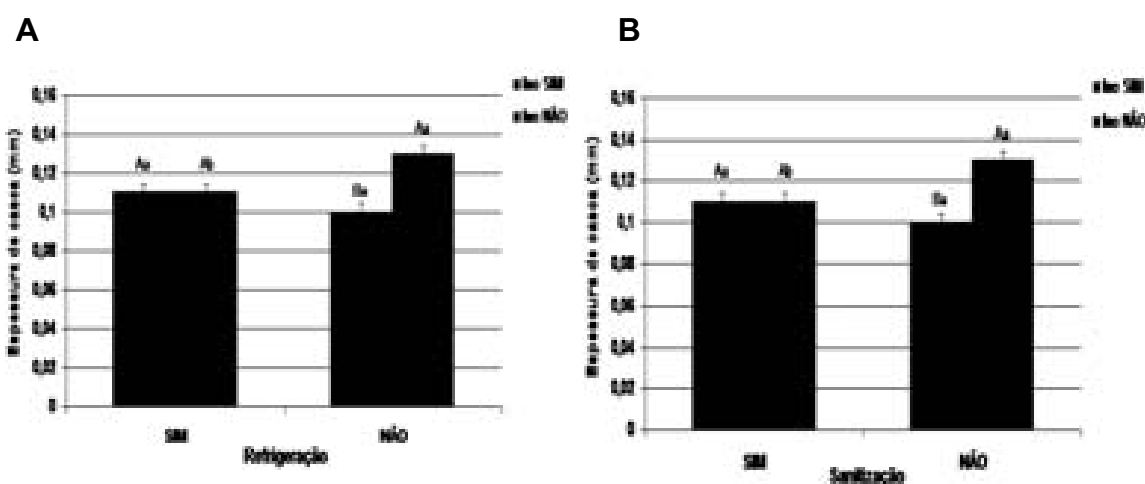


FIGURA 7- Desdobramento das interações significativas espessura de casca entre inoculação e refrigeração (A) e entre inoculação sob a sanitização (B) armazenados por 18 dias. Letras minúsculas equivalem ao grupo refrigeração e letras maiúsculas ao grupo de inoculação (Fig. A). Letras minúsculas equivalem ao grupo de sanitização e letras maiúsculas ao grupo inoculação (Fig. B)

Com relação a porcentagem de casca (Figura 8), não houve diferença entre ovos inoculados ou não, quando foi aplicado o processo de sanitização, entretanto, em ovos não sanitizados melhores resultados foram observados em ovos não inoculados ($p < 0,05$).

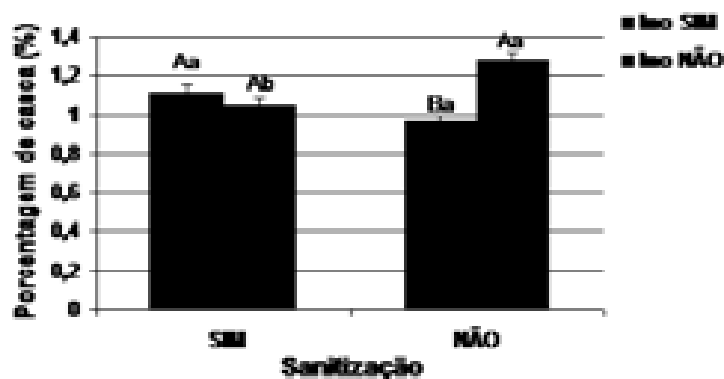


FIGURA 8 - Desdobramento da interação significativa de percentagem de casca entre inoculação e sanitização armazenados por 18 dias. Letras minúsculas equivalem ao grupo sanitizado e letras maiúsculas ao grupo inoculado.

Na Tabela 3 são mostrados os resultados de qualidade para ovos opacos submetidos aos diferentes tratamentos durante o armazenamento de 27 dias. Não houve interação ($p > 0,05$) entre os fatores estudados para as variáveis de espessura de casca, índice de albume e gema, porcentagem de albume, gema e casca 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 após 27 dias de armazenamento (Tabela 3). Houve efeito da inoculação ($p < 0,05$) para as variáveis espessura de casca, porcentagem de albume e de casca e pH de gema.

TABELA 3 – Valores médios de peso do ovo de casca opaca (PO), gravidade específica (GE), espessura de casca (EC), índice de albuma (IA), porcentagem de albuma (A%), pH de albuma (pH A), índice de gema (IG), porcentagem de gema (G%), pH de gema (pH G), porcentagem de casca (PC) unidade Haugh (uH), contaminados ou não, sanitizados ou não e armazenados sob diferentes temperaturas por 27 dias.

Grupos experimentais		Variáveis de qualidade física									
Inoculação	PO (g)	GE (g/cm ³)	EC (mm)	IA	A (%)	pH (A)	IG	G (%)	pH (G)	C (%)	uH
Não inoculado	10,67	1,033	0,15a	0,05	36,76b	9,04	0,30	39,19	6,58a	1,41b	80,03
Inoculado	10,59	1,038	0,17b	0,06	41,36a	8,44	0,30	38,47	5,97b	1,63a	81,93
Sanitização											
Não Sanitizado	10,59	1,032	0,16	0,06	40,10	8,70	0,30	40,02	6,40	1,53	81,48
Sanitizado	10,67	1,039	0,16	0,06	38,02	8,78	0,30	37,64	6,16	1,51	80,48
Temperatura											
25 °C	10,01	1,026	0,16	0,04b	35,70b	8,73	0,23b	40,44a	6,42	1,61	77,12b
5 °C	11,25	1,045	0,16	0,08a	42,42a	8,75	0,37a	37,22b	6,13	1,44	84,83a
Valores de p											
Inoc.	0,249	0,003*	0,028*	0,272	0,003*	0,0001*	0,571	0,594	0,0001*	0,032*	0,096
San.	0,271	0,0002*	0,482	1,000	0,159	0,054	0,677	0,069	0,021*	0,558	0,372
Refrig.	0,0001*	0,0001*	0,486	0,0001*	0,0001*	0,760	0,0001*	0,019*	0,005*	0,558	0,0001*
San.*Refrig.	0,0001*	0,019*	0,134	0,528	0,610	0,0001*	0,969	0,115	0,0001*	0,465	0,152
Inoc.*San.	0,0001*	0,809	0,327	0,345	0,978	0,0003*	0,909	0,145	0,211	0,084	0,255
Inoc.*Refrig.	0,0001*	0,0001*	0,560	0,087	0,469	0,505	0,850	0,275	0,550	0,148	0,117
Inoc.*San.*Refrig.	0,331	0,153	0,028*	0,345	0,077	0,0001*	0,244	0,552	0,0001*	0,032*	0,136
CV (%)	2,47	0,57	13,40	29,62	3,18	1,71	12,42	2,73	5,49	1,74	4,76

Médias seguidas de letras iguais na mesma coluna não diferem pelo teste de t, com nível de significância de 5% cada grupo experimental

* = significância

Para peso dos ovos, houve interação ($p<0,05$) entre inoculação, sanitização e temperatura (Figura 9-A), após 27 dias de armazenamento. Para ovos refrigerados não houve efeito da sanitização, ou seja, não é necessário a sanitização quando houver a refrigeração. No entanto, quando os ovos não foram refrigerados os ovos sanitizados apresentaram maiores valores ($p<0,05$). Assim, pode-se sugerir que os ovos de codornas quando não refrigerados devem ser sanitizados previamente.

Em ovos não contaminados com *Salmonella* Typhimurium foi observado maior peso quando os mesmos foram sanitizados (Figura 9-B). No entanto, quando os ovos não foram sanitizados pode-se observar que o maior peso foi para os ovos contaminados com a *Salmonella* Typhimurium, esse resultado sugere que ovos não sanitizados apresentavam outros tipos de bactérias que podem ter influenciado no resultado. Houve interação ($p<0,05$) entre inoculação e temperatura de estocagem, sendo que após 27 dias de armazenamento os ovos não inoculados apresentaram melhor peso quando foram refrigerados (Figura 9-C).

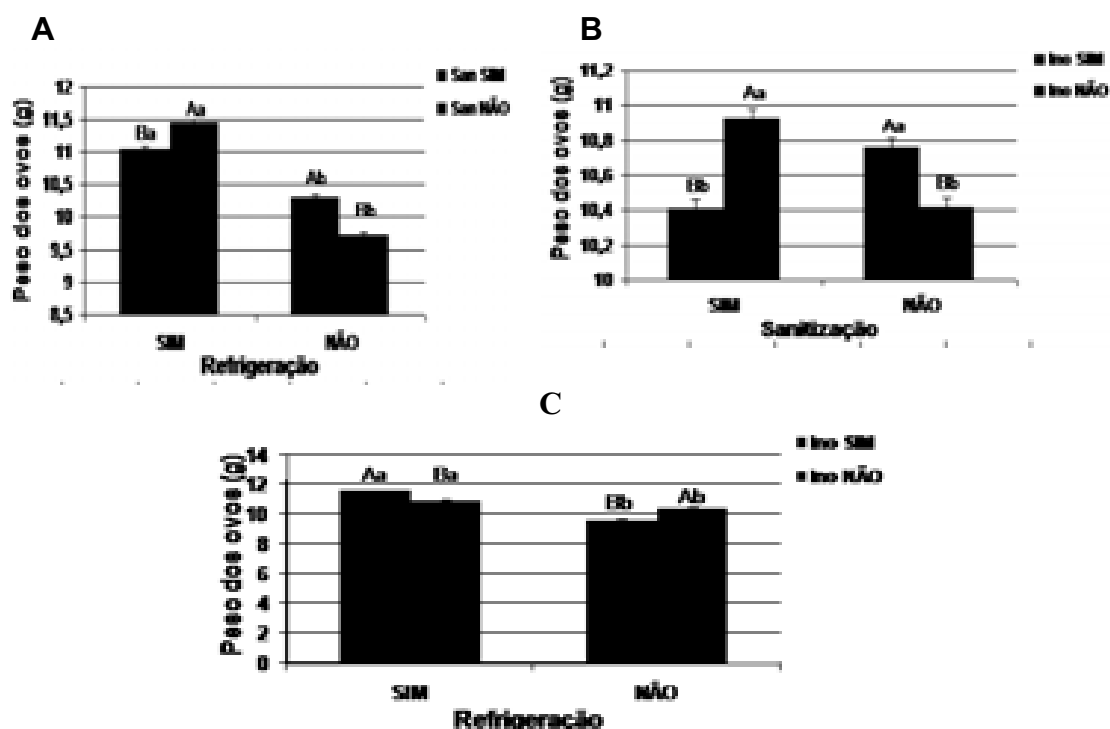


FIGURA 9. Desdobramento das interações significativas de peso de ovo entre sanitização e refrigeração (A); inoculação e sanitização (B) e entre inoculação e refrigeração (C) armazenados por 27 dias. Letras minúsculas equivalem ao grupo refrigeração e letras maiúsculas ao grupo sanitização (Fig.A). Letras minúsculas equivalem ao grupo sanitização e letras maiúsculas ao grupo inoculação (Fig.B). Letras minúsculas equivalem ao grupo refrigeração e letras maiúsculas ao grupo de inoculação (Fig.C).

PINTO (2005) observou que ovos de poedeiras com cascas íntegras perderam mais peso quando armazenados a 30°C do que a 8°C. Os relatos sobre ovos de mesa comprovam que há uma maior perda de peso ao longo do tempo, quando os mesmos são armazenados sob altas temperaturas (SABRANI & PAYNE, 1978). Do mesmo modo, OLIVEIRA (2006) observou uma perda de peso dos ovos de poedeiras de 7,7% após 30 dias de armazenamento na temperatura de 25 °C. MENDES et al.(2009) estudando a perda de peso de ovos de poedeiras inoculados com *Pseudomonas aeruginosas* experimentalmente, lavados e refrigerados, encontrou maior perda de peso em os ovos não inoculados, não lavados e refrigerados a 5 °C.

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 (SILVERSIDES & BUDGE, 2004).

Para gravidade específica (Figura 10-A), houve interação ($p<0,05$) entre inoculação e refrigeração. Ovos inoculados apresentaram valores de gravidade específica maiores ($p<0,05$) do que os não-inoculados quando armazenados em temperatura de 5 °C. Os ovos sanitizados (Figura 10-B), tiveram valores de gravidade específica maiores ($p<0,05$) quando foram refrigerados por 27 dias. MENDES (2010) verificou redução dos valores de gravidade específica quando os ovos de poedeiras foram armazenados por até 30 dias e mantidos sob refrigeração, encontrando valores de 1,060.

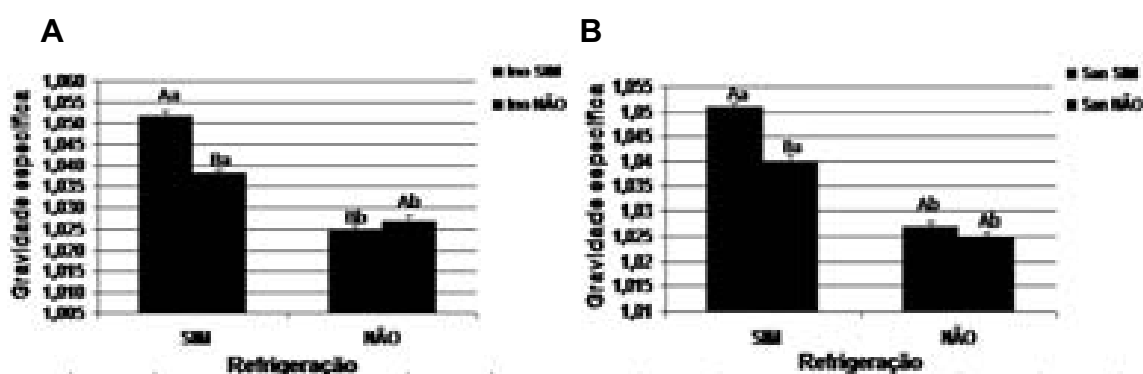


FIGURA 10-Desdobramento das interações significativas de gravidade específica entre inoculação sob a refrigeração (A) e entre sanitização e refrigeração (B) armazenados por 27 dias. Letras minúsculas equivalem ao grupo refrigeração e letras maiúsculas ao grupo inoculação (Fig.A) Letras minúsculas equivalem ao grupo refrigeração e letras maiúsculas ao grupo de sanitização (Fig. B).

Houve interação ($p < 0,05$) para pH de albume (Figura 11-A) entre sanitização e refrigeração após 27 dias de armazenamento. Quando os ovos foram refrigerados melhores resultados podem ser observados no grupo sanitizado, (Figura 11-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 (2010) estudando ovos de poedeiras, verificou que a refrigeração foi mais importante que a sanitização, já que, não encontrou efeito da sanitização, independentemente da refrigeração.

SABRANI & PAYNE (1978) quando armazenaram ovos com casca íntegra a 12 °C e a 28 °C, observaram que o pH do albume piora 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. DEUS (2003) também encontrou um aumento no pH dos ovos de poedeiras armazenados em temperatura ambiente.

Para a mesma variável (Figura 11-B), houve interação ($p < 0,05$) entre inoculação e sanitização após 27 dias de armazenamento. Resultados incongruentes em relação aos ovos não inoculados, já que apresentaram piores resultados em ovos não inoculados, embora, esse fato pode estar relacionado com a presença de outras bactérias como: *Citrobacteriaceae*, *Enterobacteriaceae* e *Pseudomonas*.

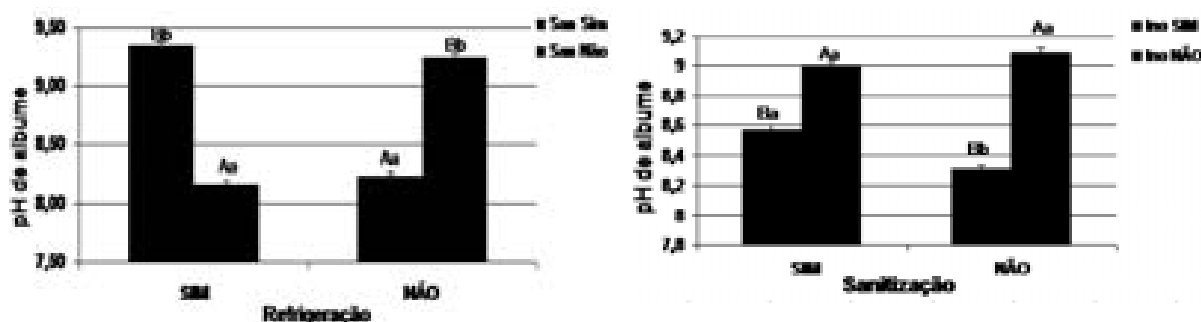


FIGURA 11. Desdobramento das interações significativas de pH de albume entre sanitização e refrigeração (A) e entre inoculação e sanitização (B) armazenados por 27 dias. Letras minúsculas equivalem ao grupo refrigeração e letras maiúsculas ao grupo sanitização (Fig.A). Letras minúsculas equivalem ao grupo dos sanitizados e letras maiúsculas ao grupo inoculados (Fig.B).

Para a variável pH de gema (Figura 12), houve interação ($p < 0,05$) entre sanitização e refrigeração após 27 dias de armazenamento. Pode-se observar que quando os ovos não foram refrigerados o melhor resultado de pH da gema foi para os ovos sanitizados, mostrando a importância da sanitização, no entanto, pode-se sugerir que em ovos que serão mantidos sob a temperatura de 5 °C não há necessidade da sanitização. Em estudo com ovos de poedeiras ORDÓNEZ (2005) verificou que ovos não sanitizados e não refrigerados apresentaram valores de pH alto, mostrando que ambos os processos foram importantes para manter a qualidade interna do alimento e encontrou que o pH da gema de ovos recém postos foi de aproximadamente 6,0.

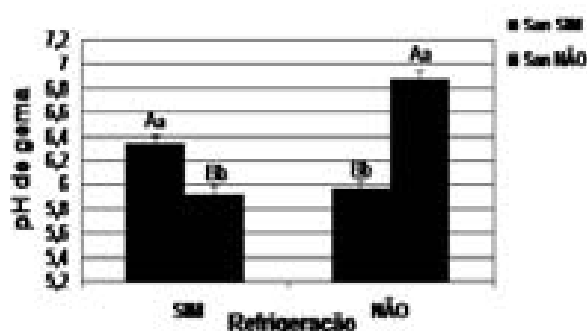


FIGURA 12. Desdobramento da interação significativa de pH de gema entre sanitização e refrigeração armazenados por 27 dias. Letras minúsculas equivalem ao grupo refrigeração e letras maiúsculas ao grupo sanitização.

PINTO (2005) encontrou aumento de pH de gema de ovos de galinhas poedeiras ao longo do tempo. E verificou que o pH da gema pode atingir em 18 dias o pH de 6,4 quando a armazenados a 37°C ou em 50 dias quando os ovos foram armazenados a 2°C.

Na Tabela 4 estão apresentados os resultados de regressão em relação ao tempo de armazenamento do Experimento 1, com relação a qualidade física e químicas dos ovos opacos de codornas. Pode-se observar que houve regressão linear negativa ($p < 0,05$) para as variáveis peso do ovo, índice de albume e gema, porcentagem de albume e gema, ou seja, com o aumento do tempo de armazenamento piorou a qualidade dos ovos.

STRINGHINI (2008) encontrou resultados de regressão linear negativa para o peso dos ovos não contaminados e contaminados com $6,0 \times 10^5$ UFCs de *Pseudomonas aeruginosa* (alta concentração) armazenados a

28°C mantidos a temperatura de 28°C. Para os valores de unidade Haugh encontrou regressão linear negativa para os ovos contaminados com alta concentração. Para índice de albume encontrou regressão quadrática negativa para ovos mantidos a 28°C, independentemente da contaminação, sendo a contaminação com menor concentração ($3,0 \times 10^2$ UFCs).

TABELA 4. Valores médios de qualidade física e química dos ovos submetidos a contaminação, sanitização e refrigeração, considerando todos os períodos de armazenamento (0, 9, 18 e 27 dias).

Grupos experimentais		Variáveis de qualidade física										
		PO (g)	GE (g/cm3)	EC (mm)	IA	A (%)	pH (A)	IG	G (%)	pH (G)	C (%)	uH
p												
Inoc.		0,063	0,026*	0,573	0,532	0,065	0,356	0,217	0,666	0,814	0,402	0,686
San.		0,146	0,0001*	0,026*	0,754	0,766	0,161	0,531	0,0003*	0,664	0,017*	0,919
Refrig.		0,0001*	0,0001*	0,791	0,0001*	0,0001*	0,999	0,0001*	0,0001*	0,329	0,003*	0,0001*
San.*Refrig.		0,0001*	0,273	0,989	0,382	0,832	0,229	0,157	0,532	0,350	0,173	0,180
Inoc.*San.		0,0001*	0,393	0,040*	0,081	0,727	0,257	0,253	0,800	0,614	0,002*	0,051
Inoc.*Refrig.		0,0001*	0,0003*	0,325	0,950	0,129	0,307	0,401	0,036*	0,675	0,618	0,880
Inoc.*San.*Refrig.		0,457	0,967	0,136	0,092	0,064	0,100	0,680	0,723	0,657	0,104	0,075
Tempo de armazenamento		0,0001*	0,0001*	0,185	0,0001*	0,001*	0,0001*	0,0001*	0,327	0,0001*	0,027*	0,0001*
CV (%)		3,03	0,76	21,42	28,57	11,26	13,30	10,86	10,57	20,06	23,66	5,00
Regressão	Linear	Quad.	NS	Linear	Linear	Linear	Quad.	Linear	NS	Quad.	Linear	Quad.

Médias seguidas de letras iguais na mesma coluna não diferem pelo teste t, com nível de significância de 5%

NS = não significativo

* = significativo

peso ovo = $11.11 - 0.0165162 \cdot \text{tempo}$ ($R^2 = 0,04$)
 gravidade específica = $1.0612201 - 0.0011238 \cdot \text{tempo} + 0.0000254 \cdot (\text{tempo}-13.5)^2$ ($R^2 = 0,51$)
 pH gema = $7.2855252 + 0.0447753 \cdot \text{tempo} - 0.0131141 \cdot (\text{tempo}-13.6421)^2$ ($R^2 = 0,74$)
 pH alb = $9.8416486 + 0.0367562 \cdot \text{tempo} - 0.0117092 \cdot (\text{tempo}-13.7143)^2$ ($R^2 = 0,63$)
 espessura de casca 0 = $0.1375159 + 0.0003214 \cdot \text{tempo}$ ($R^2 = 0,26$)
 índice de gema = $0.4382917 - 0.0052014 \cdot \text{tempo}$ ($R^2 = 0,42$)
 índice de albume = $0.1043958 - 0.0019074 \cdot \text{tempo}$ ($R^2 = 0,48$)
 percentagem de albume = $51.596583 - 0.4492454 \cdot \text{tempo}$ ($R^2 = 0,45$)
 percentagem de gema = $36.219813 + 0.0272708 \cdot \text{tempo}$ ($R^2 = 0,22$)
 percentagem de casca = $1.2429929 + 0.0051378 \cdot \text{tempo}$ ($R^2 = 0,25$)
 unidade Haugh (uH) = $89.257625 - 0.4417685 \cdot \text{tempo} + 0.021857 \cdot (\text{tempo}-13.5)^2$ ($R^2 = 0,57$)

Na Figura 13-A está demonstrado o comportamento da unidade Haugh, durante o período de 27 dias, de ovos refrigerados ou não e inoculados ou não com *Salmonella* Typhimurium e submetidos a sanitização e na Figura 13-B de ovos não submetidos a sanitização.

Os tratamentos sanitizados, combinados com inoculação ou com a refrigeração, apresentaram regressão linear negativa (Figura 13-A). Pode-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 13-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* Typhimurium não prejudicou a qualidade de uH. Do mesmo modo, MENDES (2010) observou em ovos de poedeiras contaminados *Pseudomonas aeruginosa* e armazenados sob refrigeração apresentaram melhores resultados de unidade Haugh, independentemente da contaminação, ainda relata que a refrigeração foi capaz de manter a qualidade dos ovos mesmo contaminados.

DE REU et al. (2006) encontraram valores de 5,08 log UFC/g de bactérias na casca de ovos coletados diretamente no galpão de postura e concluíram que o ambiente influencia a contaminação da casca de ovos ($r = 0,66$) a qual contribui para a deterioração da qualidade do ovo.

Os valores médios da contagem das UFC/g de bactérias (*Citrobacteriaceae*, *Enterobacteriaceae* e *Pseudomonas*) das cascas dos ovos submetidos aos diferentes tratamentos, de acordo com o tempo de armazenamento (nove, 18 e 27 dias) estão apresentados na Tabela 5. Pode-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 sanitização com ultra violeta foi eficiente.

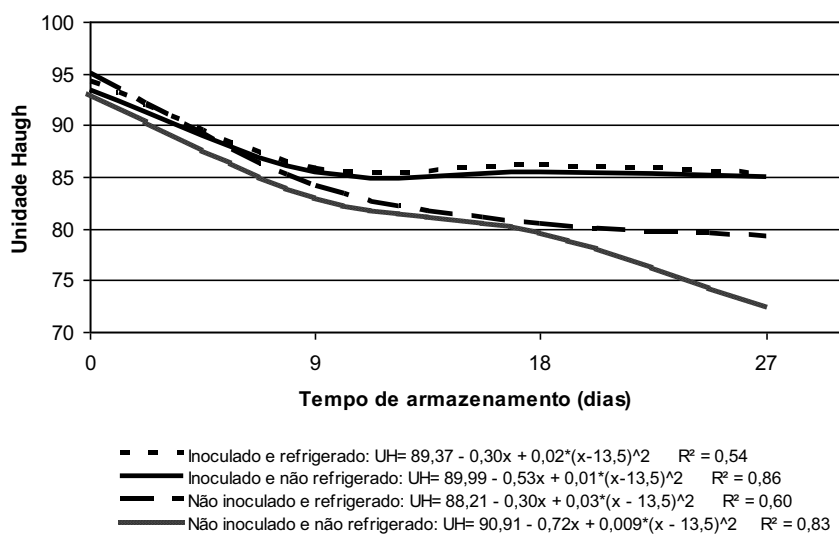
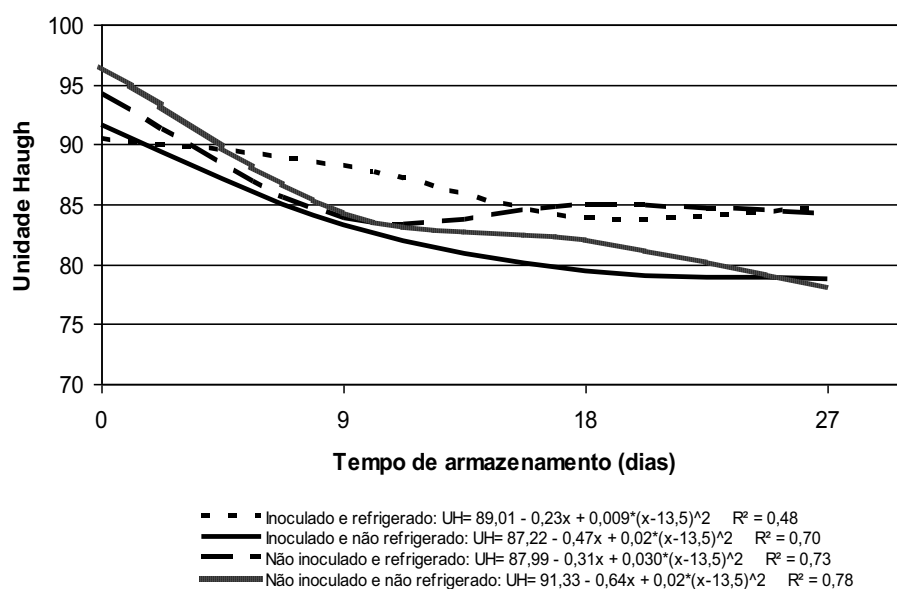
A**B**

FIGURA 13 - 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.

Do mesmo modo, a sanitização ocorrida no tempo zero não foi capaz de evitar a contaminação da casca por bactérias, durante o período de armazenamento. DE REU et al. (2006) concluíram que o ambiente influencia a contaminação da casca de ovos.

TABELA 5 – 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 t (p<0,05)

* = significância

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 (2008), estudando o comportamento da bactéria *Pseudomonas aeruginosas* em ovos de poedeiras, verificou 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 pode estar relacionado com as diferentes espécies de bactéria estudadas, concentração do inóculo, tipo do ovo (poedeira x codorna), entre outros.

Houve interação (p<0,05) para inoculação e sanitização aos 18 dias de armazenamento e para inoculação e refrigeração aos 18 e 27 dias de armazenamento para presença de bactérias na casca de ovos opacos (Tabela

6). 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 6). mostrando que a sanitização pode ser um inibidor de crescimento *Salmonella* 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 6).

STRINGHINI (2008), estudando o comportamento da bactéria *Pseudomonas aeruginosa*, na casca de ovos de poedeiras, após 20 dias de estocagem e observou 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 inoculação e refrigeração e pode-se observar que 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 resultados, já que o resultado reflete a presença da *Salmonella* Typhimurium mais bactérias do ambiente (Tabela 6).

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 microrganismo no conteúdo. A contagem em placas de bactérias mesófilas é comumente empregada para indicar a qualidade sanitária dos alimentos (FRANCO & LANDGRAF, 2002).

TABELA – 6 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	48,80Ab
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 mesma letras maiúsculas na coluna e minúscula na linha não diferem pelo teste t, com nível de significância de 5%

Na Tabela 7 estão mostrados os valores de Unidade Formadoras de Colônias (UFCs) de *Salmonella* Typhimurium na casca de ovos opacos, contaminados, sanitizados, e estocados em 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* Typhimurium, mostrando que manejo na inoculação dos ovos foi correto. Também os ovos do grupo experimental controle (sem contaminação de *Salmonella* Typhimurium) permaneceram negativos bacteriologicamente durante os 27 dias de armazenamento.

Aos 9 e 18 dias houve efeito ($p < 0,05$) da inoculação, mostrando que ovos que não inoculados não houve a presença da *Salmonella* Typhimurium. Ainda aos 18 dias de armazenamento, houve interação ($p < 0,05$) entre sanitização e refrigeração, mostrando que ovos mantidos sob refrigeração, quando não sanitizados, obtiveram maiores valores de UFCs quando comparados aos ovos sanitizados (Tabela 7). Assim, considerando o desenvolvimento da *Salmonella* pode-se inferir que tanto a sanitização como a

refrigeração foram importantes no controle da *Salmonella* e, portanto, na qualidade bacteriológica do ovo.

MENDES (2010) e STRINGHINI (2008) verificaram que em ovos lavados a carga bacteriana foi menor em relação aos ovos não lavados. JONES et al. (2004) 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 7– Valores médios de contagem de colônias de *Salmonella* 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</i> 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 mesma letras maiúsculas na coluna e minúscula na linha não diferem pelo teste t, com nível de significância de 5%

*= significância

Na Tabela 8, 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* Typhimurium.

TABELA 8 –Desdobramento das interações tripla significativas entre inoculação de ovos com *Salmonella* 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, com nível de significância de 5%

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 no desenvolvimento dessa bactéria.

Na Tabela 9 estão mostrados 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, consequentemente, proporcionou ovos de melhor qualidade.

TABELA 9 –Desdobramento da interação significativa para número de *Salmonella* Typhimurium em ovos de casca opaca entre inoculação e refrigeração no período de armazenamento de 27 dias.

Número de colônias de <i>Salmonella</i> Typhimurium (log UFC/g)		
Inoculação x Refrigeração		
Inoculação	Refrigeração	
	SIM	NÃO
SIM	0 Ab	1,685 Aa
NÃO	0 Ab	0 Bb

Médias seguidas de mesma letras maiúsculas na coluna e minúscula na linha não diferem pelo teste t, com nível de significância 5%

Na Figura 14 estão apresentados o comportamento das colônias (log UFC/g) da bactéria *Salmonella* Typhimurium em cascas de ovos opacas, sanitizados e armazenado sob diferentes temperaturas por 27 dias. A efeito de regressão somente para o tratamento inoculação, não sanitização e refrigeração, sendo que apresentou uma equação quadrática. Esse resultado indica que o crescimento da *Salmonella* atingiu um ápice aos 18 dias e após esse período inicia um declínio na multiplicação das bactérias até os 27 dias. O fato de ter havido crescimento de *Salmonella* a 5 °C, concorda com os relatos de ADAMS & MOSS (1995), onde citam que a mínima para o crescimento dessa bactéria é temperaturas abaixo de 5 °C.

GALES et al. (2001) relataram que o microrganismo *Pseudomonas aeruginosa* é capaz de utilizar grande variedade de substratos orgânicos como fonte de carbono e, portanto, possui habilidade de colonizar nichos ecológicos no qual a oferta de nutrientes é limitada como a casca dos ovos.

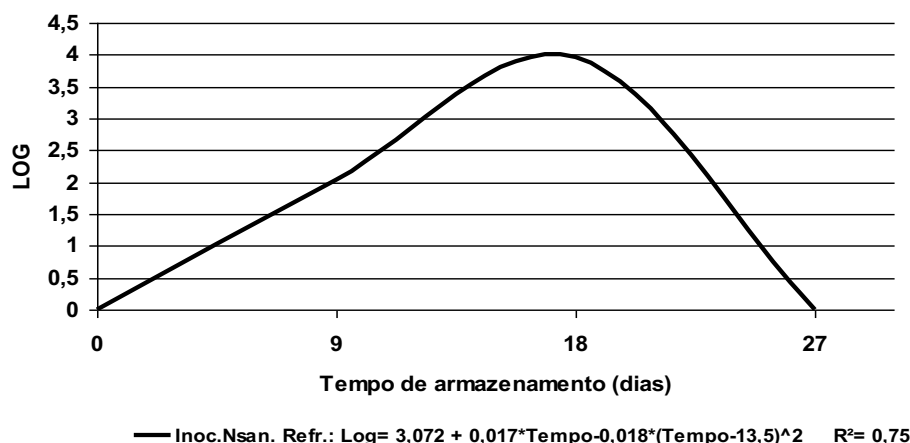


FIGURA 14 – Gráfico de regressão dos fatores inoculação, não sanitização e refrigeração armazenados por 27 dias.

Na Tabela 10, estão mostrados a frequência de bactérias que penetraram no conteúdo dos ovos de casca opaca submetidos aos diferentes tratamentos em todo o período de armazenamento.

Nos tempos 0 e 9 dias de armazenamento, não foram encontrado bactérias no conteúdos dos ovos. A presença de bactérias no conteúdo dos ovos pôde ser observado nos tempos de 18 e 27 dias de armazenamento, encontrando as bactérias *Enterobacteraceae* e *Salmonella*.

MENDES (2010) encontrou aos 10 dias de armazenamento a presença de *Pseudomonas aeruginosa* no conteúdos de ovos de poedeiras. Da mesma forma, DE REU et al. (2006) constataram que as bactérias gram-negativas móveis, como *Pseudomonas* spp., penetraram facilmente pelos poros das cascas dos ovos e que a contaminação interna ocorre, frequentemente, após quatro a cinco dias de armazenamento, considerando pH favorável ao crescimento dessa bactéria entre 7,0 e 9,0.

TABELA 10 – Ocorrência de microrganismos identificados no conteúdo de ovos opacos (%) armazenados por 27 dias.

Tempo de armazenamento (dias)	Bactéria (espécies)	Nº. de presença	Frequência (%)
0	-	0	0
9	-	0	0
18	<i>Enterobacter</i> e <i>Salmonella</i>	2	50
27	<i>Enterobacter</i>	2	50

Cada grupo experimental com n= 6

Com relação ao Experimento 2, no qual foi estudado o efeito inoculação, sanitização e temperatura de armazenamento sobre a qualidade física e química dos ovos de codornas japonesas com casca brilhantes pode-se observar os resultados na Tabela 11. No tempo inicial, antes da inoculação, sanitização e do armazenamento, não houve efeito dos tratamentos ($p>0,05$), indicando que os ovos experimentais foram homogêneos. Os resultados também mostraram que os valores médios de qualidade externa e interna para as variáveis peso do ovo, índice de albume e gema, espessura de casca, porcentagem de albume e gema e pH de albume e gema foram compatíveis com ovos frescos de codornas japonesas (PEDROSO et al. (1999); BRANDÃO et al. (2007) e LAGANÁ et al. (2009). A gravidade específica variou de 1,070 a 1,075, indicando boa qualidade de casca; o peso do ovo foi de 11,34g; índice de albume: 0,11 e de gema: 0,40; pH de albume: 8,5; pH de gema: 6,53 e uH=90,30.

Os resultados das variáveis estudadas de ovos de casca brilhante de codornas armazenados durante nove dias mostram que não houve interação ($p>0,05$) entre os fatores contaminação, sanitização e temperatura de armazenamento sobre o peso do ovo, espessura de casca, índice de albume, porcentagem de albume, gema e casca, pH de albume e gema e unidade Haugh. Entretanto, houve efeito negativo da inoculação para pH de gema e uH ($p<0,05$). A porcentagem de albume foi influenciada pela sanitização ($p<0,5$), sendo que ovos sanitizados apresentaram menor valor em relação aos não sanitizados. A refrigeração durante a estocagem melhorou as variáveis de qualidade de ovos ($p<0,05$) como o peso do ovo, índice de albume, pH de albume e de gema, porcentagem de gema e a unidade Haugh, independentemente se os ovos foram sanitizados e ou contaminados *Salmonella Typhimurium*.

Esses resultados corroboram com STRINGHINI (2008) que observou que ovos contaminados com *Pseudomonas aeruginosa* e armazenados na temperatura de 5°C apresentaram melhores valores de unidade Haugh ($p<0,05$), independentemente da contaminação, e concluiu que a refrigeração é capaz de manter a qualidade interna do ovo mesmo quando contaminado. KEENER et al. (2006) demonstraram que ovos não contaminados mantidos por sete semanas a 5°C apresentaram maiores medidas de unidade Haugh do que os armazenados a 22°C.

TABELA 11 – Valores médios de peso do ovo de casca brilhante (PO), gravidade específica (GE), espessura de casca (EC), 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), porcentagem de casca (PC) unidade Haugh (uH), contaminados ou não, sanitizados ou não e armazenados sob diferentes temperaturas por nove dias

Grupos experimentais		Variáveis de qualidade física									
Inoculação	PO (g)	GE (g/cm ³)	EC (mm)	IA	A (%)	pH (A)	IG	G (%)	pH (G)	C (%)	uH
Não inoculado	10,86	1,029	0,16	0,07a	39,10	9,56	0,15	39,19	7,56b	1,54	85,49a
Inoculado	10,69	1,033	0,17	0,05b	41,51	9,57	0,15	41,16	7,23a	1,64	80,35b
Sanitização											
Não Sanitizado	10,97	1,029	0,17	0,06	43,37a	9,57	0,15	40,24	7,42	1,57	82,81
Sanitizado	10,59	1,033	0,17	0,06	37,24b	9,57	0,15	40,10	7,37	1,61	83,02
Temperatura											
25 °C	10,44b	1,025	0,17	0,04b	38,54	9,67b	0,14	42,38a	7,56b	1,66	80,97b
5 °C	11,12a	1,037	0,17	0,08a	42,07	9,47a	0,16	37,97b	7,23a	1,52	84,86a
Valores de p											
Inoc.	0,510	0,021*	0,393	0,021*	0,306	0,985	0,348	0,284	0,039*	0,356	0,007*
San.	0,134	0,062	0,899	0,872	0,030*	0,629	0,403	0,969	0,746	0,482	0,910
Refrig.	0,009*	0,0001*	0,741	0,0001*	0,325	0,0001*	0,0005*	0,007*	0,037*	0,146	0,040*
San.*Refrig.	0,879	0,101	0,642	0,118	0,413	0,217	0,023*	0,088	0,176	0,658	0,196
Inoc.*San.	0,784	0,037*	0,467	0,611	0,648	0,600	0,381	0,309	0,577	0,602	0,972
Inoc.*Refrig.	0,252	0,011*	0,391	0,849	0,567	0,082	0,294	0,273	0,080	0,843	0,118
Inoc.*San.*Refrig.	0,986	0,021	0,042	0,135	0,543	0,844	0,894	0,499	0,846	0,101	0,365
CV (%)	8,07	0,58	6,89	31,53	6,00	0,71	3,36	3,04	7,12	1,05	7,68

Medidas seguidas de letras iguais na mesma coluna não diferem pelo teste t, com nível de significância a 5%
 *= significativo

Houve interação entre os grupos inoculação e sanitização ($p < 0,05$) e inoculação e refrigeração para gravidade específica (Tabela 12), sendo que ovos refrigerados apresentaram maiores valores de qualidade da casca.

TABELA 12–Desdobramento das interações de gravidade específica entre inoculação e sanitização e entre inoculação e refrigeração de ovos de cascas brilhantes armazenados por nove dias.

Gravidade específica		
Inoculação X Sanitização		
Inoculação de <i>Salmonella</i>	Sanitização	
	SIM	NÃO
SIM	1,037 Aa	1,030 Ab
NÃO	1,029 Ba	1,029 Aa
Inoculação X Refrigeração		
Inoculação de <i>Salmonella</i>	Refrigeração	
	SIM	NÃO
SIM	1,042 Aa	1,025 Ab
NÃO	1,033 Ba	1,025 Ab

Médias seguidas de mesma letra maiúsculas na coluna e minúscula na linha, não diferem pelo teste t, com nível de significância de 5%

Para índice de gema (Tabela 13) houve interação ($p < 0,05$) entre os tratamentos sanitização e refrigeração, sendo que a refrigeração mostrou ser eficiente somente em ovos não sanitizados, ou seja, até nove dias de armazenamento, ovos sanitizados, após da contaminação experimental por *Salmonella* Typhimurium não necessitaram de refrigeração. Embora, SOLOMON (1991) afirmou que a qualidade da gema de ovos não contaminados é pouco afetada até o sétimo dia de armazenamento, independentemente da temperatura.

Considerando-se a qualidade de gema, pode-se inferir que a sanitização foi eficiente na redução da presença de bactérias, mostrando que a sanitização foi necessária somente quando os ovos não foram refrigerados. MENDES (2010), estudando a qualidade de ovos de poedeiras contaminados experimentalmente com *Pseudomonas aeruginosa*, encontrou baixos resultados de índice de gema nos ovos não refrigerados e os piores índices foram observados nos ovos submetidos a contaminação, lavagem e armazenados a 25°C. Embora, neste experimento não houve efeito da contaminação por *Salmonella* sobre o índice de gema.

TABELA 13 –Desdobramento da interação de índice de gema entre sanitização e refrigeração de ovos com casca brilhantes armazenados sob por nove dias

Índice de gema		
Sanitização X Refrigeração		
Sanitização	Refrigeração	
	SIM	NÃO
SIM	0,15 Ba	0,14 Aa
NÃO	0,17 Aa	0,13 Ab

Médias seguidas de mesma letra maiúsculas na coluna e minúscula na linha, não diferem pelo teste t, com nível de significância de 5%

Na Tabela 14 estão apresentados os resultados das variáveis estudadas de ovos de codornas de casca brilhante armazenados durante 18 dias e verificou-se que não houve interação ($p>0,05$) entre os fatores contaminação, sanitização e temperatura de armazenamento para todas as variáveis. Entretanto, houve efeito ($p<0,05$) da temperatura sobre os valores de gravidade específica, índice de albume, porcentagem de albume, pH de gema e unidade Haugh. A inoculação, assim como o armazenamento em temperatura de 25 °C, aumentou o pH da gema, piorando dessa forma a qualidade. De acordo com STRINGHINI (2008), o índice de gema de ovos mantidos a 28°C por 20 dias, contaminados com $6,0 \times 10^5$ UFCs/m L de solução de *Pseudomonas aeruginosa*, foi pior em relação à ovos não contaminados.

TABELA 14 – Valores médios de peso dos ovos com cascas brilhantes (PO), gravidade específica (GE), espessura de casca (EC), 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), porcentagem de casca (PC) unidade Haugh (uH), contaminados ou não, sanitizados ou não e armazenados sob diferentes temperaturas por 18 dias

Grupos experimentais		Variáveis de qualidade física									
Inoculação	PO (g)	GE (g/cm ³)	EC (mm)	IA	A (%)	pH (A)	IG	G (%)	pH (G)	C (%)	uH
Não inoculado	10,36	1,042	0,12	0,08	39,45	9,74	0,41	35,13	7,29b	1,20	78,68
Inoculado	10,71	1,043	0,12	0,07	41,40	10,27	0,34	37,94	7,51a	1,20	82,37
Sanitização											
Não Sanitizado	10,60	1,041	0,12	0,08	40,85	9,73	0,41	37,62	7,38	1,15	80,30
Sanitizado	10,47	1,043	0,13	0,07	39,99	10,28	0,35	35,45	7,42	1,25	80,75
Temperatura											
25 °C	10,36	1,035b	0,12	0,06b	37,65b	9,83	0,40	38,04	7,74b	1,22	74,79b
5 °C	10,71	1,050a	0,12	0,09a	43,19a	10,17	0,43	35,03	7,06a	1,17	86,26a
Valores de p											
Inoc.	0,234	0,964	0,758	0,968	0,367	0,346	0,314	0,425	0,034*	0,316	0,377
San.	0,616	0,330	0,293	0,126	0,685	0,255	0,295	0,702	0,511	0,256	0,961
Refrig.	0,225	0,0001*	0,785	0,023*	0,024*	0,482	0,318	0,560	0,0001*	0,303	0,002*
San.*Refrig.	0,745	0,251	0,846	0,289	0,742	0,254	0,272	0,594	0,815	0,292	0,652
Inoc.*San.	0,128	0,345	0,796	0,464	0,482	0,391	0,273	0,238	0,091	0,289	0,223
Inoc.*Refrig.	0,430	0,785	0,102	0,933	0,851	0,342	0,255	0,173	0,064	0,185	0,430
Inoc.*San.*Refrig.	0,808	0,074	0,459	0,226	0,611	0,271	0,253	0,540	0,259	0,227	0,061
CV (%)	9,04	0,59	25,19	8,59	4,73	1,33	9,78	8,28	5,33	14,09	4,65

Médias seguidas de letras iguais na mesma coluna não diferem pelo teste t, com nível de significância de 5%

*= significativo

Na Tabela 15 estão apresentados os resultados das variáveis estudadas durante 27 dias de armazenamento. Verificou-se que não houve interação ($p>0,05$) entre os fatores contaminação, sanitização e temperatura de armazenamento para as variáveis peso do ovo, espessura de casca, índice de albume e gema, porcentagem de albume, gema e casca, pH de albume e gema e unidade Haugh.

Houve efeito ($p<0,05$) da temperatura para as variáveis de peso do ovo, gravidade específica, índice de albume, pH de albume e gema, porcentagem de gema e unidade Haugh, mostrando que ovos refrigerados apresentaram melhor qualidade interna em relação aos mantidos em temperatura ambiente, no entanto, a refrigeração não foi capaz de manter a mesma qualidade observada nos ovos frescos, havendo uma perda com o decorrer do tempo de armazenamento (Tabela 18). Já, a inoculação influenciou ($p<0,05$) a gravidade específica, índice de albume, pH de gema e unidade Haugh, sendo que os ovos não inoculados apresentaram melhor qualidade e os ovos sanitizados apresentaram menor ($p<0,05$) porcentagem de albume.

Com relação a inoculação, houve efeito para índice de albume, pH de gema e uH ($p<0,05$), sendo que a contaminação piorou somente o índice de albume e a uH. STRINGHINI (2008), estudando ovos de poedeiras contaminados com *Pseudomonas aeruginos*, observou pior índice de gema para o grupo contaminado, quando não refrigerado após 30 dias de armazenamento.

TABELA 15 – Valores médios de pesos dos ovos com cascas brilhantes (PO), gravidade específica (GE), espessura de casca (EC), índice de albuma (IA), porcentagem de albuma (A%), pH de albuma (pH A), índice de gema (IG), porcentagem de gema (G%), pH de gema (pH G), porcentagem de casca (PC) unidade Haugh (uH), contaminados ou não, sanitizados ou não e armazenados sob diferentes temperaturas por 27 dias

Grupos experimentais		Variáveis de qualidade física									
Inoculação	PO (g)	GE (g/cm ³)	EC (mm)	IA	A (%)	pH (A)	IG	G (%)	pH (G)	C (%)	uH
Não inoculado	10,86	1,033	0,16	0,07a	39,10	9,56	0,15	39,19	7,56b	1,54	85,49a
Inoculado	10,69	1,029	0,17	0,05b	41,51	9,57	0,15	41,16	7,23a	1,64	80,35b
Sanitização											
Não Sanitizado	10,97	1,029	0,17	0,06	43,37a	9,57	0,15	40,24	7,42	1,57	82,81
Sanitizado	10,57	1,033	0,17	0,06	37,24b	9,57	0,15	40,10	7,37	1,61	83,02
Temperatura											
25 °C	10,44b	1,025b	0,17	0,04b	38,54	9,67b	0,14	42,38a	7,56b	1,66	80,97b
5 °C	11,12a	1,037 ^a	0,17	0,08a	42,07	9,47a	0,16	37,97b	7,23a	1,52	84,86a
Valores de p											
Inoc.	0,510	0,021*	0,393	0,021*	0,306	0,985	0,348	0,284	0,039*	0,356	0,007*
San.	0,134	0,062	0,899	0,872	0,030*	0,629	0,403	0,969	0,746	0,482	0,910
Refrig.	0,009*	0,0001*	0,741	0,0001*	0,325	0,0001*	0,0005*	0,007*	0,037*	0,146	0,040*
San.*Refrig.	0,879	0,101	0,642	0,118	0,413	0,217	0,023*	0,088	0,176	0,658	0,196
Inoc.*San.	0,784	0,037*	0,467	0,611	0,648	0,600	0,381	0,309	0,577	0,602	0,970
Inoc.*Refrig.	0,252	0,011*	0,391	0,849	0,567	0,082	0,294	0,273	0,080	0,843	0,118
Inoc.*San.*Refrig.	0,986	0,021*	0,042*	0,135	0,543	0,844	0,894	0,499	0,846	0,101	0,365
CV (%)	8,07	0,58	16,89	31,53	6,00	0,71	13,36	3,04	7,12	1,05	7,68

Médias seguidas de letras iguais na mesma coluna não diferem pelo teste t, com nível de significância de 5%

*= significativo

Houve interação ($p < 0,05$) entre os grupos inoculados e sanitizados e também dos inoculados e refrigerados para gravidade específica (Tabela 16). Ovos não contaminados e mantidos sob refrigeração apresentaram melhor qualidade de casca.

TABELA 16 –Desdobramento das interações de gravidade específica entre inoculação e sanitização e entre inoculação e refrigeração dos ovos de cascas brilhantes armazenados por 27 dias

Gravidade específica		
Inoculação X Sanitização		
Inoculação	Sanitização	
	SIM	NÃO
SIM	1,029 Ba	1,030 Aa
NÃO	1,037Aa	1,029 Ab
Inoculação X Refrigeração		
Inoculação	Refrigeração	
	SIM	NÃO
SIM	1,033 Ba	1,025 Ab
NÃO	1,042 Aa	1,025 Ab

Médias seguidas de mesma letra maiúsculas na coluna e minúscula na linha, não diferem pelo teste t, com nível de significância de 5%

Houve interação ($p < 0,05$) entre os fatores sanitização e refrigeração para índice de gema (Tabela 17). Para os ovos sanitizados não houve efeito da refrigeração, embora, quando os ovos não foram sanitizados o índice de gema obteve pior valor para os ovos não refrigerados. MENDES (2010) não observou interação entre sanitização (forma mecanizada com água a 10°C acima da temperatura ambiente e sanitizada com clorhexidina 20% e teor ativo 8%) e temperatura de armazenamento, embora tenha verificado efeito da sanitização, já que melhores resultados para índice de gema foi observado em ovos sanitizados. Já STRINGHINI (2008), estudando a qualidade de ovos de poedeiras sanitizado ou não sanitizado, encontrou efeito significativo somente para a refrigeração, sendo que o índice de gema foi melhor em ovos armazenados a 5 °C em relação aos não refrigerados, independentemente da sanitização. As diferenças nos resultados obtidos entre esses estudos pode estar relacionadas com o tipo de bactéria utilizado, concentração do inóculo, tipo de ovo, tipo de sanitizante, entre outros.

TABELA 17 –Desdobramento da interação de índice de gema entre sanitização e refrigeração de ovos com cascas brilhantes armazenados por 27 dias

Índice de gema		
Sanitização X Refrigeração		
Sanitização	Refrigeração	
	SIM	NÃO
SIM	0,15 Ba	0,14 Aa
NÃO	0,17 Aa	0,13 Ab

Médias seguidas de mesma letra maiúsculas na coluna e minúscula na linha, não diferem pelo teste t, com nível de significância de 5%

Na Tabela 18 estão apresentados os resultados de regressão do Experimento 2, com relação a qualidade física e químicas dos ovos de codornas, durante todo o experimento. Nesse período pode-se observar que houve regressão linear negativa ($p < 0,05$) para as variáveis peso de ovo, gravidade específica, pH albume, espessura de casca, índice de gema e albume, percentagem de albume e casca e unidade Haugh, ou seja, com o aumento do tempo de armazenamento piorou a qualidade dos ovos. Esses resultados estão de acordo com os encontrados por CARVALHO et al. (2007), STRINGHINI (2008) e MENDES (2010) em estudos com ovos comerciais de poedeiras leves.

TABELA 18- Valores médios de qualidade física e química dos ovos submetidos a inoculação, sanitização e refrigeração, considerando todos os períodos de armazenamento (0, 9, 18 e 27 dias)

Grupos experimentais	Variáveis de qualidade física										
	PO (g)	GE (g/cm3)	EC (mm)	IA	A (%)	pH (A)	IG	G (%)	pH (G)	C (%)	uH
Valores de p											
Inoc.	0,063	0,026*	0,573	0,532	0,065	0,356	0,217	0,666	0,819	0,402	0,686
San.	0,146	0,0001*	0,026*	0,754	0,766	0,161	0,531	0,0003*	0,664	0,176	0,919
Refrig.	0,0001*	0,0001*	0,791	0,0001*	0,0001*	0,997	0,0001*	0,0001*	0,329	0,003*	0,0001*
San.*Refrig.	0,0001*	0,273	0,989	0,382	0,832	0,229	0,157	0,532	0,350	0,173	0,180
Inoc.*San.	0,0001*	0,393	0,040*	0,081	0,727	0,257	0,253	0,800	0,614	0,002*	0,051
Inoc.*Refrig.	0,0001*	0,0003*	0,325	0,950	0,129	0,307	0,401	0,036*	0,675	0,616	0,880
Inoc.*San.*Refrig.	0,457	0,967	0,136	0,092	0,064	0,100	0,680	0,723	0,657	0,104	0,075
Tempo de armazenamento	0,0001*	0,0001*	0,185	0,0001*	0,0001*	0,0001*	0,0001*	0,327	0,0001*	0,027*	0,0001*
CV (%)	3,03	0,76	21,42	28,57	11,26	13,30	11,11	10,57	6,06	23,66	5,00
Regressão	Linear	Linear	Quad.	Quad.	Linear	Quad.	Quad.	Linear	Quad.	Linear	Linear

Médias seguidas de letras iguais na mesma coluna não diferem pelo teste t, com nível de significância de 5%

* = significativo

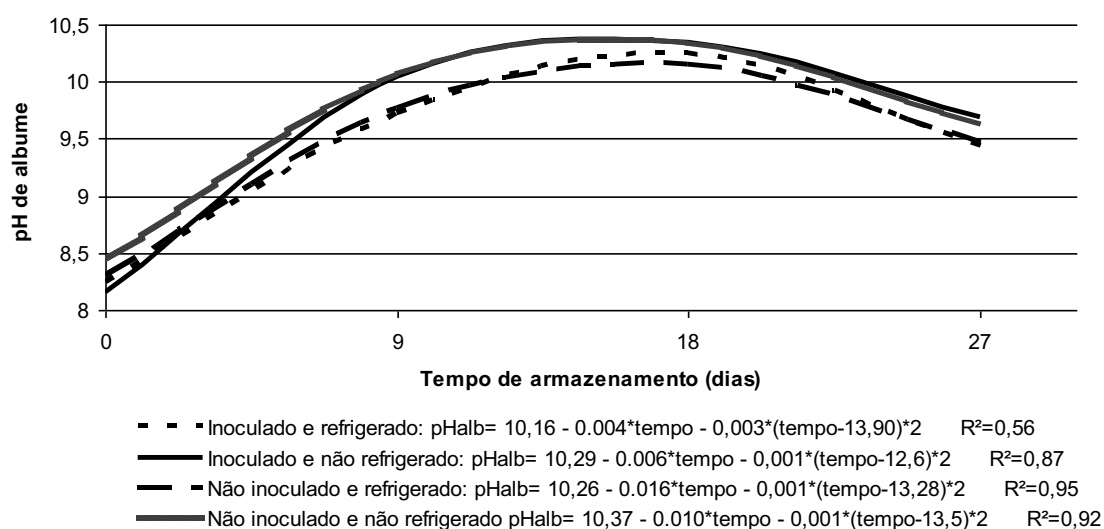
peso ovo = $11.320833 - 0.0255903 \cdot \text{tempo}$ ($R^2 = 0,09$)
 gravidade específica = $1.0645729 - 0.0011701 \cdot \text{tempo}$ ($R^2 = 0,14$)
 pH gema = $6.6751458 + 0.0360231 \cdot \text{tempo} - 0.0010648 \cdot (\text{tempo}-13.5)^2$ ($R^2 = 0,39$)
 pH albume = $10.2141 - 0.0096158 \cdot \text{tempo} - 0.0016087 \cdot (\text{tempo}-13.2931)^2$ ($R^2 = 0,53$)
 espessura de casca = $0.2112743 - 0.0009093 \cdot \text{tempo} - 0.0002026 \cdot (\text{tempo}-13.4293)^2$ ($R^2 = 0,74$)
 índice de gema = $0.567296 - 0.0046239 \cdot \text{tempo} - 0.0007397 \cdot (\text{tempo}-13.4278)^2$ ($R^2 = 0,47$)
 índice de albume = $0.1219079 - 0.0017532 \cdot \text{tempo} - 7.3731e-5 \cdot (\text{tempo}-13.381)^2$ ($R^2 = 0,30$)
 percentagem de albume = $46.734947 - 0.2755494 \cdot \text{tempo}$ ($R^2 = 0,12$)
 percentagem de gema = $32.553875 + 0.2809915 \cdot \text{tempo}$ ($R^2 = 0,18$)
 percentagem de casca = $1.892077 - 0.0050515 \cdot \text{tempo} - 0.0018991 \cdot (\text{tempo}-13.4293)^2$ ($R^2 = 0,67$)
 unidade Haugh (uH) = $90.400692 - 0.3182448 \cdot \text{tempo}$ ($R^2 = 0,26$)

Houve regressão linear positiva ($p < 0,05$) para tempo de armazenamento somente para a variável percentagem de gema, mostrando que quanto maior o período de armazenamento pior a qualidade do ovo. Com o aumento do período de armazenamento, a água do albume fluido atravessa a membrana vitelínica, por osmose e é retida na gema, assim o excesso de água na gema aumenta o peso e o diâmetro, o que resulta em perda da qualidade do ovo (MORENG & AVENS, 1990).

Na Figura 15 está apresentado o comportamento do pH do albume de ovos sanitizados (Figura 15- A) e ovos não sanitizados (Figura 15- B) em função do tempo de armazenamento. Observa-se que na Figura 15-A, que houve efeito de regressão quadrática positiva, sendo que aos 9 e 27 dias após o armazenamento houve diferença entre as curvas dos ovos refrigerados em relação aos ovos não refrigerados (de acordo com a ANOVA). Do mesmo modo, os tratamentos não sanitizados, combinados com os outros fatores, apresentam regressão quadrática positiva (Figura 15-B), sendo que os ovos refrigerados apresentam melhor valor do que ovos não refrigerados, em todo o período.

De acordo com RUTZ et al. (2005), em ambiente refrigerado ocorre menor perda de dióxido de carbono, permanecendo um pH mais baixo e um excesso de perda de CO_2 leva o albume a um pH alto, portanto a perda de CO_2 é dependente da temperatura e tempo de armazenamento dos ovos. Devido a perda de qualidade dos ovos em função do tempo de estocagem, é recomendado pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Armazenamento, o período de validade de 30 dias após a postura, não havendo recomendação específica para ovos de codornas. No entanto, os resultados encontrados neste experimento mostram que o período de validade para ovos da espécie de codornas deve ser inferior a 30 dias, quando não refrigerados.

A



B

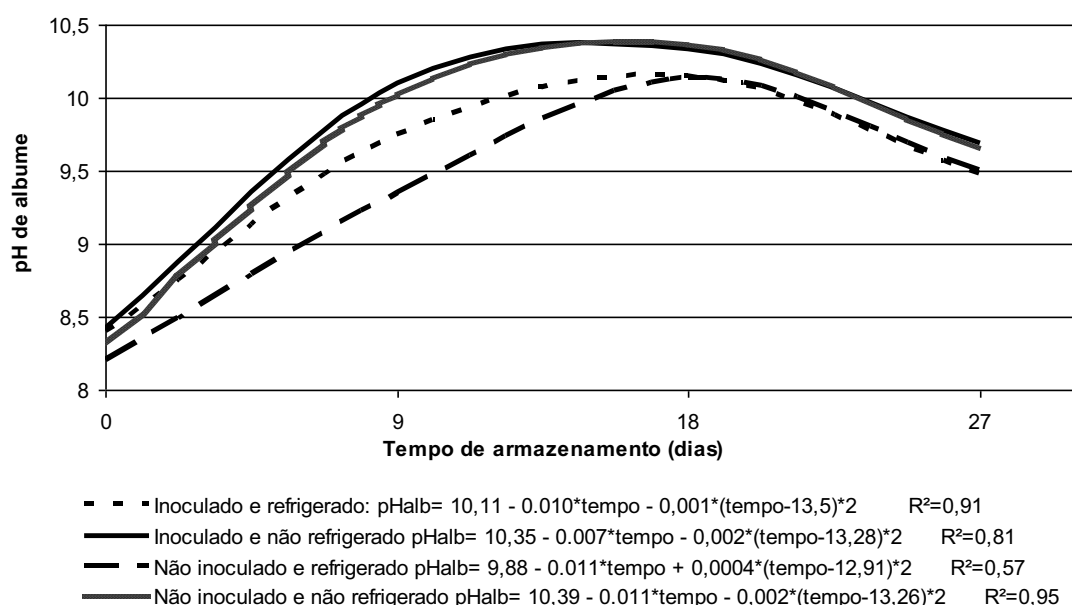


FIGURA 15 – Valores de pH de albúme de acordo com o ovos submetidos a inoculação com *Salmonella Typhimurium* em cascas brilhantes, sanitizados e refrigerados em função do tempo de armazenamento (dias)

Na Tabela 19 estão mostrados os valores em log UFC/g de colônias, durante o período de armazenamento em ovos de codornas com casca brilhante submetidos a inoculação, sanitização e refrigeração durante a estocagem. Com 9 e 27 dias de armazenamento pode-se observar que não houve efeito ($p > 0,05$) dos tratamentos sobre o crescimento de bactérias. Já,

com 18 dias de armazenamento, houve interação ($p < 0,05$) entre a inoculação e sanitização para os valores de colônias de bactérias e o desdobramento da interação está apresentado na Tabela 20.

TABELA 19 – Valores médios da contagem de UFC de bactérias: *Citrobacteriaceae*, *Enterobacteriaceae* e *Pseudomonas* encontradas nas cascas de ovos brilhantes, inoculados, sanitizados e armazenados sob diferentes temperaturas por 27 dias

Grupos Experimentais	Dias de armazenamento		
	Nº de Colônias de bactérias ¹		
Inoculação	09	18	27
Não inoculado	2.316,25	6.513,31	9.507,90
Inoculado	9.274,13	8.553,50	17.935,30
Sanitização			
Não Sanitizado	8.868,00	9.986,50	14.699,10
Sanitizado	4.722,38	5.080,31	12.744,10
Temperatura			
25 °C	10.998,60	9.379,63	15.949,70
5 °C	591,80	5.687,19	11.493,50
Valores de p			
Inoc.	0,4112	0,1933	0,732
San.	0,9865	0,4537	0,5783
Refrig.	0,3504	0,526	0,9352
San.*Refrig.	0,4498	0,6401	0,1145
Ino.*San.	0,8634	0,0026*	0,0598
Ino.*Refrig.	0,4539	0,1169	0,6884
Ino.*San.*Refrig.	0,4795	0,8012	0,1259
CV (%)	115,62	56,31	77,25

¹ Valores de p transformados em log

*= significativo

Ovos inoculados e não sanitizados apresentaram menor crescimento bacteriano do que ovos inoculados e sanitizados ($p < 0,05$) (Tabela 20), mostrando que a sanitização não foi eficiente para evitar o crescimento bacteriano na casca do ovo. No entanto, quando analisado somente o crescimento de *Salmonella* (Tabela 21), pode-se observar que a sanitização com 5 ppm de cloro reduziu o número de colônias (UFCs). MESSENS et al. (2005) relatam que processamentos na casca do ovo como abrasão com toalhas ou papel e ou tratamentos químicos aumentam a possibilidade de contaminação do conteúdo interno.

TABELA 20 –Desdobramento da interação de números de bactérias *Citrobacteriaceae*, *Enterobacteriaceae* e *Pseudomonas* entre contaminação e sanitização no período de armazenamento de 18 dias

Número de colônias de bactérias na casca (log UFC/g)		
Inoculação x Sanitização		
Inoculação	Sanitização	
	SIM	NÃO
SIM	3,55 Aa	1,26 Bb
NÃO	2,42 Aa	3,87 Aa

Médias seguidas de mesma letra maiúsculas na coluna e minúscula na linha, não diferem pelo teste t, com nível de significância de 5%

Na Tabela 21, estão mostrados os valores em log UFC/g de *Salmonella* Typhimurium de acordo com os tratamentos utilizados e tempo de armazenamento. Com 9, 18 e 27 dias de armazenamento pode-se observar que houve efeito ($p < 0,05$) da inoculação de *Salmonella* Typhimurium, sendo que no tratamento não inoculado não houve presença dessa bactéria. Com 9 e 27 dias de armazenamento não houve efeito da sanitização e ou da refrigeração sobre o crescimento bacteriano.

TABELA 21 –Valores médios de contagem de colônias de *Salmonella* Typhimurium em cascas de ovos brilhantes, sanitizados e armazenados sob diferentes temperaturas por 27 dias

Grupos Experimentais	Dias de armazenamento		
	Nº. de colônias de <i>Salmonella</i> Typhimurium		
Inoculação	9	18	27
Não inoculado	0a	0	0a
Inoculado	23.038,90b	11.806,40	11,31b
Sanitização			
Não Sanitizado	4.619,90	10.971,10	4,37
Sanitizado	1.842,00	836,30	7,93
Temperatura			
25 °C	19.608,10	8.141,88	6,87
5 °C	3.431,80	3.665,56	5,43
Valores de p ¹			
Inoc.	0,0001*	0,0001*	0,0022*
San.	0,8567	0,0097*	0,4029
Refrig.	0,8602	0,8917	0,8317
San.*Refrig.	0,0503	0,5832	0,3843
Ino.*San.	0,8567	0,0097*	0,4029
Ino.*Refrig.	0,8602	0,8917	0,8317
Ino.*San.*Refrig.	0,0503	0,5832	0,3843
CV (%)	81,11	68,37	166,56

¹ Valores de p transformados em log

*= significativo

Aos 18 dias de armazenamento, houve interação ($p < 0,05$) entre inoculação e sanitização e na Tabela 22 estão apresentados o desdobramento das interações entre inoculação com *Salmonella* Typhimurium e sanitização com cloro (5ppm). A sanitização reduziu o crescimento de colônias de *Salmonella* Typhimurium em ovos contaminados experimentalmente, sugerindo que a sanitização é um processo importante na qualidade dos ovos de codornas. Esses dados concordam parcialmente com os do Experimento 1, com ovos opacos, no qual o melhor resultado foi observado em ovos sanitizados e refrigerados durante o armazenamento por 18 dias.

TABELA 22 –Desdobramento da interação de números de *Salmonella* Typhimurium entre inoculação e sanitização no período de armazenamento de 18 dias.

Número de colônias de <i>Salmonella</i> Typhimurium (log UFC/g)		
Inoculação x Sanitização		
Inoculação	Sanitização	
	SIM	NÃO
SIM	1,88Ab	3,81Aa
NÃO	0Ba	0Ba

Médias seguidas de mesma letra maiúsculas na coluna e minúscula na linha, não diferem pelo teste t, com nível de significância de 5%

O estudo de regressão em relação ao período de estocagem para o desenvolvimento da *Salmonella*, mostrou que não significativo somente para os tratamentos inoculação, sanitização e refrigeração e para inoculação, não sanitização e refrigeração (Figura 16). Houve efeito quadrático para ambos os tratamentos, mostrando que houve uma redução do número de colônias da *Salmonella* com 27 dias de estocagem.

Do mesmo modo que no Experimento 1 (ovos opacos), houve crescimento da *Salmonella* na casca de ovos mantidos a temperatura de 5 °C , com maior valor encontrado de colônias com 18 dias de armazenamento. Esses dados concordam com ADAMS & MOSS (1995) que relatam que é possível o crescimento da *Salmonella* sp. em ambientes com temperatura de 5 °C. MALHEIROS et al. (2007), trabalhando com *Salmonella* Enteritidis e *Salmonella* Typhimurium, constataram que na temperatura de 9,5°C não houve crescimento de nenhuma das linhagens testadas, durante as primeiras

24 horas, no entanto, após esse período os autores observaram um crescimento semelhante ao das bactérias mantidas a 30 °C.

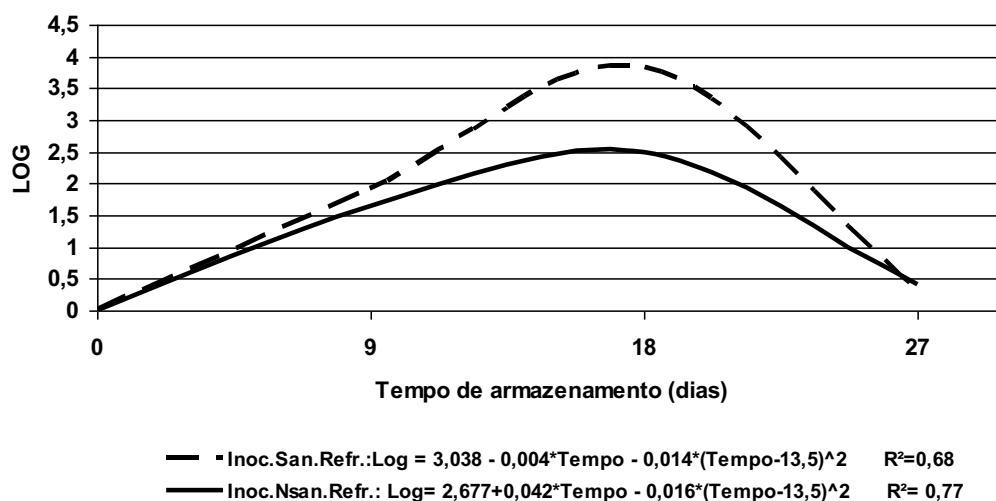


FIGURA 16 – Gráfico de regressão entre os fatores de inoculação, sanitização e refrigeração e entre inoculação, não sanitização e refrigeração armazenados por 27 dias.

Na Tabela 23, estão mostrados a freqüência de bactérias que penetraram no conteúdo dos ovos de casca brilhante em todo o período de armazenamento, independente dos tratamentos. No tempo 0, não foram encontrado bactérias no conteúdos dos ovos. A presença de bactérias *Citrobacteriaceae*, *Enterobacteriaceae* e *Pseudomonas*, no conteúdo dos ovos, pôde ser observado nos tempos 9, 18 e 27. Aos 9 dias de armazenamento pôde-se identificar 16,66% de bactérias no conteúdos dos ovos de casca brilhante. Já com 18 dias, foi o tempo em que apresentou maior penetração das bactérias no conteúdo, caracterizando 66,66% de presença na parte interna dos ovos. No entanto, aos 27 dias de armazenamento, a freqüência de penetração das bactérias reduziu.

TABELA 23– Ocorrência de *Salmonella* Typhimurium identificados no conteúdo de ovos brilhantes (%) armazenados por 27 dias

Tempo de armazenamento (dias)	Bactéria (Espécies)	Nº. de Presença	Frequência (%)
0	-	0	0
9	Citrobacter	1	16,66
18	Enterobacter e Citrobacter	4	66,66
27	Pseudomonas	1	16,66

Cada grupo experimental com n = 6

5- CONCLUSÕES

Ovos de codornas com casca opaca ou brilhante, armazenados até 27 dias, devem ser sanitizados (5 ppm de cloro) e refrigerados a 5 °C durante a estocagem para manter a qualidade física e química, independentemente da contaminação por bactérias.

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

6 - CONSIDERAÇÕES FINAIS

A comercialização de ovos de codornas ainda é de baixa qualidade, pois os produtores não realizam o processo de sanitização dos ovos pois acreditam que esse mecanismo afetará a pigmentação da casca dos ovos e influenciará na comercialização, assim como os ovos não são refrigerados. XAVIER et al. (2008) relataram que por não ser obrigatória a refrigeração no Brasil, os ovos comerciais são mantidos, desde o momento da postura até a distribuição final, em temperatura ambiente, sendo em alguns casos, refrigerados apenas nas casas dos consumidores.

No entanto, de acordo com o sistema de gestão de qualidade, a legislação sobre ovos de consumo normatizado pelo MAPA com base na

Instrução Normativa nº 7, de 10 de março de 2005; e a Portaria nº 138, de 5 de junho de 2006 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, define que os produtos sejam livres de patógenos específicos (SPF) e que a validade de ovos comercializados “*in natura*” é de 30 dias, sendo não obrigatório, somente recomendado, a refrigeração durante o armazenamento no estabelecimento comercial. A legislação não tem nenhuma normativa específica para ovos de codornas. Por outro lado, ainda existe a possibilidade da contaminação bacteriana do ovos de codorna na granja de produção, já que relatos mostram alta incidência de Salmonelose em codornas e contaminação de ovos no mercado por *Salmonella* (ANDRADE et al., 2004).

Considerando os resultados de peso do ovo, uH, índice de gema e de albume e pH de gema e de albume, pode-se afirmar que a contaminação experimental com *Salmonella* Typhimurium prejudicou a qualidade física do ovo a partir de 18 dias de armazenamento.

Com relação a qualidade bacteriológica do ovo, a sanitização com 5 ppm de Cl (através da pulverização dos ovos) pode ser uma alternativa simples e de baixo custo para reduzir a possibilidade de contaminação por *Salmonella* em ovos de codornas, sendo que neste experimento não foi observado alteração na apresentação do produto em relação a despigmentação da casca nos ovos sanitizados. Portanto, independente se ocorreu a contaminação, recomenda-se a pulverização da solução de cloro (5ppm), pois os resultados deste estudo comprovam que houve redução de UFC/g de casca, nos ovos que passaram pela sanitização. Esse fato está de acordo com LAUDANNA (1995), o qual relatou que a limpeza, caso realizada corretamente, melhora a qualidade bacteriológica da casca, diminuindo a probabilidade de microrganismos penetrarem pelos poros e contaminarem o conteúdo dos ovos.

Pode-se afirmar, que o tempo de estocagem dos ovos e a temperatura de armazenamento influenciaram a qualidade interna dos ovos de codornas em todas as variáveis estudadas. Com base nos resultados de qualidade interna dos ovos pode-se sugerir a sanitização ou a refrigeração para ovos opacos. Já, para os ovos brilhantes os melhores resultados foram obtidos com a associação de ambos os processos, ou seja, sanitização e refrigeração. Embora, o crescimento da *Salmonella* foi retardado quando os ovos foram mantidos sob refrigeração. Assim, a recomendação, baseada nos

resultados de qualidade e crescimento bacteriano, é que ovos de codornas sejam sanitizados e refrigerados, dessa maneira os ovos podem alcançar o tempo de validade de 30 dias com qualidade. Sem a refrigeração o período de validade não deveria ultrapassar 18 dias de estocagem, sugerindo, portanto, uma alteração na legislação.

Do mesmo modo, FIORAVANTTI et al. (2004) constataram que o período entre produção e o consumidor final de ovos de codornas armazenados em temperatura ambiente não deve ultrapassar 12 dias, mas quando mantidos sob refrigeração o período pode ser superior a 30 dias.

REFERÊNCIAS

1. ADAMS, M. R.; MOSS, M. O. **Microbiología de los alimentos**. Zaragoza: Acribia S.A., 1995. 464p.
2. AGÊNCIA RURAL Instrução Normativa nº 003. **Regulamento de ovos e derivados**. Agência Goiana de Desenvolvimento Rural e Fundiário. Goiânia: Agência Rural, 2003. 38p.
3. ALBINO, L. F. T.; BARRETO, S. L. de T. **Criação de codornas para produção de ovos e carne**. Viçosa: Aprenda Fácil, 268p, 2003.
4. ALLEONI, A. C. C.; ANTUNES, A. J. Unidade Haugh como medida da qualidade de ovos de galinha armazenados sob refrigeração. **Scientia Agricola**, v.58, n.4, p.681-685, 2001.
5. ANDRADE, M. A.; CAFÉ, M. B.; JAYME, S. V.; ROCHA, P. T.; LEANDRO, N. S. M.; STRINGHINI, J. H. Avaliação da qualidade bacteriológica de ovos de galinha comercializados em Goiânia, Goiás, Brasil. **Ciência Animal Brasileira**, v.5, n. 4, p.221-228, 2004.
6. BAIÃO, N. C.; CANÇADO, S. V. **Fatores que afetam a qualidade da casca do ovo**. Caderno Técnico da Escola de Veterinária UFMG, Belo Horizonte, n.21, p. 43-59, 1997.
7. BALBANI, A. P. S.; BUTUGAN, O. Contaminação biológica de alimentos. **Pediatria**, São Paulo, v.23, n.4, 320- 328, 2001.
8. BARBOSA, A. A.; SAKOMURA, N. K.; MENDONÇA, M. O.; FREITAS, E. R.; FERNANDES, J. B. K. Qualidade de ovos comerciais provenientes de poedeiras comerciais armazenados sob diferentes tempos e condições de ambientes. **Arquivos de Veterinária**, Jaboticabal, São Paulo, v. 24, n.2, p. 127-133, 2008.

9. BARRETO, S. L. de T.; QUIRINO, B. J. de S.; BRITO, C. O.; UMIGI, R. T.; ARAUJO, M. S. de; ROCHA, T. C. da; PEREIRA, C. G. Efeitos de níveis nutricionais de energia sobre o desempenho e a qualidade de ovos de codornas européias na fase inicial de postura. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v.36 n.1, 2007.
10. BENITEZ, L. B. **Monitoramento de Pontos Críticos de Controle (PCCs) no Abate de Frangos através de Indicadores Microbiológicos**, 2000. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia dos Alimentos)- Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2000.
11. BERTECHINI, A. G. Situação atual e perspectivas para a coturnicultura no Brasil. In: IV SIMPÓSIO INTERNACIONAL III CONGRESSO BRASILEIRO DE COTURNICULTURA, 04., 2010, Lavras. **Anais...** Lavras: UFLA/NECTA, 2010. 285p.
12. BRANDÃO, P. A.; COSTA, F. G. P.; SILVA, J. H. V.; BRANDÃO, J. S.; NOBRE, J. G. S.; GOULART, C. C. Exigência de cálcio para codornas japonesas (*Coturnix coturnix japonica*) em postura. **Acta Scientiarum. Animal Science**. Maringá, v. 29, n. 1, p. 17-21, 2007.
13. BORDIN, R. A.; PEREIRA, C. A. D.; EBOLI, M.; ARTILHEIRO, R.; FREITAS, C. Avaliação microbiológica da eficiência do processo de fumigação em ovos incubáveis de codornas japonesas (*Coturnix coturnix japonica*). In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL E II CONGRESSO BRASILEIRO DE COTURNICULTURA, 03., 2007, Lavras. **Anais...**, Lavras: UFLA/NECTA, 2007a. 232p.
14. BORDIN, R. A.; PEREIRA, C. A. D.; BUENO, R.; ARTILHEIRO, R.; BURBARELLI, M. F. Verificação da contaminação microbiológica em ovos comerciais de codornas comercializados em São Paulo – Brasil. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL E II CONGRESSO BRASILEIRO DE COTURNICULTURA, 03., 2007b, Lavras. **Anais...**, Lavras: UFLA/NECTA, 2007. 232p.
15. BRANDALIZE, M. L. A influência da nutrição da matriz sobre a performance do frango de corte. In: ENCONTRO TÉCNICO DE CIÊNCIAS AVÍCOLA, 5., 2001 Uberlândia, MG. **Anais...** Uberlândia: UFU, 2001, p.42-71.
16. 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.
17. BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Portaria n. 1 de 21/02/1990. Publicada em 06/03/1990. **Normas gerais de inspeção de ovos e derivados**. Brasília. DF: MAPA, 1990. Disponível em <http://extranet.agricultura.gov.br/sislegis-consulta>. Acesso em: 07 out. 2009.
18. BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução normativa n. 20 de 21/07/1999. Publicada em 27/07/1999. Oficializa os

Métodos analíticos físico-químicos para controle de produtos cárneos e seus ingredientes – sal e salmoura. Brasília. DF: MAPA, 1999. Disponível em: <http://extranet.agricultura.gov.br/sislegis-consulta>. Acesso em 26 jul. 2009.

19. CARBÓ, C. B. **La gallina ponedora.** Madrid, Espanha: Ediciones Mundi – Prensa, 1987. 519 p.

20. CARDOSO, A. L. S. P.; TESSARI, E. N. C.; CASTRO, A. G. M.; KANASHIRO, M. I.; GAMA, N. M. S. Q. Pesquisa de coliformes totais e coliformes fecais analisados em ovos comerciais no laboratório de patologia avícola de descalvado. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v.68, n.1, p.19-22, 2001.

21. CARVALHO, F. B. **Influência da idade, da linhagem, do sistema e do tempo de conservação na qualidade interna e da casca de ovos comerciais.** 2003. 40 f. Monografia (Especialização em Zootecnia). Escola de Veterinária, Universidade Federal de Goiás, Goiânia.

22. CARVALHO, F. B.; STRINGHINI, J. H.; LEANDRO, N. S. M.; JARDIM FILHO, R. M.; CAFÉ, M. B.; DEUS, H. A. S. B. Qualidade interna e da casca para ovos de poedeiras comerciais de diferentes linhagens e idades. **Ciência Animal Brasileira**. v.8, n.1, p.25-29, 2007.

23. COSTALUNGA S.; TONDO E. C. Salmonellosis in Rio Grande do Sul, 1997 to 1999. **Brazilian Journal of Microbiology**, v.33, p.342-346, 2002.

24. DEUS, H. A. S. B. **Aspectos de qualidade externa e interna dos ovos comercializados em diferentes tipos de estabelecimento na região de Goiânia-GO.** 2003. 34f. Monografia (Especialização em Zootecnia). Escola de Veterinária, Universidade Federal de Goiás, Goiânia.

25. DEEMING, D. C. Factors affecting hatchability during commercial incubation of ostrich (*Struthio camelus*) eggs. **British Poultry Science**, London, v.36, p.51-65, 1995.

26. DE REU, K.; GRIJSPEERDT, K.; HEYNDRIKX, M.; UYTENDAELE, M.; DEBEVERE, J.; HERMAN, L. Bacterial shell contamination in the egg collection chains of different housing systems for laying hens. **British Poultry Science**, v. 47, n. 2, p. 163-172, 2006.

27. EVANGELISTA, J. **Tecnologia de alimentos.** 2. ed. São Paulo: Editora Atheneu, 1989. 652 p.

28. FARIA, D. E.; FARIA FILHO, D. E.; RIZZO, M. F. Interação nutrição e qualidade de ovos para processamento industrial. In: SIMPÓSIO SOBRE INGREDIENTES NA ALIMENTAÇÃO ANIMAL, 2., 2002, Campinas. **Anais...** Campinas: CBNA, 2002. p. 191-216.

29. FERNÁNDEZ, A.; LARA, C.; LOSTE, A.; CALVO, S.; MARCA, M. C. Control of *Salmonella enteritidis* phage type 4 experimental infection by fosfomycin in newly hatched chicks. **Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Disease**, Oxford, v. 24, p. 207-216, 2001.

30. FERREIRA, E. O.; CAMPOS L. C. **Microbiologia: Salmonella**. 5ed. Cap. 43, São Paulo: Atheneu, 2008, p. 329-338.
31. FIORAVANTI, W.; CARVALHO, E. Y. S.; GOMES, F. A.; FASSANI, E. J. Efeito do tempo e condições de armazenamento sobre a qualidade interna de ovos de codornas japonesas (*Coturnix coturnix japonica*). In: III SEMIC – Seminário de Iniciação Científica da UNIFENAS, 2004.
32. FLETCHER, D. L.; BRITTON, W. M.; RAHN, A. P.; SAVAGE, S. I. The influence of layer flock age on egg component yields and solids content. . **Poultry Science**, Champaign, v. 60, p. 983 - 987, 1981.
33. FRANCO, B. D. G. M.; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos alimentos**. São Paulo: Atheneu, 2002. 182 p.
34. FURTADO, I. M.; OLIVEIRA, A. I. G.; FERREIRA, D. F.; OLIVEIRA, B. L.; RODRIGUES, P. B. Correlação entre medidas da qualidade de casca e perda de ovos no segundo ciclo de produção. **Ciência Agrotécnica**. v, 25, n.3, p.654-660, 2001.
35. GALES, A. C.; JONES, R. W.; TURNIDGE, J.; RENNIE, R.; RAMPHAL, R. Characterization of *Pseudomonas aeruginosa* isolates: occurrence rates, antimicrobial susceptibility patterns and molecular typing in the global SENTRY Antimicrobial Surveillance Program, 1997-1999. **Clinical Infectious Diseases**, Chicago, v. 32, suppl. 2, p. S146-S155, 2001.
36. GUSTIN, P. C. Biossegurança no Incubatório. Manejo da Incubação. 2º ed. Campinas: Facta p. 297-349, 2003.
37. HAMILTON, R. M. G. Methods and factors that affect the measurement of egg shell quality. **Poultry Science**, Champaign, v. 61, p. 2022-2039, 1982.
38. HAMILTON, R. M. G.; THOMPSON, B. K. Effects of the sequence of measuring nondestructive deformation and specific gravity on the quasi-static compression and impact strength of eggs from white leghorn hens. **Poultry Science**, Champaign, v. 60, p. 1798-1801, 1981.
39. HUMPHREY T. J. *Salmonella*, stress responses and food safety. **Science and Society**, v. 2, p.504-509, 2004.
40. IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, 2002. <<http://www.ibge.gov.br>>. Acessado em: nov. 2010.
41. ICMSF.INTERNATIONAL COMISSION ON MICROBIOLOGICAL SPECIFICATIONS FORFOODS. **El sistema de analisis de riesgos y puntos criticos: suaplicacion a las industrias de alimentos**. Zaragoza: Acribia, 1996, 33p.
42. JONES, D. R.; CURTIS, P. A.; ANDERSON, K. E.; JONES, F. T. Microbial contamination in inoculated shell eggs. II Effects of layer strain and egg storage. **Poultry Science**, Champaign, v. 83, p. 95-100, 2004.

43. KEENER, K. M.; McAVOY, K. C.; FOEGEDING, J. B.; CURTIS, P. A.; ANDERSON, K. E.; OSBORNE, J. A. Effect of testing temperature on internal egg quality measurements. **Poultry Science**, Champaign, v. 85, p. 550-555, 2006.
44. LAGANÁ, C.; PIZZOLANTE, C. C.; TOGASHI, C. K.; KAKIMOTO, S. K.; SALDANHA, E. S. P. B.; ALVARES, V.; TURCO, P. H. N. Influência de métodos de debicagem e do tipo de bebedouro na qualidade de ovos de codornas japonesas. In: **46 Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia**, Maringá, 2009.
45. LANA, M. R.; SOUZA, BAIÃO, N. C. Qualidade de ovos de consumo submetidos a diferentes condições de armazenamento. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**. v.60, n.4, p.953-059, 2008.
46. LAUDANNA, S. P. Cuidados garantem ovos saudáveis. **Revista aves & Ovos**. São Paulo, n.9, 1995, p. 32.
47. LEANDRO, N. S. M.; DEUS, H. A. B.; STRINGHINI, J. H.; CAFÉ, M. B.; ANDRADE, M. A.; CARVALHO, F. B. Aspectos de qualidade interna e externa de ovos comercializados em diferentes estabelecimentos na região de Goiânia. **Ciência Animal Brasileira**, v. 6, n. 2, p. 71-78, 2005.
48. LIN, H.; MERTENS, K.; KEMPS, B.; GOVAERTS, T.; DE KETELAERE, B.; DE BAERDEMAEKER, J.; DECUYPERE, E.; BUYSE, J. New approach of testing the effect of heat stress on eggshell quality: mechanical and material properties of eggshell and membrane. **British Poultry Science**, Edinburgh, v. 45, n. 4, p. 476-482, 2004.
49. LLOBET, J. A. C.; PONTES, M. P.; GONZALEZ, F. F. Características del huevo fresco. In: _____. **Producción de huevos**. Barcelona, Espanha: Tecnograf S. A., 1989. p. 239-254.
50. MAYES, F. J.; TAKEBALLI, M. A. Microbial contamination on the hen's egg: a review. **Journal of Food Protection**, Ames, v. 46, p. 1092-1098, 1983.
51. MALHEIROS, P. S.; DE PAULA, C. M. D.; TONDO, E. C. Cinética de crescimento de *Salmonella* Enteritidis envolvida em surtos alimentares no RS: uma comparação com linhagens de outros sorovares. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 27, n. 4, p.751-755, 2007.
52. MENDES, F. R.; LACERDA, M. J. R.; SANTOS, J. S.; ALCÂNTARA, J. B.; BARNABÉ, A. C. de S.; ANDRADE, M. A.; LEANDRO, N. S. M. Peso de ovos contaminados artificialmente com *Pseudomonas aeruginosa* e armazenados em duas temperaturas. CONGRESSO DE PESQUISA, ENSINO E EXTENSÃO, 6. 2009, Goiânia, **Anais...** Goiânia: Conpeex, 2009.
53. MENDES, F. R. **Qualidade física, química e microbiológica de ovos lavados, armazenados sob duas temperaturas e contaminados experimentalmente com *Pseudomonas aeruginosa***. 2010. 71f. Dissertação (Mestrado). Escola de Veterinária, Universidade Federal de Goiás, Goiânia.

54. MESSENS, W., GRIJSPEERDT, K., HERMAN, L. Eggshell penetration by *Salmonella*: a review. **World's Poultry Science Journal**, London, v. 61, n. 1, p. 71-85, 2005.
55. MORENG, R. E.; AVENS, J. S. Ciência e produção de aves. **Tradução Nair Massako Katayma Ito**. São Paulo: Roca, 1990. 380 p.
56. MURAKAMI, A. E.; ARIKI, J. **Produção de codornas japonesas**. Jaboticabal: FUNEP, 1998. 79p.
57. MURAKAMI, A. E.; FURLAN, A. C. Pesquisas na nutrição e alimentação de codornas em postura no Brasil. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE COTURNICULTURA, 1., Lavras, MG. **Anais...** Lavras: Universidade Federal de Lavras, 2002. p.113-120.
58. NEPA. Núcleo de Estudos e Pesquisas em Alimentação. **TACO**: tabela brasileira de composição de alimentos. Versão II. Campinas: NEPA – UNICAMP, 2006. 105 p.
59. OLIVEIRA, D. D.; SILVA, E. N. *Salmonella* em ovos comerciais: ocorrência, condições de armazenamento e desinfecção da casca. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 52, n.6, p. 655-661, 2007.
60. OLIVEIRA, E. O. **Influência da temperatura de armazenamento nas características físico-químicas e nos teores de aminos bioativas em ovos**. 2006. 79f. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos) – Faculdade de Farmácia, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.
61. OLIVEIRA, B. L. Processamento e industrialização de ovos. In: SIMPÓSIO GOIANO DE AVICULTURA, 4., 2001, Goiânia. **Anais...** Goiânia: UFG/SEBRAE, 2001. p. 175-186.
62. OLSEN, S. J.; BISHOP, R.; BRENNER, F. W.; ROELS, T. H.; BEAN, N.; TAUXE, R. V.; SLUTSKER, L. The changing epidemiology of *Salmonella*: trends in serotypes isolated from humans in the United States, 1987-1997. **The Journal of Infectious Diseases**, Chicago, v. 183, p.753-761, 2001.
63. ORDÓÑEZ, J. A. Ovos e produtos derivados. In:____. **Tecnologia de alimentos. Alimentos de origem animal**. Porto Alegre: Artmed, 2005. p. 269-279.
64. ORNELLAS, L. H. **Técnicas dietéticas: seleção e preparo de alimentos**. 7. Ed. São Paulo: Editora Metha, 2001. 330p.
65. OUCKAMA, R. M. Monitoramento de *Aspergillus*, ataques microbianos e vacinação contra a doença de Marek no programa de controle de qualidade de incubatórios. In: **International Poultry Consultants**, Clínica de Incubação. Brasília, p. 1-13, 1996.
66. PASCOAL, L. A.; BENTO JUNIOR, F. A.; SANTOS, W. S.; SILVA, R. S.; DOURADO, L. R. B.; BEZERRA, A. P. A. Qualidade de ovos comercializados

em diferentes estabelecimentos na cidade de Imperatriz-MA. **Revista Brasileira de saúde e Produção Animal**. v.9, p.150-157, 2008.

67. PEDROSO, A. A.; MORAES, V. M. B.; ARIKI, J.; KRONKA, S. N. Efeito de níveis dietéticos de cálcio e fósforo disponível sobre o desempenho e qualidade dos ovos de codornas japonesas. **Ars Veterinária**, v.15, n.2, p.135-139, 1999.

68. PINTO, A. T. **Estudo do comportamento de *Salmonella* Enteritidis e *Escherichia coli* na casca, sua penetração no conteúdo interno e alterações na qualidade em ovos de galinha contaminados artificialmente simulando condições usuais de produção comercial**. 2005. 148f. Tese (Doutorado em tecnologia de Alimentos). Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas. Campinas.

69. POOLE, H. K. **Egg shell pigmentation in japanese quail:genetic control of the white egg trait**. Journal Heredity, v. 55, p.136-138, 1965.

70. RICHARDS, N. S. P. S. Segurança Alimentar- Como prevenir contaminações na indústria. **Food Ingredients**, p. 16- 30, 2003.

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

72. RUTZ, F.; ANCIUTI, M. A.; PAN, E. A. **Manejo de matrizes de corte: Fisiologia e manejo reprodutivo de aves**. Cap. 6, p.76-122, 2005.

73. SABRANI, M.; PAYNE, C.G. Effect of oiling on internal quality of eggs stored at 28 and 12°C. **Poultry Science**, v.19, p.567-571, 1978.

74. SANTOS, B. M.; MOREIRA, M. A. S.; DIAS, C. C. A. **Manual de doenças avícolas**. Viçosa: Ed. UFV, 2008. 224p.

75. SAS – STATISTICAL ANALYSES SYSTEM. 2002. **User's guide: statistics**. Version 8. Cary:2002.

76. SCOTT, T. A.; SILVERSIDES, F. G. The effect os storage and strain of hen on egg quality. **Poultry Science**, Champaign, v.79, p.1725-1729, 2000.

77. SEIBEL, N. F.; SOUZA-SOARES, L. A. de. Avaliação física de ovos de codorna em diferentes períodos de armazenamento. **Vetor**, Rio Grande, 13: 47-52, 2003.

78. SILVERSIDES, F.G.; BUDGELL, K. The relationships among measures of egg albumen height, pH, and whipping volume. **Poultry Science**, v. 83, p. 1619-1623, 2004.

79. SILVERSIDES, F. G.; TWIZEYIMANA, F.; VILLENEUVE, P. Research note: a study relating to the validity of the Haugh unit correction for egg weight in fresh eggs. **Poultry Science**, Champaign, v. 72, p. 760-764, 1993.

80. SOLOMON, S. E. **Egg & eggshell quality**. Aylesbury, England: Wolfe Publishing, 1991. 149 p.
81. SOUZA-SOARES, L. A.; SIEWERDT, F. **Aves e ovos**. Pelotas: Editora da Universidade UFPEL, 2005. 137 p.
82. SOUZA, H. B. A.; SOUZA, P. A. Efeito da temperatura de estocagem sobre a qualidade interna de ovos de codorna armazenados durante 21 dias. **Alimentos e Nutrição**, Araraquara, v. 6, p. 7-13, 1995.
83. STRINGHINI, M. L. F.; ANDRADE, M. A.; MESQUITA, A. J.; ROCHA, T. R.; REZENDE, P. M.; LEANDRO, N. S. M. Características bacteriológicas de ovos lavados e não lavados de granjas de produção comercial. **Ciência Animal Brasileira**, Goiânia, v. 10, n. 4, p. 1317 – 1327, 2009.
84. STRINGHINI, M. L. F. **Perfil socioeconômico e microbiológico de manipuladores e qualidade de ovos de granjas de produção comercial. Influência da Contaminação Experimental por *Pseudomonas aeruginosa* sobre a Qualidade de Ovos Não-Lavados e Lavados**. 2008. 132f. Tese (Doutorado em Produção Animal). Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Federal de Goiás. Goiânia.
85. WILKS, C.; PARKINSON, G.; YOUNG, P. **International review of *Salmonella* Enteritidis (SE) epidemiology and control policies**. Rural Industries Research and Development Corporation. 2000 Disponível em <http://rirdc.gov.au/reports/eggs>. Acesso em: 25 set. 2009.
86. XAVIER, I. M. C.; CANSADO, S. V.; FIGUEIREDO, T. C.; LARA, L. J. C. Qualidade de ovos de consumo submetidos a diferentes condições de armazenamento. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**. v.60, n.4, p.953-059, 2008.