



UNIVERSIDADE
ESTADUAL DE LONDRINA

DOUGLAS FURTADO MAGNANI

**EVOLUÇÃO DA MICROBIOTA DO OVO INTEGRAL LÍQUIDO
ARMAZENADO EM CÂMARAS DE RESFRIAMENTO E
TANQUES DE EXPANSÃO**

Londrina
2013

DOUGLAS FURTADO MAGNANI

**EVOLUÇÃO DA MICROBIOTA DO OVO INTEGRAL LÍQUIDO
ARMAZENADO EM CÂMARAS DE RESFRIAMENTO E
TANQUES DE EXPANSÃO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciência Animal da Universidade Estadual de Londrina, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Vanerli Beloti.

Londrina
2013

**Catálogo elaborado pela Divisão de Processos Técnicos da Biblioteca Central da
Universidade Estadual de Londrina**

Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)

M192e Magnani, Douglas Furtado.
Evolução da microbiota do ovo integral líquido armazenado em câmaras de resfriamento e tanques de expansão / Douglas Furtado Magnani. – Londrina, 2013.
81 f.: il.

Orientador: Vanerli Beloti.
Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) - Universidade Estadual de Londrina, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, 2013.
Inclui bibliografia

1. Ovos – Microbiologia – Teses. 2. Ovos – Contaminação– Teses. 3. Refrigeração – Teses. 4. Microorganismos – Teses. 5. Microbiologia industrial – Teses. I. Beloti, Vanerli. II. Universidade Estadual de Londrina. Centro de Ciências Agrárias. Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal. III. Título.

CDU 637.4:579

DOUGLAS FURTADO MAGNANI

**EVOLUÇÃO DA MICROBIOTA DO OVO INTEGRAL LÍQUIDO
ARMAZENADO EM CÂMARAS DE RESFRIAMENTO E TANQUES DE
EXPANSÃO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciência Animal da Universidade Estadual de Londrina, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre.

BANCA EXAMINADORA

Orientadora. Prof^a. Dr^a. Vanerli Beloti
Universidade Estadual de Londrina – UEL

Prof^a. Dr^a. Elsa Helena Walter de Santana
Universidade Norte do Paraná – UNOPAR

Prof. Dr. Eder Paulo Fagan
Universidade Estadual do Norte do Paraná –
UENP

Londrina, 13 de março de 2013.

AGRADECIMENTOS

À minha família, namorada e amigos, por todo apoio e incentivo.

À Prof^a. Dr^a. Vanerli Beloti, pela confiança, orientação, ideias e contribuição em toda a minha formação profissional.

Ao Dr. Ronaldo Tamanini, pelo suporte, amizade e auxílio ao longo de todo o trabalho.

À toda equipe do LIPOA, pelo apoio e companheirismo.

Ao Agente de Inspeção Federal Adalber Meneguetti, pelo auxílio nas coletas.

Às empresas, que gentilmente abriram as portas para a realização desse estudo, acreditando no desenvolvimento pela ciência.

Ao pessoal do Instituto Biológico: Dr^a Nilce Maria Soares, por acreditar no trabalho e auxiliar com grandes ideias e conhecimento. Regiane e Maria, pelo suporte fundamental nas análises.

À Elizabete Lopes Guastalli, pesquisadora do Instituto Biológico, por executar comigo todas as análises desse trabalho, onde a maioria foi em fins de semana e feriados, participando de fato em todas as etapas do estudo e contribuindo com grande experiência e conhecimento.

MAGNANI, Douglas Furtado. **Avaliação da microbiota do ovo integral líquido armazenado em câmaras de resfriamento e tanques de expansão**. 2014. 81 f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina. 2014.

RESUMO

O presente estudo teve por objetivo avaliar a evolução da microbiota do ovo integral líquido (OIL) armazenado em câmaras de resfriamento e tanques de expansão, verificando a eficiência desses métodos de conservação. Foram obtidas 144 amostras, sendo 72 provenientes de três propriedades com armazenamento de OIL em tanques de expansão e 72 de três propriedades com armazenamento de OIL em câmaras de resfriamento. Foi pesquisada a presença de *Salmonella* spp. e quantificados os micro-organismos aeróbios mesófilos, psicotróficos, coliformes totais, *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*, acompanhando a evolução desses micro-organismos entre os intervalos de tempo de 0, 24, 48 e 72 horas, sob temperaturas entre 2° e 5°C. Constatou-se que no OIL estudado, tanto as câmaras de resfriamento quanto os tanques de expansão foram eficientes no controle da evolução dos micro-organismos quantificados, exceto no controle dos psicotróficos. O OIL avaliado revelou grande contaminação advinda do processo de produção e quebra que antecede a refrigeração. A presença de *Salmonella* spp. foi constatada em 36 (75%) das amostras analisadas. Em ambos os tipos de conservação, observou-se contagens iniciais acima dos padrões estabelecidos pela legislação para micro-organismos aeróbios mesófilos, *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*. As contagens de micro-organismos psicotróficos e coliformes totais não possuem parâmetros legais, mas, utilizando-se o padrão para aeróbios mesófilos, também foram elevadas. Quando comparado a população microbiana do OIL nos dois tipos de armazenamento, a contaminação total e a de origem fecal foram mais elevadas em câmaras de resfriamento e em tanques de expansão, respectivamente.

Palavras-chave: Legislação ovos. Parâmetros microbiológicos. Refrigeração. Qualidade ovos.

MAGNANI, Douglas Furtado. **Microbiota evolution of the liquid whole egg stored in cooling chambers and expansion tanks**. 2014. 81 p. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Universidade Estadual de Londrina.

ABSTRACT

The present study aimed to evaluate the microbiota evolution of the liquid whole egg (LWE) stored in cooling chambers and expansion tanks, verifying the efficiency of these methods of conservation. For this, 144 samples were obtained, 72 from three establishments that store LWE in cooling chambers and 72 from three with expansion tanks. Was researched the presence of *Salmonella* spp. and quantified the microorganisms mesophilic aerobes, psychrotrophs, total coliforms, *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*, accompanying the evolution of these microorganisms between the time intervals of 0, 24, 48 and 72 hours under the temperature range of 2° to 5°C. It was observed that in the LWE studied, cooling chambers and expansion tanks were effective in controlling the evolution of the quantified microorganisms, except in the growth of psychrotrophs. The LWE evaluated revealed large contamination originating from the production process and egg breaking that precedes refrigeration. The presence of *Salmonella* spp. was observed in 36 (75 %) of the samples. In both conservation methods, there were initial counts above the limits established for mesophilic aerobes, *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. The enumeration of psychrotrophs and total coliforms lack legal parameters, but when confronted with the limits established for mesophilic aerobes, were also elevated. When compared the enumeration differences between the microorganisms studied in the LWE from the cooling chambers and expansion tanks, the results showed greater total contamination in the LWE stored in cooling chambers and greater fecal contamination in this product stored in expansion tanks.

Key words: Eggs legislation. Microbiological parameters. Refrigeration. Egg quality.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1** – Gráfico da produção de ovos de galinha no Brasil entre o primeiro trimestre de 2006 e o segundo trimestre de 201213
- Figura 2** – Visão geral da parte interna de uma câmara de resfriamento, com armazenamento de ovo integral líquido em baldes de 18 litros revestidos de plástico polietileno, em novembro de 2012, em uma Fábrica de Conservas localizada na região de Bastos-SP.....34
- Figura 3** – Disposição dos recipientes contendo ovo integral líquido durante armazenamento em uma câmara de resfriamento, em novembro de 2012, em uma Fábrica de Conservas localizada na região de Bastos-SP.....34
- Figura 4** – Visão geral de um tanque de expansão para armazenamento de ovo integral líquido, em novembro de 2012, em uma Granja Avícola localizada na região de Bastos-SP35
- Figura 5** – Interior do tanque de expansão com armazenamento de ovo integral líquido, em novembro de 2012, em uma Granja Avícola localizada na região de Bastos-SP.....36

ARTIGO PARA PUBLICAÇÃO

- Figura 1** – Gráfico de dispersão das contagens de aeróbios mesófilos e psicrotróficos (log UFC/mL), em amostras de ovo integral líquido armazenado em câmaras de resfriamento, durante 72 horas, coletadas em duas repetições entre abril e novembro de 2012, em três estabelecimentos localizados na região de Bastos-SP59
- Figura 2** – Gráfico de dispersão das contagens de aeróbios mesófilos e psicrotróficos (log UFC/mL), em amostras de ovo integral líquido armazenado em tanques de expansão, durante 72 horas, coletadas em duas repetições entre abril e novembro de 2012, em três estabelecimentos localizados na região de Bastos- SP60

Figura 3 – Contagens totais (log UFC/mL), médias, medianas, quartis, limites máximo e mínimo de micro-organismos indicadores em amostras de ovo integral líquido armazenado em câmaras de resfriamento de três estabelecimentos e armazenado em tanques de expansão de três estabelecimentos, durante 72 horas, coletadas em duas repetições entre abril e novembro de 2012, na região de Bastos-SP61

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Composição centesimal do ovo inteiro cru, em 100 gramas de parte comestível	12
Tabela 2 – Identificação de isolados da superfície de ovos antes da lavagem de 3 plantas processadoras nos EUA	17
Tabela 3 – Padrão microbiológico para ovo íntegro cru	20
Tabela 4 – Padrões microbiológicos para ovo integral líquido	21
Tabela 5 – Padrões microbiológicos para gema, clara ou suas misturas, pasteurizadas, resfriadas ou congeladas, com ou sem açúcar, sal e outros aditivos	21

ARTIGO PARA PUBLICAÇÃO

Tabela 1 – Contagens médias de micro-organismos aeróbios mesófilos, coliformes totais e psicotróficos (log UFC/mL) em amostras de ovo integral líquido armazenado em câmaras de resfriamento durante 72 horas, coletadas entre abril e novembro de 2012, em três estabelecimentos localizados na região de Bastos-SP	54
Tabela 2 – Contagens médias de micro-organismos aeróbios mesófilos, coliformes totais e psicotróficos (log UFC/mL) em amostras de ovo integral líquido armazenado em tanques de expansão durante 72 horas, coletadas entre abril e novembro de 2012, em três estabelecimentos localizados na região de Bastos-SP	55
Tabela 3 – Contagens médias de <i>Escherichia coli</i> e <i>Staphylococcus aureus</i> (log UFC/mL) em amostras de ovo integral líquido armazenado em câmaras de resfriamento durante 72 horas, coletadas entre abril e novembro de 2012, em três estabelecimentos localizados na região de Bastos-SP	57
Tabela 4 – Contagens médias de <i>Escherichia coli</i> e <i>Staphylococcus aureus</i> (log UFC/mL) em amostras de ovo integral líquido armazenado em tanques de expansão durante 72 horas, coletadas entre abril e novembro de 2012, em três estabelecimentos localizados na região de Bastos-SP	58

Tabela 5 – Presença de <i>Salmonella</i> spp. em amostras de ovo integral líquido armazenado em câmaras de resfriamento e tanques de expansão, durante 72 horas, coletadas em duas repetições entre abril e novembro de 2012, em seis estabelecimentos localizados na região de Bastos-SP	63
Tabela 6 – Padrões microbiológicos para ovo integral líquido	64
Tabela 7 – Padrões microbiológicos para gema, claras ou suas misturas, pasteurizadas, resfriadas ou congeladas, com ou sem açúcar, sal e outros aditivos	65

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	12
1.1	IMPORTÂNCIA NUTRICIONAL	12
1.2	PRODUÇÃO E CONSUMO	12
1.3	CONTAMINAÇÃO MICROBIANA.....	15
1.4	DEFINIÇÕES E PARÂMETROS MICROBIOLÓGICOS SEGUNDO A LEGISLAÇÃO VIGENTE.....	18
1.5	DOENÇAS TRANSMITIDAS POR ALIMENTOS (DTA)	21
1.6	<i>SALMONELLA</i>	23
1.7	MICRO-ORGANISMOS INDICADORES DE QUALIDADE	25
1.7.1	Aeróbios Mesófilos.....	25
1.7.2	Psicrotróficos	26
1.7.3	Coliformes Totais	26
1.7.4	<i>Escherichia Coli</i>	26
1.7.5	<i>Staphylococcus aureus</i>	27
1.7.6	Métodos Rápidos de Detecção de Micro-organismos Indicadores	28
1.7.6.1	O sistema <i>petrifilm</i> tm	28
1.8	PROGRAMAS DE AUTOCONTROLE E INSPEÇÃO OFICIAL EM ESTABELECIMENTOS PRODUTORES DE OVOS E PRODUTOS DERIVADOS	30
1.9	REFRIGERAÇÃO DO OVO INTEGRAL LÍQUIDO	32
1.9.1	Câmara de Resfriamento	33
1.9.2	Tanque de Expansão.....	35
	REFERÊNCIAS	37
2	OBJETIVOS	44
2.1	OBJETIVO GERAL	44
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	44
	ARTIGO PARA PUBLICAÇÃO	45
	RESUMO	46
	ABSTRACT	47

1	INTRODUÇÃO	47
2	MATERIAL E MÉTODOS	50
2.1	AMOSTRAS	50
2.2	AMOSTRAGEM	50
2.3	ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS	51
2.3.1	Micro-Organismos Indicadores de Qualidade	51
2.3.2	Pesquisa de <i>Salmonella</i> spp.....	52
2.4	ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	52
3	RESULTADOS E DISCUSSÃO	52
4	CONCLUSÃO	65
	REFERÊNCIAS	66
	CONSIDERAÇÕES FINAIS	69
	APÊNDICES	70
	APÊNDICE A – Contagens médias de micro-organismos aeróbios mesófilos, psicrotróficos, coliformes totais, <i>Escherichia coli</i> e <i>Staphylococcus aureus</i> (log UFC/mL) em amostras de ovo integral líquido armazenado em câmaras de resfriamento e tanques de expansão, durante 72 horas	71
	APÊNDICE B – Contagens de micro-organismos aeróbios mesófilos, psicrotróficos, coliformes totais, <i>Escherichia coli</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> (UFC/mL) e pesquisa de <i>Salmonella</i> spp em amostras de ovo integral líquido armazenado em câmaras de resfriamento e tanques de expansão, durante 72 horas.....	75

1 INTRODUÇÃO

1.1 IMPORTÂNCIA NUTRICIONAL

O ovo é nutritivo e possui preços acessíveis, sendo um importante alimento na dieta da população brasileira e das pessoas em todo o mundo (McNAMARA, 2003; PIZZOLANTE, 2012; RODRIGUES; SALAY, 2001).

É composto de vitaminas, minerais, ácidos graxos e proteína de alto valor biológico que reúne a maior parte dos aminoácidos essenciais na alimentação humana, tornando-o uma referência em estudos nutricionais que envolvem proteínas (PIZZOLANTE, 2012; TERRA, 1999; TESEDO et al., 2006).

Depois do leite materno, o ovo é considerado o alimento mais completo. É relacionado como importante na prevenção e combate de várias doenças, como: alergias, artrites, degeneração macular senil, doenças cardiovasculares, infecções infantis, osteoporose, Alzheimer e Parkinson. Também é um alimento que auxilia na manutenção da saúde, destacando-se em situações de: gestação, amamentação, crescimento e desenvolvimento (PUPPIN, 2004).

A composição centesimal do ovo inteiro cru segue na Tabela 1.

Tabela 1 – Composição centesimal do ovo inteiro cru, em 100 gramas de parte comestível.

Umidade	Energia		Proteína	Lípidos	Colesterol	Carboidrato	Fibra Alimentar	Cinzas	Cálcio	Magnésio
(%)	(kcal)	(kJ)	(g)	(g)	(mg)	(g)	(g)	(g)	(mg)	(mg)
75,6	143	599	13	8,9	356	1,6	NA*	0,8	42	13

*NA: Não se aplica.

Fonte: UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS, 2011.

1.2 PRODUÇÃO E CONSUMO

A produção mundial de ovos em 2010 foi de 1,182 trilhões de unidades, sendo a China responsável por 38% do total, os EUA por 8,9%, a Europa por 7% e o Brasil por 3,5% (WATT EXECUTIVE GUIDE TO WORLD POULTRY TRENDS, 2011).

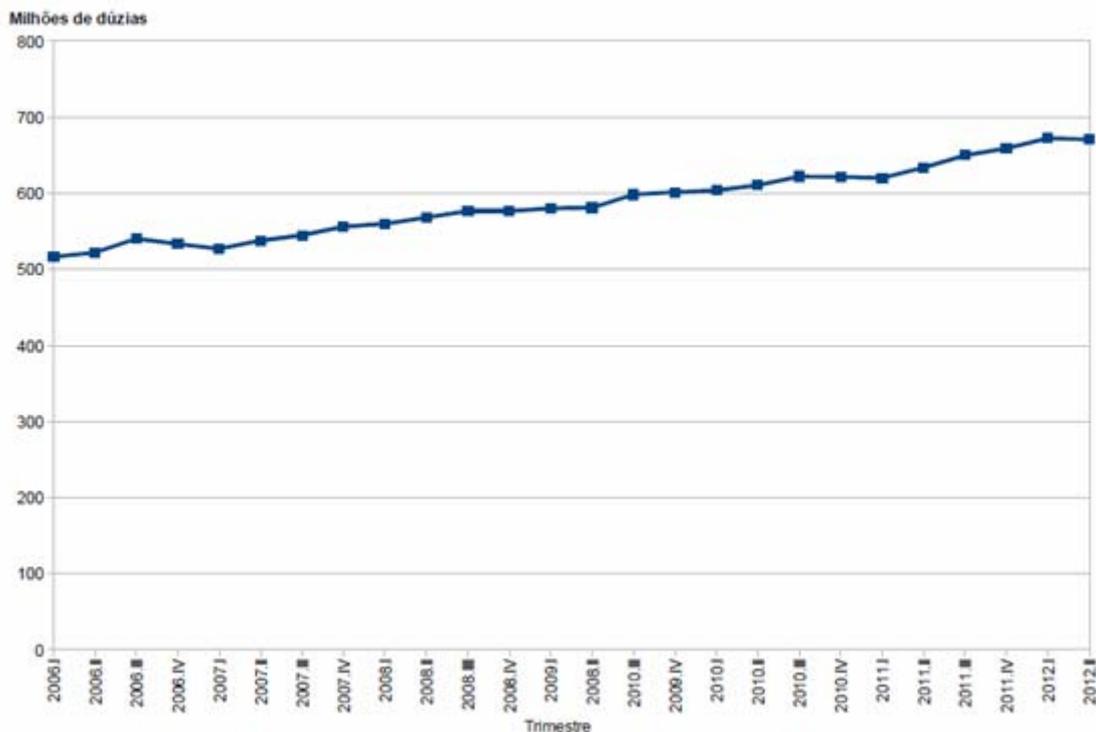
No Brasil, em 2011, a produção de ovos atingiu 31,55 bilhões de unidades e o consumo *per capita* foi de 163 unidades, caracterizando, até então, como o maior volume de produção e de consumo interno já registrado no setor (UBABEF, 2012).

Tesedo et al. (2006), relata que o consumo anual *per capita* no continente europeu é de 252 unidades, enquanto que nos EUA o consumo é de 320 unidades. Considera-se, dessa forma, que o consumo *per capita* no Brasil ainda permanece baixo.

Segundo dados do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE 2012), no 1º trimestre de 2012 foram produzidas 671,176 milhões de dúzias de ovos, representando aumento de 8,2% em relação ao 1º trimestre de 2011. No 2º trimestre de 2012 foram produzidas 670,5 milhões de dúzias, um aumento de 5,8% em relação ao mesmo trimestre de 2011. São Paulo é o principal estado produtor, representando 30% do total da produção nacional.

A figura 1 mostra a série de produção de ovos a partir do 1º trimestre de 2006 até o 2º trimestre de 2012.

Figura 1 – Gráfico da produção de ovos de galinha no Brasil entre o primeiro trimestre de 2006 e o segundo trimestre de 2012.



Fonte: IBGE, Diretoria de Pesquisas, Coordenação de Agropecuária, Pesquisa Trimestral de Ovos de Galinha, 1º trimestre de 2006 até o 2º trimestre de 2012.

Segundo levantamentos da União Brasileira de Avicultura (UBABEF, 2012), das famílias brasileiras, 99,2% consomem ovos, sendo que 39% o fazem de 2 a 3 vezes por semana, enquanto 19% chegam a consumir diariamente o produto.

As exportações de ovos somaram 16,6 mil toneladas em 2011, representando redução de 39% em relação à 2010, sendo as principais regiões de destino a África com 11.219 toneladas e o Oriente Médio com 3.060 toneladas (UBABEF, 2012).

O ovo integral líquido (OIL) pasteurizado é utilizado preferencialmente ao ovo *in natura* (ovo em casca) nas indústrias de alimentos, restaurantes, hospitais e redes de serviço de alimentação. Isso ocorre em função da maior segurança do produto e das vantagens operacionais (AMERICAN EGG BOARD, 2012; FSIS-USDA, 2011).

O OIL pasteurizado é utilizado na fabricação de vários alimentos, podendo ser citados pães, sorvetes, maioneses, produtos de confeitaria, embutidos e massas (BARON et al., 2004; FSIS-USDA, 2011; GEORGIA EGG COMMISSION, 2012).

O OIL pasteurizado oferece melhor estabilidade, uniformidade, economia de mão-de-obra, maior facilidade para quantificar porções e menor espaço necessário para o armazenamento. Mantém ainda o sabor, a cor, o valor nutritivo, as propriedades funcionais e tecnológicas (poder de coagulação, capacidade de formação de espuma, propriedades aglutinantes, aromatizantes e de emulsificação) comparáveis aos do ovo *in natura* (AMERICAN EGG BOARD, 2012; FSIS-USDA, 2011; MINE, 1995).

Em função de suas características de perecibilidade e manejo, ovos *in natura* são alimentos difíceis de serem comercializados internacionalmente, porém, na forma de processados, as dificuldades são reduzidas. Ainda, menos de 3% dos ovos produzidos mundialmente são comercializados entre países (WATT EXECUTIVE GUIDE TO WORLD POULTRY, 2011).

Uma variedade de produtos elaborados a partir do processamento do ovo *in natura* vem sendo, mesmo que ainda de forma lenta, gradativamente apresentados no mercado e ocupando cada vez mais prateleiras do varejo. Isso se deve ao fato desses produtos oferecerem maior segurança e praticidade na

utilização para os consumidores, favorecendo os produtores de ovos, pois são produtos de maior valor agregado (PASTORE et. al, 2011).

Produtos como o OIL pasteurizado, a gema e clara líquidas pasteurizadas, o ovo integral desidratado e a gema e clara desidratadas estão obtendo ampliação do mercado em escala global. Grande expectativa tem se formado para os países em desenvolvimento, tanto como mercado consumidor quanto como produtores (PASTORE et. al, 2011). Segundo o FSIS-USDA (2012), dos 76,2 bilhões de ovos consumidos em 2009 nos EUA, 30% foram na forma de ovos processados. Na Europa, 27% de todos os ovos produzidos foram destinados à indústria de processamento em 2008 (PASTORE et. al, 2011).

Não há dados oficiais sobre a produção de OIL e de OIL pasteurizado no Brasil, como já observado por Aragon-Alegro et al. (2005). Porém, segundo dados da Embrapa (2011), o Brasil exportou 2.278 toneladas de ovo líquido em 2009. Faria, Faria Filho e Rizzo (2002), estimaram que o percentual de ovos destinados ao processamento seja de 5 a 8% no Brasil.

1.3 CONTAMINAÇÃO MICROBIANA

Logo após a postura, a maioria dos ovos é estéril internamente, e, por ser um produto rico em nutrientes e de alta digestibilidade, demanda rigorosos cuidados durante toda a sua cadeia produtiva, pois pode se transformar em um excelente meio de cultura para crescimento de micro-organismos (BOARD; FULLER, 1994; FRANCO; LANDGRAF, 2008; ICMSF, 2005; SEIBEL, 2005; STADELMAN; COTTERILL, 1995).

Há duas maneiras pela qual os ovos podem ser contaminados: a mais frequente é pela penetração do micro-organismo na casca, através de rachaduras e/ou pelos poros; e, a menos frequente é pela via transovariana, onde a contaminação localiza-se na gema e, nesse caso, os procedimentos convencionais de controle e desinfecção dos ovos não são eficientes (BOARD; FULLER, 1994; FRANCO; LANDGRAF, 2008; MINTZ, 1994; OLIVEIRA; SILVA, 2000; STADELMAN; COTTERILL, 1995).

Há fatores que facilitam a contaminação interna do ovo. A casca possui uma cutícula externa protéica (muscina) e duas membranas internas

(testácea) que servem de barreira contra a entrada de micro-organismos (FRANCO e LANDGRAF, 2008). Se as condições físicas dessas estruturas estiverem comprometidas, há um favorecimento da contaminação interna do ovo (SPARKS; BOARD, 1984). A danificação da cutícula, que pode ocorrer pela lavagem da casca, ocasiona a exposição dos poros e maior susceptibilidade de entrada de micro-organismos (BOARD, 1966; WANG; SLAVIK, 1998).

A casca de um ovo apresenta de 7.500 a 20.000 poros com diâmetros que variam de 9 a 35 μm , o que é significativamente maior que o diâmetro da maioria dos micro-organismos que medem, em geral, 1 a 5 μm . As espécies de *Salmonella*, por exemplo, variam de 0,7 a 1,5 μm de comprimento e 2,0 a 5,0 μm de largura (BELL; KYRIAKIDES, 2002; CONY, 2007; ROMANOFF; ROMANOFF, 1963). Outro fator que facilita a contaminação interna é a presença de água na casca e a quantidade de ferro nessa água (BOARD; LOSEBY; MILES, 1979; BOARD; SPARKS; TRANTER, 1986).

Quando acontece a quebra do ovo, a proteção oferecida pela casca e membranas contra os diversos contaminantes ambientais é perdida. Os inibidores bacterianos contidos no albúmen também servem como proteção, porém, a lisozima presente no albúmen perde sua atividade lítica quando 10% ou mais de gema é misturada à clara, propiciando condições para que uma rápida multiplicação de micro-organismos ocorra no OIL se a temperatura for favorável (BOARD; FULLER, 1994).

Os contaminantes do OIL são uma mistura de micro-organismos similares à microbiota autóctone do ovo *in natura*, sendo que a casca normalmente é a fonte de contaminação (ICMSF, 2005).

As fontes mais importantes de contaminação da casca do ovo são a poeira, solo e fezes. Podem também serem incluídas como importantes fontes de contaminação o material das gaiolas, material de nidificação, água, mãos dos manipuladores, ovos quebrados, sangue, insetos e esteira transportadora de ovos (DAVIES; BRESLIN, 2003; RICKE et al., 2001; STADELMAN; COTTERILL, 1995).

Musgrove et al. (2004), identificou os gêneros de micro-organismos presentes na casca dos ovos antes da lavagem em três plantas processadoras dos EUA (Tabela 2).

Tabela 2 – Identificação de isolados da superfície de ovos antes da lavagem de 3 plantas processadoras nos EUA.

Gênero	Ocorrência
<i>Aeromonas</i>	5/9
<i>Cedecea</i>	2/9
<i>Chryseomonas</i>	1/9
<i>Citrobacter</i>	8/9
<i>Enterobacter</i>	9/9
<i>Erwinia</i>	1/9
<i>Escherichia</i>	9/9
<i>Hafnia</i>	5/9
<i>Klebsiela</i>	8/9
<i>Kluyvera</i>	2/9
<i>Leclercia</i>	3/9
<i>Listonella</i>	6/9
<i>Morganella</i>	2/9
<i>Proteus</i>	1/9
<i>Providencia</i>	5/9
<i>Pseudomonas</i>	5/9
<i>Rahnella</i>	1/9
<i>Salmonella</i>	7/9
<i>Serratia</i>	3/9
<i>Sphingobacterium</i>	1/9
<i>Vibrio</i>	2/9
<i>Xanthomonas</i>	2/9

Fonte: Adaptado de Musgrove et al., 2004.

Ricke et al. (2001), descreve que entre os gêneros bacterianos mais comumente envolvidos na deterioração do ovo estão as *Pseudomonas*, *Actinobacter*, *Proteus*, *Aeromonas*, *Alcaligenes*, *Escherichia*, *Micrococcus*, *Serratia*, *Enterobacter*, *Flavobacterium*, *Salmonella*, *Staphylococcus*, *Campylobacter jejuni*, *Listeria* e *Yersinia*.

As principais fontes de contaminação do OIL são a má condição higiénica da casca durante a quebra; as pequenas partículas de casca que podem cair no OIL, mesmo que esse seja depois filtrado; e, o tempo de postura dos ovos antes da quebra, pois quanto mais tempo se passar após a postura, mais micro-organismos poderão atravessar os poros e/ou rachaduras da casca (BOARD e FULLER, 1994).

A União Européia define parâmetro máximo de 100 mg/kg para a quantidade de restos de cascas, de membranas de ovo e de outras eventuais

partículas no OIL (DIRETIVA DO CONSELHO DAS COMUNIDADES EUROPEIAS, 1989), este parâmetro não está presente na legislação brasileira.

Aragon-Alegro et al. (2005), analisou amostras de OIL e OIL pasteurizado provenientes de ovos lavados e não lavados, em uma planta processadora brasileira com quebra automatizada. Das amostras de OIL coletadas no tanque de estocagem, antes da pasteurização, foi obtido positividade para *Salmonella* sp tanto das provenientes de ovos lavados como não lavados, ausência de *Listeria* sp e estafilococos produtores de coagulase tanto das de ovos lavados quanto não lavados e médias de contagens entre $4,6 \times 10^3$ e $2,5 \times 10^5$ UFC/g de micro-organismos aeróbios mesófilos proveniente das de ovos lavados e entre $4,6 \times 10^3$ e $1,8 \times 10^5$ UFC/g de aeróbios mesófilos das provenientes de ovos não lavados.

Dias, Ajzental e Calil (2002), avaliaram a microbiota pré e pós-pasteurização do OIL em uma planta processadora brasileira. Nos resultados pré-pasteurização, as contagens de micro-organismos mesófilos revelaram valores entre $1,1 \times 10^3$ UFC/g e $2,4 \times 10^7$ UFC/g; psicrotróficos entre $1,3 \times 10^3$ e $1,1 \times 10^8$ UFC/g; coliformes totais entre 43 e 11×10^3 NMP; coliformes termotolerantes entre $< 0,3$ e $> 11 \times 10^2$ NMP e bolores e leveduras entre 30 e 14×10^2 UFC/g.

1.4 DEFINIÇÕES E PARÂMETROS MICROBIOLÓGICOS SEGUNDO A LEGISLAÇÃO VIGENTE

Conforme a legislação brasileira (BRASIL, 1990), os estabelecimentos produtores de ovos e produtos derivados são classificados em:

- Granja Avícola: destina-se ao recebimento, classificação, ovoscopia, acondicionamento, identificação e distribuição de ovos *in natura*, oriundos exclusivamente da própria granja produtora.
- Entrepasto de Ovos: destina-se ao recebimento, classificação, acondicionamento, identificação e distribuição de ovos *in natura*, dispondo ou não de instalações para sua industrialização. Podem receber a matéria prima de outras granjas desde que estas sejam cadastradas junto aos serviços oficiais competentes.
- Fábrica de Conservas de Ovos: destina-se ao recebimento e industrialização de ovos, não expedindo ovos *in natura*.

Ovo integral líquido (OIL), ou simplesmente ovo integral, é o produto obtido da quebra de ovos, desprovido de casca, homogeneizado e que contém as mesmas proporções de clara e gema de um ovo *in natura* (BRASIL, 1990, 1991).

O OIL é um produto cru, que pode se apresentar na forma de resfriado ou congelado. Ao ser processado, sua nomenclatura deve ser acrescentada pelo tipo de tratamento industrial ao qual foi submetido, resultando nos produtos: OIL pasteurizado resfriado, OIL pasteurizado congelado ou ovo integral desidratado (BRASIL, 1990, 1991).

Segundo a legislação brasileira, o ovo destinado à quebra para obtenção do OIL que será enviado à industrialização deve apresentar conteúdo com qualidade para uso comestível, sendo que a casca deve estar íntegra e livre de sujeira aderente e material estranho. O OIL deve ainda, atender aos seguintes padrões microbiológicos: contagem máxima de $5,0 \times 10^4$ UFC/g para aeróbios mesófilos e ausência em 1 g para coliformes fecais, *Salmonella* spp. e *Staphylococcus aureus* (BRASIL 1952, 1990, 1991).

No entanto, a legislação prevê exceções para a integridade dos ovos que podem ser destinados à quebra, para obtenção do ovo integral líquido. Os ovos trincados, com fenda, quebra e rompimento da membrana da casca (testácea), podem ser utilizados para processamento normal, desde que apresentem a gema intacta e não aderente à casca, com o conteúdo não exsudando através da mesma. Também podem ser processados os ovos que não apresentem as características mínimas exigidas para as diversas classes e tipos estabelecidos pela legislação (BRASIL 1952, 1965, 1990).

O elevado número inicial de micro-organismos no OIL pode causar modificações físico-químicas e sensoriais que limitam sua durabilidade, além do aumento da possibilidade de sobrevivência desses micro-organismos após a pasteurização, ocasionando diminuição da vida útil dos produtos acabados e aumento do risco de transmissão de doenças (DIAS; AJZENTAL; CALIL, 2002; FRANCO; LANDGRAF, 2008; GAST, 2005; JAY; LOESSNER; GOLDEN, 2005).

Esses ovos destinados à quebra para obtenção do ovo integral líquido são mais passíveis de contaminação, tornando o produto mais susceptível à deterioração por micro-organismos (RÊGO et al., 2012).

A legislação brasileira (BRASIL 1952; 1990), define que pela designação "ovo" entende-se o ovo de galinha em casca, sendo os demais acompanhados da indicação da espécie de que procedem. "Ovo fresco" é o ovo em casca sem qualquer tipo de processo de conservação; "ovo refrigerado" é o ovo em casca submetido ao frio industrial para sua conservação.

O único padrão microbiológico para o ovo em casca existente na legislação brasileira é para o patógeno *Salmonella* sp., conforme a Tabela 3.

Tabela 3 – Padrão microbiológico para ovo íntegro cru.

Micro-organismo	Tolerância para amostra indicativa	Tolerância para amostra representativa			
		n	C	m	M
<i>Salmonella</i> sp./25g	Ausência	5	0	Ausência	-

Fonte: Adaptado de BRASIL, 2001.

Dias, Ajzental e Calil (2002), observaram que a legislação (BRASIL, 1991) estabelece parâmetros para o ovo integral líquido sem especificar se os padrões microbiológicos devem ser considerados para o produto antes ou depois do processo de pasteurização.

As denominações do produto, assim como dos microrganismos que servem como parâmetro de qualidade, diferem antes e depois da pasteurização. Se a mistura de gema e clara pasteurizadas contiver a mesma proporção do ovo em natureza, então o produto pode ser chamado ovo integral líquido pasteurizado (BRASIL, 1990, 1991). No OIL há padrão para *Staphylococcus aureus* e coliformes fecais, e no OIL pasteurizado há parâmetros para estafilococos coagulase positiva e coliformes a 45°C. Dessa forma, considerando que a denominação de coliformes fecais trata-se do mesmo grupo de micro-organismos com a denominação de coliformes a 45°C e que o *Staphylococcus aureus* é o principal micro-organismo do grupo de estafilococos coagulase positiva de interesse em alimentos, observa-se que os padrões microbiológicos máximos permitidos para o OIL pasteurizado são maiores do que para o ovo integral líquido, conforme demonstrado nas tabelas 4 e 5.

Tabela 4 – Padrões microbiológicos para ovo integral líquido.

Micro-organismo	Padrão máximo permitido
Contagem Padrão	5 x 10 ⁴
Coliformes Fecais	Ausência em 1g
<i>Salmonella</i>	Ausência em 25g
<i>S. aureus</i>	Ausência em 1g

Fonte: Adaptado de BRASIL, 1991.

Tabela 5 – Padrões microbiológicos para gema, clara ou suas misturas, pasteurizadas, resfriadas ou congeladas, com ou sem açúcar, sal e outros aditivos.

Micro-organismo	Tolerância para amostra indicativa	Tolerância para amostra representativa			
		n	c	m	M
Coliformes a 45°C/mL	1	5	2	-	1
Estaf. coag. positiva/mL	5 x 10	5	1	10	5 x 10
<i>Salmonellasp./25g</i>	Ausência	5	0	Ausência	-

Fonte: Adaptado de BRASIL, 2001.

Tanto os EUA quanto os regulamentos europeus não definem parâmetros microbiológicos para o ovo integral líquido. Assim, o *Food Safety and Inspection Services (FSIS)* do *United States Department of Agriculture (USDA)* lançou em março de 2012 um estudo, de doze meses de duração, para elaboração de uma base de referência dos EUA da condição microbiológica do OIL.

Os objetivos desse trabalho são obter dados para desenvolvimento de avaliações de risco; realizar planos de amostragem baseados no risco; embasar decisões regulamentatórias de fiscalização e de diretrizes de desempenho; estimar a prevalência de *Salmonella*, *Escherichia coli* genérica, aeróbios mesófilos, enterobactérias e coliformes totais no produto. Espera-se que os resultados desse estudo permitam a realização de um trabalho efetivo na redução do risco dos patógenos associados ao OIL (FSIS-USDA, 2012).

1.5 DOENÇAS TRANSMITIDAS POR ALIMENTOS (DTA)

As doenças transmitidas por alimentos abrangem grande variedade de doenças, sendo um crescente problema de saúde pública em todo o mundo. As DTA ocorrem em função do consumo de alimentos ou água contaminada por bactérias, vírus, parasitas, toxinas, príons, agrotóxicos, produtos químicos e/ou

metais pesados; além da presença de objetos lesivos e/ou que contenham estruturas tóxicas. Os sintomas gastrointestinais, principalmente diarreia, são os mais comuns nessas doenças, no entanto, sintomas imunológicos, ginecológicos, neurológicos bem como falência múltipla dos órgãos e câncer também podem ser consequência de DTA (BRASIL, 2005a; SILVA JR, 2007; WHO, 2012).

Segundo a *World Health Organization* (2007), é difícil estimar a incidência de DTA no mundo, porém, apenas em 2005, 1,8 milhões de pessoas morreram por doenças com sintoma de diarreia, sendo que uma grande parcela desses casos podem ser atribuídos à ingestão de alimentos e água contaminados.

Em países desenvolvidos, 30% da população sofre anualmente com DTA. Em países em desenvolvimento, há uma grande presença e variedade dessas doenças, mas há pouco registro dos casos (WHO, 2007). De acordo com Scallan et al. (2011), nos EUA, as bactérias são responsáveis pela ocorrência de 64% das hospitalizações e mortes por DTA, sendo a *Salmonella* o principal agente.

No Brasil, somente alguns estados e/ou municípios dispõem de estatísticas e dados sobre os agentes etiológicos mais comuns, alimentos mais frequentemente implicados, população de maior risco e demais fatores contribuintes. Dessa forma, o perfil epidemiológico das DTA ainda é pouco conhecido no País e a incidência varia de acordo com aspectos da população, como: nível de educação, condições socio-econômicas, grau de saneamento, fatores ambientais, culturais, entre outros (BRASIL, 2010).

No período de 2000 a 2011, dos 4.989 surtos de origem alimentar com origem conhecida, 909 foram provocados por ovos e produtos a base de ovos, representando 18,22% do total, precedido apenas de alimentos mistos com 1502 surtos, representando 30,10% do total. As regiões Sul e Sudeste foram as regiões com maior ocorrência de surtos, representando 42,1% e 37,3% respectivamente (BRASIL, 2011). Esta ocorrência pode estar relacionada com o nível de implantação da Vigilância Epidemiológica de DTA nas diferentes regiões do Brasil.

Dos 3.927 surtos com o agente etiológico indenticado no Brasil, de 2000 a 2011, 1660 foram causados por *Salmonella* sp, representando 42,27% do total, seguido por 799 casos envolvendo *Staphylococcus aureus* (20,34%) e 411 por *Escherichia coli* (10,46%) (BRASIL, 2011).

Os micro-organismos mais importantes na transmissão de DTA relacionada com produtos líquidos de ovos são *Salmonella enteritidis*, *Salmonella seftenberg*, *Listeria monocytogenes* e *Escherichia coli* (FERREIRA; HOFER; RAEMY, 1997; LEE; HEINZ; KNORR, 2001; BAZHAL et al., 2006).

Em uma pesquisa mostrando a atitude dos consumidores em relação à qualidade sanitária do ovo *in natura*, Rodrigues e Salay (2001) mostraram que poucos consumidores avaliam a qualidade como um parâmetro importante no momento de comprar ovos. A facilidade de acesso e o local onde obtem-se outros alimentos possuem importância equivalente e maior, respectivamente.

Em estudo de Leal (2011), realizado em um município do Estado de São Paulo, sobre práticas adotadas por consumidores no preparo de ovos, 63,85% dos participantes relataram consumir preparos com ovos crus ou inadequadamente cozidos, que são considerados de risco pela possibilidade de estarem contaminados por patógenos e não terem passado por tratamento térmico adequado.

1.6 SALMONELLA

Salmonella é o principal agente causador de doenças de origem alimentar na maioria dos países do mundo (WHO, 2007), inclusive no Brasil (BRASIL, 2011; FRANCO; LANDGRAF, 2008; GERMANO; GERMANO, 2011; SILVA et al., 2010). Ovos e produtos de ovos são importantes veículos de *Salmonella* e o consumo desses alimentos frequentemente é associado à transmissão desse micro-organismo para humanos (COX; PAVIC, 2010).

O gênero *Salmonella* pertence à família *Enterobacteriaceae*, é definido como bastonetes Gram negativos não esporogênicos, anaeróbios facultativos, oxidase negativos, não produtores de butilenoglicol (Vorges-Proskauer negativas) nem fenilalanina deaminase (SILVA et al., 2010).

A temperatura ótima de desenvolvimento das salmonelas é de 37°C, podendo ocorrer multiplicação entre 7 e 49°C. A refrigeração é uma forma importante na inibição da proliferação da *Salmonella*, em temperaturas abaixo de 7°C é cessada a multiplicação para a maioria dos sorotipos (GERMANO; GERMANO, 2011).

As salmonelas são amplamente distribuída na natureza, sendo o trato intestinal de animais e humanos o seu *habitat* primário. O micro-organismo é excretado pelas fezes, sendo veiculado pelo ambiente por insetos e outros organismos vivos para diversas localidades. Não são micro-organismos exigentes, podendo se multiplicar em variadas condições ambientais externas ao seres vivos. Quando alimentos e água contaminados são ingeridos por pessoas e animais, completa-se o ciclo (FRANCO; LANDGRAF, 2008; GERMANO; GERMANO, 2011; JAY; LOESSNER; GOLDEN, 2005).

Entre os animais, as aves são o reservatório mais importante das salmonelas. As formas de adaptação aos hospedeiros permite que a *Salmonella* mantenha-se como patógeno num ambiente adequado e como membro temporário no trato gastrointestinal em ambiente não ideal, ou seja, alguns sorotipos permanecem no ambiente de produção sem causar doença nas aves, constituindo uma fonte de contaminação dos alimentos (CALLAWAY et al., 2008).

A maior parte dessas bactérias são patogênicas para o homem, apesar das diferenças quanto às características e gravidade da doença provocada, onde, o número de micro-organismos necessários para a dose infectante depende de fatores como: o sorotipo de *Salmonella* envolvido, a competência dos sistemas de defesa inespecíficos e específicos do indivíduo afetado e as características do alimento envolvido (FRANCO; LANDGRAF, 2008; GERMANO; GERMANO, 2011).

A classificação e a nomenclatura de *Salmonella* são complexas. A realizada por espécies é pouco utilizada em estudos epidemiológicos, sendo mais empregada a nomenclatura relacionada com a sorotipagem. Dentro de cada subespécie é reconhecido um número diferente de sorotipos, com base na caracterização de seus antígenos capsular (Vi), somáticos (O) e flagelares (H), perfazendo atualmente mais de 2.500 sorotipos. *S. enterica* subsp. *enterica* é a que apresenta o maior número deles, tendo como *habitat* os animais de sangue quente, respondem por 99% das salmoneloses humanas (FRANCO; LANDGRAF, 2008; GERMANO; GERMANO, 2011; SILVA et al., 2010).

Os tratamentos térmicos, como a pasteurização, são formas eficientes para a destruição de salmonelas nos alimentos (FRANCO; LANDGRAF, 2008). No entanto, segundo Gast (2005), a quantidade de *Salmonella* que irá sobreviver da destruição pelo calor, sob uma combinação específica de tempo e

temperatura, vai depender do número desses micro-organismos inicialmente presentes no ovo integral líquido.

1.7 MICRO-ORGANISMOS INDICADORES DE QUALIDADE

Os micro-organismos indicadores são grupos ou espécies de micro-organismos que, quando presentes em um alimento, proporcionam informações sobre a ocorrência de contaminações de origem fecal, sobre a existência de micro-organismos patogênicos ou sobre a deterioração potencial do alimento, além de poderem indicar condições higiênicas e sanitárias inadequadas durante o processamento, produção ou armazenamento (FRANCO; LANDGRAF, 2008). O aumento do número de micro-organismos indicadores resulta em diminuição da qualidade do produto (JAY; LOESSNER; GOLDEN, 2005).

Para alimentos de origem animal, a segurança e a qualidade podem ser estimadas com o uso da contagem dos micro-organismos indicadores, que incluem a contagem de aeróbios mesófilos, de psicotróficos, de coliformes totais e de *Escherichia coli*. Outro importante micro-organismo, *Staphylococcus aureus*, pode indicar manipulação inadequada ao longo da cadeia produtiva do alimento.

1.7.1 Aeróbios Mesófilos

Aeróbios mesófilos são todos micro-organismos que apresentam capacidade de se desenvolverem em temperaturas entre 20°C e 45°C, com crescimento ótimo em temperaturas entre 30°C e 40°C, em condições de aerobiose.

Esses micro-organismos indicam a qualidade com que o alimento foi obtido ou processado. Altas contagens indicam inadequados procedimentos higiênicos, de beneficiamento e/ou de conservação durante a produção. Indicam, inclusive, abusos no binômio tempo/temperatura no decorrer do armazenamento. Todas as bactérias patogênicas de origem alimentar são mesófilas, portanto, alta contagem de bactérias mesófilas aeróbias significa ocorrência de condições favoráveis à multiplicação dos mesmos (FRANCO; LANDGRAF, 2008; JAY; LOESSNER; GOLDEN, 2005).

1.7.2 Psicrotróficos

Psicrotróficos são micro-organismos que avaliam o grau de deterioração de alimentos mantidos sob refrigeração. Possuem temperatura ótima de crescimento acima de 20°C, mas são capazes de produzir crescimento visível a 7±1°C no prazo de 7 a 10 dias, independente de sua temperatura ótima (SILVA et al., 2010). Apresentam boa atividade enzimática e são favorecidos pela aeração (agitação) em baixas temperaturas (FRANCO; LANDGRAF, 2008).

1.7.3 Coliformes Totais

O grupo dos coliformes totais são micro-organismos que pertencem a um subgrupo da família *Enterobacteriaceae* e demonstram o nível de contaminação ambiental agregado. Apresentam a capacidade de fermentar lactose, produzindo ácido e gás quando incubadas a 35-37°C em 24 a 48 horas, com mais de 20 espécies que se encaixam nessa definição. Inclui espécies dentre as quais encontram-se tanto bactérias originadas do trato gastrointestinal de humanos e outros animais (*Escherichia coli*), como também espécies dos gêneros *Enterobacter*, *Citrobacter*, *Klebsiella* e *Serratia*, dentre outras, que possuem cepas de origem não entérica (FORSYTHE, 2002; FRANCO; LANDGRAF, 2008; SILVA et al., 2010).

1.7.4 *Escherichia Coli*

A *Escherichia coli* está incluída tanto no grupo dos coliformes totais quanto no dos termotolerantes, que é o grupo que possui capacidade de continuar fermentando lactose, com produção de gás, quando incubado a temperaturas de 44-45°C (FRANCO; LANDGRAF, 2008; SILVA et al., 2010).

É um micro-organismo indicador de contaminação fecal em alimentos *in natura*, indicando, com maior segurança, informações sobre as condições higiênicas do produto e da eventual presença de enteropatógenos, pois possui como *habitat* natural o trato intestinal de animais de sangue quente, embora também possa ser introduzida nos alimentos a partir de fontes não fecais. A presença de *E. coli* tem significado importante, uma vez que existem diversas

linhagens comprovadamente patogênicas para o homem e animais (FRANCO; LANDGRAF, 2008; SILVA et al., 2010).

1.7.5 *Staphylococcus aureus*

As bactérias do gênero *Staphylococcus* são cocos Gram positivos, pertencentes à família *Micrococcaceae*, anaeróbios facultativos e catalase positivos. A espécie *S. aureus* possui temperatura ótima de crescimento de 35 a 40°C e é a mais frequentemente associada às doenças estafilocócicas de origem alimentar (FRANCO; LANDGRAF, 2008; SILVA et al., 2010).

Os reservatórios naturais são os seres humanos e os animais de sangue quente. São habitantes usuais das membranas mucosas, trato respiratório superior, pele e cabelos. O *S. aureus* apresenta distribuição mundial e estima-se que 20 a 60% da população humana possa ser portadora da bactéria, sem apresentar qualquer tipo de doença. A intoxicação alimentar causada pela ingestão de enterotoxinas de *S. aureus* é uma das mais frequentes doenças de origem alimentar em todo o mundo (FRANCO; LANDGRAF, 2008; GERMANO; GERMANO, 2011; LE LOIR; BARON; GAUTIR, 2003; SILVA et al., 2010).

Staphylococcus aureus pode ser encontrado no solo, na água, no ar, no homem e nos animais. Os manipuladores de alimentos são considerados grande fonte de contaminação, pois o homem é o principal reservatório que, principalmente pela via nasal, propaga esse micro-organismo pelo ambiente. Quando os manipuladores falam, respiram, tosem ou espirram sobre os alimentos, ou trabalham com cortes, arranhões e feridas na pele, podem atuar como um veículo de contaminação (BERGDOLL; BENNETT, 1989; FRAZIER; WESTHOFF, 1993; GERMANO; GERMANO 2011; KLUYTMANS, 2010).

S. aureus não é resistente ao calor, sendo facilmente destruído na pasteurização. As toxinas, ao contrário, são altamente resistentes, suportando tratamentos térmicos severos. A presença de outros micro-organismos também é um ponto importante, pois os estafilococos são considerados mal competidores (LE LOIR; BARON; GAUTIR, 2003; FRANCO; LANDGRAF, 2008; JAY; LOESSNER; GOLDEN, 2005; SILVA et al., 2010).

Dada a capacidade das enterotoxinas de permanecerem sem desnaturar em temperaturas elevadas, a prevenção deve ser feita antes que o micro-organismo obtenha condições de produzi-la, porque uma vez no alimento, sua eliminação é muito difícil. Foi reportado que a dose infectante é de aproximadamente 200ng, sendo necessário uma contagem de células acima de 100.000 por grama de alimento (GERMANO; GERMANO, 2011).

Como, normalmente, o *S. aureus* encontra-se presente em números baixos nos alimentos, é preciso que ocorra condições para sua multiplicação. A refrigeração é uma excelente medida de controle e prevenção de intoxicações estafilocócicas, pois, quando aplicada de forma eficiente, inibe essa multiplicação (FRANCO; LANDGRAF, 2008).

1.7.6 Métodos Rápidos de Detecção de Micro-organismos Indicadores

Os métodos rápidos de análises de alimentos surgiram a partir da década de 90, em função da necessidade de abreviação do tempo necessário para a obtenção de resultados analíticos, melhorando a produtividade laboratorial (FRANCO; LANDGRAF, 2008).

Com a maior rapidez de obtenção dos resultados, facilita-se o controle e a tomada de ações corretivas nos processos produtivos de alimentos. Além da simplificação do trabalho e redução de tempo e custos, alguns métodos possuem maior sensibilidade e especificidade que os métodos convencionais (FORSYTHE, 2002; FRANCO; LANDGRAF, 2008).

1.7.6.1 O sistema *petrifilm*tm

O sistema *Petrifilm*TM é um método rápido, alternativo aos métodos de plaqueamento convencional. São sistemas prontos de meio de cultura, adequados à recuperação do micro-organismo pesquisado. Contém diversos tipos de nutrientes, géis hidrossolúveis a frio, corantes e indicadores. Esses componentes são impregnados nas camadas internas de dois filmes, o superior em polipropileno e o inferior em polietileno, que são sobrepostos e fixos apenas na extremidade superior, conferindo ao produto uma maior praticidade de manuseio. O método

*Petrifilm*TM é aprovado e validado por vários órgãos internacionais, como: APHA, AOAC International, USDA, USDA-FSIS, FDA, SAG – Secretaria Nacional de Agricultura do Chile, HPBM – *Health Protection Branch Methods* do Canadá, AFNOR – *Association Française de Normalisation* da França, entre outros (AOAC, 2008; 3M Company, St. Paul, MN, EUA). No Brasil, as Placas *Petrifilm*TM constituem um método oficial de contagem de microrganismos indicadores de contaminação, e são aprovadas pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento e pelo Ministério da Saúde.

O sistema *Petrifilm*TM AC, utilizado para enumeração de bactérias mesófilas, consiste de cartões quadriculados recobertos com nutrientes desidratados, um gel hidrossolúvel e um corante indicador cloreto de trifeniltetrazolium (TTC). O TTC é um corante amplamente utilizado em meios de cultura para enumeração de bactérias (3M Company, St. Paul, MN, EUA).

O sistema *Petrifilm*TM EC, utilizado para enumeração de coliformes totais e *E. coli*, é composto por VRBL (Vermelho Violeta Bile), ágar solúvel em água fria, o indicador cloreto de trifeniltetrazolium (TTC) e um substrato cromogênico para β -glucuronidase. Estes dois componentes facilitam a contagem e a distinção de coliformes totais e *E. coli*. A contagem e identificação de colônias para coliformes totais são evidenciadas pela presença de colônias vermelhas com gás associado. A *E. coli* é evidenciada pela presença de colônias azuis com gás associado (3M Company, St. Paul, MN, EUA).

O sistema *Petrifilm*TM STX contém os nutrientes Baird-Parker modificado, um agente gelificante solúvel em água e o disco reativo *Petrifilm*TM de nuclease termoestável, que contém DNA, azul de o-toluidina e um indicador de tetrazolium para facilitar a enumeração das colônias. São identificados por este método principalmente o *S. aureus* e, ocasionalmente, o *S. intermedius* e o *S. hyicus*. Há produção de reações típicas em função dessas espécies de *Staphylococcus* serem produtoras de termonuclease (3M Company, St. Paul, MN, EUA).

1.8 PROGRAMAS DE AUTOCONTROLE E INSPEÇÃO OFICIAL EM ESTABELECIMENTOS PRODUTORES DE OVOS E PRODUTOS DERIVADOS

A produção de alimentos seguros é cada vez mais importante em termos de saúde pública (WHO, 2007). Um alimento considerado seguro, é aquele em que constituintes ou contaminantes que causem perigo à saúde estejam ausentes ou abaixo dos limites de risco (FRANCO; LANDGRAF, 2008).

A forma mais eficiente de reduzir a contaminação e o crescimento microbiano em alimentos é estabelecer programas de segurança alimentar. Para isso, o setor privado vem aprimorando os sistemas de gerenciamento da qualidade, os chamados programas de autocontrole, que incluem as Boas Práticas de Fabricação (BPF), o Programa de Procedimentos Padrão de Higiene Operacional (PPHO), e, num contexto mais amplo, o Programa de Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle (APPCC) (BRASIL, 2009; FRANCO; LANDGRAF, 2008; JAY; LOESSNER; GOLDEN, 2005; UNNEVEHR; ROBERTS, 2002).

Os governos de todo mundo vem intensificando esforços para melhorar a segurança dos alimentos. Esses esforços vem ocorrendo em resposta ao aumento das preocupações e exigências dos consumidores, além dos crescentes problemas relacionados à segurança dos alimentos (WHO, 2007).

No Brasil, as Boas Práticas de Fabricação (BPF) e o sistema de Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle (APPCC) são de implantação obrigatória nas indústrias de produtos de origem animal sob Serviço de Inspeção Federal (SIF) desde o fim da década de 90 (BRASIL, 1997, 1998). Dessa forma, foi adotado um modelo de inspeção baseado em controles de processo, que se fundamenta na inspeção de todos os fatores que possam interferir na qualidade higiênico-sanitária dos produtos expostos ao consumo da população

Foram editados pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) a Circular Nº 175/2005/CGPE/DIPOA e a Circular Nº 176/2005/CGPE/DIPOA, ambas de 16/05/2005, definindo e implantando os *Elementos de Inspeção*, que são os procedimentos a serem adotados pela Inspeção Oficial para verificar a implantação e a manutenção dos Programas de Autocontrole dos estabelecimentos (BRASIL, 2005b, 2005c). A partir dessa legislação, foi editada a Circular Nº 004/2009/DICAO/CGI/DIPOA, de 01/10/2009, fornecendo as diretrizes

para aplicação das Circulares Nº 175/2005/CGPE/DIPOA e 176/2005/CGPE/DIPOA nos estabelecimentos produtores de ovos comerciais e produtos derivados, dispondo e padronizando os procedimentos de inspeção para esses estabelecimentos (BRASIL, 2009).

O processamento de ovos *in natura* compreende algumas etapas que são, basicamente: recepção, lavagem, ovoscopia, secagem, classificação, embalagem e expedição. Para produção do OIL, ocorrem ainda: a quebra, que pode ser manual ou automatizada e deve ser realizada em sala climatizada a uma temperatura máxima de 16°C; a filtragem; e, o armazenamento do produto, refrigerado ou congelado, até o envio à industrialização (BRASIL, 1990).

A Circular Nº 004/2009/DICAO/CGI/DIPOA, de 01/10/2009, define 16 Elementos de Inspeção, que são: Manutenção das instalações e equipamentos industriais; Vestiários e sanitários; Iluminação; Ventilação; Água de abastecimento; Águas residuais; Controle integrado de pragas; Limpeza e sanitização (PPHO); Higiene, hábitos higiênicos e saúde dos operários; Procedimentos Sanitários das Operações (PSO); Controle da matéria-prima, Ingredientes e material de embalagem; Controle de temperaturas; Calibração e aferição de instrumentos de controle de processo; APPCC – Avaliação do Programa de Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle; Testes microbiológicos; Certificação dos produtos exportados; e, Rastreabilidade (BRASIL, 2009).

Outro ponto a ser considerado são as boas práticas de produção de ovos que, do mesmo modo, são compulsórias e de suma importância porque visam a manutenção de adequado status sanitário das produções avícolas nacionais e garantem o fornecimento de uma matéria-prima segura (BRASIL, 2007, 2012).

Devem ser atendidos os requisitos preconizados na Instrução Normativa MAPA Nº 56, de 4 dezembro de 2007, atualizada pela Instrução Normativa MAPA Nº 36, de 6 de dezembro de 2012, que estabelecem os procedimentos para registro, fiscalização e controle de estabelecimentos avícolas de reprodução e comerciais (BRASIL, 2007, 2012), dentre outras regulamentações de interesse.

1.9 REFRIGERAÇÃO DO OVO INTEGRAL LÍQUIDO

Os alimentos se deterioram, aproximadamente, quatro vezes mais rápido a 10°C e duas vezes mais a 5°C e 0°C. Há alguns micro-organismos causadores de DTA que conseguem se desenvolver ou produzir toxinas em temperaturas de refrigeração, sendo que a maioria não é capaz de crescer em temperaturas abaixo de 4,4°C (FRANCO; LANDGRAF, 2008).

Nas condições favoráveis de crescimento, os micro-organismos presentes em um determinado ambiente iniciam sua multiplicação. O tempo de geração, em geral, é de cerca de 30 minutos para a maioria das espécies mesófilas de importância em microbiologia de alimentos. O processo de crescimento bacteriano se dá por divisão binária, o que significa que uma célula se divide em duas células e estas se dividem em quatro e assim sucessivamente, sendo este aumento expresso como uma progressão geométrica com razão 2 entre cada intervalo desse tempo (PELCZAR JR; CHAN; KRIEG, 1996).

O ovo integral líquido é um meio de cultura ideal para o crescimento microbiano, o que torna o rigoroso controle de sua temperatura extremamente importante (BOARD; FULLER, 1994). De maneira geral, as alterações físico-químicas que acarretam em perda da qualidade do ovo sofrem influência principalmente da temperatura. Assim, o resfriamento rápido do ovo e seus produtos torna-se imprescindível (FRANCO; LANDGRAF, 2008; GAST, 2005; STADELMAN; COTTERILL, 1995).

Segundo a legislação brasileira (BRASIL, 1990), após a quebra, o processamento (pasteurização e/ou desidratação) deve iniciar-se o mais rapidamente possível, para impedir a deterioração do produto.

Apesar da legislação brasileira não permitir a armazenagem ou retenção de produtos líquidos de ovos em temperaturas superiores a 7°C, o período máximo de 72 horas de armazenamento do OIL e o intervalo da temperatura de 2° a 5°C, são apenas recomendados, e não determinados pela legislação (BRASIL, 1990).

Esses fatores são importantes gargalos da cadeia de processamento de ovos, superficialmente abordados pela legislação. Também apresenta-se de

forma superficial a determinação de que após a quebra, o processamento deve iniciar-se o mais rapidamente possível (BRASIL, 1990).

Esse armazenamento sob refrigeração, realizado nas Granjas Avícolas que realizam quebra de ovos e nos Entrepósitos de Ovos que não possuem dependências de industrialização, ocorre até o recolhimento pelas indústrias em caminhões isotérmicos ou refrigerados. Nas Fábricas de Conserva de Ovos e Entrepósitos de Ovos devidamente equipados, o armazenamento é realizado até o início da industrialização do OIL obtido da quebra no próprio estabelecimento ou recolhido de outros estabelecimentos registrados.

O método mais comum do armazenamento sob refrigeração é em câmaras de resfriamento, sendo que vem se ampliando a utilização de tanques de expansão para esse fim.

1.9.1 Câmara de Resfriamento

Normalmente, no armazenamento em câmaras de resfriamento, o OIL é fracionado em baldes, usualmente de 18 litros, revestidos com plástico polietileno. Esses baldes são recolhidos pelas indústrias em caminhões-baú isotérmicos ou refrigerados.

No caso de Fábricas de Conservas e Entrepósitos de Ovos equipados para industrialização, os baldes com OIL oriundo da quebra realizada no próprio estabelecimento, ou recolhido de outros estabelecimentos registrados nos órgãos oficiais, são mantidos na câmara de resfriamento até o início da industrialização.

A legislação (BRASIL, 1990) faz uma série de exigências sobre as câmaras e instalações frigoríficas em geral, como: os recipientes, tal como os baldes descritos, devem ser dispostos de maneira que permitam a circulação do ar entre eles na câmara; a altura mínima do pé-direito deve ser de 2,5 metros; devem ser arredondados os ângulos formados pelas paredes entre si e por estas com o piso; as águas residuais devem escoar preferentemente por desnível, até as canaletas ou ralos sifonados existentes nas dependências contíguas às câmaras; ter capacidade compatível com a produção de ovos e derivados do estabelecimento; ser localizado em posição estratégica às dependências de industrialização e/ou expedição; possuir

paredes de fácil higienização e resistentes à impactos; contar com sistema de iluminação do tipo luz fria, com protetores à prova de estilhaçamento; deter termômetros, para registro das temperaturas, com leitura para o exterior da câmara.

As figuras 2 e 3 mostram o OIL armazenado em uma câmara de resfriamento de uma Fábrica de Conserva de Ovos.

Figura 2 – Visão geral da parte interna de uma câmara de resfriamento, com armazenamento de ovo integral líquido em baldes de 18 litros revestidos de plástico polietileno, em novembro de 2012, em uma Fábrica de Conservas localizada na região de Bastos-SP.



Fonte: Elaboração do autor.

Figura 3 – Disposição dos recipientes contendo ovo integral líquido durante armazenamento em uma câmara de resfriamento, em novembro de 2012, em uma Fábrica de Conservas localizada na região de Bastos-SP.



Fonte: Elaboração do autor.

1.9.2 Tanque de Expansão

O tanque de expansão é de fácil alocação e simplifica o transporte do produto para as indústrias. Atualmente, vem se ampliando a sua utilização para armazenamento do OIL resfriado, como alternativa às câmaras de resfriamento, em Granjas Avícolas e Entrepósitos de Ovos que não possuem dependências de industrialização. O produto é recolhido pelas indústrias em caminhões-tanque isotérmicos ou refrigerados.

A legislação não dispõe claramente sobre a utilização de tanques de expansão, sendo que a sua utilização é permitida caso a caso, mediante autorização prévia do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), não sendo obrigatória sua utilização.

Durante o armazenamento do OIL, o tanque de expansão faz homogeneização da amostra e cada quebra de ovos é misturada ao total, ao longo de 72 horas ou até o envio ao processamento. Além do termômetro com leitura externa ao equipamento, as temperaturas são apresentadas em *software* que demonstra todos os registros em planilhas e gráficos.

Porém, não há estudos sobre a eficiência deste equipamento no controle do crescimento de micro-organismos que afetam a qualidade do ovo integral líquido armazenado.

As figuras 4 e 5 mostram um tanque de expansão em uma Granja Avícola.

Figura 4 – Visão geral de um tanque de expansão para armazenamento de ovo integral líquido, em novembro de 2012, em uma Granja Avícola localizada na região de Bastos-SP.



Fonte: Elaboração do autor.

Figura 5 – Interior de um tanque de expansão com armazenamento de ovo integral líquido, em novembro de 2012, em uma Granja Avícola localizada na região de Bastos-SP.



Fonte: Elaboração do autor.

REFERÊNCIAS

AOAC – AOAC INTERNATIONAL. **Rapid Methods Adopted as AOAC Official Methods**. Disponível em: <http://www.aoac.org/vmeth/OMA_TestKits_List.pdf>. Acesso em: 11 dez. 2012.

AMERICAN EGG BOARD. **All About Egg Products**. 2012. Disponível em: <<http://www.aeb.org/food-manufacturers/all-about-egg-products>>. Acesso em: 20 nov. 2012.

ARAGON-ALEGRO L.C.; SOUZA, K.L.O.; COSTA SOBRINHO, P.S; LANDGRAF, M.; DESTRO, M.T. Avaliação da qualidade microbiológica de ovo integral pasteurizado produzido com e sem a etapa de lavagem no processamento. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.25, n.3, p.618-622, jul.- set. 2005.

BARON, F.; BRIANDET, R.; LESNE, J.; HUMBERT, F.; ABLAIN, W.; GAUTIER, M. Influence of a nonfavorable environment, egg white, on resistance to heat and disinfectant, adhesion, and virulence of *Salmonella Enteritidis*. **Journal of Food Protection**, Des Moines, v.67, n.10, p.2269-2273, out. 2004.

BAZHAL, M. I.; NGADI, M. O.; RAGHAVAN, G. S. V.; SMITH, J. P. Inactivation of *Escherichia coli* O157:H7 in liquid whole egg using combined pulsed electric field and thermal treatments - LWT. **Food Science and Technology**, London, v.39, n.4, p.420–426, maio 2006.

BELL, C.; KYRIAKIDES, A. **Salmonella – a practical approach to the organism and its control in foods**. Oxford: Blackwell Science, 2002. 336p.

BERGDOLL, M.S.; BENNETT, R.W. Staphylococcal enterotoxins. In: VANDERZANT, C.; SPLITTOESSER, D.F. **Compendium of methods for the microbiological examination of foods**. 2 ed. Washington: American Public Health Association, 1989. p.428-457.

BOARD, R.G.; FULLER, R. **Microbiology of the Avian Egg**. Londres: Chapman & Hall, 1994. 181p.

BOARD, R.G.; LOSEBY, S.; MILES, V. R. A note on microbial growth on hen egg shells. **British Poultry Science**, Edinburgh, v.20, n.2, p.413-420, jul.1979.

BOARD, R.G. Review Article: The course of microbial infection of the hen's egg. **Journal of Applied Microbiology**, Oxford, v.29, n.2, p.319-341, ago.1966.

BOARD, R.G.; SPARKS, N. H. C.; TRANTER, H.S. Antimicrobial defense of avian eggs. In: GOULD, G.W.; RHODES-ROBERTS, M.E. **Natural antimicrobial systems**. Bath: Bath University Press, 1986. p. 82-96.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 36, de 06 de dezembro de 2012. Altera a Instrução Normativa nº 56, de 04 de dezembro de 2007. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, seção 1, p.25-26, 07 dez. 2012.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Coordenação Geral de Doenças Transmissíveis. Unidade Técnica de Doenças de Veiculação Hídrica e Alimentar. **Dados Epidemiológicos - DTA período de 2000 a 2011**. Disponível

em: <http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/dados_dta_periodo_2000_2011_sit e.pdf>. Acesso em: 04 dez. 2012.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. **Manual integrado de vigilância, prevenção e controle de doenças transmitidas por alimentos**. Brasília: Editora do Ministério da Saúde, 2010. Disponível em:

<http://portal.saude.gov.br/portal/saude/profissional/area.cfm?id_area=1550>. Acesso em: 03 dez. 2012.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Circular Nº 004/2009/DICAO/CGI/DIPOA de 01 de outubro de 2009. **Diretrizes para aplicação das Circulares nº 175/2005/CGPE/DIPOA e 176/2005/CGPE/DIPOA nos estabelecimentos produtores de ovos comerciais e produtos derivados**. Brasília, 2009. Disponível em: <www.agricultura.gov.br>. Acesso em: 21 nov. 2012

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 56, de 04 de dezembro de 2007. Procedimentos para registro, fiscalização e controle de estabelecimentos avícolas de reprodução ecomerciais. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, seção 1, p.11, 06 dez. 2007.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Circular Nº 175/2005/CGPE/DIPOA de 16 de maio de 2005. **Procedimentos de Verificação dos Programas de Autocontrole**. Brasília, 2005b. Disponível em: <www.agricultura.gov.br>. Acesso em: 21 nov. 2012.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Circular Nº 176/2005/CGPE/DIPOA de 16 de maio de 2005. **Modificação das Instruções para a verificação do PPHO, encaminhados pela Circular Nº 201/97 DCI/DIPOA e aplicação dos procedimentos de verificação dos Elementos de Inspeção previstos na Circular Nº 175/2005/CGPE/DIPOA**. Brasília, 2005c. Disponível em: <www.agricultura.gov.br>. Acesso em: 21 nov. 2012.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Boletim eletrônico epidemiológico**: Vigilância epidemiológica das doenças transmitidas por alimentos no Brasil, 1999 – 2004. Ano 5, n.6, 28 dez. 2005a. Disponível em: <http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/ano05_n06_ve_dta_brasil.pdf>. Acesso em: 03 dez. 2012.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 62, de 26 de agosto de 2003. Oficializa os Métodos Analíticos Oficiais para Análises Microbiológicas para Controle de Produtos de Origem Animal e Água. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, seção 1, p.14, 18 set. 2003.

BRASIL. Ministério da Saúde. Resolução RDC nº 12, de 02 de janeiro de 2001. Regulamento técnico sobre os padrões microbiológicos para alimentos. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, seção 1, p.1-54, 10 jan. 2001.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Portaria nº 46 de 10 de fevereiro de 1998. Institui o Sistema de Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle - APPCC. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, seção 1, p.24, 16 mar. 1998.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Portaria nº 368, de 04 de setembro de 1997. Regulamento Técnico sobre as condições Higiénico-Sanitárias e de Boas Práticas de Fabricação para Estabelecimentos Elaboradores/Industrializadores de Alimentos. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, seção 1, p.19697, 08 set. 1997.

BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Resolução nº 005, de 05 de julho de 1991. **Padrão de Identidade e Qualidade para o Ovo Integral**. Brasília, 1991. Disponível em: <www.agricultura.gov.br>. Acesso em: 21 nov. 2012.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Portaria nº 01, de 21 de fevereiro de 1990. Normas Gerais de Inspeção de Ovos e Derivados. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, seção 1, p.4321, 06 mar. 1990.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Decreto nº 56.585, de 20 de julho de 1965. Aprova as novas especificações para a classificação e fiscalização do ovo. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, seção 1, p.6954, 22 jul. 1965.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Decreto nº 30.691, de 29 de março de 1952, e alterações. Regulamento de Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal (RIISPOA). **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Rio de Janeiro, seção 1, p.10-785, 7 jul. 1952.

CALLAWAY, T.R.; EDRINGTON, T. S.; ANDERSON, R. C.; BYRD, J. A.; NISBET, D. J. Gastrointestinal microbial ecology and the safety of our food supply as related to *Salmonella*. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.86, n.14, p.163–172, abr. 2008.

CONY, H. C. **Métodos de desinfecção e princípios ativos desinfetantes e a contaminação, mortalidade embrionária e eclodibilidade de ovos e embriões de aves**. 2007. 88 p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2007.

COX, J.M.; PAVIC, A. Advances in enteropathogen control in poultry production. **Journal of Applied Microbiology**, Oxford, v.108, n.3, p.745–755, mar. 2010.

DAVIES, R. H.; BRESLIN, M. Investigation of *Salmonella* contamination and disinfection in farm egg-packing plants. **Journal of Applied Microbiology**, Oxford, v.94, n.2, p.191-196, fev. 2003.

DIAS, A.P.; AJZENTAL, A.; CALIL, R.M. Avaliação da microbiota pré e pós-pasteurização do ovo integral líquido. **Higiene alimentar**, São Paulo, v.16, n.100, p.127-133, set. 2002.

DIRETIVA DO CONSELHO DAS COMUNIDADES EUROPEIAS (89/437/CEE). **Relativa aos problemas de ordem higiênica e sanitária respeitantes à produção e à colocação no mercado dos ovoprodutos**. Jornal Oficial das Comunidades Europeias, p.87, 20 de jun. 1989.

EMBRAPA. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - Central de Inteligência da Embrapa Suínos e Aves. **Anuário estatístico – avicultura**. Concórdia, out. 2011. Disponível em: <<http://www.cnpsa.embrapa.br>>. Acesso em: 07 jan.2013.

FARIA, D. E. ; FARIA FILHO, D. E.; RIZZO, M. F. Interação nutrição e qualidade de ovos para processamento industrial. In: COLÉGIO BRASILEIRO DE NUTRIÇÃO ANIMAL. SIMPÓSIO SOBRE MANEJO E NUTRIÇÃO DE AVES E SUÍNOS E TECNOLOGIA DA PRODUÇÃO DE RAÇÕES, 2002, Campinas. **Anais...** Campinas: Colégio Brasileiro de Nutrição Animal (CBNA), 2002. p.191-216.

FERREIRA, M.; HOFER, C.; RAEMY, A. A calorimetric study of egg white proteins. **Journal of thermal analysis**, Dordrecht, v.48, n.3, p.683-690, mar. 1997

FORSYTHE, S. J. **Microbiologia da Segurança Alimentar**. Porto Alegre: Artmed, 2002. 424p.

FRANCO, B.D.G.M.; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos alimentos**. 2. ed. São Paulo: Atheneu, 2008. 182p.

FRAZIER, W. C.; WESTHOFF, D. C. **Microbiologia de los alimentos**. 4. ed. Zaragoza: Acribia, 1993.

FSIS-USDA. Food Safety and Inspection Service-United States Department of Agriculture. **Food Safety Information - Egg Products and Food Safety**. 2011. Disponível em: <http://www.fsis.usda.gov/PDF/Egg_Products_and_Food_Safety.pdf>. Acesso em: 20 nov. 2012.

FSIS-USDA. Food Safety and Inspection Service-United States Department of Agriculture. **Nationwide raw liquid eggs microbiological baseline data collection program** - Study design and sampling frame for technical consultation. 2012. Disponível em: <http://www.fsis.usda.gov/PDF/Baseline_Data_Liquid_Eggs_Study_Design_508.pdf> Acesso em: 25 nov. 2012.

GAST, R. K. Bacterial infection of eggs. In: MEAD, G.C. **Food safety control in the poultry industry**. Boca Raton: CRC Press, p. 1-20, ago. 2005.

GEORGIA EGG COMISSION. **Egg Products**. 2012. Disponível em: <<http://www.georgiaeggs.org/pages/eggproducts.html>>. Acesso em: 20 nov.2012.

GERMANO, P.M.L.; GERMANO, M.I.S. **Higiene e Vigilância Sanitária de Alimentos**. 4 ed. Barueri: Manole, 2011. 1046 p.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Estatística da Produção Pecuária**. Brasília, set. 2012. Disponível em: <www.ibge.gov.br>. Acesso em: 24 nov. 2012.

ICMSF. International commission on microbiological specifications for foods. Eggs and egg products. In: **Microorganisms in Foods 6: Microbial ecology of food commodities**. New York: Kluwer Academic/Plenum Publishers, 2005. p.597–632.

JAY, J.M.; LOESSNER, M.J.; GOLDEN, D.A. **Modern food microbiology**. 7.ed. New York: Springer, 2005, 790 p.

KLUYTMANS, J.A. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in food products: cause for concern or case for complacency? **Clinical Microbiology and Infection**, Oxford, v.16, n.1, p.11-15, jan. 2010.

LEAL, D. **Práticas adotadas pelo consumidor na compra e utilização do ovo na alimentação**. 2011. 115 p. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2011.

LEE, D. U.; HEINZ, V.; KNORR, D. Biphasic inactivation kinetics of *Escherichia coli* in liquid whole egg by high hydrostatic pressure treatments. **Biotechnology Progress**, New York, v.17, p.1020–1025, jan. 2001.

LE LOIR, Y.; BARON, F.; GAUTIR, M. *Staphylococcus aureus* and food poisoning. **Genetics and Molecular Research**, Ribeirão Preto, v.2, n.1, p.63-76, 2003.

McNAMARA, D. J. Being positive about eggs. In: PROCEEDINGS OF THE NATIONAL EGG QUALITY SCHOOL, 2003, Raleigh. **Anais...** Raleigh: North Carolina State Univeristy, 2003. p.230-245.

MINE, Y. Recent advances in the understanding of egg white protein functionally. **Trends in Food Science and Technology**, Amsterdam, v.6, n.7, p.225- 232, jul.1995.

MINTZ, E. D.; CARTTER, M. L.; HADLER, J. L.; WASELL, J. T.; ZINGESER, J. A.; TAUXE, R. V. Dose-response effects in an outbreak of *Salmonella enteritidis*. **Epidemiology and Infection**, Cambridge, v.112, n.1, p.13-23, fev. 1994.

3M – 3M MICROBIOLOGY US. **Microbiology**: interpretation guide of plate. St. Paul, MN, USA: 2005. (Catalogue)

MUSGROVE, M.T. **Effects of processing on the microbiology of commercial shell eggs**. 2004. 120 p. Tese (Doutorado em Filosofia) - University of Georgia, Athens, 2004.

OLIVEIRA, D.D. e SILVA, E.N. Salmonela 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, dez. 2000.

PASTORE, S.M.; OLIVEIRA, W.P.; NETO, A.R.O.; ALBINO, L.F.T. Ovos Processados: produtos e mercado – revisão. **Revista Eletrônica Nutritime**. Viçosa,

v.8, n.2, p.1499-1508, mar./abr. 2011. Disponível em: <<http://www.nutritime.com.br>>. Acesso em: 07 jan. 2013.

PELCZAR JR, M. J.; CHAN, E.C., KRIEG, N. R. **Microbiologia**: conceitos e aplicações. 2 ed. São Paulo: Makron Books, 1996. 517p.

PIZZOLANTE, C. C. O ovo e o mito do colesterol! **Pesquisa & Tecnologia**. Campinas, v.9, n.1, p.1-8, jan.- jun. 2012.

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

RÊGO, I.O.P.; CANÇADO, S.V.; FIGUEIREDO, T.C.; MENEZES, L.D.M.; OLIVEIRA, D.D.; LIMA, A.L.; CALDEIRA, L.G.M.; ESSER, L.R. Influência do período de armazenamento na qualidade do ovo integral pasteurizado refrigerado. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v.64, n.3, p.735-742, mar. 2012.

RICKE, S. C.; BIRKHOFF, S. G.; GAST, R. K. Eggs and Egg Products. In: **Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods**. 4 ed. Washington: American Public Health Association (APHA), 2001. p.473-481.

RODRIGUES, K.R.M.; SALAY, E. Atitudes de granjeiros, atacadistas, varejistas e consumidores em relação à qualidade sanitária do ovo de galinha *in natura*. **Revista de Nutrição**, Campinas, v.14, n.3, p.185-193, set./dez. 2001.

ROMANOFF, A. L.; ROMANOFF, A. J. **The avian egg**. 2 ed. New York: John Wiley & Sons, 1963. 918 p.

SCALLAN, E.; HOEKSTRA, R., M.; ANGULO, F., J.; TAUXE, R., V.; WIDDOWSON, M, A.; ROY, S., L.; JONES, J., L.; GRIFFI, P. M. Foodborne Illness Acquired in the United States—Major Pathogens. **Emerging Infectious Diseases**. Atlanta, v.17, n.1, p.7-15, jan. 2011. Disponível em: <<http://wwwnc.cdc.gov/eid/article/17/1/pdfs/p1-1101.pdf>>. Acesso em: 04 dez. 2012.

SEIBEL, N. F. Preservação e conservação de ovos. In: SOUZA-SOARES, L. A.; SIEWERDT, F. **Aves e ovos**. Pelotas: Editora e Gráfica Universitária, 2005. p.91-109.

SILVA JR, E.A. **Manual de controle higiênico-sanitário em serviços de alimentação**. 6 ed. São Paulo: Varela, 2007. 623p.

SILVA, N.; JUNQUEIRA, V. C. A.; SILVEIRA, N. F. A.; TANIWAKI, M. H.; SANTOS, R. F. S.; GOMES, R. A. R. **Manual de Métodos de Análise Microbiológica de Alimentos e Água**. 4 ed. São Paulo: Varela, 2010. 632 p.

SPARKS, N. H. C.; BOARD, R. G. Cuticle, shell porosity and water uptake through hens' eggshells. **British Poultry Science**, Edinburgh, v.25, n.2, p.267-276, abr. 1984.

STADELMAN, W. J.; COTTERILL, O. J. **Egg science and Technology**. 4. ed. New York : The Haworth Press, 1995. 591p.

TERRA, C. Ovo, a proteína do 3º milênio. In: CONGRESSO DE PRODUÇÃO E CONSUMO DE OVOS, 1999, São Paulo. **Anais...** São Paulo: Associação Paulista de Avicultura, 1999. p.8-9.

TESEDO, J.; BARRADO, E; SANZ, M.A.; TESEDO, A.; ROSA, F. D. L. Fatty Acid Profiles of Processed Chicken Egg Yolks. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v.54, n.17, p.6255 - 6260, jul. 2006.

WANG, H.; SLAVIK, M. Bacterial penetration into eggs washed with various chemicals and stored at different temperatures and times. **Journal of Food Protection**, Des Moines, v.61, n.3, p.276- 279, mar. 1998.

WATT EXECUTIVE GUIDE TO WORLD POULTRY TRENDS. **The statistical references for poultry executives**. Rockford, out. 2011. Disponível em: <<http://www.vniipp.ru/EG2011.pdf> >. Acesso em: 24 nov. 2012.

WHO. World Health Organization. **Foodborne diseases**. 2012. Disponível em: <http://www.who.int/topics/foodborne_diseases/en/>. Acesso em: 04 dez. 2012.

WHO. World Health Organization. **Food safety and foodborne illness**. Fact sheet N° 237, mar. 2007. Disponível em: <<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs237/en/> >. Acesso em: 04 dez. 2012.

UBABEF. União Brasileira de Avicultura. In: ENCONTRO DE AVICULTORES DO ESTADO DE SÃO PAULO. JORNADA TÉCNICA. FESTA DO OVO, 38. 35. 53. 2012, Bastos. **Anais...** Bastos: Sindicato Rural de Bastos, 2012. p65.

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS. **Tabela Brasileira de Composição de Alimentos**. 4 ed. Campinas: NEPA/UNICAMP, 2011. 161p.

UNNEVEHR, L.; ROBERTS, T. Food safety incentives in a changing world food system. **Food Control**, Vurrey, v.13, n. 2, p.73-76, mar. 2002.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar a evolução da microbiota presente no ovo integral líquido (OIL) e a eficiência da câmara de resfriamento e do tanque de expansão como métodos de conservação desse produto.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Analisar a qualidade microbiológica do OIL antes e após a conservação em câmaras de resfriamento e tanques de expansão, fundamentando-se nos parâmetros legais.
- Verificar a eficiência de câmaras de resfriamento e tanques de expansão no controle do crescimento microbiano do OIL. Enumerar os micro-organismos aeróbios mesófilos, psicrotróficos, coliformes totais, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* e pesquisar a presença de *Salmonella* spp. no produto, com 0, 24, 48 e 72 horas de armazenamento.

ARTIGO PARA PUBLICAÇÃO

**EVOLUÇÃO DA MICROBIOTA DO OVO INTEGRAL LÍQUIDO ARMAZENADO EM
CÂMARAS DE RESFRIAMENTO E TANQUES DE EXPANSÃO**

EVOLUÇÃO DA MICROBIOTA DO OVO INTEGRAL LÍQUIDO ARMAZENADO EM CÂMARAS DE RESFRIAMENTO E TANQUES DE EXPANSÃO

RESUMO: O presente estudo teve por objetivo avaliar a evolução da microbiota do ovo integral líquido (OIL) armazenado em câmaras de resfriamento e tanques de expansão, verificando a eficiência desses métodos de conservação. Foram obtidas 144 amostras, sendo 72 provenientes de três propriedades com armazenamento de OIL em tanques de expansão e 72 de três propriedades com armazenamento de OIL em câmaras de resfriamento. Foi pesquisada a presença de *Salmonella* spp. e quantificados os micro-organismos aeróbios mesófilos, psicotróficos, coliformes totais, *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*, acompanhando a evolução desses micro-organismos entre os intervalos de tempo de 0, 24, 48 e 72 horas, sob temperaturas entre 2° e 5°C. Constatou-se que no OIL estudado, tanto as câmaras de resfriamento quanto os tanques de expansão foram eficientes no controle da evolução dos micro-organismos quantificados, exceto no controle dos psicotróficos. O OIL avaliado revelou grande contaminação advinda do processo de produção e quebra que antecede a refrigeração. A presença de *Salmonella* spp. foi constatada em 36 (75%) das amostras analisadas. Em ambos os tipos de conservação, observou-se contagens iniciais acima dos padrões estabelecidos pela legislação para micro-organismos aeróbios mesófilos, *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*. As contagens de micro-organismos psicotróficos e coliformes totais não possuem parâmetros legais, mas, utilizando-se o padrão para aeróbios mesófilos, também foram elevadas. Quando comparado a população microbiana do OIL nos dois tipos de armazenamento, a contaminação total e a de origem fecal foram mais elevadas em câmaras de resfriamento e em tanques de expansão, respectivamente.

Palavras-chave: Legislação ovos. Parâmetros microbiológicos. Refrigeração. Qualidade ovos.

MICROBIOTA EVOLUTION OF THE LIQUID WHOLE EGG STORED IN COOLING CHAMBERS AND EXPANSION TANKS

ABSTRACT: The present study aimed to evaluate the microbiota evolution of the liquid whole egg (LWE) stored in cooling chambers and expansion tanks, verifying the efficiency of these methods of conservation. For this, 144 samples were obtained, 72 from three establishments that store LWE in cooling chambers and 72 from three with expansion tanks. Was researched the presence of *Salmonella* spp. and quantified the microorganisms mesophilic aerobes, psychrotrophs, total coliforms, *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*, accompanying the evolution of these microorganisms between the time intervals of 0, 24, 48 and 72 hours under the temperature range of 2° to 5°C. It was observed that in the LWE studied, cooling chambers and expansion tanks were effective in controlling the evolution of the quantified microorganisms, except in the growth of psychrotrophs. The LWE evaluated revealed large contamination originating from the production process and egg breaking that precedes refrigeration. The presence of *Salmonella* spp. was observed in 36 (75 %) of the samples. In both conservation methods, there were initial counts above the limits established for mesophilic aerobes, *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. The enumeration of psychrotrophs and total coliforms lack legal parameters, but when confronted with the limits established for mesophilic aerobes, were also elevated. When compared the enumeration differences between the microorganisms studied in the LWE from the cooling chambers and expansion tanks, the results showed greater total contamination in the LWE stored in cooling chambers and greater fecal contamination in this product stored in expansion tanks.

Key words: Eggs legislation. Microbiological parameters. Refrigeration. Egg quality.

1 INTRODUÇÃO

Ovo integral líquido (OIL), ou simplesmente ovo integral, é o produto obtido da quebra de ovos, desprovido de casca, homogeneizado e que contém as mesmas proporções de clara e gema de um ovo *in natura* (BRASIL, 1990, 1991).

O OIL é um produto cru, que pode ser resfriado ou congelado. Ao ser processado, sua nomenclatura deve ser acrescentada pelo tipo de tratamento industrial ao qual foi submetido, resultando nos produtos: OIL pasteurizado resfriado, OIL pasteurizado congelado ou ovo integral desidratado (BRASIL, 1990, 1991).

Por ser um produto rico em nutrientes e de alta digestibilidade, o OIL demanda rigorosos cuidados durante toda a sua cadeia produtiva, pois pode ser usado como excelente meio de cultura para crescimento de micro-organismos (BOARD; FULLER, 1994; ICMSF, 2005; SEIBEL, 2005).

O elevado número inicial de micro-organismos no ovo integral líquido pode causar modificações físico-químicas e sensoriais que limitam sua durabilidade, além do aumento da possibilidade de sobrevivência desses micro-organismos após a pasteurização, ocasionando diminuição da vida útil dos produtos acabados e aumento do risco de transmissão de doenças (DIAS; AJZENTAL; CALIL, 2002; FRANCO; LANDGRAF, 2008; GAST, 2005; JAY; LOESSNER; GOLDEN, 2005).

O OIL pasteurizado é utilizado na fabricação de vários alimentos como pães, sorvetes, maioneses, produtos de confeitaria, embutidos e massas (BARON et al., 2004; FSIS-USDA, 2011; GEORGIA EGG COMMISSION, 2012).

O ovo destinado à quebra para obtenção do OIL que será enviado à industrialização deve apresentar conteúdo com qualidade para uso comestível, sendo que a casca deve estar íntegra e livre de sujeira aderente e material estranho. O OIL deve ainda, atender aos seguintes padrões microbiológicos: contagem máxima de $5,0 \times 10^4$ UFC/g para aeróbios mesófilos e ausência em 1 g para coliformes fecais, *Salmonella* spp. e *Staphylococcus aureus* (BRASIL 1952, 1965, 1990, 1991).

No entanto, a legislação prevê exceções para a integridade dos ovos que podem ser destinados à quebra para obtenção do OIL. Os ovos trincados, com fenda, quebra e rompimento da membrana da casca (testácea), podem ser utilizados para processamento normal, desde que apresentem a gema intacta e não aderente à casca, com o conteúdo não exsudando através da mesma. Também podem ser processados os ovos que não apresentem as características mínimas exigidas para as diversas classes e tipos estabelecidos pela legislação (BRASIL 1952, 1965, 1990).

Esses ovos destinados à quebra para obtenção do OIL são mais passíveis de contaminação, tornando o produto mais susceptível à deterioração por micro-organismos (RÊGO et al., 2012).

Dessa forma, após a quebra, o processamento (pasteurização e/ou desidratação) deve iniciar-se o mais rapidamente possível, para impedir a deterioração do produto (BRASIL, 1990).

Apesar da legislação brasileira não permitir a armazenagem ou retenção de produtos líquidos de ovos em temperaturas superiores a 7°C, o período

máximo de armazenamento do OIL de 72 horas e a temperatura entre 2° e 5°C são apenas recomendados, e não determinados pela legislação (BRASIL, 1990).

Esses fatores são importantes gargalos da cadeia de processamento de ovos, superficialmente abordados pela legislação. Também apresenta-se de forma superficial a determinação de que após a quebra, o processamento deve iniciar-se o mais rapidamente possível (BRASIL, 1990). Board e Fuller (1994) descreveram que em função de o OIL ser um meio de cultura ideal para o crescimento microbiano, o rigoroso controle de sua temperatura é extremamente importante.

Para o armazenamento do OIL até o momento do processamento, normalmente são utilizadas câmaras de resfriamento, onde o OIL é fracionado em baldes, usualmente de 18 litros, revestidos com plástico polietileno. Esses baldes são recolhidos pelas indústrias em caminhões-baú isotérmicos ou refrigerados.

Atualmente, vem se ampliando a utilização de tanques de expansão para armazenamento do OIL resfriado, como alternativa às câmaras de resfriamento, em Granjas Avícolas e Entrepósitos de Ovos que não possuem dependências de industrialização. O produto é recolhido pelas indústrias em caminhões-tanque isotérmicos ou refrigerados.

A legislação não dispõe claramente sobre a utilização de tanques de expansão, sendo que a sua utilização é permitida caso a caso, mediante autorização prévia do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), não sendo obrigatória sua utilização.

O tanque de expansão é de fácil alocação e simplifica o transporte do produto para as indústrias, porém, não há estudos sobre a eficiência deste equipamento no controle do crescimento de micro-organismos que afetam a qualidade do produto.

A câmara de resfriamento e o tanque de expansão possuem condições diferentes de armazenamento do OIL. Enquanto a câmara armazena estaticamente cada balde, o tanque de expansão recebe o produto de várias quebras ao longo de 72 horas, e o produto é homogeneizado constantemente.

Diante da escassez de estudos nacionais sobre o OIL, o presente trabalho teve por objetivo avaliar a evolução da microbiota antes e após seu armazenamento em câmaras de resfriamento e tanques de expansão. Para isso, foi

pesquisada a presença de *Salmonella* spp. e quantificado os micro-organismos aeróbios mesófilos, psicrotróficos, coliformes totais, *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 AMOSTRAS

Amostras de OIL foram obtidas em três Granjas Avícolas, que processavam exclusivamente a produção do próprio estabelecimento, com quebra manual de ovos e armazenamento do OIL em tanques de expansão. Foram também coletadas amostras em três estabelecimentos, dois Entrepósitos de Ovos e uma Fábrica de Conserva de Ovos, com armazenamento em câmaras de resfriamento, sendo que desses, dois realizavam quebra automatizada e um quebra manual de ovos. Todos os estabelecimentos localizam-se na região de Bastos-SP.

2.2 AMOSTRAGEM

As amostras foram coletadas em três alíquotas de 250 mL, utilizando sacos plásticos estéreis, nos intervalos de tempo de 0, 24, 48 e 72 horas de armazenamento do OIL. Foi analisado um total de 144 amostras, sendo 72 de OIL proveniente de tanques de expansão e 72 de OIL proveniente de câmaras de resfriamento. As amostras foram coletadas em duas repetições, em cada estabelecimento. A primeira entre abril e maio e a segunda entre outubro e novembro de 2012.

As temperaturas das amostras foram aferidas com termômetro digital calibrado e registradas no momento das coletas, além de verificados os controles de temperatura realizados pelos estabelecimentos. As amostras foram encaminhadas sob refrigeração e processadas no laboratório do Instituto Biológico - Unidade de Pesquisa e Desenvolvimento de Bastos.

2.3 Análises Microbiológicas

2.3.1 Micro-organismos Indicadores de Qualidade

As contagens de micro-organismos aeróbios mesófilos foram executadas utilizando o sistema *Petrifilm*TM AC da marca 3MTM (St. Paul, MN, USA) com incubação a 35±1°C por 48±2h.

As contagens de coliformes totais e *Escherichia coli* foram executadas utilizando o sistema *Petrifilm*TM EC da marca 3MTM (St. Paul, MN, USA), com incubação a 35±1°C por 24±2h e repetição das contagens de *E. coli* com 48±2h.

As contagens de *Staphylococcus aureus* foram executadas utilizando o sistema *Petrifilm*TM STX da marca 3MTM (St. Paul, MN, USA), com incubação a 35±1°C por 24±2h. Quando necessário, foram inseridos os discos *Petrifilm*TM Staph Express e realizado nova incubação a 35±1°C por 3h.

A contagem de micro-organismos psicrotópicos foi executada em duplicata, com inoculação em superfície utilizando Ágar Padrão para Contagem (PCA), com incubação a 7±1°C por 10 dias, de acordo com Silva et al. (2010).

As contagens dos micro-organismos indicadores foram feitas de cada uma das alíquotas coletadas e todas foram apresentadas em unidades formadoras de colônias (UFC/mL).

2.3.2 Pesquisa de *Salmonella* spp.

A pesquisa de *Salmonella* spp. (presença/ausência em 25 mL) foi realizada conforme a Instrução Normativa MAPA nº 62, de 26 de agosto de 2003 - Métodos Analíticos Oficiais para Análises Microbiológicas para Controle de Produtos de Origem Animal e Água (BRASIL, 2003a), com as fases de pré-enriquecimento; enriquecimento seletivo; isolamento e seleção; identificação bioquímica; e, prova de soroaglutinação.

Para a pesquisa de *Salmonella* spp. (presença/ausência em 25 mL), foi efetuado o *pool* das três alíquotas coletadas por intervalo de tempo.

2.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os resultados das contagens dos micro-organismos indicadores foram convertidos em \log_{10} e os dados analisados utilizando o programa Microsoft Excel 2010[®].

Para análise das diferenças estatísticas foram aplicados os testes não paramétricos de Kruskal-Wallis e Wilcoxon-Mann-Whitney, com nível de 5% de significância. As contagens dos micro-organismos aeróbios mesófilos e psicrótróficos foram submetidas à análise de regressão linear simples, para avaliação da linearidade entre as contagens e o tempo de armazenamento em câmaras de resfriamento e tanques de expansão.

Os testes não paramétricos, a análise de regressão linear, os gráficos de caixas e de dispersão foram realizados no *software* estatístico R (R CORE TEAM, 2012).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

As temperaturas das câmaras de resfriamento e dos tanques de expansão observadas nas duas repetições de coleta das amostras apresentaram-se dentro do intervalo recomendado, de 2 a 5°C (BRASIL, 1990), tanto na aferição realizada durante a coleta, quanto na observação dos controles de temperatura dos estabelecimentos.

Em condições favoráveis, o tempo de geração da população microbiana é de cerca de 30 minutos para a maioria das espécies mesófilas de interesse em alimentos, formando uma progressão geométrica com razão 2 entre cada intervalo desse tempo (PELCZAR JR; CHAN; KRIEG, 1996). No presente estudo, as contagens não evoluíram nesta velocidade ao longo das 72 horas, sendo mais lentas, nos diferentes intervalos de tempo pesquisados, mostrando que o frio foi eficiente no controle da evolução natural do crescimento microbiano, tanto no armazenamento em câmaras de resfriamento quanto em tanques de expansão.

As tabelas 1, 2, 3 e 4 apresentam os dados relacionados às contagens médias de cada grupo de micro-organismos, das duas repetições

realizadas, nos tempos de 0, 24, 48 e 72 horas de armazenamento do OIL em câmaras de resfriamento e tanques de expansão.

Todas as médias logarítmicas das contagens de micro-organismos aeróbios mesófilos observadas nas tabelas 1 e 2, em todos os intervalos de tempo, superaram os limites estabelecidos pela legislação, que determina contagem máxima de 5×10^4 UFC/g (BRASIL, 1991), que corresponde a 4,70 log UFC/mL. Das contagens iniciais (tempo 0h), das 18 amostras estudadas, 14 (77,7%) foram superiores ao padrão legal nas câmaras de resfriamento e 13 (72,2%) nos tanques de expansão.

Dias, Ajzentel e Calil (2002), avaliaram a microbiota pré e pós-pasteurização do ovo integral líquido em uma planta processadora brasileira. Nos resultados pré-pasteurização (OIL), as contagens de micro-organismos aeróbios mesófilos revelaram valores entre $1,1 \times 10^3$ UFC/g (3,04 log UFC/g) e $2,4 \times 10^7$ UFC/g (7,38 log UFC/g), também com presença de resultados superiores aos padrões legais.

Aragon-Alegro et al. (2005) encontraram médias de contagens entre $4,6 \times 10^3$ UFC/g (3,66 log UFC/g) e $2,5 \times 10^5$ UFC/g (5,39 log UFC/g) de aeróbios mesófilos no OIL obtido de ovos lavados e entre $4,6 \times 10^3$ UFC/g (3,66 log UFC/g) e $1,8 \times 10^5$ UFC/g (5,25 log UFC/g) no OIL obtido de ovos não lavados, em uma planta processadora brasileira.

Neste trabalho, houve diferenças significativas ($p < 0,05$) entre as contagens de aeróbios mesófilos obtidas do OIL armazenado em tanques de expansão em 24 e 48 horas, e conseqüentemente, entre 0 e 48 horas. Porém, houve estabilidade do crescimento entre os tempos 48 e 72 horas ($p > 0,05$). Não ocorreu diferença significativa ($p > 0,05$) entre os tempos 0 e 72 horas, demonstrando que, apesar do aumento significativo do crescimento nas contagens intermediárias do período de armazenamento em tanques de expansão, as contagens iniciais de aeróbios mesófilos não evoluíram significativamente até as contagens do produto final destinado à industrialização (tabela 2).

Tabela 1 – Contagens médias de micro-organismos aeróbios mesófilos, coliformes totais e psicotróficos (log UFC/mL) em amostras de ovo integral líquido armazenado em câmaras de resfriamento durante 72 horas, coletadas entre abril e novembro de 2012, em três estabelecimentos localizados na região de Bastos-SP.

Micro-organismo	Tempo (horas)	Médias*	n	Desvio padrão	Máximo	Mínimo	> 4,70 log UFC/mL (%)**
Aeróbios Mesófilos	0	5,65 ^a	18	0,98	7,82	4,11	14 (77,7)
	24	6,10 ^a	18	1,00	7,94	4,64	16 (88,8)
	48	6,28 ^a	18	1,00	8,46	4,78	18 (100)
	72	6,24 ^a	18	1,25	9,27	4,43	17 (94,4)
	<i>Total</i>	<i>6,07</i>	<i>72</i>	<i>1,07</i>	<i>9,27</i>	<i>4,11</i>	<i>65 (90,2)</i>
Psicotróficos	0	4,49 ^{bc}	18	1,03	6,56	3,00	8 (44,4)
	24	4,99 ^b	18	0,91	6,23	3,00	10 (55,5)
	48	5,35 ^b	18	1,12	7,11	3,00	13 (72,2)
	72	5,67 ^{bc}	18	1,35	8,08	3,00	13 (72,2)
	<i>Total</i>	<i>5,13</i>	<i>72</i>	<i>1,17</i>	<i>8,08</i>	<i>3,00</i>	<i>44 (61,1)</i>
Coliformes totais	0	3,81 ^c	18	1,24	5,77	1,48	5 (27,7)
	24	4,39 ^c	18	1,53	7,43	1,78	8 (44,4)
	48	4,32 ^c	18	1,46	6,58	1,48	7 (38,8)
	72	4,19 ^c	18	1,17	6,23	1,7	7 (38,8)
	<i>Total</i>	<i>4,18</i>	<i>72</i>	<i>1,35</i>	<i>7,43</i>	<i>1,48</i>	<i>27 (37,5)</i>

Médias logarítmicas seguidas de duas letras minúsculas iguais na coluna diferem entre si pelo teste de Kruskal-Wallis ($p < 0,05$).

*Valor médio de duas repetições.

**Padrão máximo estabelecido pela legislação (BRASIL, 1991).

Fonte: Elaboração do autor.

Tabela 2 – Contagens médias de micro-organismos aeróbios mesófilos, coliformes totais e psicotróficos (log UFC/mL) em amostras de ovo integral líquido armazenado em tanques de expansão durante 72 horas, coletadas entre abril e novembro de 2012, em três estabelecimentos localizados na região de Bastos-SP.

Micro-organismo	Tempo (horas)	Médias*	n	Desvio padrão	Máximo	Mínimo	> 4,70 log UFC/mL (%)**
Aeróbios Mesófilos	0	5,31 ^{ab}	18	0,77	6,28	4,00	13 (72,2)
	24	5,35 ^{ac}	18	0,83	7,26	4,30	12 (66,6)
	48	6,12 ^{ab; ac}	18	0,54	7,00	5,30	18 (100)
	72	5,90 ^a	18	0,92	6,95	4,30	15 (83,3)
	Total	5,67	72	0,84	7,26	4,00	58 (80,5)
Psicotróficos	0	4,00 ^{bc; bd}	18	0,75	5,11	2,85	4 (22,2)
	24	4,65 ^b	18	0,78	5,92	3,23	11 (61,1)
	48	5,22 ^{bc}	18	0,80	6,30	3,41	15 (83,3)
	72	5,29 ^{bd}	18	0,93	6,71	3,59	13 (72,2)
	Total	4,79	72	0,96	6,71	2,85	43 (59,7)
Coliformes totais	0	3,80 ^c	18	1,09	5,04	2,00	3 (16,6)
	24	3,78 ^c	18	1,00	5,54	2,04	1 (5,5)
	48	4,17 ^c	18	1,06	5,79	2,28	7 (38,8)
	72	4,07 ^c	18	0,75	5,11	2,79	4 (22,2)
	Total	3,96	72	0,98	5,79	2,00	15 (20,8)

Médias logarítmicas seguidas de duas letras minúsculas iguais na coluna diferem entre si pelo teste de Kruskal-Wallis ($p < 0,05$).

*Valor médio de duas repetições.

**Padrão máximo estabelecido pela legislação (BRASIL, 1991).

Fonte: Elaboração do autor.

A legislação não prevê parâmetros para psicotróficos, entretanto, são micro-organismos de elevado interesse por manterem boa atividade enzimática em baixas temperaturas, com capacidade de multiplicação sob refrigeração, independentemente de sua temperatura ótima de crescimento. Estão amplamente relacionados à deterioração de alimentos refrigerados (FRANCO; LANDGRAF, 2008; SILVA et al., 2010).

Ainda assim, mesmo para os psicotróficos, quanto mais baixa for a temperatura, menor será a velocidade de crescimento (FRANCO; LANDGRAF, 2008; SILVA et al., 2010). Portanto, levando em consideração o padrão preconizado para aeróbios mesófilos, constata-se relevante presença desses micro-organismos no OIL objeto desse trabalho, com 44 (61,1%) das 72 contagens realizadas no estudo das câmaras de resfriamento e 43 (59,7%) das 72 contagens executadas no acompanhamento do tanque de expansão, superiores a este padrão.

Dias, Ajzentel e Calil (2002), estudando microrganismos psicotróficos em OIL de uma planta processadora brasileira, encontraram resultados entre $1,3 \times 10^3$ (3,11 log UFC/g) e $1,1 \times 10^8$ UFC/g (8,04 log UFC/g).

As diferenças entre as contagens iniciais (tempo 0h) e as contagens finais, após 72 horas de armazenamento, de micro-organismos psicotróficos, foram significativas ($p < 0,05$) em ambos os métodos de conservação do OIL avaliados, demonstrando que houve evolução do crescimento desses micro-organismos sob refrigeração.

Na conservação em tanques de expansão, houve diferença significativa ($p < 0,05$) anterior às câmaras de resfriamento, entre os tempos 0 e 48 horas. Franco e Landgraf (2008) descreveram que os micro-organismos psicotróficos são favorecidos pela aeração (agitação), como a que ocorre nos tanques de expansão para homogeneização do OIL, podendo ser a causa do aumento significativo das contagens ($p < 0,05$) do OIL proveniente de tanques de expansão de forma prévia às contagens do OIL armazenado em câmaras de resfriamento.

Não há parâmetros microbiológicos na legislação brasileira para coliformes totais em OIL, por ser um produto cru. No entanto, o estudo desses micro-organismos indica o nível de contaminação ambiental agregado ao produto, e a qualidade higiênico-sanitária do mesmo (FRANCO; LANDGRAF, 2008; SILVA et al., 2010). Não ocorreram diferenças significativas ($p > 0,05$) entre as contagens de coliformes totais nos diferentes intervalos de tempo e em ambos os tipos de armazenamento pesquisados. Contudo, considerando que os coliformes são um grupo restrito de micro-organismos, quando comparados aos aeróbios mesófilos, pôde-se observar alta contaminação inicial no produto. Das 72 contagens realizadas por tipo de conservação do OIL, 27 (37,5%) no estudo das câmaras de resfriamento e 15 (20,8%) no acompanhamento do tanque de expansão, foram superiores ao padrão estabelecido para aeróbios mesófilos.

Não há na legislação padrões microbiológicos especificamente para *Escherichia coli* no OIL. Mas, como a *E. coli* é o principal micro-organismo indicador de contaminação de origem fecal em produtos *in natura* (FRANCO; LANDGRAF, 2008; JAY, LOESSNER, GOLDEN, 2005; SILVA et al., 2010), considera-se, assim,

aplicável o parâmetro para coliformes fecais, que é ausência em 1 g de OIL (BRASIL, 1991).

Todas as médias logarítmicas das contagens de *Escherichia coli* expostas nas tabelas 3 e 4, nos diferentes intervalos de tempo e em ambos os tipos de conservação apresentaram-se fora do padrão estabelecido.

Das contagens iniciais de *E. coli* realizadas nas 18 amostras pesquisadas em câmaras de resfriamento, 8 (44,4%) foram superiores ao parâmetro legal e, das 18 amostras, 16 (88,8%) apresentaram-se dessa maneira no estudo em tanques de expansão. A triagem mal realizada para os ovos que podem ser destinados à quebra para obtenção do OIL, com presença de fezes na casca, constituem a possível fonte deste micro-organismo (BOARD; FULLER, 1994).

Não houve diferenças significativas ($p > 0,05$) entre as contagens de *E. coli* nos diferentes intervalos de tempo e em ambos os tipos de armazenamento pesquisados, o que indica que o frio foi capaz de controlar seu crescimento.

Tabela 3 – Contagens médias de *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus* (log UFC/mL) em amostras de ovo integral líquido armazenado em câmaras de resfriamento durante 72 horas, coletadas entre abril e novembro de 2012, em três estabelecimentos localizados na região de Bastos-SP.

Micro-organismo	Tempo (horas)	Médias*	n	Desvio padrão	Máximo	Mínimo	> 0 UFC/mL (%)**
<i>Escherichia coli</i>	0	1,05 ^a	18	1,43	4,95	0	8 (44,4)
	24	1,30 ^a	18	1,71	5,48	0	10 (55,5)
	48	0,94 ^a	18	1,44	5,54	0	8 (44,4)
	72	1,66 ^a	18	1,79	6,68	0	12 (66,6)
	Total	1,26	72	1,59	6,68	0	38 (52,7)
<i>Staphylococcus aureus</i>	0	0,26 ^b	18	0,52	2,00	0	7 (38,8)
	24	0,20 ^b	18	0,33	1,00	0	10 (55,5)
	48	0,31 ^b	18	0,42	1,08	0	10 (55,5)
	72	0,46 ^b	18	0,62	2,00	0	13 (72,2)
	Total	0,31	72	0,48	2,00	0	40 (55,5)

Médias logarítmicas seguidas de duas letras minúsculas iguais na coluna diferem entre si pelo teste de Kruskal-Wallis ($p < 0,05$).

*Valor médio de duas repetições.

**Padrão máximo estabelecido pela legislação (BRASIL, 1991).

Fonte: Elaboração do autor.

Tabela 4 – Contagens médias de *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus* (log UFC/mL) em amostras de ovo integral líquido armazenado em tanques de expansão durante 72 horas, coletadas entre abril e novembro de 2012, em três estabelecimentos localizados na região de Bastos-SP.

Micro-organismo	Tempo (horas)	Médias*	n	Desvio padrão	Máximo	Mínimo	> 0 UFC/mL (%)**
<i>Escherichia coli</i>	0	2,70 ^a	18	1,32	4,56	0	16 (88,8)
	24	3,09 ^a	18	1,16	5,18	1,48	18 (100)
	48	2,95 ^a	18	0,92	4,15	1,00	18 (100)
	72	2,85 ^a	18	0,95	4,30	1,00	18 (100)
	Total	2,90	72	1,08	5,18	0	70 (97,2)
<i>Staphylococcus aureus</i>	0	0,26 ^b	18	0,53	1,78	0	9 (50,0)
	24	0,92 ^b	18	1,31	4,04	0	11 (61,1)
	48	0,98 ^b	18	1,14	3,00	0	13 (72,2)
	72	0,55 ^b	18	0,72	1,95	0	8 (44,4)
	Total	0,68	72	1,00	4,04	0	41 (56,9)

Médias logarítmicas seguidas de duas letras minúsculas iguais na coluna diferem entre si pelo teste de Kruskal-Wallis ($p < 0,05$).

*Valor médio de duas repetições.

**Padrão máximo estabelecido pela legislação (BRASIL, 1991).

Fonte: Elaboração do autor.

Conforme Franco e Landgraf (2008); Jay, Loessner e Golden (2005), *Staphylococcus aureus* indicam a qualidade da manipulação dos alimentos, por possuírem como *habitat* preferencial a pele humana e de animais. Encontram-se presentes em baixas contagens nos alimentos e não competem bem com os outros micro-organismos, o que pode ter levado às contagens mais baixas em relação à microbiota restante, avaliada nas tabelas 1, 2, 3 e 4.

Não houve diferenças significativas ($p > 0,05$) entre as contagens de *Staphylococcus aureus* nos diferentes intervalos de tempo e em ambos os tipos de armazenamento pesquisados.

Porém, todas as médias logarítmicas das contagens dos intervalos de tempo estudados em ambos os tipos de conservação mostraram-se fora do padrão determinado pela legislação, que é ausência em 1 g de OIL (BRASIL, 1991). A presença de *S. aureus* foi identificada em 7 (38,8%) das 18 contagens executadas em amostras de OIL oriundas do início do armazenamento em câmaras de resfriamento, e, em 9 (50,0%) das 18 contagens realizadas em amostras de OIL provenientes do início do armazenamento em tanques de expansão.

Germano e Germano (2011), relataram que a dose das enterotoxinas produzidas pelo *S. aureus* necessária para causar sintomas é de aproximadamente 200ng, sendo necessária uma contagem de células acima de

100.000 por grama de alimento para atingir esse nível, que não foi encontrada em nenhuma das análises realizadas no presente estudo.

Em virtude dos micro-organismos psicrotróficos e aeróbios mesófilos terem apresentado diferenças significativas de contagens ($p < 0,05$) no teste de Kruskal-Wallis, os mesmos foram submetidos à análise de regressão linear simples, para avaliação da linearidade entre as contagens e o tempo de armazenamento em câmaras de resfriamento e tanques de expansão e comparação entre ambos os grupos (Figuras 1 e 2).

Figura 1 – Gráfico de dispersão das contagens de aeróbios mesófilos e psicrotróficos (log UFC/mL), em amostras de ovo integral líquido armazenado em câmaras de resfriamento, durante 72 horas, coletadas em duas repetições entre abril e novembro de 2012, em três estabelecimentos localizados na região de Bastos-SP.

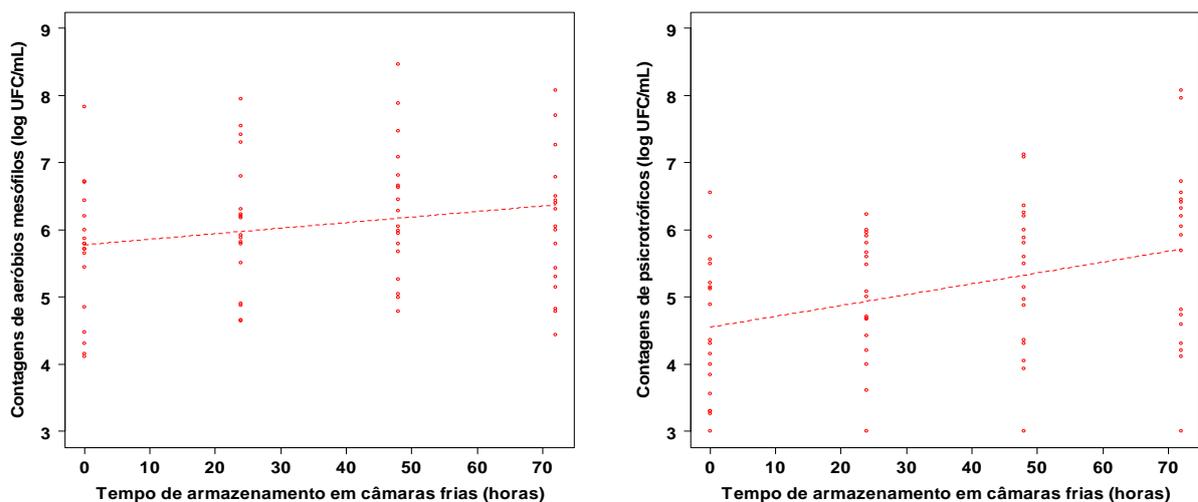
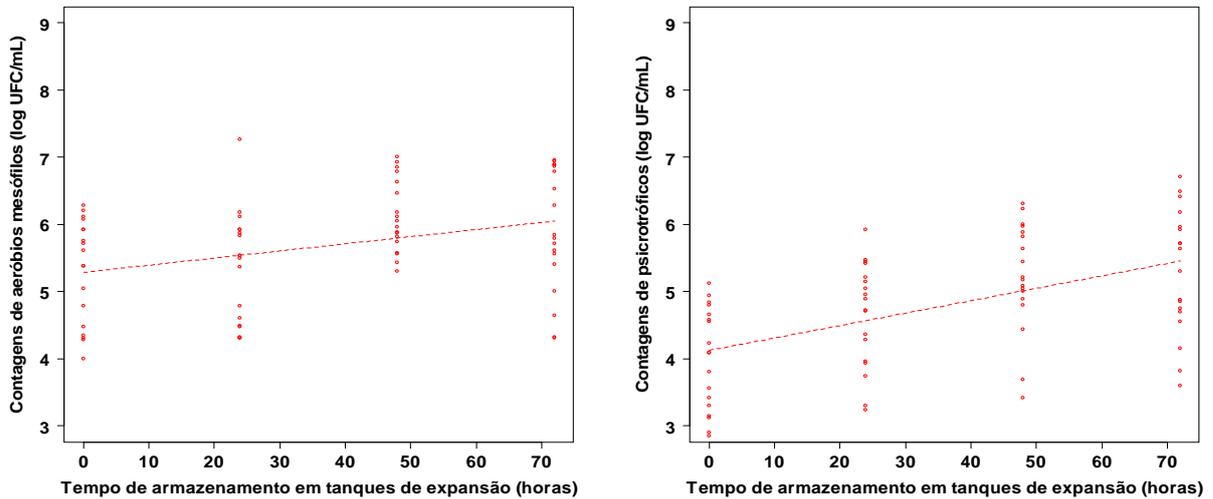


Figura 2 – Gráfico de dispersão das contagens de aeróbios mesófilos e psicotróficos (log UFC/mL), em amostras de ovo integral líquido armazenado em tanques de expansão, durante 72 horas, coletadas em duas repetições entre abril e novembro de 2012, em três estabelecimentos localizados na região de Bastos-SP.



O número de psicotróficos no OIL de câmaras de resfriamento evoluiu mais rapidamente do que o número de mesófilos (Fig. 1), o que está demonstrado pela linearidade positiva mais acentuada das contagens de psicotróficos ($r^2=0,12$) em relação à dos aeróbios mesófilos ($r^2=0,02$).

No OIL armazenado em tanques de expansão (Fig. 2), a evolução das contagens dos micro-organismos psicotróficos ($r^2=0,26$) também foi superior à evolução das contagens de aeróbios mesófilos ($r^2=0,10$).

A figura 3 apresenta as contagens totais de todos os micro-organismos avaliados sob conservação em câmaras de resfriamento e tanques de expansão, indicando o perfil microbiano do OIL.

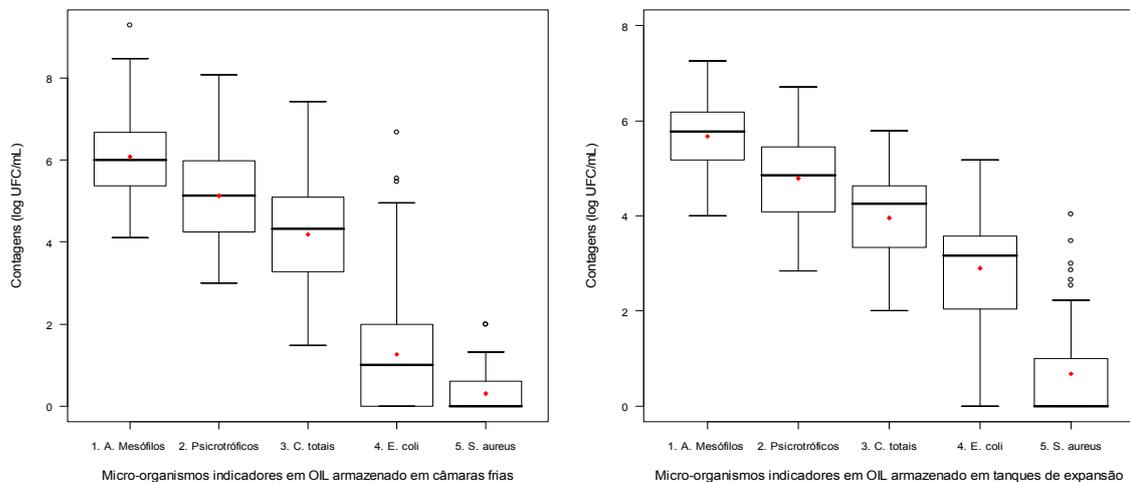
O teste de Wilcoxon-Mann-Whitney foi utilizado para comparar as contagens do OIL nos dois tipos de refrigeração estudados. As contagens de aeróbios mesófilos foram significativamente maiores ($p<0,05$) no OIL armazenado em câmaras de resfriamento, quando comparadas às dos tanques de expansão. As contagens de *Escherichia coli*, por sua vez, se apresentaram significativamente maiores ($p<0,05$) no OIL armazenado em tanques de expansão do que em câmaras de resfriamento.

Esses resultados revelam que, apesar da maior presença de contaminação total no OIL armazenado em câmaras de resfriamento, indicada pelas contagens de aeróbios mesófilos, o produto armazenado em tanques de expansão obteve maior contaminação de origem fecal, indicada pelas contagens de *E. coli*.

Os resultados da figura 3 não indicam que os métodos de resfriamento não são eficientes, apenas que as contagens iniciais foram maiores para determinados grupos de micro-organismos, dependendo das particularidades do processamento em cada estabelecimento estudado, como a forma de quebra dos ovos.

Os três estabelecimentos com armazenamento em tanques de expansão apresentavam quebra manual de ovos, enquanto que dos três estabelecimentos com armazenamento em câmaras de resfriamento, dois realizavam quebra automatizada e somente um praticava quebra manual de ovos. Todos os quatro estabelecimentos com quebra manual de ovos avaliados apresentaram médias logarítmicas das contagens de *E. coli* maiores que os dois estabelecimentos com quebra automatizada.

Figura 3 – Contagens totais (log UFC/mL), médias, medianas, quartis, limites máximo e mínimo de micro-organismos indicadores em amostras de ovo integral líquido armazenado em câmaras de resfriamento de três estabelecimentos e armazenado em tanques de expansão de três estabelecimentos, durante 72 horas, coletadas em duas repetições entre abril e novembro de 2012, na região de Bastos-SP.



As contagens de psicotróficos coliformes totais e *Staphylococcus aureus* não apresentaram diferenças significativas ($p>0,05$) entre os dois métodos de refrigeração do OIL. No entanto, a média mais alta de *Staphylococcus aureus*, o limite máximo mais elevado e a maior presença de *outliers* acima do limite superior, em OIL conservado em tanques de expansão, pode ser associado ao tipo de quebra dos ovos, uma vez que os três estabelecimentos realizavam quebra manual.

A presença de *S. aureus* é amplamente relacionada à manipulação dos alimentos (FRANCO; LANDGRAF, 2008; GERMANO, GERMANO, 2011; JAY, LOESSNER, GOLDEN, 2005; SILVA et al., 2010) e a que ocorre diretamente na quebra dos ovos pode ter sido minimizada pela utilização de quebra automatizada por dois estabelecimentos que armazenavam OIL em câmaras de resfriamento.

Em estudo de Aragon-Alegro et al. (2005), em OIL obtido de ovos lavados e não lavados, em três repetições, de uma planta processadora brasileira com quebra automatizada, os resultados foram de ausência em todas as análises para estafilococos produtores de coagulase, tanto do OIL obtido de ovos lavados quanto de não lavados.

A tabela 5 apresenta as amostras com presença de *Salmonella* spp. nas duas repetições realizadas, nos dois sistemas de refrigeração e nos diferentes tempos de armazenamento.

Observa-se que das 48 amostras analisadas, 36 (75%) apresentaram presença de *Salmonella* spp., com representação em todos os intervalos de tempo, em ambos os métodos de conservação. O parâmetro legal é ausência em 25 g (BRASIL, 1991). Dos seis estabelecimentos estudados, somente um, apenas na primeira repetição do trabalho, com armazenamento em câmara de resfriamento, apresentou negatividade em todos os intervalos de tempo, abaixando, dessa forma, a média total da presença de *Salmonella* spp. no OIL armazenado em câmaras de resfriamento.

Em estudo de Aragon-Alegro et al. (2005), foi encontrado positividade para *Salmonella* sp no OIL obtido tanto de ovos lavados como não lavados.

Os ovos destinados à quebra para obtenção do OIL podem possuir rompimento de casca e membranas internas (testácea). Porém, devem apresentar ausência de *Salmonella* spp. em 1 g (BRASIL, 1952, 1990, 1991). Assim, para

controlar a contaminação observada no produto, rigorosos programas de autocontrole devem ser implantados com foco na produção do OIL, contemplando: as boas práticas na produção; a forma de coleta dos ovos na produção; o tempo até a quebra, pois quanto mais tempo se passar após a postura, mais micro-organismos poderão atravessar os poros e/ou rachaduras da casca; os critérios de triagem dos ovos destinados à quebra, que devem estar livres de sujeiras e fezes; a limpeza e sanitização dos recipientes que acomodam o OIL; o tempo entre a quebra e o armazenamento sob refrigeração; a higienização e sanitização dos sistemas de refrigeração do OIL; a temperatura da sala de quebra; a sanidade das aves; e, a higiene durante a etapa de quebra dos ovos (BRASIL, 1952, 1990, 1991, 1997, 1998, 2007, 2009, 2012; BOARD; FULLER, 1994).

Tabela 5 – Presença de *Salmonella* spp. em amostras de ovo integral líquido armazenado em câmaras de resfriamento e tanques de expansão, durante 72 horas, coletadas em duas repetições entre abril e novembro de 2012, em seis estabelecimentos localizados na região de Bastos-SP.

Armazenamento	Repetição	Número de amostras positivas para presença de <i>Salmonella</i> spp./horas de armazenamento				Total de amostras positivas	Total de amostras (%positivas)
		0	24	48	72		
Câmara de Resfriamento (CR)	I	2	2	2	2	8	12 (66,6)
	II	2	1	3	3	9	12 (75,0)
	Total	4	3	5	5	17	24 (70,8)
	% Total	66,6	50	83,3	83,3		
Tanque de Expansão (TE)	I	2	3	3	2	10	12 (83,3)
	II	2	2	2	3	9	12 (75,0)
	Total	4	5	5	5	19	24 (79,1)
	% Total	66,6	83,3	83,3	83,3		
CR + TE	Total	8	8	10	10	36	48 (75,0)
	% Total	66,6	66,6	83,3	83,3		

Fonte: Elaboração do autor

Como os ovos e produtos de ovos são importantes veículos de *Salmonella* spp. e o consumo desses alimentos é frequentemente associado à transmissão desse micro-organismo para humanos (COX; PAVIC, 2010), a aplicação de um programa oficial de redução de patógenos como o existente para outros produtos avícolas (BRASIL, 2003b) pode contribuir para a melhora da qualidade do OIL, atuando de forma mais ativa na redução desse patógeno do que a simples determinação de ausência. Neste contexto, a pasteurização torna-se um importante ponto crítico para a segurança do produto. Aragon-Alegro et al. (2005) e Rêgo et al.

(2012), não encontraram presença de *Salmonella* spp. em nenhuma das amostras de OIL pasteurizado pesquisadas.

No presente estudo, as análises dos micro-organismos estudados pautaram-se nos padrões microbiológicos da legislação, mas os parâmetros e definições são controversos e passíveis de discussão.

Dias, Ajzentel e Calil (2002), observaram que a legislação (BRASIL, 1991) estabelece parâmetros para o ovo integral líquido sem especificar claramente se os padrões microbiológicos devem ser considerados para o produto antes ou após o processo de pasteurização.

As denominações do produto, assim como dos micro-organismos que servem como parâmetro de qualidade, diferem antes e depois da pasteurização. Se a mistura de gema e clara pasteurizadas contiver a mesma proporção do ovo em natureza, então o produto pode ser chamado OIL pasteurizado (BRASIL, 1990, 1991). No ovo integral líquido há padrão para *Staphylococcus aureus* e coliformes fecais, e no OIL pasteurizado há parâmetros para estafilococos coagulase positiva e coliformes a 45°C. Dessa forma, considerando que a denominação de coliformes fecais trata-se do mesmo grupo de micro-organismos com a denominação de coliformes a 45°C e que o *Staphylococcus aureus* é o principal micro-organismo do grupo de estafilococos coagulase positiva de interesse em alimentos, observa-se que os padrões microbiológicos máximos permitidos para o OIL pasteurizado são maiores do que para o ovo integral líquido, conforme demonstrado nas tabelas 6 e 7.

Tabela 6 – Padrões microbiológicos para ovo integral líquido.

Micro-organismo	Padrão máximo permitido
Contagem Padrão	5 x 10 ⁴ UFC/g
Coliformes Fecais	Ausência em 1g
<i>Salmonella</i>	Ausência em 25g
<i>S. aureus</i>	Ausência em 1g

Fonte: Adaptado de BRASIL, 1991.

Tabela 7 – Padrões microbiológicos para gema, clara ou suas misturas, pasteurizadas, resfriadas ou congeladas, com ou sem açúcar, sal e outros aditivos.

Micro-organismo	Tolerância para amostra indicativa	Tolerância para amostra representativa			
		n	c	M	M
Coliformes a 45°C/mL	1	5	2	-	1
Estaf. coag. positiva/mL	5 x 10	5	1	10	5 x 10
<i>Salmonellasp.</i> /25g	Ausência	5	0	Ausência	-

Fonte: Adaptado de BRASIL, 2001.

4 CONCLUSÃO

Nas condições estudadas, tanto as câmaras de resfriamento quanto os tanques de expansão, mostraram-se eficientes métodos de conservação do OIL e no controle da evolução de micro-organismos aeróbios mesófilos, coliformes totais, *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*.

A eficiência de ambos os métodos de conservação é reduzida no controle dos psicotróficos, nos intervalos de tempo e temperatura recomendados pela legislação. À vista disso, o desenvolvimento desse micro-organismo no ovo integral líquido mantido sob refrigeração precisa ser monitorado, uma vez que sua acentuada presença pode causar maior deterioração ao produto.

Os tanques de expansão apresentam maior facilidade quanto ao processo de acondicionamento e coleta do ovo integral líquido, que não necessita fracionamento e pode ser realizada a granel.

O ovo integral líquido avaliado revelou grande contaminação advinda do processo anterior ao resfriamento. Observou-se contagens iniciais acima dos padrões estabelecidos pela legislação para micro-organismos aeróbios mesófilos, *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*. As contagens de micro-organismos psicotróficos e coliformes totais, quando confrontadas com o padrão legal para aeróbios mesófilos, também foram consideradas elevadas. Em ambos os tipos de conservação, houve presença de *Salmonella spp.*

Dessa forma, faz-se necessário que programas de autocontrole dos processos sejam implantados com eficiência, já que são obrigatórios, como forma de melhorar a qualidade inicial do ovo integral líquido.

Há uma necessidade de revisão dos parâmetros microbiológicos vigentes, pois demonstrou-se uma incompatibilidade entre os padrões preconizados na legislação brasileira para o ovo integral líquido (OIL), que é um produto cru, e o ovo integral líquido pasteurizado (OIL pasteurizado).

REFERÊNCIAS

- ARAGON-ALEGRO L.C.; SOUZA, K.L.O.; COSTA SOBRINHO, P.S; LANDGRAF, M.; DESTRO, M.T. Avaliação da qualidade microbiológica de ovo integral pasteurizado produzido com e sem a etapa de lavagem no processamento. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.25, n.3, p.618-622, jul.- set. 2005.
- BARON, F.; BRIANDET, R.; LESNE, J.; HUMBERT, F.; ABLAIN, W.; GAUTIER, M. Influence of a nonfavorable environment, egg white, on resistance to heat and disinfectant, adhesion, and virulence of *Salmonella Enteritidis*. **Journal of Food Protection**, Des Moines, v.67, n.10, p.2269-2273, out. 2004.
- BOARD, R.G.; FULLER, R. **Microbiology of the Avian Egg**. Londres: Chapman & Hall, 1994. 181p.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 36, de 06 de dezembro de 2012. Altera a Instrução Normativa nº 56, de 04 de dezembro de 2007. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, seção 1, p.25-26, 07 dez. 2012.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Circular Nº 004/2009/DICAO/CGI/DIPOA de 01 de outubro de 2009. **Diretrizes para aplicação das Circulares nº 175/2005/CGPE/DIPOA e 176/2005/CGPE/DIPOA nos estabelecimentos produtores de ovos comerciais e produtos derivados**. Brasília, 2009. Disponível em: <www.agricultura.gov.br>. Acesso em: 21 nov. 2012
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 56, de 04 de dezembro de 2007. Procedimentos para registro, fiscalização e controle de estabelecimentos avícolas de reprodução ecomerciais. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, seção 1, p.11, 06 dez. 2007.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 62, de 26 de agosto de 2003. Oficializa os Métodos Analíticos Oficiais para Análises Microbiológicas para Controle de Produtos de Origem Animal e Água. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, seção 1, p.14, 18 set. 2003a.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 70, de 06 de outubro de 2003. Institui o Programa de Redução de Patógenos. Monitoramento Microbiológico e Controle de *Salmonella* sp. em Carcaças de Frangos e Perus. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, seção 1, p.09, 10 out. 2003b.

BRASIL. Ministério da Saúde. Resolução RDC nº 12, de 02 de janeiro de 2001. Regulamento técnico sobre os padrões microbiológicos para alimentos. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, seção 1, p.1-54, 10 jan. 2001.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Portaria nº 46 de 10 de fevereiro de 1998. Institui o Sistema de Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle - APPCC. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, seção 1, p.24, 16 mar. 1998.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Portaria nº 368, de 04 de setembro de 1997. Regulamento Técnico sobre as condições Higiênico-Sanitárias e de Boas Práticas de Fabricação para Estabelecimentos Elaboradores/Industrializadores de Alimentos. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, seção 1, p.19697, 08 set. 1997.

BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Resolução nº 005, de 05 de julho de 1991. **Padrão de Identidade e Qualidade para o Ovo Integral**. Brasília, 1991. Disponível em: <www.agricultura.gov.br>. Acesso em: 21 nov. 2012.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Portaria nº 01, de 21 de fevereiro de 1990. Normas Gerais de Inspeção de Ovos e Derivados. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, seção 1, p.4321, 06 mar. 1990.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Decreto nº 56.585, de 20 de julho de 1965. Aprova as novas especificações para a classificação e fiscalização do ovo. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, seção 1, p.6954, 22 jul. 1965.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Decreto nº 30.691, de 29 de março de 1952, e alterações. Regulamento de Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal (RIISPOA). **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Rio de Janeiro, seção 1, p.10-785, 7 jul. 1952.

COX, J.M.; PAVIC, A. Advances in enteropathogen control in poultry production. **Journal of Applied Microbiology**, Oxford, v.108, n.3, p.745–755, mar. 2010.

DIAS, A.P.; AJZENTAL, A.; CALIL, R.M. Avaliação da microbiota pré e pós-pasteurização do ovo integral líquido. **Higiene alimentar**, São Paulo, v.16, n.100, p.127-133, set. 2002.

FRANCO, B.D.G.M.; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos alimentos**. 2. ed. São Paulo: Atheneu, 2008. 182p.

FSIS-USDA. Food Safety and Inspection Service-United States Department of Agriculture. **Food Safety Information - Egg Products and Food Safety**. 2011. Disponível em: <http://www.fsis.usda.gov/PDF/Egg_Products_and_Food_Safety.pdf>. Acesso em: 20 nov. 2012.

GAST, R. K. Bacterial infection of eggs. In: MEAD, G.C. **Food safety control in the poultry industry**. Boca Raton: CRC Press, p. 1-20, ago. 2005.

GEORGIA EGG COMISSION. **Egg Products**. 2012. Disponível em: <<http://www.georgiaeggs.org/pages/eggproducts.html>>. Acesso em: 20 nov.2012.

GERMANO, P.M.L.; GERMANO, M.I.S. **Higiene e Vigilância Sanitária de Alimentos**. 4 ed. Barueri: Manole, 2011. 1046 p.

ICMSF. International commission on microbiological specifications for foods. Eggs and egg products. In: **Microorganisms in Foods 6: Microbial ecology of food commodities**. New York: Kluwer Academic/Plenum Publishers, 2005. p.597–632.

JAY, J.M.; LOESSNER, M.J.; GOLDEN, D.A. **Modern food microbiology**. 7.ed. New York: Springer, 2005, 790 p.

3M – 3M MICROBIOLOGY US. **Microbiology**: interpretation guide of plate. St. Paul, MN, USA: 2005. (Catalogue)

PELCZAR JR, M. J.; CHAN, E.C., KRIEG, N. R. **Microbiologia**: conceitos e aplicações. 2 ed. São Paulo: Makron Books, 1996. 517p.

R CORE TEAM. **R**: A Language and Environment for Statistical Computing. Vienna: R Foundation for Statistical Computing, 2012. Disponível em: <<http://www.r-project.org>>. Acesso em: 14 jan. 2013.

RÊGO, I.O.P.; CANÇADO, S.V.; FIGUEIREDO, T.C.; MENEZES, L.D.M.; OLIVEIRA, D.D.; LIMA, A.L.; CALDEIRA, L.G.M.; ESSER, L.R. Influência do período de armazenamento na qualidade do ovo integral pasteurizado refrigerado. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v.64, n.3, p.735-742, mar. 2012.

SEIBEL, N. F. Preservação e conservação de ovos. In: SOUZA-SOARES, L. A.; SIEWERDT, F. **Aves e ovos**. Pelotas: Editora e Gráfica Universitária, 2005. p.91-109.

SILVA, N.; JUNQUEIRA, V. C. A.; SILVEIRA, N. F. A.; TANIWAKI, M. H.; SANTOS, R. F. S.; GOMES, R. A. R. **Manual de Métodos de Análise Microbiológica de Alimentos e Água**. 4 ed. São Paulo: Varela, 2010. 632 p.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Tanto câmaras de resfriamento quanto tanques de expansão mostraram-se eficientes métodos de conservação do OIL e no controle da evolução dos micro-organismos avaliados, pois, em condições favoráveis, o tempo de geração da população microbiana de interesse em alimentos forma uma progressão geométrica com razão 2 entre cada intervalo de 30 minutos. As contagens não evoluíram nesta velocidade, sendo mais lentas, nos diferentes intervalos de tempo pesquisados (0, 24, 48 e 72h), mostrando que o frio foi eficiente no controle da evolução natural do crescimento microbiano, tanto no armazenamento em câmaras de resfriamento quanto em tanques de expansão.

Porém, maiores esforços precisam ser dispensados para prevenir uma elevada carga inicial de micro-organismos no OIL, por ser um produto cru, visando à garantia de um produto final com maior qualidade. Destaca-se os psicrotróficos, que se apresentaram com uma evolução mais acentuada sob refrigeração do que os demais micro-organismos indicadores de qualidade estudados.

O tanque de expansão é uma alternativa viável, apesar de não ser abordado na legislação vigente, apresentando-se como um método prático para o armazenamento do OIL até sua industrialização.

Diante do exposto, considera-se finalmente que, em função dos produtos de ovos estarem ganhando mais força no mercado mundial, agregando valor e propiciando mais segurança com maior praticidade; o oferecimento de uma matéria-prima de qualidade para o processamento, de soluções que desenvolvam a cadeia produtiva e de uma legislação em consonância com as demandas, tornam-se fundamentais.

APÊNDICES

APÊNDICE A

Contagens médias de micro-organismos aeróbios mesófilos, psicrotróficos, coliformes totais, *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus* (log UFC/mL) em amostras de ovo integral líquido armazenado em câmaras de resfriamento e tanques de expansão, durante 72 horas.

Tabela 1 – Contagens médias de micro-organismos aeróbios mesófilos, psicrotróficos e coliformes totais (log UFC/mL) em amostras de ovo integral líquido armazenado em câmaras de resfriamento durante 72 horas, com as duas repetições realizadas entre abril e novembro de 2012, em três estabelecimentos localizados na região de Bastos-SP.

Micro-organismo	Repetição	Tempo (horas)	Médias	n	Desvio padrão	Máximo	Mínimo	> 4,70 log UFC/mL (%)*	
Aeróbios Mesófilos	I	0	6,07	9	0,87	7,82	4,84	9 (100)	
		24	6,46	9	0,88	7,94	5,50	9 (100)	
		48	6,72	9	0,98	8,46	5,67	9 (100)	
		72	6,81	9	1,27	9,27	5,30	9 (100)	
			<i>Subtotal</i>	<i>6,52</i>	<i>36</i>	<i>1,01</i>	<i>9,27</i>	<i>4,84</i>	<i>36 (100)</i>
	II	0	5,23	9	0,95	6,40	4,11	5 (55,5)	
		24	5,74	9	1,02	7,40	4,64	7 (77,7)	
		48	5,84	9	0,86	7,07	4,78	9 (100)	
		72	5,68	9	0,98	7,25	4,43	8 (88,8)	
			<i>Subtotal</i>	<i>5,62</i>	<i>36</i>	<i>0,94</i>	<i>7,41</i>	<i>4,11</i>	<i>29 (80,5)</i>
	Total (I+II)	0	5,65	18	0,98	7,82	4,11	14 (77,7)	
		24	6,10	18	1,00	7,94	4,64	16 (88,8)	
		48	6,28	18	1,00	8,46	4,78	18 (100)	
		72	6,24	18	1,25	9,27	4,43	17 (94,4)	
		<i>Total</i>	<i>6,07</i>	<i>72</i>	<i>1,07</i>	<i>9,27</i>	<i>4,11</i>	<i>65 (90,2)</i>	
Psicrotróficos	I	0	4,52	9	1,15	6,56	3,00	3 (33,3)	
		24	4,95	9	1,13	6,23	3,00	6 (66,6)	
		48	5,55	9	1,43	7,11	3,00	6 (66,6)	
		72	5,88	9	1,68	8,08	3,00	7 (77,7)	
			<i>Subtotal</i>	<i>5,23</i>	<i>36</i>	<i>1,41</i>	<i>8,08</i>	<i>3,00</i>	<i>22 (61,1)</i>
	II	0	4,46	9	0,95	5,56	3,26	5 (55,5)	
		24	5,04	9	0,69	5,90	4,00	4 (44,4)	
		48	5,15	9	0,72	6,20	3,93	7 (77,7)	
		72	5,45	9	0,98	6,72	4,20	6 (66,6)	
			<i>Subtotal</i>	<i>5,02</i>	<i>36</i>	<i>0,89</i>	<i>6,72</i>	<i>3,26</i>	<i>22 (61,1)</i>
	Total (I+II)	0	4,49	18	1,03	6,56	3,00	8 (44,4)	
		24	4,99	18	0,91	6,23	3,00	10 (55,5)	
		48	5,35	18	1,12	7,11	3,00	13 (72,2)	
		72	5,67	18	1,35	8,08	3,00	13 (72,2)	
		<i>Total</i>	<i>5,13</i>	<i>72</i>	<i>1,17</i>	<i>8,08</i>	<i>3,00</i>	<i>44 (61,1)</i>	
Coliformes totais	I	0	4,07	9	0,78	5,15	2,78	3 (33,3)	
		24	4,96	9	1,34	7,43	3,08	5 (55,5)	
		48	4,96	9	1,06	6,58	3,00	5 (55,5)	
		72	4,60	9	0,98	6,23	3,00	4 (44,4)	
			<i>Subtotal</i>	<i>4,65</i>	<i>36</i>	<i>1,08</i>	<i>7,43</i>	<i>2,78</i>	<i>17 (47,2)</i>
	II	0	3,55	9	1,58	5,77	1,48	2 (22,2)	
		24	3,83	9	1,56	5,90	1,78	3 (33,3)	
		48	3,67	9	1,57	6,26	1,48	2 (22,2)	
		72	3,78	9	1,26	5,98	1,70	3 (33,3)	
			<i>Subtotal</i>	<i>3,71</i>	<i>36</i>	<i>1,44</i>	<i>6,26</i>	<i>1,48</i>	<i>10 (27,7)</i>
	Total (I+II)	0	3,81	18	1,24	5,77	1,48	5 (27,7)	
		24	4,39	18	1,53	7,43	1,78	8 (44,4)	
		48	4,32	18	1,46	6,58	1,48	7 (38,8)	
		72	4,19	18	1,17	6,23	1,70	7 (38,8)	
		<i>Total</i>	<i>4,18</i>	<i>72</i>	<i>1,35</i>	<i>7,43</i>	<i>1,48</i>	<i>27 (37,5)</i>	

*Padrão máximo estabelecido pela legislação (BRASIL, 1991).

Fonte: Elaboração do autor.

Tabela 2 – Contagens médias de micro-organismos aeróbios mesófilos, psicotróficos, coliformes totais (log UFC/mL) em amostras de ovo integral líquido armazenado em tanques de expansão durante 72 horas, com as duas repetições realizadas entre abril e novembro de 2012, em três estabelecimentos localizados na região de Bastos-SP.

Micro-organismo	Repetição	Tempo (horas)	Médias	n	Desvio padrão	Máximo	Mínimo	> 4,70 log UFC/mL (%)*
Aeróbios Mesófilos	I	0	5,24	9	0,79	6,28	4,00	7 (77,7)
		24	5,18	9	0,73	6,11	4,30	6 (66,6)
		48	6,03	9	0,53	6,93	5,30	9 (100)
		72	5,98	9	0,71	6,94	5,00	9 (100)
		<i>Subtotal</i>	<i>5,61</i>	<i>36</i>	<i>0,78</i>	<i>6,94</i>	<i>4,00</i>	<i>31 (86,1)</i>
	II	0	5,38	9	0,78	6,20	4,28	6 (66,6)
		24	5,52	9	0,94	7,26	4,32	6 (66,6)
		48	6,20	9	0,56	7,00	5,43	9 (100)
		72	5,83	9	1,13	6,95	4,30	6 (66,6)
		<i>Subtotal</i>	<i>5,73</i>	<i>36</i>	<i>0,90</i>	<i>7,26</i>	<i>4,28</i>	<i>27 (75,0)</i>
	Total (I+II)	0	5,31	18	0,77	6,28	4,00	13 (72,2)
		24	5,35	18	0,83	7,26	4,30	12 (66,6)
		48	6,12	18	0,54	7,00	5,30	18 (100)
		72	5,90	18	0,92	6,95	4,30	15 (83,3)
<i>Total</i>		<i>5,67</i>	<i>72</i>	<i>0,84</i>	<i>7,26</i>	<i>4,00</i>	<i>58 (80,5)</i>	
Psicotróficos	I	0	3,79	9	0,79	4,93	2,85	1 (11,1)
		24	4,43	9	0,79	5,45	3,23	5 (55,5)
		48	4,80	9	0,86	5,97	3,41	6 (66,6)
		72	5,17	9	0,62	5,91	4,15	7 (77,7)
		<i>Subtotal</i>	<i>4,55</i>	<i>36</i>	<i>0,90</i>	<i>5,97</i>	<i>2,85</i>	<i>19 (52,7)</i>
	II	0	4,20	9	0,70	5,11	3,15	3 (33,3)
		24	4,87	9	0,74	5,92	3,74	6 (66,6)
		48	5,64	9	0,49	6,30	5,04	9 (100)
		72	5,41	9	1,20	6,71	3,59	6 (66,6)
		<i>Subtotal</i>	<i>5,03</i>	<i>36</i>	<i>0,97</i>	<i>6,71</i>	<i>3,15</i>	<i>24 (66,6)</i>
	Total (I+II)	0	4,00	18	0,75	5,11	2,85	4 (22,2)
		24	4,65	18	0,78	5,92	3,23	11 (61,1)
		48	5,22	18	0,80	6,30	3,41	15 (83,3)
		72	5,29	18	0,93	6,71	3,59	13 (72,2)
<i>Total</i>		<i>4,79</i>	<i>72</i>	<i>0,96</i>	<i>6,71</i>	<i>2,85</i>	<i>43 (59,7)</i>	
Coliformes totais	I	0	3,64	9	1,16	4,69	2,00	0 (0,0)
		24	3,82	9	0,92	4,58	2,30	0 (0,0)
		48	3,98	9	1,21	4,97	2,28	4 (44,4)
		72	4,13	9	0,90	5,11	2,79	2 (22,2)
		<i>Subtotal</i>	<i>3,89</i>	<i>36</i>	<i>1,03</i>	<i>5,11</i>	<i>2,00</i>	<i>6 (16,6)</i>
	II	0	3,96	9	1,05	5,04	2,30	3 (33,3)
		24	3,75	9	1,13	5,54	2,04	1 (11,1)
		48	4,36	9	0,93	5,79	3,40	3 (33,3)
		72	4,01	9	0,60	4,80	3,28	2 (22,2)
		<i>Subtotal</i>	<i>4,02</i>	<i>36</i>	<i>0,93</i>	<i>5,79</i>	<i>2,04</i>	<i>9 (25,0)</i>
	Total (I+II)	0	3,80	18	1,09	5,04	2,00	3 (16,6)
		24	3,78	18	1,00	5,54	2,04	1 (5,5)
		48	4,17	18	1,06	5,79	2,28	7 (38,8)
		72	4,07	18	0,75	5,11	2,79	4 (22,2)
<i>Total</i>		<i>3,96</i>	<i>72</i>	<i>0,98</i>	<i>5,79</i>	<i>2,00</i>	<i>15 (20,8)</i>	

*Padrão máximo estabelecido pela legislação (BRASIL, 1991).

Fonte: Elaboração do autor.

Tabela 3 – Contagens médias de *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus* (log UFC/mL) em amostras de ovo integral líquido armazenado em câmaras de resfriamento durante 72 horas, com as duas repetições realizadas entre abril e novembro de 2012, em três estabelecimentos localizados na região de Bastos-SP.

Micro-organismo	Repetição	Tempo (horas)	Médias	n	Desvio padrão	Máximo	Mínimo	> 0 UFC/mL (%)*
<i>Escherichia coli</i>	I	0	1,10	9	1,80	4,95	0	3 (33,33)
		24	1,61	9	1,99	5,48	0	5 (55,5)
		48	0,76	9	1,84	5,54	0	2 (22,2)
		72	1,88	9	2,27	6,68	0	6 (66,6)
		<i>Subtotal</i>	<i>1,34</i>	<i>36</i>	<i>1,95</i>	<i>6,68</i>	<i>0</i>	<i>16 (44,4)</i>
	II	0	0,99	9	1,04	2,70	0	5 (55,5)
		24	1,17	9	1,48	4,26	0	5 (55,5)
		48	1,12	9	0,97	2,60	0	6 (66,6)
		72	1,44	9	1,23	3,15	0	6 (66,6)
		<i>Subtotal</i>	<i>1,18</i>	<i>36</i>	<i>1,16</i>	<i>4,26</i>	<i>0</i>	<i>22 (61,1)</i>
	Total (I+II)	0	1,05	18	1,43	4,95	0	8 (44,4)
		24	1,30	18	1,71	5,48	0	10 (55,5)
		48	0,94	18	1,44	5,54	0	8 (44,4)
		72	1,66	18	1,79	6,68	0	12 (66,6)
<i>Total</i>	<i>1,26</i>	<i>72</i>	<i>1,59</i>	<i>6,68</i>	<i>0</i>	<i>38 (52,7)</i>		
<i>Staphylococcus aureus</i>	I	0	0,47	9	0,68	2,00	0	4 (44,4)
		24	0,28	9	0,39	1,00	0	6 (66,6)
		48	0,49	9	0,48	1,08	0	6 (66,6)
		72	0,47	9	0,53	1,32	0	7 (77,7)
		<i>Subtotal</i>	<i>0,43</i>	<i>36</i>	<i>0,51</i>	<i>2,00</i>	<i>0</i>	<i>23 (63,8)</i>
	II	0	0,05	9	0,16	0,48	0	3 (33,3)
		24	0,12	9	0,27	0,78	0	4 (44,4)
		48	0,13	9	0,27	0,70	0	4 (44,4)
		72	0,44	9	0,73	2,00	0	6 (66,6)
		<i>Subtotal</i>	<i>0,19</i>	<i>36</i>	<i>0,43</i>	<i>2,00</i>	<i>0</i>	<i>17 (47,2)</i>
	Total (I+II)	0	0,26	18	0,52	2,00	0	7 (38,8)
		24	0,20	18	0,33	1,00	0	10 (55,5)
		48	0,31	18	0,42	1,08	0	10 (55,5)
		72	0,46	18	0,62	2,00	0	13 (72,2)
<i>Total</i>	<i>0,31</i>	<i>72</i>	<i>0,48</i>	<i>2,00</i>	<i>0</i>	<i>40 (55,5)</i>		

*Padrão máximo estabelecido pela legislação (BRASIL, 1991).

Fonte: Elaboração do autor.

Tabela 4 – Contagens médias de *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus* (log UFC/mL) em amostras de ovo integral líquido armazenado em tanques de expansão durante 72 horas, com as duas repetições realizadas entre abril e novembro de 2012, em três estabelecimentos localizados na região de Bastos-SP.

Micro-organismo	Repetição	Tempo (horas)	Médias	n	Desvio padrão	Máximo	Mínimo	> 0 UFC/mL (%)*
<i>Escherichia coli</i>	I	0	3,04	9	1,19	4,56	1,30	9 (100)
		24	3,18	9	1,16	4,48	1,60	9 (100)
		48	2,98	9	1,22	4,15	1,00	9 (100)
		72	3,23	9	0,83	4,30	1,62	9 (100)
		<i>Subtotal</i>	3,11	36	1,07	4,56	1,00	36 (100)
	II	0	2,37	9	1,42	3,70	0	7 (77,7)
		24	3,01	9	1,22	5,18	1,48	9 (100)
		48	2,91	9	0,57	3,48	2,04	9 (100)
		72	2,47	9	0,94	3,51	1,00	9 (100)
		<i>Subtotal</i>	2,69	36	1,08	5,18	0	34 (94,4)
	Total (I+II)	0	2,70	18	1,32	4,56	0,00	16 (88,8)
		24	3,09	18	1,16	5,18	1,48	18 (100)
		48	2,95	18	0,92	4,15	1,00	18 (100)
		72	2,85	18	0,95	4,30	1,00	18 (100)
<i>Total</i>		2,90	72	1,08	5,18	0	70 (97,2)	
<i>Staphylococcus aureus</i>	I	0	0,36	9	0,72	1,78	0	4 (44,4)
		24	0,46	9	0,74	2,00	0	4 (44,4)
		48	0,33	9	0,50	1,00	0	5 (55,5)
		72	0,44	9	0,53	1,00	0	4 (44,4)
		<i>Subtotal</i>	0,40	36	0,61	2,00	0	17 (47,2)
	II	0	0,15	9	0,24	0,60	0	5 (55,5)
		24	1,39	9	1,61	4,04	0	7 (77,7)
		48	1,62	9	1,25	3,00	0	8 (88,8)
		72	0,66	9	0,89	1,95	0	4 (44,4)
		<i>Subtotal</i>	0,96	36	1,22	4,04	0	24 (66,6)
	Total (I+II)	0	0,26	18	0,53	1,78	0	9 (50,0)
		24	0,92	18	1,31	4,04	0	11 (61,1)
		48	0,98	18	1,14	3,00	0	13 (72,2)
		72	0,55	18	0,72	1,95	0	8 (44,4)
<i>Total</i>		0,68	72	1,00	4,04	0	41 (56,94)	

*Padrão máximo estabelecido pela legislação (BRASIL, 1991).

Fonte: Elaboração do autor.

APÊNDICE B

Contagens de micro-organismos aeróbios mesófilos, psicrotróficos, coliformes totais, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* (UFC/mL) e pesquisa de *Salmonella* spp em amostras de ovo integral líquido armazenado em câmaras de resfriamento e tanques de expansão, durante 72 horas.

Tabela 1 – Contagens de micro-organismos aeróbios mesófilos, psicrotróficos, coliformes totais, *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus* (UFC/mL) em três alíquotas de amostras de ovo integral líquido armazenado em câmara de resfriamento, durante 72 horas, coletadas em duas repetições de um estabelecimento com quebra manual de ovos, localizado na região de Bastos-SP.

Repetição	Micro-organismo	Alíquota	Contagem de UFC/mL por horas de armazenamento			
			0	24	48	72
I	Aeróbios Mesófilos	1	$6,2 \times 10^5$	$1,5 \times 10^6$	$4,3 \times 10^6$	$3,2 \times 10^6$
		2	$2,8 \times 10^5$	$1,6 \times 10^6$	$1,9 \times 10^6$	$2,5 \times 10^6$
		3	$5,3 \times 10^6$	$2,0 \times 10^7$	$2,9 \times 10^7$	$1,9 \times 10^9$
I	Psicrotróficos	1	$1,6 \times 10^5$	$1,0 \times 10^6$	$6,3 \times 10^5$	$2,8 \times 10^6$
		2	$2,0 \times 10^4$	$1,7 \times 10^6$	$1,0 \times 10^6$	$1,6 \times 10^6$
		3	$7,7 \times 10^5$	$3,0 \times 10^5$	$1,2 \times 10^7$	$9,0 \times 10^7$
I	Coliformes Totais	1	$2,0 \times 10^4$	$1,2 \times 10^5$	$2,5 \times 10^5$	$1,3 \times 10^5$
		2	$1,0 \times 10^4$	$2,8 \times 10^5$	$3,2 \times 10^5$	$4,5 \times 10^5$
		3	$1,4 \times 10^5$	$2,5 \times 10^6$	$1,1 \times 10^6$	$1,7 \times 10^7$
I	<i>Escherichia coli</i>	1	0	$1,0 \times 10^4$	0	0
		2	0	0	0	$2,0 \times 10^4$
		3	$9,0 \times 10^4$	$3,0 \times 10^5$	$3,5 \times 10^5$	$4,8 \times 10^6$
I	<i>Staphylococcus aureus</i>	1	4	10	9	10
		2	6	6	6	4
		3	7	3	$1,2 \times 10$	$2,1 \times 10$
II	Aeróbios Mesófilos	1	$1,6 \times 10^6$	$2,6 \times 10^7$	$6,4 \times 10^6$	$1,8 \times 10^7$
		2	$4,5 \times 10^5$	$1,7 \times 10^6$	$1,1 \times 10^6$	$2,7 \times 10^5$
		3	$1,0 \times 10^6$	$2,0 \times 10^6$	$4,5 \times 10^6$	$1,1 \times 10^6$
II	Psicrotróficos	1	$1,3 \times 10^5$	$6,4 \times 10^5$	$3,1 \times 10^5$	$1,1 \times 10^6$
		2	$1,4 \times 10^5$	$8,0 \times 10^5$	$7,5 \times 10^5$	$4,9 \times 10^5$
		3	$3,6 \times 10^5$	$4,0 \times 10^5$	$1,6 \times 10^6$	$5,3 \times 10^6$
II	Coliformes Totais	1	$2,2 \times 10^4$	$1,5 \times 10^5$	$1,3 \times 10^4$	$8,4 \times 10^4$
		2	$2,4 \times 10^4$	$2,4 \times 10^4$	$1,5 \times 10^4$	$1,8 \times 10^3$
		3	$6,1 \times 10^4$	$1,5 \times 10^5$	$1,3 \times 10^5$	$5,9 \times 10^4$
II	<i>Escherichia coli</i>	1	0	0	0	$1,0 \times 10^2$
		2	$5,0 \times 10^2$	$4,4 \times 10^2$	$4,0 \times 10^2$	$3,4 \times 10^2$
		3	$1,0 \times 10$	0	$1,0 \times 10$	$1,0 \times 10$
II	<i>Staphylococcus aureus</i>	1	0	0	1	$1,0 \times 10$
		2	0	6	3	1
		3	3	0	0	0

Fonte: Elaboração do autor.

Tabela 2 – Contagens de micro-organismos aeróbios mesófilos, psicotróficos, coliformes totais, *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus* (UFC/mL) em três alíquotas de amostras de ovo integral líquido armazenado em câmara de resfriamento, durante 72 horas, coletadas em duas repetições de um estabelecimento com quebra automatizada de ovos, localizado na região de Bastos-SP.

Repetição	Micro-organismo	Alíquota	Contagem de UFC/mL por horas de armazenamento			
			0	24	48	72
I	Aeróbios Mesófilos	1	$7,4 \times 10^5$	$6,5 \times 10^5$	$4,7 \times 10^5$	$6,1 \times 10^5$
		2	$5,1 \times 10^6$	$8,2 \times 10^5$	$8,8 \times 10^5$	$1,0 \times 10^6$
		3	$5,2 \times 10^5$	$3,2 \times 10^5$	$6,2 \times 10^5$	$2,0 \times 10^5$
I	Psicotróficos	1	$1,0 \times 10^3$	$1,0 \times 10^3$	$1,0 \times 10^3$	$1,0 \times 10^3$
		2	$1,4 \times 10^4$	$1,6 \times 10^4$	$2,3 \times 10^4$	$5,4 \times 10^4$
		3	$2,0 \times 10^3$	$4,0 \times 10^3$	$1,1 \times 10^4$	$1,3 \times 10^4$
I	Coliformes Totais	1	$1,6 \times 10^3$	$1,2 \times 10^3$	$1,0 \times 10^3$	$1,0 \times 10^3$
		2	$5,9 \times 10^4$	$1,1 \times 10^5$	$7,6 \times 10^4$	$6,4 \times 10^4$
		3	$5,1 \times 10^4$	$1,9 \times 10^4$	$2,0 \times 10^4$	$1,3 \times 10^4$
I	<i>Escherichia coli</i>	1	$3,0 \times 10^2$	$1,0 \times 10^2$	0	$1,8 \times 10^2$
		2	$3,0 \times 10^2$	0	0	$5,0 \times 10$
		3	0	$1,0 \times 10^2$	0	$1,0 \times 10$
I	<i>Staphylococcus aureus</i>	1	0	1	0	1
		2	$1,0 \times 10^2$	1	4	2
		3	0	0	0	$1,0 \times 10$
II	Aeróbios Mesófilos	1	$3,0 \times 10^4$	$4,5 \times 10^4$	$6,1 \times 10^4$	$6,7 \times 10^4$
		2	$2,7 \times 10^6$	$6,3 \times 10^6$	$1,2 \times 10^7$	$6,0 \times 10^6$
		3	$6,1 \times 10^5$	$7,5 \times 10^5$	$9,7 \times 10^5$	$2,7 \times 10^6$
II	Psicotróficos	1	$2,0 \times 10^3$	$1,0 \times 10^4$	$8,6 \times 10^3$	$3,9 \times 10^4$
		2	$3,1 \times 10^5$	$5,0 \times 10^4$	$1,4 \times 10^5$	$2,1 \times 10^6$
		3	$7,7 \times 10^4$	$4,6 \times 10^5$	$3,9 \times 10^5$	$2,6 \times 10^6$
II	Coliformes Totais	1	$3,0 \times 10^3$	$4,0 \times 10^3$	$7,0 \times 10^2$	$3,7 \times 10^3$
		2	$5,9 \times 10^5$	$8,0 \times 10^5$	$1,8 \times 10^6$	$9,5 \times 10^5$
		3	$2,9 \times 10^4$	$2,9 \times 10^4$	$2,9 \times 10^4$	$2,0 \times 10^3$
II	<i>Escherichia coli</i>	1	$3,0 \times 10$	$1,0 \times 10$	$4,0 \times 10$	0
		2	$1,0 \times 10^2$	$1,8 \times 10^4$	$1,1 \times 10^2$	$1,4 \times 10^3$
		3	$6,0 \times 10$	$4,0 \times 10$	$7,0 \times 10$	$7,0 \times 10$
II	<i>Staphylococcus aureus</i>	1	1	0	0	$1,0 \times 10^2$
		2	0	0	5	0
		3	0	0	0	0

Fonte: Elaboração do autor.

Tabela 3 – Contagens de micro-organismos aeróbios mesófilos, psicrotróficos, coliformes totais, *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus* (UFC/mL) em três alíquotas de amostras de ovo integral líquido armazenado em câmara de resfriamento, durante 72 horas, coletadas em duas repetições de um estabelecimento com quebra automatizada de ovos, localizado na região de Bastos-SP.

Repetição	Micro-organismo	Alíquota	Contagem de UFC/mL por horas de armazenamento			
			0	24	48	72
I	Aeróbios Mesófilos	1	$5,2 \times 10^5$	$3,5 \times 10^7$	$2,9 \times 10^8$	$5,0 \times 10^7$
		2	$6,7 \times 10^7$	$8,9 \times 10^7$	$7,5 \times 10^7$	$1,2 \times 10^8$
		3	$7,0 \times 10^4$	$6,1 \times 10^5$	$2,8 \times 10^6$	$2,1 \times 10^6$
I	Psicrotróficos	1	$2,3 \times 10^4$	$1,2 \times 10^5$	$2,3 \times 10^6$	$8,3 \times 10^5$
		2	$3,6 \times 10^6$	$9,1 \times 10^5$	$1,3 \times 10^7$	$1,2 \times 10^8$
		3	$1,0 \times 10^4$	$1,0 \times 10^5$	$1,8 \times 10^6$	$3,6 \times 10^6$
I	Coliformes Totais	1	$3,1 \times 10^3$	$1,2 \times 10^4$	$4,4 \times 10^4$	$1,4 \times 10^4$
		2	$2,0 \times 10^4$	$2,7 \times 10^7$	$3,8 \times 10^6$	$4,6 \times 10^4$
		3	$6,0 \times 10^2$	$7,2 \times 10^3$	$2,2 \times 10^4$	$5,5 \times 10^3$
I	<i>Escherichia coli</i>	1	0	0	0	$1,0 \times 10$
		2	0	$1,0 \times 10$	0	0
		3	0	0	$2,0 \times 10$	0
I	<i>Staphylococcus aureus</i>	1	0	0	$1,0 \times 10$	0
		2	0	2	0	0
		3	0	0	1	1
II	Aeróbios Mesófilos	1	$1,3 \times 10^4$	$8,0 \times 10^4$	$1,8 \times 10^5$	$1,4 \times 10^5$
		2	$2,0 \times 10^4$	$7,5 \times 10^4$	$1,1 \times 10^5$	$2,7 \times 10^4$
		3	$1,4 \times 10^4$	$4,4 \times 10^4$	$9,8 \times 10^4$	$6,1 \times 10^4$
II	Psicrotróficos	1	$3,6 \times 10^3$	$4,8 \times 10^4$	$9,3 \times 10^4$	$6,4 \times 10^4$
		2	$1,8 \times 10^3$	$2,6 \times 10^4$	$7,5 \times 10^4$	$2,0 \times 10^4$
		3	$7,0 \times 10^3$	$4,7 \times 10^4$	$2,0 \times 10^4$	$1,6 \times 10^4$
II	Coliformes Totais	1	$3,0 \times 10$	$1,1 \times 10^2$	$5,0 \times 10$	$5,0 \times 10^3$
		2	$5,0 \times 10$	$6,0 \times 10$	$9,0 \times 10^2$	$5,0 \times 10$
		3	$4,0 \times 10$	$9,0 \times 10$	$3,0 \times 10$	$8,0 \times 10^2$
II	<i>Escherichia coli</i>	1	0	0	0	$3,0 \times 10^2$
		2	0	0	0	0
		3	0	$1,0 \times 10$	1	0
II	<i>Staphylococcus aureus</i>	1	0	1	0	1
		2	0	0	0	$1,0 \times 10$
		3	1	2	1	1

Fonte: Elaboração do autor.

Tabela 4 – Contagens de micro-organismos aeróbios mesófilos, psicrotróficos, coliformes totais, *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus* (UFC/mL) em três alíquotas de amostras de ovo integral líquido armazenado em tanque de expansão, durante 72 horas, coletadas em duas repetições de um estabelecimento com quebra manual de ovos, localizado na região de Bastos-SP.

Repetição	Micro-organismo	Alíquota	Contagem de UFC/mL por horas de armazenamento			
			0	24	48	72
I	Aeróbios Mesófilos	1	$1,3 \times 10^6$	$8,2 \times 10^5$	$4,2 \times 10^6$	$7,6 \times 10^6$
		2	$1,9 \times 10^6$	$1,3 \times 10^6$	$2,9 \times 10^6$	$8,7 \times 10^6$
		3	$8,2 \times 10^5$	$7,4 \times 10^5$	$8,5 \times 10^6$	$6,1 \times 10^6$
I	Psicrotróficos	1	$6,4 \times 10^3$	$5,1 \times 10^4$	$6,3 \times 10^4$	$7,0 \times 10^4$
		2	$3,5 \times 10^4$	$5,2 \times 10^4$	$7,8 \times 10^4$	$8,2 \times 10^5$
		3	$1,2 \times 10^4$	$2,3 \times 10^4$	$9,3 \times 10^5$	$4,3 \times 10^5$
I	Coliformes Totais	1	$4,9 \times 10^4$	$3,1 \times 10^4$	$3,6 \times 10^4$	$2,4 \times 10^4$
		2	$3,8 \times 10^4$	$3,8 \times 10^4$	$3,5 \times 10^4$	$4,0 \times 10^4$
		3	$2,6 \times 10^4$	$2,2 \times 10^4$	$6,8 \times 10^4$	$3,1 \times 10^4$
I	<i>Escherichia coli</i>	1	$3,6 \times 10^4$	$2,2 \times 10^4$	$2,2 \times 10^3$	$1,0 \times 10^4$
		2	$2,8 \times 10^4$	$3,0 \times 10^4$	$1,4 \times 10^4$	$2,0 \times 10^4$
		3	$2,0 \times 10^4$	$1,6 \times 10^4$	$1,1 \times 10^4$	$1,0 \times 10^4$
I	<i>Staphylococcus aureus</i>	1	0	0	1	0
		2	1	0	1	$1,0 \times 10$
		3	0	1	0	0
II	Aeróbios Mesófilos	1	$1,2 \times 10^6$	$6,8 \times 10^5$	$1,0 \times 10^7$	$8,9 \times 10^6$
		2	$8,4 \times 10^5$	$3,4 \times 10^5$	$7,1 \times 10^6$	$7,7 \times 10^6$
		3	$1,6 \times 10^6$	$8,2 \times 10^5$	$6,1 \times 10^6$	$7,2 \times 10^6$
II	Psicrotróficos	1	$1,3 \times 10^5$	$1,4 \times 10^5$	$2,0 \times 10^6$	$3,1 \times 10^6$
		2	$6,9 \times 10^4$	$7,7 \times 10^4$	$1,7 \times 10^6$	$2,6 \times 10^6$
		3	$6,2 \times 10^4$	$1,1 \times 10^5$	$1,0 \times 10^6$	$5,1 \times 10^6$
II	Coliformes Totais	1	$1,8 \times 10^4$	$1,2 \times 10^4$	$6,2 \times 10^5$	$6,3 \times 10^4$
		2	$3,5 \times 10^4$	$1,6 \times 10^4$	$1,2 \times 10^5$	$4,6 \times 10^4$
		3	$9,0 \times 10^4$	$2,0 \times 10^4$	$4,5 \times 10^5$	$5,8 \times 10^4$
II	<i>Escherichia coli</i>	1	$5,0 \times 10^3$	$1,5 \times 10^3$	$2,6 \times 10^3$	$1,8 \times 10^3$
		2	$4,0 \times 10^3$	$1,0 \times 10^3$	$1,5 \times 10^3$	$1,0 \times 10^3$
		3	$2,2 \times 10^2$	$8,0 \times 10^2$	$1,6 \times 10^3$	$1,0 \times 10$
II	<i>Staphylococcus aureus</i>	1	0	6	$3,4 \times 10^2$	$9,0 \times 10$
		2	0	3	$1,1 \times 10^2$	$5,0 \times 10$
		3	0	7	$1,7 \times 10^2$	$7,0 \times 10$

Fonte: Elaboração do autor.

Tabela 5 – Contagens de micro-organismos aeróbios mesófilos, psicrotróficos, coliformes totais, *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus* (UFC/mL) em três alíquotas de amostras de ovo integral líquido armazenado em tanque de expansão, durante 72 horas, coletadas em duas repetições de um estabelecimento com quebra manual de ovos, localizado na região de Bastos-SP.

Repetição	Micro-organismo	Alíquota	Contagem de UFC/mL por horas de armazenamento			
			0	24	48	72
I	Aeróbios Mesófilos	1	$2,4 \times 10^5$	$3,1 \times 10^5$	$7,5 \times 10^5$	$6,2 \times 10^5$
		2	$1,1 \times 10^5$	$2,0 \times 10^4$	$9,1 \times 10^5$	$4,1 \times 10^5$
		3	$2,4 \times 10^5$	$2,3 \times 10^5$	$5,4 \times 10^5$	$6,9 \times 10^5$
I	Psicrotróficos	1	$8,0 \times 10^2$	$2,8 \times 10^5$	$6,5 \times 10^5$	$5,1 \times 10^5$
		2	$8,6 \times 10^4$	$9,0 \times 10^4$	$1,0 \times 10^5$	$2,0 \times 10^5$
		3	$3,8 \times 10^4$	$1,6 \times 10^5$	$1,6 \times 10^5$	$5,2 \times 10^5$
I	Coliformes Totais	1	$1,8 \times 10^4$	$3,6 \times 10^4$	$6,8 \times 10^4$	$1,0 \times 10^5$
		2	$1,7 \times 10^4$	$1,2 \times 10^4$	$8,3 \times 10^4$	$4,4 \times 10^4$
		3	$1,9 \times 10^4$	$2,5 \times 10^4$	$9,3 \times 10^4$	$1,3 \times 10^5$
I	<i>Escherichia coli</i>	1	$5,0 \times 10^2$	$3,3 \times 10^3$	$4,4 \times 10^3$	$3,1 \times 10^3$
		2	$1,6 \times 10^3$	$2,3 \times 10^3$	$4,4 \times 10^3$	$1,2 \times 10^3$
		3	$7,0 \times 10^2$	$3,2 \times 10^3$	$3,4 \times 10^3$	$1,4 \times 10^3$
I	<i>Staphylococcus aureus</i>	1	$2,0 \times 10$	$1,0 \times 10$	$1,0 \times 10$	$1,0 \times 10$
		2	$3,0 \times 10$	$1,4 \times 10$	$1,0 \times 10$	$1,0 \times 10$
		3	$6,0 \times 10$	$1,0 \times 10^2$	$1,0 \times 10$	$1,0 \times 10$
II	Aeróbios Mesófilos	1	$5,2 \times 10^5$	$1,8 \times 10^7$	$1,5 \times 10^6$	$2,1 \times 10^4$
		2	$4,1 \times 10^5$	$3,4 \times 10^5$	$1,3 \times 10^6$	$4,4 \times 10^4$
		3	$5,7 \times 10^5$	$1,5 \times 10^6$	$1,1 \times 10^6$	$2,0 \times 10^4$
II	Psicrotróficos	1	$1,7 \times 10^4$	$8,4 \times 10^5$	$4,3 \times 10^5$	$4,9 \times 10^8$
		2	$1,4 \times 10^3$	$2,9 \times 10^5$	$7,5 \times 10^5$	$6,5 \times 10^8$
		3	$4,5 \times 10^4$	$2,6 \times 10^5$	$1,2 \times 10^5$	$3,9 \times 10^8$
II	Coliformes Totais	1	$1,1 \times 10^5$	$3,5 \times 10^5$	$9,7 \times 10^3$	$1,9 \times 10^3$
		2	$2,3 \times 10^3$	$5,7 \times 10^3$	$2,4 \times 10^4$	$3,5 \times 10^3$
		3	$8,0 \times 10^4$	$2,9 \times 10^4$	$6,1 \times 10^3$	$2,5 \times 10^3$
II	<i>Escherichia coli</i>	1	$2,0 \times 10^3$	$1,5 \times 10^5$	$1,8 \times 10^3$	$2,0 \times 10$
		2	$2,2 \times 10^2$	$4,3 \times 10^3$	$3,0 \times 10^3$	$1,1 \times 10^2$
		3	$1,0 \times 10^3$	$1,5 \times 10^4$	$1,5 \times 10^3$	$6,0 \times 10$
II	<i>Staphylococcus aureus</i>	1	3	$1,1 \times 10^4$	$1,3 \times 10^2$	0
		2	4	$7,1 \times 10^2$	$4,5 \times 10^2$	0
		3	1	$3,0 \times 10^3$	$1,0 \times 10^3$	3

Fonte: Elaboração do autor.

Tabela 6 – Contagens de micro-organismos aeróbios mesófilos, psicrotróficos, coliformes totais, *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus* (UFC/mL) em três alíquotas de amostras de ovo integral líquido armazenado em tanque de expansão, durante 72 horas, coletadas em duas repetições de um estabelecimento com quebra manual de ovos, localizado na região de Bastos-SP.

Repetição	Micro-organismo	Alíquota	Contagem de UFC/mL por horas de armazenamento			
			0	24	48	72
I	Aeróbios Mesófilos	1	$6,0 \times 10^4$	$3,0 \times 10^4$	$6,6 \times 10^5$	$3,6 \times 10^5$
		2	$1,0 \times 10^4$	$6,0 \times 10^4$	$3,6 \times 10^5$	$1,0 \times 10^5$
		3	$2,0 \times 10^4$	$2,0 \times 10^4$	$2,0 \times 10^5$	$2,5 \times 10^5$
I	Psicrotróficos	1	$1,3 \times 10^3$	$2,0 \times 10^3$	$2,7 \times 10^4$	$5,6 \times 10^4$
		2	$2,0 \times 10^3$	$8,6 \times 10^3$	$2,6 \times 10^3$	$1,4 \times 10^4$
		3	$7,0 \times 10^2$	$1,7 \times 10^3$	$4,9 \times 10^3$	$3,6 \times 10^4$
I	Coliformes Totais	1	$1,0 \times 10^2$	$2,0 \times 10^2$	$3,3 \times 10^2$	$2,1 \times 10^3$
		2	$2,0 \times 10^2$	$1,0 \times 10^3$	$1,9 \times 10^2$	$6,8 \times 10^2$
		3	$1,1 \times 10^2$	$4,0 \times 10^2$	$2,2 \times 10^2$	$6,1 \times 10$
I	<i>Escherichia coli</i>	1	$1,0 \times 10^2$	$1,0 \times 10^2$	$3,2 \times 10^2$	$5,2 \times 10^2$
		2	$1,0 \times 10^2$	$4,0 \times 10$	$1,0 \times 10$	$5,4 \times 10^2$
		3	$2,0 \times 10$	$4,0 \times 10$	$1,0 \times 10$	$4,2 \times 10$
I	<i>Staphylococcus aureus</i>	1	0	0	0	0
		2	0	0	0	0
		3	0	0	0	0
II	Aeróbios Mesófilos	1	$2,2 \times 10^4$	$4,0 \times 10^4$	$7,4 \times 10^5$	$3,4 \times 10^6$
		2	$1,9 \times 10^4$	$3,1 \times 10^4$	$2,7 \times 10^5$	$1,9 \times 10^6$
		3	$3,0 \times 10^4$	$2,1 \times 10^4$	$3,7 \times 10^5$	$5,1 \times 10^5$
II	Psicrotróficos	1	$1,2 \times 10^4$	$1,9 \times 10^4$	$2,8 \times 10^5$	$9,2 \times 10^5$
		2	$3,6 \times 10^3$	$9,0 \times 10^3$	$1,1 \times 10^5$	$1,5 \times 10^6$
		3	$2,6 \times 10^3$	$5,5 \times 10^3$	$1,5 \times 10^5$	$7,4 \times 10^4$
II	Coliformes Totais	1	$2,9 \times 10^2$	$1,6 \times 10^3$	$4,2 \times 10^3$	$5,2 \times 10^3$
		2	$6,0 \times 10^3$	$1,1 \times 10^2$	$2,5 \times 10^3$	$1,2 \times 10^4$
		3	$2,0 \times 10^2$	$1,4 \times 10^2$	$3,5 \times 10^3$	$7,1 \times 10^3$
II	<i>Escherichia coli</i>	1	0	$5,0 \times 10$	$1,6 \times 10^2$	$1,9 \times 10^3$
		2	0	$3,0 \times 10$	$1,1 \times 10^2$	$3,2 \times 10^3$
		3	1	$7,0 \times 10$	$1,7 \times 10^2$	$1,1 \times 10^3$
II	<i>Staphylococcus aureus</i>	1	1	1	1	0
		2	2	0	0	0
		3	0	0	1	0

Fonte: Elaboração do autor.

Tabela 7 – Presença de *Salmonella* spp. em amostras de ovo integral líquido armazenado em câmaras de resfriamento, durante 72 horas, coletadas em duas repetições entre abril e novembro de 2012, em três estabelecimentos localizados na região de Bastos-SP.

Repetição	Estabelecimento	Presença/Ausência de <i>Salmonella</i> spp. por horas de armazenamento			
		0	24	48	72
I	1	Presença	Presença	Presença	Presença
	2	Presença	Presença	Presença	Presença
	3	Ausência	Ausência	Ausência	Ausência
II	1	Presença	Presença	Presença	Presença
	2	Ausência	Ausência	Presença	Presença
	3	Presença	Ausência	Presença	Presença

Fonte: Elaboração do autor.

Tabela 8 – Presença de *Salmonella* spp. em amostras de ovo integral líquido armazenado em tanques de expansão, durante 72 horas, coletadas em duas repetições entre abril e novembro de 2012, em três estabelecimentos localizados na região de Bastos-SP.

Repetição	Estabelecimento	Presença/Ausência de <i>Salmonella</i> spp. por horas de armazenamento			
		0	24	48	72
I	1	Ausência	Presença	Presença	Presença
	2	Presença	Presença	Presença	Presença
	3	Presença	Presença	Presença	Ausência
II	1	Presença	Presença	Presença	Presença
	2	Presença	Presença	Presença	Presença
	3	Ausência	Ausência	Ausência	Presença

Fonte: Elaboração do autor.