UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos
Área de Bromatologia

Irradiação de ovo líquido, congelado e ovo, gema e clara em pó:
Redução da população de *Salmonella* Enteritidis e aspectos
sensoriais e físico-químicos

Ângela Froehlich

Tese para obtenção do grau de
DOUTOR

Orientador:
Profa. Dra. Mariza Landgraf

São Paulo
2004

Ângela Froehlich

Irradiação de ovo líquido, congelado e ovo, gema e clara em pó:
Redução da população de *Salmonella* Enteritidis e aspectos
sensoriais e físico-químicos

Comissão Julgadora
da
Tese para obtenção do grau de Doutor

Profa. Dra. Mariza Landgraf
orientador/presidente

1º. examinador

2º. examinador

3º. examinador

4º. examinador

São Paulo, 22 de abril de 2004.

Ao Laurício, pelo amor, dedicação e ao fundamental
incentivo para o meu crescimento profissional.

AGRADECIMENTOS

À Profa. Dra Mariza Landgraf, pela orientação, dedicação, confiança, incentivo e amizade ao longo desses anos.

À Profa. Dra. Maria Teresa Destro, pelos ensinamentos e amizade.

À Profa. Dra. Bernadete D. G. M. Franco, pelas oportunidades e pelo convívio.

À Dra. Anna Lúcia C. H. Villavincencio, pelo incentivo, colaboração e amizade de muito anos.

Às técnicas Lúcia e Kátia, pela amizade e enorme colaboração.

Aos colegas do laboratório de Microbiologia de Alimentos, pela amizade e colaboração.

À Vanessa Tsuhako, pelo auxílio no trabalho.

À Vanessa Vieira, pela grande amizade e fundamental auxílio no planejamento desse trabalho.

Aos grandes amigos Lina e João, por representarem tão bem a palavra coleguismo, pela hospedagem, pela grande e valiosa amizade e pelos belos momentos de descontração.

À Fundação de Apoio a Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pelo apoio financeiro para a realização desse trabalho.

A CAPEs pela concessão da bolsa de estudo.

Ao Instituto de Pesquisa de Energia Nuclear (IPEN), em especial aos engenheiros Carlos e Elizabeth, pela grande ajuda na irradiação das amostras.

Ao Prof. Dr. Jorge Mancini por permitir a utilização do Laboratório de Lípidos.

À Sadia S/A, por ceder o Laboratório de Análise Sensorial.

A Estér Yosino, pela boa vontade e auxílio na execução das análises sensoriais.

Aos degustadores do painel de especialistas pela execução dos testes de análise sensorial.

À Dra. Lícia, pela colaboração doando as amostras de ovos para esse trabalho.

Às secretárias do departamento Catarina, Tânia e Izabel pela colaboração.

Ao Jorge, Elaine e Bene da secretaria de Pós-graduação pelos serviços prestados.

À minha família pelo incentivo e principalmente por entenderem a distância.

ÍNDICE

	Página
Resumo	ix
Abstract	x
1- Introdução	01
2- Objetivos	14
3- Materiais e Métodos	15
3.1- Materiais	15
3.1.1- Amostras de ovos	15
3.1.2- Microrganismos	15
3.2- Metodologia	16
3.2.1- Preparo das amostras para a análise sensorial	16
3.2.1.1- Ovo líquido e ovo congelado	16
3.2.1.2- Gema, clara e ovo em pó	16
3.2.2- Irradiação das amostras para análise sensorial	16
3.2.2.1- Ovo líquido e ovo congelado	16
3.2.2.2- Gema, clara e ovo em pó	17
3.2.3- Análise sensorial	17
3.2.4- Avaliação da oxidação lipídica	19
3.2.5- Processo de irradiação e Microbiologia	20
3.2.5.1- Preparo e inoculação das amostras	20
3.2.5.1.1- Ovo líquido e congelado	20
3.2.5.1.3- Gema em pó, clara em pó e ovo em pó	21
3.2.5.2- Processo de irradiação	21
3.2.5.3- Avaliação microbiológica	22
3.2.5.4- Determinação da população sobrevivente de <i>Salmonella</i> Enteritidis	23
3.2.6- Determinação da dose de redução decimal D ₁₀	24
4- Resultados	25
4.1- Análise sensorial	25
4.2- Viscosidade	38

4.3- Oxidação lipídica	40
4.4- Análise microbiológica	45
4.4.1- Enumeração de aeróbios mesófilos e psicrotróficos e pesquisa de <i>Salmonella</i> em amostras de ovo líquido pasteurizado	45
4.4.2- Redução da população de <i>Salmonella</i> Enteritidis por radiação gama em ovo líquido, congelado, em pó e gema e clara em pó	45
4.4.3- Efeito pós-irradiação sobre a população de <i>Salmonella</i> Enteritidis inoculada em amostras de ovo em pó durante a estocagem	57
5- Conclusões	50
6- Referências Bibliográficas	60

RESUMO

Ovos e seus produtos derivados têm sido envolvidos em surtos de doenças transmitidas por alimentos devido à contaminação por *Salmonella* Enteritidis. A irradiação é uma das tecnologias existentes para a conservação de alimentos que poderia minimizar esse problema. O objetivo desta pesquisa foi determinar o efeito da irradiação sobre ovo líquido, ovo congelado, ovo em pó, gema em pó e clara em pó contaminados com *Salmonella* Enteritidis. As amostras de ovo líquido, clara em pó e gema em pó, inoculadas com *S. Enteritidis*, foram expostas a doses de 0,5; 1,0; 1,5; 2,0; 2,5; 3,0 kGy e as de ovo congelado e ovo em pó foram irradiadas com 0,5; 1,0; 1,5; 2,0; 2,5; 3,0; 3,5 e 4,0 kGy. Amostras não inoculadas e irradiadas e amostras não inoculadas e não irradiadas dos diferentes tipos de ovos foram testadas quanto ao odor cru, odor e sabor cozidos, cor, viscosidade e oxidação lipídica. Doses de 2,0; 3,0; 3,5; 3,0 e 3,5 kGy reduziram em 5 ciclos log a população de *S. Enteritidis* em ovo líquido, ovo congelado gema em pó, clara em pó e ovo em pó, respectivamente, com alterações levemente perceptíveis pelo painel de degustadores. A cor não sofreu alteração ou sofreu alteração moderada. As alterações mais intensas foram verificadas para viscosidade dos produtos em pó e para o aumento da concentração de malonaldeído em gema e ovo em pó. Portanto, o emprego da irradiação é factível para ovo líquido e congelado. Para os em pó, porém, deve ser ressaltado que a aplicação do processo está condicionada ao uso final do produto ao quais serão adicionados devido à alteração na viscosidade.

ABSTRACT

Eggs and their products have been incriminated in foodborne disease outbreaks due to *Salmonella* Enteritidis contamination. Irradiation is a food preservation technology that could be applied to minimize the problem. The aim of this study was to determine the effect of irradiation in liquid and frozen egg as well as in powdered egg, egg yolk and egg white spiked with *Salmonella* Enteritidis. Spiked samples of liquid egg, egg white and egg yolk were exposed to 0,5; 1,0; 1,5; 2,0; 2,5; 3,0 kGy and spiked samples of frozen and powdered egg were exposed to 0,5; 1,0; 1,5; 2,0; 2,5; 3,0; 3,5 e 4,0 kGy. Raw odour, cooked odour and taste of non inoculated and irradiated samples and non irradiated samples of egg and egg products were analysed by a trained panel. Viscosity and lipid oxidation (malonaldehyd concentration) were also determined. Doses of 2,0; 3,0; 3,5; 3,0 e 3,5 kGy reduced in 5 log the population of *S. Enteritidis* in liquid and frozen egg, powdered egg yolk, egg white and egg, respectively, with moderate alterations in relation to non irradiated samples detected by the trained panel. Viscosity and lipid oxidation in the powdered products, however, showed more intense alterations. Therefore, irradiation can be considered a feasible process for liquid and frozen egg while when applied to powdered products it should be considered the type of food product to which they will be added due to alterations in viscosity.

1- INTRODUÇÃO

A indústria avícola produz, a cada ano, milhões de ovos e derivados, isto é, ovo congelado, ovo pasteurizado ou ovo desidratado. No Brasil, segundo o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE, 2003), são produzidos, anualmente, em torno de 2 bilhões de dúzias de ovos e consumo de 94 unidades/ano/habitante. Além do alto valor nutricional, o ovo constitui uma das fontes de proteína animal mais acessível economicamente e, devido às suas propriedades funcionais, é usado em muitos produtos alimentícios como ingrediente. A clara do ovo, por exemplo, é usada para dar leveza aos alimentos, a gema para controlar a viscosidade e o ovo inteiro para dar volume e textura (FORSYTHE, 1970).

Na indústria de alimentos, o ovo - pasteurizado, congelado ou desidratado - é utilizado preferencialmente ao ovo em casca pois, além do sabor, cor, valor nutritivo e propriedades funcionais serem comparáveis aos do ovo *in natura* apresentam vantagens operacionais, como melhor qualidade, melhor estabilidade e uniformidade, economia de mão-de-obra, menor espaço para armazenamento e facilidade para medir as porções (ANON, 1998).

O ovo é constituído de aproximadamente 9,5% de casca, 63% de clara e 27,5% de gema. Se por um lado apresenta composição química rica em nutrientes o que o torna um excelente meio de cultura para microrganismos, por outro lado possui excelentes barreiras inibitórias para a multiplicação microbiana, como três estruturas externas que dificultam a entrada de microrganismos que são a membrana externa serosa da casca, a casca, que é relativamente porosa, e a membrana interna da casca. Duas outras membranas separam a clara da casca e uma outra envolve a gema

(RICKE *et al.*, 2001). Além disso, o pH da clara, que é próximo a 8 na postura, aumenta rapidamente para 9 ao entrar em contato com o ar devido à perda de CO₂ (RICKE *et al.*, 2001). Possui lisozima que lisa a parede de bactérias Gram-positivas, a conalbumina que se liga ao ferro ou a outros metais assim como a avidina que forma um complexo com a biotina o que indisponibiliza esses substratos para os microrganismos.

A clara contém entre 10,5% e 11,5% de sólidos, dos quais 86% são proteínas, 9% açúcares redutores totais (3,2% de glicose livre) e 5% são cinzas. Somente traços de lipídeos estão presentes. A gema contém 52% de sólidos, dos quais 31% são proteínas, 64% lipídeos (41,9% triglicerídeos, 18,8% são fosfolipídeos e 3,3% colesterol), 2% são carboidratos totais (0,4% de glicose livre) e 3% cinzas. Enquanto o pH da gema fresca é 6 e aumenta lentamente para 6,4 a 6,9, o pH da mistura gema e clara varia entre 7 e 7,6 que é ótimo para a multiplicação da maioria dos microrganismos (RICKE *et al.*, 2001).

O ovo fresco é geralmente estéril. No entanto, em um espaço de tempo relativamente curto após a postura, grande número de microrganismos pode ser encontrado na sua casca e, sob condições adequadas, penetrar no ovo, multiplicar-se e causar deterioração ou doença transmitida por alimentos. A facilidade com que isso ocorre está relacionada com a temperatura de estocagem, idade do ovo e nível de contaminação. Ovos estocados à temperatura ambiente (acima de 20°C) são rapidamente colonizados pelos microrganismos e, quanto maior for o tempo de estocagem em uma temperatura favorável, maior será o nível de contaminação (RICKE *et al.*, 2001).

Entre os gêneros bacterianos mais comumente envolvidos na deterioração desse alimento estão *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Proteus*, *Aeromonas*, *Alcaligenes*,

Escherichia, *Micrococcus*, *Serratia*, *Enterobacter* e *Flavobacterium* e entre os fungos *Mucor*, *Penicillium*, *Hormodendron*, *Cladosporium*. Os principais patógenos associados são *Salmonella*, *Staphylococcus*, *Campylobacter jejuni*, *Listeria monocytogenes* e *Yersinia enterocolitica* (RICKE *et al.*, 2001).

Salmonella Enteritidis é o principal patógeno associado a ovos e seus derivados.

Salmonella é um microrganismo anaeróbio facultativo, bastonete Gram-negativo pertencente à família *Enterobacteriaceae*. Tem crescimento ótimo à temperatura de 37°C, não apresenta as enzimas oxidase e catalase e cresce na presença de citrato, como única fonte de carbono (HOLT *et al.*, 1994). Encontra-se amplamente distribuída na natureza e o trato intestinal do homem e dos animais é o seu principal reservatório natural. Entre os animais, as aves são o reservatório mais importante e excretam continuamente a bactéria nas fezes o que pode causar contaminações cruzadas consideráveis nos abatedouros (FRANCO e LANDGRAF, 1996).

Apesar de não se multiplicar em alimentos com atividade de água abaixo de 0,92, pode sobreviver durante longos períodos nesses alimentos. O pH ótimo para sua multiplicação está em torno da neutralidade e valores acima de 9 e abaixo de 4 são bactericidas (D'AOUST, 2001).

Salmonella Enteritidis é um sorotipo altamente invasivo e pode causar infecções sistêmicas em galinhas poedeiras e, com a colonização de seus órgãos reprodutivos internos, os ovos podem ser contaminados antes da postura. Em consequência, a contaminação de ovos por *S. Enteritidis* ocorre muito freqüentemente em rebanhos avícolas infectados (RICKE *et al.*, 2001).

Entre os meios prováveis de contaminação de ovos estão o contato com as fezes das aves no momento da postura, a contaminação por penetração da bactéria através

de rachaduras microscópicas e/ou dos poros da casca após a lavagem e, como mais provável, a contaminação ovariana desde a formação da gema (HUMPHREY, 1989; RODRIGUE *et al.*, 1990; MINTZ, 1994). O número de células de *S. Enteritidis* no ovo, no entanto é pequeno. Surtos provocados por *S. Enteritidis* envolvem o abuso de temperatura de estocagem o que permite a sua multiplicação. Além disso, esse produto pode ser a causa de contaminação cruzada e, quando do cozimento inadequado, células microbianas sobreviverem (RICKE *et al.*, 2001).

GORDON e TUCKER (1965) demonstraram que *Salmonella* spp. tem a habilidade de passar do canal alimentar, via corrente sanguínea, para os ovários de aves. No entanto, a maior parte da contaminação ocorre após a postura do ovo e a principal via de penetração são os poros do ovo. O grau de contaminação é dado em função da higiene do local de postura e condições de manipulação após a postura, principalmente quando apresenta rachaduras (MAYES e TAKEBALLI, 1983).

A presença de *Salmonella* em alimentos é bastante conhecida como demonstrado por diversos trabalhos publicados. Entre esses citaremos alguns.

No período de janeiro de 92 a dezembro de 96, 140 cepas de *Salmonella* foram isoladas no Laboratório de Controle de Alimentos do Departamento de Inspeção Municipal de Alimentos, SEMAB, da Prefeitura Municipal de São Paulo – SP. Os sorotipos mais freqüentes foram Enteritidis (70,6%), Agona (3,7%), Brandenburg (2,9%), Hadar (2,9%) e Anatum (2,9%) (LÍRIO *et al.*, 1998).

HUMPHREY *et al.* (1989) avaliaram a presença de *S. Enteritidis* em casca de ovos e isolaram o microrganismo em 5,2% das amostras. Os autores ressaltaram que a contaminação por via endógena propicia o isolamento de *S. Enteritidis* do conteúdo de

ovos limpos e intactos que podem conter cerca de 10 células viáveis do microrganismo imediatamente após a postura.

O Centro de Controle de Doenças (CDC) dos Estados Unidos estima que somente 0,01% dos ovos estejam contaminados com *S. Enteritidis* (CDC, 1992). Porém, no Brasil, relatos sobre a ocorrência de *Salmonella* em ovos apresentam números maiores. LANGONI *et al.* (1995) constataram a ocorrência de *S. Enteritidis* em 1,96% dos ovos de galinha vendidos no comércio de Botucatu – SP, enquanto OLIVEIRA e SILVA (2000), em Campinas – SP, no período de janeiro a março de 1995, verificaram a contaminação por *S. Enteritidis* em 9,6% das cascas e 3,2% das gemas de 124 amostras contendo 10 ovos cada uma.

HOPE *et al.* (2002), nos Estados Unidos, desenvolveram um modelo matemático baseado em estudos de produção e contaminação de ovos por *S. Enteritidis* e estimaram que um em cada 20.000 ovos está contaminado com *S. Enteritidis*. Assim sendo, nesse país, são produzidos, anualmente, 2.300.000 ovos contaminados com o número de células de *S. Enteritidis*, por ovo, estando entre 1 e 400.

A sobrevivência de *S. Enteritidis* em ovo em pó já foi constatada em 35% das amostras analisadas nos Estados Unidos, 10% na Grã Bretanha, 55 das amostras canadenses (ICMSF, 1996) e em 6% das amostras importadas da antiga Iugoslávia pela Alemanha (MATIC, 1990). De acordo com RADKOWSKI (2002), na Polônia, de 9,9 a 55% das amostras examinadas estavam contaminadas, dependendo das condições de higiene e tecnologia disponível.

Na Turquia, a presença de *Salmonella* spp. foi observada em 12% das amostras de gema pasteurizada e em 10,8% das amostras de clara pasteurizada, das 125 amostras analisadas. Para ovo congelado, *Salmonella* esteve presente em 16,6% das

amostras de gema, 13,3% das amostras de clara e 10% das de ovo. Enquanto as amostras de gema pasteurizada e congelada apresentaram *Salmonella* em 10% das amostras, nas de clara pasteurizada e congelada a contaminação esteve em torno de 5,5% das amostras (BOTKA-PETRAK *et al.*, 2000).

No Brasil, SPINOSA *et al.* (2000) avaliaram a presença de *Salmonella* em amostras de ovo desidratado de duas indústrias e observaram 40% de contaminação nas amostras de clara em pó e 12% nas de ovo em pó em uma delas, e 8% de amostras de ovo em pó em uma outra, demonstrando que os processos de pasteurização e desidratação não eliminam completamente o patógeno.

O número de casos de salmonelose tem aumentado nos últimos anos em todo o mundo e, atualmente, representa um considerável problema de saúde pública mundial. A salmonelose figura como uma das mais importantes enfermidades transmitidas por alimentos, segundo a Organização Mundial da Saúde, quer seja pelo número de pessoas afetadas, pelas complicações e seqüelas deixadas pela doença, pela quantidade e volume de produtos alimentícios contaminados, ou ainda pela perda econômica com o tratamento médico/hospitalar ou re-processamento ou destruição de alimentos (CDC, 2002; PATRICK *et al.*, 2004).

Entre os anos de 1985 e 1999, nos Estados Unidos, foram relatados ao Center for Disease Control dos Estados Unidos um total de 841 surtos causados por *S. Enteritidis*. O número de surtos aumentou de 26 em 1985 para 85 em 1990 e o número de pessoas atingidas foi de 29.762 com 2.904 hospitalizadas e 79 óbitos (PATRICK *et al.*, 2004).

O maior surto provocado por *Salmonella* Enteritidis ocorreu em circunstâncias pouco comuns e envolveu 224.000 pessoas. O alimento que veiculou o microrganismo foi sorvete produzido com leite transportado em um caminhão que havia carregado ovo líquido anteriormente. Os casos foram relatados em 41 Estados dos Estados Unidos (HENNESSY *et al.*, 1996).

Na Argentina, CAFFER e EIGUER (1994) relataram, entre 1986 e 1993, a notificação de 150 surtos provocados por *S. Enteritidis* com 6.230 casos.

Na Itália, SCUDERI *et al.* (1996) relataram a ocorrência de 473 surtos envolvendo *S. Enteritidis*, com 5.650 casos no período de 1991 a 1994. Em 77% desses surtos, os ovos foram responsáveis pela contaminação.

Na América Latina, entre 1993 e 2002 foram notificados 1.222 surtos de salmonelose que envolveram 47.693 pessoas doentes e 15 óbitos. Dos 1.222 surtos, 226 (18,5%) resultaram da ingestão de alimentos contendo ovos contaminados com *Salmonella* (PANALIMENTOS, 2003).

HOPE *et al.* (2002), nos Estados Unidos, podem ocorrer 1.750.000 casos de salmonelose, por ano, devido ao consumo de ovos contaminados por *S. Enteritidis*.

No Brasil, segundo TAVECHIO *et al.* (1996), o isolamento de *S. Enteritidis* de amostras clínicas humanas e não humanas apresentou um significativo aumento a partir de 1993. De acordo com SILVA e DUARTE (2002), esse aumento é devido à importação de material genético avícola contaminado e às taxas de crescimento da avicultura brasileira que criaram condições favoráveis para a manutenção e proliferação de *S. Enteritidis* nos plantéis avícolas.

ARAÚJO *et al.* (1995) descreveram quatro surtos, em Sorocaba-SP, associados ao consumo de alimentos contendo ovos e, na região de Campinas-SP, foram

notificados 15 surtos causados por *S. Enteritidis* (PISSANI *et al.*, 1995). FUZIHARA *et al.* (1995) relataram a ocorrência de quatro surtos em Santo André-SP, no período de 1994 a 1995.

A região nordeste do Estado de São Paulo é considerada uma das áreas mais afetadas por surtos de salmonelose de origem alimentar. No período entre julho de 1993 a junho de 1997 foram notificados 23 surtos; destes, 22 (95,7%) foram veiculados por alimentos contendo ovos contaminados com *S. Enteritidis*, sendo 87% (20 surtos) associados ao consumo de alimentos à base de ovos crus e 8,7% (dois surtos) relacionados à cocção insuficiente de ovos inteiros e de alimento (nhoque) (PERESI *et al.*, 1998).

ALVES *et al.* (2001) descreveram um surto por *S. Enteritidis* ocorrido em 1996 em São Luiz-MA, que envolveu 11 pessoas. O alimento incriminado foi pavê de maracujá produzido com ovos crus.

No ano de 2002 foram notificados ao Centro de Vigilância Epidemiológica do Estado de São Paulo, 11 surtos provocados por *Salmonella* Enteritidis envolvendo 189 pessoas representando 52,4% dos casos de salmonelose do Estado (CVE/SP, 2003).

Entre 1993 e 2002, dos 307 surtos relatados pelo Brasil ao INPPAZ (Instituto Panamericano de Proteção de Alimentos), 147 (48%) foram causados por alimentos contendo ovos contaminados com *Salmonella* (PANALIMENTOS, 2003).

Na tentativa de reduzir problemas decorrentes da contaminação por microrganismos patogênicos e/ou deteriorantes, o ovo, clara e gema são submetidos à pasteurização ou à pasteurização seguida de desidratação. Nos países em

desenvolvimento, de 14 a 30% dos ovos produzidos são convertidos em ovos líquidos pasteurizados ou desidratados (DIAS *et al.*, 2002).

O processo comercial utilizado atualmente para eliminar patógenos do conteúdo dos ovos é a pasteurização e sua vida útil é de 5 e 12 dias a 9 e 2°C, respectivamente. Para estendê-la, o produto pode ser congelado ou desidratado. Porém, alterações em suas propriedades funcionais podem ocorrer durante a pasteurização e o congelamento devido à desnaturação de proteínas e modificações na textura e solubilidade (KLINE *et al.*, 1965; SUGIHARA *et al.*, 1966; HANSON *et al.*, 1974; HERALD *et al.*, 1989).

Os processos de congelamento e descongelamento de ovo podem ainda provocar alterações como gelatinização, aumento na viscosidade, mudança na cor e separação da parte sólida da líquida (BALL *et al.*, 1987). Além disso, a estocagem e o transporte do produto congelado têm seu custo elevado, quando comparado ao produto refrigerado e deve ser rapidamente consumido após o descongelamento (BALL *et al.*, 1987).

Embora o processo de secagem durante a produção de ovo em pó reduza o nível de contaminação, alguns microrganismos podem sobreviver ao tratamento e, quando o produto é adicionado aos alimentos, os microrganismos podem se desenvolver, caso encontrem condições favoráveis (DÓKA *et al.*, 1997).

Devido à possibilidade de sobrevivência de microrganismos nos ovos, inclusive patógenos como *Salmonella*, tornou-se evidente a necessidade de estudos de métodos de conservação mais apropriados para aumentar a segurança microbiológica e a vida útil do produto. Nesse cenário, o processo de irradiação surge como uma possibilidade na tentativa de reduzir a população de *Salmonella* para níveis considerados seguros.

O principal objetivo desse processo em alimentos é torná-los seguros através da redução da população de microrganismos patogênicos para números não detectáveis e aumentar a vida útil do produto, através da redução da população de microrganismos deteriorantes. Talvez nenhum outro processo tecnológico tenha sido tão estudado e avaliado. Apesar de as bases científicas e seus mecanismos de ação já estarem totalmente compreendidos pela comunidade científica e as agências internacionais reguladoras considerarem-na um processo tradicional, a grande maioria das indústrias de alimentos ainda receia utilizá-la como etapa do processamento.

Apesar de muitos países permitirem o uso desse processo em alimentos, apenas alguns o utilizam. No Brasil, a primeira legislação sobre o emprego da radiação ionizante como processo de conservação foi estabelecida através do Decreto-Lei nº 72.718, de 29 de agosto de 1973 (BRASIL, 1973). As portarias nº 09 de 8 de março de 1985 e nº 30 de 25 de setembro de 1989, aprovadas posteriormente pela Divisão de Vigilância Sanitária de Alimentos, foram revogadas pela Resolução RDC nº 21 de 26 de janeiro de 2001, da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) (BRASIL, 2001). Tendo como base as conclusões a que chegou o grupo de estudo formado pela FAO/IAEA/WHO (1999) e adotada pelo Codex Alimentarius (1999), a legislação brasileira aprova o uso da radiação em qualquer alimento com qualquer dose, desde que sejam observadas as seguintes condições: a) a dose mínima absorvida deve ser suficiente para alcançar a finalidade pretendida; b) a dose máxima absorvida deve ser inferior àquela que comprometa as propriedades funcionais e/ou atributos sensoriais dos alimentos; c) a embalagem deve ter condições higiênicas aceitáveis para o processo de irradiação e d) o rótulo do produto deve conter os dizeres “ALIMENTO TRATADO POR IRRADIAÇÃO”.

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

a) raios gama de radionucleotídeos como Cobalto 60 (^{60}Co), com energia máxima de 1,332 MeV e meia vida de 5,263 anos, e Césio 137 (^{137}Cs) com energia máxima de 0,662 MeV e meia vida de 30 anos;

b) raios X gerados por máquinas operando com energia de até 5 MeV;

c) elétrons gerados por máquinas operando com 10 MeV ou abaixo desse valor.

As radiações produzidas por raios gama são as mais utilizadas no processamento de alimentos por terem poder de penetração maior do que o proveniente de feixes de elétrons (DIEHL, 1995).

A proporção da redução da população microbiana está diretamente relacionada com a dose absorvida de radiação utilizada (MURANO, 1995). Essa dose é controlada pela intensidade de radiação e pelo tempo de exposição do alimento. A unidade de dose utilizada atualmente é o Gray (Gy) que equivale a 1 Joule (J) de energia absorvida por 1 kg de produto irradiado (DIEHL, 1995). A taxa de dose de radiação é a energia absorvida por unidade de tempo (DIEHL, 1995).

A irradiação é um processo atraente para produtos termossensíveis, como o ovo, porque o aumento da temperatura durante o processo é praticamente nulo, e as perdas de aroma, sabor, cor, e qualidade nutricional, são minimizadas (RADOMYSKY *et al.*, 1994).

Fatores como temperatura, a presença ou ausência de oxigênio e o estado físico do alimento afetam diretamente o resultado do processo uma vez que podem facilitar ou dificultar a difusão dos radicais livres formados pela ação do raio ionizante sobre a molécula de água (URBAIN, 1986; DIEHL, 1995).

O alvo da radiação ionizante é o DNA do material biológico. Além do dano no DNA, a radiação também causa alterações na membrana celular, afetando o transporte de substâncias essenciais para a atividade celular e tem efeito sobre as enzimas e sobre os processos de síntese (URBAIN, 1986). As consequências das alterações causadas são variáveis, sendo a sensibilidade diretamente proporcional a complexidade do organismo (URBAIN, 1986). Enquanto a dose necessária para destruir animais superiores varia de 0,005 a 0,1 kGy, para vírus ela está entre 10 e 200 kGy. Para as células vegetativas bacterianas, é de 0,5 a 10 kGy e, para os esporos, entre 10 e 50 kGy. Essas doses são explicadas pelo tamanho do genoma: o genoma dos mamíferos fornece um número maior de informações genéticas do que o da bactéria ou de um vírus sendo, portanto, maior e atingido mais facilmente (URBAIN, 1986).

Para se determinar a radiosensibilidade de um microrganismo, emprega-se a dose de redução decimal (D_{10}) que é aquela necessária para inativar 90% da população de um determinado microrganismo (DIEHL, 1995).

De acordo com MURANO (1995), a radiosensibilidade dos microrganismos é afetada por vários fatores, como o tipo de microrganismo, a presença ou não de oxigênio, temperatura e fase da curva de crescimento em que o microrganismo se encontra (DIEHL, 1995; MONK *et al.*, 1995).

A irradiação vem sendo utilizada, em alguns países, para tratar ovo líquido, congelado e em pó (BROGLE *et al.*, 1957; NICKERSON *et al.*, 1957). Na Croácia são irradiados ovo congelado e em pó, com doses de até 3,0 kGy; na França, a irradiação de ovos com até 4,0 kGy foi aprovada em 1990; no México são utilizadas doses de até 5,0 kGy para ovos desidratados e na África do Sul e na antiga Iugoslávia ovo desidratado é irradiado com doses de até 10 kGy (IAEA, 1998).

A irradiação de ovos e derivados tem sido usada como uma alternativa à pasteurização térmica para eliminar *Salmonella* uma vez que requer 5,02 Kcal Kg⁻¹, quando se emprega dose de 2,5 kGy (HUANG *et al.*, 1997), enquanto para pasteurização térmica são necessários 9,07 Kcal Kg⁻¹ (MA, 1996).

A irradiação pode reduzir consideravelmente os gastos com os tratamentos para salmonelose originada pela ingestão de alimentos preparados com ovos, clara e gema contaminados por ser mais eficiente na redução de *Salmonella* sp e conservar melhor as características nutricionais e sensoriais. No entanto, na literatura consultada foram encontrados poucos relatos sobre a redução de *S. Enteritidis* em ovos e seus derivados através do processo de irradiação, havendo, então, a necessidade de estudos mais aprofundados para viabilizar o emprego dessa tecnologia.

2- OBJETIVOS

Os objetivos desta pesquisa foram:

- avaliar o efeito da radiação ionizante, sobre a população de *Salmonella* Enteritidis inoculada nas amostras de ovo líquido e congelado e nas amostras de gema, clara e ovo em pó.
- estudar a viabilidade do processo de irradiação através da análise sensorial e da análise da viscosidade de ovo líquido, de ovo congelado, de gema em pó, de clara em pó e de ovo em pó;

3- MATERIAIS E MÉTODOS

A pesquisa foi realizada no laboratório de Análises Microbiológicas de Alimentos do Departamento de Alimentos e Nutrição Experimental da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da USP, em colaboração com o Instituto de Pesquisa de Energia Nuclear (IPEN) e o laboratório de Análise Sensorial da Sadia S.A.

3.1- Materiais

3.1.1- Amostras de Ovos

As amostras de ovo líquido pasteurizado, gema em pó, clara em pó e ovo em pó foram gentilmente cedidas por uma indústria, localizada no Estado de São Paulo-SP.

3.1.2- Microrganismos

- *Salmonella* Enteritidis ATCC 13070;
- *Salmonella* Enteritidis isolada de ovo cru, fornecida pelo Instituto Adolfo Lutz, São Paulo; e
- *Salmonella* Enteritidis isolada de carne crua, fornecida pelo Instituto Adolfo Lutz, São Paulo.

3.2- Metodologia

3.2.1- Preparo das Amostras para a Análise Sensorial

3.2.1.1- Ovo líquido e Ovo congelado

Para cada uma das doses de irradiação, foram utilizados 300 mL de ovo líquido, acondicionados em embalagens de polietileno e seladas na presença de ar. As amostras de ovo líquido foram armazenadas a 4°C até o momento da irradiação e as de ovo congelado em freezer –70° C, 24 horas antes da irradiação.

3.2.1.2- Gema, Clara e Ovo em pó

Para cada uma das doses de irradiação, foram utilizados 50 g de amostra, acondicionados em embalagens de polietileno impermeáveis à umidade e seladas na presença de ar. As amostras, pertencentes a um mesmo lote, foram armazenadas à temperatura ambiente até o momento da irradiação (12 horas em média).

3.2.2- Irradiação das Amostras para Análise Sensorial

As amostras foram transportadas às instalações de irradiação do Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares – SP (IPEN/CNEN). Foi utilizada fonte de ⁶⁰Co, irradiador Gamma Cell-220 (Atomic Energy of Canada, LTD, Ottawa, Canadá).

3.2.2.1- Ovo líquido e Ovo congelado

As amostras foram transportadas em caixas com isolamento térmico. As amostras de ovo líquido foram mantidas sob refrigeração e as de congelado em freezer –18°C até o momento da irradiação. As doses empregadas foram 0,5; 1,0;

1,5; 2,0; 2,5 e 3,0 kGy para o líquido e 0,5; 1,0; 1,5; 2,0; 2,5; 3,0; 3,5 e 4,0 kGy para o congelado. A taxa de dose do irradiador foi de 5,72 kGy/h para ovo líquido e 5,53 kGy/h para o congelado.

3.2.2.2- Gema, Clara e Ovo em pó

As amostras foram mantidas à temperatura ambiente até o momento da irradiação. As amostras de gema e clara em pó foram irradiadas com doses de 0,5; 1,0; 1,5; 2,0; 2,5 e 3,0 kGy e as de ovo em pó com doses de 0,5; 1,0; 1,5; 2,0; 2,5; 3,0; 3,5 e 4,0 kGy. A taxa de dose do irradiador foi de 5,35 kGy/h para a gema em pó, 5,23 kGy/h para a clara em pó e 5,59 para o ovo em pó.

3.2.3- Análise Sensorial

Após a irradiação, as amostras foram submetidas à avaliação sensorial considerando os atributos odor do ovo cru e odor e sabor do ovo cozido. O teste sensorial aplicado foi o de Análise Descritiva e Quantitativa (ADQ) (STONE e SIEDES, 1985).

Os provadores foram treinados utilizando amostras do produto irradiado e não irradiado (testemunha) que posteriormente utilizaram a seguinte escala para avaliação de odor e sabor do produto:

- (9) Extremamente mais forte que o padrão
- (8) Muito mais forte que o padrão
- (7) Moderadamente mais forte que o padrão
- (6) Ligeiramente mais forte que o padrão
- (5) Igual ao padrão

- (4) Ligeiramente mais fraco que o padrão
- (3) Moderadamente mais fraco que o padrão
- (2) Muito mais fraco que o padrão
- (1) Extremamente mais fraco que o padrão

Para avaliação do sabor do produto, as amostras de ovo líquido foram adicionadas de sal e cozidas durante 2 minutos em forno microondas. As amostras de ovo congelado foram descongeladas sob refrigeração e em seguida preparadas da mesma forma que as amostras de ovo líquido.

As amostras de gema em pó, clara em pó e ovo em pó foram reconstituídas com água (uma parte de ovo para três partes de água) e preparadas de forma análoga às amostras de ovo líquido e congelado.

Os resultados individuais de cada provador, para cada atributo, foram estatisticamente avaliados por Análise de Variância (ANOVA) e pelo teste de médias (Teste de Dunnet) a 5% de probabilidade.

Os parâmetros L (luminosidade), a (vermelho + ao verde -) e b (amarelo + ao azul -), que se relacionam com a cor, foram determinados com espectrofotômetro (Minolta – mod CM. 5089, Japão). A viscosidade das amostras dos diferentes tipos de ovos foi determinada empregando-se viscosímetro Viscometer (mod. DV II+, Brookfield Digital, Boston - USA). A determinação foi realizada a uma velocidade de 60 rpm. Para as amostras em pó foi necessária uma etapa de reconstituição. As amostras de ovo em pó e gema em pó foram reconstituídas com água numa proporção de uma parte de ovo para três partes de água (1:3), enquanto as de clara em pó foram reconstituídas na proporção de 1:7. Cada uma das avaliações foi repetida três vezes.

3.2.4- Avaliação da Oxidação Lipídica

Após exposição à radiação, as amostras foram submetidas à avaliação da oxidação lipídica pela determinação direta dos valores de ácido tiobarbitúrico (TBA) (VYNCKE, 1970).

Para as amostras de ovo líquido e congelado foram utilizados 10 mL de cada dose de irradiação e para o produto em pó 5 g que foram adicionados de 10 mL de ácido tricloroacético (TCA) e agitadas com auxílio de agitador magnético durante 10 minutos para completa homogeneização. Após agitação, a mistura foi filtrada em papel filtro até alcançar 10 mL em balão volumétrico. Cinco mL do filtrado foram adicionados a 5 mL de TBA, em tubo com tampa de rosca, e mantidos em banho-maria fervente durante 40 minutos, em capela de exaustão. Após a fervura, as amostras foram deixadas esfriar durante 15 minutos. Após esse período, as tampas dos tubos foram afrouxadas para que o vapor fosse liberado e deixadas em repouso por mais 15 minutos para total resfriamento. O conteúdo dos tubos foi transferido para tubos de leitura e a absorvância foi determinada em comprimento de onda de 538 nm em espectrofotômetro (SPECTRONIC 20D, Milton Roy Company – USA) (VYNCKE, 1970).

As amostras de clara em pó não foram submetidas à análise de oxidação lipídica, pois apresenta apenas traços de lipídeos em sua composição.

3.2.5- Processo de Irradiação e Microbiologia

3.2.5.1- Preparo e Inoculação das Amostras

As culturas de *S. Enteritidis*, mantidas a 4°C em ágar tripticase soja (TSA - OXOID, Basingstoke, UK) foram ativadas, separadamente, em caldo tripticase soja (TSB - OXOID) adicionado de 0,6% de extrato de levedura (OXOID) (TSBYE) e incubadas a 37°C durante 24 horas. Posteriormente, uma alíquota foi semeada na superfície de TSA adicionado de 0,6% de extrato de levedura (TSAYE) e incubada a 37°C por 24 horas. Três colônias isoladas foram inoculadas em 50 mL de TSBYE e incubadas, sob agitação (140 rpm) (agitador, mod. Innova 4000, New Brunswick, West Hempstead, NY, USA), durante 12 horas a 37°C. Para a determinação da população de *S. Enteritidis*, 1 mL dessa cultura foi diluída em 9 mL de salina 0,85% (NaCl) até a diluição 10^{-8} e 1 mL, das três últimas diluições (10^{-6} , 10^{-7} e 10^{-8}) foi semeado, em duplicata, em placas adicionadas de TSAYE e incubadas durante 24h/37°C. Após incubação, foi realizada a contagem em placas contendo entre 25 e 250 colônias e calculado o número de unidades formadoras de colônia por mL (UFC mL⁻¹). Essa determinação foi repetida por três vezes.

3.2.5.1.1- Ovo Líquido e Congelado

Um mL da cultura (população de 10^9 a 10^{10} UFC mL⁻¹), obtida no item anterior, foi adicionado a 99 mL de ovo líquido de modo a obter a população de 10^7 a 10^8 UFC mL⁻¹ e homogeneizado com auxílio de agitador magnético. Em cada experimento esta etapa foi repetida 4 vezes de modo a se obter 400 mL de ovo líquido contaminado. Os 400 mL foram distribuídos em alíquotas de 25 mL em

embalagens de polietileno e mantidas sob refrigeração até o momento da irradiação.

As amostras de ovo congelado foram submetidas a esse mesmo procedimento mas as embalagens foram armazenadas em freezer -70°C até o momento da irradiação.

Para cada dose foram utilizadas duas embalagens. Os experimentos foram repetidos três vezes.

3.2.5.1.3- Gema em Pó, Clara em Pó e Ovo em pó

As amostras de 99 g de ovo, gema e clara em pó foram inoculadas com 1 mL da cultura (população de 10^9 a 10^{10} UFC mL^{-1}) atingindo a população de 10^7 a 10^8 UFC g^{-1} e homogeneizadas manualmente com bastão de vidro estéril. As amostras inoculadas foram distribuídas em alíquotas individuais de 25 g em embalagens de polietileno e mantidas sob temperatura ambiente até o momento da irradiação. Em cada experimento foram utilizadas 18 alíquotas para a gema em pó, 14 para a clara em pó e 180 para ovo em pó. Para cada dose foram empregadas duas embalagens, exceto para o ovo em pó onde foram usadas 20 alíquotas por dose, pois foram realizadas análises de enumeração para *S. Enteritidis* ao longo de 6 meses de estocagem. O experimento foi repetido três vezes.

3.2.5.2- Processo de Irradiação

As amostras de ovo líquido e congelado foram irradiadas como descrito no item 3.2.2.1 e as em pó como em 3.2.2.

3.2.5.3- Avaliação Microbiológica

Antes da inoculação, todos os lotes de ovo (líquido e em pó, gema e clara em pó) foram avaliados quanto à sua microbiota inicial.

População de bactérias aeróbias mesófilas e psicrotróficas: 25 g ou mL de cada lote dos diferentes tipos de produto foram diluídos em 225 mL de solução salina fisiológica estéril e homogeneizados em homogeneizador de pistões tipo "stomacher" (Seward 400, London, U.K.). Após a homogeneização, foram feitas diluições decimais sucessivas em salina fisiológica. Três diluições sucessivas foram semeadas, em duplicata, em TSAYE e incubadas a 37°C durante 48 horas para mesófilos e para os psicrotróficos as mesmas três diluições foram semeadas e incubadas a 7°C durante 10 dias. Após incubação, para as duas determinações, a contagem foi realizada nas placas contendo entre 25 e 250 colônias e calculado o número de unidades formadoras de colônia por mL ou g (UFC mL⁻¹ ou g⁻¹) (MORTON, 2001 e COUSIN *et al.*, 2001).

A avaliação para microrganismos aeróbios psicrotróficos foi realizada apenas para o produto líquido.

Pesquisa de *Salmonella*: todos os lotes correspondentes de cada experimento realizado foram avaliados quanto a presença de *Salmonella*. Na etapa de pré-enriquecimento, vinte e cinco mL ou g foram adicionados de 225 mL de caldo lactosado e incubado a 37°C durante 24 horas. Na segunda etapa, de enriquecimento seletivo, 1 mL do pré-enriquecimento foi transferido para tubo contendo 10 mL de Caldo Tetrationato (TT - OXOID) e 0,1 mL para tubo contendo 10 mL de Rappaport-Vassiliadis (RV - OXOID). O caldo de tetrationato foi incubado a 37°C/ 24h e o de RV a 42°C/24h (ANDREWS *et al.*, 2001).

Na etapa de inoculação em meios seletivos diferenciais, placas de ágar Bismuto Sulfito (BS - OXOID), ágar Hektoen enteric (HE - OXOID) e ágar xilose lisina desoxicolato (XLD - OXOID) foram semeadas com inóculos provenientes dos caldos de enriquecimento seletivo. As seis placas foram incubadas a 37°C durante 24 horas. No ágar HE foram observadas colônias transparentes, verde-azuladas, com ou sem centro negro; no ágar BS, colônias marrons ou negras com ou sem brilho metálico e no ágar XLD colônias transparentes com ou sem centro negro (ANDREWS *et al.*, 2001). As colônias suspeitas foram submetidas a testes bioquímicos em meios EPM (ref.) , MILi (ref.) e citrato com posterior confirmação através de aglutinação em lâmina com soro polivalente para *Salmonella* (Probac do Brasil, São Paulo, BR).

3.2.5.4- Determinação da População Sobrevivente de *Salmonella* Enteritidis

Após a irradiação das amostras de ovo 25 mL ou g foram homogeneizados em 225 mL de TSBYE, durante 30 segundos, em homogeneizador de pistões tipo “stomacher” e incubadas a 37°C durante uma hora para recuperação de células injuriadas pelo processo de irradiação (RAY, 1989). Em seguida, foram feitas diluições decimais sucessivas em solução salina fisiológica. Três diluições sucessivas foram semeadas em profundidade, em duplicata, em TSAYE e incubadas a 37°C durante 48 horas. A enumeração das colônias foi realizada em placas contendo de 25 a 250 colônias e relatada como UFC mL⁻¹. Três colônias de cada placa foram submetidas a testes bioquímicos em meios EPM, MILi e citrato,

com posterior confirmação através de aglutinação em lâmina com soro polivalente para *Salmonella*. O resultado foi expresso em UFC por mL ou g de ovo.

As amostras de ovo congelado foram descongeladas previamente durante 4 horas sob refrigeração e analisada de maneira análoga ao acima descrito.

3.2.6- Determinação da Dose de Redução Decimal (D_{10})

A dose de redução decimal (D_{10}) para *Salmonella* Enteritidis nas amostras estudadas foi determinada através da análise de regressão linear.

4- RESULTADOS E DISCUSSÃO

Para que o processo de irradiação de um alimento seja utilizado com sucesso é necessário que as alterações que ocorrem na estrutura de seus compostos químicos não o torne inaceitável para o consumidor. Apesar dessas alterações serem verificadas através de análises químicas, é a análise sensorial que determinará a aceitação ou não do produto uma vez que nem sempre a alteração é detectada pelo consumidor.

As diferentes amostras – ovo líquido, ovo congelado, gema em pó, clara em pó e ovo em pó – após exposição à irradiação foram analisadas quanto ao odor cru, odor cozido e sabor cozido, cor por aparelho e viscosidade.

4.1- Análise sensorial

A Tabela 1 apresenta os resultados da avaliação dos atributos sensoriais de amostras de ovo líquido testemunha (não irradiado) e irradiado. Os parâmetros odor cru, odor cozido e sabor cozido apresentaram alterações, estatisticamente significativas, a partir da dose de 1,0 kGy, sendo considerados na faixa de 1,0 a 2,5 kGy como ligeiramente mais fortes que a testemunha e, a partir da dose de 3,0 kGy, como moderadamente mais forte (Tabela 1).

Para as amostras de ovo congelado (Tabela 2), a alteração no atributo sabor cozido só foi percebida pelo painel de degustadores a partir de 3,5 kGy, considerada apenas ligeiramente mais forte que a testemunha.

O parâmetro odor cru para ovo congelado apresentou diferença significativa entre as amostras irradiadas e a testemunha já a partir de 0,5 kGy, com amostras

irradiadas apresentando alteração ligeiramente mais forte (nota 6 – doses de 1,0 e 1,5 kGy) e moderadamente mais forte (nota 7- doses a partir de 2,0 kGy) que a testemunha (nota 5) (Tabela 2).

Após o cozimento, as amostras de ovo congelado apresentaram comportamento similar às de ovo líquido para o atributo odor cozido, com a alteração sendo detectada com a dose de 1,0 kGy para os dois casos. A diferença é notada com a dose de 3,0 kGy que ocasionou uma alteração moderadamente mais forte no ovo líquido e que só foi verificada com a dose de 4,0 kGy nas amostras de ovo congelado.

Quando comparados os dois tipos de ovos, esses parâmetros mostram que a maior diferença é para o atributo sabor cozido que no caso de ovo líquido foi considerado moderadamente mais forte com a dose de 3,0 kGy (Tabela 1), enquanto para o congelado essa alteração foi constatada com doses a partir de 3,5 kGy (Tabela 2).

As diferenças observadas entre os atributos analisados dos dois tipos de ovo resultam da maior atividade de água do ovo líquido. Os radicais formados pela ação do raio ionizante sobre a molécula de água são altamente reativos e reagem com outras moléculas presentes no substrato. Quando a atividade de água é baixa, como no caso de ovo congelado, a mobilidade desses radicais fica comprometida, o que impede a reação com moléculas do alimento e conseqüente produção de compostos que modificam as suas características organolépticas. Os lipídeos são os componentes do alimento mais sensíveis à radiação. Em conseqüência são formados triglicerídeos, aldeídos, ésteres, cetonas,

hidrocarbonetos e diglicerídeos que provocam alterações no sabor e odor dos alimentos.

Tabela 1: Avaliação dos atributos sensoriais “odor cru”, “odor cozido” e “sabor cozido” de ovo líquido exposto às diferentes doses de radiação gama.

Dose (kGy)	Odor Cru	Odor Cozido	Sabor Cozido
0,0	5,00 ^{c*}	5,00 ^c	5,00 ^c
0,5	5,00 ^c	5,00 ^c	5,00 ^c
1,0	6,00 ^b	6,00 ^b	6,00 ^b
1,5	6,00 ^b	6,00 ^b	6,00 ^b
2,0	6,75 ^a	6,00 ^b	6,00 ^b
2,5	6,00 ^b	6,00 ^b	6,00 ^b
3,0	7,00 ^a	7,00 ^a	6,75 ^a

(9) Extremamente mais forte que o padrão; (8) Muito mais forte que o padrão; (7) Moderadamente mais forte que o padrão; (6) Ligeiramente mais forte que o padrão; (5) Igual ao padrão; (4) Ligeiramente mais fraco que o padrão; (3) Moderadamente mais fraco que o padrão; (2) Muito mais fraco que o padrão; (1) Extremamente mais fraco que o padrão

* letras diferentes numa mesma coluna significam que houve diferença com a amostra testemunha (teste de Dunnet a 5% de probabilidade)

Tabela 2: Avaliação dos atributos “odor cru”, “odor cozido” e “sabor cozido” de ovo congelado exposto às diferentes doses de radiação gama.

Dose (kGy)	Odor Cru	Odor Cozido	Sabor Cozido
0,0	5,00 ^{d*}	5,00 ^c	5,00 ^c
0,5	5,75 ^c	5,00 ^c	5,00 ^c
1,0	6,00 ^b	6,00 ^b	5,00 ^c
1,5	6,00 ^b	5,00 ^c	5,00 ^c
2,0	7,00 ^a	6,00 ^b	5,37 ^{cb}
2,5	7,00 ^a	6,00 ^b	5,00 ^c
3,0	6,00 ^b	6,00 ^b	5,00 ^c
3,5	6,00 ^b	6,00 ^b	5,75 ^b
4,0	7,00 ^a	7,00 ^a	6,75 ^a

(9) Extremamente mais forte que o padrão; (8) Muito mais forte que o padrão; (7) Moderadamente mais forte que o padrão; (6) Ligeiramente mais forte que o padrão; (5) Igual ao padrão; (4) Ligeiramente mais fraco que o padrão; (3) Moderadamente mais fraco que o padrão; (2) Muito mais fraco que o padrão; (1) Extremamente mais fraco que o padrão

* letras diferentes numa mesma coluna significam que houve diferença com a amostra testemunha (teste de Dunnet a 5% de probabilidade)

A cor é um importante parâmetro de qualidade do ovo e os carotenóides são os principais pigmentos presentes. Essas substâncias sofrem oxidação pelos mesmos mecanismos dos lipídeos e do colesterol (DU e AHN, 2000) estando, portanto, sujeitas à alteração pelos raios gama.

Nenhuma das amostras de ovo líquido apresentou alteração quanto à luminosidade ("L") (Tabela 3). Por outro lado, as amostras de ovo congelado irradiado apresentaram, de maneira geral, valores de "L" maiores do que a testemunha, o que é traduzido por cor mais clara (Tabela 4).

Os valores para os parâmetros "a" (cor vermelha) e "b" (cor amarela), no entanto, apresentaram o mesmo comportamento para os dois tipos de ovo e foram diminuindo com o aumento das doses, resultando em uma cor amarela-avermelhada mais clara (Tabelas 3 e 4).

Os resultados obtidos na presente pesquisa concordam com os de MA *et al.* (1990), TELLEZ *et al.* (1995) e HUANG *et al.* (1997), enquanto WONG *et al.* (1996) e SERRANO *et al.* (1997) não observaram alteração da cor em amostras irradiadas de ovos inteiros, ovo líquido e gema e clara líquidas.

Tabela 3: Média dos valores “a”, “b” e “L” para amostras de ovo líquido exposto às diferentes doses de radiação gama.

Dose (kGy)	L ¹	a ²	b ³
0,0	68,33 ^{ba*}	12,37 ^a	37,34 ^a
0,5	67,63 ^{ba}	11,59 ^b	35,36 ^{ba}
1,0	68,59 ^{ba}	11,71 ^b	35,58 ^{ba}
1,5	66,86 ^b	11,12 ^{cb}	33,17 ^{dc}
2,0	68,83 ^{ba}	11,11 ^{cb}	33,85 ^{bc}
2,5	69,11 ^{ba}	10,47 ^d	31,31 ^d
3,0	69,45 ^a	10,64 ^{cd}	32,45 ^{dc}

L¹ relacionado com a luminosidade, quanto maior o valor, mais clara a amostra; a² relacionado às cores vermelho (+) e verde (-); b³ relacionado com as cores amarelo (+) e azul (-).

*letras diferentes em uma mesma coluna significam que houve diferença com a amostra testemunha (teste de Dunnet a 5% de probabilidade)

Tabela 4: Média dos valores “a”, “b” e “L” para amostras de ovo congelado exposto às diferentes doses de radiação gama.

Dose (kGy)	L ¹	a ²	b ³
0,0	70,86 ^{b*}	11,92 ^a	37,39 ^a
0,5	72,92 ^a	11,36 ^b	35,62 ^{ba}
1,0	72,90 ^a	11,31 ^b	34,49 ^{bcd}
1,5	73,22 ^a	10,90 ^c	34,76 ^{bc}
2,0	72,72 ^a	10,72 ^{dc}	33,79 ^{bcd}
2,5	72,96 ^a	10,49 ^{de}	33,66 ^{cd}
3,0	70,75 ^b	10,61 ^d	33,99 ^{bcd}
3,5	73,54 ^a	10,28 ^{fe}	33,33 ^{cd}
4,0	73,47 ^a	10,06 ^f	32,73 ^d

L¹ relacionado com a luminosidade, quanto maior o valor mais clara a amostra; a² relacionado às cores vermelho (+) e verde (-); b³ relacionado com as cores amarelo (+) e azul (-).

*letras diferentes em uma mesma coluna significam que houve diferença com a amostra testemunha (teste de Dunnet a 5% de probabilidade)

O processo de irradiação propiciou o desenvolvimento de odores e sabores diferentes nas amostras de gema em pó a partir da exposição à dose de 0,5 kGy. Para odor cru, essa alteração variou, de maneira geral, de levemente a moderadamente mais forte que a testemunha. Para odor e sabor cozidos, no entanto, verifica-se alteração traduzida como levemente e moderadamente mais fraco que a testemunha em amostras expostas a doses acima de 2,0 kGy para odor cozido e acima de 1,5 kGy para sabor cozido (Tabela 5).

Tabela 5: Avaliação dos atributos sensoriais “odor cru”, “odor cozido” e “sabor cozido” de gema em pó exposta às diferentes doses de radiação gama.

Dose (kGy)	Odor Cru	Odor Cozido	Sabor Cozido
0,0	5,00 ^{bc*}	5,00 ^{bac}	5,00 ^{ba}
0,5	6,00 ^a	5,62 ^a	5,62 ^a
1,0	5,62 ^{ba}	5,62 ^a	6,37 ^a
1,5	6,00 ^a	5,25 ^{ba}	4,37 ^{bc}
2,0	5,37 ^{bc}	4,62 ^{bc}	4,00 ^{dc}
2,5	4,62 ^d	4,37 ^c	3,37 ^d
3,0	5,62 ^{ba}	4,37 ^c	3,37 ^d

(9) Extremamente mais forte que o padrão; (8) Muito mais forte que o padrão; (7) Moderadamente mais forte que o padrão; (6) Ligeiramente mais forte que o padrão; (5) Igual ao padrão; (4) Ligeiramente mais fraco que o padrão; (3) Moderadamente mais fraco que o padrão; (2) Muito mais fraco que o padrão; (1) Extremamente mais fraco que o padrão

* letras diferentes numa mesma coluna significam que houve diferença com a amostra testemunha (teste de Dunnet a 5% de probabilidade)

O odor cru das amostras de clara em pó irradiada apresentou alterações que podem ser consideradas mínimas e que variaram de levemente mais fraca a moderadamente mais forte que a testemunha (Tabela 6). Os atributos odor cozido e sabor cozido mostraram comportamento semelhante, conforme pode ser constatado na Tabela 6.

Tabela 6: Avaliação dos atributos sensoriais “odor cru”, “odor cozido” e “sabor cozido” de clara em pó exposta às diferentes doses de radiação gama.

Dose (kGy)	Odor Cru	Odor Cozido	Sabor Cozido
0,0	5,00 ^{dc*}	5,00 ^{cb}	5,00 ^{cb}
0,5	4,50 ^d	4,25 ^{cd}	4,25 ^{cd}
1,0	5,50 ^{bc}	5,00 ^{cb}	5,00 ^{cb}
1,5	5,12 ^{dc}	4,00 ^d	4,00 ^d
2,0	5,63 ^{bac}	4,25 ^{cd}	4,25 ^{cd}
2,5	6,25 ^a	5,25 ^b	5,25 ^b
3,0	6,00 ^{ba}	6,50 ^a	6,50 ^a

(9) Extremamente mais forte que o padrão; (8) Muito mais forte que o padrão; (7) Moderadamente mais forte que o padrão; (6) Ligeiramente mais forte que o padrão; (5) Igual ao padrão; (4) Ligeiramente mais fraco que o padrão; (3) Moderadamente mais fraco que o padrão; (2) Muito mais fraco que o padrão; (1) Extremamente mais fraco que o padrão

* letras diferentes numa mesma coluna significam que houve diferença com a amostra testemunha (teste de Dunnet a 5% de probabilidade)

As amostras de ovo em pó, por sua vez, apresentaram odor cru que foi avaliado como moderadamente mais forte a partir da dose de 2,5 kGy e os atributos odor cozido e sabor cozido não sofreram alterações tão intensas tendo sido avaliados como levemente mais forte nas doses acima e igual a 3,5 kGy (Tabela 7).

Nossos resultados são similares aos obtidos por KATUSIN-RAZEM *et al.* (1989) que não observaram alterações nos atributos sensoriais de ovo em pó exposto à dose de 2,4 kGy quando na presença de oxigênio. Na sua ausência o produto permaneceu inalterado mesmo quando exposto à dose de 5,0 kGy. A presença de oxigênio favorece a produção de radicais livres que são responsáveis por reações que alteram as características sensoriais de alimentos irradiados.

Entre os produtos desidratados, a gema foi aquela mais sensível ao processo estudado o que pode ser explicado pela sua composição química. A presença de maior teor de lipídeos na gema quando comparada ao da clara é traduzida na análise sensorial pelas diferenças nas notas atribuídas ao sabor cozido que não diferem significativamente entre as amostras de clara expostas à dose de 2,5 kGy e a testemunha (Tabela 6), enquanto para a gema a diferença é estatisticamente significativa (Tabela 5).

De um modo geral os produtos derivados de ovo que apresentam uma atividade de água maior estarão mais sujeitos a alterações nos seus atributos sensoriais devido à formação de radicais livres durante a irradiação. Por isso, ao compararmos as doses máximas para cada derivado observa-se que para ovo líquido a dose capaz de causar alteração é menor do que aquela para ovo congelado e para os produtos em pó.

Como as alterações observadas pelo painel de especialistas foram traduzidas como levemente ou moderadamente mais forte ou mais fraca, muito provavelmente, não serão observadas pelo consumidor uma vez que esses derivados de ovos são utilizados como ingrediente na indústria de alimentos.

Tabela 7: Avaliação dos atributos sensoriais “odor cru”, “odor cozido” e “sabor cozido” de ovo em pó exposto às diferentes doses de radiação gama.

Dose (kGy)	Odor Cru	Odor Cozido	Sabor Cozido
0,0	5,00 ^{c*}	5,00 ^b	5,00 ^c
0,5	5,75 ^b	5,00 ^b	5,00 ^c
1,0	6,00 ^b	5,12 ^b	5,00 ^c
1,5	6,00 ^b	5,75 ^a	5,25 ^{cb}
2,0	6,00 ^b	5,75 ^a	5,50 ^b
2,5	7,00 ^a	5,50 ^{ba}	5,50 ^b
3,0	7,00 ^a	5,75 ^a	5,00 ^c
3,5	6,75 ^a	6,00 ^a	6,00 ^a
4,0	7,00 ^a	6,00 ^a	6,00 ^a

(9) Extremamente mais forte que o padrão; (8) Muito mais forte que o padrão; (7) Moderadamente mais forte que o padrão; (6) Ligeiramente mais forte que o padrão; (5) Igual ao padrão; (4) Ligeiramente mais fraco que o padrão; (3) Moderadamente mais fraco que o padrão; (2) Muito mais fraco que o padrão; (1) Extremamente mais fraco que o padrão

* letras diferentes numa mesma coluna significam que houve diferença com a amostra testemunha (teste de Dunnett a 5% de probabilidade)

IJICHI *et al.* (1964) e GRIM e GOLDBLITH (1965) relataram problemas relacionados com alteração de sabor de ovos inteiros irradiados, enquanto MA *et al.* (1993) detectaram alteração de odor em gema congelada irradiada que se intensificou com o aumento da dose de irradiação, apesar de não detectarem alteração em relação à clara congelada. A alteração foi explicada como decorrente da quebra de lipoproteínas da gema, que são mais sensíveis à radiação do que as proteínas da clara.

A luminosidade das amostras de gema em pó não foi alterada, mas os valores para a cor vermelha e amarela diminuíram a partir do emprego da dose de 2,0 e 2,5 kGy, respectivamente (Tabela 8). MA *et al.* (1993), HUANG *et al.* (1997),

FERREIRA e DEL MASTRO (1998) e DU e AHN (2000) observaram essas mesmas alterações em gema em pó irradiada.

Os parâmetros “L” e “b” para clara em pó irradiada não sofreram alteração. O parâmetro “a” apresenta valores negativos relacionados com a cor verde, pois a clara não apresenta caroteno que confere a cor vermelha à gema (Tabela 9). Para as amostras de ovo em pó irradiado constata-se diferença apenas para o parâmetro “b” para aquelas irradiadas com doses a partir de 3,0 kGy quando comparadas com a testemunha (Tabela 10).

Tabela 8: Média dos valores “a”, “b” e “L” para amostras de gema em pó exposta às diferentes doses de radiação gama.

Dose (kGy)	L ¹	a ²	b ³
0,0	86,38 ^{a*}	6,01 ^a	40,49 ^a
0,5	86,23 ^a	6,18 ^a	39,35 ^a
1,0	85,83 ^a	5,97 ^a	38,89 ^{ba}
1,5	85,71 ^a	5,79 ^a	37,54 ^{bac}
2,0	85,30 ^a	4,20 ^{cb}	35,04 ^{bac}
2,5	85,28 ^a	3,33 ^{cb}	30,84 ^{bdc}
3,0	85,06 ^a	3,22 ^{cb}	30,05 ^{dc}

L¹ relacionado com a luminosidade, quanto maior o valor mais clara a amostra; a² relacionado às cores vermelho (+) e verde (-); b³ relacionado com as cores amarelo (+) e azul (-).

*letras diferentes em uma mesma coluna significam que houve diferença com a amostra testemunha (teste de Dunnet a 5% de probabilidade)

Tabela 9: Média dos valores “a”, “b” e “L” para amostras de clara em pó exposta às diferentes doses de radiação gama.

Dose (kGy)	L ¹	a ²	b ³
0,0	92,82 ^{a*}	-0,69 ^a	16,17 ^a
0,5	94,04 ^a	-0,75 ^a	16,34 ^a
1,0	92,79 ^a	-0,76 ^a	16,40 ^a
1,5	94,16 ^a	-0,77 ^a	16,78 ^a
2,0	93,68 ^a	-1,03 ^b	16,24 ^a
2,5	93,74 ^a	-0,77 ^a	17,03 ^a
3,0	92,52 ^a	-0,66 ^a	16,92 ^a

L¹ relacionado com a luminosidade, quanto maior o valor mais clara a amostra; a² relacionado às cores vermelho (+) e verde (-); b³ relacionado com as cores amarelo (+) e azul (-).

*letras diferentes em uma mesma coluna significam que houve diferença com a amostra testemunha (teste de Dunnet a 5% de probabilidade)

Tabela 10: Média dos valores “a”, “b” e “L” para amostras de ovo em pó exposta às diferentes doses de radiação gama.

Dose (kGy)	L ¹	a ²	b ³
0,0	87,75 ^{a*}	4,73 ^a	23,06 ^{bdc}
0,5	87,60 ^a	4,67 ^{ba}	22,81 ^{dc}
1,0	87,67 ^a	4,39 ^{ba}	22,63 ^{dc}
1,5	87,43 ^a	4,48 ^{ba}	22,46 ^d
2,0	87,26 ^a	4,31 ^{ba}	22,80 ^{dc}
2,5	86,44 ^a	4,74 ^a	23,79 ^{ba}
3,0	86,39 ^a	4,72 ^a	24,00 ^a
3,5	86,41 ^a	4,73 ^a	24,21 ^a
4,0	85,27 ^a	4,25 ^b	23,46 ^{bac}

L¹ relacionado com a luminosidade, quanto maior o valor mais clara a amostra; a² relacionado às cores vermelho (+) e verde (-); b³ relacionado com as cores amarelo (+) e azul (-).

*letras diferentes em uma mesma coluna significam que houve diferença com a amostra testemunha (teste de Dunnet a 5% de probabilidade)

O ovo em pó apresentou maior estabilidade em relação à modificação da cor das amostras irradiadas pelo fato de ter uma menor atividade de água quando comparado ao ovo líquido e ovo congelado e menor conteúdo de carotenóides quando comparado com a gema em pó.

As mudanças na cor de ovo líquido, ovo congelado, gema em pó e ovo em pó são, provavelmente, causadas pela destruição dos carotenóides presentes na gema, que decaem com o aumento das doses de irradiação. KATUSIN-RAZEM *et al.* (1992) evidenciaram uma redução de 49% dessas substâncias presentes em ovo em pó irradiados com doses de 9,0 kGy e verificaram um decréscimo maior em gema em pó do que em ovo em pó.

4.2- VISCOSIDADE

A viscosidade é uma importante característica do ovo. Processos tecnológicos que alterem essa propriedade são geralmente desconsiderados pela indústria alimentícia. Os resultados obtidos na presente pesquisa para viscosidade de amostras irradiadas e não irradiadas de ovo líquido, ovo congelado, gema em pó, clara em pó e ovo em pó encontram-se na Tabela 11.

As alterações na viscosidade das amostras de ovo líquido e ovo congelado expostas à irradiação podem ser consideradas dentro de padrões normais e não afetam a qualidade do produto (Tabela 11). Resultados conflitantes sobre a influência da irradiação na viscosidade são relatados na literatura por CLARK *et al.* (1992) que observaram um aumento da viscosidade à medida que as doses de irradiação aumentavam enquanto LEPKI (1998) observou a diminuição quando expôs ovo líquido à dose de 4,0 kGy. MA (1996) constatou a diminuição da viscosidade de clara líquida irradiada explicada pela possível quebra da estrutura de proteínas e o aumento dessa propriedade em gema líquida irradiada atribuído à provável agregação e parcial desnaturação de lipoproteínas. Esse relato nos sugere que possa ocorrer um equilíbrio entre a viscosidade da clara e a da gema após a irradiação do ovo líquido.

Tabela 11. Viscosidade das amostras de ovo líquido, ovo congelado, gema em ovo, clara em pó e ovo em pó expostas à irradiação.

Dose (kGy)	Viscosidade (cP)				
	Ovo líquido	Ovo congelado	Gema em pó	Clara em pó	Ovo em pó
0,0	10,5	14,8	1.650,0	44,5	1.205,0
0,5	10,6	15,0	1.530,0	13,0	1.140,0
1,0	10,9	13,4	1.450,0	8,5	805,8
1,5	10,8	13,2	1.350,0	11,5	741,8
2,0	10,2	13,1	1.290,0	14,0	967,8
2,5	10,4	13,2	1.179,0	10,0	869,8
3,0	10,2	13,2	1.060,0	11,5	610,9
3,5	ND*	13,3	ND	ND	910,8
4,0	ND	13,2	ND	ND	665,8

* Não Determinado

Amostras de clara congelada não apresentaram alteração nessa característica provavelmente devido à proteção dada pela baixa temperatura que impediria a quebra de proteínas enquanto as de gema congelada apresentaram aumento na viscosidade (MA *et al.*, 1993).

A viscosidade dos produtos em pó, ovo, gema e clara, por sua vez, foi alterada pelo processo com a sua diminuição concomitante ao aumento da dose de irradiação. Essa alteração foi mais acentuada nas amostras de clara em pó que ao serem expostas à dose de 0,5 kGy apresentaram uma queda acentuada no valor da viscosidade. Para gema em pó a queda maior foi constatada com a dose de 3,5 kGy e para ovo em pó a maior alteração foi constatada com a de 3,0 kGy.

Os resultados obtidos para gema e ovo em pó diferem dos de LEPKI (1998) que verificaram um aumento da viscosidade tanto para as amostras irradiadas de gema como para as de ovo em pó, mas concordam com os resultados desse mesmo autor no que se refere às amostras de clara em pó irradiada que também observaram a diminuição da viscosidade.

4.3- Oxidação Lipídica

A oxidação de lipídeos pode ser constatada, quimicamente, pelo aumento da concentração de malonaldeído em um produto alimentício. Sensorialmente, pode ser detectada pelo sabor e odor de ranço. Uma das alterações que a irradiação de um alimento causa é a oxidação dos lipídeos. Dependendo da estrutura do lipídeo presente no alimento, ela ocorre com maior ou menor intensidade provocando ou não alteração no sabor e odor.

Observa-se, pela Tabela 12 e Figuras 1, 2, 3 e 4, um aumento na concentração de malonaldeído concomitante ao aumento nas doses de irradiação em todas as amostras analisadas. Porém, pode-se verificar que ela foi mais intensa nas amostras de ovo líquido e gema em pó. Nas amostras de ovo líquido tal fato é explicado pela atividade de água desse produto (0,98) que contribui para a maior mobilidade dos radicais livres que reagirão mais rapidamente com os compostos químicos. Apesar de na gema em pó a atividade de água ser baixa - 0,47 -, os lipídeos estão em proporção mais alta e mais concentrados. No ovo congelado, a água está na forma de cristais de gelo, portanto indisponível para reações químicas, o que impede a mobilidade dos radicais livres.

Tabela 12: Concentração de malonaldeído em ovo líquido, ovo congelado, gema em pó e ovo em pó irradiados com diferentes doses de radiação gama (média de três repetições).

Dose (kGy)	Concentração de malonaldeído (mg/kg)			
	Ovo líquido	Ovo congelado	Gema em pó	Ovo em pó
0,0	0,45	0,54	9,39	11,48
0,5	0,75	0,77	10,33	13,61
1,0	1,49	0,88	13,23	14,18
1,5	1,94	1,12	15,41	15,74
2,0	2,21	1,43	16,14	16,53
2,5	2,54	1,51	20,02	17,63
3,0	2,67	1,79	21,51	19,09
3,5	ND*	2,21	ND	22,01
4,0	ND	2,37	ND	24,91

* Não Determinado

Se fizermos uma analogia entre as concentrações de malonaldeído e a média das notas atribuídas às amostras de ovo líquido pelo painel de especialistas, poderemos considerar a concentração de 2,67 mg de MA Kg⁻¹ da amostra irradiada com 3,0 kGy (Figura 1 e Tabela 12) como responsável pela alteração detectada de moderadamente mais forte (Tabela 1) que a testemunha no sabor cozido do produto em questão. Para as amostras de ovo congelado, essa alteração, sabor moderadamente mais forte que a testemunha, foi detectada com a exposição à dose de 4,0 kGy (Tabela 2) e concentração de 2,37 mg de MA Kg⁻¹ (Tabela 12) e para ovo em pó a partir da dose de 3,5 kGy foi detectado sabor ligeiramente mais forte com concentrações de malonaldeído igual ou superior a

22,01 mg de MA Kg⁻¹ (Tabelas 7 e 12). No caso da gema em pó, observou-se alteração do sabor cozido para moderadamente mais fraco (Tabela 5) que a testemunha a partir da dose de 2,5 kGy e concentração de 20,02 mg de MA Kg⁻¹ (Tabela 12).

Quando comparamos as concentrações de malonaldeído nas amostras de gema em pó com as de ovo em pó (Figura 3 e 4 e Tabela 12), verifica-se que os valores são maiores para as amostras de gema em pó irradiadas com as mesmas doses que ovo em pó. Isso se deve ao fato de a gema em pó apresentar teores mais elevados de lipídeos do que o ovo em pó, sendo, portanto mais sensível ao processo de irradiação o que resulta em uma oxidação lipídica maior e, conseqüentemente, maiores concentrações de malonaldeído.

KATUSIN-RAZEM *et al.* (1992) observaram que a dose de 3,0 kGy é a limite para ovo desidratado, pois acima desse valor o processo de irradiação provoca alterações organolépticas, devido às alterações na estrutura dos lipídeos. A oxidação de lipídeos tem como consequência a perda de ácidos graxos polinsaturados e de outros ingredientes, na destruição de carotenóides e mudanças organolépticas do produto irradiado (KATUSIN-RAZEM *et al.*, 1992).

A quantidade de ácidos graxos insaturados presentes nos lipídeos da gema é bastante elevada. Os lipídeos presentes em ovos inteiros são relativamente estáveis à oxidação, mas o produto desidratado é mais sensível devido a uma maior superfície de contato com o oxigênio (ADDIS, 1986).

Figura 1: Concentração de malonaldeído em ovo líquido submetido a radiação gama com Cobalto 60. As barras verticais representam o erro padrão, n=3

Figura 2: Concentração de malonaldeído em ovo congelado submetido a radiação gama com Cobalto 60. As barras verticais representam o erro padrão, n=3

Figura 3: Concentração de malonaldeído em gema em pó submetida a radiação gama com Cobalto 60. As barras verticais representam o erro padrão, n=3

Figura 4: Concentração de malonaldeído em ovo em pó submetido a radiação gama com Cobalto 60. As barras verticais representam o erro padrão, n=3

4.4- Análise microbiológica

4.4.1- Enumeração de aeróbios mesófilos e psicrotróficos e pesquisa de *Salmonella* em amostras de ovo líquido pasteurizado

Foram detectadas populações entre 2×10^2 e 6×10^2 UFC mL⁻¹ de microrganismos aeróbios psicrotróficos, enquanto aeróbios mesófilos não foram detectados nas amostras de ovo líquido pela técnica utilizada. Esses resultados são similares aos obtidos por YORK e DAWSON (1973) que observaram populações inferiores a 3×10^2 UFC mL⁻¹ e aos de ANON (2000) cujas amostras de ovo líquido pasteurizado, analisadas rotineiramente, apresentaram populações inferiores a 10^3 UFC mL⁻¹. DIAS *et al.* (2002), por outro lado, relataram populações de aeróbios mesófilos que atingiram $1,2 \times 10^4$ UFC g⁻¹ no mesmo produto.

As amostras na forma de pó apresentaram população média de 10^2 UFC g⁻¹ de microrganismos aeróbios mesófilos. A secagem dos alimentos reduz a população microbiana sem, contudo, eliminá-la completamente.

Nenhuma amostra foi positiva para *Salmonella* spp.

4.4.2- Redução da população de *S. Enteritidis* por radiação gama em ovo líquido, congelado, em pó e gema e clara e pó.

Diversos fatores influenciam a resistência do microrganismo à irradiação. Entre eles, a forma física do alimento, a sua temperatura no momento do processo, a presença de oxigênio na embalagem, e, entre os diretamente relacionados ao microrganismo podem ser citados a sua característica, isto é, se é Gram positivo ou Gram negativo, formador de esporos e fase de desenvolvimento em que o microrganismo se encontra.

A dose de redução decimal (D_{10}) determinada para *S. Enteritidis*, inoculada em ovo líquido, variou de 0,38 a 0,41 kGy (Figura 5). Nossos resultados concordam com os de SERRANO (1997) e ABDEL e MATTAR (2001) em cujos trabalhos foram encontrados valores de 0,39 kGy e com os de FARKAS (1998) cujos valores encontram-se na faixa de 0,32 e 0,41 kGy para o mesmo microrganismo em ovos inteiros.

As doses de redução decimal podem variar quando diferentes sorotipos, de uma mesma espécie, são inoculados em um mesmo substrato. Os valores relatados por KOHLER *et al.* (1989) para *S. Tennessee* e *S. Agona* em ovo líquido variaram de 0,47 a 0,53 kGy superiores, portanto, aos encontrados em nossa pesquisa com *S. Enteritidis*. Thornley (*apud* Farkas, 1998) irradiou ovo líquido inoculado com *Salmonella* spp e encontrou valor D_{10} de 0,17 kGy, menor que os determinados em nosso experimento.

A aplicação da dose de 3,0 kGy reduziu a população de 10^8 UFC mL⁻¹ de *S. Enteritidis* inoculada em ovo líquido para níveis não detectáveis o que concorda com os resultados de TELLEZ *et al.* (1995) (Tabela 13).

SERRANO *et al.* (1997), de maneira análoga àquela aqui observada (Tabela 13), constataram a redução em 6 ciclos log da população desse sorotipo com a dose de 1,5 kGy.

Segundo HUMPHREY *et al.* (1989), a população de *S. Enteritidis* contaminante de ovos normalmente não excede a 10^3 UFC mL⁻¹. A dose de 2,5 kGy, que proporciona a redução de 6 ciclos log (5 x 0,41 kGy), garante a redução da população desse sorotipo para níveis não detectáveis, sem afetar as características organolépticas e a viscosidade do produto (Tabelas 1 e 11).

Figura 5: Comportamento de *Salmonella* Enteritidis inoculada em amostras de ovo líquido submetidas à radiação gama com doses de 0,0; 0,5; 1,0; 1,5; 2,0; 2,5 e 3,0 kGy

Tabela 13: População de *Salmonella* Enteritidis inoculada em amostras de ovo líquido irradiado (média de 2 duplicatas por experimento).

Dose de radiação (kGy)	População de <i>Salmonella</i> Enteritidis (log UFC mL ⁻¹)		
	A	B	C
0,0	7,5	8,0	7,9
0,5	5,1	5,3	5,1
1,0	4,0	4,3	4,7
1,5	2,6	2,5	2,7
2,0	1,5	1,9	1,5
2,5	0,6	0,9	0,3
3,0	ND*	ND	ND

A, B, C: três repetições.

*Não detectado

A redução da população de *S. Enteritidis* foi dificultada pelo congelamento do ovo líquido como pode ser observado ao compararmos as Tabelas 13 e 14. Enquanto no substrato líquido exposto à dose de 3,0 kGy a contagem foi inferior ao limite de detecção do método utilizado para contagem, nas amostras de ovo congelado o microrganismo foi enumerado mesmo quando do emprego da dose máxima, 4,0 kGy. (Figura 6 e Tabela 14). Com essa dose, a redução foi, em média, de 7 log, diferente do observado por Thornley (*apud* FARKAS, 1998) que constatou o mesmo nível de redução com 5 kGy.

A exposição à dose de 2,5 kGy em ovo congelado reduziu a população em 4 log (Figura 6 e Tabela 14), enquanto em amostras de ovo líquido essa mesma dose eliminou 6 ciclos (Figura 5 e Tabela 13).

Os valores de D_{10} para *S. Enteritidis* inoculada em ovo congelado variaram de 0,54 a 0,57 kGy (Figura 6), maiores do que aqueles para ovo líquido (Figura 5). A água, no caso de substrato congelado, encontra-se na forma de gelo impedindo o movimento dos radicais livres o que reduz a ação da radiação. Portanto, para reduzir uma mesma população de *S. Enteritidis* no produto congelado são necessárias doses mais elevadas de irradiação do que para o produto líquido.

Se extrapolarmos os resultados obtidos neste trabalho para as condições naturais, a população de *S. Enteritidis* não deve alcançar números tão elevados como os utilizados nesta pesquisa. Como a dose de 4,0 kGy reduziu 7 ciclos log da população do microrganismo em questão, essa dose seria suficiente para resultar na redução para níveis não detectáveis de populações maiores do que as ocasionalmente presentes em ovo congelado.

Figura 6: Comportamento de *Salmonella* Enteritidis inoculada em amostras de ovo congelado submetidas à radiação gama com doses de 0,0; 0,5; 1,0; 1,5; 2,0; 2,5; 3,0; 3,5 e 4,0 kGy

Tabela 14: População de *Salmonella* Enteritidis inoculada em ovo congelado irradiado com raios gama (média da duplicata de cada experimento).

Dose de radiação (kGy)	População de <i>Salmonella</i> Enteritidis (log UFC mL ⁻¹)		
	A	B	C
0,0	7,9	7,7	7,5
0,5	7,0	7,1	7,0
1,0	6,2	6,7	6,5
1,5	5,8	5,6	5,3
2,0	4,5	5,0	4,7
2,5	3,4	3,9	3,3
3,0	2,6	2,8	2,4
3,5	1,6	1,8	1,5
4,0	0,6	1,0	0,5

A, B, C: três repetições.

Ao empregarmos a dose máxima, 4,0 kGy, em amostras de gema em pó observa-se uma redução de 5,7 ciclos log na população de *S. Enteritidis* (Tabela 15, Figura 7) menor ainda do que aquela observada nas amostras de ovo congelado (7 log, em média) (Tabela 14).

Os valores das doses de redução decimal para gema em pó variaram de 0,71 a 0,76 kGy (Figura 7). Esses valores são elevados quando comparados aos de ovo líquido (Figura 5) e ovo congelado (Figura 6) devido à menor atividade de água do produto em pó.

Figura 7: Comportamento de *Salmonella* Enteritidis inoculada em amostras de gema em pó submetidas à radiação gama com doses de 0,0; 0,5; 1,0; 1,5; 2,0; 2,5; 3,0; 3,5 e 4,0 kGy

Tabela 15: População de *Salmonella* Enteritidis inoculada em gema em pó irradiada com raios gama (média da duplicata de cada experimento).

Dose de radiação (kGy)	População de <i>Salmonella</i> Enteritidis (log UFC g ⁻¹)		
	A	B	C
0,0	7,9	6,8	6,6
0,5	6,0	6,0	5,5
1,0	5,5	5,0	4,5
1,5	4,3	4,2	3,7
2,0	3,9	3,7	3,2
2,5	3,4	3,1	2,7
3,0	2,8	2,5	2,1
3,5	2,3	2,1	1,5
4,0	1,8	1,3	1,0

A, B, C: três repetições.

Para as amostras de clara em pó irradiadas com doses de até 3,0 kGy houve uma redução de 3,8 ciclos log (Figura 8 e Tabela 16), sendo menor do que a que ocorreu na gema em pó (Figura 7 e Tabela 15), o que sugere uma interferência da composição química do produto que apresenta elevados teores de proteína que sofrerão a ação dos raios gama, protegendo o microrganismo.

Os valores de D₁₀ para *S. Enteritidis* determinados para clara de ovo em pó foram de 0,76 a 0,86 kGy (Figura 8), iguais ou maiores do que os encontrados para gema o que também sugere uma interferência da composição química do produto.

Figura 8: Comportamento de *Salmonella* Enteritidis inoculada em amostras de clara em pó submetidas à radiação gama com doses de 0,0; 0,5; 1,0; 1,5; 2,0; 2,5 e 3,0 kGy

Tabela 16: População de *Salmonella* Enteritidis inoculada em clara em pó irradiada com raios gama (média da duplicata de cada experimento).

Dose de radiação (kGy)	População de <i>Salmonella</i> Enteritidis (log UFC g ⁻¹)		
	A	B	C
0,0	6,3	6,5	7,1
0,5	5,2	5,9	6,2
1,0	4,7	5,0	5,7
1,5	4,0	4,7	5,4
2,0	3,4	3,8	4,8
2,5	2,5	3,3	4,1
3,0	2,4	2,6	3,4

A, B, C: três repetições.

No ovo em pó irradiado com doses de até 4,0 kGy observou-se a redução da população de *S. Enteritidis* em 5,7 log, enquanto a dose de 2,5 kGy eliminou 3,8 ciclos (Figura 9 e Tabela 17), equivalente à mesma redução no ovo congelado (Figura 6 e Tabela 14) e gema em pó (Figura 7 e 15).

Quando aplicada a dose de 2,0 kGy, observa-se a redução de 3 ciclos log na população de *S. Enteritidis* (Figura 9 e Tabela 17) nas amostras de ovo em pó o que concorda com Bomar (*apud* FARKAS, 1998) e KATUSIN-RAZEM (1989) que constataram que doses similares reduziram populações semelhantes sem alterar as características sensoriais do produto.

A dose de redução decimal para *S. Enteritidis* inoculada em ovo em pó variou de 0,67 a 0,76 kGy (Figura 9) similar às encontradas para gema em pó. Doses de até 4,0 kGy que reduziriam até 5 log poderiam ser empregadas, sem alterar de maneira intensa as características organolépticas do produto.

Figura 9: Comportamento de *Salmonella* Enteritidis inoculada em amostras de ovo em pó submetidas à radiação gama com doses de 0,0; 0,5; 1,0; 1,5; 2,0; 2,5; 3,0; 3,5 e 4,0 kGy

Tabela 17: População de *Salmonella* Enteritidis inoculada em ovo em pó irradiada com raios gama (média da duplicata de cada experimento).

Dose de radiação (kGy)	População de <i>Salmonella</i> Enteritidis (log UFC g ⁻¹)		
	A	B	C
0,0	7,3	8,2	7,8
0,5	6,3	6,7	7,0
1,0	5,6	6,3	6,5
1,5	4,9	5,7	5,6
2,0	4,1	5,2	4,8
2,5	3,5	4,5	4,1
3,0	3,4	3,6	3,7
3,5	2,0	2,3	3,0
4,0	2,0	2,0	2,2

A, B, C: três repetições.

Na literatura consultada, não foram encontrados valores de D_{10} para gema e clara em pó, inoculadas com *S. Enteritidis*, mas devido às características de atividade de água podemos comparar aos relatos de D_{10} em ovo em pó. Nossos resultados das amostras de gema, clara e ovo em pó diferem dos de Thornley (*apud* FARKAS, 1998) que irradiou ovo em pó inoculado com *Salmonella* e determinou valores de D_{10} de 0,60 kGy, menores do que os determinados em nosso estudo, enquanto KOHLER *et al.* (1989) determinaram valores de D_{10} para *S. Agona* e *S. Tennessee* de 0,95 e 1,07 kGy, respectivamente, para o mesmo produto, portanto, maiores do que os aqui encontrados.

Considerando que a legislação atual vigente em nosso país, permite utilizar qualquer dose de irradiação em qualquer alimento desde que as características organolépticas não sejam afetadas, partirá de cada produtor definir a dose a ser

utilizada de acordo com estudos prévios relacionados com as alterações sensoriais decorrentes da composição do produto, neste caso, os diferentes tipos de ovos (líquido, congelado, gema em pó, clara em pó e ovo em pó) e do conhecimento prévio do nível de contaminação por *S. Enteritidis* de seu produto.

Apesar da aplicação do processo de irradiação em ovos resultar em um produto mais seguro do ponto de vista microbiológico e aumentar a vida útil do mesmo, a utilização das Boas Práticas de Produção e a Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle (HACCP) devem ser empregados de maneira efetiva na produção de ovos e derivados.

4.3.3- Efeito pós-irradiação sobre a população de *S. Enteritidis* inoculada em amostras de ovo em pó durante a estocagem

O processo de irradiação quando aplicado em alimentos pode apresentar dois efeitos distintos sobre os microrganismos; o efeito direto, onde o DNA microbiano é atingido e danificado, e o efeito indireto que é devido à ação de radicais livres formados durante a interação dos raios gama com moléculas de oxigênio e água que também danificarão o DNA. O efeito indireto pode continuar agindo sobre os microrganismos mesmo após a aplicação do processo, durante o tempo de estocagem. Para observar essa ação secundária, o comportamento da população de *S. Enteritidis* em ovo em pó irradiado foi acompanhado durante 180 dias.

Verifica-se, pela Figura 10 e Tabela 18, que o comportamento das amostras expostas às diferentes doses de radiação foi similar ao da testemunha. Constatou-se uma redução entre 1,2 e 2 log para todas as amostras analisadas ao final dos 180 dias. Esses dados discordam dos obtidos por MATIC *et al.* (1990) que observaram que 3 semanas após a exposição à dose de 1,0 kGy a redução da população de *S. Lille*, *S. Enteritidis* e *S. Typhimurium* em ovo em pó foi equivalente ao efeito imediato da dose de 3,0 kGy.

Figura 10: Efeito das doses de irradiação sobre a população de *Salmonella* Enteritidis inoculada em amostras de ovo em pó ao longo de 6 meses de estocagem

Tabela 18: Comportamento da população de *Salmonella* Enteritidis em ovo em pó irradiado durante o período de estocagem à temperatura ambiente (média de 3 repetições).

Tempo (dias)	População de <i>S. Enteritidis</i> (log UFC g ⁻¹)				
	Dose de radiação (kGy)				
	0	1	2	3	4
0	7,2	5,6	4,1	3,4	2,0
7	6,9	5,3	4,1	3,2	1,8
14	6,9	5,1	3,9	3,0	1,5
21	6,7	5,0	3,7	2,7	1,2
30	6,7	4,8	3,6	2,4	1,0
60	6,6	4,5	3,3	2,0	0,8
90	6,3	4,4	3,2	2,0	0,7
120	6,1	4,1	3,2	1,8	0,7
150	6,0	3,9	3,1	1,5	0,6
180	6,0	3,8	3,0	1,4	0,5

5- CONCLUSÕES

Baseado nas condições experimentais e nos resultados e discussão desta pesquisa, conclui-se que:

- o processo de irradiação pode ser aplicado em ovo líquido e ovo congelado, pois com a exposição desses produtos a doses de, respectivamente, 2,0 kGy e 3,0 kGy, obtém-se a redução de 5 log na população de *S. Enteritidis*, que é superior em 2 log a normalmente encontrada nesses produtos, com alterações sensoriais consideradas insuficientes para inviabilizar o processo.
- para os produtos em pó, no entanto, a aplicação da irradiação deve ser condicionada ao uso final do produto ao quais serão adicionados devido à alteração na viscosidade.

6- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABDEL, K.H.; MATTAR, Z. Heat resistance and growth of *Salmonella* Enteritidis, *Listeria monocytogenes* and *Aeromonas hydrophila* in whole liquid egg. **Acta Microbiol. Pol.**, v.50, p.27-35, 2001.
- ADDIS, P.B. Occurrence of lipid oxidation products in foods. **Food Chem. Toxicol.**, v.24, p.1021-1030, 1986.
- ALVES, L.M.C.; COSTA, F.N.; SILVA, M.I.; SALES, S.S.; CORREA, M.R. Toxinfecção alimentar por *Salmonella* Enteritidis: relato de um surto ocorrido em São Luís – MA. **Rev. Hig. Aliment.**, v.15, p.57-58, 2001.
- ANDREWS, W.H.; FLOWERS, R.S.; SILLIKER, J.; BAILEY, J.S. *Salmonella*. In: **Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods**, 4 ed. Washington: American Public Health Association (APHA), 2001. p.357-380.
- ANON. Egg Products. **American Egg Board**, 2000. <http://www.aeb.org/proc/stas/nquid-use.num>. Acesso em 14/09/2002.
- ANON. Folder – Egg – The Dream Ingredient! **Food Technol.**, v.52, 1998.
- ARAÚJO, E.; PACHECO, M.A.S.R.; BONI, R.F.; FONSECA, Y.S.K.; GELLI, D.S.; FERNANDES, S.A.; TAVECHIO, A.T. Surtos alimentares por *Salmonella* Enteritidis, associados ao consumo de alimentos à base de ovos, em Sorocaba, SP. **Rev. Hig. Aliment.**, v.9, p.24-26, 1995.
- BALL, H.R.; HAMID-SAMIMI, M.; FOEGEDING, P.M.; SWARTZEL, K.R. Functionality and microbial stability of ultrapasteurized aseptically packaged refrigerated whole egg. **J. Food Sci.**, v.52, p.1212-1218, 1987.
- BOMAR, M.T. Salmonellabekämpfung in troknei durch bestrahlung. **Arch. Lebensmit.**, v. 21, p.97, 1979 *apud* FARKAS, J. Irradiation as a method for decontaminating food. A review. **Int. J. Food Microbiol.**, v.44, p.189-204, 1998.
- BOTKA-PETRAK, K.; PETRAK, T.; MEDIC, H.; NOVAKOVIC, P. Bacteriological contamination of egg products after thermal preservation processes. **Acta Aliment.**, v.29, p.315-322, 2000.
- BRASIL. Decreto Lei nº 72.718 de 29 de agosto de 1973. Decreta a elaboração, armazenamento, transporte, distribuição, importação e exportação à venda ou entrega ao consumo de alimentos irradiados em todo o território nacional. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, 30/08/1973. Seção 1.

- BRASIL. Resolução – RDC nº 21 de 26 de janeiro de 2001. Aprova o regulamento técnico para irradiação de alimentos. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, 29/01/2001. Seção 1.
- BROGLE, R.C.; NICHESON, J.T.R.; PROCTOR, B.E.; PYNE, A.; CAMPBELL, C.; CHARMS, S.; LINEWEAR, J. **Food Res.**, v.22, p.572, 1957.
- CAFFER, M.I.; EIGUER, T. *Salmonella* Enteritidis in Argentina. **Int. J. Food Microbiol.**, v.21, p.15-19, 1994.
- CDC. Center for Disease Control. Preliminary foodnet data on the incidence of foodborne illnesses – Selected Sites, United States, 2001. **Morbid. Mortal. Week. Rep.**, v.51, p.325-329, 2002.
- CDC. Center for Disease Control. Outbreaks of *Salmonella* sorotype Enteritidis infection associated with eating raw or undercooked shell eggs – United States 1996-1998. **Morbid. Mortal. Week. Rep.**, v.49, p.73-79, 2000.
- CDC. Center for Disease Control. Outbreak of *Salmonella* Enteritidis infection associated with consumption of raw shell eggs, 1991. **Morbid. Mortal. Week. Rep.**, v.41, p.369-372, 1992.
- CLARK, D.C.; KISS, I.F.; WILDE, P.J.; WILSON, D.R. The effect of irradiation on the functional properties of spray-dried egg white protein. **Food Hydrocol.**, v.5, p.541-548, 1992.
- CODEX ALIMENTARIUS COMMISSION: Proposed draft revises general standard for irradiated foods. Nov. 1999, step 3 of approval.
- CODEX ALIMENTARIUS. Codex General Standard for Irradiated Foods. **Codex Aliment.**, v. XV, 1984.
- COUSIN, M.A.; JAY, J.M.; VASAVADA, P.C. Psychrotrophic microorganisms. In: **Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods**. 4 ed. Washington: American Public Health Association (APHA), p.159-166, 2001.
- CVE/SP– Centro de Vigilância Epidemiológica do Estado de São Paulo. http://www.cve.saude.sp.gov.br/html/hidrica/dta_estat.htm. Acesso em 25/08/2003
- D'AOUST, J.; MAURER, J. BAILEY, J.S. *Salmonella* species. In: DOYLE, M.P., BEUCHAT, L.R., MONTEVILLE, T.J. eds. **Food Microbiology: Fundamentals and Frontiers**. Washington, ASM, 2001. p. 141-178.
- DIAS, A.P.; AJZENTAL, A.; CALIL, R.M. Avaliação da microbiota pré e pós-pasteurização do ovo líquido. **Rev. Hig. Aliment.**, v.16, p.127-133, 2002.
- DIELH, J.F. **Safety of Irradiated Food**. New York, Marcel Dekker, 1995. p.345.

- DÓKA, O.; KISPÉTER, J.; BICANIC, D. The photoacoustic assessment of ⁶⁰Cirradiation induced effects in egg powders: results in the UV and visible. **Instrument. Sci. Technol.**, v.25, p.297-306, 1997.
- DU, M.; AHN, D.U. Effects of antioxidants and packaging on lipid and cholesterol oxidation and colos changes of irradiated egg yolk powder. **J. Food Sci.**, v.65, p.625-629, 2000.
- FARKAS, J. Irradiation as a method for decontaminating food. A review. **Int. J. Food Microbiol.**, v.44, p.189-204, 1998.
- FERREIRA, L.F.S.; DEL MASTRO, N. Rheological changes in irradiated chicken eggs. **Radiat. Phys. Chem.**, v.52, p.59-62, 1998.
- FORSYTHE, R.H. Eggs and egg products as functional ingredients. **The Bakers Digest**, v.45, p.40, 1970.
- FRANCO, B.D.G.M., LANDGRAF, M. Microrganismos patogênicos de importância em alimentos. In: **Microbiologia Dos Alimentos**, Atheneu, São Paulo, 1996, p.334.
- FUZHARA, T.O.; NUNES, S.M.; DAL COL, R. Surtos de toxinfecção por *Salmonella* Enteritidis. In: **Congresso Brasileiro de Microbiologia**, 18º, Santos, 1995. Anais. p.104.
- GORDON, D.F.; TUCKER, J.F. The epizootiology of *Salmonella* menston infection of fowls and the effect of feeding poultry food artificially infected with *salmonella*. **Poult. Sci.**, v.6, p.251-264, 1965.
- GRIM, A.C.; GOLDBLITH, S.A. The effect of ionizing radiation on the flavor of whole-egg magma. **Food Technol.**, n.10, p.138-140, 1965.
- HANSON, H.L.; LOWE, B.; STEWART, GF. Pasteurization of liquid egg products. The effect on performance in custards and sponge cake. **Poult. Sci.**, v.26, p.277, 1974.
- HENNESSY, T.W.; HEDBERG, C.W.; SLUTSKER, L. A national outbreak of *Salmonella* Enteritidis infectious from ice cream. **New Engl. J. Med.**, v.334, p.1281-1286, 1996.
- HERALD, T.J.; OSORIO, F.A.; SMITH, D.M. Rheological properties of pasteurized liquid whole egg during frozen storage. **J. Food Sci.**, v.54, p.35-38, 1989.
- HOPE, B.K.; BAKER, A.R.; EDEL, E.D.; HOGUE, A.T.; SCHLOSSER, W.D.; WHITING, R.; McDOWELL, R.M.; MORALES, R.A. An Overview of the *Salmonella* Enteritidis risk assessment for shel eggs and egg products. **Risk Anal.**, v.22, p.203-218, 2002.
- HOLT, J.G.; KRIEG, N.R.; SNEATH, P.H.A.; STALEY, J.T.; WILLIAMS, S.T. Facultatively anaerobic Gram-negative rods. In: **Bergey's Manual of Determinative Bacteriology**, 9 ed. Baltimore, USA. Williams and Wilkins, 1984. p.175-289.

- HUANG, S.; HERALD, T.J.; MUELLER, D.D. Effect of beam irradiation on physicochemical, and functional properties of liquid egg yolk during frozen storage. **Poult. Sci.**, v.76, p.1607-1615, 1997.
- HUMPHREY, T.J.; BASKERVILLE, A.; MAWER, S.L.; ROWE, B.; HOPPER, S. *Salmonella* Enteritidis PT4 from the contents of intact eggs: a study involving naturally infeted hens. **Epidemiol. Infect.**, v.103, p.415-423, 1989.
- IAEA - International Atomic Energy Agency, **Food Environ. Prot. Newslet.** (supplement), v.1, p.1-17, 1998.
- IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Produção de ovos de galinha. <http://www.ibge.com.br>. Acesso 18/05/2003.
- ICMSF. Microbial ecology of foods. In: **Eggs and eggs products**. Academic Press. v.2, p.564, 1996.
- IJICHI, K.; HAMMERLE, O.A.; LINWEAVER, H.; KLINE, L. **Food Technol.**, v.17, p.1658, 1964.
- KANAT, S.R.; PAUL, P.; D'SOUZA, S.F.; THOMAS, P. Effect of gamma irradiation on the lipid oxidation in chicken, lamb and buffalo meat during chilled storage. **J. Food Saf.**, v.17, p.238-294, 1997.
- KATUSIN-RAZEM, B.; MIHALJIVIC, B.; RAZEM, D. Radiation-induced oxidative chemical changes in dehydrated egg products. **J. Agricult. Food Chem.**, v.40, p.662-668, 1992.
- KATUSIN-RAZEM, B.; RAZEN, D.; MATIC, D.; MIHOKOVIC, V.; KOSTROMIN-SOOS, N.; MILANOVIC, N. Chemical and organoleptic properties of irradiated dried whole egg and egg yolk. **J. Food Protect.**, v.52, p.781, 1989.
- KLINE, L.; SUGIHARA, T.F.; BEAN, M.L.; IJICHI, K. Heat pasteurization of raw liquid egg White. **Food Technol.**, v.19, p.1709, 1965.
- KOHLER, B.; HUBNER, H.; KRAUTSCHICK, M. The use of ionizing radiation for the decontamination of salmonella-containing slaughtered broiler chickens and powdered eggs. **Z. Ges. Hyg.**, v.35, p.665-668, 1989.
- LANGONI, H.; PRADO, R.A.T.; PINTO, J.P.A.N.; BALDINI, S.; PIMENTEL, V.L. Isolamento de salmonellas em ovos de galinha oferecidos para consumo no comércio de Botucatu – SP. **Rev. Hig. Aliment.**, v.9, p.45-47, 1995.
- LEPKI, L.F.S.F. Efeito da radiação ionizante na viscosidade do ovo industrializado. São Paulo, 1998. **Dissertação de Mestrado** – Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares.

- LÍRIO, V.S.; SILVA, E.A.; STEFONI, S.; CAMARGO, D.; RECCO, E.A.P.; MALUF, Y.T.; MIYAZAWA, T.T.; NEVES, D.V.D.A.; OLIVEIRA, V.M.R. Frequência de 17 sorotipos de *Salmonella* isolados em alimentos. **Rev. Hig. Aliment.**, v.12, p.36-42, 1998.
- MA, C.Y. Effects of gamma irradiation on physicochemical and functional properties of eggs and egg products. **Radiat. Phys. Chem.**, v.48, p.375, 1996.
- MA, C.Y.; HARWALKAR, V.R.; POSTE, L.M.; SAHASRABUDHE, M.R. Effect of gamma irradiation on the physicochemical and functional properties of frozen liquid egg products. **Food Res. Intern.**, v.26, p.247-254, 1993.
- MA, C.Y.; SAHASRABUDHE, M.R.; POSTE, L.M.; HARWALKAR, V.R.; CHAMBERS, J.R.; O'HARA, K.P.J. gamma irradiation of shell eggs. Internal and sensory quality, physicochemical characteristics, and functional properties. **Can. Instit. Food Sci. Technol. J.**, v.23, p.226-232, 1990.
- MATIC, S.; MIHOKOVIC, V.; KATUSIN-RAZEM, B.; RAZEM, D. The eradication of *Salmonella* in egg powder by gamma irradiation. **J. Food Protect.**, v.53, p.111-114, 1990.
- MAYES, F.J.; TAKEBALLI, M.A. Microbial contamination of the hen's egg: a review. **J. Food Protect.**, v.46, p.1092-1098, 1983.
- MINTZ, M.L. Dose-response effects in a outbreak of *Salmonella* Enteritidis. **Epidemiol. Infect.**, v.112, p.13-23, 1994.
- MONK, J.D.; BEUCHAT, L.R.; DOYLE, M.P. Irradiation inactivation of food-borne microorganisms. **J. Food Protect.**, v.58, p.197-208, 1995.
- MORTON, R.D. Aerobic plate count. In: **Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods**. 4 ed. Washington: American Public Health Association (APHA), p.63-68, 2001.
- MURANO, E.A. Microbiology of irradiated foods. In: **Food Irradiation a Source Book**. Ames: p.29-42, Iowa State University Press, 1995.
- NICHERSON, J.T.R.; CHARM, S.E.; BROGLE, R.C.; LOCKART, E.E.; PROCTER, B.E.; LINWEAVER, H. **Food Technol.**, v.11, p. 159, 1957.
- OLIVEIRA, D.D.; SILVA, E.N. *Salmonella* em ovos comerciais: ocorrência, condições de armazenamento e desinfecção da casca. **Arq. Bras. Med. Vet. Zoot.**, v.52, p.655-661, 2000.
- PANALIMENTOS. Sistema regional de información para la vigilancia de las enfermedades transmitidas por alimentos, 2003. <http://www.panalimentos.org/sirveta>. Acesso em 27/08/2003.

- PATRICK, M.E.; ADOCK, P.M.; GOMEZ, T.M.; ALTEKRUSE, S.F.; HOLLAND, B.H.; TAUXE, R.V.; SWERDLOW, D.L. *Salmonella* Enteritidis, infections, United States, 1985- 1999. **Emerg. Infect. Diseases**. v.10, p.1-7, 2004.
- PERESI, J.T.M.; ALMEIDA, I.A.Z.C.; LIMA, S.I.; MARQUES, D.F.; RODRIGUES, E.C.A.; FERNANDES, S.A.; GELLI, G.; IRINO, K. Surtos de enfermidades transmitidas por alimentos causados por *Salmonella* Enteritidis. **Rev. Saúde Pub.**, v.32, p.477-485-3, 1998.
- PISSANI, B.; ROCHA, M.M.M.; SIMÕES, M.; PRANDI, M.^aG.; BOMWOART, P.A.G., IRINO, K.; NEVES, B.C.; BEVILACQUA, A.R.P.A. *Salmonella* Enteritidis: elucidação de surtos ocorridos na região de Campinas, de setembro de 1994 a junho de 1995. In: **Congresso Brasileiro de Microbiologia**, 18^o, Santos, 1995. Anais. P.80.
- RADKOWSKI, M. Survival of *Salmonella* spp. in whole powdered egg. **Archiv für Lebensm.**, v.53, p.60-61, 2002.
- RADOMYSKI, T.; MURANO, E.A.; OLSON, D.G.; MURANO, P.S. Elimination of pathogens of significance in food by low-dose irradiation: a review. **J. Food Protect.**, v.57, p.73-86, 1994.
- RAY, B. Enumeration of injured indicator bacteria from foods. In: **Injured Index and Pathogenic Bacteria: Occurrence and Detection in Foods, Water and Feeds**, Florida: CRC Press, 1989. p.9-54.
- 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.
- RODRIGUE, D.C.; TAWNE, R.V.; ROWE, B. International increase in *Salmonella* Enteritidis. A new pandemic? **Epidemiol. Infect.**, v.115, p.21-27, 1990.
- SCUDERI, G.; FANTASIA, M.; FILETICI, E.; ANASTASIO, M.P. Foodborne outbreaks caused by *Salmonella* in Italy, 1991-1994. **Epidemiol. Infect.**, v.116, p.257-265, 1996.
- SERRANO, L.E.; MURANO, E.A.; SHENOY, K.; OLSON, D.G. D values of *Salmonella* Enteritidis isolates and quality attributes of shell eggs and liquid whole eggs treated with irradiation. **Poult. Sci.**, v.76, p.202-205, 1997.
- SILVA, E.N.; DUARTE, A. *Salmonella* Enteritidis em aves: retrospectiva no Brasil. **Rev. Bras. Ciência Avícola**, v.4, p.85-100, 2002.
- SPINOSA, W.A.; SOARES, E.A.; SIMÕES, F.S.; SANTOS, J.; SOARES, M.S.; CALLIARI, M. Avaliação da qualidade microbiológica dos ovos desidratados empregados nas indústrias de alimentos. In: **XVII Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Fortaleza, 2000. Anais. P.3.22.

- STONE, H.; SIEDES, J.L. **Sensory Evaluation Practices**. Academic. Press. Inc., Londres, 1985.
- SUGIHARA, T.F.; IJICHI, K.; KLINE, L. Heat pasteurization of liquid whole egg. **Food Technol.**, v.20, p.1076, 1966.
- TAVECHIO, A.T.; FERNANDES, S.A.; NEVES, B.C.; DIAS, A.M.G.; IRINO, K. Changing patterns of *Salmonella* serovars: increase of *Salmonella* Enteritidis in São Paulo, Brazil. **Rev. Instit. Med. Trop. São Paulo**, v.38, p.315-322, 1996.
- TELLEZ, I.G.; TREJO, R.M.; SANCHEZ, R.E.; CENICEROS, R.M.; LUNA, Q.P.; ZAZUA, P.; HARGIS, B.M. Effect of gamma irradiation on commercial eggs experimentally inoculated with *Salmonella* Enteritidis. **Radiat. Phys. Chem.**, v.46, p.789-793, 1995.
- THORNLEY, M. Microbiological aspects of the use of radiation for the elimination of salmonellae in food and feed products. Technical Report Series n.22. **IAEA**, Vienna, p.81-106, 1963 *apud* FARKAS, J. Irradiation as a method for decontaminating food. A review. **Int. J. Food Microbiol.**, v.44, p.189-204, 1998.
- URBAIN, W.M. Radiation chemistry of food components and of foods. In: URBAIN, W.M. **Food Irradiation**. Orlando, Academic, 1986. cap.3, p.37-82.
- VYNKE, W. Direct determination of the thiobarbituric acid value in trichloroacetic acid extracts of fish as a measure of oxidative rancidity. **Fet. Seif. Anstrichm.**, v.72, p.1084-1087, 1970.
- WONG, Y.C.; HERALD, T.J.; HACHMEISTER, K.A. Comparison between irradiated and thermally pasteurized liquid egg white on functional, physical, and microbiological properties. **Poult. Sci.**, v.75, p.803-808, 1996.
- YORK, L.R.; DAWSON, L.E. Shelf-life of pasteurized liquid whole egg. **Poult. Sci.**, v.52, p.1657-1658, 1973.