

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

**Comportamento de *Salmonella* em ovo em pó em função
da Atividade de Água (Aa) e do binômio Tempo x
Temperatura de Armazenamento.**

Gunnar Martin

**Dissertação para obtenção do grau de
MESTRE**

Orientador:

**Profa. Dra. Bernadette Dora Gombossy
de Melo Franco**

São Paulo

2005

Ficha Catalográfica

Elaborada pela Divisão de Biblioteca e
Documentação do Conjunto das Químicas da USP.

Martin. Gunnar

M382c Comportamento de *Salmonella* em ovo em pó em função da
atividade de água (Aa) e do binômio tempo x temperatura de
armazenamento / Gunnar Martin. -- São Paulo, 2005.
66p.

Dissertação (mestrado) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas
da Universidade de São Paulo. Departamento de Alimentos e
Nutrição Experimental.

Orientador: Franco, Bernadette Dora Gombossy de Melo

1. Microbiologia de alimentos 2. *Samonella* : Bacteriologia
3. Ovos : Ciência dos alimentos I. T. II. Franco, Bernadette
Dora Gombossy de Melo, orientador.

664.07 CDD

Gunnar Martin

**Comportamento de *Salmonella* em ovo em pó em função
da Atividade de Água (Aa) e do binômio Tempo x
Temperatura de Armazenamento.**

**Comissão Julgadora da dissertação para obtenção do grau de
Mestre**

Prof^a. Dr^a. Bernadette D.G.M. Franco

Orientador/ Presidente

Mariça Landgraf

1^o Examinador

Rocane M^a Fortes Piazzon

2^o Examinador

22/03/2005

São Paulo, 25 de janeiro de 2005.

Dedico

Aos meus pais, Immo e Miriam, por toda paciência e carinho.

Ao meu grande irmão, Ian e a meu futuro sobrinho.

A Mônica por todo seu carinho e companheirismo.

E a meus amigos que me acompanham desde de minha infância.

Agradecimentos

À prof^ª Dr^ª Bernadette D.G.M. Franco, pela orientação, paciência e por tudo que me ensinou.

À professora Maria Teresa Destro, por ter me ajudado sempre que necessário e por ter puxado minha orelha quando necessário.

À professora Mariza Landgraf, pelo apoio no laboratório e por suas críticas construtivas feitas no exame de qualificação.

À professora Roxane Maria Fontes Piazza, por sua contribuição ao trabalho durante o exame de qualificação.

À Jane Gelinski, por ter me ensinado grande parte do que sei de microbiologia e por ter me agüentado como estagiário.

Às técnicas e grandes companheiras, Kátia e Lucia, pelo agradável convívio no laboratório e por sua grande ajuda.

Ao Paulo de Souza Costa Sobrinho por ter feito a análise estatística deste trabalho.

Aos meus amigos de laboratório: Lina, Cecília, Ângela, Tatiana, Gabriela, Daniela, Antônio, Janine, Monika, Cíntia, Cristina, Alexandra, Dory, Kátia Lima, Alcina, Cristiano, Vinícius, Ricardo, Vanessa, Vanessa Tsuhako, Patrícia, Hans, Patrícia Kary, Luciano, Fábio, Caio, Viviane e outros que passaram, pelo companheirismo e troca de conhecimentos.

À CAPES pela concessão da bolsa de estudo e à Fundação de Amparo à pesquisa (FAPESP) pelo apoio financeiro para a realização deste trabalho e a empresa Kayatonas pelo fornecimento do produto.

Às secretárias do departamento e à todos da secretaria de Pós-Graduação, pelo serviço prestado.

INDICE

1. Introdução.....	1
2. Objetivos.....	11
3. Materiais e Métodos.....	12
3.1. Materiais.....	12
3.2. Métodos.....	12
3.2.1. Manutenção da cultura de <i>Salmonella</i>	12
3.2.2. Padronização do inóculo de <i>Salmonella</i>	12
3.2.3. Preparo do ovo para inoculação experimental.....	13
3.2.4. Inoculação experimental do ovo em pó.....	13
3.2.5. Armazenamento do ovo experimentalmente contaminado.....	14
3.2.6. Enumeração de <i>Salmonella</i> no ovo.....	15
3.2.7. Contagem total de bactérias aeróbias mesófilas.....	17
3.2.8. Contagem total de coliformes.....	17
3.2.9. Análise estatística.....	18 17
4. Resultados	19
5. Discussão.....	53
6. Conclusões.....	58
7. Referência Bibliográfica.....	59
Anexos	

Resumo

Salmonella sp. é um dos principais microrganismos causadores de surtos de enfermidades transmitidas por alimentos associados ao consumo de ovos e de alimentos formulados com este ingrediente. Ovos desidratados são largamente utilizados pelas indústrias de alimentos, por oferecer maior praticidade e maior padronização em relação ao produto “in natura”. Apesar do processo tecnológico de desidratação do ovo incluir uma etapa de pasteurização, existe um risco de haver microrganismos sobreviventes, já que a pasteurização é feita em temperatura branda. Além disso, a pasteurização pode destruir os fatores intrínsecos antimicrobianos presentes na clara, possibilitando a multiplicação de microrganismos que sobreviveram ao processo de pasteurização ou que contaminaram o produto após a pasteurização. O controle da Aa do produto desidratado e o tempo de armazenamento são, portanto, fatores fundamentais para o controle da multiplicação de microrganismos indesejáveis. Nesse estudo, avaliou-se a cinética de multiplicação de *Salmonella* experimentalmente adicionada a ovo em pó Aa ajustada para 0,4, 0,6, 0,8 e 0,9, durante o armazenamento em quatro temperaturas: 8°C, 15°C, 25°C e 35°C. Os resultados indicaram que *S. Enteritidis* é capaz de sobreviver por longo tempo (pelo menos 56 dias) em ovo em pó com Aa próximo de 0,4 quando armazenado a 8°C, 15° e a 25°C. Essa sobrevivência é menor (até 28 dias) quando o armazenamento é feito a 35°C. No ovo em pó com Aa em torno de 0,6 ou 0,8, *S. Enteritidis* sobrevive por menos tempo do que no produto com Aa de cerca de 0,4, independentemente da temperatura de armazenamento. No produto com Aa de cerca de 0,9, há grande multiplicação de *S. Enteritidis* quando o armazenamento é feito a 15°C, 25°C ou 35°C. Nesse produto, o armazenamento a 8°C impede a multiplicação do patógeno. Verificou-se também que *Salmonella* Hadar, resistente a diversos antibióticos, apresentou o mesmo comportamento que *S. Enteritidis* nas amostras de ovo estudadas.

Abstract

Behavior of *Salmonella* in powdered egg according to its water activity (A_w) and time and temperature of storage.

Salmonella is one of the major foodborne pathogens associated to the consumption of eggs and foods containing eggs. Powdered eggs are widely used in the food industry because they are more convenient and uniform than the *in natura* product. Despite the existence of a pasteurization step in the drying process, *Salmonella* can survive because the pasteurization of eggs should be done under mild temperature. Moreover, pasteurization can destroy the intrinsic antimicrobial components of the albumen, making the multiplication of *Salmonella* possible when the time and temperature of storage are not appropriate. Thus, the water activity (A_w) of the product and the storage time and temperature are essential factors in the control of *Salmonella*. In this work, we evaluated the growth kinetics of *Salmonella* in experimentally inoculated powdered egg, adjusted to different A_w values (0.4, 0.6, 0.8 and 0.9) during storage at 8°C, 15°C, 25°C and 35°C, up to 8 weeks. The results indicated that *Salmonella* Enteritidis is able to survive for long time in powdered eggs (at least 56 days) when the A_w is close to 0.4 and the temperature is 8°C, or 15°C or 25°C. The survival is lower when the temperature is 35°C. When the A_w is close to 0.6 or to 0.8, the pathogen survives for less time than in the product with A_w 0.4, regardless the storage temperature. When the A_w is close to 0.9, there is an intensive growth of the pathogen when the storage is done at 15°C, 25°C or 35°C. However, storage at 8°C inhibits the growth of *Salmonella* at this A_w . *Salmonella* Hadar, resistant to several antibiotics, presented the same growth pattern as *S. Enteritidis*.

Abstract

Behavior of *Salmonella* in powdered egg according to its water activity (A_w) and time and temperature of storage.

Salmonella is one of the major foodborne pathogens associated to the consumption of eggs and foods containing eggs. Powdered eggs are widely used in the food industry because they are more convenient and uniform than the *in natura* product. Despite the existence of a pasteurization step in the drying process, *Salmonella* can survive because the pasteurization of eggs should be done under mild temperature. Moreover, pasteurization can destroy the intrinsic antimicrobial components of the albumen, making the multiplication of *Salmonella* possible when the time and temperature of storage are not appropriate. Thus, the water activity (A_w) of the product and the storage time and temperature are essential factors in the control of *Salmonella*. In this work, we evaluated the growth kinetics of *Salmonella* in experimentally inoculated powdered egg, adjusted to different A_w values (0.4, 0.6, 0.8 and 0.9) during storage at 8°C, 15°C, 25°C and 35°C, up to 8 weeks. The results indicated that *Salmonella* Enteritidis is able to survive for long time in powdered eggs (at least 56 days) when the A_w is close to 0.4 and the temperature is 8°C, or 15°C or 25°C. The survival is lower when the temperature is 35°C. When the A_w is close to 0.6 or to 0.8, the pathogen survives for less time than in the product with A_w 0.4, regardless the storage temperature. When the A_w is close to 0.9, there is an intensive growth of the pathogen when the storage is done at 15°C, 25°C or 35°C. However, storage at 8°C inhibits the growth of *Salmonella* at this A_w . *Salmonella* Hadar, resistant to several antibiotics, presented the same growth pattern as *S. Enteritidis*.

1. Introdução

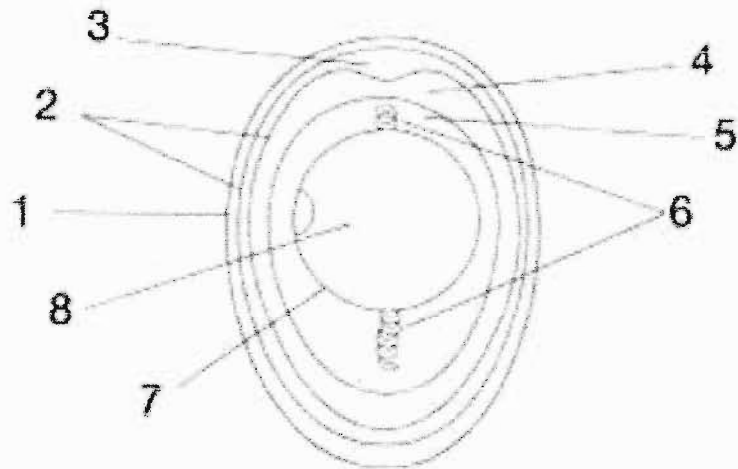
Os ovos desidratados, integrais ou apenas gemas ou claras, constituem uma alternativa tecnológica ao uso de ovos frescos na indústria de alimentos. Os ovos desidratados apresentam diversas vantagens em relação aos ovos frescos, destacando-se menor susceptibilidade à deterioração de natureza microbiana, maior uniformidade, menor custo de estocagem, eliminação da interferência da casca (que chega a representar 13% do peso do ovo) e maior flexibilidade de uso na formulação de novos alimentos (Gordon, 1971; Aguirre et al., 1979; Carvalho et al., 1994; Barretto, 2001).

A utilização de produtos de ovos (integral, clara e gema) líquidos pasteurizados ou desidratados data do início do século, passando a ser produzidos em escala industrial a partir da 2ª guerra mundial. No Brasil, a utilização de ovos desidratados em escala industrial teve início em 1989. O Brasil é um grande produtor de ovos: segundo o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, foram produzidos 2,6 bilhões de dúzias de ovos de galinha em 2002 (IBGE, 2002) e, de janeiro a junho de 2004, 942 milhões de dúzias de ovos (IBGE 2004).

O mercado de ovos desidratados, por apresentar uma produção recente no Brasil, apresenta uma grande oportunidade de crescimento, devido às suas vantagens de utilização em indústrias de massas, biscoitos, panificação, maioneses, molhos, margarinas, produtos cárneos empanados, fast-food e restaurantes industriais. Em 2000, esse mercado teve um crescimento de 20%, acreditando-se que nos próximos 10 anos a produção de ovos industrializados deva crescer 10% ao ano. Enquanto a maioria (83%) do ovo líquido pasteurizado industrializado é utilizada na fabricação de maioneses e massas, 95% dos ovos desidratados integrais destinam-se à indústria de massas e biscoitos, 80% das gemas desidratadas à fabricação de chocolates e biscoitos e 80% das claras desidratadas à indústria de marshmallow e confeitos (Barretto, 2001).

Sabe-se que os ovos apresentam estruturas que agem como barreiras de grande eficiência para a penetração e multiplicação de microrganismos. Uma das barreiras é constituída pela casca e suas membranas e outra, igualmente eficiente, são os componentes antimicrobianos da clara do ovo, entre os quais incluem-se a ovotransferrina, o pH elevado e a deficiência de ferro (Solomon et al., 1994; Sparks, 1994; Baron, Gautier & Brulé, 1997; Baron, Gautier & Brulé, 1999; Losso, Nakai & Charter, 2000; Ibrahim, 2000; Sim, Sunwoo & Lee, 2000; Mine, 2000).

Abaixo, pode-se ver um ovo esquematizado:



- | | |
|-----------------------|------------------------|
| 1. Casca | 5. Clara mais viscosa |
| 2. Membranas da casca | 6. Chalazas |
| 3. Câmara de ar | 7. Membrana vitelínica |
| 4. Clara mais fluida | 8. Gema |

Entretanto, o processo de desidratação do ovo pode alterar a eficiência destes componentes como agentes antimicrobianos. Por exemplo, Baron et al. (1999), ao inocular *Salmonella* Enteritidis em clara de ovos reconstituída a partir de clara de ovos em pó, observaram que a 30°C houve um rápido crescimento de *Salmonella*. O mesmo não foi observado em claras de ovos não submetidas à desidratação. Tal fato foi creditado à desnaturação protéica da ovotransferrina que ocorre durante o processo de secagem, levando à sua inativação.

O microrganismo patogênico de maior relevância em ovos é, sem dúvida, *Salmonella*. Algumas espécies de salmonela contaminam os ovos através de transmissão transovariana, enquanto outras penetram no ovo através de ruptura da casca contaminada com material fecal da própria ave ou durante a manipulação pelo homem (ICMSF, 1998; Jay, 2000; Franco et al., 2003).

O gênero *Salmonella* pertence à família Enterobacteriaceae e compreende bacilos Gram-negativos não produtores de esporos. A maioria é móvel, através de flagelos

peritríqueos, com exceção feita à *S. Pullorum* e *S. Gallinarum*, que são imóveis. São anaeróbios facultativos, fermentam D-glicose e outros carboidratos produzindo ácido e normalmente gás (exceto *S. Typhi*), são oxidase negativos, catalase positivos, indol e Voges-Proskauer negativos e são capazes de utilizar o citrato como única fonte de carbono. Descarboxilam lisina e ornitina, produzem H₂S e não hidrolizam uréia (Holt et al., 1994; Andrews & Hammack, 2003).

A temperatura ideal para multiplicação de *Salmonella* sp. é de 35-37°C, sendo a mínima de 5°C e a máxima de 47°C. Vários estudos indicam, no entanto, que os valores máximo e mínimo dependem do sorotipo. O pH ótimo para a multiplicação desses microrganismos é próximo de 7,0, sendo que valores podem variar entre 4,5 e 9,0 (Holt et al., 1994; Jay, 2000).

Atividade de água é um parâmetro que mede a quantidade de água livre no alimento, sendo definida como sendo a relação existente entre a pressão parcial de vapor de água contida na solução ou no alimento e a pressão parcial de vapor da água pura, a uma dada temperatura (Franco & Landgraf, 1996; Jay, 2000).

A atividade de água mínima para multiplicação de *Salmonella* é de 0,93. Este microrganismo não tolera concentrações de sal superiores a 4%, mas sua tolerância aumenta com o aumento da temperatura na faixa de 10°C a 30°C (Holt et al., 1994; Jay, 2000).

A taxonomia do gênero *Salmonella* é baseada nas características bioquímicas e sorológicas, que incluem a composição de seus antígenos de superfície, que são os antígenos somáticos (O), os flagelares (H) e os capsulares (Vi) (Holt et al., 1994; Jay, 2000).

O gênero *Salmonella* compreende duas espécies: *S. enterica* e *S. bongori*. *S. enterica* é dividida em seis subespécies: *enterica*, *salamae*, *arizonae*, *diarizonae*, *houtenae* e *indica*. Sorotipos pertencentes a *S. enterica* subespécie *enterica* são geralmente designados pelo nome do local onde o sorotipo foi isolados pela primeira vez. Esses nomes não são mais escritos em itálico e aparecem com a primeira letra maiúscula (Jay, 2000).

As doenças causadas por *Salmonella* sp. costumam ser subdivididas em três grupos: febre tifóide causada por *Salmonella Typhi*, febres entéricas causadas por *S. Paratyphi* (A, B e C) e as enterocolites (ou salmoneloses) causadas pelas demais salmonelas (Franco & Landgraf, 1996; Jay, 2000).

A febre tifóide só acomete o homem e normalmente é transmitida por água e alimentos contaminados com material fecal. Os sintomas são muito graves e incluem septicemia, febre alta, diarreia e vômitos. O reservatório de *S. Typhi* é o homem. Algumas pessoas se tornam portadores assintomáticos, que costumam ser a principal fonte de contaminação de água e

alimentos, fazendo com que alguns casos de febre tifóide sejam associados ao consumo de leite cru, mariscos e vegetais crus (Franco & Landgraf, 1996; Jay, 2000).

As febres entéricas são bastante semelhantes à febre tifóide, mas os sintomas clínicos são mais brandos. Geralmente ocorrem septicemia, vômitos e diarreia. Enquanto a febre tifóide pode se prolongar por oito semanas, as febres entéricas têm duração de, no máximo, três semanas. Estas doenças também podem ser causadas por consumo de água e alimentos, especialmente leite cru, vegetais crus, mariscos e ovos (Franco & Landgraf, 1996; Jay, 2000).

As salmoneloses caracterizam-se por sintomas que incluem diarreia, febre, dores abdominais e vômitos que aparecem, em média, 12 a 36 horas após a ingestão do microrganismo, durando entre um e quatro dias. De modo geral, a enterocolite por *Salmonella* não necessita de tratamento com antibióticos. Nos recém-nascidos e crianças pequenas, a salmonelose pode ser bastante grave, já que o microrganismo pode atingir a corrente circulatória e provocar lesões em outros órgãos. No adulto, algumas patologias, quando presentes, podem agravar a doença (Franco & Landgraf, 1996; Jay, 2000).

Hoje em dia as doenças causadas por *Salmonella* Typhi e Paratyphi são raras por causa dos sistemas de pasteurização do leite e tratamento de água (El-gazzar & Marth, 1992; Tietjen & Fung, 1995). Mas salmonelas não tifóides são comuns em alimentos até em países desenvolvidos (Bean et al., 1997; CDC, 1999, 2001; Radkowski, 2002; Hu & Kopecko, 2003).

Segundo a Organização Pan-Americana de Saúde, as doenças causadas por alimentos (DTAs) nos países latino-americanos entre 1993 e 2002 totalizaram 6.511 surtos, com 232.576 pessoas afetadas e 317 falecimentos. Segundo o SIRVETA (Sistema de Información para la Vigilancia de las Enfermedades Transmitidas por los Alimentos), as bactérias foram responsáveis por 57,05% destes surtos, sendo as salmonelas responsáveis por 871 surtos, 42.144 afetados e 15 mortes. Já no Brasil (Quadro 1), no mesmo período, foram 645 surtos, com 18.950 pessoas afetadas e 5 mortes, sendo que *Salmonella* foi responsável por 222 surtos, com 10.977 pessoas afetadas e 3 mortes (SIRVETA, 2004).

No Brasil, os ovos e seus derivados, principalmente a maionese caseira, são os principais responsáveis pelos surtos humanos envolvendo *Salmonella* (Silva & Duarte, 2002).

Quadro 1. Alimentos envolvidos nos casos de DTAs por *Salmonella* no Brasil, no ano de 1993 a 2002 (SIRVETA, 2004).

Alimentos envolvidos	Surtos	Afetados	Doentes	Mortes
	Número (%)	Número (%)	Número (%)	Número (%)
OVO-MAIONESE	152 68.47	8287 75.49	8286 75.51	1 33.33
OUTROS	18 8.11	763 6.95	762 6.94	1 33.33
CARNES VERMELHA	11 4.95	690 6.29	690 6.29	0 0.00
MISTOS	10 4.50	356 3.24	356 3.24	0 0.00
FARINÁCEOS	9 4.05	199 1.81	199 1.81	0 0.00
CARNE DE AVES	9 4.05	120 1.09	120 1.09	0 0.00
PESCADOS	3 1.35	174 1.59	174 1.59	0 0.00
HORTALIÇAS- LEGUMES	3 1.35	263 2.40	262 2.39	1 33.33
ÁGUA	3 1.35	71 0.65	71 0.65	0 0.00
SOBREMESAS	2 0.90	27 0.25	27 0.25	0 0.00
LÁCTEOS	2 0.90	27 0.25	27 0.25	0 0.00
TOTAL	222	10.977	10974	3

Os dados do SIRVETA são, entretanto, incompletos. Segundo a Divisão de Doenças de Transmissão Hídrica e Alimentar - CVE, da Secretaria Estadual de Saúde de São Paulo, somente no Estado de São Paulo ocorreram, em 2001, 392 surtos, sendo *Salmonella* responsável por 44 deles, com 671 afetados e nenhuma morte. Ainda segundo essa fonte, em 2002, ocorreram 302 surtos, sendo *Salmonella* responsável por 31 surtos com 292 afetados e nenhum óbito (CVE, 2001; 2002).

Nos últimos anos tem havido um grande aumento no surto de salmonelose em muitos países. Muitos destes surtos estão associados ao consumo de ovos crus ou mal cozidos contaminados por *S. Enteritidis*, ou por alimentos contendo ovos crus em sua composição (Dreesen et al., 1992; Palumbo et al., 1995; Altekruze et al., 1997; D'Aoust, 1997; ICMSF, 1998; Radkowski, 2002; Hanes, 2003).

Em 2000, Ebel e Schlosser desenvolveram um modelo matemático no qual estimaram que nos Estados Unidos existe um ovo contaminado com *Salmonella* Enteritidis para cada 20.000 ovos produzidos. Assumindo-se que nesse país são produzidos aproximadamente 65 bilhões de ovos por ano, pode-se estimar que aproximadamente 3,2 milhões de ovos produzidos por ano nos Estados Unidos estão contaminados com *Salmonella* Enteritidis.

Quanto aos ovos desidratados, diversos surtos de salmonelose já foram relatados, tanto pela ingestão direta do microrganismo em alimentos preparados com esse produto quanto por contaminação cruzada nos locais de preparação (ICMSF, 1998). Nos Estados Unidos, já em 1947, Solowey et al. haviam observado que, de 5198 amostras de ovo integrais desidratadas analisadas, 1810 (35%) estavam contaminadas por *Salmonella*, sendo que muitas das cepas isoladas eram as mais comuns em surtos de salmonelose. Estes autores observaram ainda que a casca era a fonte mais importante de contaminação dos ovos em pó.

Potencialmente, *Salmonella* pode permanecer viva por longo tempo em ovos desidratados, embora não seja capaz de se multiplicar. Embora a atividade de água mínima para multiplicação de *Salmonella* seja 0,93, esse patógeno é capaz de sobreviver por longo tempo em produtos desidratados com Aa inferiores a esse limite (D'Aoust, 1997). Alguns autores observaram que a sobrevivência é tanto maior quanto menor for a Atividade de Água (Juven et al., 1984; Archer et al., 1998; Jung & Beuchat, 1999), enquanto outros observaram o oposto (Licari & Potter, 1970; Christian & Stewart, 1973). Embora alguns microrganismos sejam destruídos no processo de desidratação, este não é por si só letal (Delazari, 1979; Bergquist, 1986; Carvalho et al., 1994; Abushelaibi et al., 2003).

Para eliminar o risco representado por *Salmonella* em ovos desidratados, a pasteurização dos ovos líquidos antes da desidratação é imprescindível. A temperatura de coagulação da albumina não permite o emprego de altas temperaturas para pasteurização de ovos, mesmo que as mesmas sejam estabilizadas antes do tratamento térmico. Entretanto, com a utilização da combinação correta de tempo e temperatura e de matéria-prima de boa qualidade, bem como manuseio adequado durante o processamento, *Salmonella* não deve ser encontrada em ovos desidratados (Delazari, 1979; Dias, Ajzentel & Calil, 2002).

Antes da desidratação, os ovos são submetidos aos seguintes procedimentos: lavagem, ovoscopia, quebra e separação, filtração e/ou clarificação, padronização (para que se tenha sempre a mesma proporção entre gema e clara), resfriamento e pasteurização. Após a pasteurização, a clara do ovo é ainda submetida a uma etapa denominada estabilização, que corresponde à remoção da glicose, que pode interagir com proteínas e fosfolípidos do ovo prejudicando a qualidade final do produto desidratado (Aguirre et al., 1979). A estabilização

pode ser feita de duas maneiras. Na primeira, a clara é submetida à fermentação microbiana através do uso de microrganismos específicos, que provocam a fermentação da glicose transformando-a em ácido glicônico (para isto ocorrer o pH deve ser ajustado entre 7 e 7,5). A segunda maneira é através de processo enzimático, empregando-se duas enzimas, glicoseoxidase e catalase, e peróxido de hidrogênio. A estabilização é necessária para se evitar as reações de escurecimento não-enzimático que podem surgir durante tratamentos térmico e o armazenamento do produto (Pereda et al., 2005). A filtração e/ou clarificação são empregadas para remoção das membranas, pedaços de casca e das chalazas, que são estruturas de sustentação da gema. A padronização é feita para que o ovo integral tenha 65% de clara e 35% de gema, com sólidos entre 24 e 25%. O teor de sólidos na gema é 44 a 45% e na clara, 12 a 13%. A pasteurização é feita entre 57°C e 66°C por aproximadamente 3,5 minutos. A secagem é feita em spray-drier de torre. De cada 1000 kg de ovo in natura, obtém-se 213 kg de ovo integral desidratado, sendo 72 kg de clara em pó e 158 kg de gema em pó. O teor de umidade destes produtos é 3-4%. Os produtos desidratados são embalados em sacos de polietileno atóxico e papel kraft multifolhado. A vida de prateleira é de 6 meses, quando armazenados em local fresco, arejado e isento de insetos e roedores (Barretto, 2001).

Todas as etapas do processo de fabricação do ovo em pó devem ser cuidadosamente monitoradas e controladas, para que não haja alteração das propriedades funcionais da clara e da gema do ovo, a fim de que possam ser utilizadas satisfatoriamente aos fins desejados.

O processo de desidratação do ovo está apresentado na Figura 1.

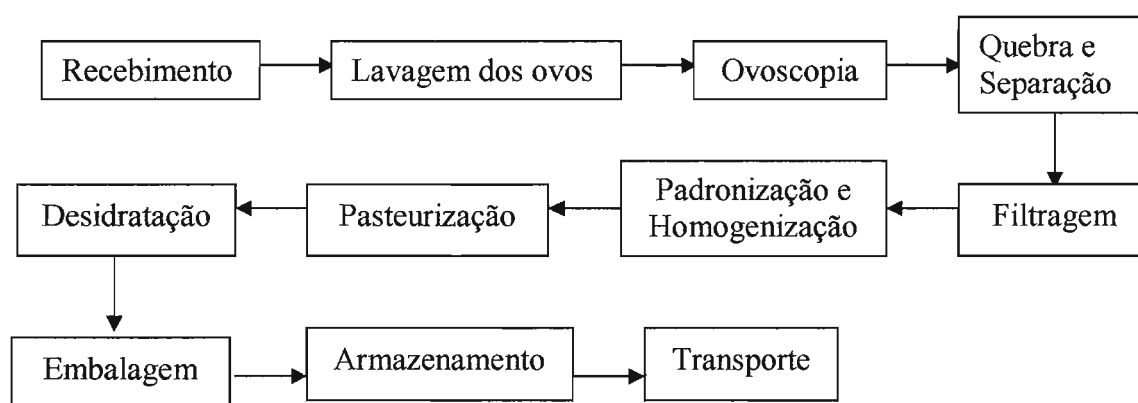


Figura 1. Fluxograma resumido do processo de desidratação do ovo. Fonte: Kayatonas Indústria e Comércio Ltda.

A presença de salmonela em ovos pasteurizados desidratados é consequência de uma pasteurização inadequada de ovos previamente contaminados com este patógeno ou de contaminação pós-pasteurização. Um aumento proposital ou acidental do teor de umidade durante a estocagem leva à multiplicação microbiana, oferecendo um sério risco para a saúde do consumidor (ICMSF, 1998; Dias, Ajzentel & Calil, 2002). A capacidade de sobrevivência e de multiplicação deste patógeno em ovos desidratados (claras, gemas ou ovo integral) é diferente da que se observa em ovos inteiros. Alguns estudos recentes, simulando o período entre a ovoposição e o equilíbrio da temperatura interna do ovo, mostraram que *S. Enteritidis* multiplica-se bem e rapidamente na gema do ovo a 25°C em 2-3 dias, mas multiplica-se muito devagar na clara (Gast-Richard & Holt-Peter, 2000). Em ovos desidratados, a multiplicação de *Salmonella* depende da atividade dos agentes antimicrobianos naturalmente presentes nos ovos que ainda permaneçam ativos após as etapas de processamento tecnológico, da Atividade de Água do produto desidratado e da temperatura de armazenamento.

Com relação à Atividade de Água, estudos realizados ainda na década de 60 mostraram que a adição de 10 a 15% de sal a gemas mantidas a 12°C e 22°C resultava no mesmo efeito que a conservação das gemas a 4°C, ou seja, inibição da multiplicação de *Salmonella* (Banwart, 1964). Em estudo realizado por Cotteril & Glaubert, 1972, *Salmonella* Oranienburg foi inoculada em gema de ovo líquida contendo diferentes concentrações de cloreto de sódio (10, 14, 18, 22, 25 e 35%) e armazenada a -25°C, 16°C, 25°C e 36°C. O isolamento de *Salmonella* na gema de ovo foi possível durante 28 semanas a -25°C, durante 4 a 13 semanas à temperatura de 25°C e 1 a 3 semanas a 36°C.

Em relação à sobrevivência de *Salmonella* em ovos desidratados, Jung & Beuchat, 1999, observaram que a 13°C *S. Typhimurium* era completamente inativada quando a Atividade de Água estava entre 0,29 e 0,37. No entanto, foi verificado que a sobrevivência de *S. Typhimurium* a 13°C era maior que a 37°C. Verificou-se também que a 13°C a manutenção da viabilidade celular foi maior em Aa entre 0,51 e 0,61 do que entre 0,29 e 0,37. A inativação do patógeno foi mais rápida em clara de ovo desidratada suplementada com xarope de milho ou com sal de forma a resultar em Aa entre 0,51 e 0,61, armazenada a 37°C. Esses autores concluíram que, dependendo do nível de contaminação inicial, a pasteurização e posterior desidratação de ovos podem não ser suficientes para garantir a total ausência de *Salmonella* nestes produtos.

Uma característica preocupante das cepas de *Salmonella* isoladas de alimentos nos últimos anos é o surgimento de linhagens resistentes aos antibióticos utilizados na prática médica e veterinária (D'Aoust, 1989, 1997; Hanes, 2003). No Brasil, Pereira et al., 1989,

detectaram que quase 90% das cepas de *Salmonella* isoladas de amostras de lingüiça frescal eram resistentes à tetraciclina, 61% à cefalotina e 58% à neomicina. Reis et al., 1995, observaram que 100% das cepas de *Salmonella* sp. em produtos cárneos crus e processados mostraram-se resistentes a rifampicina, 97,2% à tetraciclina, 94,4% à estreptomicina e 86,1% a ampicilina. Ao analisar surtos alimentares por *Salmonella* Enteritidis associados ao consumo de alimentos à base de ovos, Araújo et al., 1995, verificaram que todas as cepas isoladas eram resistentes ao sulfazotrim. Tais fatos foram creditados ao uso indiscriminado de antimicrobianos para o controle de enfermidades dos animais.

A relação entre a resistência a essas drogas e uma provável resistência de *Salmonella* a agentes físicos de conservação de alimentos ainda não está suficientemente estudada. Conhece-se apenas o trabalho de Jung & Beuchat, 1999, que observaram que, em ovos desidratados, uma mistura de cepas de *S. Typhimurium* DT 104, resistentes a ampicilina, cloranfenicol, estreptomicina, sulfonamidas e tetraciclina apresentou o mesmo comportamento em relação à baixa temperatura e Atividade de Água que outras cepas de *S. Typhimurium*.

Segundo Mañas et al. (2003), *Salmonella* pode sobreviver à pasteurização. Estes autores estudaram uma cepa de *Salmonella* Senftenberg 775W em ovo líquido integral pasteurizado. A pasteurização industrial de ovo líquido integral a 60°C por 3,5 minutos, a 64°C por 2,5 minutos e a 70°C por 1,5 minutos apenas reduz respectivamente <1, <2 e <4 ciclos logarítmicos de *Salmonella* Senftenberg 775W. Doyle & Mazzotta, em 2000, em um trabalho de revisão, relataram que de todos os valores D reportados, a maior resistência ao calor suportado por *Salmonella* foi em ovos líquidos e em gema líquida. Estes autores afirmaram que, neste caso, em um processamento a 71°C são necessários 1,2 segundos para inativar 1 log de *Salmonella*. O valor D corresponde ao tempo, em minutos, em uma dada temperatura, necessário para a redução de 90% no número de células ou esporos presentes em uma suspensão (Franco & Landgraf, 1996).

Salmonella pode estar presente no ovo em pó, tanto devido à sua capacidade de sobreviver ao processo de pasteurização e desidratação, como através da contaminação após o processamento. Como a pasteurização pode alterar os fatores intrínsecos antimicrobianos presentes no ovo pela desnaturação de proteínas, uma contaminação pós-processamento pode representar um sério risco à saúde humana.

Os resultados encontrados na literatura não são claros com relação à capacidade de *Salmonella* sobreviver ou mesmo se multiplicar em ovo desidratado, durante o armazenamento inadequado. Esse trabalho foi proposto para preencher essa lacuna,

monitorando-se a cinética de multiplicação de *Salmonella* em ovo em pó com diferentes valores de Aa, armazenado por 2 meses em quatro diferentes temperaturas.

2. Objetivos

Este trabalho teve como objetivo avaliar a capacidade de *Salmonella* Enteritidis sobreviver ou se multiplicar em ovo em pó, em função de sua Atividade de Água (Aa) e temperatura de armazenamento. Para isso, foram preparadas amostras de ovo em pó com diferentes valores de Aa (0,4, 0,6, 0,8 e 0,9), que foram experimentalmente contaminadas com *Salmonella* Enteritidis e armazenadas em quatro temperaturas diferentes (8°C, 15°C, 25°C e 35°C) por até 8 semanas. O estudo objetivou também observar se uma cepa de *Salmonella* resistente a antibióticos apresentava cinética de multiplicação diferente daquela observada para a cepa não resistente.

3. Materiais e Métodos

3.1. Materiais:

Microrganismos: *Salmonella* Enteritidis FBM01, sensível aos antibióticos comumente utilizados na prática médica e *Salmonella* Hadar resistente aos antibióticos Ampicilina, SXT (Sulfazotrim e Trimetropim), Amoxicilina, Trimetropim, Sulfazotrim, Sulfisoxozole e Estreptomicina. As duas cepas foram isoladas por Fuzihara et al., 2000.

Ovo desidratado: ovo em pó integral, doado pela empresa Kayatonas Indústria e Comércio Ltda, localizada no município de Biritiba-Mirim, SP.

3.2. Métodos:

3.2.1. Manutenção da cultura de *Salmonella*

As cepas de *Salmonella* foram inoculadas em tubos com agar tripticase soja (TSA – Oxoid, Basingstoke, UK) e incubadas a 35°C por 24h. A partir desse tubo, foram semeados outros tubos contendo ágar conservação (Extrato de Carne 3g/l, Peptona 10g/l, Cloreto de Sódio 8g/l, Fosfato de Sódio Dibásico 1,2g/l e Agar 15g/l) inclinado, os quais foram incubados a 35°C por 24h. Após a incubação, as culturas foram mantidas sob refrigeração a 4°C.

3.2.2. Padronização do inóculo de *Salmonella*

Com auxílio de uma alça de níquel-cromo, transferiu-se uma alíquota da cultura no ágar conservação para um tubo contendo 10 ml de Caldo Trypticase Soja (TSB), que foi incubado por 24h a 35°C. Após este período, 1 ml do caldo foi transferido para um frasco erlenmeyer contendo 100 ml de caldo TSB, que foi incubado a 35°C. A cada uma hora, nas

duas primeiras horas e a cada meia hora, nas horas seguintes, retirou-se 5 ml do caldo no erlenmeyer para avaliação da densidade óptica em comprimento de onda de 640nm, em espectrofotômetro (Pharmacia Biotech Ultrospec 2000 UV/Visible Spectrophotometer). Simultaneamente, e em duplicata, 0,1 ml do caldo e das diluições decimais desse caldo, preparadas em solução salina estéril a 0,85% foram semeados em superfície em placas de agar TSA e incubadas a 35°C por 24h. Após a incubação, selecionaram-se as placas com 25 a 250 colônias, fazendo-se a contagem. Calculou-se a média das duplicatas e determinou-se o número de UFC/ml de caldo, multiplicando-se essa média pelo inverso da diluição correspondente.

3.2.3. Preparo do ovo para inoculação experimental

A fim de se estabelecer a quantidade de água a ser adicionada ao ovo em pó, de modo a conseguir-se os valores de atividade de água (Aa) desejados, construiu-se uma curva de calibração, adicionando-se quantidades variáveis de água destilada ao ovo desidratado e determinando-se assim a Aa. A curva foi iniciada com adição de 1% de água, aumentando-se a concentração até 30%, com intervalos de 1%. A determinação de Aa foi realizada em temperatura controlada de 25°C. A Aa foi medida utilizando-se o aparelho Novasina Aw-center 503-C, Axair AG, Pfäffikon, Switzerland (Novasina AG, Zurich, Suíça).

3.2.4. Inoculação experimental do ovo em pó

De acordo com os resultados obtidos no item 3.2.3., calculou-se as quantidades de ovo em pó e de água destilada necessárias para se obter 10g do produto com a Aa desejada. Em seguida, transferiu-se a quantidade necessária de ovo para um saco plástico Whirl-Pak (Saco plástico Estéril de Polietileno para coleta de amostras até 300ml, Millipore, Nasco) e adicionou-se a quantidade de água destilada estéril, massageando-se manualmente o saco durante alguns minutos até completa homogeneização. Obtida a melhor homogeneização possível, adicionou-se à mistura 100 µl da cultura de *Salmonella*, diluída em solução salina 0,85% de forma a obter 10⁶ UFC/g. A concentração final de *Salmonella* no ovo era de 10⁴ UFC/g de produto. O saco foi novamente massageado para a melhor distribuição possível do inóculo no produto. Para cada experimento foram preparados 160 sacos, que foram divididos

em quatro lotes de 40 sacos, para incubação a 8°C, 15°C, 25°C e 35°C. Para cada lote de 40 sacos, 24 foram empregados para contagem de *Salmonella* (3x8 sacos) em triplicatas semanais, 8 correspondiam aos controles negativos e 8 foram empregados para medida da Aa. Após a adição de água e da cultura da *Salmonella*, ou somente de água (controles), os sacos foram selados com o auxílio de uma seladora Barbi modelo M-300. Para evitar perda de umidade para o ambiente e conseqüente redução no valor da Aa, influenciando na cinética de multiplicação de *Salmonella*, os sacos Whirl-Pak com ovo com Aa 0,8 e 0,93 foram embalados novamente em sacos Cryovac BB-200 (Sacos Barrier Bag com estrutura EVA multicamadas, CRYOVAC do Brasil Ltda – Sealed Air Corporation, São Paulo – S.P.) impermeáveis ao vapor de água.

A fim de eliminar a influência da microbiota autóctone na cinética de multiplicação de *Salmonella*, as amostras de ovo destinadas aos experimentos com Aa 0,8 e 0,9, foram submetidas à irradiação com 3kGy. A irradiação foi feita na empresa EMBRARAD S.A. estabelecida no município de Cotia – SP, empregando-se um irradiador JS 7500 Nordion International Inc., Kanata, Ontário, Canadá, cuja fonte é ⁶⁰Co.

3.2.5. Armazenamento do ovo experimentalmente contaminado

As amostras de ovo experimentalmente contaminadas foram armazenadas protegidas da luz, empregando-se um refrigerador para a temperatura de 8°C e três estufas BOD para as temperaturas de 15°C, 25°C e 35°C. O tempo de armazenamento estendeu-se até 56 dias, ou seja, 8 semanas, retirando-se semanalmente três amostras inoculadas e duas não inoculadas, para cada uma das quatro temperaturas estudadas. A temperatura de armazenamento das amostras foi monitorada diariamente.

3.2.6. Enumeração de *Salmonella* no ovo

A enumeração de *Salmonella* nas amostras de ovo experimentalmente contaminado foi feita empregando-se a metodologia descrita por Andrews et al., 1995, baseada na técnica dos tubos múltiplos (Garthright, 1998). A cada saco com 10 gramas de ovo adicionou-se 90 ml de Caldo Lactosado (Oxoid, Basingstoke, UK), homogeneizando-se a mistura com um homogeneizador de pistões (Stomacher 400 Lab Blender, Seward Medical, England),

obtendo-se assim a diluição 10^{-1} . A diluição 10^{-2} foi obtida transferindo-se 1 ml da diluição 10^{-1} para um tubo contendo 9 ml de solução salina 0,85% e assim por diante para as diluições decimais subsequentes.

Para a enumeração de *Salmonella*, 3 porções de 10 ml da mistura correspondente à diluição 10^{-1} foram transferidas para tubos vazios esterilizados. Simultaneamente, transferiu-se 3 porções de 1 ml das demais diluições para 3 tubos contendo 9 ml de Caldo Lactosado. Após a adequada homogeneização através de leve agitação manual, todos os tubos foram incubados a 35°C por 24h.

Em seguida, alíquotas de 0,1 ml de cada um dos tubos de Caldo Lactosado foram transferidas para tubos com 10 ml de Caldo Rappaport-Vassiliadis (RV – Oxoid, Basingstoke, UK). Após homogeneização através de leve agitação manual, os tubos de caldo RV foram incubados a 42°C por 24h. Em seguida, alíquotas do caldo RV foram inoculadas, por esgotamento, na superfície de placas com ágar Xilose Lisina Desoxicolato (XLD – Oxoid, Basingstoke, UK), com o auxílio uma alça de níquel-cromo. As placas foram incubadas a 35°C por 24h e em seguida observou-se a presença de colônias típicas de *Salmonella*, ou seja, colônias escuras, de bordos regulares, com ou sem brilho, circundadas por um halo transparente. Uma colônia suspeita de *Salmonella* por placa foi transferida para um tubo com ágar Tríplice Açúcar Ferro (TSI – Oxoid, Basingstoke, UK) e incubada por a 35°C por 24h. As culturas nos tubos de ágar TSI que apresentaram fundo ácido (amarelo) e base alcalina (vermelho), com ou sem produção de H₂S (enegrecimento), foram submetidas à sorologia para confirmação de *Salmonella*, empregando-se o soro polivalente somático da Probac do Brasil Produtos Bacteriológicos Ltda.

De acordo com o número de tubos positivos entre os três inoculados para cada uma das diluições seriadas, determinou-se o número mais provável de *Salmonella* por grama de produto, empregando-se para isto, a tabela de Número Mais Provável (NMP), de Garthright, 1998.

Este procedimento está apresentado na Figura 2.

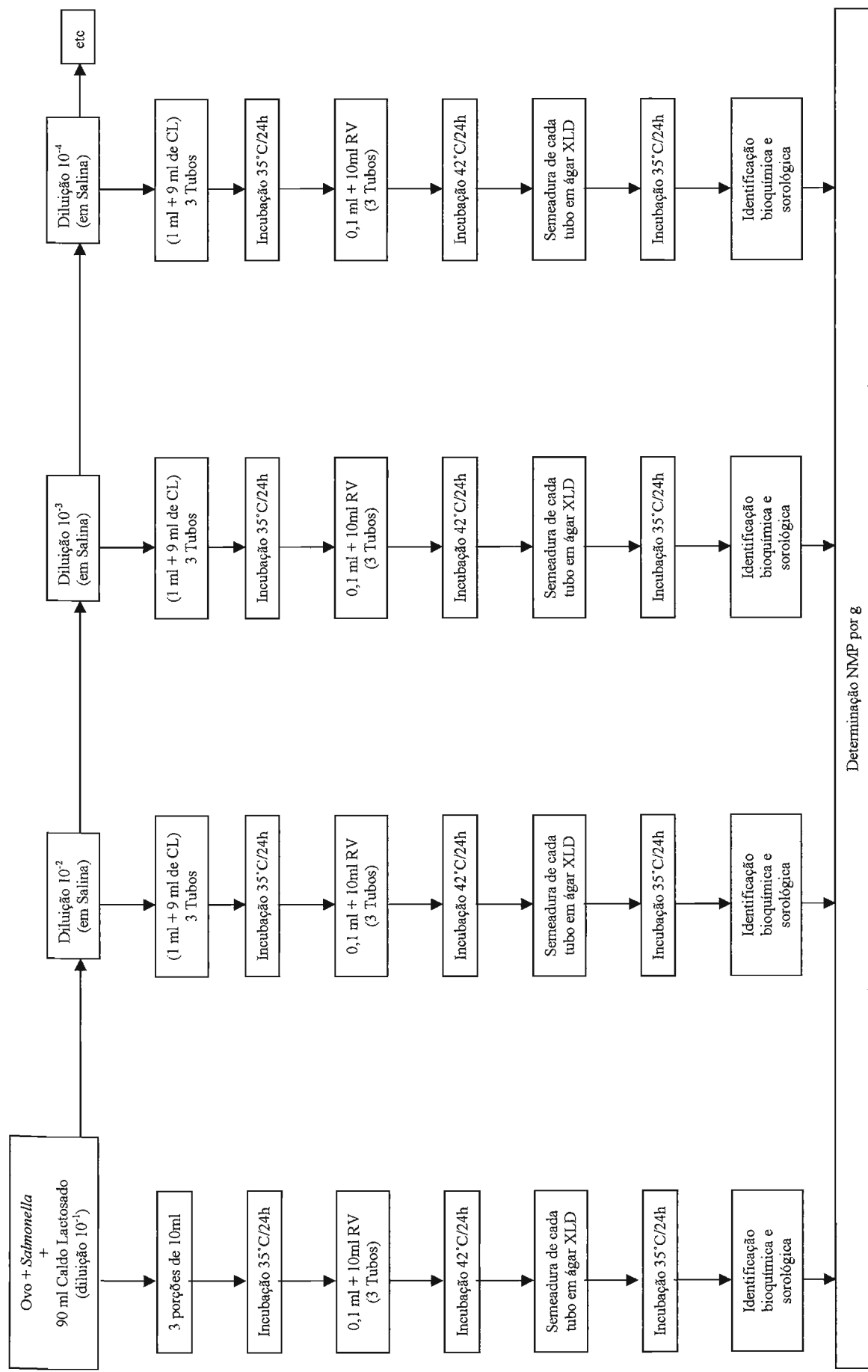


Figura 2. Procedimento utilizado para determinação do Número Mais Provável (NMP) de *Salmonella* por grama de ovo experimentalmente inoculado.

3.2.7. Contagem total de bactérias aeróbias mesófilas

Para se monitorar a contaminação das amostras estudadas com bactérias aeróbias mesófilas, utilizou-se, para cada uma das temperaturas testadas, um dos sacos contendo 10 gramas de ovo em pó reconstituído na Aa desejada, não inoculado com *Salmonella*. O conteúdo do saco foi homogeneizado com 90 ml de solução salina 0,85%, empregando-se o homogeneizador de pistões (Stomacher 400 Lab Blender, Seward Medical, England). Em seguida, foram preparadas diluições decimais seriadas até 10^{-5} , empregando-se solução salina. Aliquotas de 1 ml de cada uma das diluições foram transferidas para placas estéreis, em duplicatas, às quais se adicionou Agar Plate Count (APC – Oxoid, Basingstoke, UK), homogeneizando-se através de movimentos giratórios. As placas foram incubadas à 37°C por 48 horas. Após a incubação, as colônias presentes nas placas apresentando de 25 a 250 colônias foram contadas. Calculou-se a média das duplicatas e determinou-se o número de UFC/g de produto multiplicando-se essa média pelo inverso da diluição correspondente (Maturin & Peeler, 1998).

3.2.8. Contagem total de coliformes

Uma alíquota de 1 ml das diluições 10^{-1} e 10^{-2} , preparadas conforme descrito no item 3.2.7, foi transferida para uma placa estéril, a qual se adicionou Agar Violet Red Bile (VRB – Oxoid, Basingstoke, UK), homogeneizando-se através de movimentos giratórios. As placas foram incubadas às 37°C por 48h. Após a incubação, as colônias de coliformes, quando presentes, foram enumeradas, determinando-se o número de UFC/g de produto. As colônias características apresentavam coloração púrpura circundadas por halos púrpura, ou colônias pálidas com zonas esverdeadas (Hitchins et al., 1998).

3.2.9. Monitoramento da Aa das amostras de ovo

Em cada uma das retiradas de amostras para contagem de *Salmonella*, a Aa do ovo foi determinada empregando-se um dos sacos não inoculados. A Aa foi medida empregando-se o

aparelho Novasina Aw-center 503-C, Axair AG, Pfäffikon, Switzerland (Novasina AG, Zurich, Suíça).

3.2.10. Análise estatística

Os dados das variáveis Aa, temperatura e tempo de armazenamento foram submetidas à análise de variância (ANOVA), considerando-se 5% de probabilidade.

A significância das diferenças nos resultados de contagem de *Salmonella* nas amostras de ovo em pó com diferentes valores de Aa, para cada uma das quatro temperaturas estudadas foi avaliada através do teste de médias de Duncan, adotando-se 5% de probabilidade.

Na comparação dos resultados obtidos para as duas cepas de *Salmonella* foi utilizado o teste t pareado de Student, com 5% de probabilidade.

As análises estatísticas foram realizadas empregando-se o SAS (Statistical Analysis Systems) versão 8.

4. Resultados

O Quadro 2 e a Figura 3 mostram os resultados da curva de calibração, correspondente à relação entre a porcentagem de água adicionada ao ovo e o valor da Aa resultante no produto.

Quadro 2. Relação entre a porcentagem de água adicionada ao ovo desidratado e a Aa resultante

% de água	Aa	% de água	Aa
0	0,201	16	0,850
1	0,331	17	0,867
2	0,432	18	0,876
3	0,475	19	0,880
4	0,529	20	0,892
5	0,599	21	0,906
6	0,622	22	0,912
7	0,685	23	0,915
8	0,701	24	0,917
9	0,708	25	0,919
10	0,733	26	0,924
11	0,764	27	0,936
12	0,786	28	0,941
13	0,799	29	0,955
14	0,821	30	0,965
15	0,841		

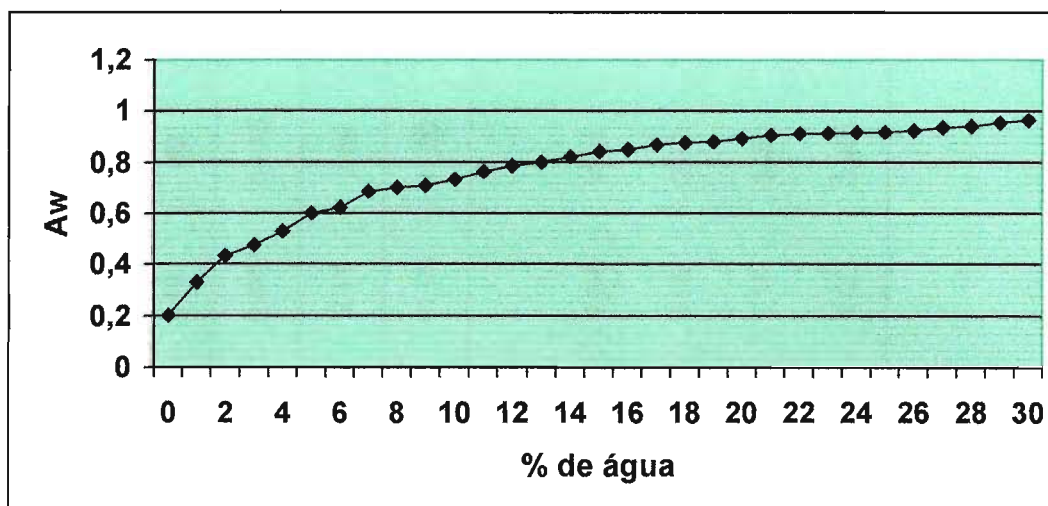


Figura 3. Relação entre a porcentagem de água adicionada ao ovo desidratado e o valor de Aa resultante.

As Tabelas 1, 2, 3 e 4 mostram, respectivamente, os resultados obtidos com o produto com Aa em torno de 0,4, nas temperaturas de 8°C, 15°C, 25°C e 35°C, referentes à *S. Enteritidis*.

As Tabelas 5, 6, 7 e 8 mostram, respectivamente, os resultados obtidos com o produto com Aa em torno de 0,6, nas temperaturas de 8°C, 15°C, 25°C e 35°C, referentes à *S. Enteritidis*.

As Tabelas 9, 10, 11 e 12 mostram, respectivamente, os resultados obtidos com o produto com Aa em torno de 0,8, nas temperaturas de 8°C, 15°C, 25°C e 35°C, referentes à *S. Enteritidis*.

As Tabelas 13, 14, 15 e 16, mostram respectivamente os resultados obtidos com o produto com Aa em torno de 0,9, nas temperaturas de 8°C, 15°C, 25°C e 35°C, referentes à *S. Enteritidis*.

As Tabelas 17, 18, 19 e 20 mostram, respectivamente, os resultados obtidos com o produto com Aa em torno de 0,6, nas temperaturas de 8°C, 15°C, 25°C e 35°C, referentes a *Salmonella* Hadar.

As Tabelas 21, 22, 23 e 24 mostram, respectivamente, os resultados do teste de médias de Duncan para as variáveis Aa e Tempo de armazenamento, nas Aa 0,4, 0,6, 0,8 e 0,9.

Por último, as Tabelas 25 a 32 mostram, respectivamente, os resultados do teste de médias de Duncan para as variáveis Aa e Temperatura de armazenamento, nos dias 7, 14, 21, 28, 35, 42, 49 e 56.

Tabela 1. Valores de Aa, contagens de bactérias aeróbias mesófilas e coliformes e determinação do Número Mais Provável de *Salmonella* Enteritidis em amostras de ovo em pó, com Aa média de 0,423, mantidas a 8°C.

tempo de armazenamento (dias)	0	7	14	21	28	35	42	49	56
Aa	0,432	0,382	0,296	0,458	0,400	0,468	0,492	0,458	0,425
mesófilos (Log de UFC/g)	n.d.	n.d.	1,60	3,07	2,07	2,07	2,11	2,34	1,97
coliformes (Log de UFC/g)	n.d.	<1,00	<1,00	1,30	1,77	<1,00	<1,00	<1,00	<1,00
<i>Salmonella</i> (Log de NMP/g)									
1a repetição	n.d.	3,46	4,04	2,55	3,07	2,62	2,54	4,04	3,46
2a repetição	n.d.	4,04	2,38	2,72	2,30	4,04	2,72	2,72	2,55
3a repetição	n.d.	3,66	2,54	>4,04	3,07	>4,04	2,17	3,46	2,43
Média	n.d.	3,72	2,98	2,64	2,81	3,33	2,47	3,40	2,81

n.d. = não determinado

Resultados com sinal “<” ou “>” não foram considerados no cálculo da média.

Tabela 2. Valores de Aa, contagens de bactérias aeróbias mesófilas e coliformes e determinação do Número Mais Provável de *Salmonella* Enteritidis em amostras de ovo em pó, com Aa média de 0,465, mantidas a 15°C.

tempo de armazenamento (dias)	0	7	14	21	28	35	42	49	56
Aa	0,432	0,374	0,427	0,442	0,471	0,515	0,509	0,507	0,509
mesófilos (Log de UFC/g)	n.d.	n.d.	1,77	2,63	3,64	1,97	2,39	2,34	2,34
coliformes (Log de UFC/g)	n.d.	<1,00	<1,00	<1,00	2,68	<1,00	<1,00	1,00	1,00
<i>Salmonella</i> (Log de NMP/g)									
1a repetição	n.d.	3,38	3,66	3,66	>4,04	2,62	3,38	3,17	2,30
2a repetição	n.d.	3,38	3,66	3,38	2,54	4,04	1,87	3,66	1,87
3a repetição	n.d.	4,04	4,04	3,66	>4,04	4,04	1,80	2,46	2,46
Média	n.d.	3,60	3,78	3,56	n.c.	3,56	2,35	3,09	2,21

n.d. = não determinado

n.c. = não calculado

Resultados com sinal “<” ou “>” não foram considerados no cálculo da média

Tabela 3. Valores de Aa, contagens de bactérias aeróbias mesófilas e coliformes e determinação do Número Mais Provável de *Salmonella* Enteritidis em amostras de ovo em pó, com Aa média de 0,479, mantidas a 25°C.

tempo de armazenamento (dias)	0	7	14	21	28	35	42	49	56
Aa	0,432	0,442	0,45	0,542	0,454	0,497	0,471	0,477	0,553
mesófilos (Log de UFC/g)	n.d.	n.d.	<3,00	2,80	2,17	1,90	1,95	1,81	3,07
coliformes (Log de UFC/g)	n.d.	<1,00	<1,00	<1,00	<1,00	<1,00	<1,00	<1,00	<1,00
<i>Salmonella</i> (Log de NMP/g)									
1a repetição	n.d.	2,63	2,17	2,96	2,63	>4,04	2,38	2,38	2,30
2a repetição	n.d.	2,63	2,63	3,38	>4,04	2,17	4,04	2,38	1,63
3a repetição	n.d.	3,66	2,46	4,04	2,96	1,96	2,38	2,66	1,96
Média	n.d.	3,85	2,42	3,46	2,79	2,06	2,93	2,47	1,96

n.d. = não determinado

Resultados com sinal “<” ou “>” não foram considerados no cálculo da média

Tabela 4. Valores de Aa, contagens de bactérias aeróbias mesófilas e coliformes e determinação do Número Mais Provável de *Salmonella* Enteritidis em amostras de ovo em pó, com Aa média de 0,485, mantidas a 35°C.

tempo de armazenamento (dias)	0	7	14	21	28	35	42	49	56
Aa	0,432	0,455	0,519	0,395	0,531	0,536	0,524	n.d.	n.d.
mesófilos (Log de UFC/g)	n.d.	n.d.	2,30	2,54	1,90	1,84	1,81	n.d.	n.d.
coliformes (Log de UFC/g)	n.d.	<1,00	<1,00	1,00	1,00	<1,00	<1,00	n.d.	n.d.
<i>Salmonella</i> (Log de NMP/g)									
1a repetição	n.d.	1,96	<0,55	1,96	1,96	<0,47	<0,47	n.d.	n.d.
2a repetição	n.d.	1,63	1,63	0,47	0,47	<0,47	<0,47	n.d.	n.d.
3a repetição	n.d.	1,63	0,95	1,17	<0,47	<0,47	<0,47	n.d.	n.d.
média	n.d.	1,74	1,29	1,20	1,21	n.c.	n.c.	n.d.	n.d.

n.d. = não determinado

n.c. = não calculado

Resultados com sinal “<” ou “>” não foram considerados no cálculo da média

Tabela 5. Valores de Aa, contagens de bactérias aeróbias mesófilas e coliformes e determinação do Número Mais Provável de *Salmonella* Enteritidis em amostras de ovo em pó, com Aa média de 0,630, mantidas a 8°C.

tempo de armazenamento (dias)	0	7	14	21	28	35	42	49	56
Aa	0,622	0,578	0,604	0,629	0,646	0,649	0,642	0,643	0,662
mesófilos (Log de UFC/g)	n.d.	2,00	1,17	1,54	1,30	0,69	1,17	<1,00	1,00
coliformes (Log de UFC/g)	n.d.	<1,00	<1,00	<1,00	<1,00	<1,00	<1,00	<1,00	<1,00
<i>Salmonella</i> (Log de NMP/g)									
1a repetição	n.d.	>4,00	4,66	3,38	3,96	3,17	3,32	3,66	4,04
2a repetição	n.d.	>4,00	3,87	3,38	3,96	3,66	3,66	3,66	1,47
3a repetição	n.d.	>4,00	4,17	3,66	4,38	3,44	3,30	4,38	<0,55
média	n.d.	n.c.	4,23	3,47	4,10	3,42	3,42	3,90	2,75

n.d. = não determinado

n.c. = não calculado

Resultados com sinal “<” ou “>” não foram considerados no cálculo da média

Tabela 6. Valores de Aa, contagens de bactérias aeróbias mesófilas e coliformes e determinação do Número Mais Provável de *Salmonella* Enteritidis em amostras de ovo em pó, com Aa média de 0,625, mantidas a 15°C.

tempo de armazenamento (dias)	0	7	14	21	28	35	42	49	56
Aa	0,622	0,617	0,638	0,633	0,626	0,621	0,621	0,624	0,628
mesófilos (Log de UFC/g)	n.d.	1,00	1,17	0,69	0,69	0,69	1,00	0,69	1,00
coliformes (Log de UFC/g)	n.d.	<1,00	<1,00	<1,00	<1,00	<1,00	<1,00	<1,00	<1,00
<i>Salmonella</i> (Log de NMP/g)									
1a repetição	n.d.	3,66	2,46	2,38	1,32	2,66	1,32	1,63	1,17
2a repetição	n.d.	2,32	1,96	2,17	2,66	2,66	2,38	1,96	1,46
3a repetição	n.d.	3,38	2,32	2,63	2,66	1,96	2,38	1,32	1,32
média	n.d.	3,12	2,24	2,39	2,21	2,42	2,02	1,63	1,31

n.d. = não determinado

Tabela 7. Valores de Aa, contagens de bactérias aeróbias mesófilas e coliformes e determinação do Número Mais Provável de *Salmonella* Enteritidis em amostras de ovo em pó, com Aa média de 0,510, mantidas a 25°C.

tempo de armazenamento (dias)	0	7	14	21	28	35	42	49	56
Aa	0,622	0,538	0,476	0,464	0,45	0,515	n.d.	n.d.	n.d.
mesófilos (Log de UFC/g)	n.d.	1,00	<1,00	1,17	0,69	<1,00	n.d.	n.d.	n.d.
coliformes (Log de UFC/g)	n.d.	<1,00	<1,00	<1,00	<1,00	<1,00	n.d.	n.d.	n.d.
<i>Salmonella</i> (Log de NMP/g)									
1a repetição	n.d.	1,36	0,77	<0,47	<0,47	<0,47	n.d.	n.d.	n.d.
2a repetição	n.d.	1,14	0,47	<0,47	<0,47	<0,47	n.d.	n.d.	n.d.
3a repetição	n.d.	1,96	<0,47	<0,47	<0,47	<0,47	n.d.	n.d.	n.d.
média	n.d.	1,48	0,62	n.c.	n.c.	n.c.	n.d.	n.d.	n.d.

n.d. = não determinado

n.c. = não calculado

Resultados com sinal “<” ou “>” não foram considerados no cálculo da média

Tabela 8. Valores de Aa, contagens de bactérias aeróbias mesófilas e coliformes e determinação do Número Mais Provável de *Salmonella* Enteritidis em amostras de ovo em pó, com Aa média de 0,607, mantidas a 35°C.

tempo de armazenamento (dias)	0	7	14	21	28	35	42	49	56
Aa	0,622	0,608	0,597	0,604	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
mesófilos (Log de UFC/g)	n.d.	<1,00	<1,00	1,00	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
coliformes (Log de UFC/g)	n.d.	<1,00	<1,00	<1,00	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
<i>Salmonella</i> (Log de NMP/g)									
1a repetição	n.d.	1,36	<0,47	<0,47	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
2a repetição	n.d.	1,17	<0,47	<0,47	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
3a repetição	n.d.	0,60	<0,47	<0,47	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
média	n.d.	1,04	n.c.	n.c.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.

n.d. = não determinado

n.c. = não calculado

Resultados com sinal “<” ou “>” não foram considerados no cálculo da média

Tabela 9. Valores de Aa, contagens de bactérias aeróbias mesófilas e coliformes e determinação do Número Mais Provável de *Salmonella* Enteritidis em amostras de ovo em pó, com Aa média de 0,827, mantidas a 8°C.

tempo de armazenamento (dias)	0	7	14	21	28	35	42	49	56
Aa	0,836	0,831	0,825	0,824	0,826	0,817	0,825	0,838	0,823
mesófilos (Log de UFC/g)	<1,00	<1,00	<1,00	<1,00	<1,00	<1,00	<1,00	<1,00	<1,00
coliformes (log de UFC/g)	<1,00	<1,00	<1,00	<1,00	<1,00	<1,00	<1,00	<1,00	<1,00
<i>Salmonella</i> (Log de NMP/g)									
1a repetição	5,66	3,96	4,63	3,36	3,96	2,36	2,38	2,38	2,96
2a repetição	n.d	3,63	4,38	2,55	2,96	2,63	2,38	3,66	2,38
3a repetição	n.d.	4,38	4,38	3,36	3,63	2,87	2,66	2,66	2,63
Aa									
Aa	0,836	0,846	0,859	0,865	0,845	0,853	0,860	0,892	0,864
mesófilos (Log de UFC/g)	<1,00	<1,00	<1,00	<1,00	<1,00	<1,00	<1,00	<1,00	<1,00
coliformes (Log de UFC/g)	<1,00	<1,00	<1,00	<1,00	<1,00	<1,00	<1,00	<1,00	<1,00
<i>Salmonella</i> (Log de NMP/g)									
1a repetição	4,38	1,96	3,04	1,36	2,38	>4,04	>4,04	2,66	2,38
2a repetição	n.d.	2,36	1,57	3,38	2,38	1,32	>4,04	1,96	2,38
média das 5 repetições	5,02	3,25	3,60	2,80	3,06	2,29	2,47	2,66	2,54

n.d. = não determinado

Resultados com sinal “<” ou “>” não foram considerados no cálculo da média

Tabela 10. Valores de Aa, contagens de bactérias aeróbias mesófilas e coliformes e determinação do Número Mais Provável de *Salmonella* Enteritidis em amostras de ovo em pó, com Aa média de 0,825, mantidas a 15°C.

tempo de armazenamento (dias)	0	7	14	21	28	35	42	49	56
Aa	0,836	0,830	0,817	0,829	0,823	0,825	0,826	0,821	0,818
mesófilos (Log de UFC/g)	<1,00	<1,00	<1,00	<1,00	<1,00	<1,00	<1,00	<1,00	<1,00
coliformes (Log de UFC/g)	<1,00	<1,00	<1,00	<1,00	<1,00	<1,00	<1,00	<1,00	<1,00
<i>Salmonella</i> (Log de NMP/g)									
1a repetição	5,66	3,38	>5,04	n.d.	5,96	5,04	0,55	<0,55	<0,55
2a repetição	n.d.	>5,04	2,55	n.d.	<3,00	1,55	n.d.	<0,55	<0,55
3a repetição	n.d.	3,66	2,55	n.d.	<3,00	5,04	1,36	<0,55	<0,55
<i>Aa</i>									
Aa	0,836	0,820	0,853	0,858	0,854	0,863	0,856	0,862	0,856
mesófilos (Log de UFC/g)	<1,00	<1,00	<1,00	<1,00	<1,00	<1,00	<1,00	<1,00	<1,00
coliformes (Log de UFC/g)	<1,00	<1,00	<1,00	<1,00	<1,00	<1,00	<1,00	<1,00	<1,00
<i>Salmonella</i> (Log de NMP/g)									
1a repetição	4,38	2,87	1,87	>4,04	>4,04	<0,55	>4,04	>4,04	<0,55
2a repetição	n.d.	2,36	2,66	2,38	0,55	0,86	<0,55	0,96	>4,04
média das 5 repetições	5,02	3,06	2,4	n.c.	3,25	3,12	0,95	n.c.	n.c.

n.d. = não determinado

n.c. = não calculado

Resultados com sinal “<” ou “>” não foram considerados no cálculo da média

Tabela 11. Valores de Aa, contagens de bactérias aeróbias mesófilas e coliformes e determinação do Número Mais Provável de *Salmonella* Enteritidis em amostras de ovo em pó, com Aa média de 0,814, mantidas a 25°C.

tempo de armazenamento (dias)	0	7	14	21	28	35	42	49	56
Aa	0,836	0,810	0,810	0,815	0,809	0,809	n.d.	n.d.	n.d.
mesófilos (Log de UFC/g)	<1,00	<1,00	<1,00	<1,00	<1,00	<1,00	n.d.	n.d.	n.d.
coliformes (Log de UFC/g)	<1,00	<1,00	<1,00	<1,00	<1,00	<1,00	n.d.	n.d.	n.d.
<i>Salmonella</i> (Log de NMP/g)									
1a repetição	5,66	>5,04	<2,38	>4,04	<0,55	<0,55	n.d.	n.d.	n.d.
2a repetição	n.d.	>5,04	<2,38	0,55	<0,55	>5,04	n.d.	n.d.	n.d.
3a repetição	n.d.	2,66	<2,38	4,04	>5,04	<0,55	n.d.	n.d.	n.d.
Aa	0,836	0,854	0,852	0,837	0,849	0,852	n.d.	n.d.	n.d.
mesófilos (Log de UFC/g)	<1,00	<1,00	<1,00	<1,00	<1,00	<1,00	n.d.	n.d.	n.d.
coliformes (Log de UFC/g)	<1,00	<1,00	<1,00	<1,00	<1,00	<1,00	n.d.	n.d.	n.d.
<i>Salmonella</i> (Log de NMP/g)									
1a repetição	4,38	1,55	<0,55	<0,55	2,38	<0,55	n.d.	n.d.	n.d.
2a repetição	n.d.	1,96	2,57	<0,55	<0,55	<0,55	n.d.	n.d.	n.d.
média das 5 repetições	5,02	2,05	n.c.	2,29	n.c.	n.c.	n.d.	n.d.	n.d.

n.d. = não determinado

n.c. = não calculado

Resultados com sinal “<” ou “>” não foram considerados no cálculo da média

Tabela 12. Valores de Aa, contagens de bactérias aeróbias mesófilas e coliformes e determinação do Número Mais Provável de *Salmonella* Enteritidis em amostras de ovo em pó, com Aa média de 0,769, mantidas a 35°C.

tempo de armazenamento (dias)	0	7	14	21	28	35	42	49	56
Aa	0,836	0,806	0,756	0,787	0,733	0,698	n.d.	n.d.	n.d.
mesófilos (Log de UFC/g)	<1,00	<1,00	<1,00	<1,00	<1,00	<1,00	n.d.	n.d.	n.d.
coliformes (Log de UFC/g)	<1,00	<1,00	<1,00	<1,00	<1,00	<1,00	n.d.	n.d.	n.d.
<i>Salmonella</i> (log de NMP/g)									
1a repetição	5,66	>5,04	>5,04	4,38	>5,04	<0,55	n.d.	n.d.	n.d.
2a repetição	n.d.	<0,55	>5,04	>5,04	<0,55	1,36	n.d.	n.d.	n.d.
3a repetição	n.d.	<0,55	<0,55	<0,55	<0,55	>4,04	n.d.	n.d.	n.d.
<hr/>									
Aa	0,836	0,841	0,833	0,804	0,805	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
mesófilos (Log de UFC/g)	<1,00	<1,00	<1,00	<1,00	<1,00	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
coliformes (Log de UFC/g)	<1,00	<1,00	<1,00	<1,00	<1,00	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
<i>Salmonella</i> (Log de NMP/g)									
1a repetição	4,38	>4,04	<3,38	<3,38	<0,55	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
2a repetição	n.d.	>4,04	6,04	<3,38	<0,55	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
média das 5 repetições	5,02	n.c.	n.c.	n.c.	n.c.	n.c.	n.d.	n.d.	n.d.

n.d. = não determinado

n.c. = não calculado

Resultados com sinal “<” ou “>” não foram considerados no cálculo da média

Tabela 13. Valores de Aa, contagens de bactérias aeróbias mesófilas e coliformes e determinação do Número Mais Provável de *Salmonella* Enteritidis em amostras de ovo em pó, com Aa média de 0,945, mantidas a 8°C.

tempo de armazenamento (dias)	0	7	14	21	28	35	42	49	56
Aa	0,936	0,961	0,935	0,938	0,948	0,945	0,950	0,947	0,944
mesófilos (Log de UFC/g)	n.d.	<1,00	<1,00	<1,00	<1,00	<1,00	<1,00	<1,00	<1,00
coliformes (log de UFC/g)	n.d.	<1,00	<1,00	<1,00	<1,00	<1,00	<1,00	<1,00	<1,00
<i>Salmonella</i> (Log de NMP/g)									
1a repetição	5,66	4,46	4,38	4,17	2,86	2,55	4,38	3,66	3,66
2a repetição	n.d.	3,17	5,04	3,63	3,36	2,55	4,04	2,46	2,96
3a repetição	n.d.	3,20	4,38	3,96	3,63	40,40	4,38	2,44	2,36
média	n.c.	3,61	4,60	3,92	3,28	3,04	4,26	2,85	2,99

n.d. = não determinado

n.c. = não calculado

Tabela 14. Valores de Aa, contagens de bactérias aeróbias mesófilas e coliformes e determinação do Número Mais Provável de *Salmonella* Enteritidis em amostras de ovo em pó, com Aa média de 0,939, mantidas a 15°C.

tempo de armazenamento (dias)	0	7	14	21	28	35	42	49	56
Aa	0,936	0,945	0,951	0,930	0,934	0,933	0,947	0,939	0,936
mesófilos (Log de UFC/g)	n.d.	6,17	6,97	<3,00	<1,00	3,95	3,27	7,38	<1,00
coliformes (Log de UFC/g)	n.d.	<1,00	<1,00	<1,00	<1,00	<1,00	<1,00	<1,00	<1,00
<i>Salmonella</i> (Log de NMP/g)									
1a repetição	5,66	5,44	8,96	8,87	9,38	9,17	7,36	8,04	9,38
2a repetição	n.d.	>8,04	9,17	9,38	7,04	8,17	8,17	9,32	9,04
3a repetição	n.d.	>8,04	9,66	8,87	9,96	9,38	8,66	8,96	9,04
média	n.c.	n.c.	9,26	9,04	8,79	8,90	8,06	8,77	9,15

n.d. = não determinado

n.c. = não calculado

Resultados com sinal “<” ou “>” não foram considerados no cálculo da média

Tabela 15. Valores de Aa, contagens de bactérias aeróbias mesófilas e coliformes e determinação do Número Mais Provável de *Salmonella* Enteritidis em amostras de ovo em pó, com Aa média de 0,928, mantidas a 25°C.

tempo de armazenamento (dias)	0	7	14	21	28	35	42	49	56
Aa	0,936	0,951	0,941	0,94	0,938	0,934	0,897	0,911	0,908
mesófilos (Log de UFC/g)	n.d.	<1,00	5,90	3,60	<1,00	<1,00	<1,00	<1,00	<1,00
coliformes (Log de UFC/g)	n.d.	<1,00	<1,00	<1,00	<1,00	<1,00	<1,00	<1,00	<1,00
<i>Salmonella</i> (Log de NMP/g)									
1a repetição	5,66	4,47	>9,04	8,96	9,32	9,38	7,96	8,38	10,04
2a repetição	n.d.	5,66	>9,04	8,96	9,17	8,96	7,63	8,38	8,66
3a repetição	n.d.	6,66	n.d.	9,36	9,38	8,96	8,87	7,63	8,66
média	n.c.	5,59	n.c.	9,09	9,29	9,10	8,15	8,13	9,12

n.d. = não determinado

n.c. = não calculado

Resultados com sinal “<” ou “>” não foram considerados no cálculo da média

Tabela 16. Valores de Aa, contagens de bactérias aeróbias mesófilas e coliformes e determinação do Número Mais Provável de *Salmonella* Enteritidis em amostras de ovo em pó, com Aa média de 0,931, mantidas a 35°C.

	0	7	14	21	28	35	42	49	56
tempo de armazenamento (dias)	0	7	14	21	28	35	42	49	56
Aa	0,942	0,949	0,945	0,945	0,931	0,928	0,931	0,908	0,903
mesófilos (Log de UFC/g)	n.d.	<1,00	<1,00	<1,00	<1,00	<1,00	<1,00	<1,00	<1,00
coliformes (Log de UFC/g)	n.d.	<1,00	<1,00	<1,00	<1,00	<1,00	<1,00	<1,00	<1,00
<i>Salmonella</i> (Log de NMP/g)									
1a repetição	5,66	>8,04	7,96	8,66	5,55	n.d.	5,36	>2,00	<1,47
2a repetição	n.d.	>8,04	7,96	7,63	6,63	5,32	<4,00	>2,00	>4,04
3a repetição	n.d.	>8,04	7,96	n.d.	5,96	n.d.	<4,00	>2,00	2,38
média	n.c.	n.c.	7,96	8,14	6,04	n.c.	n.c.	n.c.	n.c.

n.d. = não determinado

n.c. = não calculado

Resultados com sinal “<” ou “>” não foram considerados no cálculo da média

Tabela 17. Valores de Aa, contagens de bactérias aeróbias mesófilas e coliformes e determinação do Número Mais Provável de *Salmonella* Hadar em amostras de ovo em pó, com Aa média de 0,669, mantidas a 8°C.

tempo de armazenamento (dias)	0	7	14	21	28	35	42	49	56
Aa	0,622	0,666	0,667	0,679	0,644	0,679	0,679	0,703	0,683
mesófilos (Log de UFC/g)	<1,00	<1,00	<1,00	<1,00	<1,00	<1,00	<1,00	<1,00	<1,00
coliformes (Log de UFC/g)	<1,00	<1,00	<1,00	<1,00	<1,00	<1,00	<1,00	<1,00	<1,00
<i>Salmonella</i> (Log de NMP/g)	3,11	3,87	2,36	2,36	1,36	0,86	2,38	1,63	0,96

Tabela 18. Valores de Aa, contagens de bactérias aeróbias mesófilas e coliformes e determinação do Número Mais Provável de *Salmonella* Hadar em amostras de ovo em pó, com Aa média de 0,643, mantidas a 15°C.

tempo de armazenamento (dias)	0	7	14	21	28	35	42	49	56
Aa	0,622	0,665	0,634	0,648	0,64	0,644	0,644	0,647	0,646
mesófilos (Log de UFC/g)	<1,00	<1,00	<1,00	<1,00	<1,00	<1,00	<1,00	<1,00	<1,00
coliformes (Log de UFC/g)	<1,00	<1,00	<1,00	<1,00	<1,00	<1,00	<1,00	<1,00	<1,00
<i>Salmonella</i> (Log de NMP/g)	3,11	2,38	1,63	2,38	1,17	0,55	0,86	<0,55	<0,55

Tabela 19. Valores de Aa, contagens de bactérias aeróbias mesófilas e coliformes e determinação do Número Mais Provável de *Salmonella* Hadar em amostras de ovo em pó, com Aa média de 0,624, mantidas a 25°C.

tempo de armazenamento (dias)	0	7	14	21	28	35	42	49	56
Aa	0,622	0,608	0,634	0,633	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
mesófilos (Log de UFC/g)	<1,00	<1,00	<1,00	<1,00	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
coliformes (Log de UFC/g)	<1,00	<1,00	<1,00	<1,00	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
<i>Salmonella</i> (Log de NMP/g)	3,11	1,63	1,57	<0,55	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.

n.d. = não determinado

Tabela 20. Valores de Aa, contagens de bactérias aeróbias mesófilas e coliformes e determinação do Número Mais Provável de *Salmonella* Hadar em amostras de ovo em pó, com Aa média de 0,551, mantidas a 35°C.

tempo de armazenamento (dias)	0	7	14	21	28	35	42	49	56
Aa	0,622	0,522	0,509	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
mesófilos (Log de UFC/g)	<1,00	<1,00	<1,00	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
coliformes (Log de UFC/g)	<1,00	<1,00	<1,00	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
<i>Salmonella</i> (Log de NMP/g)	3,11	<0,55	<0,55	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.

n.d. = não determinado

Tabela 21. Resultados do Teste de médias de Duncan aplicado às contagens de *Salmonella* Enteritidis nas amostras de ovo em pó com Aa de cerca de 0,4, durante armazenamento a 8°C, 15°C, 25°C e 35°C por até 56 dias.

Tempo de armazenamento (dias)	Temperatura	Log NMP/g	Grupo de Duncan*
7	8°C	3,72	A
	15°C	3,60	A
	25°C	3,85	A
	35°C	1,74	B
14	8°C	2,98	AB
	15°C	3,78	A
	25°C	2,42	B
	35°C	1,29	C
21	8°C	2,64	A
	15°C	3,56	A
	25°C	3,46	A
	35°C	1,20	B
28	8°C	2,81	A
	15°C	-	-
	25°C	2,79	A
	35°C	1,21	B
35	8°C	3,33	A
	15°C	3,56	A
	25°C	2,06	A
	35°C	-	-
42	8°C	2,47	A
	15°C	2,35	A
	25°C	2,93	A
	35°C	-	-
49	8°C	3,40	A
	15°C	3,09	A
	25°C	2,47	A
	35°C	-	-
56	8°C	2,81	A
	15°C	2,21	A
	25°C	1,96	A
	35°C	-	-

* Letras iguais indicam diferença estatística não significativa ($p < 0,05$) entre os resultados obtidos para uma dada combinação entre tempo e temperatura de armazenamento.

Tabela 22. Resultados do Teste de médias de Duncan aplicado às contagens de *Salmonella* Enteritidis nas amostras de ovo em pó com Aa de cerca de 0,6, durante armazenamento a 8°C, 15°C, 25°C e 35°C por até 56 dias.

Tempo de armazenamento (dias)	Temperatura	Log NMP/g	Grupo de Duncan*
7	8°C	-	-
	15°C	3,12	A
	25°C	1,48	B
	35°C	1,04	B
14	8°C	4,23	A
	15°C	2,24	B
	25°C	0,62	C
	35°C	-	-
21	8°C	3,47	A
	15°C	2,39	B
	25°C	-	-
	35°C	-	-
28	8°C	4,10	A
	15°C	2,21	B
	25°C	-	-
	35°C	-	-
35	8°C	3,42	A
	15°C	2,42	B
	25°C	-	-
	35°C	-	-
42	8°C	3,42	A
	15°C	2,02	B
	25°C	-	-
	35°C	-	-
49	8°C	3,90	A
	15°C	1,63	B
	25°C	-	-
	35°C	-	-
56	8°C	2,75	A
	15°C	1,31	A
	25°C	-	-
	35°C	-	-

* Letras iguais indicam diferença estatística não significativa ($p < 0,05$) entre os resultados obtidos para uma dada combinação entre tempo e temperatura de armazenamento.

Tabela 23. Resultados do Teste de médias de Duncan aplicado às contagens de *Salmonella* Enteritidis nas amostras de ovo em pó com Aa de cerca de 0,8, durante armazenamento a 8°C, 15°C, 25°C e 35°C por até 56 dias.

Tempo de armazenamento (dias)	Temperatura	Log NMP/g	Grupo de Duncan*
7	8°C	3,25	A
	15°C	3,06	A
	25°C	2,05	A
	35°C	-	-
14	8°C	3,60	A
	15°C	2,40	A
	25°C	-	-
	35°C	-	-
21	8°C	2,80	A
	15°C	-	-
	25°C	2,29	A
	35°C	-	-
28	8°C	3,06	A
	15°C	3,25	A
	25°C	-	-
	35°C	-	-
35	8°C	2,29	A
	15°C	3,12	A
	25°C	-	-
	35°C	-	-
42	8°C	2,47	A
	15°C	0,95	B
	25°C	-	-
	35°C	-	-
49	8°C	2,66	-
	15°C	-	-
	25°C	-	-
	35°C	-	-
56	8°C	2,54	-
	15°C	-	-
	25°C	-	-
	35°C	-	-

* Letras iguais indicam diferença estatística não significativa ($p < 0,05$) entre os resultados obtidos para uma dada combinação entre tempo e temperatura de armazenamento.

Tabela 24. Resultado do Teste de médias de Duncan aplicado às contagens de *Salmonella* Enteritidis nas amostras de ovo em pó com Aa de cerca de 0,9, durante armazenamento a 8°C, 15°C, 25°C e 35°C por até 56 dias.

Tempo de armazenamento (dias)	Temperatura	Log NMP/g	Grupo de Duncan*
7	8°C	3,61	B
	15°C	-	-
	25°C	5,59	A
	35°C	-	-
14	8°C	4,60	C
	15°C	9,26	A
	25°C	-	-
	35°C	7,96	B
21	8°C	3,92	C
	15°C	9,04	A
	25°C	9,09	A
	35°C	8,14	B
28	8°C	3,28	C
	15°C	8,79	A
	25°C	9,29	A
	35°C	6,04	B
35	8°C	3,04	B
	15°C	8,90	A
	25°C	9,10	A
	35°C	-	-
42	8°C	4,26	B
	15°C	8,06	A
	25°C	8,15	A
	35°C	-	-
49	8°C	2,85	B
	15°C	8,77	A
	25°C	8,13	A
	35°C	-	-
56	8°C	2,99	B
	15°C	9,15	A
	25°C	9,12	A
	35°C	-	-

* Letras iguais indicam diferença estatística não significativa ($p < 0,05$) entre os resultados obtidos para uma dada combinação entre tempo e temperatura de armazenamento.

Tabela 25. Resultados do Teste de médias de Duncan aplicado às contagens de *Salmonella* Enteritidis nas amostras de ovo em pó armazenado por 7 dias, nas temperaturas de 8°C, 15°C, 25°C e 35°C.

Temperatura	Aa	Log NMP/g	Grupo de Duncan*
8°C	0,4	3,72	B
	0,6	-	-
	0,8	3,25	AB
	0,9	3,61	A
15°C	0,4	3,60	A
	0,6	3,12	A
	0,8	3,06	A
	0,9	-	-
25°C	0,4	3,85	B
	0,6	1,48	C
	0,8	2,05	B
	0,9	5,59	A
35°C	0,4	-	-
	0,6	-	-
	0,8	1,04	A
	0,9	1,74	A

* Letras iguais indicam diferença estatística não significativa ($p < 0,05$) entre os resultados obtidos para uma dada combinação entre temperatura de armazenamento e a Aa do ovo.

Tabela 26. Resultados do Teste de médias de Duncan aplicado às contagens de *Salmonella* Enteritidis nas amostras de ovo em pó armazenado por 14 dias, nas temperaturas de 8°C, 15°C, 25°C e 35°C.

Temperatura	Aa	Log NMP/g	Grupo de Duncan*
8°C	0,4	2,98	B
	0,6	4,23	A
	0,8	3,60	A
	0,9	4,60	A
15°C	0,4	9,26	A
	0,6	2,40	C
	0,8	2,24	C
	0,9	3,78	B
25°C	0,4	2,42	A
	0,6	0,62	B
	0,8	-	-
	0,9	-	-
35°C	0,4	1,29	B
	0,6	-	-
	0,8	-	-
	0,9	7,96	A

* Letras iguais indicam diferença estatística não significativa ($p < 0,05$) entre os resultados obtidos para uma dada combinação entre temperatura de armazenamento e a Aa do ovo.

Tabela 27. Resultados do Teste de médias de Duncan aplicado às contagens de *Salmonella* Enteritidis nas amostras de ovo em pó armazenado por 21 dias, nas temperaturas de 8°C, 15°C, 25°C e 35°C.

Temperatura	Aa	Log NMP/g	Grupo de Duncan*
8°C	0,4	2,64	A
	0,6	3,47	A
	0,8	2,80	A
	0,9	3,92	A
15°C	0,4	3,56	B
	0,6	2,39	C
	0,8	-	-
	0,9	9,04	A
25°C	0,4	2,42	B
	0,6	0,62	C
	0,8	2,29	B
	0,9	9,09	A
35°C	0,4	1,20	B
	0,6	-	-
	0,8	-	-
	0,9	8,14	A

* Letras iguais indicam diferença estatística não significativa ($p < 0,05$) entre os resultados obtidos para uma dada combinação entre temperatura de armazenamento e Aa do ovo.

Tabela 28. Resultados do Teste de médias de Duncan aplicado às contagens de *Salmonella* Enteritidis nas amostras de ovo em pó armazenado por 28 dias, nas temperaturas de 8°C, 15°C, 25°C e 35°C.

Temperatura	Aa	Log NMP/g	Grupo de Duncan*
8°C	0,4	2,81	B
	0,6	4,10	A
	0,8	3,06	AB
	0,9	3,28	B
15°C	0,4	3,56	B
	0,6	2,21	B
	0,8	3,25	B
	0,9	8,79	A
25°C	0,4	3,46	B
	0,6	-	-
	0,8	-	-
	0,9	9,29	A
35°C	0,4	1,21	B
	0,6	-	-
	0,8	-	-
	0,9	6,04	A

* Letras iguais indicam diferença estatística não significativa ($p < 0,05$) entre os resultados obtidos para uma dada combinação entre temperatura de armazenamento e Aa do ovo.

Tabela 29. Resultados do Teste de médias de Duncan aplicado às contagens de *Salmonella* Enteritidis nas amostras de ovo em pó armazenado por 35 dias, nas temperaturas de 8°C, 15°C, 25°C e 35°C.

Temperatura	Aa	Log NMP/g	Grupo de Duncan*
8°C	0,4	3,33	A
	0,6	3,42	A
	0,8	2,29	A
	0,9	3,04	A
15°C	0,4	3,56	B
	0,6	2,42	B
	0,8	3,12	B
	0,9	8,90	A
25°C	0,4	2,06	B
	0,6	-	-
	0,8	-	-
	0,9	9,10	A
35°C	0,4	-	-
	0,6	-	-
	0,8	-	-
	0,9	-	-

* Letras iguais indicam diferença estatística não significativa ($p < 0,05$) entre os resultados obtidos para uma dada combinação entre temperatura de armazenamento e Aa do ovo.

Tabela 30. Resultados do Teste de médias de Duncan aplicado às contagens de *Salmonella* Enteritidis nas amostras de ovo em pó armazenado por 42 dias, nas temperaturas de 8°C, 15°C, 25°C e 35°C.

Temperatura	Aa	Log NMP/g	Grupo de Duncan*
8°C	0,4	2,47	C
	0,6	3,42	B
	0,8	2,47	C
	0,9	4,26	A
15°C	0,4	2,35	B
	0,6	2,02	BC
	0,8	0,95	C
	0,9	8,06	A
25°C	0,4	2,93	B
	0,6	-	-
	0,8	-	-
	0,9	8,15	A
35°C	0,4	-	-
	0,6	-	-
	0,8	-	-
	0,9	-	-

* Letras iguais indicam diferença estatística não significativa ($p < 0,05$) entre os resultados obtidos para uma dada combinação entre temperatura de armazenamento e Aa do ovo.

Tabela 31. Resultados do Teste de médias de Duncan aplicado às contagens de *Salmonella* Enteritidis nas amostras de ovo em pó armazenado por 49 dias, nas temperaturas de 8°C, 15°C, 25°C e 35°C.

Temperatura	Aa	Log NMP/g	Grupo de Duncan*
8°C	0,4	3,40	A
	0,6	3,90	A
	0,8	2,66	A
	0,9	2,85	A
15°C	0,4	3,09	B
	0,6	1,63	C
	0,8	-	-
	0,9	8,77	A
25°C	0,4	2,47	B
	0,6	-	-
	0,8	-	-
	0,9	8,13	A
35°C	0,4	-	-
	0,6	-	-
	0,8	-	-
	0,9	-	-

* Letras iguais indicam diferença estatística não significativa ($p < 0,05$) entre os resultados obtidos para uma dada combinação entre temperatura de armazenamento e Aa do ovo.

Tabela 32. Resultados do Teste de médias de Duncan aplicado às contagens de *Salmonella* Enteritidis nas amostras de ovo em pó armazenado por 56 dias, nas temperaturas de 8°C, 15°C, 25°C e 35°C.

Temperatura	Aa	Log NMP/g	Grupo de Duncan*
8°C	0,4	2,81	A
	0,6	2,75	A
	0,8	2,54	A
	0,9	2,99	A
15°C	0,4	2,21	B
	0,6	1,31	C
	0,8	-	-
	0,9	9,15	A
25°C	0,4	1,96	B
	0,6	-	-
	0,8	-	-
	0,9	9,12	A
35°C	0,4	-	-
	0,6	-	-
	0,8	-	-
	0,9	-	-

* Letras iguais indicam diferença estatística não significativa ($p < 0,05$) entre os resultados obtidos para uma dada combinação entre temperatura de armazenamento e Aa do ovo.

5. Discussão

A análise de variância ANOVA aplicada aos resultados indicou que as variáveis Aa e temperatura de armazenamento são dependentes ($p < 0,05$). Assim, admitindo-se que as amostras de ovo em pó continham no momento da inoculação cerca de 10^4 UFC/g de *Salmonella*, nas amostras com Aa de cerca de 0,4, mantidas na temperatura de 8°C, houve um decréscimo médio de 1,2 ciclos log na contagem de *Salmonella*, após 56 dias de armazenamento (Tabela 1). Já na temperatura de armazenamento de 15°C (Tabela 2), este decréscimo, após os mesmos 56 dias de armazenamento, foi de 1,8 ciclos log. Na temperatura de 25°C (Tabela 3), este decréscimo foi um pouco maior, de 2 ciclos log. Para a temperatura de 35°C (Tabela 4), houve uma redução de 2,2 ciclos log já após 7 dias de estocagem. Nessa temperatura e com 35 dias de armazenamento, *Salmonella* já não pode mais ser detectada nas amostras pelo método empregado.

Nas amostras com Aa de cerca de 0,6 mantidas na temperatura de 8°C (Tabela 5), o comportamento de *Salmonella* foi semelhante ao observado nas amostras com Aa de cerca de 0,4, ou seja, a redução na contagem também foi de 1,2 ciclos log após 56 dias de armazenamento, considerando-se que a contaminação inicial era de 10^4 UFC/g. Já para as outras temperaturas de armazenamento, a redução da contagem de *Salmonella* foi maior. Para o armazenamento a 15°C (Tabela 6), a redução média após 56 dias de armazenamento foi de 2,7 ciclos log. Já na temperatura de 25°C (Tabela 7), o microrganismo não sobreviveu aos 56 dias de armazenamento. Não foi mais possível detectar *Salmonella* após 21 dias de armazenamento nesta temperatura. E na temperatura de armazenamento de 35°C (Tabela 8), *Salmonella* não pode mais ser isolada do ovo com 14 dias de armazenamento pelo método empregado.

No ovo com Aa de cerca de 0,8 armazenado a 8°C (Tabela 9), observou-se um decréscimo de 2,6 ciclos log na contagem de *Salmonella* após 56 dias de armazenamento, admitindo-se que a contaminação inicial era de 10^5 UFC/g. No produto armazenado a 15°C (Tabela 10), houve uma redução de 2,1 ciclos log logo aos 7 dias de armazenamento. Com 49 dias de estocagem, *Salmonella* não pode mais ser enumerada. Na temperatura de 25°C (Tabela 11), após 7 dias de armazenamento, o decréscimo na contagem foi de 3,1 ciclos log e com 28 dias de armazenamento não foi possível enumerar *Salmonella*. Na temperatura de armazenamento de 35°C (Tabela 12), já com 7 dias de armazenamento, não foi possível se detectar presença de *Salmonella* pelo método empregado.

Nas amostras com Aa de cerca de 0,9, o comportamento de *Salmonella* nas amostras armazenadas nas diferentes temperaturas foi diferente daquele observado nas amostras com Aa mais baixa. Nas amostras mantidas nas temperaturas de 15°C (Tabela 14) e 25°C (Tabela 15), observou-se intensa multiplicação de *Salmonella*, enquanto naquelas mantidas na temperatura de 8°C (Tabela 13), houve redução nas contagens. Considerando-se a contaminação inicial de 10⁵ UFC/g, observou-se que a 8°C ocorreu uma redução inicial de 2 ciclos log após 7 dias de armazenamento, que aumentou para 2,7 ciclos log após os 56 dias de armazenamento. Já nas temperaturas de 15°C e 25°C, após os 56 dias de armazenamento a concentração de *Salmonella* já era da ordem de 10⁹ NMP/g. Essa concentração já havia sido obtida após 14 dias nas temperaturas de 15°C e 25°C. Na temperatura de 35°C (Tabela 16), houve inicialmente um aumento na população, que em 7 dias já estava superior a 10⁸ NMP/g, mas após este período, houve um gradativo decréscimo na população.

Analisando-se a influência da temperatura no comportamento de *Salmonella* no ovo em pó com as Aa estudadas, pode-se notar que a 8°C a cinética de multiplicação de *Salmonella* nas amostras com Aa de cerca de 0,4 e 0,6 foi semelhante (Tabelas 1 e 5). Também os comportamentos nas amostras com Aa de cerca de 0,8 e 0,9 foi semelhante, nesta temperatura (Tabelas 9 e 13).

Nas amostras mantidas na temperatura de 15°C, a diminuição na contagem de *Salmonella* foi mais pronunciada do que a ocorrida nas amostras a 8°C. Após 56 dias de armazenagem nesta temperatura, houve nas Aa de cerca de 0,4 (Tabela 2) e cerca de 0,6 (Tabela 6) uma diminuição de 1,79 e 2,7 ciclos log respectivamente. Para a Aa de cerca de 0,8 (Tabela 10) *Salmonella* não pode ser recuperada com 49 dias de armazenamento. Já para Aa de cerca de 0,9 (Tabela 14) houve um acréscimo de 3,5 ciclos log após os 56 dias de armazenamento.

Na temperatura de 25°C em Aa de cerca de 0,4 (Tabela 3) houve um decréscimo de 2 ciclos log na contagem de *Salmonella* após os 56 dias de armazenagem, já nas Aa de cerca de 0,6 (Tabela 7) e cerca de 0,8 (Tabela 11) houve inativação total, respectivamente com 21 e 28 dias de armazenagem. Na Aa de cerca de 0,9 (Tabela 15) houve um aumento de 3,5 ciclos log na população de *Salmonella*.

Na temperatura de 35°C em Aa de cerca de 0,4 (Tabela 4), cerca de 0,6 (Tabela 8) e cerca de 0,8 (Tabela 12), não foi possível se enumerar *Salmonella* após 35, 14 e 7 dias de armazenagem respectivamente. Em Aa de cerca de 0,9 (Tabela 16), houve um aumento de 2,3 ciclos log após

14 dias de armazenamento e após este período, houve decréscimo na contagem da população de *Salmonella*.

Os resultados indicam que em Aa abaixo do mínimo necessário para a multiplicação de *Salmonella*, ou seja, 0,93 (Franco & Landgraf, 1996; Jay, 2000), a baixa temperatura protege o microrganismo em questão e quanto mais baixa a Aa, maior é esta proteção. Este resultado está de acordo com aqueles relatados por Juven et al.(1984), que estudaram a sobrevivência *S. Montevideo* e *S. Heidelberg* em leite em pó, chocolate em pó, alimento para aves e farinha de carne e ossos. Esses autores verificaram também que a sobrevivência do microrganismo aumentava com a diminuição da Aa.

Radkowski (2002), que inoculou separadamente 3 cepas de *Salmonella* em ovo em pó (*S. Enteritidis*, *S. Typhimurium* e *S. Agona*) e armazenou estas amostras a 20°C, 30°C, 40°C, 45°C e 50°C por 0, 1, 2, 3, 7 e 14 dias, observou que quanto mais alta a temperatura menor foi o tempo de sobrevivência do microrganismo. *S. Typhimurium* foi a primeira a ser inativada, mas todas as outras também morreram em temperatura de 45°C após 14 dias. Já em temperatura mais baixa, apesar de haver inativação, esta foi menor.

Abushelaibi et al. (2003) estudaram cereais infantis (arroz, mingau de aveia e mistura de cereais) reidratados com água, leite ou suco de maçã e testaram a sobrevivência e multiplicação de *Salmonella* nestes alimentos durante 24 horas de armazenamento em diferentes temperaturas. Estes autores observaram que quando a contaminação com *Salmonella* era superior a 4 log UFC/g não houve diferença na multiplicação de *Salmonella* em cereais infantis hidratados com água, com leite ou com suco de maçã, durante armazenamento à 4°C por 24 horas. Contudo, em temperaturas de abuso (15°C e 25°C) houve multiplicação de *Salmonella* durante o armazenamento, particularmente quando se hidratou os cereais com líquidos com pH próximo do neutro, como a água e o leite.

Jung & Beuchat (1999) analisaram a sobrevivência de *Salmonella Typhimurium* DT104 multi-resistente a antibióticos e de *Salmonella Typhimurium* não DT104 (sensível a antibióticos) em ovo em pó com diferentes Aa, armazenados em diferentes temperaturas. Estes autores observaram que não houve diferença no comportamento das duas cepas testadas. Verificaram também que as cepas sobreviveram mais tempo quando estocadas a 13°C do que a 37°C.

Baron, Gautier & Brulé (1999) demonstraram que *Salmonella Enteritidis*, inoculada em clara em pó reconstituída, tem multiplicação comparável à observada em meio de cultura.

Segundo os mesmo autores (1997), o ovo “in natura” não é um bom meio para a multiplicação de microrganismos, por causa de seus fatores intrínsecos, que incluem a lisozima, que rompe bactérias gram-positivas, a ovotransferrina, que retira o ferro do meio, o qual é essencial para multiplicação, o ovomucoide que é inibidor de proteinase e as proteínas que se ligam a vitaminas, como a avidina que se liga a riboflavina e a tiamina, que inibem crescimento destes microrganismos. Estes autores observaram que esta multiplicação ocorre por causa da desnaturação da ovotransferrina durante o processo de pasteurização e pelo aumento da disponibilidade de ferro.

As Tabelas 21, 22, 23 e 24 apresentam os resultados do teste de médias de Duncan para as amostras de ovo com Aa de cerca de 0,4, 0,6, 0,8 e 0,9, respectivamente, nas temperaturas de 8°C, 15°C, 25°C e 35°C. Nestas tabelas, na coluna do grupo de Duncan, letras iguais indicam diferença estatística não significativa ($p < 0,05$) entre os resultados obtidos para uma dada combinação entre Aa, temperatura e tempo de armazenamento.

Para o ovo com Aa 0,4 armazenado por 7 dias, não há diferença significativa nos resultados obtidos no produto armazenado a 8°C, 15°C ou 25°C. Entretanto, os resultados referentes à cinética de multiplicação de *Salmonella* Enteritidis nessas 3 temperaturas são significativamente diferentes dos obtidos para a temperatura de 35°C.

A relação existente entre a capacidade de sobrevivência da *Salmonella* Enteritidis em ovo em pó com diferentes valores de Aa, para uma mesma temperatura e para um mesmo tempo de armazenamento está apresentada nas Tabelas 25 a 32. Através destas podemos, por exemplo, ver que, quando o ovo é armazenado por 21 dias a 8°C (Tabela 27), não existe diferença significativa entre os resultados obtidos nas quatro Aa testadas, mas para o mesmo período de armazenamento e mesma temperatura, há diferença significativa entre os resultados obtidos nas amostras armazenadas nas outras três temperaturas estudadas.

Para comparação do comportamento de *Salmonella* Enteritidis sensível aos antibióticos com o de *Salmonella* Hadar resistente a diversos antibióticos, selecionou-se o ovo em pó com Aa de cerca de 0,6, porque nessa Aa os resultados foram permitiram uma melhor avaliação da influência da temperatura de armazenamento. Após 56 dias de armazenamento em temperatura de 8°C, admitindo-se que a contaminação inicial da cepa não resistente era de 10^4 UFC/g e a da cepa resistente era de 10^3 UFC/g, a cepa não resistente (Tabela 5) apresentou um decréscimo de 1,2 ciclos log, enquanto a resistente (Tabela 17) apresentou uma redução de 2,1 ciclos log. Na

temperatura de 15°C, houve um decréscimo de 2,2 ciclos log após os 56 dias de armazenamento para a cepa não resistente (Tabela 6). Já para a cepa resistente (Tabela 18), não foi possível detectá-la com 49 dias de armazenamento nessa temperatura. Na temperatura de 25°C, não foi possível isolar nenhuma das duas cepas (Tabelas 7 e 19) com 21 dias de armazenamento. Por último, para a temperatura de 35°C, houve um rápido decréscimo na contagem de *Salmonella* no produto, a cepa não resistente (Tabela 8) não foi mais detectada após 14 dias de armazenamento nessa temperatura, enquanto que para a cepa resistente (Tabela 20) esse tempo foi de 7 dias. O teste t pareado de Student indicou que não houve diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$) no comportamento das cepas resistente e não resistente no ovo com Aa de cerca de 0,6, independente da temperatura de armazenamento. Este resultado está de acordo com o encontrado por Jung & Beuchat (1999), que, ao estudarem 4 cepas de *Salmonella* Typhimurium resistentes a antibióticos e 4 cepas não resistentes, observaram que não houve diferença na capacidade de sobreviver nos diversos produtos testados.

Os resultados deste trabalho evidenciaram a importância da pasteurização adequada do ovo líquido na fabricação de ovo em pó, bem como do controle da contaminação pós-processamento por microrganismos patogênicos, principalmente *Salmonella*, que é o microrganismo mais frequentemente associado aos surtos de casos de DTAs envolvendo ovos e alimentos à base de ovos.

6. Conclusões

Em função dos resultados obtidos nesse trabalho, as conclusões de maior relevância são:

1. *Salmonella* Enteritidis é capaz de sobreviver por longo tempo (pelo menos 56 dias) em ovo em pó com Aa próximo de 0,4 quando armazenado a 8°C, 15°C ou 25°C. Essa sobrevivência é menor (até 28 dias) quando o armazenamento é feito a 35°C.
2. No ovo em pó com Aa em torno de 0,6 ou 0,8, *Salmonella* Enteritidis sobrevive por menos tempo do que no produto com Aa de cerca de 0,4, independentemente da temperatura de armazenamento.
3. No produto com Aa de cerca de 0,9, há grande multiplicação de *Salmonella* Enteritidis quando o armazenamento é feito a 15°C, 25°C ou 35°C. No produto com essa Aa, o armazenamento a 8°C impede a multiplicação do patógeno.
4. O fato de *Salmonella* ser resistente a antibióticos não influencia na sua capacidade de sobreviver ou multiplicar no ovo em pó com Aa de cerca de 0,6, independentemente da temperatura e tempo de armazenamento.

7. Referência Bibliografica

- Abushelaibi, A.A.; Sofos, J.N.; Samelis, J.; Kendall, P.A. Survival and growth of *Salmonella* in reconstituted infant cereal hydrated with water, milk or apple juice and stored at 4°C, 15°C and 25°C. **Food Microbiology**. v.20, p.17-25, 2003.
- Aguirre, J.M.; Travaglini, D.A.; Silveira, E.T.F. Desidratação de Ovos. **Boletim do Instituto de Tecnologia de Alimentos**. v.16, n.23, p.261-287, 1979.
- Altekruse, S.F.; Cohen, M.L.; Swerdlow, D.L. Emerging foodborne diseases. **Emerg. Infect. Dis.** v.3, p.285-293, 1997.
- Andrews, W.H.; Bruce, V.R.; Jung, G.; Satchel, F.; Sherrod, P. *Salmonella*. In: **USA Food and Drug Administration. Bacteriological Analytical Manual**. Gaithersburg: AOAC International. 8ed. pp.5.01-5.020, 1995.
- Andrews, W.H.; Hammack, T.S. *Salmonella*. **Bacteriological Analytical Manual Online**, 2003. Disponível em: Internet: [http:// www.cfsan.fda.gov/~eban/ban-5.html](http://www.cfsan.fda.gov/~eban/ban-5.html). Acessado em 9 de dezembro de 2004.
- Archer, J.; Jervis, E.T.; Bird, J.; Gaze, J.E. Heat Resistance of *Salmonella weltevreden* in Low-Moisture Environments. **J. Food Prot.** v.61, n.8, p.969-973, 1998.
- Banwart, G.J. Effect of sodium chloride and storage temperature on the growth of *Salmonella oranienburg* in egg yolk. **Poultry Sci.** v.43, p.973-976, 1964.
- Baron, F.; Gautier, M.; Brulé, G. Factors involved in the inhibition of growth of *Salmonella enteritidis* in liquid egg white. **J. Food Prot.** v.60, n.11, p.1318-1323, 1997
- Baron, F.; Gautier, M.; Brulé, G. Rapid growth of *Salmonella* Enteritidis in egg white reconstituted from industrial egg white powder. **J. Food Prot.** v.62, n.6, p.585-591, 1999.

Barretto, P.A.A. Ovos Ito. Informe Técnico. São Paulo, 2001.

Bean, N.H.; Goulding, J.S.; Daniels, M.T.; Angulo, F.J. Surveillance for foodborne disease outbreaks United States, 1998-1992. **J. Food Prot.** v.60, p.1265-1286, 1997.

Bergquist, D.H. Egg Dehydration. In: Stadelman, W.J. & Cotteril, O.J. **Egg Science and Technology**, 3ed. Westport, Connecticut, AVI Publishing Company, Inc. pp.285. 1986.

Carvalho, J.C.A.P.; Franco, R.M.; Oliveira, L.A.T. Qualidade Microbiológica do Ovo Integral Desidratado Produzido no Brasil. **Higiene Alimentar**, v.32, n.8, p.38-46, 1994.

Center for Disease Control and Prevention. Incidence of foodborne illnesses. Preliminary data from the Foodborne Diseases Active Surveillance Network (FoodNet) United States, December 1998. **MMWR** 48, p.189-194, 1999.

Center for Disease Control and Prevention. Preliminary FoodNet data on the incidence of foodborne illnesses selected sites, United States, 2000. **MMWR** 50, p.241-246, 2001.

Christian, J.H.B.; Stewart, B.J. Survival of *Staphylococcus aureus* and *Salmonella newport* in dried foods as influenced by water activity and oxygen. In: **Microbiological Safety of Food**. Proceedings of 8th International Symposium on Food Microbiology. Academic Press, London, p.107-119.

Cotteril, O.J.; Glaubert, J. Destruction of *Salmonella oranienburg* in egg yolk containing various concentrations of salt at low temperatures. **Poultry Sci.** v.51, p.1060-1061, 1972.

CVE (Centro de Vigilância Epidemiológica), Surtos de Doenças Transmitidas por Água e Alimentos no Estado de São Paulo - Ano 2001. Disponível em: Internet: www.cve.saude.sp.gov.br. Acessado em 03 Nov 2004.

CVE (Centro de Vigilância Epidemiológica), Surtos de Doenças Transmitidas por Água e Alimentos no Estado de São Paulo - Ano 2002. Disponível em: Internet: www.cve.saude.sp.gov.br. Acessado em 03 Nov 2004.

Hanes, D. Nontyphoid *Salmonella*. In: Miliotis, M.D.; Bier, J.W. **International Handbook of foodborne Pathogens**. New York: Marcel Dekker, INC., 2003. Cap.9, p.137-150.

D'Aoust, J-Y. *Salmonella* species. In: Doyle, M.P. **Foodborne Bacterial Pathogens**. New York: Marcel Dekker, 1989. Cap. 9, p. 327-445.

D'Aoust, J-Y. *Salmonella* species. In: Doyle, M.P., Beuchat, L.R., Montville, T.J. **Food Microbiology – Fundamentals and Frontiers**. Washington: American Society for Microbiology, 1997. Cap. 8, p. 129-158.

D'Aoust, J.Y. Pathogenicity of foodborne *Salmonella*. **Int. J. Food Microbiol.**v.12, p.17-40, 1991.

D'Aoust, J.Y. *Salmonella*. Species. In: Doyle, M.P., Beuchat, L.R. and Montville, T.J. (eds.). **Food Microbiology: fundamentals and frontiers**. Washington, D.C.: ASM Press, 2001. pp. 141-178.

Delazari, I. Aspectos microbiológicos de alimentos desidratados. **Boletim do Instituto de Tecnologia dos Alimentos**. v.16, n.3, p.227-260, 1979.

Dias, Á.P; Ajzentel, A; Calil, R.M. Avaliação da microbiota pré e pós-pasteurização do ovo líquido. **Higiene Alimentar**. v.16, n.100, p.127-133, 2002.

Doyle, M.E; Mazzotta, A.S. Review of studies on the thermal resistance of *Salomonellae*. **J. Food Prot**. v.63, n.6, p.779-795, 2000.

- Dreesen, D.W.; Barnhart, H.M.; Burke, J.L.; Chen, T.; Johnson, D.C. Frequency of *Salmonella enteritidis* and other salmonellae in the ceca of spent hens at time of slaughter. **Avian Dis.**, v.36, p.247-50, 1992.
- Ebel, E.; Schlosser, W. Estimating the annual fraction of eggs contaminated with *Salmonella enteritidis* in the United States. **Int. J. Food Microbiol.** v.61, p.51-62, 2000.
- El-Gazzar, F.E., Marth, E.H. *Salmonellae*, salmonellosis and dairy foods: a review. **J. Food Sci.** v.75, p.2327-2343, 1992.
- Franco, B.D.G.M., Landgraf, M. **Microbiologia dos Alimentos**. São Paulo: Editora Atheneu, 1996. Cap.4, p.55-60.
- Franco, B.D.G.M.; Landgraf, M.; Destro, M.T.; Gelli, D.S. Foodborne Disease in Southern South America. In: Miliotis, M.D.; Bier, J.W. **International Handbook of foodborne Pathogens**. New York: Marcel Dekker, INC., 2003. Cap.45, p.733-743.
- Fuzihara, T.O.; Fernandes, S.A.; Franco, B.D.G.M. Prevalence and dissemination of *Salmonella* serotypes along the slaughtering process in Brazilian small poultry slaughterhouses. **J. Food Prot.** v.63, n.12, p.1749-1753, 2000.
- Garthright, W.E. Appendix 2. *Most probable number from serial dilutions*. In: **USA. Food and Drug Administration**. Bacteriological Analytical Manual. 8 ed. Gaithersburg: AOAC Internacional (Revision A), p. Appl. 2.01-2.08. 1998.
- Gast-Richard, K.; Holt-Peter, S. Influence of the level and location of contamination on the multiplication of *Salmonella enteritidis* at different storage temperatures in experimentally inoculated eggs. **Poultry Sci.** v.79(4), p.559-563, 2000.
- Goepert, J.M.; Iskander, J.K.; Amundson, C.H. Relation of the Heat Resistance of Salmonellae to the Water Activity of the Environment. **Appl. Microbiol.** v.19, n.3, p.429-433, 1970.

- Gordon, A. Egg products. I. Process Technology. **Food Processing Industry**, v.40, n.473. p.27-30. 1971.
- Hedberg, C.W. Epidemiology of Foodborne Illnesses. In: Doyle et al. **Food microbiology: Fundamentals and Frontiers**. 2nd ed. Washington: ASM Press, 2001. cap.20, p.435-447.
- Hitchins, A.D.; Feng, P.; Watkins, W.D.; Rippey, S.R.; Chandler, L.A. *Escherichia coli* and the coliform bacteria. In: **USA. Food and Drug Administration. Bacteriological Analytical Manual**. 8^a Ed. Gaithersburg: AOAC International (Revision A). Cap.4, p.4.01-4.29. 1998.
- Holt, J.G.; Krieg, N.R.; Sneath, P.H.A.; Stanley, J.T.; Williams, S.T. **Bergey's Manual of Determinative Bacteriology**. Maryland: Lippincott Williams & Wilkins, 1994. 787 p.
- Hu, L.; Kopecko, D.J. Typhoid *Salmonella*. In: Miliotis, M.D.; Bier, J.W. **International Handbook of foodborne Pathogens**. New York: Marcel Dekker, INC., 2003. Cap.10, p.151-165.
- IBGE (Instituto Brasileiro de Geografia e estatística), 2002. disponível em: Internet: <http://www.IBGE.com.br/Home/estatistica/economia/ppm/2002/PPM2002.pdf>. Acessado em 2 de dezembro 2004.
- IBGE (Instituto Brasileiro de Geografia e estatística), 2004. disponível em: Internet: <http://www.IBGE.com.br>. Acessado em 2 de dezembro de 2004.
- Ibrahim, H.R. Ovotransferrin. In: Naidu, A.S. **Natural Food Antimicrobial Systems**. Florida: CRC Press, 2000. c.7, p.211-226.
- International Commission on Microbiological Specifications for Foods (ICMSF). *Eggs and egg products*. In: **Microorganisms in Foods 6 – Microbial Ecology of Food Commodities**. Blackie Academic & Professional, London, p.475-511. 1998.

- Jay, J.M. **Modern Food Microbiology**. Maryland: An Aspen Publication, 2000. 679p.
- Jung, Y.S.; Beuchat, L.R. Survival of multidrug-resistant *Salmonella typhimurium* DT104 in egg powders as affected by water activity and temperature. **Int. J. Food Microbiol.** v.49, p.1-8. 1999.
- Juven, B.J.; Cox, N.A.; Bailey, J.S.; Thompson, J.E.; Charles, O.W.; Shutze, J.V. Survival of *Salmonella* in Dry Food and Feed. **J. Food Prot.** v.47, n.6, p.445-448, 1984.
- Licari, J.J.; Potter, N.N. Salmonella survival During Spray Drying and Subsequent Handling of Skimmilk Powder. III. Effects of Storage Temperature on Salmonella and Dried Milk Properties. **Journal of Dairy Sciences.** v.53, n.7, p.877-882, 1970.
- Losso, J.N.; Nakai, S.; Charter, E.A. Lysozime. In: Naidu, A.S. **Natural Food Antimicrobial Systems**. Florida: CRC Press, 2000. c.6, p.185-210.
- Mañas, P.; Pagán, R.; Alvarez, I.; Usón, S.C. Survival of *Salmonella senftenberg* 775W to current liquid whole egg pasteurization treatments. **Food Microbiology.** v.20, p.593-600, 2003.
- Maturin, L.J.; Peeler, J.T. Aerobic Plate Count. In: **USA. Food and Drug Administration. Bacteriological Analytical Manual.** 8^a ed. Gaithersburg: AOAC international (Revision A). Cap.3, p.3.01-3.10. 1998.
- Mine, Y. Avidin. In: Naidu, A.S. **Natural Food Antimicrobial Systems**. Florida: CRC Press, 2000. c.9, p.253-264.
- Palumbo, M.S.; Beers, S.M.; Bhaduri, S.; Palumbo, S.A. Thermal resistance of *Salmonella* spp and *Listeria monocytogenes* in liquid egg yolk and egg yolk products. **J. Food Prot.** v.58 n.9, p.960-966, 1995.

- Pereira, J.A.O; Rodríguez, M.I.C; Alvarez, L.F; Sanz, M.L.G; Minguillón, G.D.G.F; Perales, L.L.H; Cortecero, M.D.S. **Tecnología de Alimentos**. Tradução Fátima Murad. Porto Alegre: ARTMED Editora S.A., 2005.
- Pereira, M.L.; Carmo, L.S.; Martins Vieira, M.B.C. Presença de *Salmonella* em linguiça frescal. Influência da metodologia de pesquisa e avaliação de antibiotico-resistência do microrganismo. **Ciênc. Tecnol. Aliment.** v.9, p.115-137, 1989.
- Popoff, M.Y.; Bockemühl, J.; Brener, F.W. Supplement 1997 (n°. 41) to the Kauffman-white scheme. **Rev. Microbiol.**, Paris, n.149, p.601-604, 1998.
- Radkowski, R. Survival of *Salmonella* spp. in whole powdered egg. **Archiv für Lebensmittelhygiene.** v.53, n.3, p.60-61, 2002.
- Reis, R.B.; Kruger, C.S.; Maciel, M.S. *Salmonella* spp em produtos cárneos comercializados no município de Cuiabá – MT. Avaliação da metodologia de pesquisa. Modelos de resistência a drogas antimicrobianas. **Ciênc. Tecnol. Aliment.** v.15, n.1, p.74-78, 1995.
- Revista Avicultura Industrial. Nº1029. Fevereiro, 1996.
- Silva, E.N; Duarte, A. *Salmonella* Enteritidis em aves: retrospectiva no Brasil. **Revista brasileira de Ciência Avícola.** v.4, n.2, p.85-100, 2002.
- Sim, J.S; Sunwoo, H.H; Lee, E.N. Oviglobulin IgY. In: Naidu, A.S. **Natural Food Antimicrobial Systems**. Florida: CRC Press, 2000. cap.8, p.227-252.
- SIRVETA (Sistema de Informacion para la Vigilancia de Las Enfermedades Transmitidas por los Alimentos), 2004. Disponível em: Internet:
http://www.panalimentos.org/sirveta/e/grafb_02.asp?frmAnDesde=1993&frmAnHasta=2002&frmPais=Todos&frmEnfermedad=Todas&Accept=Acceptar. Acesso em 03 Nov 2004.

SIRVETA (Sistema de Informacion para la Vigilancia de Las Enfermedades Transmitidas por los Alimentos), 2004. Disponível em: Internet:

http://www.panalimentos.org/sirveta/e/grafb_02.asp?frmAnDesde=1993&frmAnHasta=2002&frmPais=Todos&frmEnfermedad=Salmonelosis&Accept=Aceptar. Acesso em 03 Nov 2004.

SIRVETA (Sistema de Informacion para la Vigilancia de Las Enfermedades Transmitidas por los Alimentos), 2004. Disponível em: Internet:

http://www.panalimentos.org/sirveta/e/grafb_02.asp?frmAnDesde=1993&frmAnHasta=2002&frmPais=Brasil&frmEnfermedad=Todas&Accept=Aceptar. Acessado em 03 Nov 2004.

SIRVETA (Sistema de Informacion para la Vigilancia de Las Enfermedades Transmitidas por los Alimentos), 2004. Disponível em: Internet:

http://www.panalimentos.org/sirveta/e/grafb_02.asp?frmAnDesde=1993&frmAnHasta=2002&frmPais=Brasil&frmEnfermedad=Salmonelosis&Accept=Aceptar. Acessado em 03 Nov 2004.

SIRVETA (Sistema de Informacion para la Vigilancia de Las Enfermedades Transmitidas por los Alimentos), 2004. Disponível em: Internet:

<http://www.panalimentos.org/sirveta/e/salida2.asp?xls=si>. Acessado em 03 Nov 2004.

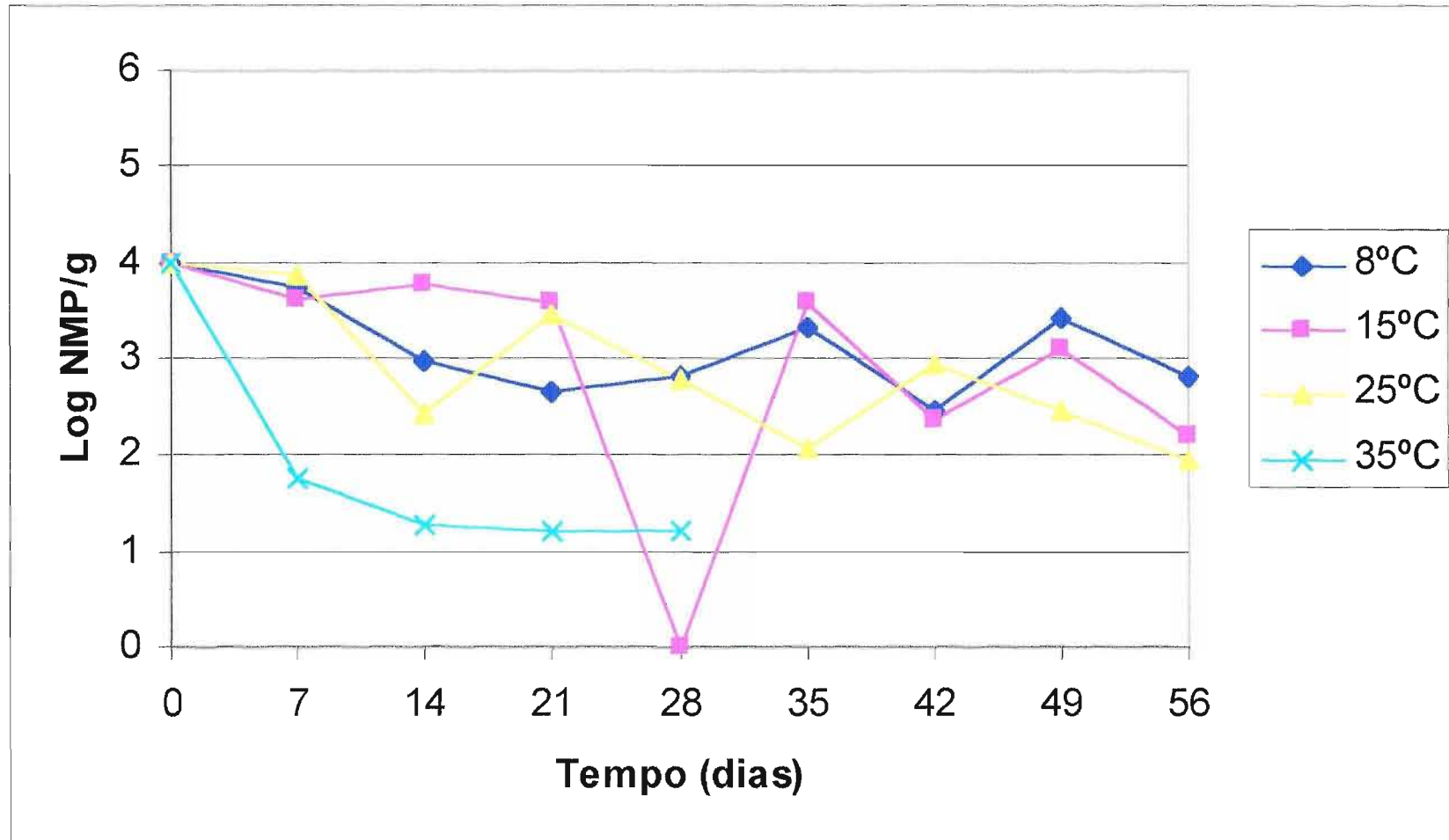
Solomon, S.E.; Bain, M.M.; Cranstoun, S.; Nascimento, V. *Hen's egg structure and function*. In: **Microbiology of the Avian Egg** (eds. R.G. Board and R. Fuller). Chapman & Hall, London, p.1-24, 1994.

Sparks, H.C. Shell accessory materials: structure and functions. In: **Microbiology of the Avian Egg** (eds. R.G. Board and R. Fuller). Chapman & Hall, London, p.25-42, 1994.

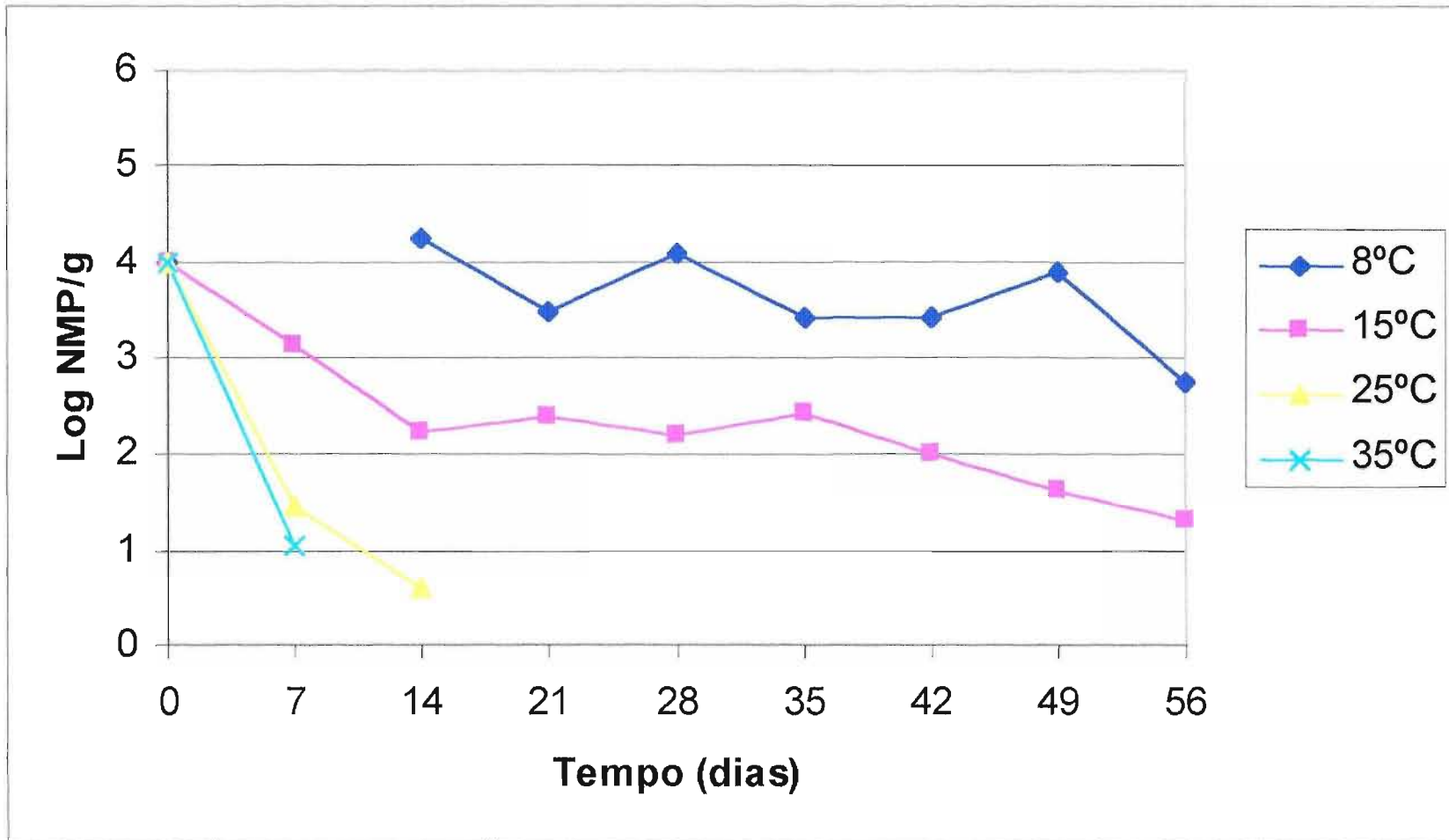
Tietjen, M.; Fung, D.Y.C. Salmonellae and food safety. **Crit. Rev. Microbiol.** v.21, p.53-83, 1995.

Anexos

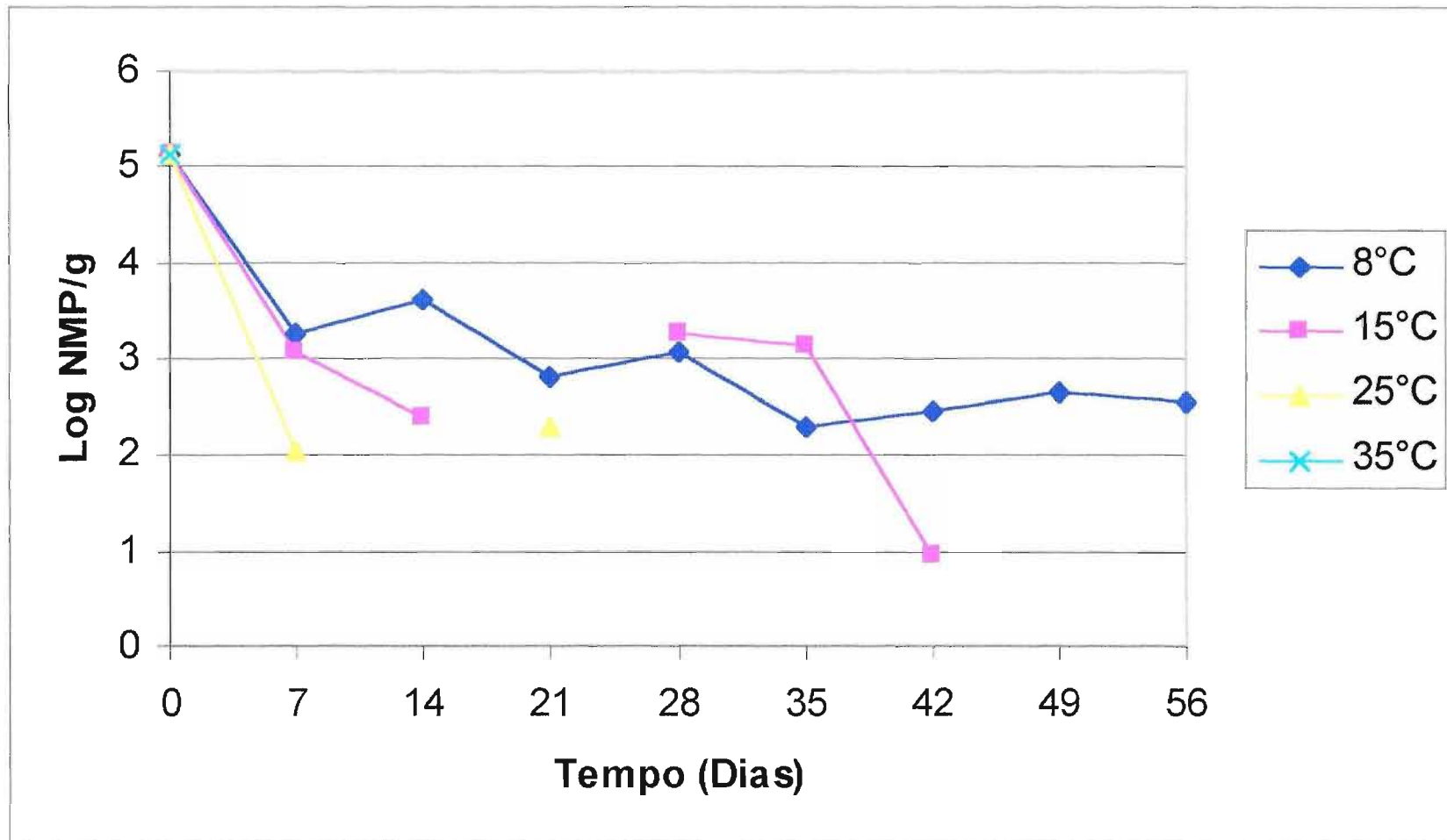
Anexo 1: Comportamento de *Salmonella* Enteritidis em ovo em pó com Aa de cerca de 0,4, durante armazenamento por até 56 dias, a 8°C, 15°C, 25°C e 35°C.



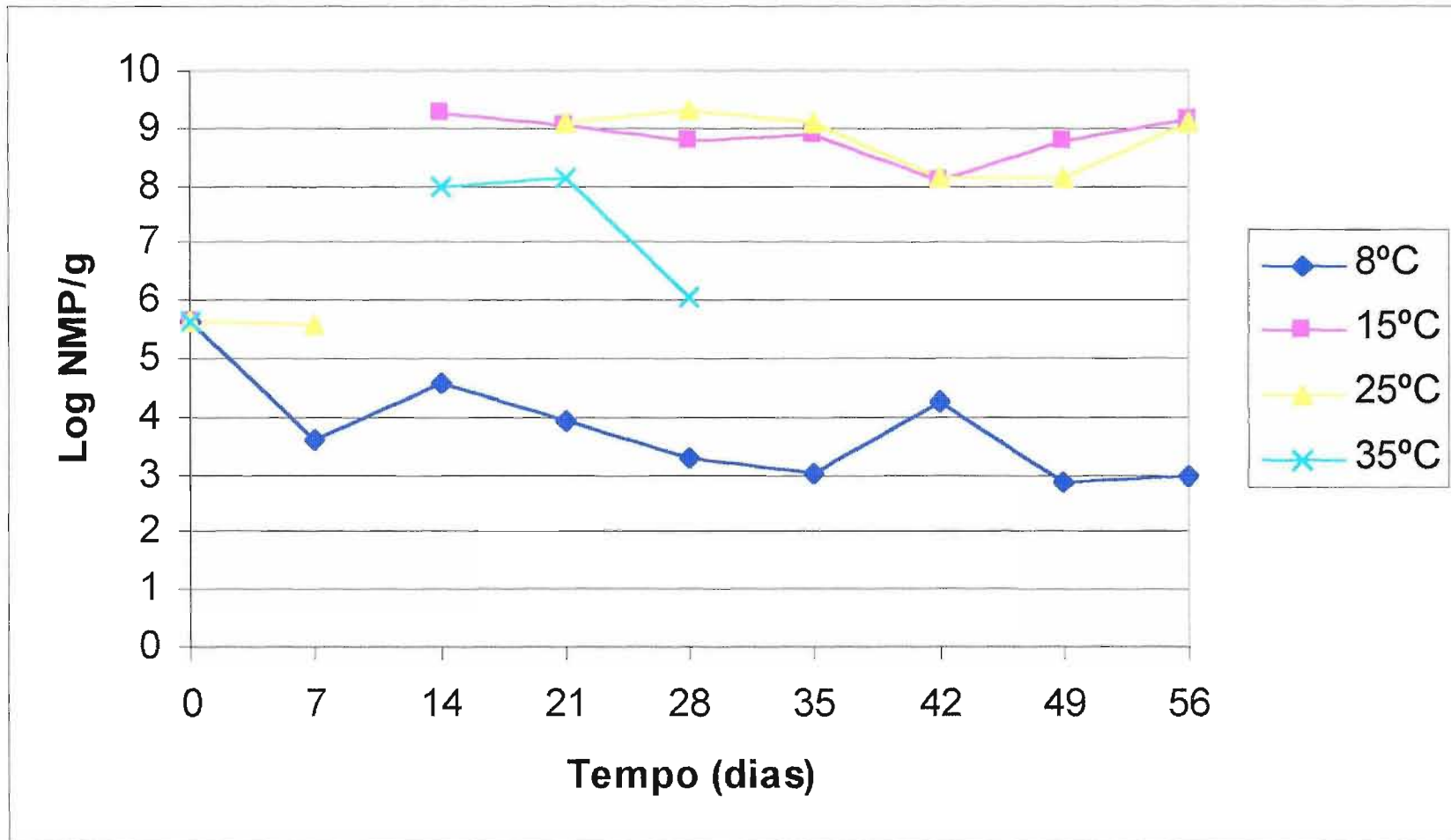
Anexo 2: Comportamento de *Salmonella* Enteritidis em ovo em pó com Aa de cerca de 0,6, durante armazenamento por até 56 dias, a 8°C, 15°C, 25°C e 35°C.



Anexo 3: Comportamento de *Salmonella* Enteritidis em ovo em pó com Aa de cerca de 0,8, durante armazenamento por até 56 dias, a 8°C, 15°C, 25°C e 35°C.



Anexo 4: Comportamento de *Salmonella* Enteritidis em ovo em pó com Aa de cerca de 0,93, durante armazenamento por até 56 dias, a 8°C, 15°C, 25°C e 35°C.



Anexo 5: Comportamento de *Salmonella* Hadar em ovo em pó com Aa de cerca de 0,6, durante armazenamento por até 56 dias, a 8°C, 15°C, 25°C e 35°C.

