

See discussions, stats, and author profiles for this publication at: <https://www.researchgate.net/publication/49600262>

# ADIÇÃO DE PLASMA BOVINO EM SALMOURAS PARA INJEÇÃO DE COXÃO DURO BOVINO (m. BICEPS FEMORIS) E SEUS EFEITOS NO PH E NA CARGA MICROBIANA DE BIFES COZIDOS, EMBALADOS A VÁCUO E MANTIDOS...

Article · December 2010

Source: DOAJ

CITATIONS

2

READS

52

3 authors, including:



Ana Lúcia da Silva Corrêa Lemos

Instituto de Tecnologia de Alimentos

14 PUBLICATIONS 323 CITATIONS

SEE PROFILE



Andréia Iocca

Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Mato Grosso (IFMT), Brazil,...

5 PUBLICATIONS 25 CITATIONS

SEE PROFILE



# ADIÇÃO DE PLASMA BOVINO EM SALMOURAS PARA INJEÇÃO DE COXÃO DURO BOVINO (m. *BICEPS FEMORIS*) E SEUS EFEITOS NO PH E NA CARGA MICROBIANA DE BIFES COZIDOS, EMBALADOS A VÁCUO E MANTIDOS SOB REFRIGERAÇÃO\*

Andréia Fernanda Silva IOCCA\*\*

Maria da Penha Longo Mortatti CATANOZI \*\*\*

Ana Lúcia da Silva Corrêa LEMOS \*\*\*\*

■ **RESUMO:** As características físicas (pH) e microbiológicas (contagem total de psicotróficos e bactérias lácticas) de coxão duro bovino (m. *Biceps femoris*) submetido à injeção de salmouras isentas de polifosfatos, adicionadas de agentes bacteriostáticos, lactato de sódio e diacetato de sódio e contendo plasma bovino líquido (PLL e PLO) ou plasma bovino desidratado (PDL e PDO), foram avaliadas juntamente com cortes injetados com salmouras isentas de plasma, contendo polifosfatos e com os mesmos agentes bacteriostáticos (CL e CO) e cortes não injetados *in natura* (IN), perfazendo sete tratamentos de bifés embalados a vácuo, provenientes dos cortes íntegros após cozimento, mantidos sob refrigeração (6°C) durante 43 dias. Os tratamentos injetados crus e após cozimento não diferiram entre si quanto ao pH, embora, o pH do IN cru tenha sido inferior ao do cozido. A adição de plasma bovino líquido ou desidratado não afetou a carga bacteriana nos cortes íntegros após cocção, mas elevou a carga bacteriana de todos os tratamentos injetados quando comparados aos isentos de plasma (CL e CO) ao longo da estocagem sob refrigeração dos bifés embalados a vácuo. A temperatura de armazenamento (6°C), comum durante a distribuição e exposição de carnes resfriadas no varejo, foi um dos fatores determinantes para a redução da qualidade microbiológica, pois influenciou na velocidade do crescimento dos microrganismos deterioradores, especialmente nas salmouras adicionadas de plasma.

■ **PALAVRAS CHAVE:** Carne bovina cozida; plasma bovino; marinação; psicotróficos; bactérias lácticas; agentes bacteriostáticos.

## INTRODUÇÃO

Atender à demanda dos consumidores por qualidade e uniformidade de maciez da carne vem sendo uma prioridade

dos frigoríficos. Uma das tecnologias adotadas é denominada “enhancement” (melhoramento), que consiste em se injetar na carne fresca uma salmoura contendo, essencialmente, polifosfatos e cloreto de sódio, a fim de aumentar a retenção de fluidos e incrementar os atributos de palatabilidade sem adição de condimentos (marinação).<sup>2</sup> Por outro lado, existe resistência ao uso de polifosfatos em alguns mercados, pois são atribuídos efeitos negativos à saúde humana, especialmente sobre o metabolismo renal.<sup>18</sup>

O sangue corresponde a cerca de 6% do peso vivo de bovinos, sendo um subproduto com alto teor protéico. Coleta-se cerca de 50% do sangue do animal durante o processo de sangria. Estima-se que uma quantidade superior a 1,2 milhões de litros de sangue é produzido diariamente nos matadouros de bovinos brasileiros, considerando-se que 37,5 milhões de cabeças sejam abatidas (dados de 2007), o que gera mais de 450 milhões de litros de sangue anualmente.<sup>9</sup>

O plasma bovino corresponde a cerca de 50 a 70% do sangue e constitui-se em uma fonte protéica de baixo custo, com excelentes propriedades funcionais de alto valor nutricional.<sup>7</sup> O uso das proteínas do sangue tem sua aplicação mais ampla em produtos cozidos, pois o plasma requer calor para promover a ligação da água. O uso de plasma bovino se mostrou uma alternativa para injeção de cortes de coxão duro com salmouras isentas de polifosfatos, pois melhorou o rendimento no reaquecimento e reduziu a força de cisalhamento pós-reaquecimento sem perda de qualidade sensorial.<sup>16</sup> Além disso, é uma excelente fonte de nutrientes, sendo necessária a utilização, em conjunto, de agentes bacteriostáticos que permitam a manutenção da vida útil de carnes injetadas.<sup>27,28</sup>

A carne bovina embalada a vácuo e armazenada sob refrigeração tem merecido atenção especial no que tange

\* Trabalho elaborado com apoio financeiro do PADC/FCF-UNESP-Araraquara.

\*\* Pós-Graduação em Alimentos e Nutrição – Curso de Mestrado – Faculdade de Ciências Farmacêuticas – FCF – UNESP – 14801-902 – Araraquara – SP – Brasil.

\*\*\* Departamento de Alimentos e Nutrição – FCF – UNESP – 14801-902 – Araraquara – SP – Brasil.

\*\*\*\* Centro de Tecnologia de Carnes – Instituto de Tecnologia de Alimentos – 13073-001 – Campinas – SP – Brasil. E-mail: analucia@ital.sp.gov.br.

aos aspectos higiênico-sanitários da sua preparação/manipulação e conservação, uma vez que deles depende, em última análise, o período útil de comercialização e consumo.<sup>8</sup> A qualidade microbiológica das carnes cozidas em embalagens a vácuo é dependente da cuidadosa avaliação das matérias-primas, condições higiênicas de processo e controle das temperaturas durante toda a cadeia, até o momento em que o consumidor reaquece o produto em microondas ou banho-maria. Tendo em vista que estas carnes são alimentos pasteurizados em condições anaeróbicas mantidos, preferencialmente, sob temperaturas de refrigeração, os microrganismos mais preocupantes incluem os anaeróbicos, microaerófilos ou anaeróbicos facultativos, organismos psicrotróficos e formadores de esporos, assim como as toxinas resistentes ao calor.<sup>4</sup> A cocção de cortes bovinos íntegros geralmente é realizada em temperaturas entre 60 e 162,8°C, dependendo do meio utilizado (ar, água, vapor), e a temperatura interna atinge de 54,4 a 70°C.<sup>4</sup> O tempo de processamento térmico deve ser suficiente para promover a pasteurização e dependerá do microrganismo alvo, da temperatura utilizada no meio de aquecimento, das dimensões e da forma geométrica do corte das propriedades termofísicas do produto. O tratamento térmico de pasteurização definirá a qualidade sensorial e a segurança microbiológica dos produtos. As exigências para isso variam entre os órgãos reguladores, que indicam uma redução de 4D ou 6D para *Listeria monocytogenes*.<sup>30</sup>

Os aeróbicos, tais como *Pseudomonas* causadores de deterioração, são inibidos em atmosferas isentas de oxigênio. A produção de micotoxinas é inibida com teores de oxigênio de 0,5%. Assim sendo, dentre os microrganismos deterioradores, os lactobacilos destacam-se como as bactérias predominantes. É importante destacar que alguns patógenos conseguem crescer e sobreviver em temperaturas de refrigeração nas carnes embaladas a vácuo, tais como *Clostridium botulinum* (esporo termorresistente), *Clostridium perfringens* (enterotoxinas termorresistentes), *Staphylococcus aureus* (toxinas termorresistentes) e *Listeria monocytogenes*. O uso de barreiras adicionais às embalagens para aumentar a segurança microbiológica dos produtos cárneos embalados a vácuo inclui o uso de agentes bacteriostáticos, com destaque para o lactato de sódio isoladamente ou em combinação com diacetato de sódio, que tem demonstrado eficácia na inibição de alguns patógenos em produtos cárneos cozidos, sendo amplamente utilizado na indústria frigorífica.<sup>15,16</sup>

Para a avaliação dessas condições, é imprescindível o estudo de alguns índices físico-químicos e microbiológicos, tais como a determinação de pH, contagem de microrganismos psicrotróficos e bactérias lácticas, que podem traduzir a qualidade do produto.<sup>1</sup>

A marinação, ao promover melhoria da maciez e da suculência, aliada ao pré-cozimento, agrega conveniência às carnes.<sup>27</sup> Por outro lado, alguns estudos indicam que a marinação pode reduzir a vida útil destes produtos devido ao crescimento microbiano e alterações da aparência.<sup>15</sup> A manipulação destas carnes após o cozimento poderia

ainda aumentar os riscos de contaminação microbiológica, afetando a segurança destes produtos. O uso de lactato de sódio isoladamente ou em combinação com diacetato de sódio tem demonstrado eficácia na inibição de alguns patógenos em produtos cárneos cozidos.<sup>16</sup>

O objetivo do presente trabalho foi avaliar o efeito da adição de plasma bovino, líquido e desidratado, combinados com agentes bacteriostáticos (lactato e diacetato de sódio), a salmouras isentas de polifosfatos, nas contagens totais de microrganismos psicrotróficos e bactérias lácticas em coxão duro (*m. Biceps femoris*) bovino injetado cru e cozido fatiado, embalado a vácuo e mantido sob refrigeração.

## MATERIAL E MÉTODOS

### Tratamento das Amostras

Vinte e uma peças de coxão duro (*Biceps femoris*) provenientes de um mesmo lote de abate foram destinadas, aleatoriamente, a sete tratamentos (Quadro 1), embaladas a vácuo e mantidas sob refrigeração (0±2°C) por 48 horas até início do processamento, quando foram pesadas, aferidos os valores de pH e retiradas amostras das peças e dos plasmas bovino líquido para a caracterização microbiológica, segundo recomendações de Downes & Ito.<sup>6</sup> Após injeção (15% sobre o peso inicial do corte) com salmoura a 2°C (Quadro 1) as peças foram embaladas a vácuo individualmente em filme *cook-in* (Sealed Air – CN530) e submetidas a cozimento com injeção direta de vapor, em estufa automática Becker a 85°C até atingirem 74°C no centro das peças, o que levou aproximadamente 4 horas. Em seguida, os cortes foram resfriados em água corrente por 45 minutos e mantidos em câmara frigorífica a 0°C durante 06 dias, simulando processos industriais análogos. A seguir, foi realizada a caracterização microbiológica das peças íntegras cozidas, as quais foram fatiadas (2,5cm de espessura e com peso médio de 150g), imediatamente após amostragem. Os bifes foram embalados a vácuo individualmente e mantidos a 6°C durante 43 dias. As análises realizadas em triplicatas dos bifes cozidos embalados a vácuo ao longo da estocagem sob refrigeração (6°C) nos intervalos 7, 14, 29, 35, 43 após fatiamento foram a determinação do valor de pH, contagem de bactérias aeróbias psicrotróficas totais e de bactérias lácticas, bem como a avaliação subjetiva do odor e da aparência.

### Avaliações Microbiológicas

Utilizou-se a técnica de esfregaço em superfície “swab” das peças íntegras para caracterização microbiológica inicial na matéria-prima crua sem injeção e logo após o cozimento, sendo retiradas amostras de 50cm<sup>2</sup>, de cada uma das 21 peças, com moldes (10cm<sup>2</sup>) e swabs estéreis. Na caracterização inicial dos bifes, utilizou-se a técnica de lavagem de superfície, realizados em triplicata para cada tratamento, imersos em 100ml de solução salina peptona-

QUADRO 1 – Formulação das salmouras utilizadas na injeção de coxão duro (*Biceps femoris*).

Composição	Tratamentos						
	IN	CL	CO	PLL	PLO	PDL	PDO
Água (%)	-	81,50	81,50	30,40	30,40	76,50	76,50
Sal (%)	-	3,85	3,85	3,85	3,85	3,85	3,85
Polifosfatos-Brifisol BKG/Adicon (%)	-	2,70	2,70	-	-	-	-
Eritorbato de sódio (%)	-	0,38	0,38	0,38	0,38	0,38	0,38
Açúcar (%)	-	3,85	3,85	3,85	3,85	3,85	3,85
Lactado de sódio- Purasal S-Purac Sínteses (%)	-	7,70	-	7,70	-	7,70	-
Lactato de sódio+diacetato de sódio OptiForm S Purac Sínteses (%)	-	-	7,70	-	7,70	-	7,70
PL (%)	-	-	-	53,85	53,85	-	-
PD (%)	-	--	-	-	-	7,70	7,70

IN - In natura - carne não submetida à injeção;

CL - carne injetada com salmoura padrão e lactato de sódio e isenta de plasma;

CO - carne injetada com salmoura padrão e Optiform® e isenta de plasma;

PLL - carne injetada com salmoura adicionada de plasma líquido concentrado e lactato de sódio isenta de polifosfatos;

PLO - carne injetada com salmoura adicionada de plasma líquido concentrado e Optiform® isenta de polifosfatos;

PDL - carne injetada com salmoura adicionada de plasma líquido concentrado desidratado e lactato de sódio isenta de polifosfatos;

PDO - carne injetada com salmoura adicionada de plasma líquido concentrado desidratado e Optiform® isenta de polifosfatos.

da tamponada. Para a caracterização microbiológica inicial dos cortes íntegros crus e cozidos, do plasma líquido, bem como da caracterização inicial dos bifés, foram realizadas as seguintes análises: pesquisa de *Salmonella* sp., contagem de estafilococos coagulase-positiva, contagem de clostrídios sulfito-redutores, contagem de coliformes termotolerantes e contagem de microrganismos psicotróficos, segundo recomendações de Downes & Ito<sup>6</sup> e a Resolução RDC nº12 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária.<sup>3</sup> Para avaliação da carga microbiana dos bifés de coxão duro foi realizada contagem de microrganismos psicotróficos e bactérias lácticas em triplicatas para cada tratamento nos intervalos de tempo - 07, 14, 29, 35 e 43 dias após fatiamento dos cortes e embalagem sob vácuo. Esses períodos correspondem a 13, 20, 35 e 49 dias após cocção da peça íntegra, respectivamente, em uma simulação das práticas usuais do mercado neste segmento de produtos.

#### Análise subjetiva de odor e aparência

Após a abertura das embalagens e amostragem para realização das análises microbiológicas, três pessoas experientes na avaliação de carnes avaliaram consensualmente a aparência e o odor característicos de carne cozida nos bifés de coxão duro de todos os tratamentos.

#### Tratamento estatístico

Os resultados obtidos foram submetidos à análise de variância considerando-se sete tratamentos independentes com triplicatas de cada tratamento para os parâmetros medidos nos cortes íntegros. Nos bifés ao longo da estocagem o delineamento foi um planejamento fatorial completo onde foram avaliados os efeitos dos tratamentos (7) e do tempo (5). As médias foram submetidas ao teste de Tukey

para avaliação das diferenças com nível de significância de 95% ( $p < 0,05$ ).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

### Avaliação do pH das Salmouras e das Amostras

Os valores de pH das salmouras utilizadas para injeção dos cortes de coxão duro, e dos cortes cárneos antes e após injeção são apresentados na Tabela 1. As salmouras Controle (CL e CO) apresentaram os maiores valores de pH devido à adição do polifosfato. A presença de polifosfatos eleva o pH da salmoura,<sup>11</sup> portanto para as salmouras controle seria esperada uma elevação do valor de pH. Os resultados revelaram que a adição de plasma também promoveu elevação do pH da salmoura, uma vez que alguns estudos indicaram valores de 6,2 para salmouras isentas de polifosfatos.<sup>17</sup>

Observa-se na Tabela 1 que as salmouras controle contendo polifosfatos (CL e CO) apresentaram valores de pH que não diferiram entre si ( $p > 0,05$ ) e foram significativamente ( $p < 0,05$ ) inferiores ao das salmouras contendo plasma (PLL, PLO, PDL, PDO), as quais não apresentaram diferenças significativas entre si ( $p > 0,05$ ), independentemente do tipo de plasma e do agente bacteriostático utilizado. Sabe-se que a presença de polifosfatos eleva o pH da salmoura,<sup>17</sup> portanto para as salmouras controle seria esperada uma elevação no valor de pH observado, o que também ocorreu nas salmouras contendo plasma.

Ainda que obtidos valores de pH elevados nas salmouras CL e CO, os cortes cárneos após a injeção não apresentaram diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) entre os tratamentos. Isto se deve às proteínas da carne que apresentam um efeito tamponante,<sup>16</sup> impedindo a elevação do pH

aos valores observados na salmoura. O uso de plasma nas salmouras de injeção elevou o pH da carne (0,18 a 0,20), porém em níveis menores que os observados nas salmouras tradicionais (CL e CO) que elevaram o valor de pH em 0,24 e 0,33, respectivamente.

Em estudo<sup>11</sup> realizado com peças de contra-filé bovino injetado (10%) com salmoura contendo tripolifosfato de sódio (0,4% no produto final) obtiveram pH mais alto (0,2 unidades  $p < 0,05$ ) do que as peças injetadas com salmoura sem estes ingredientes. Da mesma forma, em contrafilé, paleta e coxão mole bovino, os autores<sup>22</sup> concluíram

que peças injetadas (10%) com tripolifosfato de sódio e sal (0,4% de ambos no produto final) apresentaram o valor de pH mais alto (0,22 unidades  $p < 0,05$ ) que o das peças não injetadas. O aumento no valor de pH foi atribuído à adição de fosfatos alcalinos na salmoura de marinação.<sup>12, 24</sup>

Não houve interação significativa ( $p > 0,05$ ) entre o tratamento e o tempo. O efeito significativo ( $p < 0,05$ ) do tratamento e do tempo nos valores de pH dos bifés provenientes de cada um dos tratamentos são apresentados na Tabela 2 e Figura 1, respectivamente.

Tabela 1 – Média dos valores de pH das salmouras e dos cortes cárneos íntegros, antes e após a injeção.

Tratamentos	pH das salmouras	pH da carne antes da injeção	pH da carne após a injeção
IN	-	5,45 <sup>a</sup>	5,45 <sup>a</sup>
CL	8,78 <sup>a</sup>	5,47 <sup>a</sup>	5,80 <sup>b</sup>
CO	8,67 <sup>a</sup>	5,51 <sup>a</sup>	5,75 <sup>b</sup>
PLL	7,47 <sup>b</sup>	5,48 <sup>a</sup>	5,67 <sup>b</sup>
PLO	7,11 <sup>b</sup>	5,54 <sup>a</sup>	5,72 <sup>b</sup>
PDL	7,44 <sup>b</sup>	5,56 <sup>a</sup>	5,76 <sup>b</sup>
PDO	7,06 <sup>b</sup>	5,52 <sup>a</sup>	5,70 <sup>b</sup>

\*Letras iguais na coluna indicam que não houve diferença significativa entre as médias ( $p < 0,05$ ) pelo teste de Tukey

IN - In natura - carne não submetida à injeção;

CL - carne injetada com salmoura padrão e lactato de sódio e isenta de plasma;

CO - carne injetada com salmoura padrão e Optiform® e isenta de plasma;

PLL - carne injeta com salmoura adicionada de plasma líquido concentrado e lactato de sódio isenta de polifosfatos;

PLO - carne injeta com salmoura adicionada de plasma líquido concentrado e Optiform® isenta de polifosfatos;

PDL - carne injeta com salmoura adicionada de plasma líquido concentrado desidratado e lactato de sódio isenta de polifosfatos;

PDO - carne injeta com salmoura adicionada de plasma líquido concentrado desidratado e Optiform® isenta de polifosfatos.

Tabela 2 – Média dos valores de pH dos bifés de coxão duro cozido por tratamento durante a estocagem refrigerada (7°C).

Tratamentos	Valor de pH
IN	6,07 <sup>c</sup>
CL	6,25 <sup>a</sup>
CO	6,20 <sup>a,b</sup>
PLL	6,18 <sup>b</sup>
PLO	6,19 <sup>b</sup>
PDL	6,21 <sup>a,b</sup>
PDO	6,16 <sup>b</sup>

In natura – carne não submetida à injeção;

CL - carne injetada com salmoura padrão e lactato de sódio e isenta de plasma;

CO - carne injetada com salmoura padrão e Optiform® e isenta de plasma;

PLL - carne injeta com salmoura adicionada de plasma líquido concentrado e lactato de sódio, isenta de polifosfatos;

PLO - carne injeta com salmoura adicionada de plasma líquido concentrado e Optiform®, isenta de polifosfatos;

PDL - carne injeta com salmoura adicionada de plasma líquido concentrado desidratado e lactato de sódio, isenta de polifosfatos;

PDO - carne injeta com salmoura adicionada de plasma líquido concentrado desidratado e Optiform®, isenta de polifosfatos.

Houve efeito do tratamento ( $p < 0,05$ ) sobre o valor de pH dos bifes ao longo da estocagem. O maior valor de pH (6,25) foi encontrado no tratamento CL que não diferiu ( $p > 0,05$ ) do CO e do PDL (Tabela 2). Estes resultados sugerem que a presença polifosfatos com lactato de sódio, isoladamente (CL) ou com acetato de sódio (CO), retarda a queda de pH decorrente do crescimento de bactérias lácticas sob vácuo. O tratamento IN foi o que apresentou o menor valor de pH (6,07), sugerindo que, a ausência de polifosfatos e agentes bacteriostáticos tornaram este meio mais favorável ao crescimento das bactérias lácticas que promovem abaixamento do pH da carne. Embora o uso dos polifosfatos em carnes injetadas vise o aumento da capacidade de retenção de água pelas proteínas miofibrilares, vários estudos revelaram seu efeito bacteriostático.<sup>18</sup>

O tempo apresentou efeito significativo ( $p < 0,05$ ) sobre os valores de pH dos bifes (Figura 1), que apresentaram leve queda ao longo dos 43 dias, indicando crescimento de bactérias lácticas neste período.

### Caracterização Microbiológica das Matérias-Primas

A caracterização microbiológica inicial da matéria-prima antes e após o cozimento é apresentada na Tabela 3.

Os cortes íntegros crus destinados aos tratamentos CO apresentaram contagem total de psicrotóxicos 1,5 ciclos log superiores aos demais tratamentos ( $p < 0,05$ ) e não apresentaram diferença significativa dos cortes destinados ao CL ( $p > 0,05$ ), que por sua vez não diferiram do IN ( $p > 0,05$ ), os quais apresentaram contagem sem diferença significativa dos tratamentos PLL, PLO, PDL e PDO ( $p > 0,05$ ). O total de coliformes termotolerantes e demais índices higiênicos

sanitários refletem a qualidade microbiológica da matéria-prima. Após a pasteurização não foi detectado crescimento microbiano, o que indica a eficiência do processo para estas classes de microorganismos.

Apesar da qualidade microbiológica do plasma ter se apresentado inferior à das carnes, o cozimento promoveu a pasteurização adequada dos tratamentos injetados, pois mesmo nos tratamentos contendo plasma líquido, não foram detectadas contagens nos cortes íntegros pós-cozimento.

A carga microbiana de psicrotóxicos, encontrada neste estudo, está acima da encontrada por Silveira et al.,<sup>26</sup> que obtiveram contagens abaixo de 2 ciclos Log UFC/ml após centrifugação e resfriamento do plasma bovino. Ockerman & Hansen<sup>19</sup> afirmam que para as mesmas condições de coleta do plasma bovino, é esperada uma contagem de até 4 ciclos Log UFC/ml. A contagem de coliformes termotolerantes, encontrado nessa pesquisa, está abaixo do encontrado por Rossi Jr. et al.,<sup>23</sup> que foi de quase 7 ciclos Log UFC/ml, enquanto Silveira et al.,<sup>25</sup> obtiveram uma contagem inferior ao do presente estudo, menor que 2 ciclos Log UFC/ml.

O plasma desidratado não foi submetido às análises microbiológicas, mas, segundo ficha técnica do fornecedor, apresentava ausência de *Salmonella* e de Coliformes 45,5°C em 25 e 10g de amostra, respectivamente. A contagem total de mesófilos apresentava-se menor que  $10^3$ /g de amostra e a de esporos sulfito redutor menor que 10/g de amostra.

Apesar da qualidade microbiológica do plasma líquido ter se apresentado inferior à das carnes, o cozimento promoveu a pasteurização adequada em todos os tratamentos injetados, pois não foram detectadas contagens nos cortes íntegros pós-cozimento (Tabela 3).

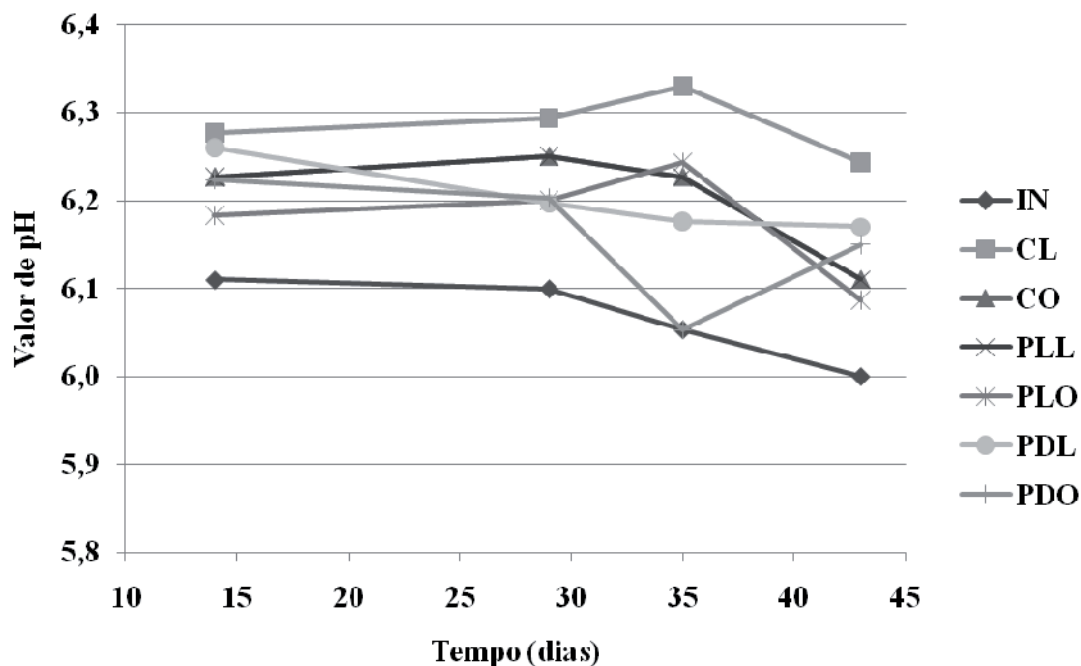


FIGURA 1 – Perfil dos valores médios de pH ao longo da estocagem refrigerada (6°C) de bifes provenientes de cortes de coxão duro cozidos após tratamentos de injeção com diferentes salmouras.

*Estabilidade dos bifes de coxão duro cozidos*

Dentre os indicadores físico-químicos e microbiológicos utilizados na avaliação da qualidade de carnes cruas ou cozidas embaladas a vácuo, o pH, a contagem total de microrganismos psicrotróficos<sup>1</sup> e bactérias lácticas<sup>28</sup> representam valiosos instrumentos. Sobretudo, os microrganismos responsáveis por alterações irreversíveis nas carnes, tais como a presença de limosidade, coloração e sabores anormais, além de modificações teciduais, que tornam o alimento impróprio para o consumo e respondem por grandes prejuízos sofridos pela indústria.<sup>1, 20</sup>

Houve efeito significativo (p<0,05) do tratamento e do tempo, bem como da interação tratamento X tempo sobre o crescimento de psicrotróficos (Tabela 4) e bactérias lácticas (Tabela 5) em bifes provenientes de coxão duro cozido, embalados a vácuo e armazenados sob refrigeração (6°C).

O efeito significativo (p<0,05) da interação tratamento X tempo sobre o crescimento de psicrotróficos (Tabela 4) evidenciou que o tratamento CL apresentou contagem significativamente (p<0,05) inferior à dos demais tratamentos até o 14º dia de estocagem, enquanto aos 29 dias não foram observadas diferenças significativas (p>0,05) entre CL e IN, que apresentaram contagens significativamente inferiores (p<0,05) às dos demais tratamentos que não diferiam entre si (p>0,05). Aos 35 dias de armazenamento a menor contagem dentre os tratamentos foi a do CL, enquanto os demais não diferiram entre si (p>0,05). Aos 7 dias de estocagem, as contagens de IN e PDO, que não diferiram

entre si (p>0,05), foram menores (p<0,05) que as observadas nos tratamentos CO, PLL, PLO e PDL, que não se mostraram significativamente diferentes (p>0,05) entre si. No 43º dia os tratamentos IN e CL apresentaram contagens sem diferença significativa entre si (p>0,05) e 2 Log UFC/g (p<0,05) inferiores às dos demais tratamentos, os quais não apresentaram diferenças significativas entre si (p>0,05).

Os psicrotróficos estão entre os microrganismos que apresentam bom desenvolvimento em temperaturas de refrigeração (0 a 7°C).<sup>10</sup> Espécies e linhagens bacterianas que podem crescer em ou abaixo de 7°C são amplamente distribuídas entre os gêneros de bactérias Gram-negativas e menos entre as Gram-positivas. Dentre as Gram - merecem destaque as *Pseudomonas*, enquanto dentre as Gram + os *Lactobacillus*. Sendo as *Pseudomonas* aeróbias não seriam relevantes como deterioradoras de carnes embaladas a vácuo, pois nestas condições seu crescimento é prejudicado. Assim sendo, os *Lactobacillus* seriam os mais importantes deterioradores nas carnes embaladas a vácuo, tanto cruas como cozidas.<sup>3</sup>

Todos os tratamentos com salmouras adicionadas de plasma e o CO apresentaram contagens de bactérias psicrotróficas acima de 7 log UFC/g no 14º dia de armazenamento. Uma extensão na fase lag de crescimento microbiano foi observada para os tratamentos IN e CL. O uso combinado de polifosfatos com lactato de sódio retardou o crescimento dos psicrotróficos até o 43º dia de estocagem refrigerada, enquanto no tratamento IN observou-se crescimento a partir do 29º dia de estocagem.

Tabela 3 – Caracterização microbiológica inicial dos cortes íntegros injetados crus e aos seis dias após cozimento, no momento do fatiamento dos bifes.

Tratamentos	Microrganismos										
	Psicrotróficos (Log UFC/cm <sup>2</sup> )		Coliformes termotolerantes (Log NMP/ cm <sup>2</sup> )		Clostridio. Sulfito-Redutor (Log UFC/ cm <sup>2</sup> )		Staphylococcus coagulase-positiva (Log UFC/ cm <sup>2</sup> )		Salmonella sp. (ausência em 25g)		
	crú	cozido	crú	cozido	crú	cozido	crú	cozido	Cru	cozido	
IN	3,61	0,53	<1,0	<1,0	<1,0	<1,0	<1,0	<1,0	<1,0	Ausente	Ausente
CL	4,18	<1,0	<1,0	<1,0	<1,0	<1,0	<1,0	<1,0	<1,0	Ausente	Ausente
CO	4,56	<1,0	<1,0	<1,0	<1,0	<1,0	<1,0	<1,0	<1,0	Ausente	Ausente
PLL	3,20	<1,0	<1,0	<1,0	<1,0	<1,0	<1,0	<1,0	<1,0	Ausente	Ausente
PLO	2,96	<1,0	<1,0	<1,0	<1,0	<1,0	<1,0	<1,0	<1,0	Ausente	Ausente
PDL	2,90	<1,0	1,42	<1,0	<1,0	<1,0	<1,0	<1,0	<1,0	Ausente	Ausente
PDO	2,77	<1,0	1,22	<1,0	<1,0	<1,0	<1,0	<1,0	<1,0	Ausente	Ausente
PL	5,53	-	3,66	-	<1,0	-	<1,0	-	<1,0	Ausente	-

UFC = Unidade formadora de colônia;

NMP = Número mais provável;

IN - In natura – carne não submetida à injeção;

CL - carne injetada com salmoura padrão e lactato de sódio e isenta de plasma;

CO - carne injetada com salmoura padrão e Optiform® e isenta de plasma;

PLL - carne injeta com salmoura adicionada de plasma líquido concentrado e lactato de sódio, isenta de polifosfatos;

PLO - carne injeta com salmoura adicionada de plasma líquido concentrado e Optiform®, isenta de polifosfatos;

PDL - carne injeta com salmoura adicionada de plasma líquido concentrado desidratado e lactato de sódio, isenta de polifosfatos;

PDO - carne injeta com salmoura adicionada de plasma líquido concentrado desidratado e Optiform®, isenta de polifosfatos;

PL – plasma líquido concentrado.

Os tratamentos contendo plasma bovino líquido diferiram dos demais, pois apresentaram contagens mais elevadas, sugerindo que a carga microbiana do plasma líquido pode ter comprometido a qualidade dos cortes injetados com este tipo de plasma na manipulação pós-cozção.

Os tratamentos CO, PLL, PLO e PDL apresentaram contagens de psicotróficos sem diferenças significativas entre si ( $p > 0,05$ ) no 7º dia de estocagem, enquanto o PDO apresentou de 3 a 4 ciclos Log menores neste período, indicando que o plasma desidratado foi mais seguro microbiologicamente para este tipo de produto, estendendo a vida útil desse tratamento até o 14º dia de estocagem.

O uso da mistura de lactato de sódio com diacetato de sódio auxiliou na extensão da vida útil do tratamento PDO, pois retardou o crescimento de microrganismos psicotróficos. Surpilli et al.,<sup>27</sup> observaram que o uso da combinação lactato de sódio com diacetato de sódio apresentou efeito inibitório mais pronunciado sobre cortes de coxão mole cozidos e refrigerados do que sobre as carnes cruas após injeção.

Resultados semelhantes foram obtidos quando o diacetato de sódio foi utilizado na salmoura de injeção de cortes bovinos, sendo verificado ainda que, embora o diacetato de sódio tenha sido efetivo na redução da contagem total de aeróbios, sua mistura com lactato de sódio se mostrou ainda mais efetiva para controle de crescimento dos microrganismos.<sup>14, 15</sup>

A temperatura foi um fator importante, influenciando na velocidade de crescimento dos microrganismos,<sup>21</sup> uma vez que todos os processos de crescimento dependem de reações químicas e que essas reações são influenciadas pela temperatura.<sup>22</sup> Michelini et al.,<sup>18</sup> obtiveram um período de vida útil de 35 dias para os tratamentos com plasma bovino, com contagem de psicotróficos próximos de 7 Log UFC/g, devido à temperatura de armazenagem menor (2°C). Enquanto que no presente estudo, com temperatura de armazenagem de 6°C, comumente utilizada pelo comércio varejista, a vida útil foi de 14 dias para os tratamentos com plasma bovino (acima de 7 Log UFC/g), exceto para o tratamento PDO, que obteve 29 dias de vida útil.

Em cortes de coxão mole (m. *semimembranosus*) submetidos à injeção (10%) com salmoura elaborada para resultar em um produto final contendo 0,4% de cloreto de sódio e 0,4% de fosfato, a contagem total de psicotróficos em placas indicou, que os bifes provenientes de cortes injetados apresentaram maior susceptibilidade à deterioração durante exposição.<sup>27</sup> Desta forma, embora o “enhancement” melhore as características sensoriais, afeta negativamente a vida útil sob refrigeração.

O efeito da interação tratamento X tempo ( $p < 0,05$ ) sobre as contagens de bactérias lácticas nos bifes de coxão duro cozido, ao longo da estocagem sob refrigeração (6°C) é apresentado na Tabela 5.

Tabela 4 – Contagem total de microrganismos psicotróficos ao longo da estocagem sob refrigeração (6°C) de bifes de coxão duro cozido e embalado a vácuo.

Tratamentos	Psicotróficos (Log UFC/g) <sup>1-2</sup>				
	07º dia	14º dia	29º dia	35º dia	43º dia
IN	3,85 <sup>B,c</sup>	5,31 <sup>B,ab</sup>	5,56 <sup>B,b</sup>	7,53 <sup>A,a</sup>	6,10 <sup>B,a</sup>
CL	2,07 <sup>C,d</sup>	3,16 <sup>C,c</sup>	4,90 <sup>B,b</sup>	5,93 <sup>B,a</sup>	5,79 <sup>B,a</sup>
CO	6,81 <sup>A,b</sup>	7,20 <sup>A,b</sup>	8,13 <sup>A,a</sup>	8,48 <sup>A,a</sup>	8,37 <sup>A,a</sup>
PLL	7,13 <sup>A,a</sup>	8,17 <sup>A,a</sup>	8,42 <sup>A,a</sup>	8,20 <sup>A,a</sup>	7,88 <sup>A,a</sup>
PLO	6,31 <sup>A,a</sup>	7,51 <sup>A,a</sup>	7,82 <sup>A,a</sup>	8,07 <sup>A,a</sup>	7,91 <sup>A,a</sup>
PDL	7,10 <sup>A,a</sup>	7,81 <sup>A,a</sup>	7,40 <sup>AB,ab</sup>	8,17 <sup>A,a</sup>	7,66 <sup>A,a</sup>
PDO	3,05 <sup>B,b</sup>	6,63 <sup>A,b</sup>	7,88 <sup>A,a</sup>	8,10 <sup>A,a</sup>	7,95 <sup>A,a</sup>

1- Letras minúsculas iguais na linha indicam que não houve diferença significativa entre as médias ( $p < 0,05$ ) pelo Teste de Tukey ( $p < 0,05$ );

2- Letras maiúsculas iguais na coluna indicam que não houve diferença significativa entre as médias ( $p < 0,05$ ) pelo Teste de Tukey ( $p < 0,05$ );

IN - In natura – carne não submetida à injeção; ;

CL - carne injetada com salmoura padrão e lactato de sódio e isenta de plasma;

CO - carne injetada com salmoura padrão e Optiform® e isenta de plasma;

PLL - carne injeta com salmoura adicionada de plasma líquido concentrado e lactato de sódio, isenta de polifosfatos;

PLO - carne injeta com salmoura adicionada de plasma líquido concentrado e Optiform®, isenta de polifosfatos;

PDL - carne injeta com salmoura adicionada de plasma líquido concentrado desidratado e lactato de sódio, isenta de polifosfatos;

PDO - carne injeta com salmoura adicionada de plasma líquido concentrado desidratado e Optiform®, isenta de polifosfatos;



Tabela 5 – Contagem de bactérias lácticas ao longo da estocagem sob refrigeração (6°C) de cortes de coxão duro cozido embalado a vácuo.

Tratamentos	Bactérias Lácticas (Log UFC/g) <sup>1-2</sup>				
	07º dia	14º dia	29º dia	35º dia	43º dia
IN	2,25 <sup>C,d</sup>	7,08 <sup>A,a</sup>	4,01 <sup>C,c</sup>	7,03 <sup>A,a</sup>	5,80 <sup>AB,b</sup>
CL	2,35 <sup>C,b</sup>	2,54 <sup>AD,b</sup>	1,83 <sup>D,b</sup>	5,67 <sup>A,a</sup>	1,00 <sup>C,b</sup>
CO	6,89 <sup>A,b</sup>	3,68 <sup>C,c</sup>	6,59 <sup>A,b</sup>	8,24 <sup>A,a</sup>	8,39 <sup>A,a</sup>
PLL	2,54 <sup>C,c</sup>	5,43 <sup>B,b</sup>	4,93 <sup>B,b</sup>	8,01 <sup>A,a</sup>	7,95 <sup>A,a</sup>
PLO	6,18 <sup>A,a</sup>	3,33 <sup>CD,c</sup>	6,07 <sup>AB,a</sup>	7,43 <sup>A,a</sup>	5,44 <sup>AB,b</sup>
PDL	6,95 <sup>A,a</sup>	4,05 <sup>C,b</sup>	6,72 <sup>A,a</sup>	7,25 <sup>A,a</sup>	7,69 <sup>A,a</sup>
PDO	4,54 <sup>B,b</sup>	3,56 <sup>C,b</sup>	7,33 <sup>A,a</sup>	7,29 <sup>A,a</sup>	7,89 <sup>A,a</sup>

1- Letras iguais minúsculas na linha indicam que não houve diferença significativa entre as médias pelo Teste de Tukey ( $p < 0,05$ );

2- Letras maiúsculas iguais na coluna indicam que não houve diferença significativa entre as médias pelo Teste de Tukey ( $p < 0,05$ );

IN - In natura – carne não submetida à injeção;

CL - carne injetada com salmoura padrão e lactato de sódio e isenta de plasma;

CO - carne injetada com salmoura padrão e Optiform® e isenta de plasma;

PLL - carne injeta com salmoura adicionada de plasma líquido concentrado e lactato de sódio, isenta de polifosfatos;

PLO - carne injeta com salmoura adicionada de plasma líquido concentrado e Optiform®, isenta de polifosfatos;

PDL - carne injeta com salmoura adicionada de plasma líquido concentrado desidratado e lactato de sódio, isenta de polifosfatos;

PDO - carne injeta com salmoura adicionada de plasma líquido concentrado desidratado e Optiform®, isenta de polifosfatos.

Para as bactérias lácticas (Tabela 5), o efeito significativo ( $p < 0,05$ ) da interação tratamento X tempo indicou que, aos 7 dias de armazenamento dos bifés, os tratamentos IN, CL e PLL não apresentaram diferença significativa ( $p > 0,05$ ) entre eles e as contagens foram de 2LogUFC/g, inferiores à observada no PDO (4,5LogUFC/g) que por sua vez foi menor (3LogUFC/g) que a dos demais tratamentos (CO, PDL e PLO). O tratamento CL permaneceu até o 29º dia sem crescimento significativo ( $p < 0,05$ ). Os tratamentos PLO e PDL adicionados de plasma bovino apresentaram contagens de bactérias lácticas significativamente ( $p < 0,05$ ) maiores que as observadas nos demais tratamentos. Houve crescimento acentuado, em todos os tratamentos contendo plasma bovino, com pico máximo de crescimento aos 35º dias de estocagem, seguido pelo declínio da curva de crescimento das bactérias lácticas.

Nos produtos cárneos embalados a vácuo mantidos sob temperatura de refrigeração, sobressai uma microbiota de bactérias lácticas psicotróficas, e o lactato exerce ação inibitória sobre tais bactérias. <sup>29</sup>

Apesar de a pasteurização ter se mostrado eficaz para destruir as bactérias patogênicas na superfície, a manipulação após cocção, que no caso do presente estudo incluiu fatiamento seguido de embalagem a vácuo individual dos bifés, promoveu a recontaminação. Cooksey et al. <sup>5</sup> evidenciaram que a pós pasteurização sob vácuo de cortes íntegros cozidos pode retardar o crescimento de microrganismos psicotróficos na superfície, pois as contagens apresentaram-se inferiores a 2,0Log/cm<sup>2</sup> aos 85 dias de estocagem a 4°C, enquanto os cortes não pós pasteurizados atingiram contagens superiores a 4LogUFC/cm<sup>2</sup> aos 14 dias.

A marinação altera a população de bactérias lácticas deteriorantes inicialmente presentes no produto, no qual há estudos que detectaram novas espécies. <sup>29</sup> O processo de marinação favorece o crescimento de algumas bactérias lácticas psicotróficas que raramente são detectadas em produtos cárneos não-marinados. <sup>29</sup>

Em relação às alterações sensoriais, estas foram percebidas no 35º dia para o tratamento IN, com presença de limosidade e alterações na cor, enquanto para os tratamentos CO, PLL, PLO, PDL e PDO estas alterações foram percebidas no 43º dia de estocagem (7°C).

## CONCLUSÕES

O tratamento térmico, aliado à presença dos agentes bacteriostáticos, obteve efeito positivo sobre a segurança microbiológica, pois não houve detecção de microrganismos patogênicos pós-pasteurização, em todos os tratamentos, entretanto a manipulação pós-cocção desencadeou o crescimento de microrganismos deterioradores.

Em relação à qualidade microbiológica dos cortes injetados com plasma e cozidos, todos apresentaram carga microbiana superior à da carne in natura durante o período, entretanto o plasma bovino desidratado, adicionado de lactato de sódio + diacetato de sódio (PDO), pode ser uma alternativa para substituir o polifosfato, com uma vida útil aceitável sob o aspecto microbiológico de até 14 dias.

IOCCA, A. F. S.; CATANOZI, M. P. L. M.; LEMOS, A. L. S. C. Injection of brines containing bovine plasma in beef outside round and its effects on pH value and microbial load of refrigerated vacuum packaged cooked steaks. **Alim. Nutr.**, Araraquara, v. 21, n. 3, p. 443-452, jul./set. 2010.

■**ABSTRACT:** The physical (pH) and microbiological (psychotrophic microorganisms and lactic bacteria) characteristics of beef outside round (m. *Biceps femoris*) injected (15%) with brines free of polyphosphates containing and sodium lactate or sodium lactate and sodium diacetate and liquid bovine plasma (PLL and PLO) or dehydrated bovine plasma (PDL, PDO) were evaluated along with beef cuts injected with brines free from plasma, but containing polyphosphates and bacteriostatic agents (CL and CO) and non injected beef cuts (IN), comprising seven treatments of cooked and vacuum packaged beef steaks stored under refrigeration (6°C) during 43 days. No differences in pH were detected among raw or cooked injected treatments, although IN showed lower pH value in raw beef cuts. The addition of liquid or dehydrated bovine plasma did not affect the microbial load after whole muscles pasteurization, but increased the bacterial counts in cooked beef steaks during refrigerated storage, comparing to treatments with no plasma addition (CL and CO). The storage temperature (6°C), usually found during commercialization of meat increased the microorganisms growth rate affecting the microbiological quality, especially when plasma was added to the brine.

■**KEYWORDS:** Cooked beef, bovine plasma, enhancement, psychotropic, lactic bacteria, bacteriostatic agents

## AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à Dr<sup>a</sup> Luciana Myagusku, pesquisadora do Centro de Tecnologia de Carnes do ITAL pelas valiosas sugestões relacionadas às análises microbiológicas.

## REFERÊNCIAS

1. BARRA, A. J. **Valores de pH e número de microrganismos psicrotróficos em carne bovina.** 1980. 63f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Faculdade de Veterinária, Universidade Federal Fluminense. Rio de Janeiro, 1980.
2. BRASHEAR, G.; BREWER, M. S.; McKEITH, F. K. Effect of raw material pH, pump level and pump composition on quality characteristics of pork. **J. Muscle Foods**, v. 13, p. 189-204, 2002.
3. BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução – RDC nº12, de 02/01/2001. Regulamento técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, 10 jan. 2001, n.7. Seção 1, p.43-53.
4. CHENOLL, E. et al. Lactic acid bacteria associated with vacuum-packed cooked meat product spoilage: population analysis by rDNA-based methods. **J. Appl. Microbiol.**, v. 102, n. 2, p. 498-508, 2007.
5. COOKSEY, K. et al. post packaging pasteurization reduces *Clostridium perfringens* and other bacteria in precooked vacuum-packaged beef loin chunks. **J. Food Sci.**, v. 58, n. 2, p. 239-241, 1993.
6. DOWNES, F. P.; ITO, K. **Compendium of methods for the microbiological examination of foods.** 4<sup>th</sup> ed. Washington, DC: American Public Health Association, 2001. 676p.
7. DUARTE, R. T.; SIMÕES, M. C. C.; SGARBIERI, V. C. Bovine blood components: fractionation, composition and nutritive value. **J. Agric. Food Chem.**, v. 47, n. 1, p. 231-236, 1999.
8. GILL, C. O. Substrate limitation of bacterial growth at meat surfaces. **J. Appl. Bacteriol.**, v. 41, n. 3, p. 401-410, 1976.
9. INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Pesquisa da produção pecuária de abate de animais, produção de ovos, couro e leite**, 2007. Disponível em: <http://www.ibge.com.br>. Acesso em: 23 jun. 2008.
10. IOCCA, A. F. S.; IOCCA, F. A. S. Segurança alimentar: estudo de caso sobre o consumo de carne *in natura* embalada a vácuo – São Paulo/Brasil. In: CONGRESSO LATINOAMERICANO DE MICROBIOLOGIA E HIGIENE DE LOS ALIMENTOS, 9.; CONGRESSO VENEZOLANO DE CIENCIA Y TECNOLOGIA DE LOS ALIMENTOS, 4., 2007, Isla Marguerita. **Anais...** Isla Marguerita: ICMSF, 2007. CD-Rom.
11. JAY, J. M. **Microbiologia de alimentos.** 6.ed. Porto Alegre: Artmed, 2005. 661p.
12. LAWRENCE, T. E. et al. Effects of enhancing beef *longissimus* with phosphate plus salt, or calcium lactate plus non-phosphate water binders plus rosemary extract. **Meat Sci.**, v. 67, p. 129-137, 2004.
13. LEMOS, A. L. S. C. Ingredientes extensores em produtos cárneos. **Rev. Nac. Carne**, v. 30, n. 355, p. 104-107, 2006.
14. LEMOS, A. L. S. C. Diacetato de sódio. **Rev. Nac. Carne**, v. 26, n. 306, p. 78, 2002.
15. MACA, J. V. et al. Sodium lactate and storage temperature effects on shelf life of vacuum package beef top rounds. **Meat Sci.**, v. 53, p. 23-29, 1999.
16. MBANDI, E.; SHELEF, L. A. Enhanced inhibition of *Listeria monocytogenes* and *Salmonella Enteritidis* in meat by combinations of sodium lactate and diacetate. **J. Food Prot.**, v. 64, p. 640-644, 2001.

17. MICHELINI, R. P. et al. Características físicas, químicas, microbiológicas e aceitação de coxão duro (*Biceps femoris*) cozido injetado com salmoura contendo plasma bovino. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE CARNES, 4., 2007, Campinas. **Anais...** Campinas, SBCTA, 2007. p. 375-380.
18. MOLINS, R. A. **Phosphates in food**. Boca Raton: CRC, 1991. 261 p.
19. OCKERMAN, H. W.; HANSEN, C. L. **Animal by-product processing and utilization**. Lancaster: Techtronic Publ., 2000. 375p.
20. OLIVEIRA, J. **Efeito da desossa a quente e da temperatura de condicionamento na qualidade microbiológica da carne bovina embalada a vácuo**. 2003. 75f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2003.
21. PELCZAR, M. J.; REID, R. E.; CHAN, E. C. S. **Microbiologia**. São Paulo: McGraw-Hill do Brasil, 1980. p.566.
22. PRUDÊNCIO, S. H. **Qualidade da carne bovina na cidade de Londrina – aspectos sensoriais, químicos e microbiológicos**. 1985. 108f. Dissertação (Mestrado em Ciências dos Alimentos) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 1985.
23. ROSSI JR., O. D. et al. Estudo microbiológico do sangue e plasma bovino, obtidos em matadouro, utilizando na elaboração de produtos comestíveis. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, v. 46, n. 1, p. 31-39, 1994.
24. ROBBINS, K. et al. Enhancement effects on sensory and display characteristics of beef rounds. **J. Muscle Foods**, v. 13, p. 279-288, 2002.
25. SILVA, J. A. **Extensão da vida de prateleira da carne bovina pela utilização de sanitizantes físicos e químicos**. 1995. 119f. Tese (Doutorado em Engenharia de Alimentos) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 1995.
26. SILVEIRA, A. E. V. G. et al. Caracterização microbiológica de sangue e plasma bovino visando sua utilização em insumos alimentícios. **Rev. Inst. Adolfo Lutz**, v. 57, n. 2, p. 51-55, 1998.
27. SURPILLI, L. M. et al. Crescimento microbiano sob refrigeração em carne bovina marinada crua e cozida. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS, 19, 2004, Recife. **Anais...** Recife: SBCTA, 2004. CD-Rom.
28. WIT, J. C.; ROMBOUTS, J. C. Antimicrobial activity of sodium lactate. **Food Microbiol.**, v. 7, p. 113-120, 1990.
29. YAMADA, E. A. Ecologia microbiana de produtos cárneos marinados. **Rev. Nac. Carne**, v. 31, n. 362, p. 100-101, 2007.
30. VAUDAGNA, S. R. et al. *Sous Vide* cooked beef muscles: effects of low temperature-long time (LT-LT) treatments on their quality characteristics and storage stability. **Int. J. Food Sci. Technol.**, v. 37, p. 425-441, 2002.