

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ALIMENTOS E NUTRIÇÃO

ANDREIA FERNANDA SILVA IOCCA

**EFEITOS DA APLICAÇÃO DE SALMOURA COM
PLASMA BOVINO EM MÚSCULO *BICEPS FEMORIS*
(COXÃO DURO) INJETADO, CRU E COZIDO NA
ESTABILIDADE FÍSICA, QUÍMICA, MICROBIOLÓGICA E
SENSORIAL**

Orientadora: Profa. Dra. Maria da Penha Longo Mortatti Catanozi

Co-Orientadora: Dra. Ana Lúcia da Silva Correa Lemos

Araraquara - SP

2009

ANDRÉIA FERNANDA SILVA IOCCA

Tecnóloga em Alimentos

**Efeitos da aplicação de salmoura com plasma bovino em
Biceps femoris (coxão duro) injetado, cru e cozido na
estabilidade física, química, microbiológica e sensorial**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Alimentos e Nutrição, da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade Estadual Paulista “Julio de Mesquita Filho”, para a obtenção do título de Mestre em Alimentos e Nutrição.

Orientadora: Profa. Dra. Maria da Penha Longo Mortatti Catanozi

Co-Orientadora: Dra. Ana Lúcia da Silva Correa Lemos

Araraquara - SP

2009

* Resumo de acordo com a NBR 6028:2003.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 6028**: Informação e documentação: resumo:apresentação. Rio de Janeiro, 2003. 2p.

*“Não importa onde você parou...
Em que momento da vida você cansou...
O que importa é que sempre é possível e necessário*

RECOMEÇAR

*Recomeçar é dar uma nova chance a si mesmo...
É renovar as esperanças na vida
E o mais importante...
Acreditar em você de novo.
Sofreu muito neste período?
Foi aprendizado...
Chorou muito?
Foi limpeza da alma...
Ficou com raiva das pessoas?
Foi porque fechaste a porta até para os anjos...
Acreditou naquilo que estava perdido?
Era o início da tua melhora...
Onde você quer chegar?
Ir alto?
Sonhe alto...
Queira o melhor do melhor...
Se pensamos pequeno
Coisas pequenas teremos...
Mas, se desejamos fortemente o melhor...
E, principalmente...
Lutamos pelo melhor...
O melhor vai acontecer em nossa vida.
Porque sou do tamanho daquilo que vejo,
E não do tamanho da minha altura.”*

(Carlos Drummond de Andrade)

A Deus

Aos meus avós Lucindo e Thereza (in memoriam)

A minha mãe Fátima Ap. S. Iocca

As minhas irmãs e irmão Luciana, Michelli, Thayná e Raffael

À minha família

Ao meu namorado Thiago L.G. Freitas

À minha sobrinha Anna Tereza

*Dedico a todos que contribuem para que
cada vez eu alcance vôos mais altos...*

AGRADECIMENTOS...

*Agradeço primeiramente a **Deus**,*

Por ter guiado meus caminhos e por ter me conduzido até aqui...

Por sempre ter me dado fé, força e coragem e nunca ter me deixado desistir, pois só

Ele sabe como não foi fácil chegar até aqui...

Por ter me incentivado a seguir sempre em frente, de cabeça erguida...

Pela sua infinita bondade, me proporcionando capacidade e oportunidade de poder estudar até muito além do que estuda a maioria da população deste país...

Por ter colocado em meus caminhos profissionais talentosos (meus mestres), pessoas maravilhosas! Que oportunizaram a minha formação...

Por ter me dado amigos e um namorado adorável... Pessoas que sempre me ofereceram a mão quando precisei...

Por ter compreendido os meus anseios e de minha família, e desta forma ter me dado a necessária coragem e ousadia em meus objetivos...

Por ter me colocado a frente de diversas provas, mas para que através delas eu aprendesse me tornasse mais forte e capaz de superá-las... Foram muitas lições...

Pela serenidade que me deu diante de todas as adversidades para que eu pudesse aceitá-las com resignação, mesmo que fosse para compreendê-las muito depois...

Pois hoje tenho plena certeza de que tudo tem uma razão de ser...

Agradeço a minha mãe, que através de muito sacrifício, incentivo e paciência, me ofereceu a oportunidade do conhecimento... Abrindo as portas do meu futuro e me dando o apoio necessário para que eu caminhasse com minhas

próprias pernas na trilha que me levará aos meus objetivos, coisa que nunca foi muito fácil, pois a estrada é tortuosa e cheia de pedras...

Agradeço, por ter me mostrado durante toda a minha existência que o caminho do sucesso está no trabalho, na verdade e na dedicação.

Agradeço também, por sempre ter acreditado em mim e por nunca ter medido esforços para minha formação pessoal e profissional, deixando muitas vezes seus próprios sonhos de lado para viver os meus e torná-los reais.

Agradeço ainda, por tantas vezes que suportou a minha ausência e silenciosamente assumiu meus medos e emoções. Foi através de seu exemplo de vida, que aprendi a lutar com amor e perseverança pelos meus ideais.

E por ter estado sempre presente nos momentos bons e difíceis de minha caminhada posso dizer que este trabalho também é uma conquista sua, minha

Mãe!

Agradeço a todos que direta ou indiretamente contribuíram para que fosse possível a realização do presente trabalho e particularmente:

A professora Dra. Maria da Penha Longo Mortatti Catanozi, minha orientadora, muito obrigada pela orientação, pelo apoio e incentivo, foi muito bom poder trabalhar ao seu lado, aprender e ver o carinho, atenção e respeito com os quais os alunos são tratados... Foi um grande prazer tê-la como orientadora.

À pesquisadora. Dra. Ana Lúcia da Silva Correa Lemos, minha co-orientadora e um pouco mãe, pelo incentivo, “puxões de orelha”, paciência, carinho e dedicação. Muito obrigada por tudo, não tenho palavras para agradecer tudo o que você fez por mim todos estes anos. Foi um prazer e uma inesquecível lição conviver ao lado de um ser humano tão especial, possuidor de admirável conhecimento e competência como você... Obrigada!!!

A Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – Faculdade de Ciências Farmacêuticas – Departamento de Alimentos e Nutrição, por tornar possível a realização deste curso de Mestrado.

Ao Instituto de Tecnologia de Alimentos – Centro de Tecnologia de Carnes (ITAL-CTC), na pessoa do Dr. Nelson José Beraquet, coordenador do CTC, pela utilização da estrutura do Centro.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e ao Programa de Apoio ao Desenvolvimento Científico (PADC-FCF/UNESP) pela bolsa de mestrado concedida e pelo apoio financeiro do projeto, respectivamente.

A Empresa Tecoro Ltda e Laboratórios Griffith do Brasil pela doação do plasma bovino e ao Frigorífico Bertin (Unidade Lins) e Frigorífico Frigostella pela doação dos cortes usados nesta pesquisa.

A todos os professores da minha graduação e pós-graduação, em especial aos professores Dr. Xisto Rodrigues de Souza, Msc. Mariuce Campos de Moraes, Dr. Aluizio Alves da Costa; Dr. João Bosco Faria, Dra. Magali Conceição Monteiro da Silva, Dr. Valdir Augusto Neves e Dra. Célia Maria de Sylos, pelas contribuições à minha formação e pelo incentivo à carreira acadêmica. Um carinho especial à profa. Dra. Magali C. Monteiro da Silva, pela acolhida em sua casa, logo no início do curso, não sabe o quanto este gesto foi importante

pra mim e ao prof. Dr. João Bosco Faria, pelo incansável compromisso com o futuro de seus alunos... Obrigada por toda ajuda!!!

Aos membros da banca de qualificação e defesa desta dissertação.

As Pesquisadoras do ITAL-CTC, Dra. Luciana Miyagusku e Eunice Akemi Yamada, grandes amantes da ciência... muito obrigada pelo grande auxílio para que esta pesquisa acontecesse... Valiosas foram suas dicas... Não tenho palavras para agradecer, muito obrigada por tudo!

A todos os funcionários da UNESP-FCF, em especial a Adriana do lab. de microbiologia de alimentos, pelo alegre “bom dia!” de sempre, pelas brincadeiras, pelos papos e pela amizade.

As funcionárias da secretaria de pós-graduação, Sônia, Laura e Cláudia, pela atenção e auxílio durante todos estes anos.

A todos os funcionários do Centro de Tecnologia de Carnes – ITAL, em especial a Célia, as técnicas do laboratório de microbiologia, Ivonete (aquela que de certa forma sempre cuidou de mim, com dicas e auxílios valiosíssimos), Sandra Mara (a vovó mais engraçada e despachada, a “Dra.” da vidraria), Gláucia (a consultora de moda do laboratório, rs você é linda, Glau!), Rosa (sempre sorridente e prestativa), Gilca (um doce de pessoa, pena que hoje esteja longe), e a todos os pesquisadores do CTC que de alguma forma contribuíram para o desenvolvimento deste estudo, muito obrigada pela convivência... Jamais me esquecerei de vocês...

Ao estagiário PIBIC Ricardo P. Michellini, pelo auxílio durante os experimentos, estendendo este agradecimento a todos os estagiários que trabalharam nesta pesquisa.

Aos funcionários da biblioteca da UNESP-FCF, pela correção desta dissertação.

Aos meus queridos amigos conquistados ao longo da vida, Laura Q. Bomdespacho (amiga dos anos de faculdade e agora de pós... quantas histórias...), Jorge Luiz da Silva (grande amigo cuiabano me ajudou muito...), Flávio dos Santos Campos (“Maninho” - pelo apoio, hospedagem e amizade sempre), Dra. Marcela de R. Costa, Msc. Karina Gebrin e Dra. Maristela da S. Nascimento (amigas que fiz em Campinas ao final de minha graduação e as levo no coração sempre, que me mostraram o quanto pode ser prazeroso continuar estudando), Aparecido A. Nascimento (“Cido” – mais que um amigo,

um grande conselheiro) Cris Baretta (“Charmuta” – do “túnel do tempo”, amiga de todas as horas); Tonhão, Alisson, Diego, Natasha, Alessandro, Michel e Tânia Bob (amigos de churrasco, de bagunças, de passeios, comilanças, amigos pra todas as horas...). Vocês que sempre torceram por mim, que me ofereceram uma palavra amiga quando eu mais precisava... Sintam-se aqui lembrados com muito amor e carinho... que nossa amizade seja mais do que eterna...

As minhas queridas e “despirokadas” Kelly Caselani, Daiane Fausto, Giovana Dotta e Cíntia Suemi, amigas, companheiras, psicólogas rs... quantos foram os dias naquela salinha “quente” do laboratório??? Quantas placas de Petri pra inocular, hein meninas??? Mas entre uma coisa e outra sempre havia tempo pra uma estória, uma fofquinha, uma brincadeira... muito obrigada pelo companheirismo... vocês são grandes parceiras!!!

Aos colegas de pós, pelo companheirismo durante as aulas, pelas conversas jogadas fora e pelas angustias divididas.

Em especial, a minha família: a minha mãe Fátima; minhas irmãs Luciana, Michelli e Thayná, ao meu irmão Raffael; a minha sobrinha Anna Tereza, meu raio de sol; meus tios José e Ademir e minha querida tia Ana, por todo incentivo, e por acreditarem em mim, vocês contribuíram para que o caminho até aqui fosse mais suave, a conquista deste trabalho é dedicada a vocês... Obrigada por tudo... Aos meus primos Danilo, Lênin, Vinícius e Miuksa pelo apoio e risadas nas horas de desanimo e por toda torcida.

Ao meu namorado, Thiago Luiz G. de Freitas, meu amor e um grande ser humano, sinto muito orgulho por estar ao seu lado, sei que posso contar sempre com você pra tudo, muito obrigada pelo amor, carinho, compreensão, cumplicidade, apoio e incentivo nos momentos em que a vontade era jogar tudo pro alto e fugir por vários motivos, nestas horas você me trazia à realidade novamente e com uma simples palavra tudo parecia estar bem de novo.

Aos meus avós (in memorian), que sempre torceram por mim e intercediam a Deus pelas minhas conquistas, acredito que hoje vocês continuam a interceder por mim, só que agora muito mais perto de Deus...

Deixo aqui minha lembrança e meu carinho...

IOCCA, A.F.S., Efeitos da aplicação de salmoura com plasma bovino em músculo *Biceps femoris* (coxão duro) injetado, cru e cozido na estabilidade física, química, microbiológica e sensorial*

RESUMO

O objetivo deste estudo foi avaliar a adição de várias formas de apresentação de plasma bovino (líquido e desidratado) a salmouras isentas de polifosfato na estabilidade física, química, microbiológica e sensorial de bifes de coxão duro (*m.Biceps femoris*) injetado, cru e cozido, mantido sob refrigeração (2°C e 7°C), divididos em 2 ensaios, respectivamente. Os cortes foram obtidos de um mesmo lote de abate, oriundos de bovinos *Bos indicus* machos. No 1º ensaio, utilizou-se 30 cortes de coxão duro, foram coletadas, periodicamente, amostras para as análises microbiológicas, físicas, químicas e sensoriais dos diferentes tratamentos, objetivando o estudo da vida útil destes cortes em função dos tipos de ingredientes injetados. Em seguida, no segundo ensaio com 21 cortes de coxão duro, foi analisado o efeito do lactato e do diacetato de sódio, aplicados isoladamente e/ou combinados, introduzidos à salmoura juntamente com o plasma para a avaliação da vida útil dos bifes marinados e cozidos; seguindo a mesma metodologia de análise do primeiro ensaio. As várias formas de apresentação do plasma bovino, sob o aspecto de rendimento e qualidade sensorial podem ser utilizadas na injeção de cortes bovinos cozidos, porém é necessário que seja realizado uma coleta mais higiênica do sangue bovino devido à alta carga microbiana. Contudo, sob o aspecto microbiológico, apenas o plasma bovino desidratado pode ser utilizado em cortes marinados destinados à comercialização crua e cozida combinado com Optiform® (lactato de sódio + diacetato de sódio). No primeiro ensaio, obteve-se uma qualidade microbiológica aceitável até o 35º dia de estocagem (2°C) da carne cozida, entretanto no segundo ensaio com temperatura de armazenagem de 7°C este prazo diminuiu para 14 dias, comprovando que a temperatura tem fator importante no crescimento dos microrganismos deterioradores ácido-fermentativos.

* Resumo de acordo com a NBR 6028:2003.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 6028**: Informação e documentação: resumo:apresentação. Rio de Janeiro, 2003. 2p.

IOCCA, A.F.S., Brine Application's Effects with Bovine Plasma on Injected, Raw and Cooked *Biceps femoris* (outside round) Muscles in Physical, Chemical, Microbiological and Sensory Stability.

ABSTRACT

The objective of this study assayed the addition of various presentation ways of bovine plasma (liquid and dehydrated) to brines free of polyphosphate on physical, chemical, microbiological and sensorial stability of injected, raw and cooked outside round beefs, kept under refrigeration (2°C and 7°C), shared in 2 steps, respectively. The cuts were obtained from the same slaughter group, natural of male *Bos indicus* bovines. In the first step, using 30 outside round cuts, were collected samples periodically to the microbiological, physical, chemical and sensorial analysis of different treatments, objectifying the shelf-life study from these cuts in function of kinds of injected ingredients. Later, in the second step with 21 outside round cuts, were analyzed the lactate and sodium diacetate effects, applied lonely and/or combined, introduced to the brine with the plasma to evaluate the shelf-life of enhanced and cooked beefs; following the same analysis methodology from the first step. The various presentation ways of bovine plasma, under the aspect of yield and sensorial quality can be used in the injection of cooked bovine cuts, but it is necessary to be done a more hygienic collect of bovine blood due to the high microbiological counting. Nevertheless, under the microbiological aspect, only the dehydrated bovine plasma can be used in enhanced cuts destined for trade in raw and cooked way combined with Optiform® (sodium lactate + sodium diacetate). In the first step, was obtained an acceptable microbiological quality until the 35^o day of storage (2°C) of cooked meat, however in the second step with storage temperature of 7°C this time decreased to 14 days, proving that the temperature is an important factor on growing of acid-fermentative spoiler microorganisms.

LISTA DE FIGURAS

	Página
FIGURA 1: Cortes e salmoura prontos para injeção (A) , injeção das salmouras nos cortes cárneos de coxão duro bovino (B e C)	39
FIGURA 2: Fluxograma do processamento e esquema de análises do coxão duro do 1º ensaio.....	41
FIGURA 3: Fluxograma do processamento e análises do coxão duro cozido injetado.....	43
FIGURA 4: Cortes cárneos embalados a vácuo em filme “cook in”, pronto para cozimento.....	44
FIGURA 5: Cortes na estufa (A) antes e (B) após o cozimento.....	44
FIGURA 6: Esquema de porcionamento dos cortes de coxão duro (<i>Biceps femoris</i>) destinados aos tratamentos crus e cozidos.....	45
FIGURA 7: Divisão do coxão duro em quatro porções (A) e embalado a vácuo separadamente (B)	45
FIGURA 8: Fluxograma do processamento e análises do coxão duro cru injetado.....	46
FIGURA 9: Fluxograma do processamento e esquema de análises do coxão duro para o 2º ensaio.....	49
FIGURA 10: Fluxograma do processamento e análises do coxão duro cozido injetado no 2º ensaio.....	50
FIGURA 11: Esquema de porcionamento dos cortes de coxão duro (<i>Biceps femoris</i>).....	51
FIGURA 12: Cortes de cilindros para análise de força de cisalhamento (A e B) e o texturômetro TA-XT 2i (C) na medida da força de cisalhamento nas amostras cilíndricas.....	54
FIGURA 13: Avaliação da cor objetiva em fatias do coxão duro cozido.....	55
FIGURA 14: Análise de aparência e odor do coxão duro cru.....	58
FIGURA 15: Resíduo observado na amostra de plasma líquido concentrado (PLC).....	65
FIGURA 16: Efeito da interação do tratamento e do tempo na perda de peso por exsudação (PPE) dos cortes bovinos (<i>Biceps femoris</i>) crus durante o armazenamento sob refrigeração ($2^{\circ}\text{C}\pm 2$).....	72

FIGURA 17: Efeito da interação tratamento e tempo nos valores de pH dos cortes bovinos (<i>Biceps femoris</i>) crus durante o armazenamento sob refrigeração ($2^{\circ}\text{C}\pm 2$).....	75
FIGURA 18: Efeito da interação tratamento e tempo nos valores b^* de cor objetiva nos cortes bovinos (<i>Biceps femoris</i>) crus durante o armazenamento sob refrigeração ($2^{\circ}\text{C}\pm 2$).....	77
FIGURA 19: Evolução da perda de peso por exsudação (PPE) de cortes bovinos (<i>Biceps femoris</i>) cozidos durante o armazenamento sob refrigeração ($2^{\circ}\text{C}\pm 2$).....	84
FIGURA 20: Perfil dos valores de pH dos cortes bovinos (<i>Biceps femoris</i>) cozidos durante o armazenamento sob refrigeração ($2^{\circ}\text{C}\pm 2$).....	86
FIGURA 21: Efeito da interação tratamento e do tempo nos valores a^* de cor objetiva nos cortes bovinos (<i>Biceps femoris</i>) cozidos durante o armazenamento sob refrigeração ($2^{\circ}\text{C}\pm 2$).....	87
FIGURA 22: Efeito da interação tratamento e da perda de peso no reaquecimento nos cortes bovinos (<i>Biceps femoris</i>) cozidos.....	90
FIGURA 23: Perfil dos valores de pH dos bifes de coxão duro bovino (<i>Biceps femoris</i>) cozidos durante o armazenamento sob refrigeração ($7^{\circ}\text{C}\pm 2$).....	99
FIGURA 24: Efeito da interação do tratamento e do tempo na contagem de microrganismos psicrótróficos em bifes de coxão duro provenientes de cortes cozidos íntegros.....	105

LISTA DE TABELAS

	Página
TABELA 1: Composição das salmouras (p/p) utilizadas para a injeção de coxão duro (m. <i>Biceps femoris</i>) no 1º ensaio.....	39
TABELA 2: Composição das salmouras(p/p) utilizadas para a injeção de coxão duro (m. <i>Biceps femoris</i>) no 2º ensaio.....	47
TABELA 3: Composição centesimal do plasma líquido (PL), líquido concentrado (PLC), resíduo do plasma líquido concentrado (RPLC), plasma líquido desidratado (PD) e plasma líquido concentrado desidratado (PCD).....	66
TABELA 4: Caracterização dos plasmas líquidos antes da injeção.....	67
TABELA 5: Médias dos parâmetros de rendimento: nível de injeção (NI), perda de peso no gotejamento (PPG) e perda de peso na cocção (PPC) após 24 horas de estocagem sob refrigeração de cortes de coxão duro.....	68
TABELA 6: Média dos valores de pH das salmouras e dos cortes cárneos (<i>Biceps femoris</i>) antes e após a injeção.....	70
TABELA 7: Efeito do tratamento e do tempo na perda de peso por exsudação (PPE) em cortes bovinos crus (<i>Biceps femoris</i>) embalados a vácuo e mantidos sob refrigeração (2°C±2).....	72
TABELA 8: Efeito do tratamento e do tempo nos valores de pH em cortes bovinos crus (<i>Biceps femoris</i>) embalados a vácuo e mantidos sob refrigeração (2°C±2).....	74
TABELA 9: Efeito do tratamento e do tempo nos parâmetros de cor objetiva em cortes bovinos crus (<i>Biceps femoris</i>) embalados a vácuo e mantidos sob refrigeração (2° C±2).....	76
TABELA 10: Médias das porcentagens referentes às perdas de peso na cocção (PPC) em tacho de bifes provenientes de cortes crus mantidos sob refrigeração (2° C±2).....	79
TABELA 11: Médias referentes à força de cisalhamento medida pelo acessório Warner Bratzler em bifes de carnes crua submetidos à cocção em tacho embalados em filme flexível (embalagem <i>cook in</i>).....	80
TABELA 12: Contagem total de microrganismos aeróbios psicrotróficos e coliformes termotolerantes ao longo da estocagem sob refrigeração (2°C±2) de cortes de coxão duro cru embalado a vácuo.....	81
TABELA 13: Resultados do teste de ordenação para os atributos odor e aparência característico de carne bovina crua estocada após 4 dias sob refrigeração (2° C±2).....	82

TABELA 14: Efeito do tratamento e do tempo na perda de peso por exsudação (PPE) em cortes bovinos cozidos (<i>Biceps femoris</i>) embalados a vácuo e mantidos sob refrigeração ($2^{\circ}\text{C}\pm 2$).....	84
TABELA 15: Efeitos do tratamento e do tempo nos valores de pH em cortes bovinos cozidos (<i>Biceps femoris</i>) embalados a vácuo e mantidos sob refrigeração ($2^{\circ}\text{C}\pm 2$).....	85
TABELA 16: Efeito do tratamento e do tempo nos parâmetros de cor objetiva em cortes bovinos cozidos (<i>Biceps femoris</i>) embalados a vácuo e mantidos sob refrigeração ($2^{\circ}\text{C}\pm 2$).....	87
TABELA 17: Médias das porcentagens referentes às perdas de peso no reaquecimento (PPR) e as forças de cisalhamento medida pelo acessório Warner Bratzler em cortes com (FC_{CZR}) e cozidos sem reaquecimento (FC_{CZ}).....	89
TABELA 18: Contagem total de psicotróficos e coliformes termotolerantes ao longo da estocagem sob refrigeração ($2^{\circ}\text{C}\pm 2$) de cortes de coxão duro cozido porcionados e embalados a vácuo.....	91
TABELA 19: Resultados do teste de ordenação (somatória pela Tabela de Friedman) para os atributos odor, aparência, sabor e textura, característico de carne cozida.....	92
TABELA 20: Composição centesimal do plasma liquido concentrado (PLC) e plasma liquido concentrado desidratado (PCD).....	94
TABELA 21: Médias dos parâmetros do nível de injeção (NI) e perda de peso no gotejamento (PPG) após 24h de estocagem sob refrigeração ($7^{\circ}\text{C}\pm 2$) de cortes de coxão duro.....	95
TABELA 22: Média dos valores de pH das salmouras e dos cortes cárneos antes e após a injeção.....	96
TABELA 23: Média dos valores de pH dos bifes de coxão duro cozidos por tratamentos durante a estocagem refrigerada ($7^{\circ}\text{C}\pm 2$).....	98
TABELA 24: Médias referentes à força de cisalhamento, do 14º dia de estocagem, medida pelo acessório Warner Bratzler em bifes cozidos submetidos à cocção em estufa embalados em filme flexível (embalagem <i>cook in</i>).....	100
TABELA 25: Caracterização microbiológica inicial da matéria-prima crua e sem injeção e após cozimento.....	101
TABELA 26: Caracterização do plasma liquido concentrado antes da injeção.....	102

TABELA 27: Efeitos dos tratamentos e do tempo de estocagem sob refrigeração ($7^{\circ}\text{C}\pm 2$) na contagem total de microrganismos psicrotróficos e bactérias lácticas em bifes de coxão duro embalados a vácuo provenientes de cortes cozidos em embalagem “cook’in”	104
--	-----

TABELA 28: Contagem total de microrganismos psicrotróficos ao longo da estocagem sob refrigeração ($7^{\circ}\text{C}\pm 2$) de bifes de coxão duro cozido e embalado a vácuo.....	105
---	-----

TABELA 29: Contagem de bactérias lácticas ao longo da estocagem sob refrigeração ($7^{\circ}\text{C}\pm 2$) de cortes de coxão duro cozido embalado a vácuo.....	108
---	-----

SUMÁRIO

	Página
Resumo.....	x
Abstract.....	xi
Lista de Figuras.....	xii
Lista de Tabelas.....	xiv
 1. INTRODUÇÃO.....	 01
 2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	 03
2.1 ASPECTOS DA QUALIDADE DA CARNE BOVINA.....	03
2.1.1 Química e bioquímica da cor da carne.....	03
2.1.2 Maciez da carne bovina.....	05
2.3 MARINAÇÃO.....	09
2.3.1 Princípios da marinação.....	10
2.4 EFEITOS DOS PRINCIPAIS INGREDIENTES E ADITIVOS DAS SALMOURAS DE INJEÇÃO.....	12
2.4.1 Sal.....	12
2.4.2 Polifosfato.....	15
2.4.3 Lactato de sódio.....	20
2.4.4 Diacetato de sódio.....	23
2.5 EFEITOS DO COZIMENTO NA CARNE BOVINA – Tecnologia <i>Sous Vide</i>	26
2.6 PLASMA BOVINO.....	28
2.7 MICROBIOLOGIA DA CARNE	32
 3. OBJETIVOS.....	 35
3.1 OBJETIVO GERAL.....	35
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	35
 4. MATERIAIS E MÉTODOS.....	 37
4.1 MATÉRIA-PRIMA CÁRNEA.....	37
4.2 PLASMA BOVINO.....	37
4.3 PROCESSAMENTO (1º E 2º ENSAIOS).....	38

4.3.1 Processamento do 1º ensaio.....	38
4.3.1.1 <i>Elaboração das salmouras</i>	38
4.3.1.2 <i>Injeção das salmouras e avaliação do rendimento</i>	39
4.3.1.3 <i>Processamento da carne cozida</i>	42
4.3.1.4 <i>Processamento da carne crua</i>	45
4.3.2 Processamento do 2º ensaio.....	46
4.3.2.1 <i>Elaboração das salmouras</i>	46
4.3.2.2 <i>Injeção das salmouras e avaliação do rendimento</i>	47
4.3.2.3 <i>Processamento da carne cozida</i>	50
4.4 METODOLOGIA DAS AVALIAÇÕES FÍSICAS, QUÍMICAS, MICROBIOLÓGICAS E SENSORIAIS DO 1º ENSAIO.....	52
4.4.1 Avaliações Físicas.....	52
4.4.1.1 <i>Nível de injeção (NI)</i>	52
4.4.1.2 <i>Perda de peso após gotejamento (PPG)</i>	52
4.4.1.3 <i>Perda de peso após cocção (PPC)</i>	52
4.4.1.4 <i>Perda de peso por reaquecimento (PPR)</i>	53
4.4.1.5 <i>Perda de peso por exsudação (PPE)</i>	53
4.4.1.6 <i>Força de cisalhamento</i>	54
4.4.1.7 <i>Cor objetiva</i>	55
4.4.1.8 <i>Valor de pH</i>	55
4.4.2 Avaliações Químicas.....	56
4.4.2.1 <i>Composição centesimal do plasma bovino</i>	56
4.4.3 Análises Microbiológicas.....	56
4.4.3.1 <i>Preparo das amostras e diluições</i>	57
4.4.3.2 <i>Contagem total de microrganismos aeróbios psicrotróficos</i>	57
4.4.3.3 <i>Contagem de coliformes termotolerantes</i>	57
4.4.4 Análise Sensorial.....	58
4.4.4.1 <i>Teste de ordenação para avaliação da carne crua</i>	58
4.4.4.2 <i>Teste de ordenação para avaliação da carne cozida</i>	58
4.4.5 Análise Estatística.....	59
4.5 METODOLOGIA DAS AVALIAÇÕES FÍSICAS E MICROBIOLÓGICAS DO 2º ENSAIO.....	60
4.5.1 Avaliações Físicas.....	60
4.5.1.1 <i>Nível de injeção (NI)</i>	60
4.5.1.2 <i>Perda de peso após gotejamento (PPG)</i>	60
4.5.1.3 <i>Força de cisalhamento (FC)</i>	60
4.5.1.4 <i>Valor de pH</i>	61

4.5.2 Avaliações Microbiológicas.....	61
4.5.2.1 Preparo das amostras e diluições.....	61
4.5.2.2 Pesquisa de <i>Salmonella</i> sp.	62
4.5.2.3 Contagem de estafilococos coagulase-positiva.....	62
4.5.2.4 Contagem de clostrídios sulfito-redutores.....	63
4.5.2.5 Contagem de coliformes termotolerantes.....	63
4.5.2.6 Contagem total de microrganismos aeróbios psicrotróficos.....	63
4.5.2.7 Contagem total de bactérias lácticas.....	63
4.5.3 Análise subjetiva de odor e aparência.....	64
4.5.4 Análise Estatística.....	64
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	65
5.1 RESULTADOS DAS AVALIAÇÕES FÍSICAS, QUÍMICAS, MICROBIOLÓGICAS E SENSORIAIS DO 1º ENSAIO.....	65
5.1.1 Composição do plasma bovino.....	65
5.1.2 Avaliação das salmouras e dos processos de injeção e cocção dos cortes de coxão duro (<i>Biceps femoris</i>).....	68
5.1.2.1 Determinações do pH.....	70
5.1.3 Características físicas, químicas, microbiológicas e sensoriais de cortes de coxão duro (<i>Biceps femoris</i>) cru, embalados à vácuo mantidos sob refrigeração (2°C±2).....	71
5.1.3.1 Perda de peso na exsudação (PPE).....	71
5.1.3.2 Avaliação dos valores de pH.....	74
5.1.3.3 Avaliação da cor objetiva.....	76
5.1.3.4 Avaliação da perda de peso na cocção de bifes de cortes crus.....	79
5.1.3.5 Avaliação da força de cisalhamento.....	80
5.1.3.6 Avaliações microbiológicas dos cortes crus durante a estocagem refrigerada (2°C).....	81
5.1.3.7 Análise sensorial do coxão duro cru.....	82
5.1.4 Características físicas, químicas, microbiológicas e sensoriais de cortes de coxão duro (<i>Biceps femoris</i>) cozidos, embalados à vácuo mantidos sob refrigeração (2°C±2).....	83
5.1.4.1 Perda de peso na exsudação (PPE).....	83
5.1.4.2 Determinação do pH.....	85
5.1.4.3 Avaliação da cor objetiva.....	86
5.1.4.4 Perdas de peso no reaquecimento (PPR) e força de cisalhamento (FC).....	88
5.1.4.5 Avaliações microbiológicas dos cortes cozidos durante a estocagem refrigerada.....	90

5.1.4.6 <i>Análise sensorial do coxão duro cozido</i>	92
5.2 RESULTADOS DAS AVALIAÇÕES FÍSICAS E MICROBIOLÓGICAS DO 2º ENSAIO.....	94
5.2.1 Composição do plasma bovino no 2º ensaio.....	94
5.2.2 Avaliações das salmouras e dos processos de injeção e cocção dos cortes de coxão duro.....	95
5.2.2.1 <i>Nível de injeção (NI) e perda de peso por gotejamento (PPG)</i>	95
5.2.2.2 <i>Determinação de pH</i>	96
5.2.3 Características físicas e microbiológicas de cortes de coxão duro (<i>Biceps femoris</i>) cozidos, embalados à vácuo mantidos sob refrigeração ($7^{\circ}\text{C}\pm 2$).....	97
5.2.3.1 <i>Avaliação dos valores de pH</i>	97
5.2.3.2 <i>Força de cisalhamento</i>	99
5.2.3.3 <i>Caracterização microbiológica da matéria-prima e do plasma bovino</i>	101
5.3.2.4 <i>Estabilidade microbiológica do bifes de coxão duro cozidos</i>	103
6. CONCLUSÕES	111
7. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	114

1. INTRODUÇÃO

Atualmente o consumidor de alimentos está mais exigente e possui um novo perfil (MOTA, 2005): Indivíduos morando sozinhos, famílias menores, pessoas trabalhando fora de casa, consumidores idosos ansiosos por qualidade de vida e novos hábitos alimentares estão entre algumas das novas características deste público. Dessa forma, produtos práticos, convenientes, porcionados em embalagens menores, nutritivos e livres de aspectos negativos em relação à saúde são características básicas a serem alcançadas para conquistar esse consumidor.

Com isso, a qualidade da carne torna-se um aspecto muito importante, tanto para os consumidores quanto para a indústria. Sob a perspectiva dos consumidores é importante avaliar a intenção de compra e a palatabilidade. Na intenção de compra, a aparência é muito importante, especialmente a cor (BREWER et al., 1991). Em relação à palatabilidade, os atributos de interesse são maciez, suculência e sabor, os quais determinam a repetição da compra (BREWER et al., 2001) e a facilidade de preparo (PRESTAT et al., 2002).

A indústria vem buscando tecnologias que melhorem os fatores associados com a intenção de compra e a palatabilidade. Uma destas tecnologias é denominada *enhancement* (melhoramento), que consiste em injetar uma salmoura na carne fresca para aumentar a retenção de fluidos pela carne e incrementar os atributos de palatabilidade. Esta tecnologia também é conhecida como marinação, porém não são agregados condimentos ou saborizantes, restringindo-se ao cloreto de sódio, em baixas concentrações e aos polifosfatos (BRASHEAR, et al., 2002).

Algumas salmouras, especialmente para produtos marinados, contêm, além de sal e polifosfatos, ingredientes extensores, tais como proteínas vegetais e do leite, gomas ou amidos modificados (WIRTH, 1992).

Os polifosfatos alcalinos são amplamente utilizados pela indústria frigorífica, contribuindo para a melhoria da retenção de água pela carne, uma vez que aumenta o pH da mesma, com reflexos positivos no rendimento, na textura e na suculência.

Apesar da utilização destes ingredientes e aditivos em produtos cárneos, alguns mercados apresentam resistência ao uso tanto de ingredientes não cárneos extensores como de polifosfatos (MOLINS, 1991).

O plasma bovino corresponde a cerca de 52% a 70% do sangue bovino (KNIPE; FRYE 1990) sendo uma fonte protéica de baixo custo, tendo em vista as excelentes propriedades funcionais e o alto valor nutricional (DUARTE et al., 1999). 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. Entretanto, apesar de sua funcionalidade, o plasma é um produto microbiologicamente perigoso, que tem sua qualidade dependente da forma higiênica de obtenção e dos tratamentos recebidos (VIANA et al., 2003) antes do seu emprego em produtos cozidos. Assim, faz-se necessário o uso de agentes bacteriostáticos em produtos que incluem o plasma bovino.

A adição de ingredientes não cárneos é uma forma simples e econômica de agregar valor a produtos cárneos, por outro lado existe resistência por parte de alguns mercados, pois geralmente estes ingredientes são de origem vegetal (cereais e algas) ou animal (leite). Assim, a utilização de plasma bovino em salmouras para injeção poderia ser uma alternativa interessante para produtos injetados, pois eleva o pH do meio, aumentando a capacidade de retenção de água pelas proteínas miofibrilares presentes no músculo, podendo assim substituir os fosfatos alcalinos, normalmente utilizados nas salmouras, além de contribuir com sua própria capacidade de ligar água quando aquecido. Além disto, os equipamentos utilizados para separação do plasma são comuns a qualquer frigorífico processador.

Em carnes suínas e de aves a tecnologia de agregação de salmoura (*enhancement*) é utilizada na elaboração de inúmeros produtos que agregam valor à carne (LEMOS et al., 1999). Assim, esta tecnologia é uma opção para os processadores de carne bovina para agregarem valor a cortes de baixo preço no mercado.

A comercialização de cortes porcionados é uma tendência crescente que busca atender a demanda do consumidor por conveniência. As condições recomendáveis para estocagem refrigerada nem sempre são encontradas no varejo e isto reduz a vida útil dos cortes porcionados. Assim é importante o estudo de diferentes condições de estocagem refrigerada, o que permite o estabelecimento da vida útil com segurança para o consumidor além da manutenção das características esperadas para este tipo de produto.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 ASPECTOS DA QUALIDADE DA CARNE BOVINA

2.1.1 Química e bioquímica da cor da carne

A cor da carne é um atributo importante para as decisões de compra do consumidor de carne *in natura*. Os consumidores procuram uma aparência uniforme para cortes cárneos semelhantes e relacionam diferenças na cor de produtos similares a deficiências na qualidade do produto (MOTA, 2005). Os consumidores preferem a cor vermelha brilhante da superfície, pois associam ao frescor da carne (ARIMA, 1999).

A cor detectada pelo olho é uma combinação de muitos fatores. Qualquer cor específica tem três atributos: o que é normalmente conhecido como cor (amarelo, verde azul e vermelho), que na verdade é o comprimento de onda da luz irradiada; a intensidade desta cor, que é a quantidade de luz branca misturada a ela; e o brilho (LAWRIE, 2005). Quem mais contribui para a cor de carnes são os pigmentos que absorvem e refletem luz em certos comprimentos de onda (HEDRICK et al., 1994).

Existem muitos pigmentos na carne, incluindo a mioglobina, hemoglobina, citocromos, flavinas e outras substâncias coloridas (LAWRIE, 2005). Quantitativamente, a mioglobina e a hemoglobina são as mais abundantes. Apesar de outros pigmentos terem papéis chave no desenvolvimento e estabilização da cor, a maior parte do conhecimento sobre cor da carne trata sobre mioglobina e hemoglobina (AGULLÓ et al., 1990; RENERRE, 1990; PEARSON; GILLET, 1999; SHIMOKOMAKI et al., 2006).

A cor vermelha característica, esta associada às fibras musculares que contém alto teor de mioglobina e mitocôndrias. As organelas mitocondriais utilizam oxigênio para suprir a energia durante a contração muscular. A mioglobina é uma proteína complexa do músculo, contida no interior das células dos tecidos, onde age como uma fonte temporária de oxigênio, carregada pela hemoglobina presente no

sangue (CHU et al., 1987). Embora o heme pigmento do sangue, a hemoglobina, constitua 12% a 30% do total dos pigmentos da carne, na maioria dos estudos apenas a mioglobina é tida como índice de cor das carnes frescas (MOTA, 2005).

A cor de um produto cárneo de origem bovina é influenciado pela quantidade e estado químico da mioglobina e pela estrutura superficial da carne, diretamente relacionada com seu pH final. A cor da carne fresca está associada à proporção e distribuição relativa de três formas químicas da mioglobina (RAMOS; GOMIDE, 2007).

Na ausência de oxigênio, o pigmento apresenta-se como deoximioglobina ou mioglobina reduzida (Mb), de coloração vermelho púrpura. Quando exposto ao ar, o pigmento é oxigenado formando a oximioglobina (O_2Mb), conferindo a carne uma coloração vermelho brilhante. Ambas, deoximioglobina e oximioglobina também reagem com o oxigênio para formar a metamioglobina (MMb), de coloração marrom opaca (SOUZA, 2005). A oxidação do pigmento mioglobina ocorre mais rapidamente a pHs mais baixos e é diretamente dependente da concentração do íon hidrogênio e influenciada pelo nível de O_2 .

Em carnes cozidas o principal pigmento encontrado na carne é a globinahemicromo (mioglobina ou oximioglobina desnaturada) de cor marrom-acinzentado. A nicotinamida hemicromo também contribui com a cor de carnes cozidas. A cor marrom em carnes cozidas, ao contrario das carnes frescas, é um atributo de qualidade desejável. A temperatura de cozimento afeta a conversão dos pigmentos. Outros fatores que contribui com a coloração de carnes cozidas incluem a caramelização de carboidratos e a reação de *Maillard* entre açúcares redutores e aminoácidos (LAWRIE, 2005).

A cor da carne pode ser expressa através das coordenadas CIELAB (valores $L^* a^* b^*$), utilizada como escala-padrão, para comunicar e diferenciar as cores. Hunt et al., (1991) recomendam o uso da escala CIELAB (valores $L^* a^* b^*$) ao se pesquisar cor em carnes, devido ao fato das equações utilizadas nos cálculos de seus coeficientes darem maior ênfase à parte vermelha do espectro.

Esse sistema é igualmente relacionado à capacidade de percepção do olho humano. Onde o valor de L^* determina a posição do ponto sobre o eixo vertical de claridade; o valor de a^* é o ponto sobre o eixo (-) verde/vermelho (+); e o valor de b^* ,

do ponto correspondente sobre o eixo (-) azul/amarelo (+) (RAMOS; GOMIDE, 2007).

2.1.2 Maciez da carne bovina

A maciez é o principal quesito de avaliação ou apreciação por parte do consumidor, inclusive, podendo suplantar aspectos como, cor, sabor e aroma não muito agradáveis.

Organolepticamente, a maciez de uma carne seria sentida como um conjunto de impressões (LAWRIE, 2005):

- Consistência da carne - conforme o contato com a língua e bochechas pode-se sentir se a carne é mole ou firme;
- Resistência à pressão dental - força necessária para a penetração dos dentes na carne; facilidade de fragmentação - capacidade dos dentes para cortar ou desagregar as fibras musculares;
- Resíduos ou restos de mastigação - restos de carne que permanecem após o processo mastigatório, geralmente tecido conjuntivo originário de perimísio ou epimísio

Atender à demanda dos consumidores por qualidade e uniformidade de maciez vem sendo uma prioridade para os frigoríficos. Segundo resultados de uma pesquisa conduzida pela Associação dos Pecuaristas dos Estados Unidos (MOELLER; COURINGTON, 1998), os consumidores indicaram que a intenção de compra no varejo era motivada por “preço”, “melhor qualidade e uniformidade com o mesmo preço” e “melhoria da palatabilidade”.

Historicamente, existe uma ampla diferença de preço entre os cortes mais e menos macios da carcaça bovina. Segundo Savell e Smith (2000) os músculos do coxão correspondem a 24% da carcaça, enquanto os do contrafilé representam 17%, os da costela 9%, da paleta 30% e peito, ponta de agulha, músculo, rim e gorduras pélvicas perfazem 20%. Como os cortes de maior valor localizam-se no contrafilé e na costela, que correspondem a apenas 26% da carcaça, restando 74%

de cortes de menor valor, o que justifica o interesse em buscar alternativas para agregar valor a esta porcentagem da carcaça que é composta por cortes de menor preço.

A qualidade percebida é o principal determinante do maior valor dos cortes de traseiro especial e do menor valor atribuído aos cortes da paleta e do coxão. Com objetivo de entender melhor o sentido de qualidade, Huffman et al., (1996) realizaram uma pesquisa onde solicitavam aos consumidores que enumerassem em ordem de importância diferentes atributos da carne e o estudo evidenciou que 51% consideravam a maciez como a principal característica de qualidade, 39% indicaram o sabor e 10% a suculência.

Baseado no estudo anterior, onde foi identificada a maciez como o atributo mais importante, Robbins et al., (2003) conduziram estudos onde foi observado que os consumidores pagariam preços maiores para produtos que fossem realmente mais macios. Vários foram os caminhos trilhados pelos cientistas na tentativa de melhorar a qualidade da carne e atender a demanda dos consumidores (PATERSON; PARRISH, 1988; ROBBINS et al., 2002; MOLINA et al., 2005), principalmente em relação a cortes da paleta e do coxão.

A Universidade da Florida em colaboração com a Universidade de Nebraska conduziu um estudo do perfil de 39 músculos da paleta e do coxão para caracterizá-los (JONES, et al., 2001). Neste estudo foi identificado um grupo de músculos de alta aceitabilidade e outro de palatabilidade intermediária que apresentou força de cisalhamento variando de 3,5 a 5,0 kg, tendo sido considerados entre ligeiramente macios e ligeiramente duros pelo painel sensorial, respectivamente. Para este grupo de músculos verificou-se que a maciez não foi influenciada pelo peso da carcaça nem pelo método de cocção.

Segundo Felício, (1993) muitos fatores estão relacionados às alterações de maciez da carne, podendo ser divididos em inerentes (*ante-mortem*) ou não inerentes (*post-mortem*) ao animal. Entre os inerentes tem-se a genética, a fisiologia, a alimentação e o manejo do animal:

- Com a idade do animal há formação de ligações cruzadas entre moléculas de colágeno que as tornam indissolúveis e endurece a carne

- A deposição de maior ou menor teor de colágeno, sob a forma de perimísio, promove diferenças raciais quanto à maciez da carne; animais inteiros apresentam carne menos macia

- O marmoreio ajuda na maciez da carne por lubrificar a mastigação e diluir o teor de tecido conjuntivo da carne.

Como fatores não inerentes (*post-mortem*) ao animal têm-se aspectos como uso ou não de processos visando o amaciamento da carne e distúrbios de refrigeração:

- Encurtamento pelo frio: quando um músculo é resfriado imediatamente após o abate, apresenta energia para contrair-se fortemente sob ação do resfriamento, que, em geral, ocorre quando um músculo atinge 10°C em 10 horas post-mortem.

- Rigor pelo descongelamento: quando um músculo congela antes de atingir o *rigor mortis*, posteriormente, quando do descongelamento ocorre o encurtamento pelo frio e uma excessiva perda de suco.

- Posição de resfriamento: evita o encurtamento e o respectivo endurecimento, por ação física.

- Eletroestimulação: uma corrente elétrica que, provocando contrações, faz com que os músculos consumam energia e no momento do resfriamento não possam contrair-se demasiadamente.

- Maturação: mantendo-se os cortes cárneos em embalagem a vácuo e em temperatura de 1°C a 2°C por cerca de 14 dias, ocorre desnaturação protéica desagregando as fibras musculares e ocasionando maciez. A ação enzimática é sobre o complexo acto-miosina, sendo o principal alvo o disco Z. Além da ação sobre a maciez, com a maturação ocorre desenvolvimento de sabor.

- Cocção: a maciez é dependente da temperatura e da velocidade de cozimento. Nas carnes bem cozidas ocorre uma maior rigidez por um fenômeno denominado "endurecimento protéico", devido à coagulação das proteínas, principalmente as miofibrilares, já que com o calor, o colágeno transforma-se em gelatina, favorecendo a maciez da carne. Enquanto a ação positiva do colágeno depende do fator tempo, o endurecimento miofibrilar tem na temperatura de cozimento, o ponto crítico. Entre 57°C e 60°C ocorre o amaciamento do tecido conjuntivo sem que haja ação sobre as proteínas miofibrilares, ou seja, sem endurecer a carne.

- Substâncias amaciantes da carne: pode-se fazer o amaciamento artificial da carne por uma série de ingredientes, como vinagre, suco de limão, sais e enzimas vegetais. A papaína proveniente do mamão, a bromelina proveniente do abacaxi e a ficina proveniente do figo possuem efetiva ação amaciante, sendo que o efeito não é apenas sobre as proteínas miofibrilares, mas também sobre o tecido conjuntivo, principalmente sobre a fração de colágeno solubilizada pelo calor.

Tendo em vista os inúmeros fatores relacionados à maciez da carne, métodos mecânicos e físicos, para reduzir a dureza da carne, vêm sendo empregados tanto na fase pré como pós-rigor (HOPKINS; THOMPSON, 2002). De forma geral estes métodos podem ser classificados em duas categorias, segundo Lawrie (2005):

1. Aqueles que evitam o encurtamento durante o rigor Nessa categoria destacam-se os métodos de pendura combinados a dispositivos que restringem o encurtamento; o princípio destes métodos é basicamente diminuir o grau de agregação das proteínas actina e miosina quando o músculo entra em *rigor* e reduzir a área transversal da fibra, e;

2. Os que atuam no rompimento da estrutura da carne, através de processos físicos e enzimáticos. Nessa categoria incluem-se a estimulação elétrica, ondas ultra-sônicas, tenderização com lâminas, uso de pressão (hidrodinâmica e hidrostática) e processos congelamento-descongelamento, que se baseiam em um ou mais mecanismos, como danos físicos à estrutura do sarcômero, enfraquecimento do complexo actomiosínico e alteração na taxa de proteólise.

Embora os métodos de pendura sejam considerados eficazes para o aumento da maciez em cortes de traseiro e de fácil aplicação nos frigoríficos, eles não apresentam eficácia sobre os músculos do dianteiro e da região do coxão (FERNANDES, 2000). Por outro lado, os demais métodos poderiam melhorar a maciez de um maior número de cortes, embora muitos destes processos ainda não sejam viáveis em linhas comerciais e outros ainda deverão ser mais bem estudados. De forma geral pode-se dizer que qualquer método que reduza a densidade das fibras musculares por unidade de área ou provoque o rompimento da estrutura do

sarcômero fornecerá uma carne cozida com menor dureza (HOPKINS; THOMPSON, 2002).

Nesse contexto, os trabalhos recentes com carne bovina buscam estudar o efeito da adição de salmouras (marinação) em cortes bovinos, com objetivo de melhorar a maciez (BOLES; SHAND, 1997; VOTE, et al., 2000).

2.3 MARINAÇÃO

Tentativas para tornar a carne mais macia artificialmente são antigas. Elas incluem o batimento da carne; o corte em pequenas porções, de modo que filamentos de tecido conjuntivo sejam danificados; o amaciamento enzimático e a marinação com vinagre, vinho ou sal. Recentemente, tais tentativas se tornaram mais sistemáticas (LAWRIE, 2005) devido à demanda do mercado consumidor, a indústria têm buscado tecnologias que melhorem ou uniformizem a maciez dos produtos cárneos.

A marinação é um processo que vem sendo utilizado há muitos anos, tendo em vista a observação de que a imersão da carne em salmoura adicionada de ingredientes melhorava o sabor da mesma, além de mascarar alguns odores indesejáveis. Inicialmente o processo era usado como prática culinária, mas com o desenvolvimento da indústria frigorífica, a prática da marinação foi amplamente adotada pela indústria para a produção em larga escala (GAULT, 1985).

A tecnologia da marinação vem sendo empregada pela indústria avícola há décadas. No entanto, na indústria de carne suína, e principalmente, na de carne bovina, a marinação através da injeção, avançou somente nos últimos anos (BRASHEAR et al., 2002). Atualmente, as grandes indústrias norte-americanas de carne têm aumentado a produção de carne suína e bovina injetada com salmoura aquosa (XIONG, 2005). Estes novos produtos estão gradativamente substituindo a carne *in natura*, tradicionalmente encontrada no mercado varejista.

A marinação permite alterar a textura da carne rapidamente, podendo ser aplicada de duas formas diferentes: estaticamente (imersão) ou dinamicamente (injeção e massageamento) (HARADA, 2004). Os frigoríficos também se beneficiam

com o processo, uniformizando a maciez em cortes menos macios, uma vez que este processo permite o aumento da capacidade de retenção de água da carne (CRA), propriedade considerada a responsável pelo aumento da suculência.

Os fosfatos alcalinos presentes na salmoura para marinação atuam na fibra muscular de modo a permitir maior ligação de água pelo músculo. O aumento da CRA permite absorção e retenção da salmoura de marinação, bem como da água presente no próprio músculo, o que aumenta o rendimento na cocção. Além disto, este ingrediente estabiliza o pH das carnes e ajuda na manutenção da cor e sabor (MOTTA, 2005). Entretanto, a marinação da carne bovina com sal e fosfatos traz efeitos negativos para a cor de produtos durante sua vida útil (ROBBINS et al., 2003).

A interação química proteína/água, que ocorre no processo de marinação, esta relacionada à atração das cargas iônicas que são afetadas pelas condições do meio, como pH. Com a diminuição do pH do meio, o valor obtido aproxima-se do ponto isoelétrico das proteínas, restringindo as cargas disponíveis, diminuindo sensivelmente as interações proteína/água e aumentando as interações proteína/proteína (PORTO et al., 2000).

A tecnologia denominada *enhancement* se difere da marinação propriamente dita, quanto à composição da salmoura, pois não utiliza condimentos ou flavorizantes, restringindo-se basicamente, ao cloreto de sódio em baixas concentrações e aos polifosfatos (LEMOS et al., 1999).

2.3.1 Princípios da Marinação

Quando se coloca um músculo inteiro em uma salmoura, a difusão do líquido dependerá da concentração de sólidos dissolvidos e do tempo de imersão ou contato do músculo com a salmoura, permitindo migração da água e dos solutos para o interior do músculo.

As diferentes camadas de tecido conjuntivo (epimísio, perímísio e edomísio) se constituem em uma barreira para a migração dos solutos uma vez que as moléculas de alto peso molecular não atravessam estes tecidos com facilidade.

Além disso, o fluxo de água que penetra no músculo avança perpendicularmente ao eixo das fibras musculares e é necessário que atravesse as três camadas de tecido conjuntivo antes que atinja o sarcolema, que é a membrana celular das fibras musculares (LAWRIE, 2005)

Com objetivo de facilitar esta migração utiliza-se o processo de injeção. As diferentes camadas de tecido conjuntivo são perfuradas pelas agulhas facilitando a distribuição da salmoura no músculo. Até este ponto as barreiras são de ordem física, mas o sarcolema é uma barreira mais dinâmica, e é necessário entendê-la para compreender o processo de retenção de água pela carne.

Ao redor de cada fibra, abaixo do tecido conjuntivo do endomísio, encontra-se uma bainha formada por uma membrana dupla que une as fibras de colágeno do endomísio à membrana da célula muscular (sarcolema). Somente 40% do peso seco do sarcolema é constituído de colágeno, o restante consiste em polissacarídeos complexos (LAWRIE, 2005). Uma proporção menor de tecido conjuntivo intramuscular consiste em proteoglicanas e glicoproteínas.

As proteoglicanas são grandes moléculas nas quais uma proteína central está ligada de modo co-valente a cadeias de glicosaminoglicanos, esse sendo constituídos de unidades repetidas do dissacarídeo hexosamina e do ácido hexurônico, associados com ésteres de sulfato. Sua carga fortemente negativa causa repulsão mútua das cadeias e, assim, uma estrutura estendida, por meio da qual elas são capazes de ligar consideráveis quantidades de água (BAILEY; LIGHT, 1989). As proteoglicanas controlam o tamanho e o alinhamento das fibras do tecido conjuntivo e, assim, contribuindo para a textura da carne (LAWRIE, 2005).

As glicoproteínas também são grandes moléculas de proteínas-polissacarídeo encontradas na matriz extracelular. Acredita-se que elas sejam células-âncora para as membranas basais e para outros tipos de colágeno (LAWRIE, 2005).

O balanço hídrico do processo de marinação fundamenta-se no princípio da osmose, cuja definição é a passagem de uma substância através de uma membrana semipermeável (ORESKOVICH, 1992). A difusão da água no espaço extracelular depende basicamente do processo de osmose, ou seja, a concentração dos solutos da salmoura pode fazer com que a água saia das células ou penetre nas mesmas. Se a concentração de solutos na salmoura for maior que nas células, a água destas tenderá a sair e vice-versa.

A concentração de cloreto de sódio (sal) no tecido muscular é de aproximadamente 0,9% e a maioria das salmouras são altamente hipertônicas (contem mais de 0,9% de solutos), o que faz com que a água das células tenda a sair. Assim, um produto recém injetado não é estável quanto à retenção de água, ou seja, caso fosse imediatamente cozido apresentaria baixo rendimento e perda de textura (LEMOS, et al., 2001).

A pressão exercida pelo líquido presente nos tecidos ultrapassa as estruturas do tecido conjuntivo e causa danos às membranas celulares, desta forma o princípio de gradiente de concentração (osmose) não mais prevalece no processo. O efeito da alta concentração de solutos da salmoura em combinação com o vácuo e o trabalho mecânico exercido pelo massageamento provocam a solubilização de algumas porções dos tecidos, principalmente das membranas celulares e das proteínas miofibrilares (LEMOS et al., 1999).

Os fosfatos alcalinos, normalmente presentes nas salmouras, são responsáveis pela dissociação da actina e da miosina, facilitando assim a solubilização das proteínas. Quando isto ocorre, a quantidade de cargas elétricas do sistema aumenta, graças à extração de proteínas, e a água injetada pode ligar-se nas cargas disponíveis de forma estável (PORTO et al., 2000). Ao cozer o músculo após estabilização da salmoura no seu interior, ocorre fixação da água através da solidificação do gel protéico onde está retida a água. (LEMOS et al., 1999).

2.4 EFEITO DOS PRINCIPAIS INGREDIENTES E ADITIVOS DAS SALMOURAS DE INJEÇÃO

2.4.1 Sal

O sal comum ou NaCl, tem largo emprego em tecnologia de carne, tendo em vista sua múltipla ação como condimento e como conservador aplicado a seco ou por intermédio de salmoura. Dependendo da concentração salina e da temperatura, a adição de sal às carnes faz com que estas ganhem ou percam água, sendo que,

quanto maior for a concentração de sal, maior será a perda de água (PARDI, et al., 2001).

A adição de sal, em baixas concentrações, provoca o aumento da capacidade de retenção de água das proteínas cárneas, especialmente das miofibrilares, uma vez que se aumenta a força iônica do meio, permitindo que as proteínas miofibrilares absorvam a água e se solubilizem (*salting in*). Porém, à medida que se eleva a concentração salina, além de certos limites, as proteínas tendem a precipitar (*salting out*). Os íons salinos passam então, a competir pela água com as moléculas de proteína, destruindo a sua capa de hidratação e permitindo que as moléculas de proteína se atraiam mutuamente liberando água (SGARBIERE, 1998).

A baixa concentração, o sal age abaixando o ponto isoelétrico das proteínas da carne, sem alterar o pH da mesma. A adição de sal contribui para o aumento do volume das proteínas e do mesmo modo o íon cloreto tem capacidade de se ligar aos filamentos protéicos da carne e aumentar as forças de repulsão eletrostáticas entre eles. Com o aumento dessas forças de repulsão, a estrutura protéica desdobra-se e a proteína dobra de volume (SGARBIERE, 1998). O aumento do volume leva a um número maior de cadeias laterais das proteínas que podem se ligar a água, e dessa forma, a capacidade de retenção de água aumenta (AMBIEL, 2004). Além disso, a adição de sal ao produto realça o sabor e textura da carne além de atuar como agente antimicrobiano.

Nos estudos de Medynski et al., (2000), em amostras de carne bovina quando adicionadas de NaCl em concentrações entre 0,5% e 1,5%, não foram observadas diferenças significativas na textura objetiva (força de cisalhamento), mas quando a concentração de sal passou para 2,0%, esta força foi reduzida. Quando utilizada carne suína, com o aumento da concentração de sal de 0,5% a 2,0%, observou-se uma redução gradual dos valores da força de cisalhamento, confirmando que a textura da carne é influenciada pela quantidade de água imobilizada, mesmo não sendo possível indicar quais as concentrações de NaCl modificam substancialmente a estrutura da carne e afetam a força de cisalhamento.

Segundo Andrés et al., (2004), em estudo com músculo *bíceps femoris* (para produção de presunto ibérico), o nível de sal afeta algumas características de textura, tais como maciez, suculência ou fibrosidade no músculo, quanto mais elevado o conteúdo de sal, menos macio, mais seco e mais fibroso será o músculo.

De acordo com Velinov et al., (1990), as análises microscópicas mostraram que a injeção com agulhas múltiplas e tambleamento de músculos bovino inteiro resultou em boa distribuição da salmoura. Os componentes da salmoura (sal e polifosfatos) exerceram sua capacidade de solubilização das proteínas, desintegrando parcialmente a estrutura dos músculos, após aquecimento, onde as proteínas coagulam no espaço entre as fibras.

Na presença de sal, as fibras onde o endomísio é danificado ou perdido, se expandem mais que as restantes, o que durante o processamento leva a um aumento na capacidade de retenção de água. Igualmente, a remoção do endomísio da superfície da fibra da carne, aumentará a retenção de água na camada superficial da fibra (KNIGHT et al., 1989).

Em processos onde são utilizadas peças inteiras de carne, a presença do endomísio e do sarcolema pode inibir a expansão das miofibrilas, por impedir a migração dos íons Cl^- para o interior dos filamentos, ou por restrição mecânica, neste caso, o papel da massagem ou tambleamento é de suma importância, pois pode romper estas estruturas (KNIGHT; PARSONS, 1988).

O efeito bactericida ou bacteriostático do sal depende da sua concentração, pois o efeito inibitório é decorrente da concentração salina na fase aquosa (GIRARD, 1991). O efeito preservativo do sal deve-se exclusivamente à sua capacidade de funcionar como agente desidratante e a sua propriedade de baixar a pressão de vapor das soluções em que está presente (AMBIEL, 2004), ao interagir com as moléculas de água presentes no alimento, torna-se indisponível à utilização pelos microrganismos, atuando assim, como agente redutor da atividade de água.

Entretanto o sal promove escurecimento indesejável a carne (PEARSON; GILLET, 1999). Quando presente em concentrações que vão de 1% a 3% o sal aumenta a tendência dos pigmentos de sofrer oxidação. A taxa de oxidação é proporcional a concentração de íon cloreto.

2.4.2 Polifosfatos

O ácido ortofosfórico, do qual é derivado o ácido metafosfórico, e o ácido pirofosfórico, obtido a partir da condensação de duas moléculas de ácido ortofosfórico, são bastante conhecidos. A condensação de várias moléculas do ácido ortofosfórico dá origem aos ácidos polifosfóricos de cadeia linear e a condensação do ácido metafosfórico origina os ácidos polifosfóricos de cadeia cíclica. Pode-se considerar que a fórmula geral dos ácidos polifosfóricos $[H_{(n+2)} P_n O_{(3n+1)}]$ e $(HPO_3)_n$ dos dois tipos, tende a aproximar-se quando “n” aumenta (SHIMP, 1983).

Os fosfatos utilizados no processamento de carnes são sais destes ácidos, que podem ser alcalinos ou ácidos. Dentre os sais alcalinos destacam-se os seguintes: pirofosfato dissódico, pirofosfato tetrassódico, tripolifosfato pentassódico, pentapolifosfato de sódio, hexametafosfato de sódio e os sais de potássio correspondentes (SHIMP, 1983). Os tripolifosfatos são usados mais comumente devido sua elevada solubilidade, mas se hidrolisam a pirofosfato na carne, sendo, portanto, o agente realmente efetivo (SOFOS, 1986).

Os polifosfatos comercializados são geralmente misturas destes, em proporções variáveis, dependendo da aplicação tecnológica. Estas misturas são caracterizadas essencialmente pelo seu conteúdo em anidrido fosfórico (P_2O_5) presente na matéria seca calcinada, que varia entre 59,5 e 70%, além do pH de uma solução aquosa 1% (3,6 a 9) e seu teor de fosfatos cíclicos (menor que 8%).

Todos os fosfatos hidrolisam-se a ortofosfato ao longo da vida útil. Isto faz com que nos produtos elaborados só estejam presentes ortofosfatos e eventualmente pirofosfatos, que são mais estáveis (SHIMP, 1983).

As carnes geralmente apresentam pH entre 5,4 e 5,8 e o ponto isoelétrico das proteínas situa-se entre 5,1 a 5,2, correspondendo ao pH onde a capacidade de retenção de água é mínima. As misturas comerciais de polifosfatos utilizadas apresentam pH (em solução aquosa a 1%) inferior a 9, mas próximo deste valor. Os polifosfatos componentes destas misturas apresentam em solução aquosa 1% pH variando de 8,3 a 10,4, com exceção do hexametafosfato que é utilizado em pequenas quantidades, cujo pH é 6,4, e o pirofosfato ácido com pH igual a 4,2 (BENDALL, 1972).

Desta forma, a adição de polifosfatos alcalinos, eleva o pH da carne de 0,2 a 0,5 unidades, tendo em vista a quantidade utilizada (<0,5%) e o poder tamponante da carne, o que aumenta a capacidade de retenção de água através do deslocamento do pH do ponto isoelétrico (BENDALL, 1972).

Os polifosfatos são capazes de formar complexos com Ca^{++} e Mg^{++} . Estes cátions estão presentes na carne e uma parte apresenta-se ligada às proteínas miofibrilares. Segundo a teoria de Hamm (1960), este fenômeno de fixação catiônica corresponderia à formação de pontes entre as cargas negativas das cadeias polipeptídicas das proteínas por intermédio do Ca^{++} e Mg^{++} . Estas pontes manteriam as cadeias polipeptídicas muito próximas, reduzindo a capacidade de retenção de água. A complexação destes cátions pelos polifosfatos ocasionaria o rompimento de algumas pontes e afrouxaria as redes protéicas, refletindo-se em um aumento da capacidade de retenção de água da carne (SHULTZ et al., 1972).

Os polifosfatos são muito versáteis quanto as suas propriedades, agindo como sequestrantes, acidulantes, tamponantes e precipitantes, afetam a carga superficial, causando dispersão, peptização, emulsificação e suspensão coloidal em meio aquoso (VAN WAZER, 1971).

Em relação à atividade tamponante, destacam-se os ortofosfatos, enquanto os pirofosfatos atuam bem em pH na faixa de 5,5 a 7,5. Outros polifosfatos não são agentes tamponantes tão efetivos e esta atividade decresce com o aumento do comprimento da cadeia, por outro lado, apresentam atividade sequestrante de íons metálicos, que decresce com o aumento do pH. Os polifosfatos de cadeia curta são bons agentes sequestrantes de cobre e outros metais pesados, e o pirofosfato apresenta maior atividade com íons ferro (CIPOLLI, 2004). A atividade sequestrante dos fosfatos de cadeia curta também diminui com o aumento do pH. A atividade sequestrante dos fosfatos parece estar relacionada com a atividade antimicrobiana (MOLINS, 1991) e antioxidante (KEETON, 1983).

Propriedades tão variadas se entrelaçam e, de sua interação, resultam aplicações utilizadas pela indústria da carne para reduzir a quantidade de sucos durante o cozimento, o exsudado gelatinoso do presunto enlatado, a quebra das salsichas no cozimento, com eliminação das bolsas de gordura e de ar, melhorando a compactação da massa, a cor e o gosto (KOTTER; FISCHER, 1975). Todas essas características, ensejando altos rendimentos de fabricação, justificam a presença

dos polifosfatos como aditivos em conservas de carnes, no tocante ao objetivo tecnológico.

As primeiras patentes sobre o uso de polifosfatos em carnes vermelhas foram concedidas nos Estados Unidos, no Canadá e na Alemanha, na década de 50 (DEMAN; MELNYCHYN, 1970). Estas patentes descrevem o uso de tripolifosfato e/ou metafosfatos em produtos cárneos elaborados com músculo inteiro ou cominuído, submetido ou não à cura. Os polifosfatos vêm sendo bastante utilizados na produção de cortes marinados. Os pirofosfatos melhoram o rendimento, a maciez e a retenção de água pela carne (MOLLINS, 1991).

O Comitê Mixto FAO/OMS (OMS, 1956) determina que para a inclusão de uma substância como aditivo alimentar, o mesmo deve preencher duas condições básicas: eficácia tecnológica e a inocuidade do emprego.

Quanto a inocuidade para o consumidor, para esta substância, é estimada uma ingestão diária admissível (IDA) em 0-70 mg/Kg peso corporal. É preciso lembrar, entretanto, que os fósforos ingeridos procedentes de fontes naturais (leite, queijos, nozes, pescado, carnes, gema de ovo e certos cereais, dentre outros) devem ser somados àqueles representados pelo aditivo fato que constitui uma exceção na prática habitual de estimativa da IDA. Portanto, a IDA calculada pela FAO/OMS, dentro de condições de segurança e de inocuidade representa a soma dos polifosfatos adicionados, e daqueles que são autóctones dos alimentos com concentrações máximas de 0,1 a 0,15%. Percebe-se que os fosfatos adicionados aos alimentos vêm tornar ainda mais pesada a massa dessas substâncias que o organismo deve degradar.

Sabendo que o fósforo ocorre naturalmente em muitos alimentos, o seu emprego em quantidades exageradas como aditivo poderá acarretar distúrbios na relação cálcio-fósforo da dieta humana (MOLLINS, 1991), o que é preocupante do ponto de vista da saúde pública.

Os trabalhos recentes com carne bovina abordam estudos, com objetivo tecnológico, sobre o efeito da adição de soluções contendo tripolifosfato de sódio e cloreto de sódio em cortes bovinos, a fim de melhorar a maciez dos mesmos cortes cozidos e avaliar o efeito da adição em parâmetros de rendimento. BOLES e SHAND (1997) avaliaram o comportamento de diferentes músculos bovinos (coxão mole, coxão duro, lagarto, maminha, picanha, miolo da paleta, peixinho, acém,

pescoço, peito, contra filé, miolo de alcatra) frente a diferentes níveis de injeção (10, 25 e 50%), utilizando salmouras formuladas para apresentarem 1,8% de sal, 1% de açúcar e 0,3% de tripolifosfato no produto final injetado. Foi verificado que existe efeito do tipo de músculo nos parâmetros de processo (retenção de salmoura, rendimento na cocção) e na maciez (força de cisalhamento com acessórios Warner Blatzler e Kramer) dos cortes cozidos, bem como efeito do nível de injeção nos mesmos parâmetros. O estudo concluiu que pedaços dos músculos da paleta e do coxão podem ser utilizados na elaboração de mini “roast beef” (partes destes músculos), porém os rendimentos são menores do que os obtidos para os músculos intactos e o nível de injeção de 25% resultaram em maior maciez e rendimento.

De acordo com WONG (1989), a adição de fosfatos em carnes reduz a perda de água de constituição pelo incremento da ligação de água ou retenção do suco natural. Isto ocorre pelo aumento do pH e da força iônica e por complexarem o magnésio e o cálcio das ligações protéicas, assim ocorreu a dissociação do complexo actomiosina, expondo mais sítios de ligação e aumentando o espaço estrutural da miofibrila para hidratação.

A avaliação do efeito da marinação por injeção com salmouras contendo sal, polifosfatos, proteína isolada de soja, colágeno suíno hidrolisado de alto e baixo peso molecular, nas características químicas e físicas de cortes de dianteiro bovino injetados (*Supraspinatus*) indicou que a presença de sal e tripolifosfato foram determinantes para a retenção de salmoura no processo de injeção afetando a perda de peso no cozimento e a textura de cortes marinados. O uso de proteína isolada de soja permitiu minimizar as perdas de peso no cozimento e a adição de colágeno hidrolisado com frações de menor peso molecular poderia se constituir em uma alternativa para o processamento (LEMOS et al., 2001).

Ao determinarem o efeito da adição de diferentes polifosfatos (0,35%) no rendimento e na aceitação de cortes bovinos marinados, Costa et al., (2003) verificaram que o pirofosfato tetrassódico e o pirofosfato tetrapotássico apresentaram os maiores rendimentos e a menor força de cisalhamento, porém a aceitabilidade foi a menor entre os polifosfatos testados.

Quando se avaliou o efeito da injeção de salmouras contendo tripolifosfato e sal em músculos *Tríceps brachii* provenientes de carcaças estimuladas eletricamente e desossadas a quente verificou-se cerca de 25% de aumento na

maciez. A estimulação elétrica, assim como a forma de desossa promoveram efeitos secundários sobre a alteração das características física, sensorial e química do corte bovino paleta (m. *Triceps brachii*), quando comparados com a marinação com salmoura contendo polifosfatos (CIPOLLI, 2004).

Ao avaliar o efeito da adição de salmouras, contendo sal e tripolifosfato ou cloreto de cálcio, na maciez de coxão duro, verificou-se aumento significativo da maciez com a salmoura contendo sal/tripolifosfato, sendo o efeito do cloreto de cálcio menos intenso, além deste sal ter afetado negativamente o sabor e provocado maior escurecimento da carne durante a estocagem congelada (HARADA, 2004).

Estudo realizado por Molina et al., (2005) com músculos da paleta identificados como de pouca maciez, submetidos a diferentes processos para adição de salmoura contendo água, sal e polifosfatos, buscou verificar se os cortes poderiam apresentar a maciez melhorada. Desta forma, seria possível torná-los uma alternativa aos cortes tradicionalmente considerados macios, podendo ser utilizados frescos ou pré-cozidos, para preparo rápido, o que, além de atender a demanda dos consumidores por conveniência, valorizaria os cortes da paleta. Dentre os músculos avaliados, *Serratus ventralis*, *Subscapularis*, *Supraspinatus* e *Triceps brachii* foram os que melhor responderam ao tratamento e correspondem a 8,9%, 7,5%, 2,7% e 1,9% do dianteiro, respectivamente. Por outro lado, o músculo *rhomboideus* não apresentou nenhuma melhora. Embora o estudo não tenha tido como objetivo identificar a melhor técnica de adição de salmoura (imersão, injeção e massageamento a vácuo), a injeção com agulhas apresentou os melhores indicadores na avaliação sensorial.

A avaliação do efeito da marinação por injeção com salmouras contendo sal, polifosfatos, proteína isolada de soja, colágeno suíno hidrolisado de alto e baixo peso molecular, nas características químicas e físicas de cortes de dianteiro bovino injetado (m. *Supraspinatus*) indicou que, a presença de sal e fosfato, foram determinante na retenção de salmoura no processo de injeção, afetando a perda de peso no cozimento e a textura de cortes marinados. O uso de proteína isolada de soja permitiu minimizar as perdas de peso no cozimento e o colágeno hidrolisado com frações de menor peso molecular poderia se constituir em uma alternativa para o processamento (LEMOS et al., 2001).

Outro exemplo, o trifosfato de sódio, aditivo comum, também pode ser utilizado em produtos cárneos para melhorar a suculência e a textura. O mecanismo de ação em relação à maciez consiste na ruptura de estruturas, aumento da proteólise através de catepsinas e da conversão de colágeno à gelatina a um pH baixo durante a cocção da carne (MOLLINS, 1991).

A marinação com sal e polifosfatos promove melhoria da palatabilidade da carne, especialmente nos seus atributos de maciez e suculência. Por outro lado, alguns estudos indicam que a marinação pode reduzir a vida útil destes produtos devido ao crescimento microbiano e à descoloração (ROBBINS et al., 2002; SURPILLI et al., 2004a; SURPILLI et al., 2004b). Assim, é necessário buscar-se agentes bacteriostáticos que permitam a manutenção da vida útil de carnes marinadas.

2.4.3 Lactato de sódio

O lactato de sódio ($\text{CH}_3\text{CHOHCOONa}$, PM = 112,07) é um sal natural do ácido láctico, utilizado como regulador de acidez em produtos cárneos em geral. É um composto aprovado pelo Departamento de Agricultura dos Estados Unidos para uso em produtos cárneos, sendo considerado GRAS (Generally Recognized as Safe) pela Food and Drug Administration (FDA). No Brasil foi regulamentado como regulador de acidez pela Instrução Normativa nº 51 de 29 de dezembro de 2006 (BRASIL, 2006), para produtos cárneos frescos embutidos ou não; produtos secos, curados e/ou maturados embutidos ou não; produtos cozidos embutidos ou não; produtos salgados crus ou cozidos; conservas e semi-conservas de origem animal, sem limite máximo de aplicação. Comercialmente é produzido, via fermentação de açúcar e, em geral, encontra-se disponível em soluções aquosas a 60% em pH neutro.

De acordo com Luck e Jager (1997), o lactato de sódio tem efeito preservativo em concentrações acima de 0,5%, e tem ação principalmente sobre as bactérias anaeróbias, devido sua resistência térmica a temperaturas de cozimento.

Níveis de 2 a 3% de lactato podem ser aplicados em alimentos para proporcionar propriedades emulsificante e umectante, ou como agente de controle de pH. Locca, A.F.S. Efeitos da aplicação de salmoura com plasma bovino em músculo *Biceps femoris* (coxão duro) injetado, cru e cozido na estabilidade física, química, microbiológica e sensorial, 2009.

de pH, além de acentuar o sabor e aroma de produtos cárneos, aumentar a capacidade de retenção de água e rendimento de cocção (BREWER et al., 1991; PAPADOPOULOS et al., 1991; SHELEF, 1994).

Níveis de 2% deste sal (3,3% de uma solução a 60%) são geralmente utilizados em embutidos (HARMAYANI, SOFOS; SCHIMDT, 1993), contribuindo para aumentar a capacidade de retenção de água destes produtos e diminuir a perda de peso no cozimento. Evans et al., (1991) observaram que a injeção em carne assada de uma solução a 4% de lactato de sódio diminuiu em 15% as perdas de peso no cozimento e melhorou a palatabilidade deste produto durante estocagem em ambiente refrigerado.

Estudos sobre a ação específica do lactato de sódio contra células microbianas são limitados, mas têm sido propostos alguns mecanismos:

1. Facilidade de ácidos lipofílicos fracos em atravessar a membrana celular, dissociando-se dentro da célula e acidificando o seu interior (WIT; ROMBOUTS, 1990; SHELEF, 1994);
2. Habilidade específica do lactato para diminuir a atividade de água (SHELEF, 1994);
3. Efeito tóxico pelo acúmulo do íon lactato (SHELEF, 1994);
4. Mudança no metabolismo glicolítico, inibindo a principal fonte de energia para os microrganismos anaeróbios (SHELEF, 1994).

Moléculas de ácidos orgânicos lipofílicos são capazes de difundir livremente através da membrana celular em sua forma protonada (SHELEF, 1994). A energia envolvida no transporte e o potencial da membrana, também podem estar envolvidos na compreensão do mecanismo (AMBIEL, 2004). Se o pH extracelular é menor do que o pH intracelular, o ácido dissociasse e libera prótons, que acidificam o citoplasma. A célula reage, geralmente, para manter o pH interno constante, removendo os prótons, e assim, gastasse muita energia da célula para manter o pH interno constante, fazendo com que a velocidade de crescimento celular seja reduzida (WIT; ROMBOUTS, 1990; SHELEF, 1994).

Sais de ácidos orgânicos, como lactato de sódio, são completamente dissociados em solução aquosa, e no pH de 6,0 a 6,5, a concentração da forma não dissociada do lactato é baixa (SHELEF, 1994); mais de 99,5% do ácido láctico está dissociado (WIT; ROMBOUTS, 1990).

Segundo Shelef (1994), outras explicações estão relacionadas ao efeito antimicrobiano do lactato sobre os microrganismos anaeróbios. Altos níveis de íons lactato podem deslocar a redução do piruvato para lactato, no processo glicolítico, fechando o equilíbrio termodinâmico, desse modo, inibir a fonte de energia do metabolismo, que é essencial para o crescimento dos microrganismos anaeróbios. A inibição do crescimento das bactérias tem sido atribuída tanto para os prótons como para os ânions. O acúmulo do ânion é responsável pelo efeito tóxico em produtos com pH baixo.

A assimilação de prótons, através da membrana celular, causa distúrbios nas funções celulares, tais como no transporte de aminoácidos. Este mecanismo é justificado pela observação de maior atividade antimicrobiana a pH reduzido do que a valores próximos a neutralidade, e devido aos ácidos orgânicos (com constantes de ionização relativamente baixas) serem inibidores mais efetivos que ácidos inorgânicos (SHELEF, 1994).

Alguns estudos demonstraram a eficácia do lactato de sódio no controle de microrganismos aeróbios (EVANS et al., 1991; HARMAYANI, SOFOS; SCHIMDT, 1993) observando uma redução nas contagens de microrganismos aeróbios com o aumento da concentração de lactato de sódio em amostras de carne assada tratadas com 1 - 4% deste sal durante estocagem refrigerada, com recomendação de níveis de 3% para o controle de microrganismos. Carnes moídas cruas tratadas com 1,8% de lactato de sódio e estocadas por 15 dias a 4°C, apresentaram contagens de microrganismos aeróbios menores que as do grupo controle, assim como de outros tratamentos sem o referido sal (HARMAYANI, et al., 1993).

Foi constatada a ação antimicrobiana do lactato de sódio contra microrganismos patogênicos, tais como o *Clostridium botulinum* (MASS et al., 1989) e *Listeria monocytogenes* (WEAVER; SHELEF, 1993; HU; SHELEF, 1996; BLOM et al., 1997). Mass et al., (1989) inocularam *Clostridium botulinum* em carne moída de porco contendo 2 e 3,5% de lactato de sódio e observaram uma redução da produção da toxina botulínica com o aumento da concentração deste sal.

O tratamento térmico de produtos embutidos contendo lactato se mostrou fundamental para que sua ação contra *Listeria monocytogenes* pudesse ser evidenciada. Embutidos contendo 3% de lactato de sódio tiveram o crescimento

deste microrganismo inibido de maneira mais eficaz nos produtos esterilizados, seguido dos pasteurizados e por último dos que não sofreram qualquer tipo de tratamento térmico. Estes níveis de lactato de sódio também controlaram a proliferação de *Escherichia coli* O157:H7 e *Salmonella* Typhimurium em embutidos cárneos estocados por 4 dias a 20°C (SHELEF; POTLURI, 1995).

Brewer et al., (2001) realizaram um estudo sobre os efeitos dos vários níveis de lactato de sódio (0, 1, 2 e 3%) nas características sensoriais, físicas e microbiológicas em embutidos de carne de porco crua durante estocagem a 4°C por 28 dias. Amostras contendo 0 e 1% de lactato de sódio atingiram contagens de 10^8 UFC/g depois de 10 dias de estocagem refrigerada. Adição de 2 ou 3% de lactato de sódio retardou a deterioração microbiológica por 7 dias, reduziu o pH e o desenvolvimento de odores de ranço em amostras estocadas a 4°C. Amostras contendo 2% de lactato de sódio não atingiram contagens de 10^8 UFC/g até o 24º dia de estocagem. O lactato de sódio pode estar associado à preservação da cor vermelha e intensificar o sabor característico de carne de porco e sabor salgado nos produtos.

O reconhecimento de *Listeria monocytogenes* como um agente causador de doenças de origem alimentar na década de 80 levou à realização de vários estudos envolvendo as propriedades antilistéricas de inúmeros agentes antimicrobianos conhecidos, especialmente os ácidos orgânicos de cadeia curta. Os ácidos acético e láctico demonstraram ser mais eficazes na inibição de *Listeria monocytogenes* que os ácidos cítrico e clorídrico (AHMAD et al., 1991), sendo que o ácido acético se mostrou mais eficaz que o ácido láctico. A atividade antimicrobiana do ácido acético é influenciada pelo pH do substrato e torna-se mais evidente com o decréscimo do pH (WOOLFORD, 1975), ou seja, a inibição do crescimento de mofos a pH 5,8 necessita o dobro da quantidade de ácido em relação ao pH $\leq 5,0$.

2.4.4 Diacetato de sódio

O Optiform, nome popular, é um produto recém lançado no mercado pela empresa PURAC, comercialmente vendido como Purasal S OptiForm 4[®], baseado

em lactato e diacetato de sódio, sendo produzido pela fermentação do açúcar. Sua composição é especificada como sendo de 60% de lactato de sódio e 4% de diacetato de sódio.

O diacetato de sódio é um pó branco constituído de ácido acético (cerca de 40%) e acetato de sódio (60%), sendo o grau técnico obtido a partir de uma reação química entre o carbonato de sódio e o ácido acético e, os graus especiais, através da reação do acetato de sódio anidro com o ácido acético. Trata-se de uma substância aprovada para uso pelo FDA, sendo classificada como GRAS (Generally Recognized as Safe), segura para uso, atendendo às especificações do Food Chemical Codex.

Este composto é amplamente utilizado em alimentos para controlar o pH e aromatizar (sabor de vinagre seco) (SOUZA, 2005), além de atuar como coadjuvante e agente antimicrobiano. É relativamente recente sua aprovação pelo USDA para uso em produtos cárneos, onde é utilizado geralmente em níveis baixos no produto final, não superando 0,2%, sendo mais comuns níveis entre 0,1% e 0,15% para não afetar o *flavor*, cor, suculência e maciez da carne (LUCK; JAGER, 1997).

Sua adição pode ser feita isoladamente, mas sua aplicação como agente antimicrobiano geralmente é realizada em combinação com o lactato de sódio ou lactato de potássio, pois a mistura tem demonstrado maior eficácia na inibição de *Listeria monocytogenes* em carnes e produtos cárneos, quando comparada à observada nos compostos isoladamente (MBANDI; SHELEF, 2001).

Estudo descreve a atividade antimicrobiana do acetato de sódio sobre bactéria, bolores e leveduras em produtos de panificação tendo sido observada a eficácia deste composto na inibição de bolores e *Bacillus* sp., sem afetar a levedura de fermentação. Níveis de até 0,5% deste composto inibiram tanto o crescimento como a esporulação de fungos; a adição de 0,1 a 0,12% foi efetiva contra *Bacillus* sp. Na Alemanha, alguns trabalhos relataram a inibição de crescimento de *Listeria monocytogenes* em carne cozida contendo 0,3% de diacetato de sódio. Pesquisadores australianos observaram que a aplicação de diacetato de sódio na superfície de frangos (2 a 6 g/ave) estendeu a vida útil e reduziu a contagem de enterobactérias (SHELEF; ADDALA, 1994).

Trabalho realizado nos Estados Unidos sobre a inibição de *Listeria monocytogenes*, assim como outros microrganismos patogênicos em carnes, por

meio da adição de diacetato de sódio (SHELEF, 1994), demonstrou que a concentração mínima necessária para inibição do crescimento de tais microrganismos decrescia com a temperatura, sendo que a eficácia do composto foi superior à do ácido acético em uma faixa de pH variando entre 5,0 e 6,0 e, quando adicionou-se 0,3% à carne moída, a contagem total de aeróbios não se elevou durante estocagem refrigerada. Este estudo também verificou que o diacetato de sódio inibiu o crescimento de várias cepas de *Escherichia coli*, *Pseudomonas fluorescens*, *Salmonella* Enteritidis e *Shewanella putrefaciens*.

O diacetato de sódio também tem se mostrado eficiente no controle de patógenos. A adição de diacetato de sódio em teores variando de 0,3% a 0,5% ocasionou inibição do crescimento de algumas cepas de *Listeria*, *E. coli*, *Salmonella* Enteritidis, *Yersinia enterocolitica*, bem como algumas bactérias Gram negativas deteriorantes, além do *Lactobacillus fermentis*. Atribui-se a atividade anti-*Listeria* do diacetato de sódio não só ao abaixamento do pH, mas também à atividade do íon acetato no metabolismo da bactéria (SOUZA, 2005).

O efeito antilistérico do diacetato de sódio (0,1; 0,3; 0,5%), isoladamente, ou em combinação com nitrito (30ppm), lactato de sódio (2,5%) e pediocina (5000 unidades/ml) foi avaliado através de um teste de desafio utilizando-se caldo de peito de peru cozido; observou-se que a adição de diacetato apresentou um efeito sinérgico com os demais conservantes, indicando que seu uso, combinado aos demais conservantes testados, poderá aumentar a segurança dos produtos cárneos (SCHLYTER et al., 1993).

O acetato de sódio, bem como o diacetato de sódio, podem ser adicionados isoladamente ou em combinação com lactato de sódio ou lactato de potássio como realçadores de sabor ou antimicrobianos eficazes contra alguns microrganismos patógenos em produtos cárneos em geral. O nível máximo de adição estabelecido pelo Serviço de Inspeção e Segurança Alimentar (Food Safety and Inspection Service - FSIS) do Departamento de Agricultura dos Estados Unidos (US Department of Agriculture - USDA) é de 0,25%.

Um estudo recente indicou que a aplicação do diacetato de sódio como agente antimicrobiano em hambúrgueres e cortes cárneos injetados não promoveram alterações na textura e suculência como seria de se esperar, uma vez que o diacetato reduz o pH da carne podendo afetar a capacidade de retenção de

água. O uso do diacetato em combinação com o lactato de sódio ou lactato de potássio, demonstrou maior eficácia na inibição de *Listeria monocytogenes* em carnes e produtos cárneos, quando comparada à observada nos compostos isoladamente (MBANDI; SHELEF, 2001).

O diacetato de sódio tem um sabor ácido devido aos dois íons acetato para cada íon sódio presentes na molécula. Houve ligeira percepção de acidez nos produtos adicionados da mistura diacetato/lactato de sódio por uma equipe treinada, por outro lado, em testes de consumidor não foi percebido o sabor ácido. Em outro estudo realizado com *roast beef* e carne de peru os resultados foram semelhantes.

Em suma, o lactato de sódio proporciona melhor ligação com a água e reduz a atividade de água (A_w). Além disso, o lactato produz um efeito específico que influencia o metabolismo energético na célula da bactéria, reduzindo e desacelerando seu crescimento. Ambos, lactato e o diacetato de sódio controlam o crescimento de bactérias. O diacetato de sódio é um eficaz agente antimicrobiano quando usado na porcentagem mínima de 0,2%. No entanto, o uso de diacetato de sódio é restrito devido ao seu forte odor e impacto no sabor das carnes. O principal objetivo da adição de diacetato de sódio em produtos cárneos é a redução do crescimento de microrganismos.

Quando usados em conjunto, lactato e diacetato de sódio obtêm-se um efeito sinérgico. Isso significa que é possível usar níveis menores dos dois ingredientes para se atingir o mesmo nível de controle microbiológico.

2.5 EFEITO DO COZIMENTO NA CARNE BOVINA – Tecnologia *Sous Vide*

Nasceu na França por volta de 1980, a tecnologia *Sous Vide* (sob vácuo) também conhecida como *pouch cooking* (cozimento embalado), *vacuum cooking* (cozimento à vácuo), dentre outros (VAUDAGNA et al., 2002) é um processo emergente, um método de preservação do alimento mais eficaz que a pasteurização de produtos embalados e resfriados, pois o alimento é embalado antes da pasteurização (PRESLAND, 2004).

Uma definição amplamente aceitável tem sido proposta pelo Comitê Consultivo *Sous Vide* (SVAC): *sous vide* é um sistema em que o alimento cru ou pré-cozido é lacrado em uma embalagem plástica laminada à vácuo, tratado com calor por cozimento controlado, rapidamente esfriado e então reaquecido para o consumo após um período de armazenamento resfriado a uma temperatura em torno de 0-3°C (VAUDAGNA et al., 2002).

O conceito básico de *sous vide* apóia-se no desenvolvimento de um processo de cozimento usando o binômio tempo-temperatura com uma baixa temperatura e um longo período (LT-LT). Neste processo, a temperatura está geralmente entre 65 e 90 °C por 2-8 horas, dependendo dos componentes do alimento, o tratamento térmico é moderado para que não haja resultados desfavoráveis, incluindo, nesse caso, diminuição da digestibilidade protéica e da disponibilidade de aminoácidos indispensáveis (KINSMAN et al., 1994). Usando este processo, a perda de água, e, os compostos voláteis de sabor e o aroma são reduzidos, além de preservando a qualidade sensorial do alimento (CHURCH, 1998; CREED, 1998). Já a cor é devida a reações entre proteínas e açúcares naturais do músculo, que originam a cor acastanhada como consequência do aquecimento (McKENNA, et al., 2005).

O *sous vide* oferece a possibilidade de melhorar a vida de prateleira e preservar propriedades sensoriais e nutricionais dos produtos durante o armazenamento comparado com as tecnologias convencionais de *cook-chill* (cozinhar-resfriar) (VAUDAGNA et al., 2002). De acordo com Mason e colaboradores (1990) é possível aumentar a vida de prateleira de alguns produtos de 5 a 21 dias usando *sous vide*. A pressão parcial de baixo oxigênio no interior da embalagem impede o aumento da degradação aeróbica de microrganismos e da oxidação lipídica, ambos os processos sendo responsáveis pela geração de falta de sabor durante o armazenamento refrigerado. Isto é relevante em produtos como carne por causa do desenvolvimento de uma característica de falta de sabor (identificado sabor de requentado) o que limita a aceitabilidade de produtos de um sistema convencional *cook-chill* (cozinhar-resfriar).

Apesar das vantagens do *sous vide*, diversos autores tem destacado o risco de Saúde Pública que este tipo de produto pode apresentar. Os riscos microbiológicos potenciais são associados a duas categorias de microrganismos: (1) produtores de exotoxinas termo-estável como *Staphylococcus aureus* e *Bacillus*

cereus; neste caso, a segurança é crucialmente dependente ao uso de ingredientes livres de tais toxinas; (2) anaeróbios psicrotolerantes e facultativos como *Listeria monocytogenes*, *Yersinia enterocolitica*, *Aeromonas hydrophila* e patógenos formadores de esporos como *Clostridium botulinum* (cepas do Tipo E e não proteolíticas do Tipo B e F). *Bacillus cereus* também foi considerado, mas o *Clostridium botulinum* tem recebido a atenção principal (em sua forma de esporo) porque é o mais resistente ao calor (CHURCH; PARSONS, 1993).

Microrganismos mesofílicos tais como: *C.botulinum*, *C. perfringens*, *Salmonella spp.*, *Escherichia coli* O157:H7 e *S. aureus* deveriam ser de pouca preocupação para alimentos armazenados em temperaturas de refrigeração adequadas, por exemplo <5°C. No entanto, estes microrganismos podem ser de preocupação para alimentos que estão em temperaturas abusivas durante o armazenamento resfriado e a distribuição em temperaturas acima de 10 °C (CHURCH; PARSONS, 1993).

2.6 PLASMA BOVINO

Estima-se que uma quantidade superior a 1,2 milhões de litros de sangue é produzida diariamente nos abatedouros brasileiros de bovinos, 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 (BRASIL, 2007).

Todo este sangue produzido pelos frigoríficos representa o maior problema para a indústria da carne devido aos altos volumes gerados e a sua alta carga de poluentes. Regulamentos restringem o envio direto de sangue para a planta de tratamento de efluentes, portanto diferentes técnicas de eliminação (drenagem, incineração, etc.) são usadas para tratar este produto. Além disso, as proteínas constituem um dos principais componentes do sangue com alto valor econômico, sendo de considerável importância a recuperação destas. Uma solução alternativa para este entrave é o processamento do sangue de frigoríficos para a desenvolvimento de produtos industrializados (DEL HOYO et al., 2007).

O sangue corresponde à cerca de 6% do peso vivo de bovinos e é considerado um subproduto de abatedouros, fonte não-tradicional de nutrientes como proteínas e ferro hematínico, de relativo baixo custo, com propriedades organolépticas e funcionais adequadas ao consumo humano (SIMÕES, 2003). A composição química do sangue bovino é semelhante à composição da carne, sendo 17,3% de proteína, 0,23% de gordura, 0,07% de carboidratos, 80,9% de água e 0,62% de minerais (SIMÕES, 1998).

É necessário que o sangue seja efetivamente removido durante o processo de abate para melhoria da cor e manutenção da qualidade da carcaça. Consegue-se coletar aproximadamente 50% do sangue do animal durante o processo de sangria - 10 a 12 litros - (DUARTE et al., 1999), ficando o restante retido nos capilares. Ao sangue coletado adiciona-se um agente anticoagulante, geralmente o citrato trissódico (0,2% com ou sem água).

O processamento do sangue inclui a centrifugação para separação do plasma (52 a 70%), fração leve, e dos eritrócitos, que constituem a fração pesada; a seguir, resfria-se a 2°C, para minimizar o crescimento bacteriano. O plasma integral ou fracionado pode ser congelado em frascos para estocagem e distribuição (OCKERMAN; HANSEN, 2000). A separação do sangue em suas frações plasma e eritrócitos aperfeiçoam a funcionalidade da albumina presente no plasma, embora os eritrócitos também consigam ligar água e gordura (KNIPE, 1988).

O plasma bovino apresenta uma quantidade média de proteína de 7,9%, sendo principalmente composto por: albuminas (3,3%), fibrinogênio (0,4%) e globulinas (imunoglobulinas, α - e β -globulinas - 4,2%). O plasma desidratado contém cerca de 7% de umidade, 80% de proteína, 7,9% de minerais e cerca de 1% de gordura (PISKE, 1982; DUARTE et al., 1999).

Além do valor nutricional, o plasma bovino possui importantes propriedades funcionais, como solubilidade, capacidade de emulsificação e geleificação, (ALENCAR, 1983; HOWELL; LAWRIE, 1983; MALINCONI, 1984; O'RIORDAN et al., 1989; KNIPE; FRYE, 1990; DUARTE, 1997), podendo ser utilizado com êxito na indústria da carne (DUARTE et al., 1999)

O uso das proteínas do sangue tem sua aplicação mais ampla em produtos cozidos, porque o plasma requer calor para promover a ligação de água e a hemoglobina que, se presente, deve ser inativada pelo calor para evitar o sabor

indesejável de sangue. Por outro lado, a funcionalidade do plasma varia em função dos tipos de cátion e anion presentes, bem como do pH do meio (OSHODI; OJOKAN, 1996).

O efeito da adição de plasma, hemoglobina e hemoglobina descorada em hambúrguer indicaram que, com o aumento do teor de plasma em pó adicionado em substituição à carne, observou-se um aumento de sabor identificado como de soja, quando o produto foi avaliado por uma equipe treinada (GUZMÁN et al., 1995).

Em um sistema modelo, Knipe e Frye (1990) avaliaram o efeito dos fatores pH, cloreto de sódio e tripolifosfato de sódio em níveis normalmente utilizados em produtos cárneos, sobre as características de textura e rendimento na cocção em géis de plasma e verificaram um incremento na firmeza, com a elevação do pH, mas o rendimento na cocção não foi afetado. Quando o pH foi mantido em 5,6 houve aumento do rendimento na cocção com a elevação dos teores de cloreto de sódio e tripolifosfato, mas a firmeza dos géis manteve-se inalterada.

O plasma bovino é uma fonte protéica barata tendo em vista as excelentes propriedades funcionais e o alto valor nutricional. As proteínas do plasma são excelentes fontes de lisina e não apresentam carência de nenhum aminoácido essencial, resultando em uma proteína com PER superior à da caseína (DUARTE et al., 1999). Embora a isoleucina e a metionina estejam presentes em quantidades limitadas nas proteínas do plasma, a adição destas proteínas a produtos cárneos poderia melhorar suas propriedades físicas e nutricionais, fornecendo um produto econômico e nutricionalmente aceitável (CALDIRONI; OCKERMAN, 1982a, 1982b).

São inúmeras as aplicações do plasma encontradas na literatura, podendo ser usadas no preparo de análogos de carne através da texturização (YOUNG; LAWRIE, 1974), adicionadas aos embutidos na forma em pó, pois apresentam boas propriedades funcionais, com destaque para geleificação e emulsificação (WISMER-PEDERSON, 1979). Entretanto, a literatura científica apresenta poucas informações sobre o uso das proteínas do sangue em cortes íntegros e não foram encontradas referências do uso do plasma bovino em cortes bovinos cozidos.

A complexação das proteínas do plasma com metafosfatos permite o isolamento destas proteínas, e tais isolados protéicos são apropriados para várias aplicações em alimentos (ETHERIDGE et al., 1981). As proteínas obtidas pelo fracionamento do plasma tais como as imunoglobulinas, fibrinogênio e albuminas do

soro, podem ser adicionadas a alimentos e ingredientes para rações (CALDIRONI; OCKERMAN, 1982b).

Silveira et al., (1998) analisaram microbiologicamente, amostras de sangue e de plasma bovino, visando o uso destas fontes protéicas na alimentação humana. Os baixos níveis de contaminação, nas condições do estudo, mostraram que o sangue bovino bem como o plasma, obtido por centrifugação deste, apresentou condições de uso em alimentação.

Estão disponíveis algumas patentes sobre o processo de obtenção de aromas de carne bovina a partir da reação entre sólidos do plasma desidratado com a ribose ou a ribose 5-fosfato em altas temperaturas. Cerca de 150 diferentes proteínas com propriedades fisiológicas foram identificadas no plasma. Várias destas proteínas evidenciaram capacidade de formar ligações cruzadas com as principais proteínas do músculo, especialmente a miosina, e apresentam atividade inibidora das proteases, aumentando a resistência à degradação pelas proteases endógenas (SEYMORE, et al., 1997). Em virtude destas propriedades, o plasma vem sendo estudado para aumentar a força de gel no surimi obtido de diferentes espécies de peixe (KANG; LANIER, 1999).

O processo patenteado pela empresa holandesa Harimex B.V. envolve a precipitação seletiva (crio-precipitação) de fibrinogênio e trombina do plasma de sangue animal. A separação destas duas proteínas permite a obtenção de um plasma rico em albumina e globulina, denominado plasma desfibrinizado, comercializado pelo nome de Fibrimex, o qual tem sido bastante utilizado como um agente ligante natural em reestruturados. A utilização efetiva deste subproduto não só promoveria ganhos econômicos, mas também colaboraria para a redução da poluição e as preocupações das autoridades de saúde com resíduos.

As proteínas do plasma bovino podem ser obtidas por processos de separação e comercializadas na forma concentrada congelada ou em pó. Entretanto, o processo de secagem pode levar à formação de odores estranhos através de reações de oxidação lipídica, limitando os níveis de adição como ingredientes para alimentos. Com o objetivo de minimizar os efeitos da oxidação, Boylston et al., (2003) variaram os parâmetros de secagem do plasma bovino em diferentes tipos de *spray-dryer* e diferentes agentes antioxidantes adicionados, verificando que o TBHQ

foi o que apresentou os melhores resultados na inibição da formação de hexanal e outros compostos responsáveis pelo sabor de oxidado.

Apesar da sua funcionabilidade, o plasma é um produto microbiologicamente muito perigoso, que tem sua qualidade dependente da forma higiênica de obtenção (SILVEIRA et al., 1998) e do tratamento recebido antes de seu emprego nos produtos cozidos.

2.7 MICROBIOLOGIA DA CARNE

A carne proveniente de animais sadios, obtidas em condições higiênicas, apresenta uma flora contaminante que possui baixo número de bactérias patogênicas, sendo composta principalmente por bactérias gram-negativas, destacando-se os gêneros *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Aeromonas*, *Alcaligenes*, *Flavobacterium*, *Moraxella* e *Enterobacteriaceae*, principalmente as bactérias do grupo coliformes. Os cocos gram-positivos são representados pelos *Micrococcus* e *Staphylococcus* e em menor frequência pelos estreptococos fecais. São detectadas também bactérias lácticas, *Microbacterium* ssp., espécies de *Bacillus*, bolores e leveduras (LEITÃO, 1995).

Segundo Gill e Reichel (1989), a refrigeração é o método utilizado para a redução da velocidade de multiplicação dos microrganismos presentes na carcaça, tendo como vantagens, além da extensão da vida-útil da carne, a preservação das características físicas do produto.

A proliferação microbiana é inicialmente restrita a superfície, atingindo posteriormente o interior do músculo, terminando por provocar sérias alterações nas características sensoriais que, gradativamente vão se evidenciando (LEITÃO, 1995).

As mudanças tecnológicas ocorridas durante a transformação da carne *in natura* em carne marinada alteram a microbiota inicial. A adição de sais e polifosfatos selecionam microrganismos mais tolerantes a estas condições (MACA et al., 1997). Os parâmetros temperatura, atividade de água (A_w), pH, flora competitiva, potencial de oxido-redução e aditivos, formam o principal conjunto de obstáculos responsáveis pela conservação dos alimentos (LEISTNER, 1994).

A Resolução da ANVISA, RDC nº 12 de 02/01/2001, que aprova o Regulamento técnico sobre os padrões microbiológicos, preconiza que produtos cárneos cozidos ou não, fracionados ou fatiados, mantidos sob refrigeração não devem conter mais que 10^5 UFC de coliformes a 45°C/g; 5×10^2 clostrídio sulfito redutor à 46°C/g; 5×10^3 estafilococos coagulase-positiva/g; e ausência de *Salmonella* sp. em 25g (BRASIL, 2001).

Entretanto, a taxa de crescimento de microrganismos deteriorantes é fator de maior influência sobre a vida útil de produtos prontos para consumo como as carnes cozidas. Há várias maneiras de estimar a vida útil de um alimento e o caminho mais confiável é a condução dos testes de vida útil em tempo real do produto (PRESLAND, 2006).

Segundo Stiles e Hastings (1991), em ambientes aeróbicos, a microflora psicrotrófica da carne resfriada é predominantemente gram-negativa que causa esporulação putrefativa, já em ambiente anaeróbico a microflora psicrotrófica é composta de gram-positivos, em especial por bactérias ácido lácticas não-putrefativas.

Organismos psicrotróficos são capazes de crescer a temperatura entre 0 e 7°C, com temperatura ótima de crescimento abaixo de 20°C, produzindo colônias visíveis em sete dias (JAY, 2005). As bactérias psicrotróficas, quando presentes, podem causar odores estranhos variáveis, além de manchas brancas ou coloridas (BARRA, 1980). Embora a deterioração das carnes pelas bactérias psicrotróficas não seja perigosa para a saúde do homem ela representa um problema estético ou aparência e de natureza econômica (JAY, 2005), uma vez que, este problema afeta sensivelmente a vida útil de cortes refrigerados.

A embalagem a vácuo provoca a modificação na distribuição da umidade, na composição gasosa e no potencial de óxido-redução da carne, influenciando deste modo, no desenvolvimento e composição da microflora (NOSKOWA, 1972). A carne embalada a vácuo mantém a umidade superficial e apresenta redução no suprimento de oxigênio, o que limita o desenvolvimento de bolores e leveduras.

A carne embalada a vácuo apresenta uma modificação da atmosfera gasosa que a rodeia. Antes do fechamento da embalagem, nem todo o O_2 presente é limitado pelo sistema de vácuo e o que resta é consumido pela própria carne e pela

flora aeróbia, a qual gera um aumento da concentração de CO₂, que age como inibidor da flora microbiana existente na carne (JAY, 2005).

A embalagem a vácuo inibe o crescimento de bactérias gram-negativas (*Pseudomonas*), e ao mesmo tempo favorece o crescimento de bactérias láticas (*Lactobacillus*, *Leuconostoc* e *Pediococcus*). O termo bactéria lática é empregado a um grande número de bactérias gram-positivas, onde sua característica comum é a produção de ácido lático a partir de carboidratos (STILES; HASTINGS, 1991). Na carne e produtos cárneos são encontrados com freqüência *Lactobacillus* de diferentes espécies, cuja temperatura ótima de crescimento é entre 25-30°C; crescem a 0°C e em condições adequadas, até em temperaturas mais baixas. A psicofilia, ou seja, facilidade para crescer em anaerobiose e atmosfera de dióxido de carbono, é a causa de seu ativo crescimento e a explicação para sua superioridade numérica sobre outros microrganismos (NOSKOWA, 1972).

Segundo Souza (2005), a baixa disponibilidade de oxigênio inibe o crescimento de bactérias aeróbicas responsáveis pela deterioração da carne e beneficia o desenvolvimento de bactérias láticas. A atmosfera da embalagem, o pH e as baixas temperaturas estimulam o crescimento de bactérias láticas, que produzem ácidos orgânicos, principalmente o lático, peróxido de hidrogênio, dióxido de carbono, acetaldeído e bacteriocina, eliminando assim o risco de desenvolvimento de microrganismos patogênicos.

A vida útil da carne embalada a vácuo é proporcional a permeabilidade do filme empregado na embalagem, tendo uma vida útil mais prolongada (> 15 semanas) com película de permeabilidade zero ao O₂, e mais curta quando a película é mais permeável. Conforme aumenta a permeabilidade do filme, aumenta o crescimento das espécies de *Pseudomonas* (JAY, 2005).

3. OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar o efeito da injeção de salmouras isenta de polifosfatos contendo diferentes formas de apresentação de plasma bovino desidratado e líquido na estabilidade física, química, microbiológica e sensorial de bifes de coxão duro bovino (m. *Biceps femoris*) crus e cozidos, mantidos sob refrigeração.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar o efeito da adição de quatro diferentes formas de apresentação de plasma bovino - plasma líquido sem concentração (PL), plasma líquido concentrado (PLC), plasma líquido desidratado a partir do plasma sem concentração (PD) e plasma desidratado a partir do plasma líquido na forma concentrada (PCD) - em substituição aos polifosfatos nos parâmetros de rendimento de processo, exsudação, perda de peso na cocção, força de cisalhamento, cor objetiva, valor de pH, odor, aparência, contagem de microrganismos aeróbios psicotróficos e coliformes termotolerantes em bifes de coxão duro (*B. femoris*) provenientes de cortes injetados, crus, embalados a vácuo ao longo de 100 dias de estocagem sob refrigeração 2°C;
- Avaliar o efeito da adição de quatro diferentes formas de apresentação de plasma bovino - plasma líquido sem concentração (PL), plasma líquido concentrado (PLC), plasma líquido desidratado a partir do plasma sem concentração (PD) e plasma desidratado a partir do plasma líquido na forma concentrada (PCD) - em substituição aos polifosfatos nos parâmetros de rendimento de processo, exsudação, perda de peso na cocção, perda de peso no reaquecimento, força de cisalhamento, cor objetiva, valor de pH, contagem de microrganismos aeróbios psicotróficos, coliformes termotolerantes, aparência, sabor, maciez, e odor em bifes

de coxão duro (*B. femoris*) provenientes de cortes injetados, cozidos em embalagem “cook in”, reembalados em embalagem a vácuo ao longo de 100 dias de estocagem sob refrigeração a 2°C;

- Avaliar o efeito de salmoura isenta de polifosfatos, contendo duas diferentes formas de apresentação de plasma bovino - plasma líquido concentrado (PL) e plasma desidratado a partir do plasma líquido na forma concentrada (PD) - e agentes bacteriostáticos (lactato de sódio e Optiform® - lactato de sódio e diacetato de sódio combinados) nos parâmetros de rendimento de processo, força de cisalhamento, valor de pH, pesquisa de *Salmonella sp.*, contagem de estafilococos coagulase-positiva, clostrídios sulfito-redutores, coliformes termotolerantes, microrganismos aeróbios psicrotróficos e bactérias láticas em bifes de coxão duro (*B. femoris*) provenientes de cortes injetados, cozidos em embalagem “cook in”, reembalados em embalagem a vácuo e mantidos sob refrigeração em condições de varejo (7°C) ao longo de 80 dias de estocagem.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 MATÉRIA-PRIMA CÁRNEA

Utilizou-se, como material de estudo, 51 peças de coxão duro (*Biceps femoris*), sendo 30 no primeiro ensaio e 21 no segundo, provenientes de carcaças bovinas de um mesmo lote de abate de animais machos da raça Nelore (*Bos indicus*). As carnes foram doadas pelo Frigorífico Frigostrella (1º ensaio) e Grupo Bertin Alimentos, unidade Lins (2º ensaio).

4.2 PLASMA BOVINO

No primeiro ensaio foram utilizadas quatro formas de apresentação de plasma bovino para elaboração das salmouras para injeção dos cortes de coxão duro, incluindo-se plasma líquido sem concentração (PL), plasma líquido concentrado (PLC), plasma líquido desidratado a partir do plasma sem concentração (PD) e plasma desidratado a partir do plasma líquido na forma concentrada (PCD). As amostras PL, PLC, PD de plasma foram fornecidas pela empresa TecSoro e a amostra PCD pela empresa Laboratórios Griffith do Brasil.

No segundo ensaio, após avaliação dos diferentes tipos de plasma disponíveis no mercado, foram selecionadas duas formas de apresentação: PLC e PCD.

Nas diferentes amostras de plasma foram determinados os teores de umidade, proteína, gordura e cinzas, bem como a caracterização microbiológica.

4.3 PROCESSAMENTO (1º E 2º ENSAIOS)

O processamento e o armazenamento foram realizados na planta piloto do Centro de Pesquisa e Desenvolvimento de Carnes do Instituto de Tecnologia de Alimentos, Campinas – SP.

4.3.1 Processamento do 1º ensaio

4.3.1.1 Elaboração das salmouras

As diferentes formas de apresentação do plasma bovino foram destinadas à elaboração das salmouras para injeção dos cortes bovinos, cujas formulações são apresentadas na Tabela 1, onde está incluída a salmoura controle, sem adição de plasma. O processo de elaboração das salmouras incluiu a pesagem dos diferentes ingredientes e aditivos, os quais foram adicionados à água gelada (2°C) sob agitação.

TABELA 1: Composição das salmouras (p/p) utilizadas para a injeção de coxão duro (m. *Biceps femoris*) no 1º ensaio.

Composição	Tratamentos					
	IN	C	PL	PLC	PD	PCD
Água (%)	-	85,6	45,8	45,8	83,5	83,5
Sal (%)	-	3,0	3,0	3,0	3,0	3,0
Polifosfato (%)	-	2,1	-	-	-	-
Eritorbato de sódio (%)	-	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3
Açúcar (%)	-	3,0	3,0	3,0	3,0	3,0
Lactato de potássio (%)	-	6,0	6,0	6,0	6,0	6,0
PL (%)	-		42,0	-	-	-
PLC (%)	-			42,0	-	-
PD (%)	-				4,2	-
PCD (%)	-					4,2

IN - *In natura* – tratamento não submetida à injeção;

C - controle – tratamento com salmoura contendo polifosfatos e isenta de plasma;

PL – tratamento com salmoura adicionada de plasma líquido e isenta de polifosfatos;

PLC - tratamento com salmoura adicionada de plasma líquido concentrado e isenta de polifosfatos;

PD- tratamento com salmoura adicionada de plasma líquido desidratado e isenta de polifosfatos;

PCD - tratamento com salmoura adicionada de plasma líquido concentrado desidratado e isenta de polifosfatos

4.3.1.2. Injeção das salmouras e avaliação do rendimento

Após a preparação das salmouras específicas de cada tratamento (**Tabela 1**), procedeu-se à injeção de 20% de salmoura, sobre o peso da carne *in natura*, utilizando-se uma injetora Lingaard (modelo 500 de 16 agulhas), com 3 a 4 passagens pelas agulhas conforme a **Figura1**.

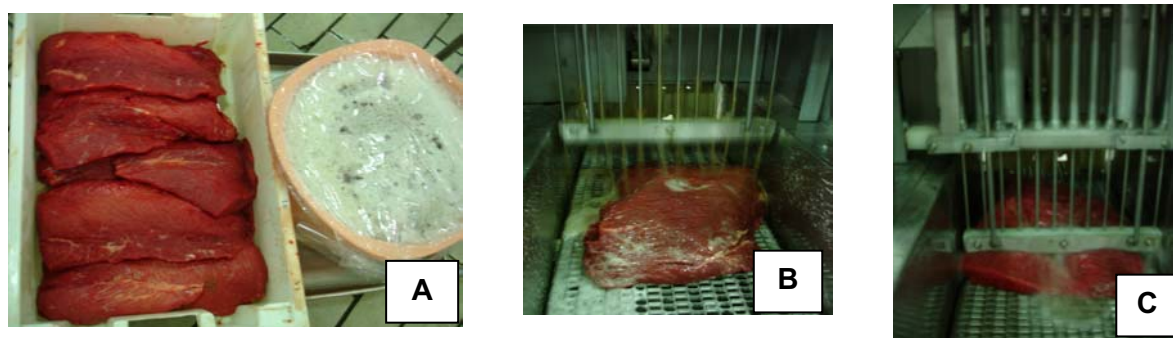


FIGURA 1: Cortes e salmoura prontos para injeção (**A**), injeção das salmouras nos cortes cárneos de coxão duro bovino (**B e C**).

A injeção foi conduzida após 48 horas de refrigeração ($2^{\circ}\text{C}\pm 2$). Para cada tratamento foram destinadas cinco peças íntegras de coxão duro, perfazendo-se seis tratamentos (**Tabela 1**):

- i) **IN** – *In natura* (não injetado);
- ii) **C** – Controle - injetado com 20% de salmoura (sal + tripolifosfato + eritorbato + açúcar + lactato de sódio);
- iii) **PL** – Plasma líquido - injetado com 20 % de salmoura (sal + eritorbato + açúcar + lactato de sódio + plasma líquido);
- iv) **PLC** – Plasma líquido Concentrado - injetado com 20% de salmoura (sal + eritorbato + açúcar + lactato de sódio + plasma líquido concentrado);
- v) **PD** – Plasma líquido Desidratado - injetado com 20% de salmoura (sal + eritorbato + açúcar + lactato de sódio + plasma líquido desidratado);
- vi) **PCD** – Plasma líquido Desidratado Concentrado - injetado com 20% de salmoura (sal + eritorbato + açúcar + lactato de sódio + plasma líquido desidratado concentrado);

As seqüências dos procedimentos realizados estão delineados no fluxograma apresentado na **Figura 2**.

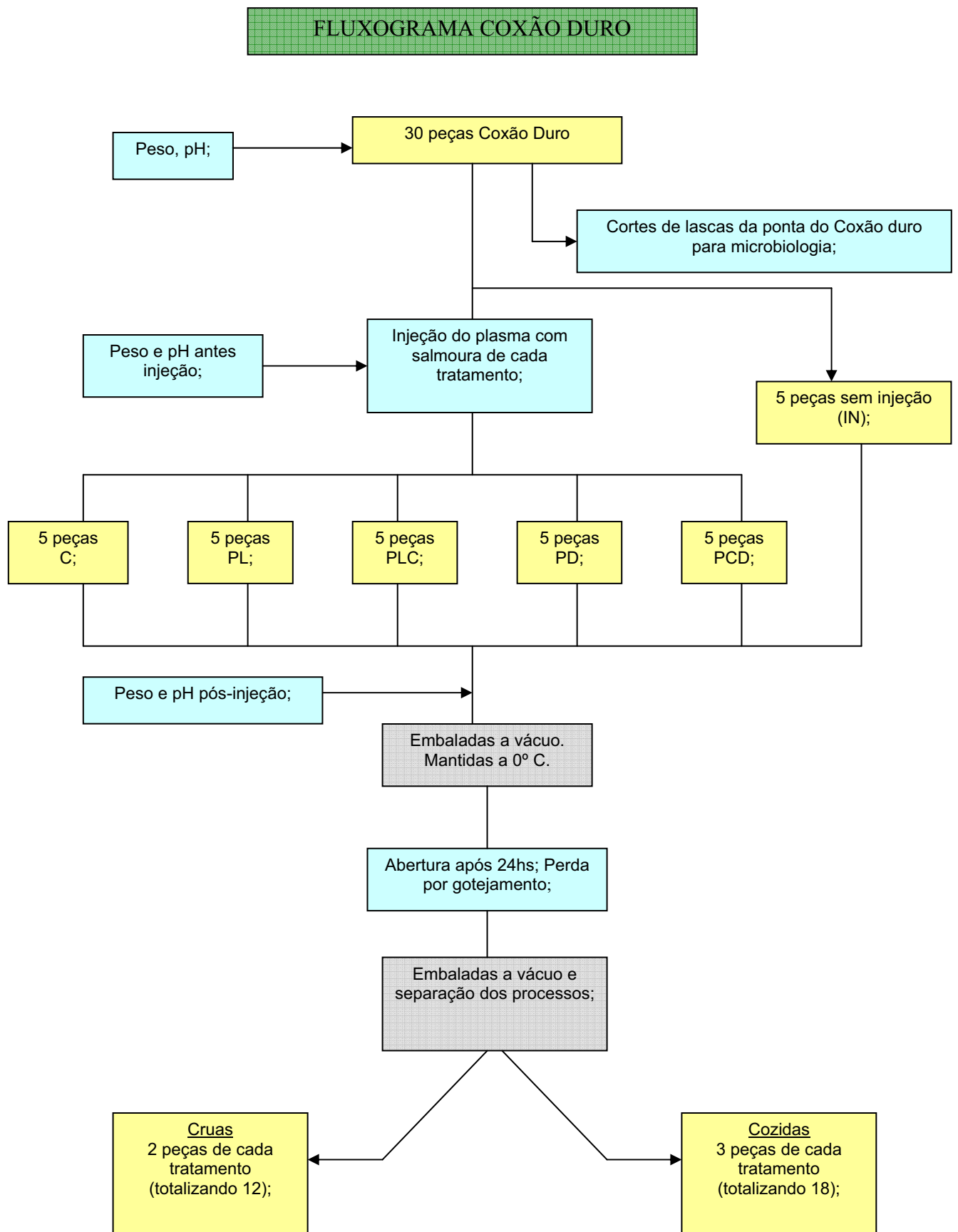


FIGURA 2: Fluxograma do processamento e esquema de análises do coxão duro do 1º ensaio.

Após serem injetadas, as peças foram pesadas para verificar se a porcentagem prevista (20%) havia sido atingida e o pH foi aferido. Posteriormente, as peças foram embaladas a vácuo e mantidas na câmara a 0°C durante 24 horas, quando foram novamente pesadas para obtenção da perda de peso no gotejamento. A seguir, foram embaladas e codificadas segundo os tratamentos aos quais seriam conduzidas. Três peças de cada tratamento foram submetidas a cozimento para as avaliações de cortes cozidos e as demais (duas) foram submetidas à refrigeração e posteriores avaliações de cortes crus.

4.3.1.3 Processamento da carne cozida

A **Figura 3** apresenta o fluxograma de processamento da carne cozida.

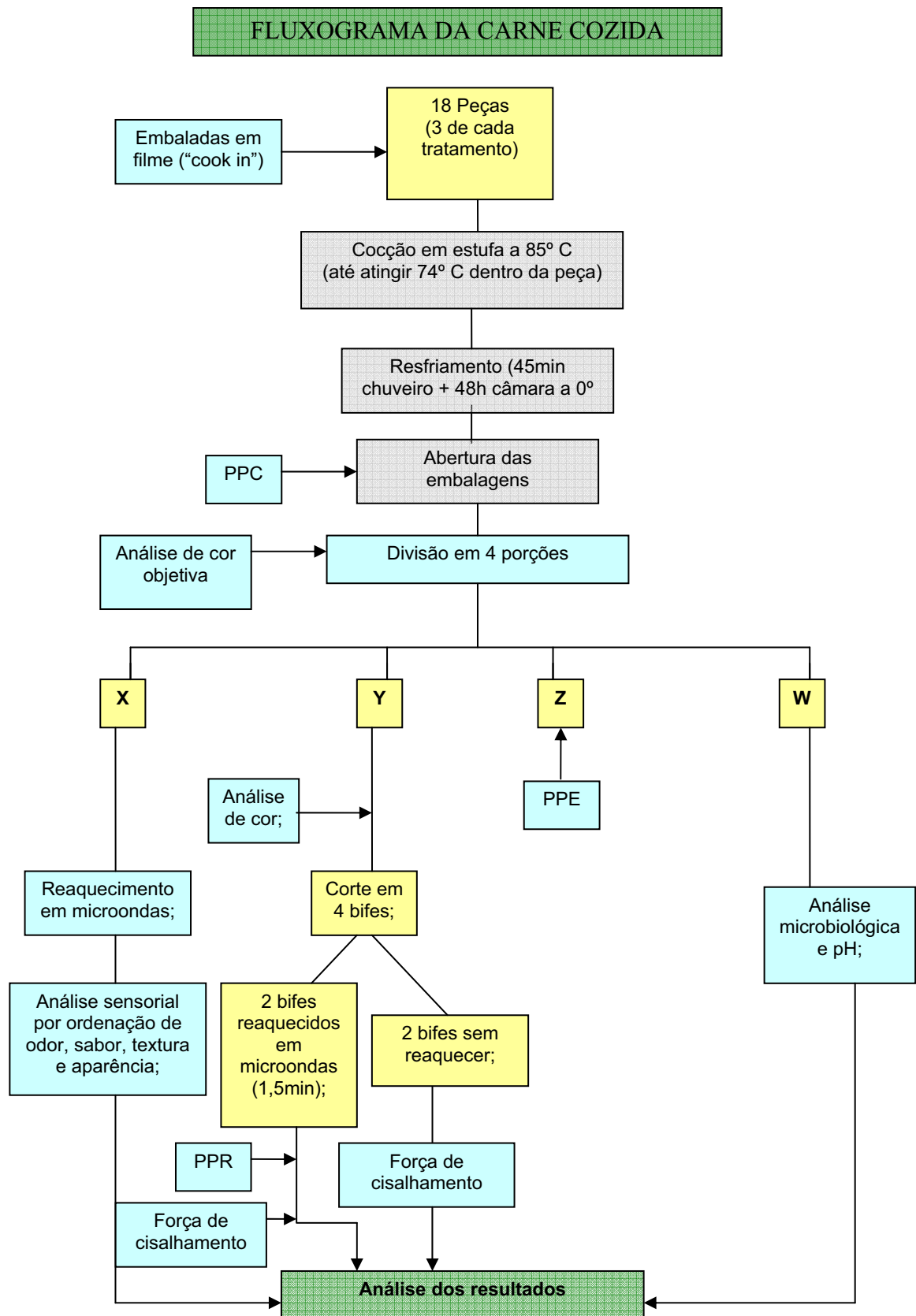


FIGURA 3: Fluxograma do processamento e análises do coxão duro cozido injetado

As dezoito peças correspondentes aos seis tratamentos cozidos foram embaladas a vácuo individualmente (Figura 4) pela seladora Supervac em filme *cook-in* (Sealed Air – CN530) e submetidas a um processo de cozimento com injeção direta de vapor, em estufa automática Becker – tipo Kompakt, conforme Figura 5.



FIGURA 4: Cortes cárneos embalados a vácuo em filme “cook in”, pronto para cozimento



FIGURA 5: Cortes na estufa antes (A) e após (B) o cozimento.

A temperatura da estufa foi fixada em 85°C e as amostras foram retiradas quando a temperatura, no centro da peça, atingisse 74°C, a temperatura foi controlada através da inserção de três termopares (um termopar no centro de uma peça colocada no centro da estufa, um termopar no ponto mais frio da estufa e o terceiro termopar posicionado no ponto central da estufa). Após o cozimento as carnes foram resfriadas em água corrente (banho de aspersão em chuveiro) por 45 minutos e, em seguida, colocadas em câmara frigorífica a 0° C.

Após 48 horas na câmara, as embalagens foram abertas e mediu-se a perda por cocção (PPC). As peças foram divididas em quatro porções X, Y, Z e W (**Figura 6**) e submetidas às seguintes avaliações: contagem total de psicotróficos, cor

objetiva (parâmetros L^* , a^* e b^*), pH, perda de peso por exsudação (PPE), perda de peso por cocção (PPC), análise objetiva da textura (força de cisalhamento com acessório Warner Blatzler) e análise sensorial com consumidores (teste de ordenação quanto à preferência de aparência, sabor, odor e textura).

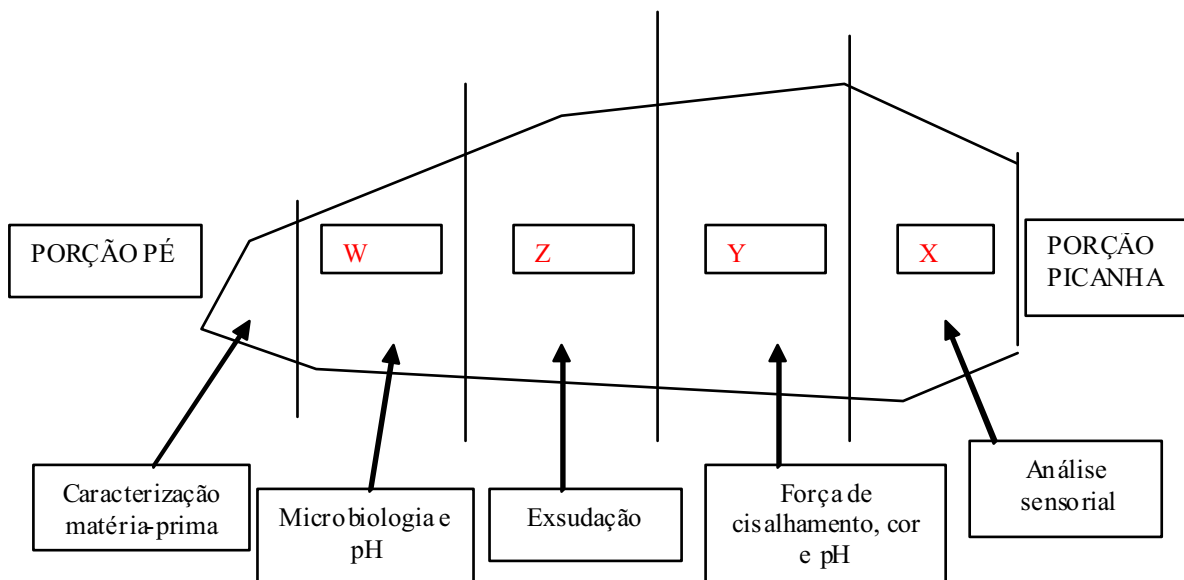


FIGURA 6: Esquema de porcionamento dos cortes de coxão duro (*Biceps femoris*) destinados aos tratamentos crus e cozidos

4.3.1.4 Processamento da carne crua

As doze peças destinadas aos tratamentos de cortes crus foram divididas em 4 porções (**Figura 7**), denominadas, X, Y, Z e W, as quais foram reembaladas a vácuo separadamente e conservadas na câmara a 0° C para realização das avaliações.

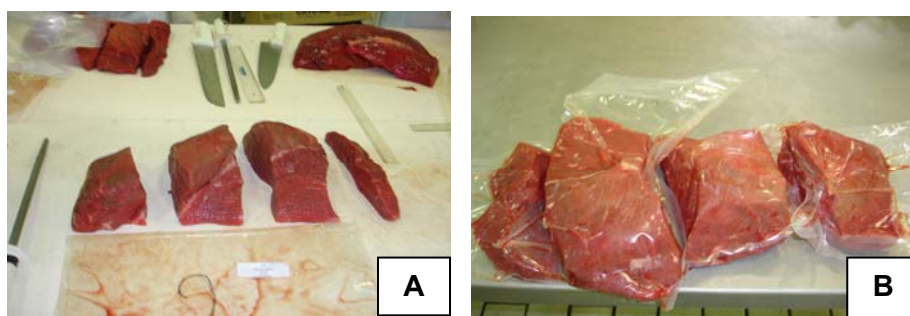


FIGURA 7: Divisão do coxão duro em quatro porções (A) e embalado a vácuo separadamente (B).

A Figura 8 apresenta o fluxograma do processamento da carne crua e esquema das análises.

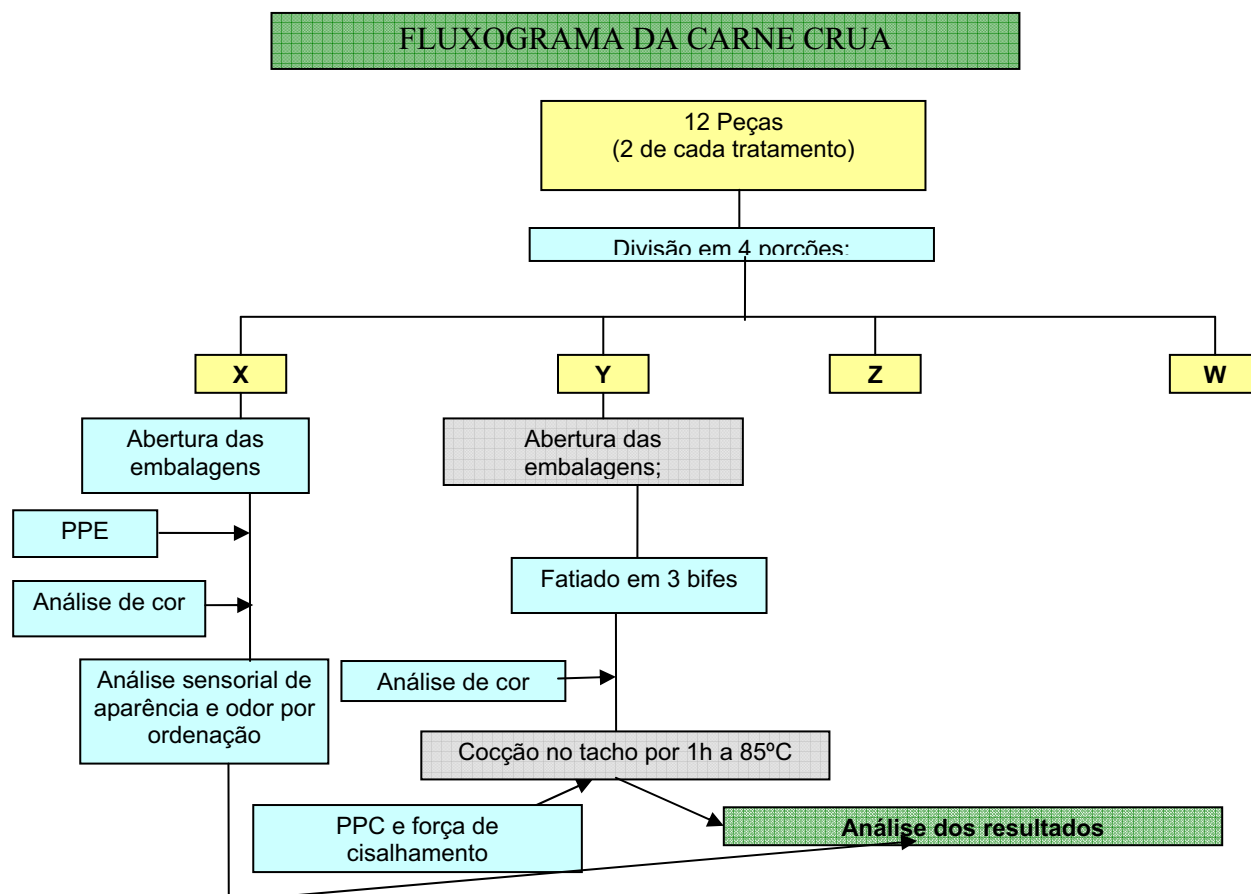


FIGURA 8: Fluxograma do processamento e análises do coxão duro cru injetado.

4.3.2 Processamento do 2º ensaio:

4.3.2.1 Elaboração das salmouras

Na Tabela 2 estão dispostas as diversas formulações utilizadas no 2º ensaio destinadas à elaboração das salmouras para injeção dos cortes bovinos. Como no 1º ensaio, o processo de elaboração das salmouras incluiu a pesagem dos diferentes ingredientes e aditivos, os quais foram adicionados à água gelada (2°C) sob agitação.

TABELA 2. Composição das salmouras (p/p) utilizadas para a injeção de coxão duro (m. *Biceps femoris*) no 2º ensaio.

Composição	Tratamentos						
	IN	CONL	CONO	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
Polifosfato (%)	-	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
Lactato de potássio (%)	-	7.70	-	7.70	-	7.70	-
OptiForm®	-	-	7.70	-	7.70	-	7.70
PLC (%)	-	-	-	53.85	53.85	-	-
PCD (%)	-	--	-	-	-	7.70	7.70

OptiForm® - produto a base de lactato(60%) e diacetato de sódio (4%)

PLC – plasma líquido concentrado;

PCD – plasma líquido concentrado e desidratado

IN - *In natura* – tratamento não submetido à injeção;

CONL – controle com lactato – tratamento com salmoura contendo polifosfatos e lactato de sódio isenta de plasma;

CONO – controle com OptiForm® – tratamento com salmoura contendo polifosfatos e OptiForm® isenta de plasma;

PLL – tratamento com salmoura adicionado de plasma líquido concentrado e lactato de sódio e isenta de polifosfato;

PLO - tratamento com salmoura adicionada de plasma líquido concentrado e OptiForm® isenta de polifosfatos;

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

PDO - tratamento com salmoura adicionada de plasma líquido concentrado e desidratado e OptiForm® isenta de polifosfatos

4.3.2.2 Injeção das salmouras e avaliação do rendimento

Após preparação das salmouras de cada tratamento, procedeu-se à injeção de 15% de salmoura, sobre o peso da carne *in natura*, utilizando-se uma injetora manual de quatro agulhas.

A injeção foi conduzida após 48 horas de refrigeração ($2^{\circ}\text{C}\pm 2$). Para cada tratamento foram destinadas 03 peças íntegras de coxão duro, perfazendo-se sete tratamentos (**Tabela 2**):

- i) **IN** – *In natura* (não injetado);
- ii) **CONL** – Controle com lactato de sódio - injetado com 15% de salmoura (sal + tripolifosfato + eritorbato + açúcar + lactato de sódio);
- iii) **CONO** – Controle com OptiForm® - injetado com 15% de salmoura (sal + tripolifosfato + eritorbato + açúcar + OptiForm®);

iv) **PLL** – Plasma Líquido Concentrado com lactato de sódio - injetado com 15% de salmoura (sal + eritorbato + açúcar + lactato de sódio + plasma líquido concentrado);

v) **PLO** – Plasma Líquido Concentrado com OptiForm® - injetado com 15% de salmoura (sal + eritorbato + açúcar + OptiForm® + plasma líquido concentrado);

vi) **PDL** – Plasma Líquido Concentrado e Desidratado com lactato de sódio - injetado com 15% de salmoura (sal + eritorbato + açúcar + Purasal® + plasma líquido desidratado);

vii) **PDO** – Plasma Líquido Concentrado e Desidratado Concentrado OptiForm® - injetado com 15% de salmoura (sal + eritorbato + açúcar + OptiForm® + plasma líquido desidratado concentrado);

Após a preparação da salmoura, seguiu-se o fluxograma, apresentado na **Figura 9**.

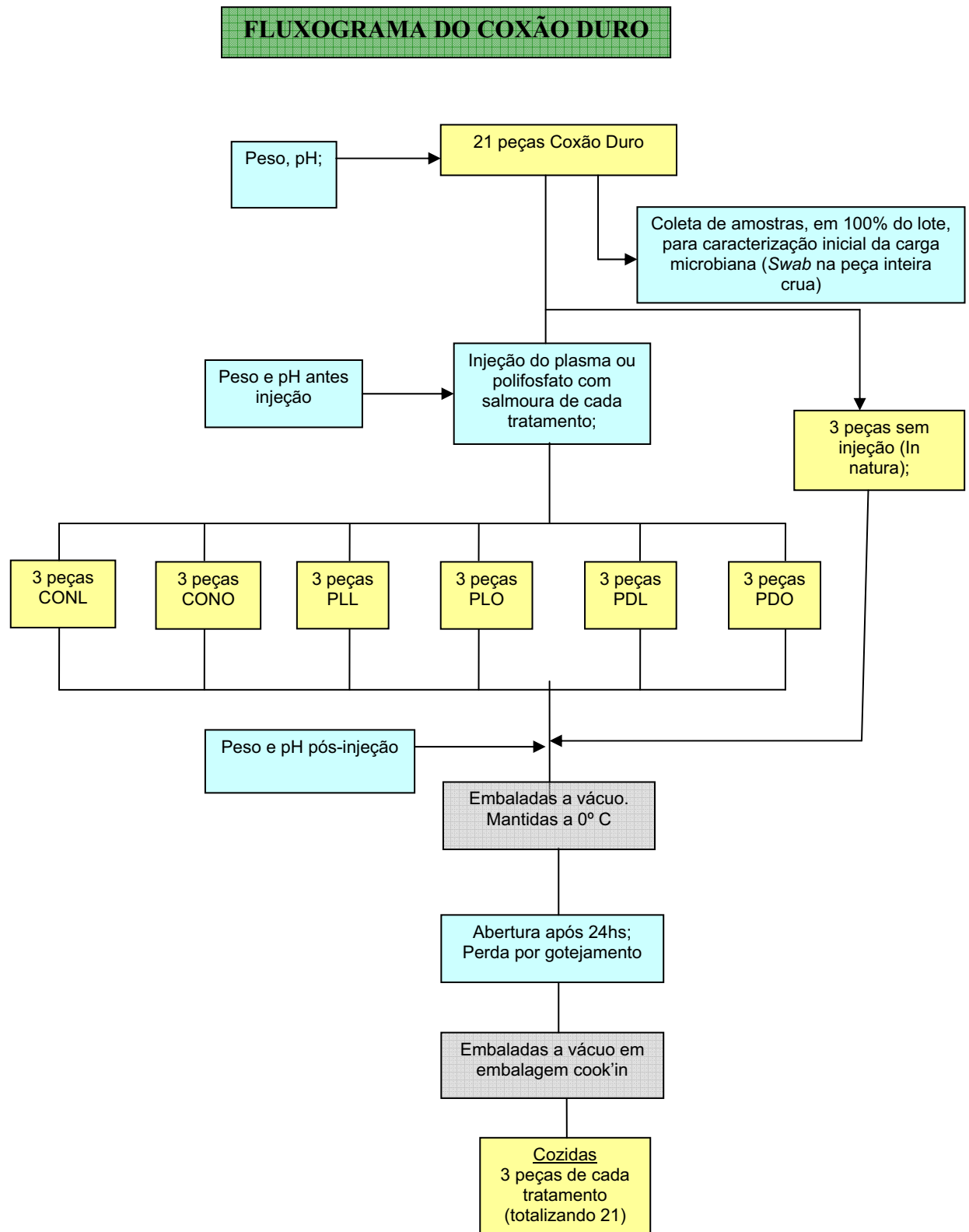


FIGURA 9: Fluxograma do processamento e esquema de análises do coxão duro para o 2º ensaio.

Após injeção as peças foram pesadas para verificar se a porcentagem prevista (15%) havia sido atingida e o pH foi aferido. Posteriormente, as peças foram embaladas a vácuo e mantidas na câmara a 0°C durante 24 horas, quando foram novamente pesadas para obtenção da perda de peso no gotejamento. A seguir, foram embaladas e codificadas segundo os tratamentos aos quais seriam conduzidas.

4.3.2.3 Processamento da carne cozida

A **Figura 10** apresenta o fluxograma de processamento da carne cozida.

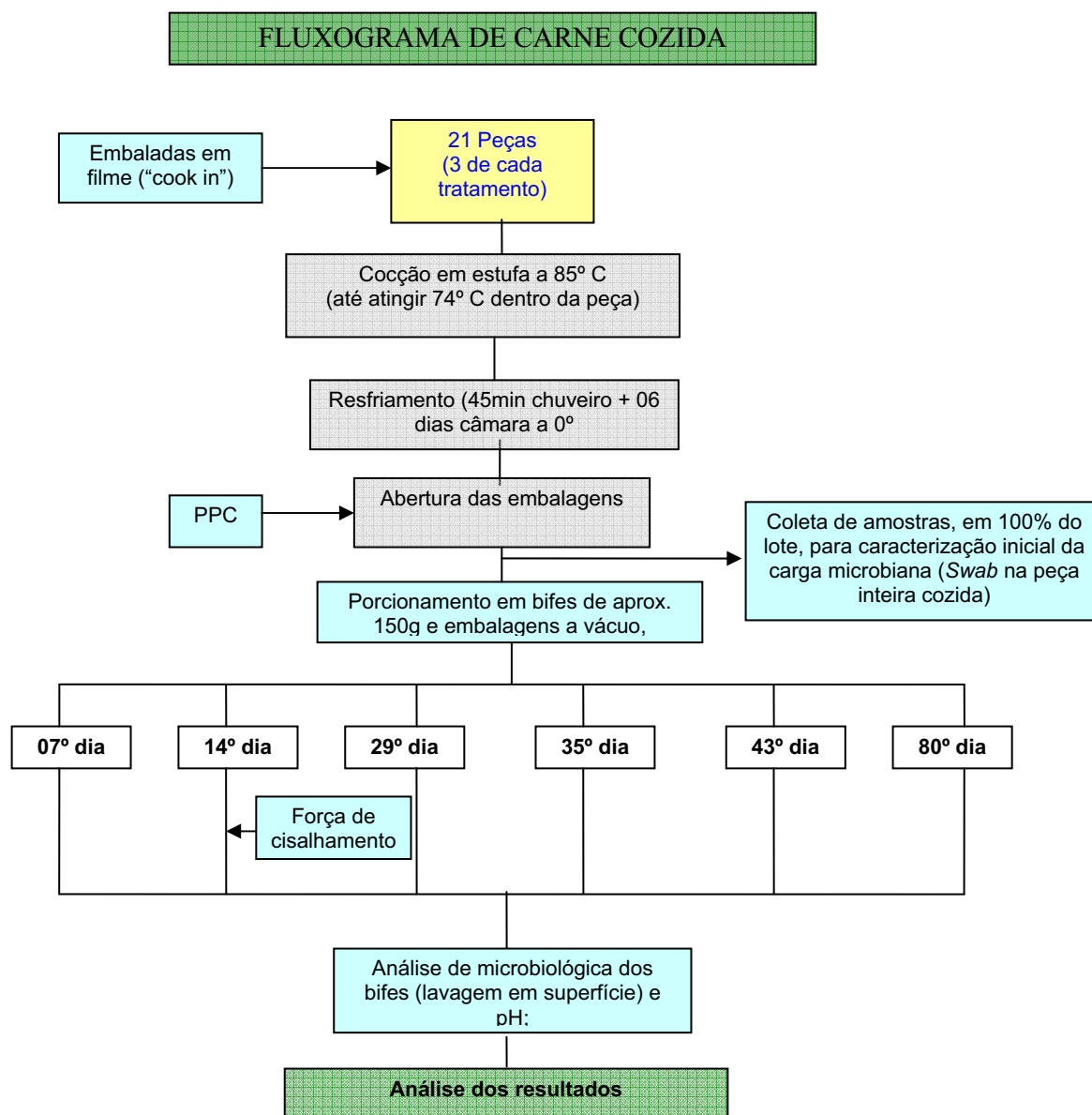


FIGURA 10: Fluxograma do processamento e análises do coxão duro cozido injetado no 2° ensaio.

As vinte e uma peças correspondentes aos sete tratamentos foram embaladas a vácuo individualmente pela seladora Supervac, em filme *cook-in* (Sealed Air – CN530) e submetidas a um processo de cozimento com injeção direta de vapor, em estufa automática Becker – tipo Kompakt.

A temperatura da estufa foi fixada em 85°C e as amostras foram retiradas quando a temperatura no centro houvesse atingido 74°C, a temperatura foi controlada através da inserção de três termopares (um termopar no centro de uma peça colocada no centro da estufa, um termopar no ponto mais frio da estufa e o terceiro termopar posicionado no ponto central da estufa). Após o cozimento, as carnes foram resfriadas em água corrente (banho de aspersão em chuveiro) por 45 minutos e, em seguida, colocadas em câmara frigorífica a 0° C.

Após 06 dias na câmara, as embalagens foram abertas e divididas em bifes de aproximadamente 2,5cm de espessura e com peso médio de 150g (**Figura 11**). Os bifes foram reembalados individualmente a vácuo e mantidos sob refrigeração $7\pm 2^{\circ}\text{C}$ durante aproximadamente três meses para análises microbiológicas.

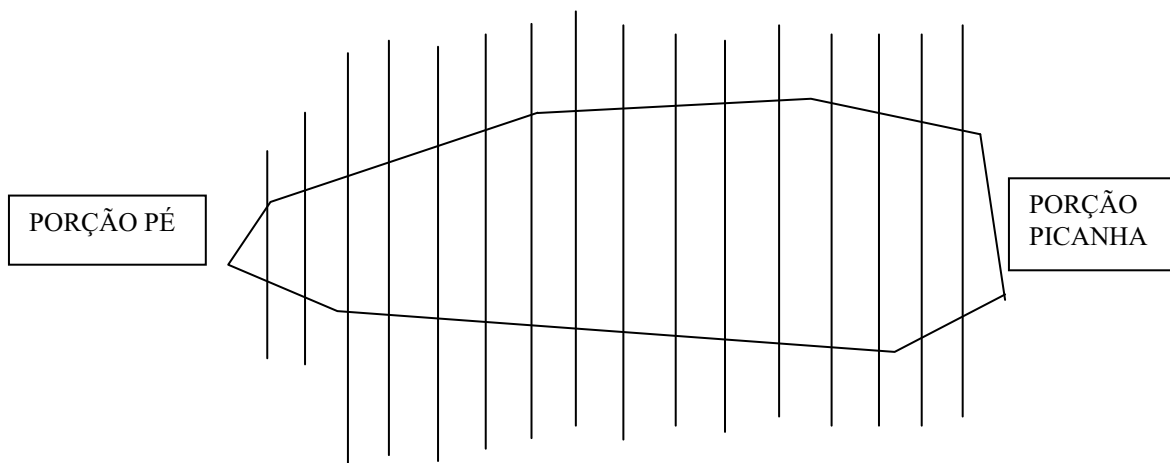


FIGURA 11: Esquema de porcionamento dos cortes de coxão duro (*Biceps femoris*).

4.4 METODOLOGIA DAS AVALIAÇÕES FÍSICAS, QUÍMICAS, MICROBIOLÓGICAS E SENSORIAIS DO 1º ENSAIO.

4.4.1 Avaliações Físicas

4.4.1.1 Nível de injeção (NI)

O nível de injeção foi determinado gravimetricamente a partir do ganho de peso no processo de injeção, pesando-se cada corte antes e após injeção. O valor médio para cada tratamento foi obtido a partir de cinco replicatas e expresso em porcentagem em relação ao peso do corte antes da injeção.

4.4.1.2 Perda de peso por gotejamento (PPG)

A perda de peso por gotejamento foi determinada gravimetricamente 24h após injeção e expressa em porcentagem em relação ao peso do corte pós-injeção.

4.4.1.3 Perda de peso por cocção (PPC)

A perda de peso por cocção foi determinada gravimetricamente tanto para os tratamentos cozidos como para os crus, obtendo-se a razão entre os pesos das amostras íntegras antes e após a cocção. À perda observada durante a cocção em estufa, denominou-se perda de peso na cocção da carne cozida (PPC_{CZ}) e foi realizada em triplicata para cada tratamento.

Também foi determinada a perda de peso na cocção para as amostras cruas (PPC_{CR}), obtida a partir dos bifes retirados das porções X dos cortes destinados aos tratamentos crus, embaladas a vácuo e cozidas em tacho com água a 85°C até

atingirem 74°C, quando foram resfriadas, descartado o exsudado e foram pesadas as amostras para determinação gravimétrica da perda de peso que foi expressa em porcentagem. Nos tratamentos crus foram utilizados 3 bifes de cada porção X de dois cortes utilizados no estudo com carne crua, perfazendo 6 replicatas por tratamento.

4.4.1.4 Perda de peso por reaquecimento (PPR)

A perda de peso por reaquecimento (PPR) foi determinada em bifes de 2,5cm, obtidos das porções Y da carne cozida, submetidos ao aquecimento em microondas Panasonic Modelo Plus Junior potência 1600W durante 90 segundos, sendo 6 bifes por batelada, cobertos com tampa plástica com ventilação. A determinação foi realizada gravimetricamente e resultado foi expresso em porcentagem em relação ao peso dos bifes antes do reaquecimento. Foram utilizados 3 bifes de cada porção, perfazendo nove amostras por tratamento. Os bifes utilizados para determinação da PPR foram posteriormente submetidos a determinações de cor objetiva e de força de cisalhamento.

4.4.1.5 Perda de peso por exsudação (PPE)

Determinou-se a perda de peso por exsudação nas porções X e Y dos tratamentos das carnes cruas e cozidas. Nos cortes crus as medidas foram realizadas aos 05, 10 e 30 dias de estocagem sob refrigeração e nos cozidos aos 06 e 30 dias de estocagem sob refrigeração ($2^{\circ}\text{C}\pm 2$). Nos períodos descritos, as amostras foram retiradas das embalagens a vácuo, cuidadosamente, eliminando o exsudado da embalagem, e pesadas para a determinação da perda de peso por exsudação. A determinação foi realizada gravimetricamente e resultado foi expresso em porcentagem em relação ao peso dos bifes no início do processamento, antes da embalagem. Foram utilizados 2 bifes de cada porção, perfazendo seis amostras por tratamento.

4.4.1.6 Força de cisalhamento

Nas determinações de força de cisalhamento foi utilizado o texturômetro TA-XT 2i (*Texture Technologies Corp./ Stable Micro Systems, UK*), equipado com o dispositivo Warner Braztler (WB) adquirido da mesma empresa (lâmina de alumínio de 3 mm de espessura) com medida de força em compressão. O equipamento foi calibrado com peso padrão de 5kg com padrão rastreável. A velocidade de descida do dispositivo foi de 200 mm/min (AMSA, 1995). A força de cisalhamento foi gerada automaticamente através do programa *Texture Expert Exceed Advanced Texture Analysis Software v. 2.13 - Stable Micro Systems* que acompanha o equipamento.

De cada unidade experimental (bife), resfriada à temperatura ambiente, foram retirados cilindros, seis a dez unidades de 1,0cm x 1,0cm x 2,0cm em que a área de cisalhamento era de 1,0cm². Após a retirada das amostras, estas foram embaladas em sacos plásticos impermeáveis ao vapor d'água e mantidos sob refrigeração por uma noite. A determinação foi realizada sob temperatura ambiente, sendo considerada como valor final a média das leituras expressas em kgf (**Figura 12**).

A força de cisalhamento foi determinada em bifes de 2,5cm provenientes das porções X dos cortes crus (FC_{CR}), utilizando-se os mesmos bifes destinados à determinação de perda de peso na cocção.

A força de cisalhamento dos cortes cozidos foi determinada em bifes de 2,5cm provenientes das porções Y dos cortes cozidos (FC_{Cz}) e após reaquecimento (FCR).

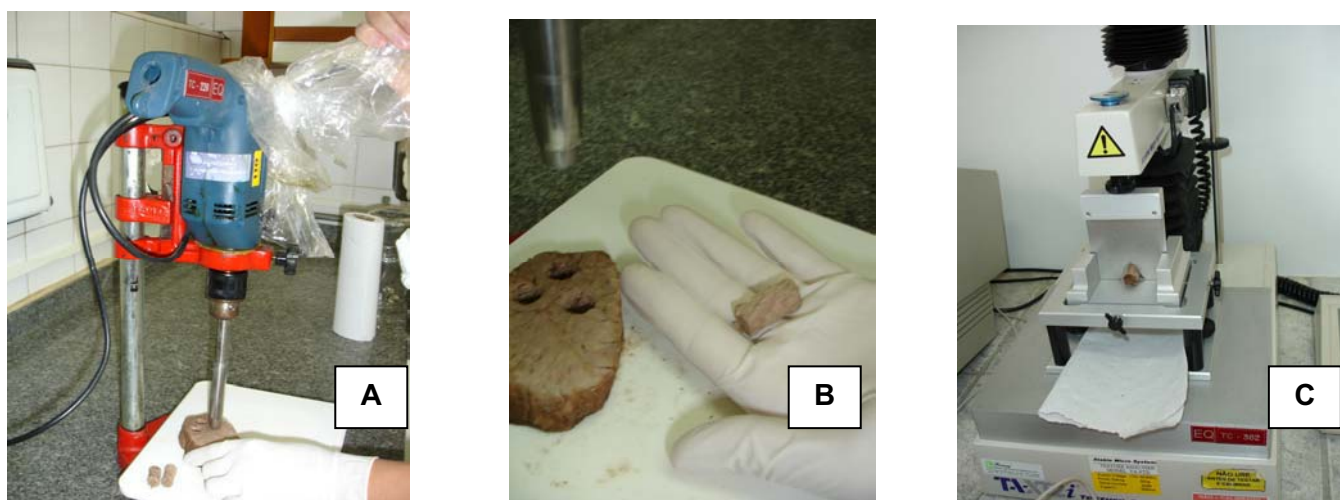


FIGURA 12: Cortes de cilindros para análise de força de cisalhamento (**A e B**) e o texturômetro TA-XT 2i (**C**) na medida da força de cisalhamento nas amostras cilíndricas.

4.4.1.7 Cor objetiva

Para a determinação da cor objetiva foi utilizado espectrofotômetro MINOLTA (Japão) modelo CM 508-d, para leitura dos parâmetros L^* (luminosidade), a^* (intensidade de vermelho/verde) e b^* (intensidade de amarelo/azul), fixadas as seguintes condições: iluminante D65, ângulo padrão do observador de 10° em ambos os processos, cru e cozido (**Figura 13**). Para o processo cru a cor foi analisada aos 5 e 11 dias após a injeção, as leituras foram realizadas na superfície de duas peças de coxão duro de cada tratamento (IN, C, PL, PLC, PD e PCD) após 30 minutos de exposição dos cortes ao oxigênio. Para o processo cozido a cor foi realizada 5 e 18 dias após o cozimento das peças injetadas, as leituras foram realizadas na superfície de três fatias retiradas da porção Y dos cortes cozidos de cada tratamento (IN, C, PL, PLC, PD e PCD) com cinco leituras por amostra.



FIGURA 13. Avaliação da cor objetiva em fatias do coxão duro cozido.

4.4.1.8 Valor de pH

O valor de pH foi determinado nas salmouras de injeção dos diferentes tratamentos, nos cortes cárneos antes da injeção, após injeção e ao longo da estocagem sob refrigeração ($2^\circ\text{C}\pm 2$) dos cortes crus e cozidos. Nos cortes crus as

medidas foram realizadas aos 05 e 11 dias de estocagem sob refrigeração e nos cozidos aos 03, 10 e 30 dias de estocagem sob refrigeração ($2^{\circ}\text{C}\pm 2$).

4.4.2 Análises Químicas

4.4.2.1 Composição centesimal do plasma bovino

Foram determinados os teores de umidade, proteína, gordura e cinzas das amostras de plasma bovino utilizadas nas salmouras de injeção, segundo metodologia descrita na AOAC (Horwitz, 2000).

4.4.3 Análises Microbiológicas

Para caracterização das matérias-primas foram retiradas amostras das extremidades de cada um dos cinco cortes, que foram identificados segundo o tratamento ao qual seriam destinados. As análises de contagem total de psicotróficos e de coliformes termotolerantes foram realizadas em triplicata de amostras compostas dos cinco cortes de cada tratamento, segundo metodologia descrita por Downes e Ito (2001).

Ao longo da estocagem sob refrigeração ($2^{\circ}\text{C}\pm 2$) foi realizada, da porção W, a contagem total de psicotróficos e de coliformes termotolerantes nos intervalos 05, 12 e 100 dias de estocagem sob refrigeração ($2^{\circ}\text{C}\pm 2$) dos tratamentos crus e 03, 10, 35 e 100 dias de estocagem sob refrigeração ($2^{\circ}\text{C}\pm 2$), dos tratamentos cozidos.

4.4.3.1 Preparo das amostras e diluições

Após a limpeza e desinfecção das embalagens com álcool iodado, porções de 25g de amostra foram homogeneizadas com 225ml de diluente estéril (água peptonada tamponada), por 1 minuto; a partir da diluição inicial foram preparadas as diluições decimais sucessivas e as análises microbiológicas.

4.4.3.2 Contagem total de microrganismos aeróbios psicrotróficos

Foi utilizado o método de plaqueamento em superfície utilizando o Ágar Padrão para Contagem (PCA); as placas foram incubadas a 20°C por 3 dias.

4.4.3.3 Contagem de Coliformes termotolerantes

Utilizou-se a técnica do Número Mais Provável (NMP). Foi adicionado 1 ml de cada diluição em uma série de três tubos contendo Caldo Lauril Sulfato Triptose (LST) que foram incubados a 35-37°C por 24-48h; considerou-se positivos os tubos que apresentaram turvação e produção de gás. A partir destes, foi transferido uma alçada para tubos contendo Caldo EC que foram incubados em banho-maria a 45,5°C por 24h, sendo considerados positivos os tubos com turvação e produção de gás. Foi calculado o número mais provável de coliformes termotolerantes por grama de amostra (NMP/g) utilizando-se a tabela de Hoskins (BLODGETT, 2003).

4.4.4 Análises sensoriais

4.4.4.1 Teste de Ordenação para avaliação da carne crua

Para o ensaio sensorial das amostras de coxão duro cru (**Figura 14**), foi realizado após 4 dias de estocagem sob refrigeração, o teste de ordenação com 20 provadores não treinados para verificar a preferência quanto ao atributo aparência (menos preferido – mais preferido) e odor característico de carne crua (menos característico mais característico). As amostras em temperatura de refrigeração foram apresentadas em pratos plásticos descartáveis cobertos com filme plástico, codificados com números de três dígitos. Os resultados foram analisados segundo a tabela de Friedman para análise de diferenças críticas entre os totais das somas de ordenação (MEILGAARD et al., 1999) ao nível de significância de $p \leq 0,05$.



FIGURA 14: Análise de aparência e odor do coxão duro cru.

4.4.4.2 Teste de Ordenação para avaliação da carne cozida

Para o ensaio sensorial das amostras de coxão duro cozido, foi realizado após 16 dias de estocagem sob refrigeração, o teste de ordenação com 30 provadores não treinados para verificar a preferência quanto aos atributos aparência (menos preferido mais preferido), sabor (menos preferido – mais preferido), textura

(menos macio – mais macio) e odor característico de carne cozida (menos característico mais característico). As amostras foram cortadas em fatias de 0,5cm, submetidas em forno de microondas (potência máxima durante 1 minuto). Foram apresentadas em pratos plásticos descartáveis, codificados com números de três dígitos. Os resultados foram analisados segundo a tabela de Friedman para análise de diferenças críticas entre os totais das somas de ordenação (MEILGAARD et al., 1999) ao nível de significância de $p \leq 0,05$.

4.4.5 Análise estatística

Os resultados foram analisados considerando-se, no primeiro ensaio, dois estudos independentes, um com carne crua e outro com carne cozida, cada um com seis tratamentos independentes. Os resultados obtidos foram submetidos à análise de variância e a diferença entre as médias foi determinada pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). Foi utilizado um delineamento fatorial completo 06 (tratamentos) x 02 (tempo de estocagem) para avaliação do efeito dos tratamentos e do tempo de estocagem na perda de peso por exsudação, valor de pH, cor objetiva, perda de peso no reaquecimento e força de cisalhamento dos cortes crus e cozidos, onde os resultados obtidos foram submetidos à análise de variância e a diferença entre as médias determinada pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

4.5 METODOLOGIA DAS AVALIAÇÕES FÍSICAS E MICROBIOLÓGICAS DO 2º ENSAIO.

4.5.1 Avaliações físicas

4.5.1.1 Nível de injeção (NI)

O nível de injeção foi determinado gravimetricamente a partir do ganho de peso no processo de injeção, pesando-se cada corte antes e após injeção. O valor médio para cada tratamento foi obtido a partir de três replicatas e expresso em porcentagem em relação ao peso do corte antes da injeção.

4.5.1.2 Perda de peso por gotejamento (PPG)

A perda de peso por gotejamento foi determinada gravimetricamente 24h após injeção e expressa em porcentagem em relação ao peso do corte pós-injeção.

4.5.1.3 Força de cisalhamento (FC)

Na determinação de força de cisalhamento foi utilizado o texturômetro TA-XT 2i (*Texture Technologies Corp./ Stable Micro Systems, UK*), equipado com o dispositivo Warner Bratzler (WB) adquirido da mesma empresa (lâmina de alumínio de 3 mm de espessura) com medida de força em compressão. O equipamento foi calibrado com peso padrão de 5kg com padrão rastreável. A velocidade de descida do dispositivo foi de 200 mm/min (AMSA, 1995). A força de cisalhamento foi gerada automaticamente através do programa *Texture Expert Exceed Advanced Texture Analysis Software v. 2.13 - Stable Micro Systems* que acompanha o equipamento.

De cada unidade experimental (bife), resfriada à temperatura ambiente, foram retirados cilindros, dez unidades de 1,0cm x 1,0cm x 2,0cm em que a área de cisalhamento era de 1,0cm². Após a retirada das amostras, estas foram embaladas em sacos plásticos impermeáveis ao vapor d'água e mantidos sob refrigeração por

uma noite. A determinação foi realizada sob temperatura ambiente, sendo considerada como valor final a média das leituras expressas em kgf.

4.5.1.4 Valor de pH

O valor de pH foi determinado nas salmouras de injeção dos diferentes tratamentos, nos cortes cárneos antes da injeção, após injeção e ao longo da estocagem sob refrigeração dos bifes. As medidas foram realizadas aos 07, 14, 29, 35, 43 e 80 dias de estocagem sob refrigeração a 7°C.

4.5.2 Avaliações Microbiológicas

4.5.2.1 Preparo das amostras e diluição

Utilizou-se a técnica de esfregaço em superfície (*swab*) das peças integras para caracterização microbiológica inicial na matéria-prima crua sem injeção e logo após o cozimento, sendo retiradas amostras de 50cm², de cada uma das 21 peças, com moldes, de 10cm², e *swabs* estéreis. Após a coleta das amostras com *swab*, os mesmos foram adicionados em tubos, contendo 10 ml de solução salina peptonada tamponada estéril. Os tubos foram homogeneizados, em vortex, e utilizados para a preparação das diluições decimais sucessivas, por meio de transferência de 01 ml da solução do tubo contendo os *swabs*, para tubos com 09 ml de solução salina peptonada tamponada estéril.

Para a caracterização inicial dos bifes (± 150 g), utilizou-se a técnica de lavagem de superfície, realizada em triplicata para cada tratamento, por imersão em 100 ml de solução salina peptonada tamponada (BWP) estéril. A solução foi recolhida em sacos plásticos estéreis e utilizada para o preparo das diluições decimais sucessivas, por meio de transferência de 01 ml da solução para tubos com 09 ml de solução salina peptonada tamponada.

Para a caracterização microbiológica inicial dos cortes íntegros crus e cozidos, do plasma líquido, bem como da caracterização inicial dos bifes, 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 total de psicotróficos segundo recomendações de Downes e Ito (2001). Ao longo do armazenamento dos bifes, foi realizada contagem de bactérias aeróbias psicotróficas totais e bactérias láticas.

Os testes de estabilidade, dos bifes de coxão duro, durante a estocagem, para avaliação da vida útil, foram realizados em intervalos de tempo - 07, 14, 29, 35, 43 e 80 dias - analisando as amostras em triplicata para cada tratamento.

4.5.2.2 Pesquisa de *Salmonella* sp.

Após a retirada das alíquotas para as demais análises dos tubos ou sacos plásticos estéreis (técnica de amostragem de esfregaço em superfície e lavagem de superfície, respectivamente) o restante do caldo contido no mesmo foi incubado à 35-37°C por 24h. Alíquotas de 0,1 ml deste caldo foram transferidas para os caldos Rappaport Vassiliadis (RP) e Tetrionato de Kauffmann (TT), com incubação a 35°C por 24h. Após a incubação foram utilizados os meios de plaqueamento Ágar Sulfito de Bismuto (BS), Ágar Hecktoen (HE) e Ágar Xilose Lisina Desoxicolato (XLD) que foram incubados a 35°C por 24h. As colônias suspeitas foram submetidas à identificação bioquímica em Ágar Tríplice Açúcar Ferro (TSI) e em Ágar Lisina Ferro (LIA) com incubação a 35-37°C por 24h. Quando necessários, foram realizados testes bioquímicos de confirmação para *Salmonella* ssp.

4.5.2.3 Contagem de *Estafilococos coagulase-positiva*

Foi utilizado o plaqueamento em superfície, transferindo-se alíquotas de 0,1 ml para placas contendo o meio Ágar Baird-Parker (BP) suplementados com solução de telurito com gema de ovo, que foram incubadas a 35-37°C por 48h. Quando as amostras apresentaram colônias típicas e atípicas, estas foram isoladas em solução de plasma de coelho liofilizado para realização das provas de coagulase livre. As provas bioquímicas para confirmação foram realizadas quando necessárias, Gram, catalase, e termonuclease (TNase).

4.5.2.4 Contagem de Clostrídios Sulfito-Redutores

Foi empregado o método de plaqueamento em profundidade utilizando o Ágar Shahidi-Ferguson-perfringens (SFP) suplementado com solução de D-ciclocerina a 4%. Após solidificação, foi adicionada uma sobrecamada do mesmo meio e as placas foram incubadas à 46°C por 18-24h, em atmosfera de anaerobiose. Da placa contendo entre 20 a 200 colônias típicas foram selecionadas colônias para a realização do teste de catalase e Gram, seguido do cálculo dos resultados.

4.5.2.5 Contagem de Coliformes termotolerantes

Utilizou-se a técnica do Número Mais Provável (NMP). Foi adicionado 1 ml de cada diluição em uma série de três tubos contendo Caldo Lauril Sulfato Triptose (LST) que foram incubados a 35-37°C por 24-48h; considerou-se positivos os tubos que apresentaram turvação e produção de gás. A partir destes, foi transferido uma alçada para tubos contendo Caldo EC que foram incubados em banho-maria a 45,5°C por 24h; sendo considerados positivos os tubos com turvação e produção de gás. Foi calculado o número mais provável de coliformes termotolerantes por grama de amostra (NMP/g) utilizando-se a tabela de Hoskins (BLODGETT, 2003).

4.5.2.6 Contagem total de microrganismos aeróbios psicrotróficos

Foi utilizado o método de plaqueamento em superfície utilizando o Ágar Padrão para Contagem (PCA); as placas foram incubadas a 20°C por 3 dias e em seguida, foi feito o cálculo dos resultados.

4.5.2.7 Contagem de Bactérias lácticas

O procedimento utilizado foi o plaqueamento em profundidade. Foram inoculados 1,0 ml de cada diluição em placas de Petri estéreis, adicionando em seguida o ágar MRS. Após solidificação, foi adicionada uma sobrecamada do mesmo meio e as placas foram incubadas a 30°C por 48-72h e em seguida, foi feito o cálculo dos resultados.

4.5.3 Análise subjetiva de odor e aparência

Após a abertura das embalagens e retirada da unidade analítica para realização das análises microbiológicas, foi observada subjetivamente a característica de odor de carne cozida nos bifes de coxão duro de todos os tratamentos.

4.5.4 Análise estatística

Foi utilizado um delineamento fatorial completo 07 (tratamentos) x 06 (tempo de estocagem) para avaliação do efeito dos tratamentos e do tempo de estocagem no valor de pH, força de cisalhamento, microrganismos aeróbios psicrotróficos e bactérias lácticas onde os resultados obtidos foram submetidos à análise de variância e a diferença entre as médias foram determinadas pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. RESULTADOS DAS AVALIAÇÕES FÍSICAS, QUÍMICAS, MICROBIOLÓGICAS E SENSORIAIS DO 1º ENSAIO

5.1.1 Composição do plasma bovino

A composição centesimal das diferentes formas de apresentação de plasma bovino utilizado nos diferentes tratamentos é apresentada na **Tabela 3**. O resíduo observado nas amostras de plasma líquido concentrado (**Figura 15**) sugeriu que o processo de separação nas centrífugas utilizadas na concentração não teria sido eficiente, desta forma foi determinada a composição centesimal do resíduo na tentativa de elucidar as falhas de processo.



FIGURA 15: Resíduo observado na amostra de plasma líquido concentrado.

TABELA 3: Composição centesimal do plasma líquido (PL), plasma líquido concentrado (PLC), resíduo do plasma líquido concentrado (RPLC), plasma líquido desidratado (PD) e plasma líquido concentrado desidratado (PCD).

Composição	PL	PLC	RPLC	PD	PCD
Cinzas (g/100g)	2,16 ±0,13	1,32 ±0,08	1,33 ±0,03	*	*
Gordura total (g/100g)	0,05 ±0,01	0,06 ±0,01	0,27 ±0,01	0,16 ±0,01	0,32 ±0,01
Proteína (g/100g)	6,06 ±0,05	11,35 ±0,28	18,69 ±0,90	74,64 ±0,52	82,00 ±0,64
Umidade (g/100g)	91,81 ±1,10	87,45 ±1,07	81,37 ±0,15	5,22 ±0,08	5,34 ±0,05

* Valores não determinados

Média e desvio padrão de três determinações.

Na **Tabela 3** observa-se que o processo de concentração elevou em cerca de 85% o teor de proteína presente no plasma líquido (PLC), indicando a importância da etapa de concentração para a funcionalidade do plasma. Por outro lado, a presença do resíduo com elevado teor de proteína, indica que o processo de concentração não está adequado, provocando perda de proteína no plasma, refletindo-se em redução de sua funcionalidade. Em relação aos plasmas desidratados, o concentrado (PCD) também apresentou teor de proteína cerca de 10% superior ao obtido do líquido não concentrado (PD).

O teor de proteína da amostra PCD esteve acima do encontrado por Duarte (1997), que obteve um concentrado protéico de plasma com 79,54% de proteína, após secagem em spray-dryer. Delaney (1975) obteve teor de proteína de 87,5% em plasma ultrafiltrado e desidratado em spray-dryer. Esses resultados indicam que o conteúdo de proteína do plasma concentrado desidratado (PCD) depende do procedimento de preparação do mesmo.

A contagem total de psicotróficos e de coliformes termotolerantes nas amostras dos plasmas líquidos (PL e PLC) utilizados na injeção dos cortes bovinos é apresentada na **Tabela 4**, os demais microrganismos estudados (estafilococos coagulase-positiva, Clostrídios sulfito redutores e *Salmonella sp.*) não foram detectados.

TABELA 4. Caracterização dos plasmas líquidos antes da injeção.

Tipos De Plasma	Contagem total de psicrotróficos (Log UFC/ml)	Coliformes termotolerantes (Log NMP/ml)
PL	7,52	3,66
PLC	6,66	2,66

UFC: Unidade formadora de colônia

NMP: Número mais provável

PL - Plasma líquido

PLC - Plasma líquido concentrado

Os resultados apresentados na **Tabela 4** indicaram que os plasmas líquidos apresentavam alta carga microbiana, sugerindo que o processo higiênico-sanitário de obtenção provavelmente tenha apresentado falhas, o que poderia comprometer a qualidade microbiológica das carnes injetadas.

A carga microbiana de psicrotróficos, encontrada neste estudo, esteve muito acima da encontrada por Silveira et al., (1998), que obtiveram contagens abaixo de 2 ciclos Log UFC/g após centrifugação e resfriamento do plasma bovino. Ockerman e Hansen (2000) afirmam que para as mesmas condições de coleta do plasma bovino, é esperada uma contagem de psicrotróficos até 4 ciclos Log UFC/g.

A contagem de coliformes termotolerantes esteve abaixo do encontrado por Rossi Jr. et al., (1994) que foi de quase 7 ciclos Log UFC/g, por outro lado, Silveira et al., (1998) obtiveram uma contagem próxima ao do presente estudo, 2 ciclos log UFC/g.

Os plasmas desidratados não foram submetidos às análises microbiológicas, mas, segundo ficha técnica dos fornecedores, ambos apresentavam ausência de *Salmonella* e de Coliformes 45,5°C em 10 e 25g de amostra, respectivamente. A contagem total de mesófilos apresentava-se menor que 10^3 /g de amostra e a de esporos sulfito redutor menor do que 10/g de amostra.

5.1.2 Avaliações das salmouras e dos processos de injeção e cocção dos cortes de coxão duro (*Biceps femoris*)

Os resultados referentes ao rendimento no processo de injeção dos cortes de coxão duro bovino são apresentados na **Tabela 5**.

TABELA 5: Médias dos parâmetros de rendimento: nível de injeção (NI), perda de peso no gotejamento (PPG) e perda de peso na cocção (PPC) após 24 horas de estocagem sob refrigeração de cortes de coxão duro.

Tratamentos	Parâmetros de rendimento		
	NI (%)	PPG (%)	PPC (%)
IN	0 ^b	0.7 ^c	33.8 ^a
C	20.8 ^a	5.8 ^b	33.6 ^a
PL	21.8 ^a	9.3 ^a	37.0 ^a
PLC	21.1 ^a	9.0 ^a	36.4 ^a
PD	20.7 ^a	10.4 ^a	33.5 ^a
PCD	20.6 ^a	8.6 ^a	32.8 ^a

Letras iguais na coluna indicam que não houve diferença entre as médias pelo teste de Tukey ($P>0,05$)

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

C - Controle – carne injeta com salmoura padrão com polifosfatos e isenta de plasma

PL - carne injeta com salmoura adicionada de plasma líquido e isenta de polifosfatos

PLC - carne injeta com salmoura adicionada de plasma líquido concentrado e isenta de polifosfatos

PD- carne injeta com salmoura adicionada de plasma líquido desidratado e isenta de polifosfatos

PCD - carne injeta com salmoura adicionada de plasma líquido concentrado desidratado e isenta de polifosfatos

Não houve diferença significativa entre os tratamentos para o nível de injeção, indicando que as salmouras apresentaram o mesmo comportamento nas condições de processo. Os resultados apresentados na **Tabela 5** indicam que o tratamento IN (não injetada) apresentou o menor gotejamento pós-injeção (0,7%), correspondente à exsudação naturalmente apresentada pela carne *in natura*, no presente estudo. Por outro lado, dentre os tratamentos injetados a menor perda de peso por gotejamento foi à observada na salmoura com adição de polifosfatos (Controle), as demais salmouras, isentas de polifosfatos, não apresentaram diferença significativa no gotejamento ($P>0,05$).

A presença dos polifosfatos é de grande importância para aumentar à capacidade de retenção de água, sendo o complexo miofibrilar a principal estrutura responsável pela retenção da água na carne (MOTA, 2005). Para Xiong (2005) a

locça, A.F.S. Efeitos da aplicação de salmoura com plasma bovino em músculo *Biceps femoris* (coxão duro) injetado, cru e cozido na estabilidade física, química, microbiológica e sensorial, 2008.

influência do sal e dos fosfatos na retenção de água em produtos marinados é exercida pelas proteínas miofibrilares do músculo.

Elucidando o intumescimento das miofibrilas devido à ligação da água quando colocadas em soluções salinas (como no processo de marinação), Offer e Trinick (1983) afirmam que o aumento do espaço interfilamentar não se deve apenas ao aumento de cargas negativas dos filamentos, mas também ao efeito do sal sobre as ligações que comprimem (ligações cruzadas entre os filamentos de miosina e actina) este espaço.

A uma alta força iônica o sal pode ter efeito desidratante. No entanto, Lawrie (2005) afirma que a hidratação é máxima quando a força iônica está em torno de 0,8 a 1,0μ. Isso corresponde a 5% e 8% de cloreto de sódio na carne sem e com água adicionada na carne, respectivamente. Portanto o sal, nas concentrações utilizadas nesse trabalho (0,5%), aumenta a capacidade de retenção de água pelas proteínas miofibrilares.

A capacidade de formar gel é uma importante propriedade funcional do plasma. Os géis são constituídos por uma matriz tridimensional de polipeptídios entrelaçados, na qual a água permanece presa (KINSELLA, 1976). A formação do gel protéico requer um aquecimento inicial a fim de causar a desnaturação parcial ou desenrolamento da cadeia polipeptídica da proteína (DUARTE, 1997). Por isso, os tratamentos contendo plasma bovino não apresentaram uma contribuição tão efetiva para a retenção de salmoura antes da cocção, mesmo com a elevação do pH da salmoura.

Verifica-se, através da **Tabela 5**, que não houve efeito significativo dos tratamentos ($P>0,05$) sobre a perda de peso na cocção (PPC). Porém, nota-se que os tratamentos PL e PLC apresentaram uma porcentagem de perda na cocção ligeiramente superior aos demais, provavelmente devido ao menor teor de proteínas apresentado pelos plasmas líquidos, tanto sem concentração (PL) como concentrado (PLC). Desta forma, os tratamentos com plasmas líquidos parecem ter apresentado uma capacidade de retenção de água ligeiramente inferior quando comparados aos tratamentos com plasmas desidratados (PD e PCD). Por outro lado, é importante destacar que a PPC observada nos cortes injetados com plasma igualou-se à do tratamento C (controle), indicando que sob este aspecto de rendimento o uso de plasma permite a retirada dos polifosfatos da salmoura,

garantindo a retenção de salmoura durante a cocção nos mesmos níveis obtidos com polifosfatos.

Outro aspecto relevante é a PPC do tratamento IN (*in natura*) não ter apresentado diferença significativa ($P>0,05$) entre os tratamentos injetados com salmoura, indicando que a agregação de salmoura à carne não afeta o rendimento na cocção. Quando se calcula o rendimento total do processo, levando-se em conta a perda de peso por gotejamento (PPG), observa-se que o tratamento IN apresenta rendimento líquido de 65,5%, tratamento C 81,4% e os tratamentos com plasma, cerca de 76,8%, ligeiramente inferiores ao C, principalmente devido à maior PPG apresentada pelos tratamentos com plasma.

5.1.2.1. Determinações de pH

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 6**.

TABELA 6: Média dos valores de pH das salmouras e dos cortes cárneos (*Biceps femoris*) antes e após a injeção.

Tratamentos	pH das salmouras*	pH da carne antes da injeção (N=5)	pH da carne pós injeção (N=5)
IN	-	5.77 ^a	5.77 ^{b,c}
C	8,93	5.72 ^a	5.89 ^{a,b}
PL	6,80	5.74 ^a	5.93 ^a
PLC	6,91	5.71 ^a	5.81 ^{b,c}
PD	9,02	5.76 ^a	5.83 ^{a,c}
PCD	7,38	5.76 ^a	5.90 ^a

Letras iguais na coluna indicam que não houve diferença entre as médias pelo teste de Tukey ($P>0,05$)

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

C - Controle – carne injeta com salmoura padrão com polifosfatos e isenta de plasma

PL - carne injeta com salmoura adicionada de plasma líquido e isenta de polifosfatos

PLC - carne injeta com salmoura adicionada de plasma líquido concentrado e isenta de polifosfatos

PD- carne injeta com salmoura adicionada de plasma líquido desidratado e isenta de polifosfatos

PCD - carne injeta com salmoura adicionada de plasma líquido concentrado desidratado e isenta de polifosfatos

* pH das salmouras não foram determinados em triplicata

A salmoura Controle (tripolifosfato de sódio a 0,4% no produto final) e a PD apresentaram os maiores valores de pH, sabe-se que a presença de polifosfatos e plasma elevam o pH das salmouras. (SOFOS, 1986).

Os cortes após injeção apresentaram diferenças significativas ($p<0,05$) entre os tratamentos. É importante destacar que as proteínas da carne apresentam um locca, A.F.S. Efeitos da aplicação de salmoura com plasma bovino em músculo *Biceps femoris* (coxão duro) injetado, cru e cozido na estabilidade física, química, microbiológica e sensorial, 2008.

efeito tamponante, impedindo a elevação do pH aos valores observados na salmoura, o pH da matéria-prima antes da injeção era, em média, de $5,74 \pm 0,02$ e após a injeção atingiu valores médios de $5,85 \pm 0,06$, embora os valores de pH das salmouras estivessem entre 6,8 e 9,02.

De forma geral, o uso de plasma nas salmouras de injeção elevou o pH da carne (0,1 a 0,15 unidades), em níveis similares ao das salmouras tradicionais com polifosfatos (0,17 unidades). Estudo realizado por Lawrence et al., (2004) confirma esta tendência de aumento, ao analisarem 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, Robbins et al., (2003) ao analisarem contrafilé, paleta e coxão mole bovino, concluíram que peças injetadas (10%) com tripolifosfato de sódio e sal (0,4% de ambos no produto final) apresentaram pH mais alto (0,2 unidades $p < 0,05$) que peças não injetadas. Segundo os autores, esse aumento no valor de pH deve-se à adição de fosfatos alcalinos na salmoura de marinação.

Por outro lado, Mota (2005) obteve níveis de pH mais elevados, que os encontrados no presente estudo, para peças de lagarto bovino que continham tripolifosfato de sódio (0,5% na peça injetada) causando um aumento médio no pH de 0,4 unidade ($p < 0,05$).

Os resultados sugerem que o plasma promove elevação de pH da carne a valores similares aos obtidos com polifosfatos alcalinos.

5.1.3 Características físicas, químicas, microbiológicas e sensoriais de cortes de coxão duro (*Biceps femoris*) crus embalados a vácuo mantidos sob refrigeração ($2^{\circ}\text{C} \pm 2$)

5.1.3.1. Perda de peso na exsudação (PPE)

Os resultados referentes aos efeitos dos tratamentos e do tempo na exsudação dos cortes de coxão duro bovino cru embalado a vácuo e mantidos sob

refrigeração ($2^{\circ}\text{C}\pm 2$) são apresentados na **Tabela 7**. Na **Figura 16** é apresentada a interação entre tratamento e a perda de peso na exsudação (PPE).

TABELA 7: Efeito do tratamento e do tempo na perda de peso por exsudação (PPE) em cortes bovinos crus (*Biceps femoris*) embalados a vácuo e mantidos sob refrigeração ($2^{\circ}\text{C}\pm 2$).

Efeitos	PPE (%)
Tratamentos	
IN	2,9 ^{b,c}
C	2,3 ^c
PL	4,5 ^a
PLC	4,4 ^a
PD	4,0 ^a
PCD	3,7 ^{a,b}
Tempo (dias)	
5°	2,2 ^c
10°	4,0 ^b
30°	4,7 ^a

Letras iguais na coluna indicam que não houve diferença entre as médias pelo teste de Tukey ($P>0,05$)

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

C - Controle – carne injetada com salmoura padrão com polifosfatos e sênta de plasma

PL - carne injeta com salmoura adicionada de plasma líquido e isenta de polifosfatos

PLC - carne injeta com salmoura adicionada de plasma líquido concentrado e isenta de polifosfatos

PD- carne injeta com salmoura adicionada de plasma líquido desidratado e isenta de polifosfatos

PCD - carne injeta com salmoura adicionada de plasma líquido concentrado desidratado e isenta de polifosfatos

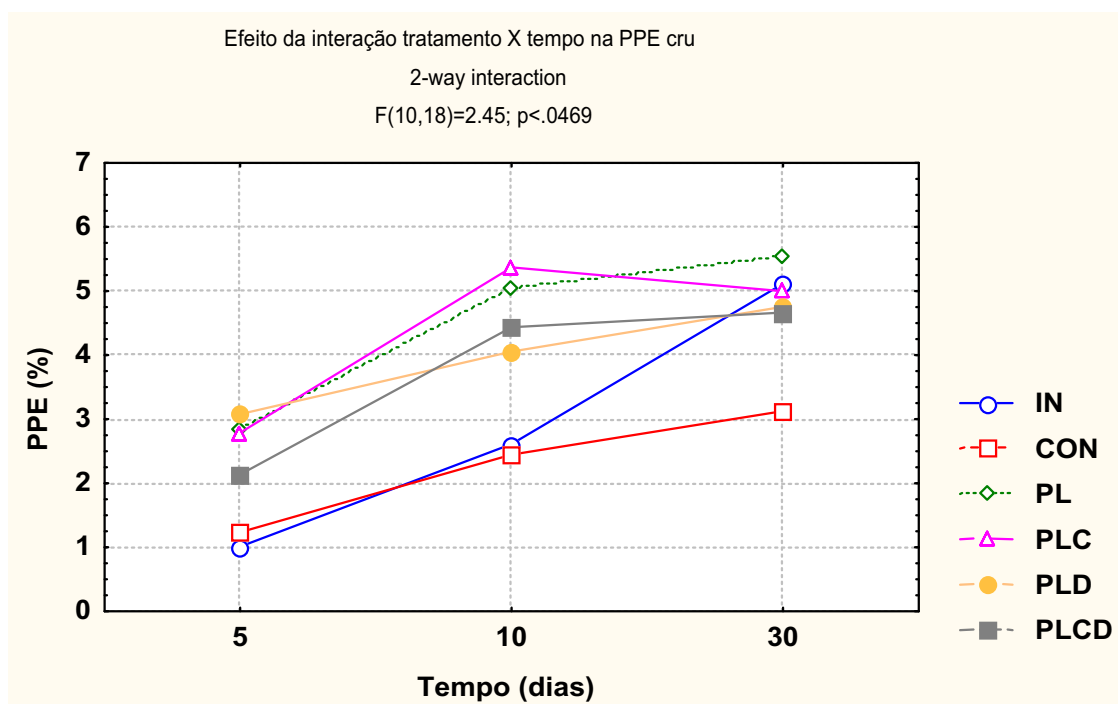


FIGURA 16: Efeito da interação do tratamento e do tempo na perda de peso por exsudação (PPE) dos cortes bovinos (*Biceps femoris*) crus durante o armazenamento sob refrigeração ($2^{\circ}\text{C}\pm 2$).

Analizando a **Tabela 7** e a **Figura 16**, verifica-se que houve efeito significativo dos tratamentos ($p < 0,05$) do tempo ($p < 0,05$) e da interação tratamento e do tempo ($p < 0,05$). Os tratamentos que receberam a injeção de plasma apresentaram uma perda de peso por exsudação (PPE) maior que os tratamentos C (controle) e IN (*in natura*), os quais não diferiram entre si. Em relação ao tempo, observou-se que houve uma porcentagem crescente de perda de peso por exsudação ao longo do tempo.

A interação significativa ($p < 0,05$) tratamento e tempo indicou que o tratamento Controle apresentou PPE crescente e uniforme ao longo do período, enquanto os tratamentos injetados com plasma apresentaram crescimento da PPE até o décimo dia e estabilização após este período. Por outro lado, o tratamento Controle apresentou PPE inferior aos injetados com plasma durante todo o período e igual ao *In natura* até o décimo dia quando estabilizou. Desta forma é possível inferir que a presença de fosfato na salmoura permite redução da PPE a níveis inferiores aos da carne *In natura* e estes níveis de retenção não são atingidos pelos tratamentos com plasma, independentemente de sua forma de apresentação, apesar destes contribuírem para a retenção de salmoura em carnes injetadas.

A PPE dos tratamentos com plasma, durante o armazenamento sob refrigeração dos cortes crus, foi cerca de 50% a 100% superior à observada no tratamento com polifosfato adicionado à salmoura (Controle).

O efeito sinérgico do sal e fosfatos alcalinos na carne proporciona maior rendimento, ampliando a capacidade de retenção de água, promovendo assim a suculência do produto, além de melhorar consideravelmente a textura por aumentar a elasticidade e coesividade do produto (FRONING; SACKETT, 1985; YOUNG et al., 1987).

Resultados semelhantes foram observados por PORTO et al., (2000) em experimento com filé de peito de aves onde a adição de tripolifosfato de sódio na salmoura aumentou a absorção de água, promovendo o *salting in* das proteínas miofibrilares, proporcionando aumento no rendimento e na maciez.

5.1.3.2 Avaliação dos valores de pH

A **Tabela 8** apresenta os resultados referentes aos efeitos tratamento e tempo no valor de pH durante o período de estocagem dos cortes de coxão duro crus embalados a vácuo sob refrigeração. O efeito da interação tratamento e do tempo é representado na **Figura 17**

TABELA 8: Efeito do tratamento e do tempo nos valores de pH em cortes bovinos crus (*Biceps femoris*) embalados a vácuo e mantidos sob refrigeração ($2^{\circ}\text{C}\pm 2$).

Efeitos	
Tratamentos	
IN	5,64 ^{b,c,d}
C	5,74 ^a
PL	5,69 ^{a,c}
PLC	5,63 ^{c,d}
PD	5,67 ^{a,d}
PCD	5,72 ^{a,b}
Tempo (dias)	
5°	5,71 ^a
11°	5,66 ^b

Letras iguais na coluna indicam que não houve diferença entre as médias pelo teste de Tukey ($P>0,05$)

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

C - Controle – carne injetada com salmoura padrão com polifosfatos e senta de plasma

PL - carne injeta com salmoura adicionada de plasma líquido e isenta de polifosfatos

PLC - carne injeta com salmoura adicionada de plasma líquido concentrado e isenta de polifosfatos

PD- carne injeta com salmoura adicionada de plasma líquido desidratado e isenta de polifosfatos

PCD - carne injeta com salmoura adicionada de plasma líquido concentrado desidratado e isenta de polifosfatos

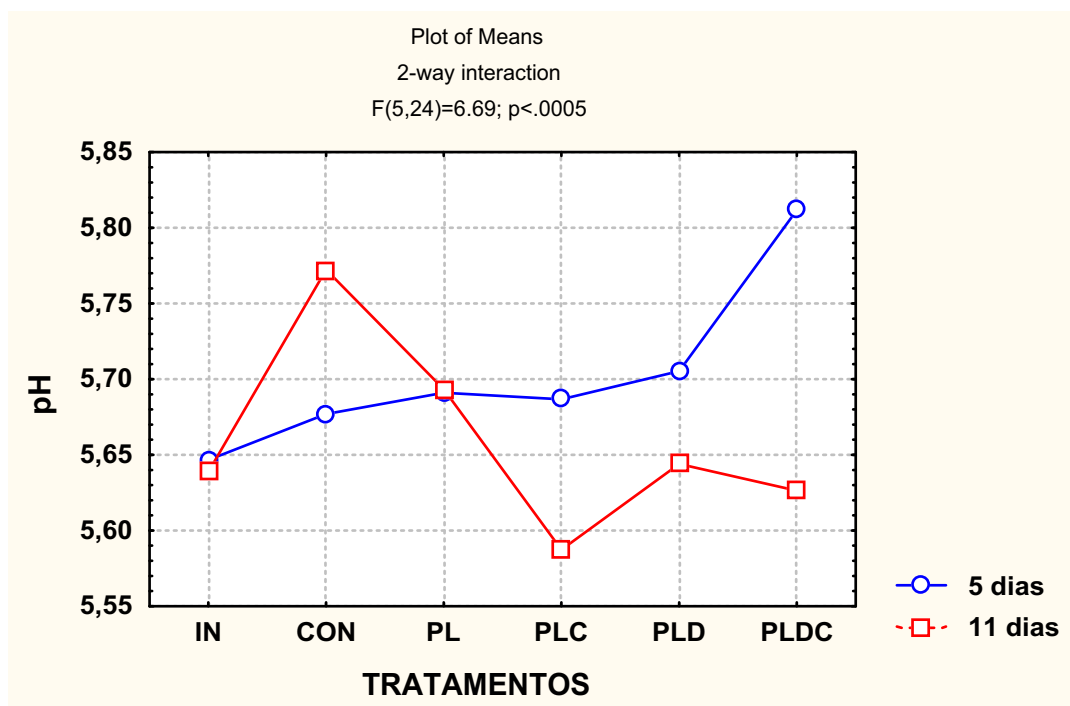


FIGURA 17: Efeito da interação tratamento e tempo nos valores de pH dos cortes bovinos (*Biceps femoris*) crus durante o armazenamento sob refrigeração ($2^{\circ}\text{C}\pm 2$).

Houve efeito significativo dos tratamentos ($p<0,05$), do tempo ($p<0,05$) e da interação tratamento e do tempo ($p<0,01$) nos valores de pH.

O tratamento Controle apresentou o maior valor de pH, porém este não apresentou diferença significativa dos tratamentos PL (plasma liquido), PD (plasma liquido desidratado), PCD (plasma liquido concentrado e desidratado). O tratamento PLC (plasma liquido concentrado) não apresentou diferença significativa ($P>0,05$) dos tratamentos PL e IN (não injetado) no armazenamento.

Em relação ao tempo, apesar do curto período de estocagem foi significativa ($p<0,05$) a redução do valor de pH com o aumento do período de estocagem. Tratando-se de cortes embalados a vácuo, é esperada a redução dos valores de pH ao longo da estocagem refrigerada, pois o meio favorece o crescimento de bactérias ácido lácticas (NORTJÉ, et al., 1985).

Entre os tratamentos contendo plasma e isentos de polifosfatos, somente o PCD acompanhou a tendência do tratamento Controle, diferindo do *In natura*. Os resultados indicaram que o tratamento PCD foi o único que apresentou redução significativa no valor de pH no período. Provavelmente, pelo fato de ter sido o

tratamento que apresentou o maior valor de pH pós injeção, a queda a níveis comparáveis aos dos demais tratamentos tenha evidenciado o efeito da interação.

5.1.3.3 Avaliação da cor objetiva

A **Tabela 9** apresenta os resultados referentes aos parâmetros de cor objetiva avaliada ao longo da estocagem dos cortes crus embalados a vácuo.

TABELA 9: Efeito do tratamento e do tempo nos parâmetros de cor objetiva em cortes bovinos crus (*Biceps femoris*) embalados a vácuo e mantidos sob refrigeração ($2^{\circ}\text{C}\pm 2$).

Efeitos	L*	a*	b*
Tratamentos			
IN	36,9 ^a	19,4 ^a	13,0 ^a
C	28,7 ^c	18,8 ^{a,b}	8,2 ^c
PL	36,3 ^a	18,1 ^{a,b}	11,8 ^{a,b}
PLC	33,2 ^b	19,0 ^{a,b}	11,3 ^{a,b}
PD	30,2 ^{b,c}	17,3 ^b	6,7 ^c
PCD	31,7 ^{b,c}	19,1 ^a	10,6 ^b
Tempo (dias)			
5º	32,1 ^a	17,8 ^b	4,0 ^b
11º	33,5 ^a	19,5 ^a	16,6 ^a

Letras iguais na coluna indicam que não houve diferença entre as médias pelo teste de Tukey ($P>0,05$)

L* luminosidade

a* intensidade de (-) verde/vermelho (+)

b* intensidade de (-) azul/amarelo (+)

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

C - Controle – carne injeta com salmoura padrão com polifosfatos e isenta de plasma

PL - carne injeta com salmoura adicionada de plasma líquido e isenta de polifosfatos

PLC - carne injeta com salmoura adicionada de plasma líquido concentrado e isenta de polifosfatos

PD- carne injeta com salmoura adicionada de plasma líquido desidratado e isenta de polifosfatos

PCD - carne injeta com salmoura adicionada de plasma líquido concentrado desidratado e isenta de polifosfatos

Houve efeito significativo ($p<0,05$) dos tratamentos sobre todos os parâmetros de cor objetiva. Sobre o parâmetro de cor L* o tratamento Controle (tripolifosfato de sódio) seguido do PD e PCD apresentaram comportamentos semelhantes, ficando mais escuras (menor valor de L*) e com coloração vermelho esverdeado (menor valor de b*), sugerindo que durante o processamento do plasma desidratado, o mesmo pode ter sido adicionado de polifosfato. Mota (2005) também obteve cortes de lagarto bovino marinado (20% de injeção) mais vermelhos escuros (menor valor de L* e b*) para cortes com adição de tripolifosfato de sódio e embalados a vácuo. Outro estudo com contrafilé bovino, também mostrou que amostras que sofrem

injeção (10%) de tripolifosfato de sódio (4,4% na salmoura) são mais escuras que amostras que sofrem injeção de salmoura sem estes ingredientes (LAWRENCE et al., 2004).

Robins et al., (2003) em estudos com contrafilé, paleta e coxão mole bovino, relataram que em peças injetadas (10%) com tripolifosfato de sódio e sal (ambos à 0,4% no produto final) há uma diminuição do parâmetro de cor L^* , ficando estas mais escuras.

O efeito do tempo foi significativo ($p < 0,05$) sobre os valores a^* e b^* , enquanto a interação tratamento e tempo apresentou-se significativa ($p < 0,01$) apenas sobre o valor b^* , conforme apresentado na **Figura 18**.

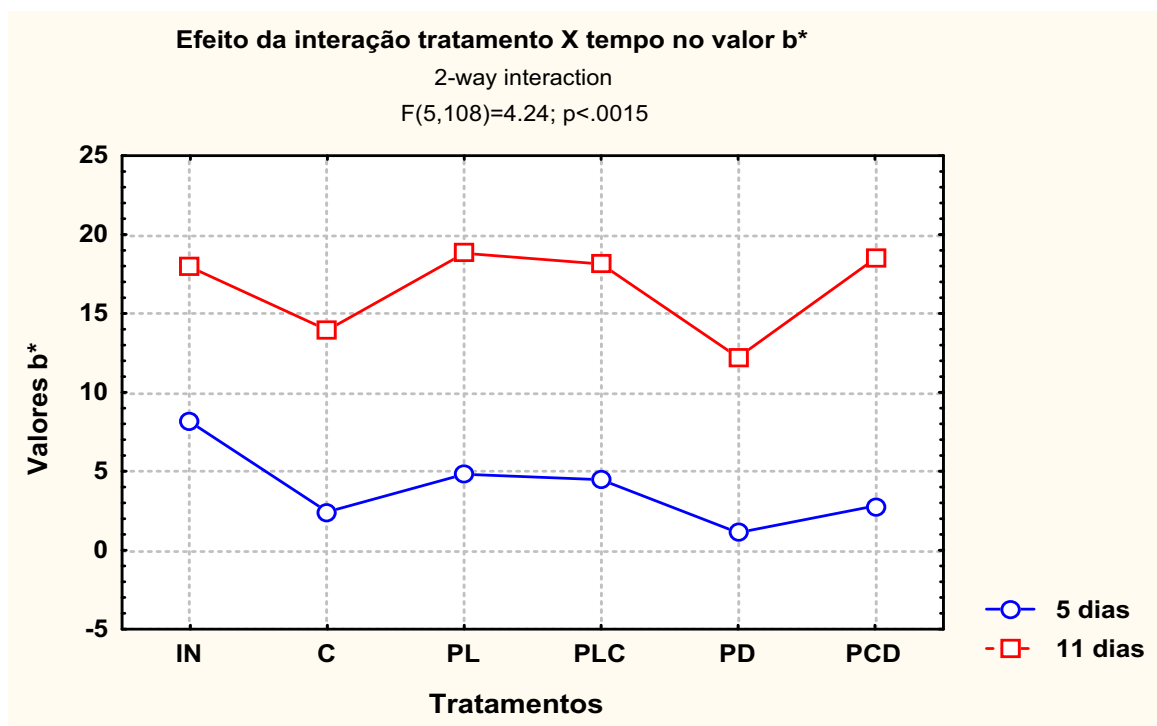


FIGURA 18: Efeito da interação tratamento e tempo nos valores b^* de cor objetiva nos cortes bovinos (*Biceps femoris*) crus durante o armazenamento sob refrigeração ($2^\circ\text{C} \pm$).

O tempo provocou aumento dos valores a^* e b^* , o que indica que a carne ficou vermelha mais escura ao longo da estocagem para todos os tratamentos. O valor b^* foi o que apresentou maior alteração durante o período. Os resultados encontrados neste estudo estão em consonância com outros autores que avaliaram a cor de produtos marinados com tripolifosfato, entretanto não há pesquisas com

produtos injetados com plasma bovino, não havendo termos de comparação para os tratamentos com plasma.

Surpilli et al., (2004b) não verificaram diferença significativa do valor de a^* em seu estudo com cortes de coxão mole bovino marinados, mas para o parâmetro de b^* obtiveram diferença nos cortes injetados com tripolifosfato e o controle (não injetado), onde os cortes injetados se tornaram mais escuros durante a estocagem (vermelho esverdeado).

Lawrie (2005) explica que se o pH da carne for alto (o que acontece no processo de injeção) as proteínas musculares se encontrarão acima de seu ponto isoelétrico, a maior parte da água do músculo estará associada a elas e os filamentos estarão fortemente ligados entre si, apresentando-se como uma barreira à difusão do oxigênio. Como resultado desses dois fatores, a camada de oximioglobina se torna vermelho-brilhante. Haverá predomínio da cor vermelho-púrpura da mioglobina em magnitude tal que a carne aparecerá escura. Esta carne irá parecer escura porque sua superfície não refletirá a luz na mesma extensão como refletiria a carne com pH mais baixo.

Dessa forma é possível entender o motivo dos cortes de coxão duro bovino marinados, nesse experimento, com salmoura contendo tripolifosfato de sódio terem se apresentado mais escuros. Como anteriormente discutido, o tripolifosfato causou um aumento no pH de amostras que sofreram a injeção deste ingrediente. Com o pH mais alto há o escurecimento dos cortes marinados, e a atividade do sistema enzimático responsável pela utilização de oxigênio a nível muscular é maior (MOTA, 2005). A menor disponibilidade de oxigênio desfavorece a formação de oximioglobina.

Com uma maior retenção de água, observada no tratamento adicionado de sal e tripolifosfato (Controle), haverá maior barreira para a difusão do oxigênio, e a carne aparece mais escura. O sal e o tripolifosfato de sódio atuam melhorando a capacidade de retenção de água, o que altera as propriedades de reflexão de luz da carne, deixando-a mais escura.

Para o parâmetro b^* apenas o tratamento PD teve comportamento semelhante ao tratamento Controle.

5.1.3.4 Avaliação da perda de peso na cocção de bifes de cortes crus

A **Tabela 10** apresenta os resultados referentes à perda de peso na cocção de bifes provenientes de cortes crus.

TABELA 10: Médias das porcentagens referentes às perdas de peso na cocção (PPC) em tacho de bifes provenientes de cortes crus mantidos sob refrigeração ($2^{\circ}\text{C}\pm 2$).

Tratamentos	PPC _{CR}
IN	42.0 ^d
C	45.9 ^a
PL	44.6 ^{a,b}
PLC	43.3 ^{b,c,d}
PD	45.2 ^a
PCD	44.3 ^{a,c}

Letras iguais na coluna indicam que não há diferença significativa entre os tratamentos ($P>0,05$)

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

C - Controle – carne injeta com salmoura padrão com polifosfatos e isenta de plasma

PL - carne injeta com salmoura adicionada de plasma líquido e isenta de polifosfatos

PLC - carne injeta com salmoura adicionada de plasma líquido concentrado e isenta de polifosfatos

PD- carne injeta com salmoura adicionada de plasma líquido desidratado e isenta de polifosfatos

PCD - carne injeta com salmoura adicionada de plasma líquido concentrado desidratado e isenta de polifosfatos

Houve diferença significativa ($p<0,05$) entre os tratamentos para a perda de peso na cocção, onde os tratamentos Controle e PD apresentaram os maiores valores, seguidos dos tratamentos PL, PCD e PLC. O tratamento correspondente à carne *In natura* foi o que apresentou a menor perda de peso na cocção, porém esta não diferiu ($P>0,05$) da apresentada pelo tratamento PLC. Observa-se, portanto, que de forma global, sob o aspecto prático, a injeção apresenta efeitos mínimos sobre a perda de peso na cocção.

Desta forma, ao considerar-se os processos de forma conjunta, os rendimentos líquidos após cocção dos cortes injetados superaram aqueles obtidos para a carne *In natura*, mesmo quando as salmouras estavam isentas de polifosfatos. Isto sugere que as diferentes apresentações do plasma contribuem para a retenção de salmoura durante a cocção das carnes, podendo substituir o tripolifosfato na salmoura.

5.1.3.5 Avaliação da força de cisalhamento (FC)

A **Tabela 11** apresenta os resultados referentes às forças de cisalhamento provenientes dos bifes crus cozidos no tacho.

TABELA 11: Médias referentes à força de cisalhamento medida pelo acessório Warner Bratzler em bifes de carnes crua submetidos à cocção em tacho embalados em filme flexível (embalagem *cook in*).

Tratamentos	FC _{CR}
IN	5.5 ^{a,c}
C	4.7 ^{b,d,e}
PL	5.2 ^{c,e}
PLC	6.1 ^a
PD	5.3 ^{c,d}
PCD	5.2 ^{c,e}

*Letras iguais na coluna indicam que não há diferença significativa entre os tratamentos ($P > 0,05$)

FC = Força de cisalhamento dos bifes crus submetidos à cocção em embalagem *cook in* em tacho aberto

IN - ^{CR}*In natura* – carne não submetida à injeção;

C - Controle – carne injeta com salmoura padrão com polifosfatos e isenta de plasma

PL - carne injeta com salmoura adicionada de plasma líquido e isenta de polifosfatos

PLC - carne injeta com salmoura adicionada de plasma líquido concentrado e isenta de polifosfatos

PD- carne injeta com salmoura adicionada de plasma líquido desidratado e isenta de polifosfatos

PCD - carne injeta com salmoura adicionada de plasma líquido concentrado desidratado e isenta de polifosfatos

Houve diferença significativa ($p < 0,05$) entre os tratamentos para força de cisalhamento em cortes crus após cozimento. O tratamento Controle apresentou a menor força de cisalhamento, porém esta não diferiu da observada na maioria dos tratamentos injetados, exceto o PLC, que apresentou força de cisalhamento mais elevada.

Observa-se que as diferenças entre os valores de força de cisalhamento determinados nos tratamentos injetados não apresentariam variações relevantes sob o aspecto prático. É importante destacar que o corte utilizado, rico em tecido conjuntivo (LAWRIE, 2005), não se adequaria à cocção em chapa elétrica, portanto o processo utilizado, em tacho com água fervente, promove gelatinização do tecido conjuntivo e amaciamento da carne, o que dificulta a diferenciação entre os tratamentos sob o aspecto de maciez.

Nas condições do presente estudo em cortes crus submetidos à cocção na forma de bife, não se observou redução da força de cisalhamento com a injeção comparando-se à carne *In natura*. Desta forma, a técnica de agregação da salmoura

não contribuiria com seu principal objetivo que é a melhoria da maciez (MICHELLINI et al., 2007).

5.1.3.6 Avaliações microbiológicas dos cortes crus durante a estocagem refrigerada

A **Tabela 12** apresenta os resultados referentes às contagens de microrganismos aeróbios psicrotróficos e coliformes termotolerantes dos cortes de coxão duro cru embalado a vácuo e mantidos sob refrigeração a 2°C.

TABELA 12: Contagem total de microrganismos aeróbios psicrotróficos e coliformes termotolerantes ao longo da estocagem sob refrigeração (2°C±2) de cortes de coxão duro cru embalado a vácuo.

Tratamentos	Psicrotróficos (Log UFC/g)			Coliformes termotolerantes (Log NMP/g)		
	5° dia	12° dia	100° dia	5° dia	12° dia	100° dia
IN	4.11	5.87	7.62	9.0	7.0	<3.0
C	4.72	5.42	7.60	4.0	4.0	<3.0
PL	5.10	5.34	7.50	<3.0	4.0	<3.0
PLC	5.08	6.08	7.43	4.0	<3.0	<3.0
PD	3.94	4.60	8.36	4.0	4.0	<3.0
PCD	3.76	4.58	8.38	4.0	<3.0	<3.0

UFC: Unidade formadora de colônia

NMP: Número mais provável

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

C - Controle – carne injeta com salmoura padrão com polifosfatos e isenta de plasma

PL - carne injeta com salmoura adicionada de plasma líquido e isenta de polifosfatos

PLC - carne injeta com salmoura adicionada de plasma líquido concentrado e isenta de polifosfatos

PD- carne injeta com salmoura adicionada de plasma líquido desidratado e isenta de polifosfatos

PCD - carne injeta com salmoura adicionada de plasma líquido concentrado desidratado e isenta de polifosfatos

Aos cinco dias de armazenamento sob refrigeração, os tratamentos *In natura*, Controle, PD e PCD apresentaram contagens totais de microrganismos psicrotróficos inferiores as dos tratamentos com plasma líquido (PL e PLC). É importante destacar que as salmouras utilizadas nos diferentes tratamentos continham lactato de sódio, cujo efeito bacteriostático foi observado em vários estudos (WIT, et al., 1990; EVANS et al., 1991; SHELEF, 1994; LUCK; JAGER, 1997; BREWER et al., 2001).

De acordo com Shelef (1994), o lactato de sódio tem sido adicionado aos produtos cárneos para aumentar sua vida de prateleira, pois retarda o crescimento

microbiano, além de realçar o sabor, melhorar a capacidade de retenção de água, assim como a cor e a textura destes produtos.

No presente estudo, a injeção de salmoura contendo plasmas desidratados (PD e PCD) não promoveu perda de qualidade microbiológica da carne crua. Por outro lado, no 12º dia de armazenamento não são observadas diferenças relevantes entre os tratamentos, embora os adicionados de plasmas desidratados (PD e PCD) tenham apresentado contagens totais inferiores (de 1 a 2 ciclos Log UFC/g) que os demais tratamentos.

5.1.3.7 Análise sensorial do coxão duro cru

Os resultados referentes aos testes de ordenação para avaliação sensorial dos cortes de coxão duro crus ao 5º dia pós injeção (4 dias embaladas a vácuo) são apresentados na **Tabela 13**. A equipe de provadores não treinados era composta por 20 indivíduos, sendo a maioria (90%) na faixa etária de 21 a 30 anos, onde 70% declaram comprar carne bovina semanalmente e 15% quinzenalmente.

TABELA 13: Resultados do teste de ordenação para o atributo odor e aparência característico de carne bovina crua estocada após 4 dias sob refrigeração (2°C±2).

Tratamento	Somatória* (Tabela de Friedman)	Somatória** (Tabela de Friedman)
IN	81 ^a	78 ^a
C	64 ^a	70 ^a
PL	74 ^a	72 ^a
PLC	71 ^a	61 ^a
PD	60 ^a	75 ^a
PCD	70 ^a	64 ^a

*Escala de odor variando de 1 (menos característico) a 6 (mais característico)

**Escala de aparência variando de 1 (menos preferida) à 6 (mais preferida)

Letras iguais na coluna indicam que não houve diferença significativa entre as médias ($P>0,05$) pelo teste de Fisher

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

C - Controle – carne injeta com salmoura padrão com polifosfatos e isenta de plasma

PL - carne injeta com salmoura adicionada de plasma líquido e isenta de polifosfatos

PLC - carne injeta com salmoura adicionada de plasma líquido concentrado e isenta de polifosfatos

PD- carne injeta com salmoura adicionada de plasma líquido desidratado e isenta de polifosfatos

PCD - carne injeta com salmoura adicionada de plasma líquido concentrado desidratado e isenta de polifosfatos

Não houve diferença significativa ($P>0,05$) entre os tratamentos para o atributo odor. Porém, o tratamento *In natura* recebeu maior número de notas altas

em relação aos demais tratamentos, o que seria normal por ser uma carne que não foi submetida à injeção.

Para o atributo aparência, também não se verificou diferença significativa ($P>0,05$) entre os tratamentos, sendo a pontuação muito próxima entre eles, indicando que a injeção não afeta a aparência dos cortes. Isso foi visto por Mota (2005) ao analisar a aceitação sensorial da aparência de cortes de lagarto bovino, obteve médias melhores para os tratamentos não marinados. Entretanto, dentro das amostras marinadas, o tratamento que recebeu os melhores escores médios foi o que continha sal e tripolifosfato de sódio, diferentemente do demonstrado neste estudo, em que o maior escore médio de aparência foi observado pelo PD.

5.1.4 Características físicas, químicas, microbiológicas e sensoriais de cortes de coxão duro (*Biceps femoris*) cozidos embalados a vácuo mantidos sob refrigeração a $2^{\circ}\text{C}\pm 2$.

5.1.4.1 Perda de peso na exsudação (PPE)

Os resultados referentes aos efeitos dos tratamentos e do tempo na exsudação dos cortes de coxão duro bovino cozido embalado a vácuo e mantidos sob refrigeração ($2^{\circ}\text{C}\pm 2$) são apresentados na **Tabela 14** e **Figura 19**.

TABELA 14: Efeito do tratamento e do tempo na perda de peso por exsudação (PPE) em cortes bovinos cozidos (*Biceps femoris*) embalados a vácuo e mantidos sob refrigeração ($2^{\circ}\text{C}\pm 2$).

Efeitos		PPE (%)
Tratamento		
IN		1,9 ^b
C		3,1 ^a
PL		2,1 ^{a,b}
PLC		2,3 ^{a,b}
PD		2,5 ^{a,b}
PCD		2,9 ^a
Tempo (dias)		
6°		2,1 ^b
30°		2,9 ^a

Letras iguais na coluna para um mesmo efeito indicam que não houve diferença entre as médias pelo teste de Tukey ($P>0,05$)

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

C - Controle – carne injeta com salmoura padrão com polifosfatos e isenta de plasma

PL - carne injeta com salmoura adicionada de plasma líquido e isenta de polifosfatos

PLC - carne injeta com salmoura adicionada de plasma líquido concentrado e isenta de polifosfatos

PD- carne injeta com salmoura adicionada de plasma líquido desidratado e isenta de polifosfatos

PCD - carne injeta com salmoura adicionada de plasma líquido concentrado desidratado e isenta de polifosfatos

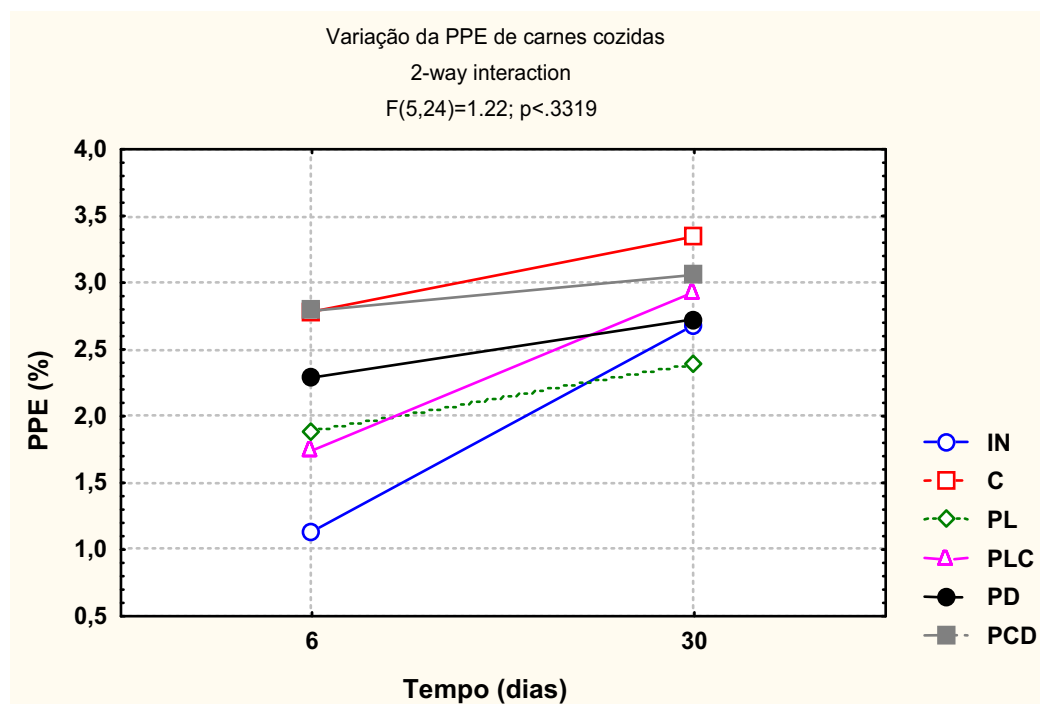


FIGURA 19: Evolução da perda de peso por exsudação (PPE) de cortes bovinos (*Biceps femoris*) cozidos durante o armazenamento sob refrigeração ($2^{\circ}\text{C}\pm 2$).

Houve efeito significativo do tratamento ($p<0,05$) e do tempo ($p<0,05$) nos valores de PPE de cortes bovinos cozidos, porém a interação não foi significativa ($P>0,05$).

A menor PPE foi observada para o tratamento *In natura*, porém esta não apresentou diferença significativa ($P<0,05$) da observada nos tratamentos PL, PLC e PD. Por outro lado, os tratamentos injetados não diferiram entre si ($P>0,05$).

De forma geral, pode-se sugerir que a substituição de tripolifosfato por plasma, não afeta a PPE de cortes de coxão duro cozido mantidos sob refrigeração.

5.1.4.2 Determinação do pH

A **Tabela 15** apresenta os resultados referentes aos efeitos tratamento e tempo no valor de pH durante o período de estocagem dos cortes de coxão duro cozidos embalados a vácuo sob refrigeração e na **Figura 20** a interação dos tratamentos e do tempo.

TABELA 15: Efeitos do tratamento e do tempo nos valores de pH em cortes bovinos cozidos (*Biceps femoris*) embalados a vácuo e mantidos sob refrigeração ($2^{\circ}\text{C}\pm 2$).

Efeitos		pH
Tratamento		
	IN	6,06 ^b
	C	6,14 ^a
	PL	6,17 ^a
	PLC	6,05 ^b
	PD	6,06 ^b
	PCD	6,05 ^b
Tempo (dias)		
	3°	6,07 ^b
	10°	6,18 ^a
	30°	6,00 ^c

Letras iguais na coluna para um mesmo efeito indicam que não houve diferença entre as médias pelo teste de Tukey ($P>0,05$)

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

C - Controle – carne injeta com salmoura padrão com polifosfatos e isenta de plasma

PL - carne injeta com salmoura adicionada de plasma líquido e isenta de polifosfatos

PLC - carne injeta com salmoura adicionada de plasma líquido concentrado e isenta de polifosfatos

PD- carne injeta com salmoura adicionada de plasma líquido desidratado e isenta de polifosfatos

PCD - carne injeta com salmoura adicionada de plasma líquido concentrado desidratado e isenta de polifosfatos

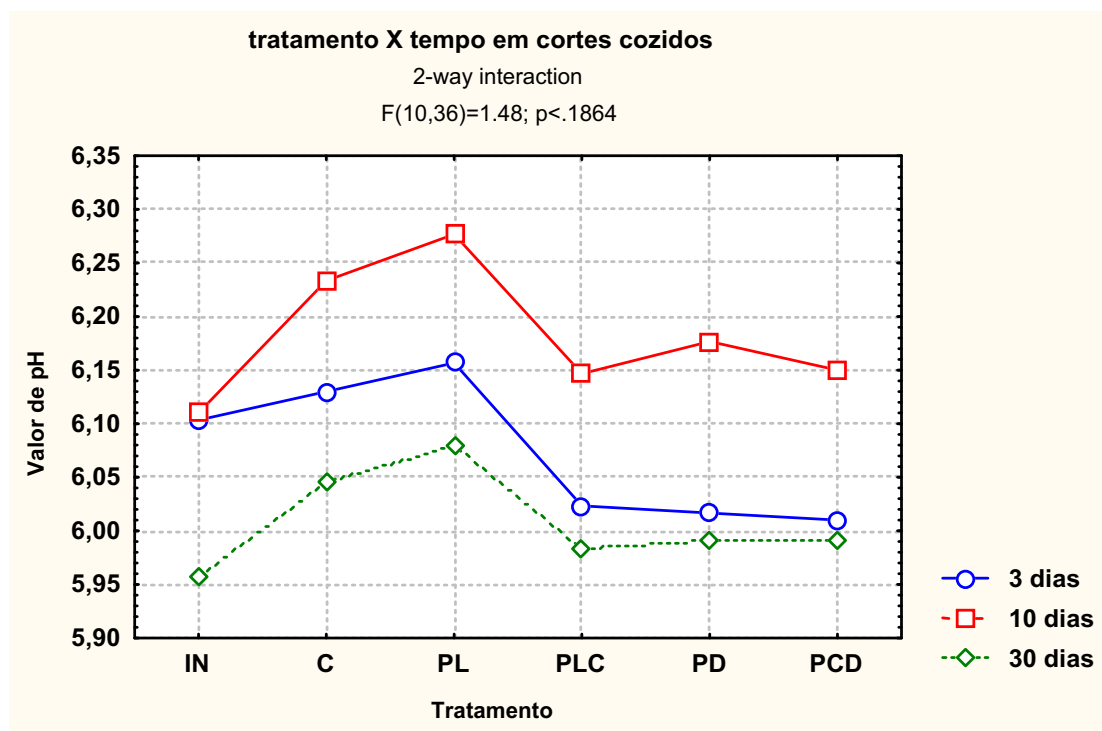


FIGURA 20: Perfil dos valores de pH dos cortes bovinos (*Biceps femoris*) cozidos durante o armazenamento sob refrigeração ($2^{\circ}\text{C}\pm 2$).

Houve efeito significativo do tratamento ($p<0,05$) e do tempo ($p<0,05$), porém a interação não foi significativa ($P>0,05$). Os tratamentos Controle e PL apresentaram maiores valores de pH, os quais não diferiram entre si, porém foram significativamente diferentes dos demais tratamentos.

Em relação ao efeito do tempo, houve aumento significativo ($p<0,05$) do valor de pH no intervalo do 3º ao 10º dias de estocagem, quando observou-se queda até 30º dia. Provavelmente, o crescimento de bactérias ácido lácticas durante a estocagem a vácuo tenha promovido a redução do valor de pH após o décimo dia de armazenamento.

5.1.4.3 Avaliação da cor objetiva

A **Tabela 16** apresenta os resultados referentes aos parâmetros de cor objetiva avaliados ao longo da estocagem dos cortes cozidos embalados a vácuo. Na **Figura 21** é apresentado o efeito da interação tratamento e do tempo para o valor a^* .

TABELA 16: Efeito do tratamento e do tempo nos parâmetros de cor objetiva em cortes bovinos cozidos (*Biceps femoris*) embalados a vácuo e mantidos sob refrigeração ($2^{\circ}\text{C}\pm 2$).

Efeitos	L*	a*	b*
Tratamentos			
IN	49,5 ^{c,d}	7,7 ^d	9,7 ^{a,b}
C	49,8 ^{b,c}	7,9 ^{c,d}	9,0 ^b
PL	47,9 ^d	8,8 ^{a,b}	9,2 ^b
PLC	51,6 ^{a,b}	8,1 ^{b,c}	10,9 ^a
PD	51,9 ^a	8,5 ^b	11,2 ^a
PCD	49,3 ^{c,d}	9,3 ^a	10,2 ^{a,b}
Tempo (dias)			
5°	49,8 ^a	7,4 ^b	9,5 ^b
18°	50,2 ^a	9,4 ^a	10,5 ^a

Letras iguais na coluna para um mesmo efeito indicam que não houve diferença entre as médias pelo teste de Tukey ($P>0,05$)

L* luminosidade

a* intensidade de (-) verde/vermelho (+)

b* intensidade do (-) azul/amarelo (+)

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

C - Controle – carne injeta com salmoura padrão com polifosfatos e isenta de plasma

PL - carne injeta com salmoura adicionada de plasma líquido e isenta de polifosfatos

PLC - carne injeta com salmoura adicionada de plasma líquido concentrado e isenta de polifosfatos

PD - carne injeta com salmoura adicionada de plasma líquido desidratado e isenta de polifosfatos

PCD - carne injeta com salmoura adicionada de plasma líquido concentrado desidratado e isenta de polifosfatos

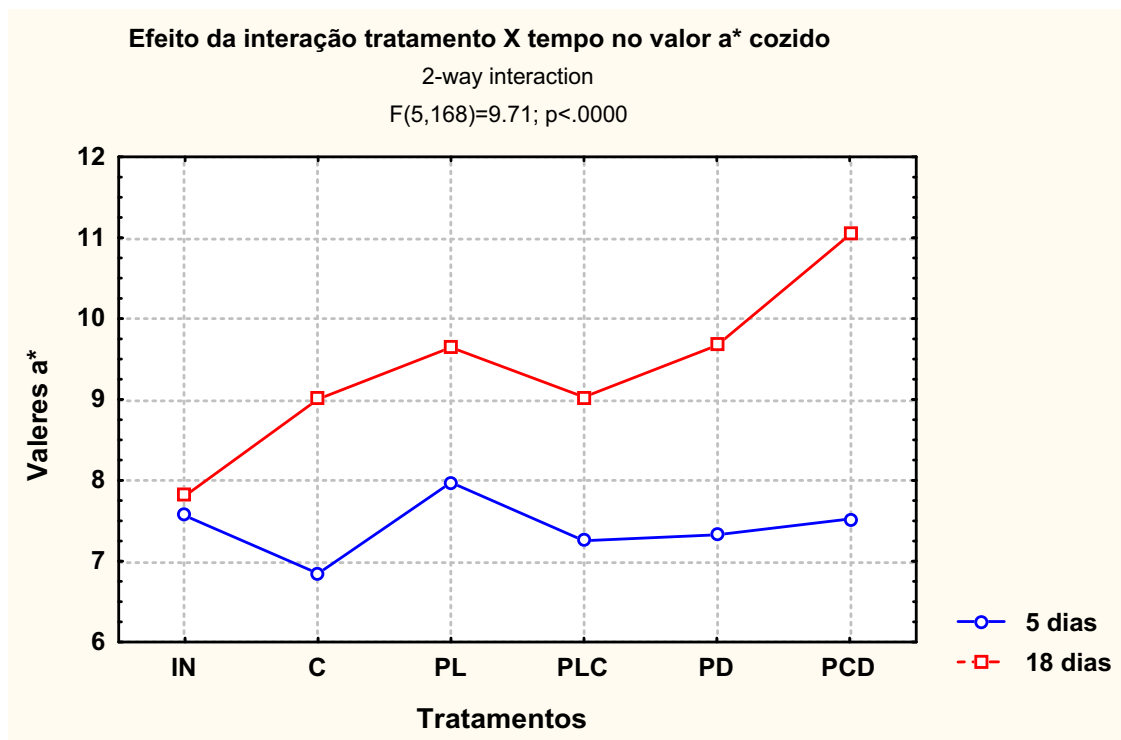


Figura 21: Efeito da interação tratamento e do tempo nos valores a* de cor objetiva nos cortes bovinos (*Biceps femoris*) cozidos durante o armazenamento sob refrigeração ($2^{\circ}\text{C}\pm 2$).

Os efeitos do tratamento e do tempo foram significativos ($p < 0,05$) para todos os parâmetros de cor avaliados na carne cozida, ao contrário do observado na carne crua, provavelmente devido à modificação de coloração inerente ao cozimento, onde ação do calor promove a desnaturação do pigmento mioglobina, promovendo na carne uma coloração vermelho-amarronzada (LAWRIE, 2005).

A interação significativa ($p < 0,05$) entre os tratamentos e o tempo revelou que os tratamentos injetados, independentemente da composição da salmoura, apresentaram alterações de coloração significativas ao longo do tempo, ao contrário do observado no tratamento *In natura*. Desta forma, a injeção com salmouras contendo sais altera a coloração das carnes, comprometendo a aparência. Este resultado também foi obtido por estudo realizado por Surpilli et al., (2004b) onde verificaram que as alterações de cor nos tratamentos injetados sal e tripolifosfato tiveram o mesmo padrão de escurecimento, independente do uso do lactato de sódio.

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, observou-se que os cortes injetados (“enhanced”) forneceram bifes mais macios, suculentos e salgados que os controles; por outro lado, a injeção apresentou efeito negativo sobre a cor após dois dias de exposição sob refrigeração a 4°C, pois houve escurecimento e descoloração (ROBBINS et al., 2002).

5.1.4.4 Perdas de peso no reaquecimento (PPR) e força de cisalhamento (FC)

Os resultados referentes às perdas de peso no reaquecimento de bifes obtidos a partir dos cortes íntegros cozidos, assim como a força de cisalhamento dos bifes obtidos dos cortes cozidos com e sem reaquecimento são apresentados na **Tabela 17**. Na **Figura 22** é apresentado o efeito da interação entre os tratamentos e os tempos na perda de peso no reaquecimento (PPR).

TABELA 17: Médias das porcentagens referentes às perdas de peso no reaquecimento (PPR) e as forças de cisalhamento, medida pelo acessório Warner Bratzler, em cortes cozidos e reaquecidos (FC_{CZR}) e cozidos sem reaquecimento (FC_{CZ}).

Tratamentos	PPR (%)	FC_{CZ}	FC_{CZR}
IN	10,6 ^a	5,2 ^a	5,3 ^a
C	9,3 ^a	3,7 ^c	3,7 ^c
PL	7,2 ^b	5,2 ^a	3,9 ^{b,c}
PLC	7,5 ^b	4,7 ^{a,b}	4,5 ^b
PD	7,1 ^b	4,3 ^{b,c}	3,8 ^c
PCD	7,0 ^b	4,6 ^{a,b}	4,1 ^{b,c}

Letras iguais na coluna para um mesmo efeito indicam que não houve diferença entre as médias pelo teste de Tukey ($P > 0,05$)

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

C - Controle – carne injeta com salmoura padrão com polifosfatos e isenta de plasma

PL - carne injeta com salmoura adicionada de plasma líquido e isenta de polifosfatos

PLC - carne injeta com salmoura adicionada de plasma líquido concentrado e isenta de polifosfatos

PD - carne injeta com salmoura adicionada de plasma líquido desidratado e isenta de polifosfatos

PCD - carne injeta com salmoura adicionada de plasma líquido concentrado desidratado e isenta de polifosfatos

Observa-se pelos resultados apresentados na **Tabela 17** que houve efeito significativo ($p < 0,05$) dos tratamentos na PPR. Os tratamentos com plasma bovino PL, PLC, PD e PCD apresentaram uma perda de peso por reaquecimento (PPR) inferior à dos tratamentos IN (não injetado) e C (controle injetado com polifosfatos), provavelmente pelo fato do plasma contribuir para retenção de água no corte injetado, não só pela contribuição como proteína, mas também por elevar o pH da carne. No caso do tripolifosfato de sódio, sua contribuição, se deve exclusivamente, ao aumento de pH das proteínas miofibrilares. Desta forma, o desempenho dos tratamentos com plasma (PL, PLC, PD e PCD) foi superior ao Controle, que só continha tripolifosfato.

Em relação à força de cisalhamento houve diferença significativa ($p < 0,05$) antes e após o reaquecimento. Nota-se que todos os tratamentos com plasma bovino quando avaliados antes do reaquecimento, apresentavam valores superiores ao tratamento IN (*in natura*). Entretanto, quando se avaliou a força de cisalhamento após o reaquecimento, os tratamentos injetados com plasma apresentaram força de cisalhamento significativamente inferior ($p < 0,05$) ao *In natura* e semelhantes ao Controle.

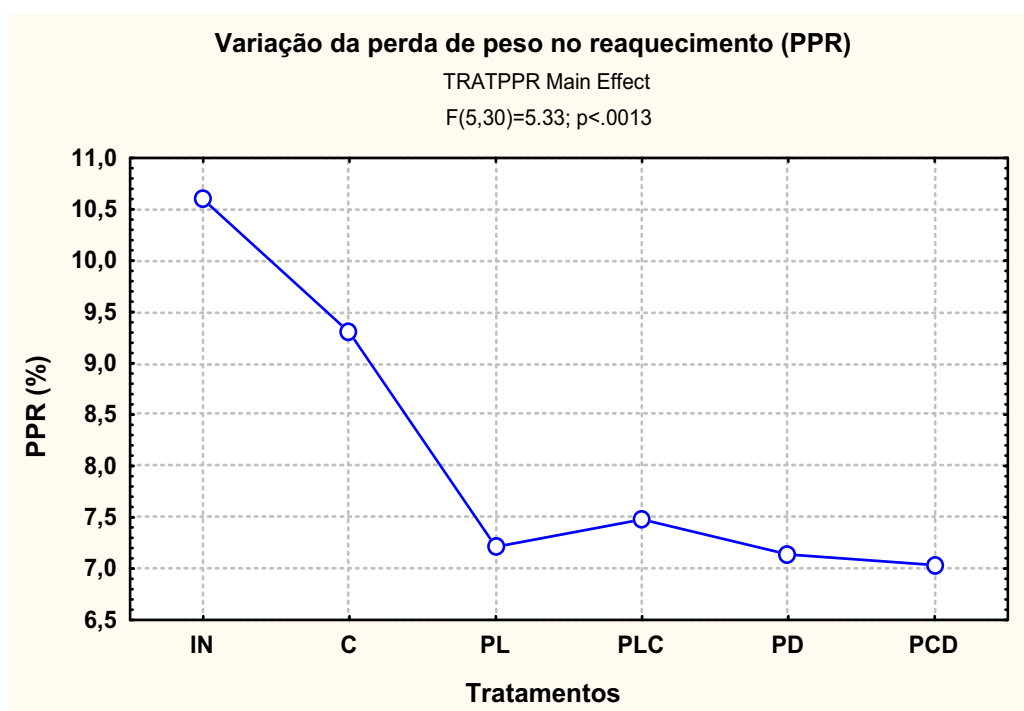


FIGURA 22. Efeito da interação do tratamento e da perda de peso no reaquecimento nos cortes bovinos (*Biceps femoris*) cozidos.

É interessante destacar que o plasma requer temperaturas em torno de 80°C a 85°C para gelatinização e estes valores não foram atingidos no processo de cocção dos cortes. Isto talvez tenha reduzido a funcionalidade do plasma nos cortes cozidos. Porém, ao se atingir temperaturas mais elevadas durante o reaquecimento dos bifes foi reduzida a PPR destes tratamentos, atingindo valores inferiores aos dos tratamentos Controle e *In natura*, o que provavelmente tenha contribuído para a redução da FC pós-reaquecimento, observada nos tratamentos com plasma.

5.1.4.5 Avaliações microbiológicas dos cortes cozidos durante a estocagem refrigerada

A **Tabela 18** apresenta os resultados referentes às contagens de psicotróficos e coliformes termotolerantes em cortes de coxão duro cozido porcionados, embalados a vácuo e mantidos sob refrigeração.

Tabela 18: Contagem total de psicrotróficos e coliformes termotolerantes ao longo da estocagem sob refrigeração ($2^{\circ}\text{C}\pm 2$) de cortes de coxão duro cozido porcionados e embalados a vácuo.

Tratamentos	Psicrotróficos (Log UFC/g)				Coliformes termotolerantes (Log NMP/g)			
	3º dia	10º dia	35º dia	100º dia	3º dia	10º dia	35º dia	100º dia
IN	1.70	2.28	5.59	7.53	<3.0	<3.0	<3.0	<3.0
C	2.43	2.18	4.72	7.83	<3.0	<3.0	<3.0	<3.0
PL	2.69	2.62	5.91	7.69	<3.0	<3.0	<3.0	<3.0
PLC	2.89	2.26	4.90	7.91	<3.0	<3.0	<3.0	<3.0
PD	2.78	2.23	6.36	8.47	<3.0	<3.0	<3.0	<3.0
PCD	2.42	2.23	6.51	8.41	<3.0	<3.0	<3.0	<3.0

UFC: Unidade formadora de colônia

NMP: Número mais provável

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

C - Controle – carne injeta com salmoura padrão com polifosfatos e isenta de plasma

PL - carne injeta com salmoura adicionada de plasma líquido e isenta de polifosfatos

PLC - carne injeta com salmoura adicionada de plasma líquido concentrado e isenta de polifosfatos

PD- carne injeta com salmoura adicionada de plasma líquido desidratado e isenta de polifosfatos

PCD - carne injeta com salmoura adicionada de plasma líquido concentrado desidratado e isenta de polifosfatos

Os resultados referentes à contagem total de microrganismos psicrotróficos indicaram que não houve alterações relevantes até o décimo dia, apenas o tratamento IN (*in natura*) apresentou aumento de aproximadamente 0,5 ciclos Log UFC/ml no período. A injeção de salmoura, independentemente de sua composição, promoveu aumento na contagem de microrganismos psicrotróficos quando se compara estes tratamentos com o IN no terceiro dia. A presença de lactato de sódio nas salmouras auxiliou no retardamento do crescimento microbiano nos tratamentos injetados. Shelef (1994) afirma que a efetividade do lactato de sódio contra o crescimento microbiano é resultado da redução de atividade de água. Para Lück e Jager (1997), o lactato de sódio tem efeito preservativo em concentrações acima de 0,5%, e tem ação principalmente sobre as bactérias anaeróbias, além de reduzir o pH dos alimentos.

No 35º dia de estocagem as contagens alcançaram valores que sugeriram ser este o período final da vida útil. No 100º dia de estocagem as análises foram conduzidas apenas para verificar esta tendência, uma vez que sob o aspecto sensorial os cortes apresentavam-se alterados.

As análises de coliformes termotolerantes indicaram que os cortes cozidos apresentavam-se próprios sob o aspecto higiênico. Desta forma, sugere-se que o tratamento térmico, aliado à presença de lactato de sódio nas salmouras, permitiu a

obtenção de cortes cozidos, injetados com plasma bovino, de qualidade microbiológica aceitável até do 35º dia de estocagem sob refrigeração a 2°C±2.

5.1.4.6 Análise sensorial do coxão duro cozido

Os resultados referentes aos testes de ordenação para avaliação sensorial dos cortes de coxão duro cozidos, realizados no 16º dia de armazenamento à 2°C±2, são apresentados na **Tabela 19**. A equipe de provadores não treinados era composta por 30 indivíduos, sendo a maioria (66,7%) na faixa etária de 21 a 30 anos e consumidores freqüentes de carne bovina, onde 53,3% declaram consumir mais de 3 vezes por semana e 43,3% consomem de 2 a 3 vezes por semana.

TABELA 19: Resultados do teste de ordenação (somatória pela Tabela de Friedman) para o atributo odor, aparência, sabor e textura, característico de carne cozida.

Tratamentos	Odor*	Aparência**	Sabor***	Textura****
IN	126 ^a	92 ^b	92 ^b	84 ^c
C	125 ^a	94 ^b	126 ^a	117 ^{a,b}
PL	101 ^{a,b}	127 ^a	110 ^{a,b}	124 ^a
PLC	71 ^c	100 ^{a,b}	89 ^b	89 ^{b,c}
PD	111 ^{a,b}	117 ^{a,b}	97 ^b	100 ^{a,b,c}
PCD	96 ^{b,c}	100 ^{a,b}	116 ^{a,b}	116 ^{a,b}

*Escala variando de 1 (menos característico) a 6 (mais característico)

**Escala variando de 1 (menos preferido) à 6 (mais preferido).

***Escala variando de 1 (menos preferido) à 6 (mais preferido)

****Escala variando de 1 (menos macia) à 6 (mais macia)

Letras iguais na coluna indicam que não houve diferença significativa entre as médias (P>0,05) pelo teste de Fisher

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

C - Controle – carne injeta com salmoura padrão com polifosfatos e isenta de plasma

PL - carne injeta com salmoura adicionada de plasma líquido e isenta de polifosfatos

PLC - carne injeta com salmoura adicionada de plasma líquido concentrado e isenta de polifosfatos

PD - carne injeta com salmoura adicionada de plasma líquido desidratado e isenta de polifosfatos

PCD - carne injeta com salmoura adicionada de plasma líquido concentrado desidratado e isenta de polifosfatos

A análise dos dados indicou que houve diferença significativa entre os tratamentos (p<0,05). *In natura* e Controle receberam dos analistas, maior número de vezes as notas mais altas.

O tratamento PLC recebeu o valor de somatória mais baixa, menos aceito pelos analistas. A adição de plasma, especialmente o PLC e o PCD, afetou de forma mais intensa, o odor característico da carne cozida. Possivelmente, devido à concentração destes plasmas, uma vez que o PCD é oriundo de um plasma líquido

concentrado, podendo ser explicado devido a algumas técnicas de concentração e desidratação produzirem odores estranhos através de reações lipídicas (BOYLSTON et al., 2003).

Pode-se observar que houve diferença significativa ($p < 0,05$) entre os tratamentos, sendo que o tratamento com plasma líquido (PL) apresentou a aparência mais característica de carne cozida, entre os tratamentos, embora esta não tenha diferido dos demais tratamentos com plasma.

O tratamento *In natura* apresentou a aparência menos característica entre os tratamentos, porém só apresentou diferença significativa ($p < 0,05$) do tratamento PL. De forma geral, a adição de plasma contribuiu para aparência característica das carnes cozidas.

Em relação ao atributo sabor, o tratamento Controle apresentou o melhor sabor, embora não diferente estatisticamente ($P > 0,05$) dos tratamentos PL (plasma líquido) e PCD (plasma líquido concentrado e desidratado). Os tratamentos IN (*in natura*), PLC (plasma líquido concentrado) e PD (plasma líquido desidratado) não apresentaram diferença significativa ($P > 0,05$) entre eles e foram considerados os menos preferidos quanto ao sabor. Todavia, os resultados descrevem a percepção de uma equipe não treinada avaliando uma carne não condimentada, talvez por isto, possa ter havido interferência na avaliação.

Os resultados apresentados na **Tabela 19** indicam que os tratamentos C, PL, PD e PCD foram considerados os mais macios, não havendo diferença significativa entre eles ($p > 0,05$). Por outro lado, apenas o tratamento PL apresentou diferença significativa ($p < 0,05$) dos tratamentos PLC e IN, enquanto os tratamentos Controle e PCD só apresentaram diferença significativa ($p < 0,05$) do tratamento IN. Os resultados referentes ao atributo textura demonstram que o tratamento *In natura* apresentou-se menos macio que os demais. Estes resultados também sugerem que a injeção (contendo plasma) pode ser utilizada com a finalidade de uniformizar a maciez do cortes de coxão duro.

5.2. RESULTADOS DAS AVALIAÇÕES FÍSICAS E MICROBIOLÓGICAS DO 2º ENSAIO

O 2º ensaio buscou avaliar o comportamento dos cortes cozidos injetados com plasma e agentes bacteriostáticos ao longo da estocagem refrigerada a 7°C, condições comuns no varejo. Dando ênfase à estabilidade microbiológica dos cortes cozidos devido ao aumento da temperatura de armazenamento (7°C±2) por 80 dias.

5.2.1 Composição do plasma bovino no 2º ensaio

A composição centesimal das duas diferentes formas de apresentação de plasma bovino (PL e PD) utilizado nos diferentes tratamentos é apresentado na Tabela 20.

TABELA 20: Composição centesimal do plasma líquido concentrado (PL) e plasma líquido concentrado desidratado (PD).

Composição	PL	PD
Cinzas (g/100g)	1,32 ±0,08	9,82 ±0,08
Proteína (g/100g)	11,35 ±0,28	79,76 ±0,02
Umidade (g/100g)	87,45 ±1,07	9,04 ±0,15
Gordura total (g/100g)	0,06 ±0,01	0,05 ±0,00

* Valores não determinados

Média e desvio padrão entre parênteses de três determinações.

Na **Tabela 20** observa-se que o processo de concentração e desidratação elevou em mais de 85% o teor de proteína presente no plasma bovino (PCD), indicando a importância desta etapa para a funcionalidade do plasma.

O teor de proteína de ambas as amostras, foi semelhante ao encontrado por Duarte (1997), que obteve um concentrado protéico de plasma com 79,54% de proteína, após secagem em spray-dryer. Entretanto, Delaney (1975) obteve teor de

proteína maior que o encontrado no presente estudo, com 87,5% em plasma ultrafiltrado e desidratado em spray-dryer.

5.2.2 Avaliações das salmouras e dos processos de injeção e cocção dos cortes de coxão duro.

5.2.2.1. Nível de injeção (NI) e perda de peso por gotejamento (PPG)

Os resultados referentes ao rendimento no processo de injeção dos cortes de coxão duro bovino são apresentados na **Tabela 21**.

TABELA 21: Médias dos parâmetros nível de injeção (NI) e perda de peso no gotejamento (PPG) após 24h de estocagem sob refrigeração ($7^{\circ}\text{C}\pm 2$) dos bifes de coxão duro cozidos.

Tratamentos	Parâmetros de rendimento	
	NI (%)	PPG (%)
IN	0 ^c	-
CONL	13.97 ^a	5.80 ^a
CONO	12.54 ^{a,b}	5.75 ^{a,b}
PLL	8.25 ^b	5.67 ^b
PLO	10.06 ^{a,b}	5.72 ^{a,b}
PDL	12.09 ^{a,b}	5.76 ^{a,b}
PDO	12.06 ^{a,b}	5.70 ^{a,b}

*Letras iguais na coluna indicam que não há diferença significativa entre os tratamentos ($P>0,05$)

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

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

CONO - 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 diferença significativa ($p<0,05$) entre os tratamentos para o nível de injeção e gotejamento. Os resultados apresentados na **Tabela 21** indicam que os tratamentos com salmoura contendo polifosfatos (CONL e CONO) tiveram a absorção da salmoura de injeção mais próximo do esperado (15%) e menor exsudação, apenas o tratamento PLL ocorreu à menor absorção pela carne (8,25%), não atingindo a absorção prevista. Provavelmente o menor teor de proteína presente tenha reduzido a efetividade do ingrediente.

Os demais tratamentos com plasma (PLO, PDL e PDO) não diferiram ($P>0,05$) dos tratamentos CONL (controle injetado com tripolifosfato e lactato de sódio) e CONO (controle injetado com tripolifosfato e Optiform®).

A porcentagem de água retida em carnes bovinas cresce quando o pH se afasta do ponto isoelétrico das proteínas miofibrilares (ORESKOVICH, 1992). A capacidade de reter mais água, induzida pela mudança de pH, posteriormente aumentará a suculência da carne cozida (VOTE, et al., 2000). Ingredientes como fosfatos alcalinos são incluídos (0,3% a 0,4%) em alguns produtos para aumentar o pH da carne, afastando-o do ponto isoelétrico das proteínas, melhorando dessa forma a capacidade de retenção de água (OFFER; TRINICK, 1983). A injeção de salmouras contendo tripolifosfato de sódio ou tripolifosfato de sódio/sal mostrou aumentar a maciez, suculência e a capacidade de retenção de água de produtos cozidos (JENSEN, 2003; MOTA, 2005)

5.2.2.2 Determinação de pH

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 22**.

TABELA 22: Média dos valores de pH das salmouras e dos cortes cárneos antes e após a injeção.

Tratamentos	pH das salmouras	pH da carne antes da injeção	pH da carne pós injeção
IN	-	5.45 ^a	5.45 ^a
CONL	8.78 ^a	5.47 ^a	5.80 ^b
CONO	8.67 ^a	5.51 ^a	5.75 ^b
PLL	7.47 ^b	5.48 ^a	5.67 ^b
PLO	7.11 ^b	5.54 ^a	5.72 ^b
PDL	7.44 ^b	5.56 ^a	5.76 ^b
PDO	7.06 ^b	5.52 ^a	5.70 ^b

*Letras 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;

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

CONO - 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

Observa-se que as salmouras Controle (CONL e CONO) apresentaram os maiores valores de pH. Sabe-se que a presença de polifosfatos eleva o pH da salmoura, portanto para as salmouras controle (CONL e CONO) seria esperada uma elevação do valor de pH observado.

Ainda que valores de pH mais elevados tenham sido obtidos nas salmouras CONO e CONL, os cortes cárneos pós injeção não apresentaram diferenças significativas ($P>0,05$) entre os tratamentos. Provavelmente, devido o efeito tamponante das proteínas da carne, impedindo a elevação brusca do pH aos valores observados na salmoura (LEDWARD, 1979).

5.2.3 Características físicas e microbiológicas de bifes de coxão duro (*Biceps femoris*) cozidos embalados a vácuo mantidos sob refrigeração ($7^{\circ}\text{C}\pm 2$)

5.2.3.1 Avaliação dos valores de pH

Os valores, em triplicata, de pH dos bifes de cada tratamento são apresentados na **Tabela 23**.

Tabela 23: Média dos valores de pH dos bifes de coxão duro cozidos por tratamentos durante a estocagem refrigerada ($7^{\circ}\text{C}\pm 2$).

Efeitos	Valor de pH
Tratamentos	
IN	5,98 ^c
CONL	6,16 ^a
CONO	6,09 ^{a,b}
PLL	6,08 ^a
PLO	6,07 ^{a,c}
PDL	6,09 ^{a,b}
PDO	6,05 ^{b,c}
Tempo (dias)	
14	6,21 ^a
29	6,20 ^a
35	6,18 ^a
43	6,14 ^a
80	5,64 ^b

Letras iguais na coluna para um mesmo efeito indicam que não houve diferença significativa ($P>0,05$) entre as médias pelo teste de Tukey

In natura – carne não submetida à injeção;

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

CONO - 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

O valor de pH do tratamento IN (não submetido a injeção) foi o mais baixo ao longo do período de estocagem. Os valores de pH nos tratamentos CONL, CONO, PLL, PLO, PDL e PDO ao 14º dia de estocagem se apresentaram mais elevados, provavelmente devido o uso de tripolifosfato de sódio e do plasma bovino, que aumentam o pH do meio. Além disso, os tratamentos que continham lactato de sódio foram mais altos que os que continham Optiform® (lactato de sódio + diacetato de sódio), provavelmente, devido ao caráter ácido do diacetato de reduzir o pH da carne (MBANDI e SHELEF, 2001)

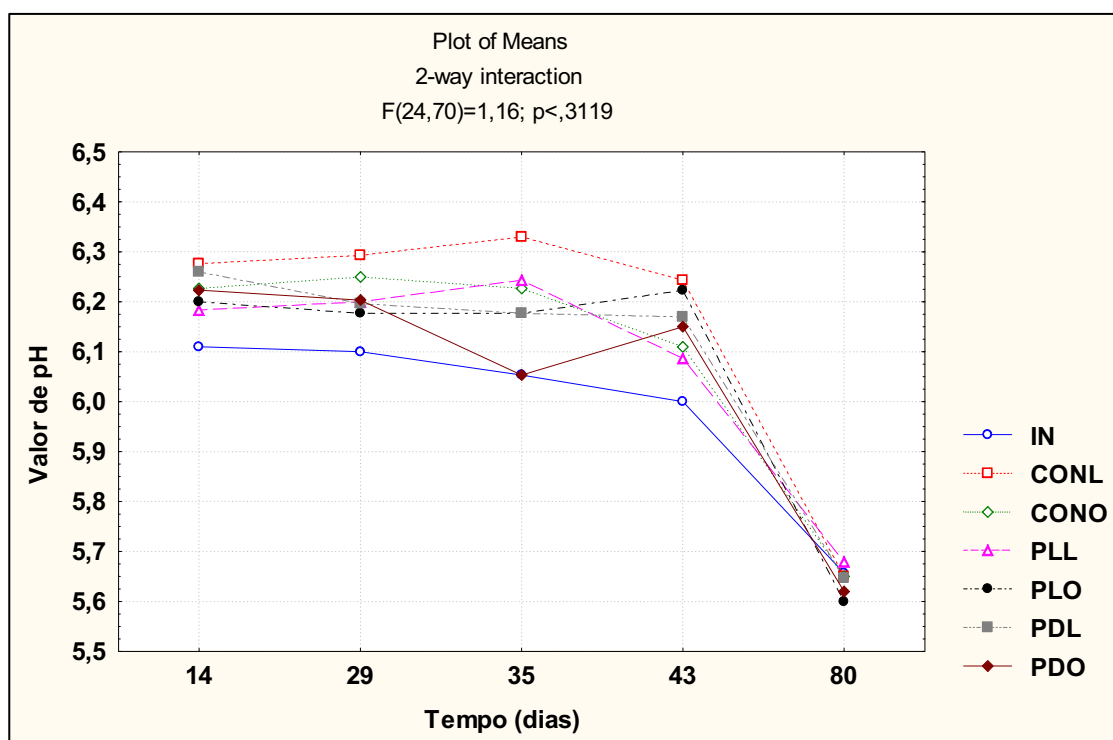


FIGURA 23: Perfil dos valores de pH dos bifes de coxão duro bovino (*Biceps femoris*) cozidos durante o armazenamento sob refrigeração ($7^{\circ}\text{C}\pm 2$)

O comportamento de todos os tratamentos injetados foi semelhante no decurso da estocagem a $7^{\circ}\text{C}\pm 2$ (**Figura 23**), com pico de crescimento de microrganismos psicotróficos ácido fermentativo, no 43º dia de armazenamento, e com queda média de 0,5 unidades. Existe uma correlação positiva entre os valores de pH e a contagem de microrganismos psicotróficos (BARRA, 1980).

5.2.3.2 Força de cisalhamento

Na **Tabela 24** são apresentadas as médias de força de cisalhamento dos bifes de coxão duro aos 14 dias de estocagem sob refrigeração ($7^{\circ}\text{C}\pm 2$).

TABELA 24: Médias referentes à força de cisalhamento, do 14º dia de estocagem, medida pelo acessório Warner Bratzler em bifes cozidos submetidos à cocção em estufa embalados em filme flexível (embalagem *cook in*).

Tratamentos	FC
IN	6,33 ^a
CONL	4,59 ^c
CONO	5,27 ^b
PLL	5,75 ^b
PLO	5,54 ^b
PDL	5,59 ^b
PDO	5,72 ^b

Letras iguais na coluna indicam que não houve diferença significativa ($P>0,05$) entre as médias pelo teste de Tukey

FC – força de cisalhamento

In natura – carne não submetida à injeção;

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

CONO - 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

Os resultados apresentados na **Tabela 24** indicam que os cortes injetados apresentaram força de cisalhamento cerca de 20% inferiores à observada nos bifes provenientes de cortes não injetados. O tratamento CONL, com polifosfatos e lactato de sódio na salmoura, apresentou força de cisalhamento inferior à observada nos demais tratamentos injetados.

A presença de sal e polifosfato foram determinantes na retenção de salmoura e no processo de injeção afetando textura dos tratamentos marinados com estes ingredientes.

Em estudo com cortes de coxão mole (*semimembranosus*) submetidos a injeção (10%) com salmoura elaborada para resultar em um produto final contendo 0,4% de cloreto de sódio e 0,4% de polifosfato, revelaram que os cortes injetados (“enhanced”) forneceram bifes mais macios e suculentos que os controles (ROBBINS et al., 2002).

Costa et al., (2003) avaliaram a influência de diferentes polifosfatos sob os aspectos de qualidade de cortes bovinos injetados, músculo *supraspinatus* (peixinho) com injeção de 15%. Dentre os polifosfatos avaliados o tratamento com

tripolifosfato de sódio apresentou cortes macios, com força de cisalhamento de 3,75 Kg/cm².

O lactato de sódio pode ter auxiliado na melhoria da textura do tratamento CONL (injetado com polifosfato e lactato de sódio), uma vez que este agente bacteriostático aplicado em níveis de 2 a 3% em alimentos aumenta a capacidade de rendimento de água, melhorando a textura (BREWER et al., 1991; PAPADOPOULOS et al., 1991).

Não houve diferença significativa ($P>0,05$) entre o tratamento controle com Optiform® (CONO) e todos os tratamentos com plasma bovino (PLL, PLO, PDL e PDO) com médias melhores que o tratamento não injetado (IN). Sob este aspecto, o plasma bovino, pode substituir o polifosfato em cortes injetados

5.2.3.3 Caracterização microbiológica da matéria-prima e do plasma bovino

A caracterização microbiológica inicial da matéria-prima antes e após o cozimento e do plasma líquido concentrado são apresentados nas **Tabelas 25 e 26**, respectivamente.

TABELA 25: Caracterização microbiológica inicial da matéria-prima crua e sem injeção e injetada após o cozimento.

Tratamentos	MICRORGANISMOS									
	Psicrotróficos (Log UFC/cm ²)		Coliformes tremotolerantes (Log NMP/cm ²)		Clostridio. Sulfito-Redutor (Log UFC/cm ²)		Estafilococos coagulase- positiva (Log UFC/cm ²)		Salmonella sp. (ausência em 50 cm ²)	
	cru	cozido	cru	cozido	cru	cozido	cru	cozido	cru	cozido
IN	3.61	0.53	<1.0	<1.0	<1.0	<1.0	<1.0	<1.0	Ausente	Ausente
CONL	4.18	<1.0	<1.0	<1.0	<1.0	<1.0	<1.0	<1.0	Ausente	Ausente
CONO	4.56	<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	Ausente	Ausente
PLO	2.96	<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	Ausente	Ausente
PDO	2.77	<1.0	1.22	<1.0	<1.0	<1.0	<1.0	<1.0	Ausente	Ausente

UFC = Unidade formadora de colônia

NMP = Número mais provável

In natura – carne não submetida à injeção;

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

CONO - 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 concentrando

locca, A.F.S. Efeitos da aplicação de salmoura com plasma bovino em músculo *Biceps femoris* (coxão duro) injetado, cru e cozido na estabilidade física, química, microbiológica e sensorial, 2008.

Os cortes íntegros crus destinados aos tratamentos CONL e CONO apresentaram diferença significativa ($p < 0,05$), porém pouco relevante sob o aspecto prático. A baixa contagem microbiana indica a qualidade da matéria-prima. Contudo, após a pasteurização não foi detectado crescimento microbiano.

TABELA 26. Caracterização do plasma líquido concentrado antes da injeção.

Tipos De Plasma	Contagem total de psicrotróficos (Log UFC/ml)	Coliformes termotolerantes (Log NMP/ml)
PLC	5,53	3,66

UFC: Unidade formadora de colônia

NMP: Número mais provável

PLC - Plasma líquido concentrado

As contagens de microrganismos psicrotróficos e de coliformes termotolerantes na amostra de plasma líquido concentrado (PL) utilizado na injeção dos cortes bovinos, apresentado na **Tabela 26**, indicam que o plasma líquido concentrado apresentava alta carga microbiana, sugerindo que o processo higiênico-sanitário de obtenção provavelmente tenha apresentado falhas, o que poderia comprometer a qualidade microbiológica das carnes injetadas. Os demais microrganismos estudados (estafilococos coagulase-positiva, clostrídios sulfito-redutores e *Salmonella sp.*) não foram detectados.

A carga microbiana de microrganismos psicrotróficos, foi de três ciclos logarítmicos acima da encontrada por Silveira et al., (1998). Ockerman e Hansen (2000) afirmam que para as mesmas condições de coleta do plasma bovino, é esperada uma contagem de até 4 ciclos log UFC/ml.

Entretanto, para a contagem de coliformes termotolerantes foi quase quatro ciclos log abaixo do encontrado por Rossi Jr. et al., (1994), por outro lado, Silveira et al., (1998) obtiveram uma contagem próxima ao do presente estudo, 2 ciclos Log UFC/ml.

O plasma líquido concentrado desidratado (PD) não foi submetido às análises microbiológicas, mas, segundo ficha técnica dos fornecedores, apresentava ausência de *Salmonella* e de Coliformes 45,5°C em 10 e 25g de amostra, respectivamente. A contagem microrganismos 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 concentrado ter se apresentado inferior à das carnes, conforme demonstrado na **Tabela 26**, o cozimento promoveu a pasteurização adequada de todos os tratamentos injetados, não sendo detectadas contagens nos cortes íntegros pós-cozção.

5.3.2.4 Estabilidade Microbiológica dos bifes de coxão duro cozidos

A carne bovina resfriada embalada a vácuo tem merecido atenção especial, particularmente no que tange aos aspectos higiênico-sanitários da preparação/manipulação e da conservação, uma vez que deles depende, em última análise, o período útil de comercialização e consumo. Para a avaliação dessas condições, é imprescindível o estudo de alguns índices físico-químicos e microbiológicos, que possam traduzir a qualidade do produto (BARRA, 1980).

Dentre os indicadores físico-químicos e microbiológicos, o pH, a contagem total de microrganismos psicrótrópicos (BARRA, 1980) e bactérias lácticas (BJORKROTH, 2005) representam valiosos instrumentos de medição de qualidade higiênica da carne resfriada. 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

A **Tabela 27** apresenta os resultados referentes ao efeito dos tratamentos e do tempo na contagem de microrganismos psicrótrópicos e de bactérias lácticas em bifes de coxão duro cozido ao longo da estocagem sob refrigeração ($7^{\circ}\text{C}\pm 2$).

TABELA 27: Efeitos dos tratamentos e do tempo de estocagem sob refrigeração ($7^{\circ}\text{C}\pm 2$) na contagem total de microrganismos psicrotróficos e bactérias lácticas em bifes de coxão duro embalados a vácuo provenientes de cortes cozidos em embalagem “cook in”.

Efeitos Tratamentos	Psicrotróficos (Log UFC/g)	Bactérias lácticas (Log UFC/g)
IN	5,80 ^c	5,05 ^a
CONL	4,79 ^d	3,24 ^b
CONO	7,87 ^a	6,52 ^a
PLL	8,00 ^a	6,09 ^a
PLO	7,56 ^{a,b}	5,73 ^a
PDL	7,72 ^{a,b}	6,23 ^a
PDO	6,88 ^b	6,12 ^a
Tempo (dias)		
7	5,19 ^c	4,62 ^c
14	6,54 ^b	4,24 ^c
29	7,16 ^{a,b}	5,35 ^{b,c}
35	7,78 ^a	7,27 ^a
43	7,38 ^a	6,31 ^{a,b}
80	7,63 ^a	5,62 ^{b,c}

Letras iguais na coluna para um mesmo efeito indicam que não houve diferença significativa ($P>0,05$) entre as médias pelo teste de Tukey

UFC = Unidade formadora de colônia

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

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

CONO - 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

A Tabela 28 e a Figura 23 apresentam o desdobramento da interação do tratamento e do tempo na contagem de microrganismos psicrotróficos em bifes de coxão duro cozido injetado com diferentes salmouras.

TABELA 28: Contagem total de microrganismos psicrotróficos ao longo da estocagem sob refrigeração ($7^{\circ}\text{C}\pm 2$) de bifes de coxão duro cozido e embalado a vácuo.

Tratamentos	Psicrotróficos (Log UFC/g) ¹⁻²					
	07º dia	14º dia	29º dia	35º dia	43º dia	80º dia
IN	3.85 B,b	5.31 B,ab	5.56 B,ab	7.53 A,a	6.10 AB,ab	6.45 A,ab
CONL	2.07 B,bc	3.16 B,b	4.90 B,ab	5.93 A,ab	5.79 B,ab	6.89 A,a
CONO	6.81 A,a	7.20 AB,a	8.13 AB,a	8.48 A,a	8.37 A,a	8.26 A,a
PLL	7.13 A,a	8.17 A,a	8.42 AB,a	8.20 A,a	7.88 A,a	8.18 A,a
PLO	6.31 AB,a	7.51 AB,a	7.82 AB,a	8.07 A,a	7.91 A,a	7.76 A,a
PDL	7.10 A,a	7.81 AB,a	7.40 AB,a	8.17 A,a	7.66 AB,a	8.19 A,a
PDO	3.05 B,b	6.63 AB,a	7.88 AB,a	8.10 A,a	7.95 A,a	7.66 A,a

1- Letras iguais na linha indicam que não houve diferença significativa entre as médias ($P>0,05$) nos tempos estudados, pelo Teste de Tukey

2- Letras iguais na coluna indicam que não houve diferença significativa entre as médias ($P>0,05$) nos tratamentos estudados, pelo Teste de Tukey

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

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

CONO - 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

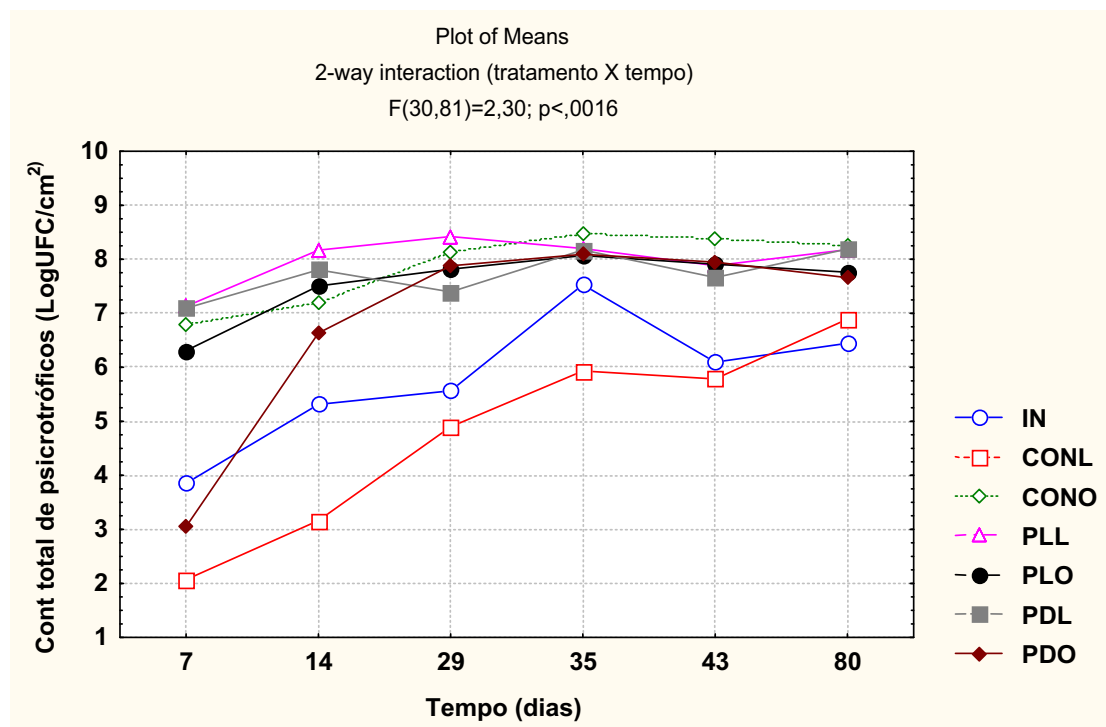


Figura 23: Efeito da interação tratamento e do tempo na contagem de microrganismos psicrotróficos em bifes de coxão duro provenientes de cortes cozidos íntegros.

São observadas (**Tabela 27**) diferenças significativas ($p < 0,05$), para a contagem de microrganismos psicrotróficos, no período de estocagem sob refrigeração ($7^{\circ}\text{C} \pm 2$) das amostras contendo plasma bovino e do tratamento CONO das demais, sugerindo que, apesar da qualidade microbiológica dos cortes após o cozimento, a manipulação pós-cocção comprometeu estes cortes. Porém dentre os tratamentos com plasma bovino, apenas o tratamento PDO obteve condições adequadas, com contagens abaixo de 7 ciclos logarítmicos. O tratamento controle com lactato de sódio (CONL) manteve uma qualidade microbiológica, assim como o tratamento IN. Independente dos tratamentos houve efeito ($p < 0,05$) no crescimento dos microrganismos psicrotróficos durante os tempos analisados (**Tabela 27**).

As bactérias psicrotróficas aeróbias estão entre os microrganismos que apresentam bom desenvolvimento em temperaturas de refrigeração (0°C a 7°C) (JAY, 2005). Espécies e linhagens bacterianas que podem crescer em ou abaixo de 7°C são amplamente distribuídas entre os gêneros de bactérias Gram-negativas e em menor escala entre as Gram-positivas. Neste grupo estão incluídas espécies responsáveis pela deterioração de carnes cozidas, possuindo importância na diminuição da vida útil destes alimentos.

Fung et al., (1980) definem como baixa contaminação contagens totais de microrganismos aeróbios de até 2 log UFC/g, contaminação intermediária entre 3 e 4 log UFC/g e alta contaminação entre 5 e 6 log UFC/g. Os mesmo autores consideram carnes com contagens de até 4 log UFC/g aceitáveis, entre 5 e 6 log UFC/g questionáveis e, acima desses valores, eles consideram a carne deteriorada.

Os resultados deste estudo demonstram que, quase todos os tratamentos apresentaram contagem de bactérias psicrotróficas acima de 7 log UFC/g ao 29º dia de armazenamento (**Tabela 28**). Uma extensão na fase lag de crescimento microbiano foi observada para os tratamentos IN e CONL. O uso combinado de polifosfatos com lactato de sódio (CONL) retardou o crescimento dos psicrotróficos até o 80º dia de estocagem refrigerada, enquanto o tratamento não injetado (IN) foi até o 29º dia de estocagem.

Os tratamentos CONO (controle injetado com polifosfato e Optiform®), PLL (plasma liquido concentrado com lactato de sódio), PLO (plasma liquido concentrado com Optiform®) e PDL (plasma liquido concentrado desidratado com lactato de sódio) apresentaram contagens de psicrotróficos similares já no 7º dia de estocagem

(Figura 23), enquanto que o tratamento PDO (plasma líquido concentrado desidratado com Optiform®) apresentou de três a quatro ciclos logarítmicos menores neste período, indicando que o plasma líquido concentrado desidratado foi mais seguro microbiologicamente para este tipo de produto, estendendo a fase lag desse tratamento até o 14º dia de estocagem.

O uso da mistura de lactato de sódio com diacetato de sódio pode ter prolongado a vida útil dos cortes marinados cozidos, pois retardou o crescimento de microrganismos psicrotróficos. Da mesma forma, Surpilli et al., (2004a) 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.

Segundo Lemos et al., (1999), o principal objetivo da adição de diacetato de sódio em produtos cárneos é reduzir o crescimento de microrganismos. Quando o diacetato foi adicionado na superfície da carne de aves submetida à refrigeração observou-se redução do pH na superfície e redução no crescimento de microrganismos. Resultados semelhantes foram obtidos quando o diacetato de sódio foi utilizado na salmoura de injeção de cortes bovinos. Neste estudo foi 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.

Em cortes de coxão mole (*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 em placas indicou, que os bifes provenientes de cortes injetados apresentaram maior susceptibilidade à deterioração durante exposição (ROBBINS et al., 2002). Desta forma, embora o “*enhancement*” melhore as características sensoriais, afeta negativamente a vida útil sob refrigeração.

A temperatura é um fator que influencia na velocidade de crescimento dos microrganismos (OLIVEIRA, 2003), uma vez que todos os processos de crescimento dependem de reações químicas e que essas reações são influenciadas pela temperatura (PELCZAR et al., 1980). A temperatura mais elevada em produtos perecíveis (como a carne) podem influenciar na aceleração do processo metabólico do microrganismo. Como discutido no item 5.1.4.5, referente ao crescimento de

psicrotróficos no primeiro ensaio (**Tabela 18**), foi obtido, de modo geral, um período de vida útil maior (35 dias) devido à temperatura de armazenagem menor ($2^{\circ}\text{C}\pm 2$), enquanto que para o segundo ensaio a temperatura de $7^{\circ}\text{C}\pm 2$, reduziu substancialmente a vida útil para 14 dias para o tratamento PDO e de apenas 7 dias para os tratamentos CONO, PLL, PLO e PDL.

Em relação ao efeito dos tratamentos entre si, apenas os tratamentos *In natura* (IN) e Controle injetado com polifosfato e lactato de sódio (CONL) diferiu significativamente ($p < 0,05$) dos demais.

Houve efeito do tempo ($p < 0,01$), do tratamento ($p < 0,01$) e a interação do tratamento e do tempo ($p < 0,01$) para contagem total de microrganismos psicrotróficos (**Figura 23**) onde, os tratamentos IN, CONL e PDO apresentaram comportamentos similares ao 7º dia de estocagem. Os demais tratamentos obtiveram o mesmo desempenho durante todo o período. Após 14 dias de armazenagem os tratamentos com plasma bovino tiveram o mesmo comportamento. Enquanto os tratamentos com plasma bovino obtiveram contagem aceitável, porém questionável, até o 29º dia de estocagem, o tratamento CONL se manteve até o 43º dia nas mesmas condições.

Na **Tabela 29** são apresentados os resultados referentes à contagem de bactérias lácticas no efeito do tratamento e do tempo, conduzidas nos bifes de coxão duro cozido ao longo da estocagem sob refrigeração ($7^{\circ}\text{C}\pm 2$).

TABELA 29: Contagem de bactérias lácticas ao longo da estocagem sob refrigeração ($7^{\circ}\text{C}\pm 2$) de cortes de coxão duro cozido embalado a vácuo.

Tratamentos	Bactérias Lácticas (Log UFC/g) ^{1,2}					
	07º dia	14º dia	29º dia	35º dia	43º dia	80º dia
IN	2.25 _{A,a}	7.08 _{A,a}	4.01 _{AB,a}	7.03 _{A,a}	5.80 _{AB,a}	4.11 _{A,a}
CONL	2.35 _{A,a}	2.54 _{A,a}	1.83 _{B,a}	5.67 _{A,a}	1.00 _{B,a}	5.37 _{A,a}
CONO	6.89 _{A,a}	3.68 _{A,a}	6.59 _{AB,a}	8.24 _{A,a}	8.39 _{A,a}	5.37 _{A,a}
PLL	2.54 _{A,b}	5.43 _{A,ab}	4.93 _{AB,a}	8.01 _{A,a}	7.95 _{A,a}	7.70 _{A,ab}
PLO	6.18 _{A,a}	3.33 _{A,a}	6.07 _{AB,a}	7.43 _{A,a}	5.44 _{AB,a}	5.93 _{A,a}
PDL	6.95 _{A,a}	4.05 _{A,a}	6.72 _{AB,a}	7.25 _{A,a}	7.69 _{A,a}	4.73 _{A,a}
PDO	4.54 _{A,a}	3.56 _{A,a}	7.33 _{A,a}	7.29 _{A,a}	7.89 _{A,a}	6.13 _{A,a}

1- Letras iguais na linha indicam que não houve diferença significativa entre as médias ($P > 0,05$) nos tempos estudados, pelo Teste de Tukey

2- Letras iguais na coluna indicam que não houve diferença significativa entre as médias ($P > 0,05$) nos tratamentos estudados, pelo Teste de Tukey

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

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

CONO - 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

locça, A.F.S. Efeitos da aplicação de salmoura com plasma bovino em músculo *Biceps femoris* (coxão duro) injetado, cru e cozido na estabilidade física, química, microbiológica e sensorial, 2008.

Para as bactérias láticas, o tratamento não injetado (IN) não apresentou crescimento proeminente até o 7º dia, enquanto o tratamento injetado com polifosfato e lactato de sódio (CONL) permaneceu até o 29º dia sem crescimento acentuado. Os tratamentos com plasma bovino tiveram comportamentos similares durante todo o período, exceto o tratamento PLL, que se manteve com baixo crescimento até o 29º dia de estocagem (aproximadamente 5 ciclos logarítmicos).

De forma geral, todos os cortes adicionados de plasma, apresentaram contagens de bactérias láticas superiores aos demais tratamentos.

A presença de Optiform® (mistura lactato de sódio+diacetato de sódio) nos tratamentos com plasma parece ter contribuído para a redução dos valores de bactérias láticas nestes tratamentos quando comparados aos adicionados do lactato de sódio do 7º ao 14º dia de estocagem. Além disso, a partir do 14º dia de estocagem os tratamentos não apresentavam diferença significativa ($P>0,05$).

Para o efeito dos tratamentos entre si, apenas o tratamento CONL (controle com polifosfato e lactato de sódio) diferiu significativamente ($p< 0,05$) dos demais, com uma contagem bem abaixo dos tratamentos com plasma bovino, estes por sua vez obtiveram comportamento semelhante, estando entre 6 e 6,5 Log UFC/g.

Após o 14º dia de estocagem refrigerada ($7^{\circ}\text{C}\pm 2$) houve crescimento acentuado com pico máximo de crescimento ao 35º dia de estocagem (**Tabela 29**), seguido pelo declínio da curva de crescimento da bactéria lática. O crescimento de microrganismos psicrotróficos obteve curva parecida até o 35º dia de estocagem, porém o crescimento permaneceu até o último ponto de análise, indicando a presença de outros microrganismos psicrotróficos além das bactérias láticas.

Nos produtos cárneos embalados a vácuo mantidos sob temperatura de refrigeração, sobressai uma microbiota de bactérias láticas psicrotróficas, e o lactato exerce ação inibitória sobre tais bactérias (WIT et al., 1990). Segundo Maca et al., (1999), o lactato contribui também para o aumento da fase lag das bactérias láticas.

De acordo com Bjorkroth (2005), a marinação altera a população de bactérias láticas deteriorantes inicialmente presentes no produto, no qual há estudos que detectaram novas espécies. O processo de marinação favorece o crescimento de algumas bactérias láticas psicrotróficas que raramente são detectadas em produtos cárneos não-marinados.

Houve efeito do tempo, dos tratamentos e interação entre os tratamentos e os tempos. Entretanto esta diferença não foi tão significativa sob o aspecto prático, excetuando o tratamento CONL (**Tabela 29**).

A deterioração da carne foi definida por Gill (1976) como sintoma ou grupo de sintomas evidentes do crescimento microbiano, manifestado por maus odores, descoloração e limosidade. Essas modificações começam a aparecer quando a população microbiana, na superfície da carne atinge de 10^7 a 10^8 UFC/g (SILVA, 1995)

A deterioração da carne é ocasionada pela proliferação de microrganismos produtores de ácidos, que causam odores desagradáveis resultantes de sua ação proteolítica, além de alterarem a cor e a textura desses produtos, tendo grande importância no aspecto econômico e de segurança alimentar (IOCCA; IOCCA, 2007). Os microrganismos requerem condições específicas para o seu desenvolvimento tais como, ausência ou presença de oxigênio, disponibilidade de água, meio ácido ou básico, nutrientes e temperatura (OLIVEIRA, 2003).

Em relação às alterações organolépticas, analisadas subjetivamente, estas foram percebidas no 35º dia para o tratamento IN (não injetados), com presença de limosidade e alterações na cor, para os tratamentos CONO (controle com polifosfatos e Optiform®), PLL (plasma liquido concentrado com lactato de sódio), PLO (plasma liquido concentrado com Optiform®), PDL (plasma liquido concentrado desidratado com lactato de sódio) e PDO (plasma liquido concentrado desidratado com Optiform®) estas alterações foram percebidas a partir do 43º dia de estocagem em todos os tratamentos, e a contagem de microrganismos psicrótrófos já estava acima de 7 log UFC/g, em consonância com as definições de Silva (1995). Prudêncio (1985) também obteve comprometimento de suas amostras (vários cortes de carne) em relação ao aroma e viscosidade superficial quando obteve contagens em torno de 7 log UFC/g. Aos 80 dias de armazenamento todos os sete tratamentos encontravam-se impróprios e as alterações de odor foram acompanhadas de modificações na textura dos cortes.

6. CONCLUSÕES

- As várias formas de apresentação de plasma bovino (PL, PLC, PD e PCD), sob os aspectos de rendimento e qualidade sensorial podem ser utilizados na injeção de cortes bovinos cozidos, por outro lado é necessário que seja realizado uma coleta mais higiênica do sangue bovino, pois a contagem microbiológica inicial do plasma líquido apresentou-se muito elevada.
- Os tratamentos com plasma líquido (PL, PLC) em carnes cruas, obtiveram a melhor avaliação objetiva de cor, não diferindo estatisticamente ($P>0,05$) do tratamento *In natura* e diferindo ($p<0,05$) do Controle, apresentando cortes mais vermelhos (maior a^*) e brilhantes (maior L^*). Sob este aspecto, o plasma pode ser utilizado na injeção de cortes bovinos crus em substituição ao polifosfato. Porém, a utilização de plasma bovino em salmouras destinadas a carnes comercializadas cruas, só poderia ser realizada com as formas desidratadas (PD e PCD), tendo em vista os aspectos microbiológicos.
- O resultado referente aos aspectos de rendimento dos cortes injetados com plasma bovino, antes da cocção, sugere que, o uso de plasma talvez possa se adequar a um nível de injeção inferior aos praticados no presente estudo (20%), para melhorar sua capacidade de absorção.
- Em carnes cozidas, o uso de plasma, tanto líquidos como desidratados, pode substituir os fosfatos nas salmouras de injeção. Após cocção, os parâmetros de rendimento não foram afetados pela presença de plasma. Houve redução da perda de peso no reaquecimento e redução da força de cisalhamento (maior maciez) da carne reaquecida com adição de plasma às salmouras, o que tornou o plasma mais interessante do que os fosfatos sob estes aspectos.

- O tratamento térmico, aliado à presença de lactato de sódio nas salmouras, permitiu a obtenção de cortes cozidos, injetados com plasma, de qualidade microbiológica aceitável até do 35º dia de estocagem ($2\pm 2^{\circ}\text{C}$).
- Em relação ao rendimento (nível de injeção (15%) e perda de peso por gotejamento)) os tratamentos com plasma bovino (PLL, PDL e PDO) não diferiram ($P>0,05$) dos tratamentos controles (CONL e CONO), sob este aspecto é possível substituir o polifosfato pelo plasma.
- O tratamento térmico, aliado à presença dos agentes bacteriostáticos (lactato e diacetato de sódio), obteve efeito positivo sobre a segurança microbiológica, pois não houve detecção de indicadores higiênico-sanitários pós-pasteurização, em todos os tratamentos, entretanto a manipulação pós-cozção desencadeou o crescimento de microrganismos deterioradores.
- Uma etapa de pós-pasteurização seria recomendável quando os cortes injetados com plasma bovino forem manipulados pós-cozção, devido sua instabilidade microbiológica.
- Em relação à qualidade microbiológica, para cortes cozidos armazenados a $7^{\circ}\text{C}\pm 2$, apenas o plasma concentrado desidratado (PCD) contendo lactato de sódio + diacetato de sódio pode substituir o polifosfato.
- A temperatura de armazenamento teve fator importante, influenciando na velocidade de crescimento dos microrganismos psicrotróficos ácido-fermentativos. Sob as mesmas condições de manipulação, no primeiro ensaio foi obtido um período de vida útil de 35 dias, à temperatura de armazenagem de $2^{\circ}\text{C}\pm 2$, enquanto que para o segundo ensaio a temperatura de $7^{\circ}\text{C}\pm 2$, comumente utilizada pelo comercio varejista, reduziu pela metade a vida útil, para 14 dias.

- As alterações sensoriais dos cortes cozidos, analisadas subjetivamente, foram percebidas no 35º dia de estocagem para o tratamento IN (*in natura*), enquanto que, para os demais tratamentos CONO, PLL, PLO, PDL e PDO estas alterações foram percebidas a partir do 43º dia de estocagem, em todos os tratamentos, a contagem de microrganismos já estava acima de 7 log UFC/g.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. AGULLÓ, E.; CENTURIÓN, M.E.; RAMOS, V.; BIANCHI, M.A. Determination of total pigments in red meats. **J. Food Sci.**, v. 55: p. 250-251, 1990.
2. AHMAD, N.; MARTH, E.H. Behaviour of *Listeria monocytogenes* at 7, 13, 21 and 35°C in tryptose broth acidified with acetic, citric or lactic acid. **J. Food Prot.**, v.52, p.688-695, 1989.
3. ALENCAR, F.A. **Estudos da recuperação das proteínas do plasma bovino por complexação com fosfatos e sua utilização em produtos cárneos**. 1983. 84f. Dissertação (Mestrado em Ciências dos Alimentos) – Faculdade de Engenharia de Alimentos. Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 1983.
4. AMSA - AMERICAN MEAT SCIENCE ASSOCIATION. **Research guidelines for cookery sensory and instrumental tenderness measurement of fresh meat**. Chicago, 1995. 48p.
5. AMBIEL, C. **Efeitos das concentrações combinadas de cloreto e lactato de sódio na qualidade e conservação de um sucedâneo da carne de sol**. 2004. 86 f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) – Faculdade de Engenharia de Alimentos. Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2004.
6. ANDRÉS, A.I; CAVA, R.; VENTANAS, J.; THOVAR, V.; RUIZ, J. Sensory characteristics of Iberian ham: influence of salt content and processing conditions. **Meat Sci.**, v. 68, p.45-51, 2004.
7. ARIMA, H.K. A importância da cor para a carne *in natura*. In: SEMINÁRIO E WORKSHOP “PRESERVAÇÃO E ACONDICIONAMENTO DA CARNE BOVINA *IN NATURA*”. Campinas, 1999. p. 57-74.
8. 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.
9. BAILEY, A.J.; LIGHT, N.D. The role of connective tissue in determining the textural quality of meat. **Elsevier Appl. Sci.** London, p.170-194, 1989.
10. BENDALL, J. The swelling effect of polyphosphates on lean meat. **J. Sci. Food Agric.**, v.5, p.468, 1972.
11. BJORKROTH, J. Microbiological ecology of marinated meat products. **Meat Sci.** v.70, n.3, p. 477-480, 2005.
12. BOLES, J. A.; SHAND, J.E. Effect of brine ingredients and temperature on cook yields and tenderness of pre-rigor processed roast beef. **Meat Sci.**, London, v.45 n. 1 p. 87-97, 1997.

13. BOYLSTON, T.D., MOSS, K.M., NNANNA, L.A. Influence of antioxidant addition and processing treatment on the formation of lipid oxidation compounds in spray-dried bovine plasma protein. **J. Food Sci.**, v.68, n.5, p.1691-1695, 2003.
14. BLODGETT, R. 2003. Appendix 2. Most Probable Number from Serial Dilutions. In: **US FOOD AND DRUG ADMINISTRATION (FDA), *Bacteriological Analytical Manual Online***, Revision July 2003. Disponível em: <http://vm.cfsan.fda.gov/~ebam/bam-toc.html>
15. BLOM, H., NERBRINK, E., DAINITY, R., HAGTEVEDT, T., BORCH, E., NISSEN, H., NESBAKKEN, T. Addition of 2,5% lactate and 0,25% acetate controls growth of *Listeria monocytogenes* in vacuum-packed, sensory-acceptable served sausage and cooked ham stored at 4°C. **Int. J. Food Microbiol.**, v. 38, p. 71-76, 1997.
16. 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.
17. BRASIL. Portaria nº 304, de 22 de abril de 1996. Estabelece critérios para introdução de modificações nas atividades de distribuição e comercialização de carne bovina, bubalina e suína, visando à saúde do consumidor. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, Seção 01, p. 6856, 23 de abr. 1996.
18. BRASIL. Portaria nº 1004, de 11/12/98, Secretaria de Vigilância Sanitária, Ministério da Saúde. Atribuição de funções de aditivos, aditivos e seus limites máximos de uso para categoria B – Carnes e produtos cárneos. **Diário Oficial da União**, Brasília, 22 mar., 1999.
19. BRASIL. Resolução DC/ANVISA nº 12, de 2001. Aprova o regulamento técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, Seção 01, p. 54, jan. 2001.
20. BRASIL. 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.
21. BREWER, M.S.; ZHU, L.; MCKEITH, F.K. Marbling effects on consumer quality characteristics of pork. I Purchase intent, visual and sensory acceptability. **Meat Sci.**, v.59, n.2, p.153-163, 2001.
22. BREWER, M.S.; MCKEITH, F.; MARTIN, S.E.; DALLMIER, A.W.; MEYER, J. Sodium lactate effects on shelf-life, sensory, and physical characteristics of fresh pork sausage. **J. Food Sci.**, v.56, n.5, p.1176-1178, 1991.
23. CALDIRONI, H.A., OCKERMAN, H.W. Incorporation of blood proteins into sausage. **J. Food Sci.**, v. 47, n.2, p.405-408, 1982a.
24. CALDIRONI, H.A., OCKERMAN, H.W. Blood and plasma protein extracts. **J. Food Sci.**, v. 47, n.5, p.1622-1625, 1982b.

25. CIPOLLI, K. M. V.A.B. **Efeito da marinação da estimulação elétrica e da desossa a quente sobre propriedades físicas, químicas tencológicas e sensoriais em M. Triceps brachii (coração da paleta) da raça Nelore.** 2004. 152f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) – Faculdade de Engenharia de Alimentos. Universidade Estadual de Campinas. Campinas, 2004.
26. COSTA, D.P.S.; LEMOS, A L.S.C., HARADA, M.M.; CIPOLII, K.M.V.B., FIORI, J. Quality traits of processed roast beef as affected by various polyphosphate injection brines. In: INTERNATIONAL CONGRESS IN MEAT SCIENCE AND TECHNOLOGY, 49th, 2003. Campinas. **Proceedings...** Campinas: Instituto de Tecnologia de Alimentos, 2003. p.264-265.
27. CHU, Y.H.; HUFFMAN, D.L.; TROUT, G.R.; EGBERT, W.R. Color and color stability of frozen restructured beef steaks: effects of sodium chloride, tripolyphosphate, nitrogen atmosphere, and processing procedures. **J. Food Sci.**, v.52, n. 4, p. 869-875, 1987.
28. CHURCH, I.J. The sensory quality, microbiological safety and shelf life of packaged foods. In: **SOUS VIDE AND COOK-CHILL PROCESSING FOR THE FOOD INDUSTRY (EDITED BY S. GHAZALA)**, 1998. Gaithersburg, MD: Aspen, 1998. p. 190–205.
29. CHURCH, I.J.; PARSONS, A.L. Review: *sous vide* cook–chill technology. **Int. J. Food Sci. Technol.**, v.28, p. 575–586, 1993.
30. CREED, P.G. Sensory and nutritional aspects for *sous vide* processed foods. In: **SOUS VIDE AND COOK-CHILL PROCESSING FOR THE FOOD INDUSTRY (EDITED BY S. GHAZALA)**, 1998. Gaithersburg, MD: Aspen, 1998. p. 57–88.
31. DELANEY, R.A.M. The nutritive value of porcine blood plasma concentrates prepared by ultrafiltration and spray drying. **J. Sci. Food Agric.**, London, v.26, p.303-310, 1975.
32. DEL HOYO, P; RENDUELES, M.; DÍAZ, M. Effect of processing on functional properties os animal blood plasma. **Meat Sci.**, 2007. Disponível em: <http://www.elsevier.com/locate/meatsci>. Acesso em: 20 nov. 2007.
33. DEMAN, J.M.; MELNYCHYN,P. **Symposium: phosphates in food processing.** Ontário, Canadá: Avi Pub. CO, 1970. 242p
34. DOWNES, F.P.; ITO, K. **Compendium of methods for the microbiological examination of foods.** 4 ed. Washington, DC: American Public Health Association, 2001. 676p.
35. 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.
36. DUARTE, R.M.T. **Obtenção de frações protéicas de sangue bovino: composição valor nutritivo e propriedades funcionais.** 1997. 90f. Dissertação (Mestrado em Ciências e Nutrição) – Faculdade de Engenharia dos Alimentos. Universidade Estadual Campinas, Campinas, 1997.

37. ETHERIDGE, P. A., HICKSON, D.W., YOUNG, C.R., LANDMAN, W.A., DILL, C.V. Functional and chemical characteristics of bovine plasma proteins isolated as a metaphosphate complex. **J. Food Sci.**, v.46, n.6, p.1782-1784, 1981.
38. EVANS, L.L.; PAGACH, D.A.; BELK, K.E.; MILLER, R.K. Sodium lactate treated roast beef to prolong storage and enhance palatability. In: **ANNUAL MEETING OF THE INSTITUTE OF FOOD TECHNOLOGISTS**, 1991, Dallas. **Proceedings...** Dallas: IFTs, 1991. v.1, abstract n. 76, p.142.
39. ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE. Principios generales que regulam el empleo de aditivos alimentarios. **Conferencia mixta FAO/OMS sobre aditivos alimentarios**. Geneva, 1956. (Serv. inf. tecn., 129).
40. FERNANDES, J.R. **Avaliação de diferentes tecnologias para o amaciamento da carne bovina *in natura***. 2000. 150f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) – Faculdade e Engenharia de alimentos. Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2000.
41. FELÍCIO, P.E. de. Fatores ante e post-mortem que influenciaram na qualidade da carne vermelha. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 30. Rio de Janeiro, 1993. **Palestras dos simpósios...** Niterói: SBZ, p.43-52, 1993.
42. FRONING, G. W.; SACKETT, B. Effect of salt and phosphates during tumbling of turkey breast muscle on meat characteristics. **J. Poultry Sci.**, v. 64, p. 1328-1333, 1985.
43. FUNG, D.Y.C.; KASTNER, C.L.; HUNT, M.C.; DIKEMAN, M.E.; KROPF, D. Mesophilic and psychotrophic bacteria population on hot-boned and conventionally processed beef. **J. Food Prot.**, 43(7): 547-550, 1980.
44. GAULT, N.F.S. The relationship between water holding capacity and cooked meat tenderness in some beef muscles as influenced by acidic conditions below the ultimate pH. **Meat Sci.**, v.15, n.1, p.15-17, 1985.
45. GILL, C.O. Substrate limitation of bacterial growth at meat surfaces. **J. Appl. Bacteriol.**, v. 41, n.3, p. 401-410, 1976.
46. GILL, C.O.; REICHEL, M.P. Growth of the cold-tolerant pathogens *Yersinia enterocolitica*, *Aeromonas hydrophila* and *Listeria monocytogenes* on high-pH beef packaged under vacuum or carbon dioxide. **Food Microbiol.**, v.6, p.233-334, 1989.
47. GIRARD, J.P. **Tecnología de la carne y de los productos cárnicos**. Espanha, Editora Acribia, 1991. 189p.
48. GUZMÁN, J.C., McMILLIN, K.W., BIDNER, I.D., DUGAS-SIMS, S., GODBER, J.S. Texture, color and sensory characteristics of ground beef patties containing blood proteins. **J. Food Sci.**, v.60, n.4, p.657-660, 1995.
49. HAMM, R. Biochemistry of meat hydration. In: **ADVANCES IN FOOD RESEARCH**. New York: Academic Press, v.10, p. 355-463, 1960.

50. HARADA, M.M. **Efeito da desossa e da marinação sobre as características de processamento, físico-químicas e sensoriais do músculo *Bíceps femoris***. 2004. 78f. Dissertação (Mestrado) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2004.
51. HARMAYANI, E.; SOFOS, J.N.; SCHIMDT, G.R. Fate of *Listeria monocytogenes* in raw and cooked ground beef with meat processing additives. **Int. J. Food Microbiol.**, v.18, p.223-232, 1993.
52. HEDRICK, H.B.; ABERLE, E.D.; FORREST, J.C.; JUDGE, M.D.; MERKEL, R.A. **Principles of Meat Science**. 3ed. Dubuque: Kendall/Hunt Publishing Company, 1994. 354p.
53. HOPKINS, D.L.; THOMPSON, J. Factors contributing to proteolysis and disruption of myofibrillar protein and impact on tenderization in beef and sheep meat. **Aust. J. Agric. Res.**, v.53, p.149-166, 2002.
54. HORWITZ, W (ed). **Official methods of analysis of AOAC international**. Gaithersburg, MD, USA, AOAC International. 18 ed., 2005.
55. HOWELL, N.K.; LAWRIE, R.A. Functional aspects of blood plasma proteins. I. Separation and characterization. **J. Food Technol.**, Oxford, v. 18, n.6, p. 747-762, 1983.
56. HU, A.C., SHELEF, L.A., Influence of fat content and preservatives on the behavior of, *Listeria monocytogenes* in beaker sausage. **J. Food Safety**, v.16, p. 175-181, 1996.
57. HUNT, M.C.; ACTON, J.C.; BENEDICT, R.C.; CALKINS, C.R.; CORNFORTH, D.P.; JEREMIAH, L.E.; OLSON, D.G.; SALM, C.P.; SAVELL, J.W.; SHIVAS, S.D. AMSA Guidelines for meat color evaluation. In: ANNUAL RECIPROCAL MEAT CONFERENCE, 44TH, 9-12 jul. 1991. **Proceedings...** Manhattan, Ks: Kansas States University, 1991. p. 3-17.
58. HUFFMAN, K.L.; MILLER, M.F.; HOOVER, L.C.; WU, C.K.; BRITTIN, H.C.; RAMSEY, C.B. Effect of beef tenderness on consumer satisfaction with steaks and restaurant. Consumed in the home. **J. Anim. Sci.**, v.74, p.91-97, 1996.
59. IOCCA, A.F.S.; IOCCA, F.A.S. Segurança Alimentar: estudo de caso sobre o consumo de carne *in natura* embalada á vácuo – São Paulo/Brasil. In: IX CONGRESO LATINOAMERICANO DE MICROBIOLOGIA E HIGIENE DE LOS ALIMENTOS Y V CONGRESO VENEZOLANO DE CIENCIA Y TECNOLOGIA DE LOS ALIMENTOS. 16-18 mai. 2007. **Anais em CD-Rom...** Isla Marguerita, Venezuela, 2007.
60. JAY, J.M. **Microbiologia de Alimentos**. 6ed., Porto Alegre: Artmed, 2005, 661p.
61. JENSEN, J.M. Effects of lactic and acetic acid salts on quality characteristics of enhanced pork during retail display. **Meat Sci.**, v. 63, p.501-508, 2003.
62. JONES, S.J., BURSON, D.E.; CALKINS, C.R. **Muscle profiling and bovine myology**. 2001. CD-ROM. University of Nebraska-Lincoln, National Cattlemen's

Beef Association, Cattlemen's Beef Board. Disponível em: <http://bovine.unl.edu/>. Acesso em: 20 out. 2006.

63. KANG, I.S.; LANIER, IC. Bovine plasma proteins functions in surimi gelation compared with cysteine protease inhibitor. **J. Food Sci.**, v. 64, n.5, p.842-846, 1999.
64. KEETON, J.T. Effects of fat and NaCl/phosphate levels on the chemical and sensory properties of pork patties. **J. Food Sci.**, v.48 p.878-881, 1983.
65. KINSELLA, J.E. Functional properties of proteins in foods: A survey. **Crit. Rev. Food Sci. Nutr.**, v. 7, n. 3, p. 219-280, 1976.
66. KINSMAN, D.M.; KOTULA, A.W.; BREIDENSTEIN, B.C. **Muscle foods: meat, poultry and seafood technology**. New York: Chapman & Hall, 1994. 573p
67. KNIGHT, P.; ELSEY, J.E.; HEDGES, N. The role of the endomysium in the salt-induced swelling of muscle fibres. **Meat Sci.**, v.26, p. 209-232, 1989.
68. KNIGHT, P.; PARSONS, N. Action of NaClO and polyphosphates in meat processing: responses of myofibrils to concentrated salt solutions. **Meat Sci.**, v.24, p 275-300, 1988.
69. KNIPE, C.L. Production and use of animal blood and blood proteins for human foods. Cap. 6. In **EDIBLE MEAT BY-PRODUCTS**, A. M. PEARSON AND T.R. DUTSON (Ed.), p. 147-165. Elsevier Appl. Sci., London., 1988.
70. KNIPE, C.L.; FRYE, C.B. Characteristics of bovine plasma gels as affected by pH sodium chloride and sodium tripoliphosphate. **J. Food Sci.**, v.55, n.1, p. 252-253, 1990.
71. KOTTER, L.; FISHER, A. The influence of phosphates or polyphosphates on the stability of foams nad emulsion in meat technology. **Fleischwirtschaft**, 3: 265-68, 1975.
72. LAWRIE, R.A. **Ciência da Carne**. 6ed. Porto Alegre: Artmed, 2005. 384 p.
73. LAWRENCE, T.E.; DIKEMAN, M.E.; HUNT, M.C.; KASTNER, C.L.; JOHNSON, D.E. Effects of enhancing beef *longissimus* with phosphate plus salt, or calcium lactate plus non-phosphate water blinders plus rosemary extract. **Meat Sci.**, v. 67, p. 129-137, 2004.
74. LEDWARD, D.A. Meat. In: PRIESTLEY, R.J. (Ed.) Effects of Heating on Foodstuffs. **Applied Science Publishers**. England, 1979. Cap. 5; p.121-157.
75. LEITÃO, M.F.F. Aspectos microbiológicos das carnes. In: **Curso de higiene e sanitização em estabelecimentos de produção e comercialização de carnes e derivados**. Campinas: CTC/ITAL, p.1-6, 1995.
76. LEISTNER, L. **Food design by hurdle technology and HACCP**. Kulmbach: Alberts Raps Foundation, 1994. 62p.

77. LEMOS, A.L.S.C, BARBOSA, A C.L., HARADA, M.M.M., BRUM, M. Influência da composição da salmoura nas características físicas e químicas de cortes bovinos injetados. 1º Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Carnes, **Anais...** São Pedro, 2001.
78. LEMOS, A.L.S.C.; NUNES, D.R.M.; VIANA, A.G. Optimization of still marinating process of chicken parts. **Meat Sci.**, v.52, p. 227-234, 1999.
79. LÜCK, E.; JAGER, M. **Antimicrobial food additives – characteristics, uses, effects**. Berlim – New York: Springer, 1997, 260p.
80. MACA, J.V.; MILLER, R.K.; BIGNER, M.E.; LUCIA, L.M; ACUFF, G.R. Sodium lactate and storage temperature effects on shelf life of vacuum package beef top rounds. **Meat Sci.**, v. 53, p. 23-29, 1999.
81. MALICONI, J.A.de la V. **Efeitos da incorporação de isolado protéico de soja e plasma bovino desidratado nas características de um produto reestruturado de frango**. 1984. 108f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) – Faculdade de Engenharia de Alimentos. Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 1984.
82. McKENNA, D.R.; MIES, P.D.; BAIRD, B.E.; PFEIFFER, K.D.; ELLEBRACHT, J.W.; SAVELL, J.W. Biochemical and physical factors affecting discolouration characteristics of 19 bovine muscles. **Meat Sci.**, v. 70, p. 665-682, 2005.
83. MASON, L.H., CHURCH, I.J., LEDWARD, D.A.; PARSONS, A.L. Review: the sensory quality of foods produced by conventional and enhanced cook–chill methods. **Int. J. Food Sci. Technol.** v.25, p. 247–259, 1990.
84. MASS, M.R., GLASS, K.A., DOYLE, M.P. Sodium lactate delays toxin production by *Clostridium botulinum* in cook-in-bag turkey products. **Appl. Environ. Microbiol.**, v. 55, p.2226-2229, 1989.
85. 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.
86. MEILGAARD, M.; CIVILLE, G.V.; CARR, B.T. **Sensory Evaluation Techniques**. CRC Press, Boca Raton, 1999. 281p.
87. MEDYNSKI, A., POSPIECH, E. E KNIAT, R., Effect of various concentrations of lactic acid and sodium chloride on selected physic-chemical meat traits. **Meat Sci.** v. 55, p. 285-290, 2000.
88. MICHELLINI, R.P.; IOCCA, A.F.S.; PERES, L.R.; LIEBERG, YAMADA, E.A.; HAGUIWARA, M.M.H.; ANDRADE, J.C.; LEMOS, A.L.C.S. Características físicas, químicas, microbiológicas e aceitação de coxão duro (*Biceps femoris*) cozido injetado com salmoura contendo plasma bovino. In: IV CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE CARNES, 09-11 out. 2007. **Anais...** Campinas, p.375-380, 2007.

89. MOELLER, R.J.; COURINGTON, S. **Branded beef study. Consumer's want improved eating consistency from a branded beef product, not a pretty label.** National Cattlemen's Beef Assoc., Englewood, CO. 1998.
90. MOLINA, M.E.; JOHNSON, D.D.; WEST, R.L.; GWARTNEY, B.I. Enhancing palatability traits in beef chuck muscles. **Meat Sci.**, v. 71, p.52-61, 2005.
91. MOLINS, R.A. **Phosphates in food.** CRC Press, Inc. Boca Raton, 1991. 261 p
92. MOTA, B.F. **Influencia dos ingredientes utilizados no processo de marinação sobre a aparência global do lagarto (m. *semitendinosus*) bovino marinado.** 2005. 147f. Dissertação (Mestrado em tecnologia de alimentos) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas. Campinas, 2005.
93. NOSKOWA, G.L. **Microbiologia de las carnes conservadas por el frio.** Zaragoza: Acribia, 1972. 111p.
94. NORTJÉ, G.L.; NAUMANN, H.D.; LAUBSCHER, A.; GROBLER, I.; NAUDÉ, L.; OOSTHUIZEN, W.; JORDAAN, E.; NAUDÉ, R.T. Effects of exercise, electrical stimulation and vacuum packaging on bacterial counts and tenderness of fresh primalcuts. **J. Food Prot.** v. 48, p. 1036-1039, 1985.
95. OCKERMAN, H.W., HANSEN, C.L. **Animal By-product Processing and Utilization.** Lancaster, PA: Techtronic Publishing Co. 2000. 375p
96. 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.
97. ORESKOVICH, D. C. Marinade pH affects textural properties of beef. **J. Food Sci.**, v. 57, p. 305-311, 1992.
98. OSHODI, A. A., OJOKAN, E. Effects of salts on some of the functional properties of bovine plasma protein concentrate. **Food Chem.**, v.59, n.3, p. 333-338, 1996.
99. OFFER, G E TRINICK, J. On the mechanism of water holding capacity in meat: the swelling and shrinking of myofibrils. **Meat Sci.**, v.8, p. 245-281, 1983.
100. O'RIORDAN, D.; KINSELLA, J.E. & MULVIHILL, D.M. Gelation of plasma proteins. **Food Chem.**, v. 33, n.3, p. 203-214, 1989.
101. PAPADOPOULOS, L.; MILLER; RINGER, L.; CROSS, H. Sodium lactate effect on sensory characteristics of cooked meat color and chemical composition. **J. Food Sci.**, v.56, p.621-626, 1991.
102. PARDI, M.C.; SANTOS, I.F. dos; SOUZA, E.R. de; PARDI, H.S. **Ciência, Higiene e Tecnologia da Carne.** 1ed. Goiânia: UFG, 2001. 624p.

103. PATERSON, B.C.; PARRISH, F.C. Jr. Factors affecting the palatability and shelf life of precooked, microwave-reheated beef roasts. **J. Food Sci.**, v.53, p.31-33, 1988.
104. PEARSON, A.M., E GILLET, T.A. **Processed meats**. 3 ed. Gaithersburg, Maryland:An Aspen Publication, 1999.
105. PELCZAR, M.J.; REID, R E CHAN, E.C.S. **Microbiologia**. Trad. PEREIRA, M.A.M. São Paulo: McGraw-Hill do Brasil, p.460-462, 1980.
106. PISKE, D. Aproveitamento de sangue de abate para a alimentação humana – Uma revisão. **Bol. Inst. Tecnol. Alim.**, Campinas: ITAL. v.19, n.3, p.253-308, 1982.
107. PORTO, A.C.S.; TÔRRES, R.C.O.; ILHA, E.C.; LUIZ, M.T.B.; SANT'ANNA, E.S. Influência da composição da salmoura sobre os parâmetros físico, sensoriais e microbiológicos de filés de peito de frango marinados por imersão. **Bol.CEPPA**, Curitiba: UFPR. v. 18, n. 2, p. 141-150, 2000.
108. PRESLAND, F. Microbial threats ready meals. **Int. Food Hyg.**, v.15, n.6, p.15-17, 2004.
109. PRESLAND, F. Microbial update. Shelf-life evaluation. **Int. Food Hyg**, v.16, n.7, p.23-25, 2006.
110. PRESTAT, C., JENSEN, J., ROBBINS, K., RYAN, K., ZHU, L. Physical and sensory characteristics of pre-cooked, reheated pork chops with enhancement solutions. **J. of Muscles Foods**, v.13, p.37-51.2002
111. 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.
112. RAMOS, E.M & GOMIDE, L.A.M. **Avaliação da qualidade de carnes – fundamentos e metodologias**. Viçosa: Ed. UFV, 2007. 599p.
113. RENERRE, M. Review: Factors involved in the discoloration of beef meat. **Int. J. Food Sci. & Technol.**, 25, p. 613-630, 1990.
114. ROSSI JR.,O.D.; SANTOS, I.F.; NADER FILHO, A.; SCHOCKEN-ITURRINO, R.P. Estudo microbiológico do sangue e plasma bovino, obtidos em matadouro, utilizando na elaboração de produtos comestíveis. **Arq. Brás. Méd. Vet. Zoot.** v. 46, n. 1, p. 31-9, 1994.
115. ROBBINS, K., JENSEN, J., RYAN, K.J, MCKEITH, F.K.BREWER, M.S. Enhancement effects on sensory and display characteristics of beef rounds. **J. Muscle Foods**, v.13, p.279-288, 2002.
116. ROBBINS, K., JENSEN, J., RYAN, K.J, MCKEITH, F.K.BREWER, M.S. Consumer attitudes towards beef and acceptability of enhanced beef. **Meat Sci.**, v.65, p.724-729, 2003.

117. SAVELL, J.; SMITH, G.C. **Laboratory Manual for Meat Science**. Texas A&M University, 2000.
118. SCHLYTER, J.H.; GLASS, K.A.; LOEFFELHOLZ, J.; DEGNAN, A.J.; LUCHANSKY, J.B. The effects of diacetate with nitrite, lactate, or pediocin on the viability of *Listeria monocytogenes* in turkey slurries. **Int. J. Food Microbiol.**, set. v.4, p. 271-281, 1993.
119. SEYMORE, T.A., PETERS, M.Y., MORISSEY, M.T., NA, H. Surimi gel enhancement by bovine plasma proteins. **J. Agric. Food Chem.**, v.45, n. 8, p. 2919-2923, 1997.
120. SGARBIERE, V.C. Propriedades funcionais de proteínas em alimentos. **Bol. SBCTA**. v.32, n.1, p. 105-126, 1998.
121. SHELEF, L.A. Antimicrobial effects of lactates: a review. **J. Food Prot.**, v. 57, n. 5, p.445-450, 1994.
122. SHELEF, L.A., ADDALA, L. Inhibition of *listeria monocytogenes* and other bacteria by sodium diacetate. **J. Food Safety**. v. 14, n.2, p. 103, 1994.
123. SHELEF, L.A., POTLURI, V. Behavior of foodborne pathogens in cooked liver sausage containing lactates. **Food Microbiol.**, v. 12, n. 3, p. 221-227, 1995.
124. SHIMOKOMAKI, M; OLIVO, R.; TERRA, N.N.; FRANCO, B.G.M. **Atualidades em ciência e tecnologia de carnes**. 1 ed. São Paulo: Varela, 2006. 236p
125. SHIMP, L.A.. Tips on food grade phosphates. **Engineering**, p.106, Set., 1983.
126. SHULTZ, G.W., RUSSEL, D.R., WIERBICKI, E. Effect of condensed phosphates on pH, swelling and water holding capacity of beef. **J. Food Sci.** 37: 860, 1972.
127. 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.
128. SILVEIRA, A.E.V.G.; GONÇALVES, A.A.; BITTENCOURT, C.R.; GOULART, G.A.S.; SALCEDO, A.M. 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.
129. SIMÕES, M.C.C. **Anemia ferropriva em crianças de 1 a 5 anos internadas com pneumonia: Suplementação com ferro hematínico**. 2003. 132f. Tese (Doutorado em Alimentos e Nutrição) – Faculdade de Engenharia de Alimentos. Universidade Estadual de Campinas. Campinas, 2003.
130. SIMÕES, M.C.C. **Desenvolvimento de um suplemento nutricional rico em ferro hematínico**. Dissertação (Mestre em Ciência da Nutrição). 1998. f – Faculdade de Engenharia de Alimentos. Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 1998.

131. SOFOS, J.N. Use of phosphates in low-sodium meat products. **Food Technol.**, v. 40, n. 9, p. 52-68, 1986.
132. SOUZA, N.L. de. **Efeito da combinação de sal com lactato e diacetato de sódio nas características sensoriais, físico-químicas, cor e textura de um produto similar a carne de sol.** 2005. 112f. Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2005.
133. STILES, M.E. E HASTINGS, J.W. Bacteriocin production by latic acid bacteria: potencial for use in meat preservation. **Trends Food Sci. Technol.**, Cambridge, v 12, n.10, p.247-251, 1991.
134. SURPILLI, L.M., DANTAS, C.E.S., HARADA, M.M., OLIVEIRA, GONÇALVES, J.R., BROMBERG, R.; LEMOS, A.L.S.C. Crescimento microbiano sob refrigeração em carne bovina marinada crua e cozida. In: XIX CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS, 7-10 set. 2004. **Anais em CD-Rom...**, Recife, 2004a.
135. SURPILLI, L. M., RONCAGLIA, G.B., HARADA, M. M., CIPOLLI, K.M.V.A.B.; LEMOS, A. L.S. C. Cor de carne bovina marinada com diferentes salmouras mantida a vácuo sob refrigeração. In: XIX CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS, 7-10 set. 2004. **Anais em CD-Rom...**, Recife, 2004b.
136. VAUDAGNA, S.R.; SÁNCHEZ, G.; NEIRA, M.S.N.; INSANI, E.M.; PICALLO, A.B.; GALLINGER, M.M.; LASTA, J.A. 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.
137. VAN WAZER, J.R. Chemistry of phosphates and condensed phosphates. In: **DE MAN, S.M.; MELNYCHYN, P. (ED) PHOSPHATES IN FOOD PROCESSING: SYMPOSIUM.** Westport, Avi Publ. Co., p.1-23, 1971.
138. VELINOV, P.D., ZHIKOV, M.V., E CASSENS, R.G. The Effect of tumbling, sodium chloride and polyphosphates on the microstructure and appearance of whole-muscle processed meats. **Food Struct.**, v.9, p.91-95, 1990.
139. VIANA, F.R.; SILVA, V.D.M.; BIZZOTTO, C.S.; LABOISSIÈRE, L.H.E.S.; DRUMOND, M.F.B.; OLIVEIRA, A.L.; SILVESTRE, M.P.C. Globina e plasma bovino, como substitutos de gordura em patê de presunto: efeito da incorporação sobre a composição química, textura e características sensoriais. **Alim. Nutr.**, Araraquara, v.14, n.1, p. 77-85, 2003.
140. VOTE, D.J.; PLATTER, W.J.; TATUM, J.D.; SCHMIDT, G.R.; BELK, K.E.; SMITH, G.C.; SPEER, N.C. Injection of strip loins with solutions containing sodium tripolyphosphate, sodium lactate, and sodium chloride to enhance palatability. **J. Anim. Sci.**, v.78, p.952-957, 2000.
141. WEAVER, R.A., SHELEF, L.L. Antilisterial activity of sodium, potassium or calcium lactate in pork liver sausage. **J. Food Safety.**, v.13, p. 13-146, 1993.

142. WIRTH, F. **Tecnologia de los embutidos escaldados**. Acribia, Zaragoza, Espanha, 1992, 237p.
143. WISMER-PEDERSEN, J. Utilization of animal blood in meat products. **Food Technol.**, v.33, n.2, p.76-80, 1979.
144. WIT, J.C. & ROMBOUTS, J.C. Antimicrobial activity of sodium lactate. **Food Microbiol.**, v.7, p.113-120, 1990.
145. WONG, D.W.S. **Mechanisms and theory in chemistry**. New York: Van Nostrand Reinhold, 314 p, 1989.
146. WOOLFORD, M.K. Microbiological screening of straight chain fatty acids, (C₁-C₁₂) as potential silage additives. **J. Sci. Food Agric.**, v.28, p.219-221, 1975.
147. XIONG, Y.L. Role of myofibrillar proteins in water-binding in brine-enhanced meats. **Food Res. Int.**, v.38, p. 281-287, 2005.
148. YOUNG, R.H., LAWRIE, R.A. Utilization of edible protein from meat industry by-products and waste II. The spinning of blood plasma proteins. **J. Food Technol.**, v.9, n.2, p. 171-177, 1974.
149. YOUNG, LL., LYON, C.E., SEARCY, G.K., WILSON, R.L. Influence of Sodium tripolyphosphate and sodium chloride on Moisture-retention and textural characteristics of chicken breast meat patties. **J. Food Sci.**, v.52, n.3, p.571-574, 1987.