

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS**

**EXTENSÃO DA VIDA-DE-PRATELEIRA DA CARNE BOVINA
PELA UTILIZAÇÃO DE SANITIZANTES FÍSICOS E QUÍMICOS**

Paraver

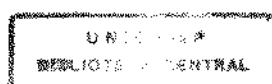
*Este exemplar corresponde a relação final da
tese defendida por João Andrade Silva e
aprovada pela comissão julgadora em
28.04.95.*

Nelson J. Beraquet

Tese apresentada à Faculdade de Engenharia
de Alimentos da Universidade Estadual de
Campinas pelo Engenheiro de Alimentos
João Andrade Silva, para a obtenção do grau
de Doutor em Engenharia de Alimentos.

**Autor: João Andrade Silva
Orientador: Dr. Nelson José Beraquet**

CAMPINAS-1995



UNIDADE	BC
N.º CHAMADA	1/0011WMP
Ex	38L
V	Ex
7	00/24612
PAGE	433,95
C	☐ D ☒ K
PREÇO	R\$ 11,00
DATA	23/05/95
N.º CPD	

Um-00069237-7

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA
BIBLIOTECA CENTRAL - UNICAMP

Silva, João Andrade

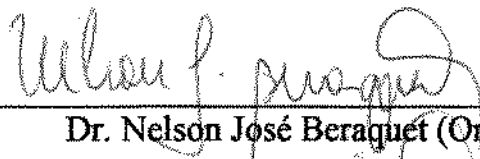
Si38d Extensão da vida-de-prateleira da carne bovina pela
utilização de sanitizantes físicos e químicos / João Andrade
Silva. - - Campinas, SP: [s.n.], 1995

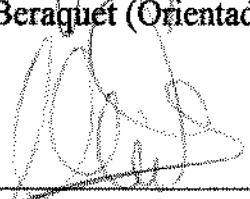
Orientador: Nelson José Beraquet.

Tese (doutorado) - Universidade Estadual de Campinas,
Faculdade de Engenharia de Alimentos.

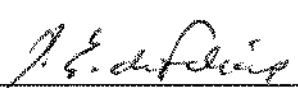
1. Ácidos orgânicos. 2. Carne bovina. 3. Carcaças.
4. Sanitizantes. 5. Vida-de-prateleira. I. Beraquet,
Nelson José. II. Universidade Estadual de Campinas,
Faculdade de Engenharia de Alimentos. III. Título.

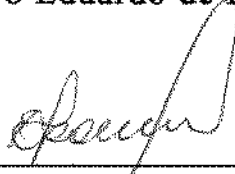
BANCA EXAMINADORA

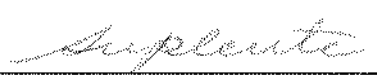

Dr. Nelson José Beraquet (Orientador)


Dr. Mauro Faber de Freitas Leitão


Dr. Murilo Graner


Dr. Pedro Eduardo de Felício


Dr. Edir Napomuceno da Silva


Dr. Arnaldo Yoshiteru Kuaye


Dr. Olavo Rusig

Campinas, 28 de abril de 1995

Aos meus filhos Christiano e Herminia, dedico

AGRADECIMENTOS

Ao Professor Dr. Nelson José Beraquet, pela segura orientação e dedicada atenção em todas as etapas deste trabalho.

Aos professores integrantes da pré-banca, Dr Arnaldo Yoshiteru Kuaye, Dr. Edir Napomuceno da Silva, Dr. Mauro Faber de Freitas Leitão, Dr. Murilo Graner, Dr. Olavo Rusig e Dr. Pedro Eduardo de Felício, pelas correções e sugestões apresentadas à versão inicial do texto deste trabalho.

À Faculdade de Engenharia de Alimentos (FEA), da Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), em particular ao Departamento de Tecnologia de Alimentos, pela cessão de instalações físicas, laboratórios e funcionários durante os ensaios preliminares deste trabalho.

Ao Centro de Tecnologia da Carne (CTC) do Instituto de Tecnologia de Alimentos (ITAL) pela cessão de instalações físicas, laboratórios e funcionários.

Ao Instituto de Zootecnia da Secretaria de Agricultura e Abastecimento do Estado de São Paulo, pela cessão dos animais, para a realização do ensaio final do trabalho.

À Universidade Federal da Paraíba, através do Departamento de Nutrição (DN/CCS) e da Pró-Reitoria de Pós-Graduação e Pesquisa (PRPG), pela oportunidade proporcionada.

À Coordenadoria de Aperfeiçoamento do Pessoal de Ensino Superior (CAPES), pela bolsa de estudos e auxílios concedidos, através do Programa Institucional de Capacitação Docente.

À Fundação Tropical de Pesquisa, "Andre Tosello" pela cessão da cultura de *Pseudomonas spp*, cedida para os testes de eficiência da solução sanitizante.

À Grindsted do Brasil Indústria e Comércio Ltda, pela cessão do alginato de sódio.

À Professora Débora de Queiroz Tavares do DEPAN/FEA/UNICAMP, pelas micrografias em microscopia óptica e pelas valiosas sugestões.

À Médica Veterinária Andréa Viana, pela inspeção dos animais, abatidos no CTC, para a realização da fase final do trabalho.

À Pesquisadora Científica Dra. Vera Lúcia Pupo Ferreira, chefe da Seção de Avaliação e Controle de Qualidade, pelas análises de cor dos músculos e pelas sugestões apresentadas.

À Técnica Especializada Ana Lourdes Gandara, do Laboratório de Microbiologia de Alimentos (DTA/FEA/UNICAMP), pelo auxílio nas análises microbiológicas, durante a fase preliminar do trabalho.

À Dirce Yorika Kabuki e Maria Raquel Manhani, Técnicas Especializadas do Laboratório de Higiene (DTA/FEA/UNICAMP), pelas análises microbiológicas realizadas na fase inicial do trabalho.

À Nilda Montes Villanova, pela valiosa contribuição no delineamento estatístico e nas análises dos resultados.

A todos os funcionários e estagiários do Centro de Tecnologia da Carne (CTC/ITAL) que participaram das análises sensoriais.

A Aparecido, Célia, Cristiane, Dalva, Gláucia, Kátia, Josiane, Luciana, Marcelo, Márcia, Maristela, Marta, Orlando, Renata, Rivaldo e Sandra, pela dedicada colaboração neste trabalho.

A Ana Lourdes, Cláudia, Cristina, Dora, Erna, Lúcia, Nilo e Sílvio; pela amizade.

ÍNDICE

AGRADECIMENTOS.....	III
ÍNDICE.....	V
ÍNDICE DE QUADROS.....	VIII
ÍNDICE DE FIGURAS.....	XI
RESUMO.....	XIII
SUMMARY.....	XVII
1-INTRODUÇÃO.....	1
2-REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	6
2.1-A microbiota da carcaça bovina.....	6
2.2-Sanitização de carcaças pela aplicação de jatos de água a dife- rentes temperaturas.....	14
2.3-Sanitização por agentes químicos.....	17
2.3.1-Emprego do ácido acético.....	21
2.3.2-Emprego do ácido láctico.....	22
2.3.3-Emprego de misturas ácidas.....	24
2.3.4-Emprego de outros sanitizantes.....	27
2.4-Métodos de avaliação microbiológica da carcaça bovina.....	29
3-MATERIAIS E MÉTODOS.....	35
3.1-Eficiência da solução de ácidos orgânicos utilizada como sani- tizante.....	35
3.2-Eficiência da formação do filme de alginato de cálcio.....	35
3.3-Sanitização do <i>tensor fasciae latae</i> bovino, pela aspersão de vapor de água ou solução de ácidos orgânicos.....	36
3.3.1-Ensaio I.....	37
3.3.2-Ensaio II.....	37
3.3.3-Ensaio III.....	38
3.4-Determinação da vida-de-prateleira do <i>tensor fasciae latae</i> bo- vino, submetido a aspersão com vapor de água ou solução de ácidos orgânicos.....	38
3.4.1-Análises microbiológica.....	39
3.4.2-Determinação das perdas de peso.....	41
3.4.3-Determinação do pH.....	41

3.4.4-Determinação das bases voláteis totais (BVT).....	41
3.4.5-Análise sensorial.....	42
3.4.6-Determinação da cor do <i>tensor fasciae latae</i> bovino, pelo sistema Hunter L.a.b.....	42
3.4.7-Análise estatística.....	42
3.5-Sanitização e determinação da vida-de-prateleira de carcaças bovinas, submetidas à aspersão com solução de ácidos orgânicos e da carne obtida após a sua desossa	43
3.5.1-Análises microbiológicas.....	43
3.5.2-Determinação das perdas de peso.....	45
3.5.3-Determinação do pH.....	45
3.5.4-Análise sensorial.....	45
3.5.5-Determinação da cor da superfície da carcaça bovina pelo sistema Hunter L.a.b.....	47
3.5.6-Desossa das carcaças para a determinação da vida-de- prateleira da carne.....	47
3.5.7-Determinação da vida-de-prateleira da carne, após a desossa das carcaças.....	47
4-RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	48
4.1-Eficiência da solução de ácidos orgânicos utilizada como sanitizante.....	48
4.2-Eficiência de soluções de alginato de cálcio na formação de filmes sobre superfícies.....	49
4.3-Vida-de-prateleira do <i>tensor fasciae latae</i> bovino, subme- tido a aspersão com vapor de vapor de água ou solução de ácidos orgânicos - Ensaio I.....	51
4.3.1-Avaliação microbiológica.....	51
4.3.2-Avaliação sensorial.....	54
4.4-Vida-de-prateleira do <i>tensor fasciae latae</i> bovino, submetido a tratamentos por aspersão de soluções de ácidos orgânicos Ensaio II.....	57
4.4.1-Characterização microbiológica do <i>tensor fasciae latae</i> bovino.....	57
4.4.2-Avaliação microbiológica.....	58
4.4.3-Perdas de peso.....	62
4.4.4-Avaliação do pH.....	63
4.4.5-Bases voláteis totais (BVT).....	64

4.4.6-Avaliação sensorial.....	66
4.4.7-Avaliação da cor do <i>tensor fasciae latae</i> bovino pelo sistema Hunter L.a.b.....	68
4.5-Vida-de-prateleira do <i>tensor fasciae latae</i> bovino, submetido a tratamentos por aspersão de soluções de ácidos orgânicos Ensaio III.....	70
4.5.1-Characterização microbiológica do <i>tensor fasciae latae</i> bovino.....	70
4.5.2-Avaliação microbiológica.....	71
4.5.3-Perdas de peso.....	74
4.5.4-Avaliação do pH.....	76
4.5.5-Bases voláteis totais (BVT).....	77
4.5.6-Avaliação sensorial.....	78
4.5.7-Avaliação da cor do <i>tensor fasciae latae</i> bovino pelo sistema Hunter L.a.b.....	81
4.6-Sanitização e vida-de-prateleira da carcaça bovina, submetida a tratamento por aspersão com a solução de ácidos orgânicos.....	84
4.6.1-Avaliação microbiológica.....	85
4.6.2-Perdas de peso.....	89
4.6.3-Avaliação do pH.....	91
4.6.4-Avaliação sensorial.....	93
4.6.7-Avaliação da cor da carcaça bovina pelo sistema Hunter L.a.b.....	95
4.7-Vida-de-prateleira da carne bovina, submetida ao tratamento, após a desossa das carcaças.....	97
4.7.1-Avaliação Microbiológica.....	97
5-CONCLUSÕES.....	103
6-REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	104

ÍNDICE DE QUADROS

QUADRO 1 - Bactérias psicrotróficas do <i>tensor fasciae latae</i> bovino, após tratamentos e durante armazenamento a $10\pm 2^{\circ}\text{C}$. (Log UFC/cm ²).....	52
QUADRO 2 - Avaliação sensorial (odor, cor e aparência) do <i>tensor fasciae latae</i> bovino, após tratamentos e durante armazenamento a $10\pm 2^{\circ}\text{C}$	55
QUADRO 3 - Avaliação sensorial (sabor, odor, maciez e qualidade global) do <i>tensor fasciae latae</i> bovino, após tratamentos e durante armazenamento a $10\pm 2^{\circ}\text{C}$	56
QUADRO 4 - Bactérias psicrotróficas do <i>tensor fasciae latae</i> bovino, após tratamentos e durante armazenamento a $7\pm 2^{\circ}\text{C}$. (Log UFC/cm ²).....	59
QUADRO 5 - Bolores e leveduras do <i>tensor fasciae latae</i> bovino, após tratamentos e durante armazenamento a $7\pm 2^{\circ}\text{C}$. (Log UFC/cm ²).....	61
QUADRO 6 - Percentagem das perdas de peso do <i>tensor fasciae latae</i> bovino, durante armazenamento a $7\pm 2^{\circ}\text{C}$	62
QUADRO 7 - Medidas de pH do <i>tensor fasciae latae</i> bovino, após tratamentos e durante armazenamento a $7\pm 2^{\circ}\text{C}$	64
QUADRO 8 - Bases voláteis totais (BVT) em mg/100g de amostra do <i>tensor fasciae latae</i> bovino, após tratamentos e durante armazenamento a $7\pm 2^{\circ}\text{C}$	65
QUADRO 9 - Avaliação sensorial do <i>tensor fasciae latae</i> bovino, após tratamentos e durante armazenamento a $7\pm 2^{\circ}\text{C}$	67
QUADRO 10 - Bactérias psicrotróficas do <i>tensor fasciae latae</i> bovino, após tratamentos e durante armazenamento a $7\pm 2^{\circ}\text{C}$. (Log UFC/cm ²).....	71

QUADRO 11 - Bolores e leveduras do <i>tensor fasciae latae</i> bovino, após tratamentos e durante armazenamento a $7\pm 2^{\circ}\text{C}$. (Log UFC/cm ²).....	73
QUADRO 12 - Percentagem das perdas de peso do <i>tensor fasciae latae</i> bovino, durante armazenamento a $7\pm 2^{\circ}\text{C}$	74
QUADRO 13 - Medidas de pH do <i>tensor fasciae latae</i> bovino, após tratamentos e durante armazenamento a $7\pm 2^{\circ}\text{C}$	76
QUADRO 14 - Bases voláteis totais (BVT) em mg/100g de amostra do <i>tensor fasciae latae</i> bovino após tratamentos e durante armazenamento $7\pm 2^{\circ}\text{C}$	77
QUADRO 15 - Avaliação sensorial do <i>tensor fasciae latae</i> bovino, após tratamentos e durante armazenamento a $7\pm 2^{\circ}\text{C}$	80
QUADRO 16 - Dados da cor da gordura de cobertura do <i>tensor fasciae latae</i> bovino, mensurados no sistema Hunter L.a.b., após tratamentos e durante armazenamento a $7\pm 2^{\circ}\text{C}$	83
QUADRO 17 - Bactérias psicrotróficas da superfície externa da carcaça bovina, após tratamento e durante armazenamento a $7\pm 2^{\circ}\text{C}$. (Log UFC/cm ²).....	86
QUADRO 18 - Bolores e leveduras da superfície externa da carcaça bovina, após tratamento e durante armazenamento a $7\pm 2^{\circ}\text{C}$. (Log UFC/cm ²).....	88
QUADRO 19 - Percentagem das perdas de peso da carcaça bovina, após tratamento e durante armazenamento a $7\pm 2^{\circ}\text{C}$	89
QUADRO 20 - Medidas de pH da superfície da carcaça bovina, após tratamento e durante armazenamento a $7\pm 2^{\circ}\text{C}$	92
QUADRO 21 - Avaliação sensorial da aparência global da carcaça bovina, após tratamento e durante armazenamento a $7\pm 2^{\circ}\text{C}$	93

QUADRO 22 - Bactérias psicrotróficas e bolores e leveduras, durante o armazenamento refrigerado da carne proveniente da meia carcaça submetida ao tratamento e da meia carcaça controle, desossadas aos 5 dias de estocagem a $7\pm 2^{\circ}\text{C}$. (Log UFC/cm ²).....	98
QUADRO 23 - Bactérias psicrotróficas e bolores e leveduras, durante o armazenamento refrigerado da carne proveniente da meia carcaça submetida ao tratamento e da meia carcaça controle, desossadas aos 8 dias de estocagem. (Log UFC/cm ²).....	99
QUADRO 24 - Bactérias psicrotróficas e bolores e leveduras, durante o armazenamento refrigerado da carne proveniente da meia carcaça submetida ao tratamento e da meia carcaça controle, desossadas aos 15 dias de estocagem. (Log UFC/cm ²).....	101

ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA 1 - Pontos de coleta de amostras na carcaça bovina.....	44
FIGURA 2 - Escala estruturada, para avaliação sensorial.....	46
FIGURA 3 - Micrografia óptica, com contraste de fase e 200 vezes de aumento da solução de ácidos orgânicos seguida da solução de alginato de cálcio, em superfície vítrea.....	49
FIGURA 4 - Micrografias ópticas, em campo escuro e 100 vezes de aumento da solução de ácidos orgânicos mais alginato de cálcio, em superfície vítrea.....	50
FIGURA 5 - Bactérias psicrotróficas do <i>tensor fasciae latae</i> bovino, após tratamentos e durante armazenamento a $10\pm 2^{\circ}\text{C}$	53
FIGURA 6 - Bactérias psicrotróficas do <i>tensor fasciae latae</i> bovino, após tratamentos e durante armazenamento a $7\pm 2^{\circ}\text{C}$	60
FIGURA 7- Dados da cor da superfície externa do <i>tensor fasciae latae</i> bovino, mensurados no sistema Hunter L.a.b., após tratamentos e durante armazenamento a $7\pm 2^{\circ}\text{C}$	69
FIGURA 8 - Bactérias psicrotróficas do <i>tensor fasciae latae</i> bovino, após tratamentos e durante armazenamento a $7\pm 2^{\circ}\text{C}$	72
FIGURA 9- Dados da cor da superfície externa do <i>tensor fasciae latae</i> bovino, mensurados no sistema Hunter L.a.b., após tratamentos e durante armazenamento a $7\pm 2^{\circ}\text{C}$	82
FIGURA 10 - Bactérias psicrotróficas da carcaça bovina, após trata- mento e durante armazenamento a $7\pm 2^{\circ}\text{C}$	87
FIGURA 11 - Percentagem das perdas de peso da carcaça bovina, após tratamento e durante armazenamento a $7\pm 2^{\circ}\text{C}$	90
FIGURA 12 - Avaliação sensorial da aparência global da carcaça bovina, após tratamento e durante armazenamento a $7\pm 2^{\circ}\text{C}$. Em escala estruturada com 12 pontos. 0=Nenhuma alteração a 12=Extremamente alterada.....	94

FIGURA 13 - Dados da cor, da superfície externa da carcaça bovina, mensurados no sistema Hunter L.a.b., após tratamento e durante armazenamento a $7\pm 2^{\circ}\text{C}$	96
--	----

RESUMO

Numa primeira etapa determinou-se a vida-de-prateleira do *tensor fasciae latae* bovino, em três ensaios. No Ensaio I os músculos foram tratados por aspersão com uma solução de ácidos orgânicos contendo 2,00% de ácido acético, 1,00% de ácido láctico, 0,25% de ácido cítrico e 0,10% de ácido ascórbico), e com vapor a 80°C, e armazenados a 10±2°C. No Ensaio II os músculos foram aspergidos com: a) a mesma solução do Ensaio I; b) a mistura dessa solução mais 0,50% de alginato de sódio e 0,10% de carbonato de cálcio; c) a solução de ácidos seguida da aspersão com 0,50% de alginato de sódio e 0,10% de carbonato de cálcio, e armazenados a 7±2°C. No Ensaio III os músculos foram aspergidos com: a) solução de ácidos; b) solução de ácidos adicionada de 2,00% de sorbato de potássio; c) solução ácida contendo 0,50% de alginato de sódio e 0,10% de carbonato de cálcio, e armazenados a 7±2°C.

Avaliações físicas, químicas e microbiológicas foram utilizadas na determinação da vida-de-prateleira dos músculos. Para isso, determinou-se a cor no sistema Hunter L.a.b., bases voláteis totais (BVT), contagem total de bactérias mesófilas, psicrotróficas, coliformes, bolores e leveduras, *Enterobacteriaceae* e presença de *Salmonella spp.*

No Ensaio I a aspersão com a solução de ácidos orgânicos reduziu a contagem inicial de bactérias psicrotróficas de 2,98 log UFC/cm² no controle para 1,95 log UFC/cm², enquanto que os músculos tratados com vapor tiveram uma pequena redução para 2,68 log UFC/cm². Após seis dias de estocagem, o controle e os músculos tratados com vapor apresentaram contagens de bactérias psicrotróficas de 7,84 e 7,49 log UFC/cm², indicativas de deterioração, enquanto que os músculos tratados com a solução de ácidos apresentavam 5,55 log UFC/cm². Nos músculos tratados com a solução ácida a avaliação sensorial do odor e da aparência recebeu inicialmente menores escores, mas após seis dias de estocagem, não se diferenciavam do controle e dos músculos tratados com vapor.

Este ensaio revelou que o tratamento com a solução de ácidos orgânicos reduz a carga microbiana dos músculos, sem prejuízo das suas características sensoriais, enquanto que, o tratamento com vapor não foi eficiente na redução da carga microbiana.

A caracterização microbiológica do *tensor fasciae latae* bovino, realizada no Ensaio II revelou contagens da bactérias mesófilas de 2,49 log UFC/cm², psicrotróficas 2,51 log UFC/cm², bolores e leveduras 1,66 log UFC/cm² *Enterobacteriaceae* 1,12 log UFC/cm², ausência de coliformes e de *Salmonella spp.*

Todos os tratamentos foram efetivos na redução das bactérias psicrotróficas: após nove dias de estocagem, observou-se contagens de 5,45 log UFC/cm² para o controle e entre 4,51 e 4,89 log UFC/cm² para os músculos submetidos aos tratamentos. *Enterobacteriaceae* não foram detectadas nos músculos, depois dos tratamentos. Os tratamentos não tiveram efeitos significativos sobre a contagem total de bolores e leveduras que passou de 1,66 log UFC/cm² iniciais para 4,44-4,90 log UFC/cm², aos nove dias de armazenamento.

Os tratamentos com as soluções ácidas reduziram inicialmente o pH da superfície dos músculos de 5,57 para 3,97-4,21, mas 24 horas depois do tratamento, já não havia diferença significativa entre os valores dos músculos tratados (5,12-5,33) em relação ao controle com 5,35. No final do ensaio, o pH da superfície dos músculos situava-se na faixa de 5,52-5,72. As bases voláteis totais não atingiram valores característicos de carne deteriorada, ficando na faixa de 1,75-1,97 mgN/100g de músculo, após os nove dias de estocagem. Os valores de tristímulo da cor revelou que os tratamentos não afetaram significativamente a luminosidade (L Hunter) nem os teores de vermelho (a Hunter) e amarelo (b Hunter). A avaliação sensorial da cor confirmou esses resultados, visto que, de maneira geral, não houve diferenças significativas na cor dos músculos submetidos aos tratamentos e do controle. A avaliação sensorial do odor e da aparência mostrou a mesma tendência. Portanto, os resultados obtidos no Ensaio II permitem concluir que os tratamentos com as soluções ácidas, foram efetivos na redução da carga microbiana dos músculos sem afetar significativamente as suas características sensoriais.

Os músculos utilizados no Ensaio III apresentaram contagens microbiológicas similares às do Ensaio II: bactérias mesófilas 2,64 log UFC/cm², bactérias psicrotróficas 2,60 log UFC/cm², bolores e leveduras 2,41 log UFC/cm²; coliformes, *Enterobacteriaceae* e *Salmonella spp.*, não foram detectadas.

Os dados da avaliação microbiológica do Ensaio III, confirmaram os resultados obtidos no Ensaio II, sendo que a solução contendo 2,00% de sorbato de potássio não foi significativamente efetiva na redução da contagem de bolores e leveduras. As perdas de peso foram maiores que as observadas no Ensaio II, situando-se entre 13,39 nos músculos tratados com a solução de ácidos orgânicos e 15,72 no tratamento com a solução ácida mais alginato de cálcio, com dez dias de armazenamento a $7\pm 2^{\circ}\text{C}$. Os teores de BVT foram ligeiramente superiores aos observados no Ensaio II, mas a faixa de valores encontrada, após dez dias de estocagem, 2,66-2,76 mgN/100g de músculo, não é característica de carne deteriorada. Os valores da luminosidade (L Hunter) e os teores de vermelho (a Hunter) e amarelo (b Hunter) foram maiores que os observados no Ensaio II, (L Hunter) situou-se na faixa de 38,14-44,10 e caiu para 31,14-29,75, no final da estocagem. A diferença deveu-se provavelmente a otimização da medida dos parâmetros de tristímulos de cor no Ensaio III. A avaliação sensorial da cor mostrou que depois de sete dias de estocagem, os músculos tratados com a solução de ácidos e os tratados com ácidos mais sorbato de potássio obtiveram escores significativamente maiores do que o controle e os músculos tratados com a solução contendo alginato de cálcio.

Uma análise global dos três ensaios indicou que as várias soluções alternativas à mistura de ácidos orgânicos não mostraram vantagens claras do ponto de vista da sanitização, nem nas características sensoriais dos músculos tratados, e portanto, decidiu-se utilizar somente a mistura de ácidos orgânicos numa segunda fase de estudos.

Na segunda fase, utilizou-se carcaças de três animais com o objetivo de determinar sua vida-de-prateleira. Três meias carcaças foram aspergidas com a solução ácida e as três meias carcaças correspondentes, foram utilizadas como controle. A determinação da vida-de-prateleira foi feita pela contagem de bactérias psicrotróficas e de bolores e leveduras e pela avaliação sensorial. Após 5, 8 e 15 dias de estocagem à $7\pm 2^{\circ}\text{C}$ cortes do dianteiro e do traseiro retirados das carcaças foram estocados nas mesmas condições, para determinar sua vida-de-prateleira, pela contagem de bactérias psicrotróficas e de bolores e leveduras.

A aspersão das carcaças com a solução de ácidos orgânicos baixou o pH de sua superfície, de 6,94 para 5,21. Esse fato pode explicar a redução

da contagem total de bactérias psicrotróficas que passou de 1,83 log UFC/cm² para 5,35 log UFC/cm² no controle e de 1,26 log UFC/cm² para 3,54 log UFC/cm² nas meias carcaças tratadas, aos 15 dias de armazenamento. Essa redução de mais de 90% na contagem de bactérias psicrotróficas foi observada em todas as épocas de determinação. Bolores e leveduras iniciaram seu crescimento após 5 dias de estocagem, no controle e após 11 dias, nas meias carcaças submetidas ao tratamento. Aos 15 dias de armazenamento, as contagens de bolores e leveduras eram 4,81 e 4,54 log UFC/cm² respectivamente.

As perdas de peso inicialmente maiores nas meias carcaças submetidas ao tratamento, se nivelaram aos 11 dias de estocagem ficando na ordem de 4,5%. As medidas dos tristímulos de cor não revelaram diferenças devidas ao tratamento, com a luminosidade (L Hunter) variando de 48,2-46,6, no início do ensaio para 33,4-35,0 no final da estocagem. Os teores de vermelho (a Hunter) situaram-se na faixa de 6,2 a 10,9, e os teores de amarelo (b Hunter) na faixa de 1,9 a 4,3. Numa escala de 0=nenhuma alteração a 12=extremamente alterada, os provadores não conseguiram detectar diferenças significativas entre as carcaças que receberam o tratamento e o controle. Aos 15 dias de estocagem, todas as carcaças receberam escores próximos de 8,0 correspondente a muito alterada. Com base nesses resultados pode ser sugerido que a vida-de-prateleira das carcaças foi inferior a 15 dias. As meias carcaças foram rejeitadas pela aparência, antes de apresentarem contagens microbianas indicativas de deterioração.

As contagens de bactérias psicrotróficas dos cortes retirados das meias carcaças desossadas aos 5 dias de estocagem foram 4,87 log UFC/cm² para o controle e 3,87 log UFC/cm² para o tratamento. Com 11 dias de estocagem esses valores foram 5,55 e 5,67 log UFC/cm² respectivamente. Os altos valores da contagem de bolores e leveduras 3,76- 5,51 log UFC/cm² provavelmente foram devidos às operações de desossa. Após 8 dias de estocagem das carcaças os cortes oriundos da meia carcaça controle apresentaram contagens acima de 6,0 log UFC/cm² após 5 dias de estocagem, enquanto que, após 11 dias, os tratamentos ainda tinham atingido este valor. Na carcaça desossada aos 15 dias de estocagem, o controle apresentou contagens de bactérias psicrotróficas superiores a 6 log UFC/cm², sendo considerados deteriorados, enquanto que, os cortes tratados continuaram aceitáveis até o oitavo dia de armazenamento.

SUMMARY

In a series of three trials the shelf-life of *tensor fasciae latae* was determined. In Trial I the muscles were sprayed with a solution of organic acids containing acetic acid 2.00%, lactic acid 1.00%, citric acid 0.25% and ascorbic acid 0.10% and with steam at 80°C, stored at 10±2°C. In Trial II the muscles were sprayed with: a) acid solution, as in Trial I; b) acid solution, sodium alginate 0.50% and calcium carbonate 0.10%); c) acid solution and another spray of sodium alginate 0.50% and calcium carbonate 0.10%, stored at 7±2°C. In Trial III the muscles were sprayed with: a) acid solution; b) acid solution and 2.00% of potassium sorbate; c) acid solution, sodium alginate 0.50% and calcium carbonate 0.10%). stored at 7±2°C.

Physical, chemical and microbiological determinations were used for determining the shelf-life of the muscles. For this, colour was determined in Hunter L.a.b. system, total volatile base (TVB), and microbiological analysis: included mesophiles, psychrotrophic bacteria, molds and yeasts, coliforms, *Enterobacteriaceae* count and presence of *Salmonella spp.*

In Trial I the spraying with the acid solution reduced psychrotrophic bacteria count from 2.98 log UFC/cm² in the control to 1.95 log UFC/cm², in the treated muscles, while the muscles treated with steam had a slight reduction to 2.68 log UFC/cm². After six days of storage, the control and the treatment with steam presented psychrotrophic bacteria counts of 7.84 and 7.49 log UFC/cm² indicating its deterioration. Muscles treated with the acid solution in sensory evaluation of odour and appearance, initially had the lower scores, but after six days of storage there was no difference between control and treated muscles. This trial revealed that the treatment with acid solution reduces the microbiological load of the muscles without harming its sensory characteristics, while the treatment with steam was not efficient in reducing the microbiological load.

The microbiological characterization of *tensor fasciae latae* bovine conducted in Trail II showed mesophiles bacteria counts of 2.49 log UFC/cm², psychrotrophic bacteria counts of 2.51 log UFC/cm², molds and yeasts counts of 1.66 log UFC/cm², *Enterobacteriaceae* counts of 1.12 log UFC/cm²; coliforms and *Salmonella spp* were absent.

All treatments were effective in reducing psychrotrophic bacteria: after nine days of storage the count were 5.45 log UFC/cm² in the control and between 4.51 and 4.89 log UFC/cm² in the muscles treated with the acid solution. *Enterobacteriaceae* were not detected after treatment of the muscles. The treatments had no significant effect on molds and yeasts counts that were 1.66 log UFC/cm² at the beginning to 4.44-4.90 log UFC/cm² at nine days of storage.

The treatments with the acid solution reduced initially the pH of the muscles surfaces from 5.57 to 3.97-4.21, but 24 hours after treatments, had no significant difference between pH of the treated muscles (5.12-5.33) and control (5.35). With nine days of storage, the surface muscles pH were 5.52-5.72. The total volatile bases values did not reach those characteristics of spoilage meat, varying between 1.75 and 1.97 mgN/100g of muscle, after nine days of storage. The objective evaluation of colour showed that the treatments had no significant change in luminosity (L Hunter) nor red (a Hunter) and yellow (b Hunter). The sensory evaluation of colour confirmed these results since in general there were no significant differences in colour of treated muscles and control. The sensory evaluation of odour and appearance showed the same trend. Therefore, the results of Trial II allow to conclude that the treatments with acid solution were effective in the reduction of microbiological load of the muscles, without affecting its sensory characteristics.

The muscles used in Trial III showed the same microbiological counts observed in Trial II: mesophiles bacteria 2.64 log UFC/cm², psychrotrophic bacteria 2.60 log UFC/cm², molds and yeasts 2.41 log UFC/cm²; coliforms, *Enterobacteriaceae* and *Salmonella spp* were absent.

The microbiological counts of the Trail III ratify the results obtained in Trial II, but the solution contain potassium sorbate 2.00% was not efficient in reducing molds and yeasts. The losses in weight were higher than in Trial II, between 13.39% in muscles treated with acid solution and 15.72 in muscles treated with the acid solution plus sodium alginate 0.50% and calcium carbonate 0.10%), after ten days of storage at 7±2°C. The total volatile bases were a little higher than in Trail II, but after ten days of storage were 2.66-2.76 mgN/100g of muscle, well below values that indicate spoilage. The Hunter colour were higher than in Trail II; at the

beginning luminosity (L Hunter) were 38.15-44.10 at and of storage were 31.14-29.75. These differences were probably result of otimization of the colour measurement technique. The sensory evaluation of colour showed that after seven days of storage, the muscles that were treated with acid solution and 200% of potassium sorbate had scores significantilly higher than the control and the muscles treated with acid solution, sodium alginate 0.50% and calcium carbonate 0.10%.

General analysis of the three trials showed that the several solutions alternatives to the acid organic solution didn't show clear advantage in sanitization nor in sensory characteristics of the muscles and therefore it was use only acid solution in a second series of studies.

In this second series of studies carcasses of three animals were used with the aim to determine its shelf-life. Three half carcasses were sprayed wiht acid solution and three hahf carcasses were used as controls. The determination of shelf-life was established using psychrotrophic bacteria, molds and yeasts counts, and sensory anlysis. After 5, 8 and 15 days of storage at $7\pm 2^{\circ}\text{C}$, beef of the deboned carcasses were stored at the same condiction to determine its additioanl shelf-life by measuring counts of psychrotrophic bacteria and molds and yeasts.

The treatment of carcasses with the acid solution lowrer its surface pH, from 6.94 to 5.21. This fact explain the reduction of psychrotrophic bacteria count that were $1.83 \log \text{UFC}/\text{cm}^2$ to $5.35 \log \text{UFC}/\text{cm}^2$ in control and $1.26 \log \text{UFC}/\text{cm}^2$ to $3.54 \log \text{UFC}/\text{cm}^2$ in half carcasses treated, after 15 days of storage. This reduction: more than 90% of the psychrotrophic bacteria counts was observed in all times. Molds and yeasts began its development after 5 days in control and after 11 days in treated carcasses. After 15 days of storage molds and yeasts counts were respectively 4.81 e $4.54 \log \text{UFC}/\text{cm}^2$.

The losses in weight were initially higher in treated carcasses but after 11 days of storage were similar and around 4.5%. The Hunter L.a.b. colour did not show differences due to treatments. The luminosity (L Hunter) were 48.2-46.6 in beginning of the trial and 33.4-35.0 at end of store. The value of red (a Hunter) were 6.2-10.9 and yellow (b Hunter) were 1.9-4.3. Sensory analisis did not detect differences between treatment and control.

But after 15 days of storage all half carcasses were considered spoiled due to its appearance, before bacterial counts would indicated deterioration.

Psychrotrophic bacteria counts of the beef of the carcasses deboned after 5 days of storage were 4.87 log UFC/cm² in control and 3.87 log UFC/cm² in beef treated. After 11 days of storage this values were 5.55 and 5.67 log UFC/cm². The high molds and yeasts counts of 3.76-5.51 were probably increased during deboning. After 8 days of storage of the carcasses the beef control showed psychrotrophic bacteria counts above 6.0 log UFC/cm² after 5 days of storage, while the beef submitted to acid spray did not reach value after 11 days of storage. In half carcasses deboned at 15 days of storage, the beefs from the control half carcass showed psychrotrophic bacteria counts above 6.0 log UFC/cm² and were considered spoiled while beef from the acid sprayed carcass were still acceptable for 8 days.

1-Introdução

A carne é definida por GRAU (1986) como sendo uma porção de tecido comestível, localizada entre duas regiões altamente contaminadas por microrganismos. Estas duas regiões são a área externa, coberta por pele, pêlos, lã ou penas e a parte interna onde está localizado o trato gastrintestinal. O principal objetivo no abate de animais domésticos, para consumo humano, é obter esse tecido com a menor contaminação possível.

Após o abate do animal, seus músculos sofrem várias transformações bioquímicas, responsáveis pela conversão desses músculos em carne. Se estas transformações não forem controladas a contento, a carne deteriora-se rapidamente. No passado, antes do advento da refrigeração, a carne era consumida logo após o abate do animal, antes mesmo que os contaminantes microbianos pudessem desenvolver-se a ponto de deteriorá-la ou produzir toxinas, capazes de por em risco a saúde do público consumidor. Este procedimento, aliado ao reduzido número de abates necessários, eliminava, em parte, as preocupações com uma higiene mais adequada. Essa prática pode ser observada ainda hoje, em países subdesenvolvidos, principalmente em regiões com cadeias de frio deficitárias (JUDGE et alii, 1989).

Nas sociedades mais desenvolvidas, o consumo da carne vem se expandindo continuamente, forçando portanto o aumento no número de abates e, conseqüentemente, o aprimoramento das técnicas de higienização de animais, abatedouros, utensílios e manipuladores, com a finalidade de evitar contaminações cruzadas, com microrganismos patógenos e deterioradores. O aparecimento das grandes metrópoles provocou o afastamento dos abatedouros dos grandes centros consumidores, o que aumentou ainda mais o tempo entre o abate do animal e o consumo da sua carne, aumentando a necessidade do uso da refrigeração para estoque, transporte e comercialização.

Segundo STEVENSON et alii (1978), a refrigeração mecânica, um dos métodos mais utilizados na preservação da carne fresca, exerce essa função limitando o crescimento de microrganismos deterioradores e reduzindo a velocidade das reações bioquímicas e enzimáticas, que ocorrem durante a transformação do músculo em carne, iniciada logo depois da morte do animal, o que pode contribuir para acelerar sua deterioração.

A higiene da carne tem despertado a preocupação de muitos pesquisadores, dentre eles ANDERSON et alii (1980b), ANDERSON & MARSHALL (1982a), SMULDERS (1987), BACUS (1988), DICKSON (1988), SNIJDERS (1988), CARTIER (1992), PRASAI et alii (1992) e GILL & PHILLIPS (1993). Os trabalhos desenvolvidos nessa área visam aumentar a vida-de-prateleira da carne, aprimorando as técnicas de abate e de manipulação mais adequadas ou eliminando microrganismos patógenos e deterioradores, capazes de alterar a sanidade da carne e expor o consumidor a riscos de infecções pelo consumo da carne de animais abatidos e processados fora de padrões higiênico-sanitários satisfatórios.

Para estabelecer técnicas higiênico-sanitárias eficientes, os pesquisadores necessitam conhecer a microbiota da superfície da carne, como também a sua procedência. Esta flora depende das condições em que os animais foram criados, abatidos e processados. A natureza e o nível da flora contaminante tem importantes conseqüências para a saúde pública, vida-de-prateleira da carne e tipo de deterioração por ela desenvolvida.

Nos últimos anos, muitas pesquisas têm sido feitas no sentido de fornecer à indústria da carne meios seguros para que ela possa suprir tais necessidades. Neste sentido, a indústria de produtos químicos destinados à higienização dos abatedouros e das usinas de processamento vêm conseguindo grandes avanços.

Nos abatedouros comerciais, responsáveis pelo abate de animais domésticos destinados ao consumo e à industrialização, a lavagem das carcaças, após a esfolagem e a evisceração, com a finalidade de remover sangue, pêlos e outras sujidades, é uma prática rotineira. Ainda assim, os pesquisadores dessa área de conhecimentos continuam dando muita atenção ao efeito sanitizante desta técnica. KOTULA et alii (1974), utilizaram uma solução com 200 ppm de cloro e reduziram em mais de três ciclos logarítmicos a microbiota inicial da carcaça bovina. SNIJDERS (1988) considerou a lavagem da carcaça do animal recém-abatido uma medida importante, nas boas práticas de produção da carne. ELLEBROEK et alii (1993) não detectaram diferença significativa quando compararam a contagem total de bactérias aeróbias e de *Enterobacteriaceae*, em carcaças de carneiros submetidas à lavagem com jatos de água, com a contagem dos mesmos microrganismos em carcaças controle, sem o tratamento.

A lavagem com água aquecida e com vapor têm sido bastante estudadas. SMITH & GRAHAN (1978) reduziram em mais de 99% a contagem de *Salmonella* e *Escherichia coli* inoculadas em carcaças de carneiros submetidas a um tratamento com água a 80°C durante 10 segundos. POWELL & CAIN (1987) reduziram em 2,5 ciclos logarítmicos a contagem total de microrganismos aeróbios empregando o mesmo tratamento, em carcaças bovinas. DAVEY & SMITH (1989) desenvolveram uma cabine para a lavagem da carcaça bovina com água aquecida e BARKETE et alii (1993) reduziram significativamente a microbiota inicial da carcaça bovina, por um tratamento com água a 82°C.

Nos últimos 15 anos, a utilização de agentes químicos na sanitização de carcaças de animais domésticos recém-abatidos, destinados ao consumo humano, tem sido exaustivamente estudada, tendo como principais objetivos a eliminação de microrganismos patógenos e deterioradores, visando aumentar a sanidade e a vida-de-prateleira da carne. BARULA & CHELEF (1980) utilizaram glicose para suprimir o crescimento de *Pseudomonas* em carnes. OSTHOLD et alii (1984) reduziram em 3,5 log UFC/cm² a contagem total de bactérias aeróbias e em 4,0 log UFC/cm² a contagem de *Enterobacteriaceae* em carcaças bovinas tratadas pela aspersão de uma solução ácida. ZAMORA & ZARITZKY (1987) conseguiram reduções significativas na contagem total de bactérias aeróbias, pela utilização de soluções de sorbato de potássio. ANDERSON et alii (1988) reduziram significativamente a microbiota inicial existente em carcaça de carneiros pela aspersão de uma solução contendo 3,0% de ácido acético a 55°C e ANDERSON & MARSHALL (1989), estudaram o efeito de várias concentrações de ácido acético, em diferentes temperaturas, na redução de diversas espécies de microrganismos inoculadas à superfície da carne bovina. PRASAI et alii (1991) reduziram em mais de 90% a contagem total de microrganismos da superfície da carcaça bovina, pela aspersão de 1,0% de ácido láctico a 55°C e PRASAI et alii (1992) utilizaram este mesmo tratamento na sanitização de carcaças suínas. SIRAGUSA & DICKSON (1993) reduziram significativamente a população de microrganismos patógenos em carnes, tratando-as com soluções de ácido láctico ou de ácido acético e CUTTER & SIRAGUSA (1994) estudaram o efeito de diferentes concentrações dos ácidos láctico e acético na eliminação de *Escherichia coli* e *Pseudomonas* aderidas à superfície da carne bovina.

Embora o número de estudos sobre a utilização de agentes químicos na sanitização da carne seja bastante elevado, muitas divergências são encontradas em fatores como agentes a serem utilizados, concentração dos agentes, forma de aplicação, temperatura, tempo de contato e análise dos resultados encontrados. Em muitos dos estudos realizados, não foram pesquisados os efeitos dos tratamentos da carcaça sobre a qualidade da carne. Além disso, na literatura consultada, não foi encontrada nenhuma referência de trabalhos realizados no Brasil, com relação ao emprego desses agentes na sanitização da carcaça bovina.

O transporte da carne, dos centros produtivos para os centros consumidores freqüentemente é feito em caminhões frigoríficos que, muitas vezes, não preenchem os requisitos necessários para manter a carne em temperaturas adequadas ao transporte de alimentos perecíveis (GILL & PHILLIPS, 1993). Em países com grande extensão territorial e temperaturas elevadas, como o Brasil, as dimensões desses problemas são ainda maiores, visto que sua frota disponível, destinada ao transporte desses alimentos, não é suficiente para atender as necessidades do setor (NEVES FILHO, 1992).

Segundo levantamento feito por NEVES FILHO (1992), 70% da produção de alimentos no Brasil é escoada pelo transporte rodoviário. Nos últimos dez anos, a frota responsável por esse transporte, não tem sido repostada convenientemente. No setor de transporte refrigerado, os dados disponíveis são ainda mais escassos; o autor adverte, que em 1986, apenas 2% dos caminhões produzidos pela indústria automobilística brasileira foi destinada ao setor de transporte refrigerado. Levando-se em consideração as longas distâncias percorridas pelos carregamentos de carnes, dos centros de produção até os centros consumidores, e o precário estado de conservação das rodovias sugere-se a utilização de técnicas de sanitização desse produto para aumentar sua resistência à deterioração microbiana, e conseqüentemente possibilitar o seu transporte a temperaturas mais elevadas sem alterar a sua qualidade.

Para estender a vida-de-prateleira da carne fresca, transportada sem refrigeração ou com refrigeração inadequada, KONDAIAH et alii (1985) sugerem que esta carne seja submetida a tratamentos com produtos químicos não tóxicos e de grau alimentício, como é o caso dos ácidos orgânicos.

O emprego de agentes químicos ou físicos na sanitização da carcaça bovina pode aumentar sua resistência à deterioração microbiana durante o

transporte entre os centros de produção e de consumo. Essa alternativa pode ser utilizada como forma de resolver o problema de transporte de carcaças, em países extensos e de temperaturas elevadas, como o Brasil, em que as exigências legais do transporte desse produto ainda não são observadas em sua totalidade.

O objetivo deste estudo foi de verificar a viabilidade da sanitização da carcaça bovina, como forma de resolver ou pelo menos reduzir as dimensões dos problemas que ocorrem durante o transporte desse produto. Para tanto, foi utilizado um agente físico (vapor a 80°C) e agentes químicos, soluções contendo 2,00% de ácido acético, 1,00% ácido láctico, 0,25% de ácido cítrico, 0,10% de ácido ascórbico e 2,00% de sorbato de potássio na sanitização da superfície da carne e posteriormente da carcaça bovina.

Pesquisou-se também a utilização de uma película pós-formada, com 0,50% de alginato de sódio e 0,10% de carbonato de cálcio, com o objetivo de evitar recontaminações e reduzir as perdas de peso da carne durante a estocagem refrigerada.

Realizou-se o estudo da vida-de-prateleira, por análises físico-químicas (perdas de peso, pH, bases voláteis totais (BVT) e cor da superfície pelo sistema Hunter L.a.b.), sensoriais (odor, cor do músculo e da superfície externa e qualidade global) e microbiológicas (contagem total de bactérias psicrotróficas, bolores e leveduras e *Enterobacteriaceae*) da carne e posteriormente da carcaça bovina submetida aos tratamentos, antes e depois da desossa. Durante a estocagem utilizaram-se temperaturas entre 7 e 10°C, mais elevadas do que as temperaturas convencionalmente utilizadas no armazenamento da carne bovina refrigerada e próximas às temperaturas observadas nos caminhões frigoríficos, durante o transporte.

2-Revisão Bibliográfica

2.1-A Microbiota da Carcaça Bovina

A maior parte da microbiota da carne *in natura* encontra-se em sua superfície (GILL, 1979). O conhecimento da microbiota contaminante da superfície da carcaça bovina e, conseqüentemente, da carne fresca é absolutamente necessário, e considerado como fator principal, quando se procura estabelecer técnica para melhorar a conservação da carne (NOTTINGHAM, 1982). A vida-de-prateleira da carne fresca pode ser determinada pelo número inicial de contaminantes microbiológicos e pela temperatura de estocagem das carcaças após o abate dos animais, visto que a sua deterioração está diretamente relacionada com o número e o tipo de microrganismos contaminantes (ROBERTS et alii, 1984 e ELLEBROEK et alii, 1993).

A microbiota da carcaça bovina depende das condições em que os animais foram criados, abatidos e processados. Os fatores mais importantes, que determinam a qualidade microbiológica da carne são a higienização do animal antes do abate, as condições higiênicas nos locais de abate e de processamento, o tempo, a temperatura e as condições de estocagem e distribuição (NOTTINGHAM, 1982).

Devido à sua composição, rica em elementos nutritivos necessários ao desenvolvimento microbiano, a carne é muito perecível, podendo deteriorar-se em um breve espaço de tempo. A sua vida-de-prateleira depende principalmente da contaminação inicial da carcaça. O tipo e o número de microrganismos presentes na carne refletem o grau de sanitização do abatedouro como também das condições de armazenamento após o abate, o que define naturalmente a qualidade da carne (ALI et alii, 1982). Na opinião de BUTLER et alii (1979), a determinação desses microrganismos é de suma importância para controlar a qualidade da carne.

Para entender a flora deterioradora que se desenvolve na carne durante o armazenamento refrigerado é necessário conhecer a flora contaminante inicial, as condições necessárias para o seu desenvolvimento, as alterações provocadas pelo processo de crescimento desses microrganismos e as interações existentes entre as espécies (GILL & NEWTON, 1978).

Na opinião de NOTTINGHAM (1982) e PALUMBO (1986), o fator mais importante na seleção da microbiota da carne fresca é a temperatura. Ela não só determina o aumento ou a redução do número de contaminantes, como também tem enorme influência na natureza da microbiota que se tornará dominante. Baixas temperaturas selecionam microrganismos tolerantes ao frio, principalmente os psicotróficos, que acabam por se tornar os microrganismos mais importantes da microbiota deterioradora da carne refrigerada.

SMULDERS & WOOLTHUIS (1983) consideram a higienização preventiva durante o abate dos animais e o subsequente processamento da carne um dos fatores mais importantes no sentido de garantir a sua qualidade microbiológica. SMULDERS & WOOLTHUIS (1985) afirmam que a microbiota existente na superfície da carcaça, tem influência direta na vida-de-prateleira da carne obtida após as transformações bioquímicas que ocorrem nos músculos do animal, depois do abate.

A extensão da vida-de-prateleira é requisito fundamental no comércio da carne fresca (DIXON et alii, 1987). Para se obter uma vida-de-prateleira satisfatória é necessário limitar o nível de contaminação e o crescimento dos microrganismos (CHANDRAN et alii, 1986). Um dos principais objetivos das pesquisas realizadas com carnes é o aumento de sua vida-de-prateleira (NORTJE & NAUDE, 1981 e FLISS et alii, 1991).

Dois grupos de microrganismos são higienicamente importantes na preservação da qualidade da carne: os causadores de intoxicações e infecções e os deterioradores. Esses organismos podem contaminar as carcaças por ocasião do abate dos animais, pelo contato com o couro, durante a esfolagem, equipamentos, utensílios e manipuladores (DIXON et alii, 1987 e DIXON et alii, 1991).

Para MAXCY (1981), a contaminação da superfície da carcaça é a base dos problemas, tanto para a conservação da qualidade da carne como para a saúde pública. Alguns dos microrganismos contaminantes podem desenvolver-se em temperaturas de refrigeração, causando a deterioração da carne durante o armazenamento (PIETTE & IDEZIAK, 1989). Microrganismos patogênicos como *Clostridium botulinum*, *Yersinia enterocolitica*, *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes* e *Aeromonas hydrophila* são capazes de desenvolver-se em temperaturas de refrigeração (PALUMBO, 1986).

Na avaliação de GUSTAVSSON & BORCH (1993), o número e o tipo de microrganismos presentes à superfície da carne influenciam diretamente o seu tempo de estocagem. Segundo STILES & HASTING (1991), a microbiota predominante em carnes refrigeradas tolera as temperaturas de estocagem; *Acinetobacter*, *Brochothrix thermosphacta*, *Enterobacteriaceae*, *Moraxella* e *Pseudomonas* são encontradas na microbiota contaminante, e representam a maior parte da microbiota total da carne fresca. Em carnes mantidas sob refrigeração, predominam os microrganismos psicotróficos, especialmente as *Pseudomonas* (LAZARUS et alii, 1977; SHELEF, 1977; BARULA & SHELEF, 1980; ANDERSON et alii, 1980a; GRAU, 1981; ALI et alii, 1982; HANNA et alii, 1983; PONCE & GUERRERO, 1990; HOLY & HOLZAPFEL, 1988 e MUERMANS et alii, 1993). Para GILL (1980), as *Pseudomonas* exercem este domínio devido à sua grande capacidade de desenvolvimento em baixas temperaturas, sobrepujando o crescimento dos microrganismos competidores.

Segundo HARMAYANI et alii (1991), a redução da qualidade da carne estocada em temperaturas de refrigeração resulta do crescimento e da atividade de microrganismos deterioradores, principalmente as *Pseudomonas*. Em temperaturas de refrigeração a microbiota da carne é formada por organismos psicotróficos, aeróbios Gram-negativos, flagelados ou não, como *Pseudomonas*, *Acinetobacter* e *Moraxella*, originários da contaminação com o couro, durante o processo de abate dos animais (DAINTY & MACKEY, 1992).

Em condições aeróbias, a flora normalmente encontrada na carne é formada por *Pseudomonas*. Em condições de anaerobiose, a flora é dominada por *Lactobacillus spp.* Em ambos os casos o crescimento ocorre com o consumo de componentes solúveis e de baixo peso molecular. Ocorre primeiro o consumo da glicose, seguido da glicose-6-fosfato, só pelas *Enterobacteriaceae*, e por último os aminoácidos. Quando a concentração de microrganismos atinge 10^8 UFC/cm², o suprimento de glicose acaba e as bactérias do gênero *Pseudomonas* começam a utilizar aminoácidos como substrato para o seu crescimento; a degradação desses aminoácidos provoca o aparecimento de odores sulfídricos e de ésteres ácidos (GILL & NEWTON, 1978).

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/cm² (LAZARUS et alii, 1977; LEE & FUNG, 1986 e DAINTY & MACKEY, 1992).

FUNG et alii (1980b) definem como baixa contaminação contagens totais de microrganismos aeróbios de até 2 log UFC/cm², contaminação intermediária entre 3 e 4 log UFC/cm² e alta contaminação entre 5 e 6 log UFC/cm². Os mesmos autores consideram carnes com contagens de até 4 log UFC/cm² aceitáveis, entre 5 e 6 log UFC/cm² questionáveis e, acima desses valores, eles consideram a carne deteriorada.

De acordo com MUCCILO (1985), o abate de um animal sadio, em equilíbrio fisiológico normal, deve produzir carne sadia. Para muitos autores, entre eles GILL (1979), NOTTINGHAM (1982), BELL et alii (1986), SNIJDERS (1988), GILL et alii (1991) e DICKSON (1992), o tecido muscular bovino, logo depois do abate, é praticamente estéril. NORTJE & NAUDE (1981) e STERMER et alii (1987) afirmam que este tecido contém entre 1 a 10 UFC/100g. A contaminação da carne ocorre, inevitavelmente, durante os processos que conduzem à sua obtenção (ANDERSON & MARSHALL, 1990a e DAINTY & MACKEY, 1992).

Segundo DAINTY & MACKEY (1992), após a esfola do animal, a superfície da carcaça bovina contém entre 10^2 a 10^4 UFC/cm², de uma microbiota mista, composta principalmente por bactérias mesófilas como *Bacillus*, *Brochothrix thermosphacta*, *Corineformes*, *Enterobacteriaceae*, *Flavobacterium*, *Micrococcus*, *Staphylococcus* e bactérias lácticas. As carcaças também poderão ser contaminadas por microrganismos patogênicos, bolores e leveduras, presentes no ar, no solo, no couro, nas patas, nos pêlos, em manipuladores, equipamentos e utensílios contaminados, abreviando assim a vida-de-prateleira de produto obtido (NOTTINGHAM, 1982).

A microbiota da carne está diretamente relacionada com as boas práticas de higiene durante o abate, principalmente na esfola, evisceração e no subsequente processamento em cortes primários. Abatedouros equipados com pias para a lavagem das mãos e pedilúvio na porta de entrada, esterilizadores de facas e aventais de proteção para os manipuladores, podem minimizar a contaminação, durante essas operações (NOTTINGHAM, 1982).

A microbiota natural do couro bovino é formada por bastonetes Gram-negativos tais como *Acinetobacter*, *Alcaligenes*, *Enterobacteriaceae*, *Flavobacterium*, *Moraxella*, *Pseudomonas*, algumas linhagens de *Streptococcus* de origem fecal, bastonetes Gram-positivos como *Brochothrix thermosphacta*, *Bacillus*, *Micrococcus* e *Staphylococcus*, bem como bolores e leveduras, que também fazem parte da microbiota contaminante (LEE & FUNG, 1986).

A extensão e a composição da microbiota contaminante depende do nível de higiene do abatedouro. Muitos microrganismos encontrados na superfície da carne são de origem fecal, mas também pode está incluída a flora natural do couro (NOTTINGHAM, 1982 e GILL & NEWTON, 1982).

ROBERTS et alii (1984) consideram a esfolagem e a evisceração os principais pontos críticos durante o abate de animais domésticos para consumo humano. A esfolagem é uma das operações que mais contribui para a contaminação da carcaça, isto porque a carga total de microrganismos presentes no couro do animal pode exceder 10^9 UFC/cm² (CHANDRAN et alii, 1986). A microbiota deterioradora encontrada na carne bovina é formada principalmente por microrganismos Gram-negativos e psicrotróficos, que contaminam a superfície da carcaça, principalmente durante as operações do abate (GUSTAVSSON & BORCH, 1989).

NOTTINGHAM (1982) considera muito difícil não contaminar as carcaças durante a esfolagem, porque elas inevitavelmente entram em contato com superfícies sujas e com o ar do abatedouro. Abates em larga escala oferecem riscos ainda maiores, como a contaminação cruzada.

O número de microrganismos presente à superfície da carcaça, logo após a esfolagem, depende de fatores como prática higiênico-sanitária no animal antes do abate, no abatedouro e principalmente do pessoal (NORTJE & NAUDE, 1981). CHANDRAN et alii (1986) enfatizaram a evisceração dos animais como sendo uma das operações que oferece maiores riscos de contaminação durante o abate; no entanto, ressaltam também a importância da contaminação por meio do contato com couro, patas, pêlos, utensílios, equipamentos e manipuladores.

É importante observar que, durante a evisceração, a carcaça pode ser contaminada pela flora gastrointestinal, do aparelho respiratório, urina e leite, que são fontes evidentes de contaminação. Geralmente *Escherichia*

coli domina a flora do couro e do intestino bovino; e por esse motivo este microrganismo é utilizado como indicador de contaminação de carcaças no final da linha de abate (NOTTINGHAM, 1982).

Segundo KRIAA et alii (1985), quando a superfície exposta ao ar seca, os fungos *Cladosporium*, *Sporotrichum*, *Tamnidium* e a levedura *Trichosporium scottii* competem e sobrepõem o crescimento das bactérias.

O tempo de permanência da carcaça na sala de abate, a temperatura desta sala, o pH e a temperatura da carcaça após o abate e as características dos microrganismos contaminantes são parâmetros importantes para a definição da microbiota final da carcaça bovina. (KRIAA et alii 1985).

FIRSTENBERG-EDEN (1981) afirma que a carga microbiana existente na superfície da carcaça bovina depende da capacidade de fixação dos microrganismos contaminantes nos diferentes tecidos (muscular, ósseo, conjuntivo e cobertura de gordura), nas faces internas e externas da carcaça, além de locais reconhecidamente susceptíveis a uma maior contaminação como sacro, peito, pescoço e tecido muscular exposto. A fixação da célula microbiana à superfície da carcaça é definida por FIRSTENBERG-EDEN (1981) e por MAXCY (1981) como sendo o primeiro passo rumo à deterioração da carne.

FARBER & IDZIAK (1984) argumentam que esse passo é instantâneo e reversível, envolve forças de van der Waals pode ser igual a adsorção. A fase seguinte é irreversível, ocorre com a aderência das bactérias pela produção de um polímero viscoso. SELGAS et alii (1993) concordam com esse argumento, e acrescentam que na primeira fase da fixação a adsorção é reversível, as bactérias estão fracamente aderidas à superfície, exibem movimentos e podem ser removidas com facilidade pela água durante a lavagem das carcaças. Logo em seguida, as bactérias aderem-se firmemente, por meio de fímbrias ou pili, envolvendo ligações iônicas e/ou formando pontes de hidrogênio, o que dificulta a sua remoção. Esta teoria também foi defendida por GILL (1982), PIETTE & IDZIAK (1991) e DICKSON (1992).

FIRSTENBERG-EDEN (1981) considera que a fixação das bactérias depende da concentração eletrolítica na superfície da carcaça e comporta-se como a adsorção, associando a energia de atração das forças de van der Waals entre as duas superfícies e a energia repulsiva resultante da sobreposição iônica entre a superfície da carcaça e da célula microbiana. Essa

adsorção é reversível e será substituída pela formação de um filme biológico fixado irreversivelmente. A fixação das bactérias é considerada por DICKSON (1991) como sendo a primeira etapa da contaminação da superfície da carcaça.

A adesão microbiana à superfície da carcaça bovina depende das características dos microrganismos e da superfície. A aproximação inicial pode ser feita com o auxílio dos flagelos, por meio de fluidos existentes na superfície ou pela propulsão dos microrganismos, flagelados ou não. Embora tanto a superfície da carcaça como do microrganismo possuam cargas negativas, o que favorece a repulsão, variações no ponto isoelétrico e no pH da superfície da carcaça podem permitir essa aproximação com o mínimo de atração das forças de van Waals (BENEDICT, 1988).

Vários fatores influenciam a fixação das bactérias à superfície da carne. Entre eles os mais importantes são a temperatura e o pH dessa superfície e a motilidade das bactérias. O mecanismo, a força de aderência e a concentração de microrganismos que conseguem se fixar à superfície dependem do tipo da superfície e das espécies contaminantes (FARBER & IDZIAK, 1984).

PIETTE & IDZIAK (1991) observaram que os flagelos favorecem a fixação de *Pseudomonas fluorescens* ao tecido conjuntivo da carcaça bovina, realizando o primeiro contato entre a bactéria e a superfície. Nesse estágio, a célula bacteriana fica girando em torno do flagelo; num determinado momento, a célula baixa e fica imóvel sobre a superfície. Este fenômeno foi definido pelos autores da investigação como adesão longitudinal. As células são fixadas por meio dos flagelos, sem provocar alterações na superfície.

O conhecimento prévio das forças que envolvem a fixação e a remoção de bactérias, bem como o tipo e a concentração de células fixadas à superfície da carcaça são informações indispensáveis na determinação de técnicas e níveis de remoção desses contaminantes, que poderá ser realizada pela utilização de sanitizantes físicos ou químicos (FIRSTENBERG-EDEN, 1981).

BUTLER et alii (1979) e DICKSON & KOOHMARAIE (1989) afirmam que a fixação de bactérias flageladas Gram-negativas é maior do que das bactérias não flageladas Gram-positivas. No entanto, em pesquisas realizadas por NOTERMANS et alii (1979), bactérias não flageladas como

Staphylococcus aureus fixaram-se melhor do que as flageladas *Escherichia coli* e *Salmonella*. McMEKIN & THOMAS (1987) também contestam a influência dos flagelos, no processo de fixação das bactérias, ressaltando, porém, que os flagelos contribuem para o seu transporte ativo na superfície da carcaça, o que pode facilitar a escolha de lugares para uma melhor fixação, podendo então aumentar o número de microrganismos fixados, como também o grau de aderência.

As temperaturas ótimas para a fixação de *Pseudomonas* estão próximas de 21°C. *Escherichia coli*, *Lactobacillus* e *Klebsiella* não demonstraram preferência por temperaturas específicas para a fixação, em pesquisas realizadas por NOTERMANS et alii (1979), na carne bovina armazenada em diferentes temperaturas.

A penetração microbiana no tecido muscular, após a morte do animal, necessita da degradação proteolítica do epimísio, camada de tecido conjuntivo que reveste o músculo do animal. A protease bacteriana apresenta pouca eficiência em sua degradação. Enquanto ileso, o epimísio constitui uma proteção eficiente do tecido muscular contra esses ataques e, conseqüentemente, os microrganismos permanecem na superfície da carcaça durante toda a fase logarítmica de crescimento. Quando as bactérias proteolíticas se aproximam do máximo, em densidade celular, inicia-se a produção de proteases extra celulares, capazes de destruir esta proteção. Portanto, a penetração da carne, pelas bactérias, resulta da degradação do tecido conjuntivo pelas enzimas proteolíticas produzidas por esses microrganismos, que podem destruir o epimísio, permitindo, assim, a invasão microbiana. (GILL & PENNEY, 1977 e GILL & PENNEY, 1982).

Seguindo esse raciocínio, a redução da microbiota da superfície da carcaça pela utilização de sanitizantes, físicos e/ou químicos, seguido do armazenamento refrigerado, aumenta a vida-de-prateleira da carcaça e conseqüentemente da carne por ela produzida.

2.2-Sanitização de Carcaças pela Aplicação de Jatos de Água a Diferentes Temperaturas

A lavagem de carcaças no final do processo de abate para remover materiais estranhos, como partículas do solo (CROUSE et alii, 1988), já é uma prática normal em abatedouros comerciais, porém, a sanitização ainda não é rotina nesses estabelecimentos. A limpeza e a sanitização da carcaça bovina têm finalidades distintas. A limpeza tem como objetivo remover partículas grosseiras como cabelos, poeira e outros elementos estranhos que poderão contaminar a superfície da carcaça, durante os processos (DIXON et alii, 1987). A sanitização destina-se à diminuição da contaminação microbiana (KOTULA et alii, 1974 e BARKETE et alii, 1993).

Durante a esfolia e a evisceração, a carcaça do animal recém-abatido está exposta à contaminação por pêlos, fezes, e outras sujidades veiculadas pelo ar, manipuladores, equipamentos, utensílios e outros veículos de contaminação. Estes elementos, definidos como contaminação visível, são removidos por meio da lavagem com água potável, adequadamente tratada, o que pode também contribuir para a remoção de microrganismos contaminantes, que ainda não se encontram fortemente aderidos à superfície da carcaça (NORTJE & NAUDE, 1981 e TORPOFF & SWIENTEK, 1981). DICKSON & ANDERSON (1992) revisaram cuidadosamente a literatura existente sobre os materiais e métodos de limpeza e sanitização de carcaças de animais abatidos para consumo humano, e concluíram que a aplicação de boas práticas de processamento reduz significativamente o número de microrganismos patógenos e deterioradores desse produto.

A lavagem de carcaças de animais recém-abatidos, a alta pressão, reduziu significativamente a contagem total de bactérias aeróbias, mas não exerceu influência na contagem de *Enterobacteriaceae*, em trabalho realizado por ZURIGA et alii (1991). Com uma lavagem a 12Kgf/cm² e 30 litros por segundo ANDERSON et alii (1981) conseguiram reduzir a carga microbiana da superfície de carcaças bovinas em um ciclo logarítmico.

A lavagem manual de carcaças no final do processo de abate, para remover sangue, pêlos e microrganismos, já é uma prática conhecida em abatedouros (ZURIGA et alii, 1991). A lavagem, logo depois do abate, reduz aproximadamente 90% da carga microbiana inicial da carcaça bovina

(ANDERSON et alii, 1992b). Nos últimos anos, algumas pesquisas vêm sendo desenvolvidas no sentido de introduzir, no mercado, máquinas capazes de realizar esta tarefa.

ANDERSON et alii (1981) demonstraram experimentalmente a lavagem de carcaças bovinas, com um equipamento, a ser localizado logo depois da evisceração dos animais, operando com 290 litros por minuto, de água atomizada a 20kgf/cm^2 com velocidade média da carcaça 5,0 metros por minuto e gastando 30 segundos para a lavagem de cada carcaça. Esse processo resultou na remoção de 90% da carga microbiana inicial da superfície das carcaças. A unidade é formada por um depósito de água potável, bombas atomizadoras e uma linha de distribuição com dois ramais móveis, cada ramal contendo oito mangueiras ajustáveis para a distribuição uniforme da água, por unidade de área, em toda a superfície da carcaça. As perdas de peso das carcaças lavadas nessa unidade foram 15% inferiores às perdas observadas nas carcaças lavadas manualmente, em pesagem realizada 16 horas depois do abate. O cálculo das perdas de peso foi feito com base na massa quente, antes da lavagem. DRUMM et alii (1992) consideram a redução das perdas de peso uma das medidas mais importantes, visto que ela tem implicação direta na economia do processo de abate, estocagem e distribuição da carne.

A unidade desenvolvida por ANDERSON et alii (1981) vaporizava água, provocando condensação na sala de abate e sobre os equipamentos. Para resolver esse problema, ANDERSON et alii (1982a) apresentaram um novo projeto, dessa vez, com a unidade de lavagem de carcaças isolada das demais dependências do abatedouro por uma câmara, obedecendo o fluxo normal de operações, com cortinas de ar na entrada e na saída das carcaças, impedindo a propagação da água vaporizada.

ANDERSON et alii (1982b) desenvolveram, em seguida, um esquema de limpeza no local (CIP) para a higienização do equipamento acima descrito, utilizando água a 47°C e pressão de $27,5\text{kgf/cm}^2$ e detergente. Os resultados encontrados foram satisfatórios: redução de $2,0 \log \text{UFC/cm}^2$ na carga microbiana total do equipamento, ausência de *Staphylococcus* e baixos níveis de bolores e leveduras; sendo esses valores tomados como parâmetro de boa higienização. Ainda assim locais de difícil acesso, no interior do equipamento, não foram totalmente higienizados e apresentaram resíduos de matéria orgânica, aderidos à sua superfície, após a higienização. Com

base nessa observação ANDERSON et alii (1982b) recomendaram que a limpeza automática (CIP) fosse realizada diariamente e que se efetuasse uma lavagem manual, após cada semana de operação.

KELLY et alii (1982) estudaram a viabilidade da aplicação de um tratamento pela aspersão de água a 80°C, em carcaças de carneiros, altamente contaminadas. O tratamento reduziu a flora contaminante em 3,3 ciclos logarítmicos. Essa redução não se transformou em aumento da vida-de-prateleira das carcaças que receberam o tratamento, visto que, em análises realizada após sete e dez dias de armazenamento refrigerado a $1,5 \pm 0,5^\circ\text{C}$, as contagens totais de bactérias, nas amostras submetidas aos tratamentos e nas amostras controle, eram praticamente as mesmas.

ANDERSON et alii (1987a) experimentaram diferentes métodos de limpeza e sanitização para carcaças de bovinos: lavagem manual, lavagem mecânica e sanitização com uma solução contendo 1,5% de ácido acético a 14 e 52°C. A lavagem mecânica e a sanitização a 52°C apresentaram reduções significativas ($p < 0,05$), na contagem de bactérias aeróbias totais, *Enterobacteriaceae* e *Escherichia coli*. As carcaças submetidas à lavagem manual não apresentaram diferença significativa ($p > 0,05$), na contagem total dos mesmos microrganismos, quando comparadas com o controle.

A aspersão com água a baixa pressão pode remover a contaminação visível da carcaça, mas tem pouca efetividade sobre a flora microbiana; já a aspersão de água quente, clorada e com pressão adequada, reduz em até 99% a microbiota contaminante (NOTTINGHAM, 1982).

SMITH & GRAHAN (1978) realizaram experimentos com água aquecida, a 80°C, por 10 segundos, e conseguiram destruir uma grande quantidade de *Salmonella* e *Escherichia coli* em superfície de carcaças de carneiros. Inicialmente a superfície sofreu uma pequena descoloração, mas em poucas horas de estocagem refrigerada a coloração voltou a sua aparência normal.

A sanitização de carcaças com água aquecida pode oferecer algumas vantagens, mas ainda é pouco investigada. BARKATE et alii (1993) realizaram pesquisas utilizando água a 95°C por dois minutos, aumentando para 85°C a temperatura da superfície da carcaça. Esse tratamento reduziu em aproximadamente 50% a microbiota inicial da carcaça, sem afetar a sua aparência externa.

Um sistema automático de sanitização da superfície de carcaças de carneiros, utilizando água aquecida de 75 a 80°C, foi desenvolvido por POWELL & CAIN (1987). O sistema consiste de uma câmara de lavagem, fechada, localizada no fluxo de passagem normal das carcaças. A velocidade de operação da câmara é 15cm/s, tempo de operação 20 segundos por carcaça. Esse tratamento reduziu em 2,5 ciclos logarítmicos a contaminação inicial das carcaças, mas provocou descoloração, dando-lhe aparência de carne cozida. Após uma noite em temperatura de refrigeração, a cobertura de gordura e a membrana de tecido conjuntivo recuperaram sua coloração normal de carne fresca. O tecido muscular exposto das carcaças submetidas ao tratamento, apresentou mudanças na sua coloração, semelhantes às observadas nas carcaças controle, 24 horas depois dos tratamentos.

Uma cabine para sanitização de carcaças bovinas também foi desenvolvida por DAVEY & SMITH (1989). O sistema está equipado com mangueiras móveis capazes de direcionar o jato de água à cavidade abdominal, à caixa torácica e à toda superfície externa da carcaça. Foram realizados experimentos a 83,5°C, na superfície da carcaça, por 10 e 20 segundos, apresentando reduções de 2,23 e 2,89 ciclos logarítmicos respectivamente, e a 74,4°C nos mesmos tempos com reduções de 1,40 e 2,14 ciclos logarítmicos. A exposição por 20 segundos a 83,5°C, provocou modificações permanentes e inaceitáveis na aparência da carcaça. As carcaças expostas à mesma temperatura por 10 segundos e as submetidas a 74,4°C por 10 e 20 segundos não apresentaram modificações.

2.3-Sanitização por Agentes Químicos

O fator mais importante para controlar o grau de contaminação da carne fresca é sem dúvida a higienização dos locais de abate e de manipulação (NOTTINGHAM, 1982; SMULDERS & WOOLTHUIS, 1985; SCHMIDT, 1989 e KASPROVIK & HECHELMANN, 1993). No entanto, apesar do aumento e da sofisticação nos cuidados higiênicos, e na sanitização da superfície da carcaça, ainda são encontrados contaminantes patogênicos como *Compylobacter* e *Salmonella* nessa superfície (MOSSEL, 1984; SMULDERS et alii, 1986; DICKSON, 1988 e SIRAGUSA & DICKSON, 1993).

A sanitização da carcaça pode ser incluída, como operação de rotina, no processo de abate de animais para consumo humano, no sentido de eliminar, ou pelo menos reduzir, a incidência desses contaminantes (SMULDERS, 1987; SCHMIDT, 1989 e DICKSON & ANDERSON, 1992).

É importante estender a vida-de-prateleira da carne fresca, sem refrigeração ou com refrigeração inadequada, durante o transporte e a distribuição, como forma de aumentar sua resistência à deterioração por microrganismos. Nessas circunstâncias, KONDAIAH et alii (1985) recomendam o tratamento dessa carne com produtos químicos não tóxicos e de grau alimentício, como é o caso de alguns ácidos orgânicos.

Sanitizantes como hipoclorito de sódio e quaternário de amônio são utilizados na indústria de alimentos para destruir microrganismos existentes em superfícies que entram em contato com os alimentos. Alguns agentes de sanitização, como os ácidos orgânicos, podem eliminar microrganismos em superfícies de alimentos sólidos como a carne. Os microrganismos introduzidos à superfície da carne, durante o abate, podem ser removidos subsequentemente por lavagem com água potável (ANDERSON & MARSHALL, 1982a) e/ou por sanitização com agentes físicos ou químicos (ANDERSON et alii, 1977).

Os ácidos acético e láctico são recomendados por ADAMS & HALL (1988), como sanitizantes em carcaças de animais abatidos para consumo humano, pelo fato de sua toxicidade ser alta contra os microrganismos e baixa contra os humanos. Segundo CARLET Jr & BROWN (1980), a ação antimicrobiana desses ácidos resulta de sua ação lipolítica, onde os íons hidrogênio penetram a membrana celular do microrganismo, acidificando o seu interior, inibindo assim o transporte de nutrientes.

BAIRD-PARKER (1980) está de acordo com CARLET Jr & BROWN (1980) e afirma ainda que apenas os ácidos orgânicos lipolíticos apresentam essa atividade. Esse mesmo autor defende a hipótese de que esses ácidos inibem ou eliminam o crescimento dos microrganismos pela interferência na permeabilidade da célula microbiana, afetando o transporte de substâncias e a fosforilação oxidativa do sistema de transporte de elétrons.

ANDERSON & MARSHALL (1977) afirmam que três fatores são responsáveis pela ação antimicrobiana dos ácidos orgânicos: o efeito do pH, a dissociação do ácido e a especificidade da molécula de ácido. Para BAIRD-

PARKER (1980), a molécula do ácido não dissociado é responsável pela ação antimicrobiana; nesse estado, a molécula de alguns ácidos é totalmente solúvel na membrana celular do microrganismo.

A atividade antimicrobiana dos ácidos orgânicos depende da redução do pH, da mínima dissociação do ácido e da toxicidade da molécula. Os ácidos fracos são mais eficientes que os ácidos fortes, visto que os ácidos fracos são capazes de acidificar o interior da célula. São necessários valores de pH inferiores a 5,5 para reduzir o crescimento microbiano (ANDERSON et alii, 1992a).

Os ácidos comestíveis (como também muitas outras substâncias conservadoras) sofrem dissociação em sistema aquoso, os íons hidrogênio livres e os componentes não dissociados da solução podem ser fatores decisivos na atividade antimicrobiana desses compostos. O ácido acético é fracamente dissociável, atua basicamente pelo mecanismo dos componentes não dissociados (OSTHOLD et alii, 1984).

A ação antimicrobiana do ácido láctico começa em pH baixo, em torno de 5,5. A atividade do ácido acético está relacionada com a molécula não dissociada, também em baixos valores de pH (ANDERSON et alii, 1977). GILL (1976) observou que as bactérias do gênero *Pseudomonas* utilizavam ácido láctico e aminoácidos para o seu crescimento após o término do suprimento de glicose; isto sugere que o ácido láctico serve tanto para inibir como para incentivar o crescimento desses microrganismos. Outrossim, o ácido láctico inativa seletivamente a flora Gram-negativa, facilitando o crescimento das bactérias psicrotróficas acidófilas (GILL & NEWTON, 1982).

Segundo observações de CUTTER & SIRAGUSA (1994), a eficiência dos ácidos orgânicos no controle de microrganismos patógenos varia de acordo com sua concentração, temperatura, tempo de contato e tipo de tecido ou organismo contaminante.

O efeito antimicrobiano dos ácidos orgânicos depende do seu pKa e do pH do meio externo. O ácido láctico (pKa 3,86) é um ácido mais forte do que o ácido acético (pKa 4,75) e em solução no alimento com um pH moderadamente baixo, entre 4 e 6 o acetato pode ser um potente agente antimicrobiano, com grande proporção de elementos não dissociados. No ácido láctico, isto é parcialmente equilibrado pela concentração equimolar da força

do ácido, que reduz o pH e aumenta a fração dissociada (ADAMS & HALL, 1988).

Dentre dez ácidos orgânicos pesquisados por MOUNTNEY & O'MALLEY (1965), citados por ANDERSON et alii (1977), os ácidos acético, adípico e succínico foram considerados os inibidores microbianos mais eficientes em carne de aves. THOMPSON et alii (1967), também citados por ANDERSON et alii (1977), concluíram que cloro, antibióticos, β -propiolactona e os ácidos cítrico e succínico, reduziram a população microbiana em peito de frango com pele. O ácido acético, com pH variando entre 1,5 e 2,0, reduziu 4,0 ciclos logarítmicos da microbiota presente em carcaças suínas.

A sanitização de carcaças utilizando ácidos orgânicos e outros compostos sanitizantes vem sendo largamente investigada (WILLIAMS et alii, 1978; HAMBY et alii, 1987; DICKSON, 1988 e SIRAGUSA & DICKSON, 1993). Ultimamente o uso de ácidos fracos, particularmente os ácidos láctico e acético vem sendo objeto de grande interesse na redução da carga bacteriana da carne fresca. De acordo com SNIJDERS (1985), citado por PRASAI et alii (1991), o ácido láctico exerce tanto efeito bactericida, imediatamente após sua aplicação, como efeito bacteriostático, de ação prolongada, na extensão da vida-de-prateleira da carne. VAN NETTEN et alii (1994) estudaram a ação bactericida do ácido láctico a 2,00% em bactérias patogênicas da carne. Os testes foram realizados *in vitro* em intervalos de tempo entre 30 e 120 segundos. O tratamento foi efetivo contra *Campylobacter jejuni* e *Salmonella typhimurium*, mas revelou-se ineficiente sobre *Listeria monocytogenes* e enterobactérias mesófilas. Esse tratamento pode reduzir a incidência de alguns germes patogênicos existentes e conseqüentemente reduzir os riscos de infecção pela ingestão da carne, visto que soluções de ácido láctico a 1,0% e pH em torno de 2,4 não alteram as propriedades organolépticas desse alimento (ACUFF et alii, 1987; ADAMS & HALL, 1988 e GREER & DILTS, 1992). O ácido acético provoca uma pequena redução no pH da carne, o que é considerado importante na sua atividade antimicrobiana (OSTHOLD et alii, 1984).

LAMBERT et alii (1991) destacaram a importância de ácidos orgânicos como ácido acético, láctico e propiônico na descontaminação de carnes armazenadas em temperaturas de refrigeração, como forma de aumentar o seu tempo de armazenamento. Os mesmos autores consideraram o pH dos ácidos orgânicos uma propriedade fundamental em seu efeito antimicrobiano.

ano. Os efeitos bactericida e bacteriostático desses ácidos dependem da capacidade tamponante do alimento e da quantidade de ácidos presente na solução. Geralmente são utilizados lactatos e acetatos individualmente, em vez das misturas.

De acordo com ANDERSON & MARSHALL (1989), o ácido acético pode reduzir a microbiota da superfície da carcaça tanto pela redução do pH como pela sua penetração na célula microbiana. Os tratamentos com ácidos promovem também a remoção física dos contaminantes que ainda não estão fortemente aderidos à superfície da carcaça. Reduções de pH a níveis inferiores a 5,8 inibem o desenvolvimento de algumas espécies de microrganismos.

2.3.1-Emprego do Ácido Acético

Amostras do *semitendinosus* e do músculo adutor bovino foram inoculados com culturas contendo $5,2 \times 10^6$ células de *Salmonella typhimurium*, *Shigella sonnei*, *Yersinia enterocolitica*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* ou *Streptococcus faecalis* e imersas por 10 segundos em uma solução contendo 1,2% de ácido acético. O tratamento reduziu em média 65% da contagem das bactérias existentes nas amostras. *E. coli* foi a bactéria mais resistente ao tratamento; a redução desse microrganismo foi inferior a 50% (BELL et alii, 1986).

Carcaças de carneiros, imediatamente após o abate, foram submetidas a tratamentos por aspersão ou imersão em soluções contendo 1,5 e 3,0% de ácido acético a 25 ou 55°C. Após os tratamentos, as carcaças foram armazenadas a 0°C. Análises realizadas com 24 horas de estocagem mostraram que o tratamento por imersão em solução de ácido acético a 55°C reduz significativamente a população microbiana das carcaças de carneiro (ANDERSON et alii, 1988).

ANDERSON & MARSHALL (1989) inocularam suspensões de bactérias aeróbias totais, *Enterobacteriaceae*, *Escherichia coli* e *Salmonella typhimurium* em amostras do *semitendinosus* bovino e as submeteram a tratamentos por imersão em soluções contendo 0, 1, 2 e 3% de ácido acético, por 15 segundos a 25, 40, 55 e 70°C. As análises microbiológicas indicaram

que o tratamento mais eficiente foi 3% de ácido acético a 70°C. De modo geral o número de sobreviventes diminuiu com o aumento da temperatura das soluções. A concentração da solução não exerceu influência nos tratamentos realizados a 25 nem a 40°C. Os tratamentos foram mais efetivos contra as bactérias aeróbias totais, seguidas de *Enterobacteriaceae* e *E. coli* e, por último, *S. typhimurium*.

2.3.2-Emprego do Ácido Lático

Pesquisas realizadas por SMULDERS & WOOLTHUIS (1983) demonstraram que a aspersão com uma solução diluída de ácido lático sobre carcaças de animais recém-abatidos reduz significativamente a contagem total dos microrganismos contaminantes. O tratamento de carcaças bovinas com uma solução de ácido lático a 1,0% resultou na redução de dois ciclos logarítmicos da carga microbiana inicial.

SMULDERS & WOOLTHINS (1985) utilizaram ácido lático a 1,25% na sanitização de carcaças de vitelo para exportação. Esse tratamento proporcionou uma redução 0,8 log UFC/cm² da contagem de bactérias aeróbias totais, quando a contagem total desses organismos nas carcaças antes dos tratamentos era de 3,0 log UFC/cm². Essa redução aumentou para 1,3 log UFC/cm², 14 dias depois do tratamento, em ambiente refrigerado. Este resultado foi interpretado pelos autores como indicação da ação prolongada do ácido lático.

SMULDERS et alii (1986) realizaram uma ampla revisão bibliográfica sobre os efeitos dos ácidos na sanitização de carnes, encontraram relatos de vários autores afirmando que o ácido lático pode afetar negativamente as propriedades organolépticas da carne, dependendo da concentração da solução. Foi relatado também que a aplicação por atomização de uma solução contendo 1,0% de ácido lático provocou uma leve e reversível descoloração em carcaças bovinas. Carcaças de vitelo apresentaram descoloração superficial e perda de brilho na cobertura de gordura, quando tratadas com soluções contendo 1,25% de ácido lático.

A atomização com uma solução contendo 1,25% de ácido lático, 45 minutos após o abate do animal, reduziu a contagem microbiana de 0,8 a 1,3 ciclos logarítmicos em superfícies de carcaças bovinas (DIXON et alii,

1987). Reduções maiores foram conseguidas por WOOLTHINS & SMULDERS (1985) com soluções contendo 2,0% de ácido láctico. Os benefícios desse tratamento foram anulados pela descoloração inaceitável, provocada na superfície das carcaças.

Tratamentos com uma solução a 1,0% de ácido láctico e pH 2,4 não causaram descoloração na superfície da carne. Soluções contendo mais de 2,0% de ácido láctico provocaram descoloração irreversível e inaceitável pelo consumidor (SMULDERS, 1987)

O ácido láctico é considerado por CUDJOE (1988) um sanitizante aceitável pelo fato de ser natural e atóxico. O uso de ácido láctico é recomendado por GILL & NEWTON (1982), na sanitização de carnes, como forma de aumentar sua vida-de-prateleira. Segundo DIXON et alii (1987), a sanitização de carcaças bovinas e cortes primários, com ácido láctico a 1,0%, promove um significativo aumento na sua vida-de-prateleira.

ANDERSON et alii (1988) utilizaram soluções com 1,5 e 3,0% de ácido láctico a 25 e 55°C, na sanitização de carcaças de bovinos recém-abatidos. A contagem total de bactérias aeróbias, psicrotróficas, coliformes e bactérias Gram-negativas, foi realizada 24 horas depois dos tratamentos. A análise estatística realizada pelo teste de Duncan, para um intervalo de confiança de 95%, não detectou diferença significativa, entre os tratamentos. Entre os tratamentos e o controle observou-se redução significativa na contagem total de bactérias aeróbias, psicrotróficas e Gram-negativas. Os autores não mencionaram as possíveis alterações provocadas por este tratamento à superfície das carcaças.

Amostras do *semitendinosus* bovino, inoculadas com suspensões de bactérias aeróbias totais, *Enterobacteriaceae*, *Escherichia coli* e *Salmonella typhimurium* foram submetidas a tratamentos por imersão em soluções contendo 0, 1, 2 e 3% de ácido láctico, por 15 segundos a 25, 40, 55 e 70°C. O tratamento mais eficiente foi 3% de ácido láctico a 70°C. O número de sobreviventes diminuiu com o aumento da temperatura das soluções. A concentração da solução não exerceu influência nos tratamentos realizados a 25 nem a 40°C. Os tratamentos foram mais efetivos contra as bactérias aeróbias totais e menos eficientes contra *E. coli* (ANDERSON & MARSHALL, (1990a).

Carcças de bovinos, imediatamente após o abate, foram submetidas a tratamentos por aspersão com uma solução de ácido láctico a 1,0%; as carcaças submetidas ao tratamento e um grupo de carcaças controle foram estocadas a 1°C, por 24 horas. Após esse período as carcaças foram desossadas e amostras do *longissimus dorsi* foram embaladas a vácuo e estocadas a 1°C, por 70 dias. As análises microbiológicas realizadas durante esse período mostraram que as amostras tratadas com a solução de ácido apresentavam contagens totais de microrganismos significativamente inferiores às contagens apresentadas pelo controle (GREER & JONES, 1992).

A conveniência da utilização do ácido láctico como sanitizante em superfícies de carnes frescas foi estudada com referência especial para a redução de contaminantes enteropatogênicos, como *Campylobacter spp*, *Enterobacteriaceae*, *Salmonella*, e a extensão da vida-de-prateleira em temperaturas de refrigeração (DICKSON, 1992). Nesta pesquisa, não foram observadas descoloração superficial nem modificações no sabor da carne tratada com a solução contendo 1,0% de ácido láctico e pH 2,8.

A sanitização da carne fresca pela aspersão com soluções diluídas de ácido láctico pode ser usada como parte do controle de pontos críticos (HCCP) em abatedouros de animais destinados ao consumo humano, com o objetivo de reduzir a microbiota patogênica da carne. VAN NETTEN et alii (1994) consideram o ácido láctico o sanitizante apropriado para exercer essa função por ser um constituinte natural da carne e uma substância geralmente reconhecida como segura (GRAS).

2.3.3-Emprego de Misturas Ácidas

OSTHOLD et alii (1984) utilizaram 1,0 litro por carcaça de uma solução contendo 2,00% de ácido acético, 1,00% de ácido láctico, 0,25% de ácido cítrico e 0,10% de ácido ascórbico na sanitização de carcaças bovinas, logo depois do abate dos animais. O tratamento foi realizado por aspersão e demonstrou eficiência na redução de *Enterobacteriaceae* e bactérias aeróbias totais. As análises microbiológicas, realizadas cinco dias depois do tratamento, mostraram que o tratamento reduziu 3,5 log UFC/cm² da população viável de *Enterobacteriaceae* e 4,0 log UFC/cm² das bactérias

aeróbias totais, quando comparadas às carcaças controle. Todas as carcaças foram armazenadas a 7,0°C. As carcaças submetidas ao tratamento com a solução ácida, nas primeiras 24 horas, apresentaram um suave porém aceitável aroma ácido. Depois desse período, o aroma não foi mais detectado, provavelmente devido a volatilização do ácido acético. O aspecto geral das carcaças não foi afetado pelo tratamento. Os autores recomendaram que a concentração dos componentes da solução não deverão sofrer nenhuma modificação durante seu preparo, e que uma pequena variação na concentração dos ácidos pode significar mudanças na coloração da superfície da carne, ou redução na eficiência do tratamento. A solução deve ser preparada no local e na hora de sua utilização, visto que o ácido acético é volátil e pode evaporar-se.

Combinando o ácido acético aos ácidos láctico e cítrico, de maior dissociação, no tratamento por aspersão, OTHOLD et alii (1984) provocaram maior redução no pH da superfície da carcaça. Os autores da pesquisa consideraram esse fenômeno o principal responsável pela eficiência do tratamento.

HAMBY et alii (1987) realizaram tratamentos com soluções contendo 1,0% de ácido láctico e 1,0% de ácido acético. Os resultados obtidos demonstraram eficiência na redução da carga microbiana inicial em carcaças e cortes primários de bovinos, quando comparados a um controle. O ácido acético apresentou maior eficiência do que o ácido láctico. A aplicação de 1,0% de ácido acético em superfícies de carnes reduziu em até 1,5 ciclos logarítmicos a contagem microbiológica inicial, sem afetar negativamente a aparência geral do produto (LAMBERT et alii, 1991).

A microbiota deterioradora da carne bovina desossada a quente sofreu redução significativa ($p < 0,01$), quando foi submetida à sanitização com uma solução contendo 4,0% de ácido láctico, 1,0% de ácido cítrico e 1,0% de ácido ascórbico (MATHIEU & KAPAY, 1990). Os autores desse trabalho não mencionaram nenhuma alteração na carne, submetida ao tratamento, mas WOOLTHINS & SMULDERS (1985) asseguraram que soluções contendo mais de 2,0% de ácido láctico provocam descoloração irreversível na superfície da carne.

ANDERSON & MARSHALL (1990b) estudaram o efeito da imersão, por 15 segundos, de amostras de carne bovina inoculadas com suspensões

de bactérias aeróbias totais, *Enterobacteriaceae*, *Escherichia coli* e *Salmonella typhimurium* em soluções contendo 2,00% de ácido acético, 1,00% de ácido láctico, 0,25% de ácido cítrico e 0,10% de ácido ascórbico a 25, 40 55 e 70°C. A maior efetividade foi observada no tratamento a 70°C contra *S. typhimurium*; a redução foi de 2,3 ciclos logarítmicos, e a menor eficiência foi observada contra *E. coli* no tratamento a 25 °C, reduziu em cerca de 0,5 ciclos logarítmicos. As bactérias aeróbias totais e as *Enterobacteriaceae* sofreram reduções de cerca de um ciclo logarítmico.

A sanitização da superfície da carne foi experimentada por ANDERSON et alii (1992a) utilizando as seguintes soluções; 1) 3,00% de ácido láctico; 2) 3,00% de ácido acético; e 3) 2,00% de ácido acético, 1,00% de ácido láctico, 0,25% de ácido cítrico e 0,10% de ácido ascórbico. Os tratamentos foram realizados a 20, 45 e 70°C. As amostras foram inoculadas com suspensões de bactérias aeróbias totais, *Enterobacteriaceae* e *Salmonella typhimurium*. Após os tratamentos com as soluções, pesquisou-se a eficiência de cada tratamento, sempre comparando-se com amostras controle. Todos os tratamentos mostraram-se eficientes na eliminação dos microrganismos pesquisados; a maior efetividade foi observada nas amostras tratadas com as soluções a 70°C. Entre as soluções, a mais eficiente foi a que continha 3,00% de ácido láctico. Neste trabalho, os autores não mencionam nenhuma mudança na coloração da carne, que poderiam ter sido provocadas pelos tratamentos.

SIRAGUSA & DICKSON (1993) realizaram tratamentos por aspersão de amostras de carne bovina contaminadas artificialmente com *Listeria monocytogenes*, *Salmonella typhimurium* e *Escherichia coli* 0157:H7 com soluções contendo 2,0% de ácido acético com ou sem alginato de cálcio. Após a estocagem das amostras a 5°C, por sete dias, verificou-se que a aspersão da solução de ácido acético mais alginato de cálcio foi mais efetiva contra *S. typhimurium* do que contra *L. monocytogenes*. O resultado do tratamento com a solução de ácido acético, individualmente, foi exatamente o inverso. O tratamento não apresentou efetividade significativa contra *E. coli* 0157:H7.

2.3.4-Emprego de Outros Sanitizantes

KOTULA et alii (1974) observaram que a lavagem de carcaças bovinas com água clorada a 200 ppm, aquecida a 51,7°C, pH entre 6 e 7, pressão 24,6 kg/cm² reduziu de 1,52 a 2,31 ciclos logarítmicos sua carga microbiana inicial. Esses resultados foram obtidos por análises realizadas 45 minutos depois da lavagem. Vinte e quatro horas depois do tratamento, essa redução aumentou para a faixa de 2,30 a 3,07 ciclos logarítmicos. Este fato foi atribuído à eficiência do cloro residual livre que permaneceu na superfície da carcaça. Os autores desse trabalho não mencionaram nenhum dado referente às alterações que poderiam ser observadas na superfície da carcaça, provocadas pela utilização do cloro a essa concentração.

A ação inibidora do ácido sórbico sobre os microrganismos *Bacillus subtilis*, *Bacillus cereus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* e *Candida albicans* foi calculado matematicamente por EKLUND (1983), em trabalho experimental realizado em laboratório. Os resultados encontrados mostraram que o ácido sórbico apresenta até 600 vezes mais eficiência quando está em sua forma não dissociada, em valores de pH inferiores a 6,0.

KONDAIAH et alii (1985) utilizaram soluções contendo 10 e 30% de sorbato de potássio no tratamento da superfície de carnes armazenadas a 20 e 30°C, inoculadas com bactérias aeróbias totais, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus faecalis* e *Clostridium perfringens* por um período de 68 horas. No final do experimento, as amostras tratadas com as soluções de sorbato de potássio apresentaram contagens de 3,0 a 6,0 ciclos logarítmicos menores que as amostras controle. As maiores reduções foram observadas na contagem total de bactérias aeróbias, *S. aureus* e *S. fecales*, nas amostras armazenadas a 20°C.

Existem poucos estudos referentes ao efeito causado pelo ácido sórbico e seus sais sobre a microbiota da carne bovina. ZAMORA & ZARITZKY (1987) utilizaram com sucesso ácido sórbico e sorbato de potássio como inibidores do crescimento de bolores e leveduras. Nesse mesmo estudo esses compostos também demonstraram eficiência contra o desenvolvimento de *Staphylococcus aureus*, *Salmonella*, *Clostridium botulinum* e *Pseudomonas*. De acordo com os autores, o ácido sórbico e seus sais não apresentam toxi-

cidade para seres humanos por serem compostos metabolizados como os ácidos graxos, em dióxido de carbono e água.

WILLIAMS et alii (1978) utilizaram alginato de cálcio na tentativa de reduzir a carga microbiana e as perdas de peso da superfície da carne bovina. Um grupo de amostras foi submetido ao tratamento e outro grupo, sem tratamento, foi analisado como controle. A temperatura de armazenamento não foi mencionada pelos autores da pesquisa. Após sete dias de estocagem, observou-se que a contagem total de microrganismos não apresentou diferença estatisticamente significativa ($p>0,05$), entre o controle e as amostras submetidas ao tratamento. As perdas de pesos das amostras revestidas com a camada da alginato de cálcio foram inferiores às observadas nas amostras controle, apresentando inclusive diferença significativa ($p<0,05$). Resultados semelhantes haviam sido observados por LAZARUS et alii (1976), ao revestir carcaças de carneiros com uma fina camada de alginato de cálcio e armazená-las 0°C por sete dias.

Uma solução de alginato de sódio e carbonato de cálcio foi sugerida por GLICKSMAN (1987) para ser utilizada em pescado submetido a congelamento rápido, com o objetivo de produzir um revestimento firme e estável ao descongelamento, evitando o contato direto do ar com o peixe, com o objetivo de aumentar sua vida-de-prateleira.

O alginato de cálcio foi utilizado por MEANS et alii (1987) e por JOHNSON et alii (1990) na produção de carne bovina reestruturada. O objetivo da utilização do alginato de cálcio, nestes experimentos, foi aumentar a junção entre os pedaços de carne, resultando em produtos firmes e coesos, antes e depois da cocção. Os melhores resultados foram obtidos utilizando-se um gel formado com 3,00% de alginato de sódio e 0,54% de carbonato de cálcio.

TROUT (1989) observou que a utilização de uma solução formada com 0,70% de alginato de sódio e 0,13% de carbonato de cálcio, na formulação de reestruturados de carne bovina, resultava em produtos firmes e de coloração estável, tanto antes como depois da cocção.

LIEBICH et alii (1986) utilizaram monoglicerídeo acetilado na proporção de 3,0% de peso da carne bovina, com o objetivo de formar uma película sobre a carne embalada à vácuo e em filmes laminados de polietileno.

Esse tratamento reduziu a perda de peso e aumentou significativamente a vida-de-prateleira das amostras embaladas à vácuo.

Amostras de carne bovina foram embaladas à vácuo, com 2,0% de monoglicerídeo acetilado, armazenadas sob refrigeração e analisadas durante 60 dias. A contagem total de microrganismos patógenos e deterioradores não apresentou diferença significativa ($p > 0,05$), comparando-se as amostras submetidas aos tratamentos à amostras controle, armazenadas nas mesmas condições (PASSOS, 1991).

2.4-Métodos de Avaliação Microbiológica da Carcaça Bovina

A análise microbiológica é fundamental para estimar-se a extensão da carga microbiana existente na superfície de carnes e carcaças, e avaliar os efeitos dos métodos de sanitização empregados. Muitas das discrepâncias observadas nos estudos anteriormente descritos podem ter sido causadas pelo emprego de diferentes técnicas de amostragem e de análise microbiológica das amostras utilizadas nas pesquisas.

Existem vários procedimentos que são utilizados para a determinação da carga microbiana na superfície da carne. Todos os métodos existentes, formam dois grandes grupos, os destrutivos e os não destrutivos (GILL & NEWTON, 1982). Nos métodos destrutivos, as amostras, padronizadas pelo peso e/ou tamanho, são cortadas e maceradas em um diluente estéril e em seguida convenientemente plaqueadas em agar para a enumeração das colônias. Nos métodos não destrutivos, uma área padronizada é delimitada por um gabarito e em seguida os microrganismos são coletados por arraste, utilizando-se zaragatoa (LAZARUS et alii, 1977; ANDERSON et alii, 1980a; ANDERSON et alii 1981; CORDRAY & HUFFMAN, 1985; CHANDRAN et alii, 1986; ANDERSON et alii, 1987b e FLISS et alii, 1991) ou esponja (QUEVEDO et alii, 1977) que são agitados em um diluente estéril, para a liberação dos germes coletados. A suspensão resultante dessa operação é diluída e plaqueada, para a enumeração dos contaminantes.

VANDERZANT et alii (1976) discutiram nove diferentes métodos de avaliação microbiológica da superfície da carne e dos produtos cárneos: incisão do tecido, zaragatoa, análise da água de enxágüe, agar contato direto, raspagem da superfície, fita adesiva, remoção de microrganismos por meio de vácuo, dispersão da luz, avaliação por bioluminescência e combinação de dois ou mais métodos. Incisão do tecido, zaragatoa e agar contato direto foram recomendados como sendo os métodos mais apropriados para a análise da superfície desses alimentos. Foram avaliados ainda os fatores que influenciam na seleção do método de análise: tipo de amostra, recursos para amostragem e análises laboratoriais, condições ambientais durante a amostragem, precisão e acuidade requeridas.

Segundo QUEVEDO (1977), nenhuma das técnicas utilizadas para coletar amostras em superfícies sólidas é totalmente satisfatória, isto porque algumas não recuperam todos os microrganismos, outras recuperam destruindo a superfície amostrada, além daquelas de difícil reprodutibilidade ou de operações demoradas.

São vários os procedimentos utilizados para determinar-se a população microbiana da superfície da carcaça bovina, a escolha de um desses procedimentos depende de alguns fatores, que poderão influenciar, em casos específicos. Portanto, tal escolha deve ser feita mediante avaliação das vantagens e limitações de cada método para a análise em questão (ANDERSON et alii, 1987). Diferentes técnicas removem diferentes quantidades de microrganismos da superfície da carcaça. Na escolha de uma dessas técnicas, faz-se necessário o entendimento das forças envolvidas na fixação e na remoção dos agentes contaminantes presentes nessa superfície. Essas informações geralmente são necessárias para estimar-se o número e o tipo de germes, e a partir dessas informações designar técnicas capazes de reduzir essa contaminação (CROUSE et alii, 1988).

Para NORTJE et alii (1982), os principais fatores que influenciam na seleção de um método de amostragem são o tipo e a composição química da superfície. Na carcaça bovina é importante observar o tipo de tecido, os microrganismos contaminantes e o objetivo da análise. Algumas análises são realizadas para estimar o nível de sanitização no processo de abate, enquanto outras são realizadas para estabelecer o conhecimento da contaminação dessa superfície (LAZARUS et alii, 1977 e FLISS et alii, 1991).

A avaliação da contaminação de carcaças em abatedouros, frequentemente realizada pela contagem total de bactérias aeróbias, tem como finalidade, conhecer o nível de higiene, como resultado do processo de abate (CHANDRAN et alii, 1986 e GUSTAVSSON & BORCH, 1989). Alguns fatores são capazes de influenciar na escolha de métodos para essa avaliação; entre eles é possível destacar: composição química da superfície da carcaça, características e nível da contaminação e objetivos da análise. A análise microbiológica da superfície da carcaça bovina vem sendo largamente estudada por: coleta de microrganismos com zaragatoa (LAZARUS et alii, 1977; ANDERSON et alii, 1980b; ANDERSON et alii, 1981; GILL, 1982; CORDRAY & HUFFMAN, 1985; CHANDRAN et alii, 1986; ANDERSON et alii, 1987 e FLISS et alii, 1991), incisão do tecido (LAZARUS et alii, 1977; ANDERSON et alii, 1981; ANDERSON et alii, 1987; DAVEY & SMITH, 1989; FLISS et alii, 1991), fita adesiva (FUNG et alii 1980a e CORDAY & HUFFMAN, 1985) e agar contato direto (FUNG et alii, 1980a; CORDRAY & HUFFMAN, 1985 e ANDERSON & MARSHALL, 1990b).

Os microbiologistas sugerem que a amostragem para a análise microbiológica da carne seja realizada em sua superfície, por ser uma área mais susceptível à contaminação durante o processo de abate do animal, inclusive à contaminação cruzada (LEE & FUNG 1986). Sob o ponto de vista destes mesmos autores, o método mais apropriado a ser utilizado nessa amostragem é a zaragatoa, principalmente para carcaça, ou seja, quando não se deseja destruir a superfície amostrada.

ANDERSON et alii (1987b) verificaram que a coleta de microrganismos por zaragatoa recolhe apenas parte dos agentes contaminantes. Este fato foi atribuído à dificuldade de acesso do algodão às irregularidades e às cavidades existentes na superfície da carcaça onde poderão estar contidos muitos microrganismos.

FLISS et alii (1991) compararam a eficiência de três diferentes técnicas de amostragem para a análise da superfície de carcaças: agar contato direto, incisão do tecido e zaragatoa dupla, na pesquisa de quatro grupos de microrganismos (bactérias aeróbias totais, coliformes totais, coliformes fecais e *Escherichia coli*). A incisão do tecido apresentou mais eficiência do que os outros métodos pesquisados. Mesmo assim, não foi recomendado pelos pesquisadores por se tratar de um método destrutivo.

LASTA et alii (1992) realizaram análises em amostras coletadas pela incisão do tecido e por zaragatoa; os resultados obtidos mostraram que a incisão do tecido consegue coletar um número de microrganismos superior ao número coletado pela zaragatoa, mas os pesquisadores recomendaram o método de amostragem por zaragatoa para a coleta de microrganismos em carcaças inteiras, por oferecer a possibilidade da amostragem sem danificar a superfície externa da carcaça.

O método de amostragem por zaragatoa, apesar de não recuperar todos os microrganismos presentes na superfície amostrada (NOTERMANS et alii, 1979; NORTJE et alii, 1982; ANDERSON et alii, 1987b), e da dificuldade de sua reprodutibilidade (SERRANO, 1984 e LEE & FUNG, 1986), é largamente utilizado, pela facilidade de sua execução e principalmente por ser um método não destrutivo (HYYTIAINEN, 1975 e RIDELL et alii, 1991), capaz de ser executado rotineiramente nas linhas de abate comerciais.

FUNG et alii (1980a) sugerem a técnica da fita adesiva, que consiste em pressionar uma fita de acetato com área conhecida sobre a superfície a ser amostrada, como sendo um método eficiente para estimar a carga microbiana da superfície de carcaças. Os dados sugeridos são: contagens superiores a 2 log UFC/cm² na fita significam contagens bacterianas altas, na faixa de 5 a 7 log UFC/cm² na carcaça; contagens entre 1 e 2 log UFC/cm² sugerem contaminação intermediária, de 3 a 4 log UFC/cm²; e quando a contagem na fita estiver abaixo de 1 log UFC/cm², ela indica baixa contaminação na carcaça, qual seja, níveis inferiores a 3 log UFC/cm².

A facilidade de execução, a economia de tempo e material, a possibilidade de transferência da amostra para os diversos meios de cultura a serem incubados em diferentes temperaturas e a flexibilidade da fita, que permite o contato íntimo com os contornos da superfície amostrada, justificam a utilização do método estimativo da contagem de microrganismos na superfície de carcaças por fita adesiva (FUNG et alii, 1980a).

Os métodos de amostragem classificados como destrutivos, especialmente a incisão do tecido, têm a habilidade de recuperar microrganismos existentes em locais de difícil acesso e firmemente aderidos à superfície da carne (FLISS et alii, 1991). Mas esses métodos não podem ser executados sem causar danos à superfície da carcaça, e conseqüentemente a sua execução não é recomendada em linhas de abate comercial.

A desidratação é um dos fatores que podem influenciar na remoção das células da superfície da carcaça bovina. LAZARUS et alii (1977) compararam dois métodos de amostragem em superfícies de carcaças, zaragatoa e remoção do tecido. A amostragem foi realizada no coxão, ponta de agulha, lombo, paleta e pescoço de cada meia carcaça. O método de amostragem por zaragatoa não apresentou boa reprodutibilidade, provavelmente devido ao ressecamento da superfície e a inabilidade da zaragatoa em coletar toda a microbiota existente na superfície, principalmente quando existe um grande número de contaminantes.

A quantidade de microrganismos viáveis não é uniforme em toda a superfície da carcaça (ANDERSON et alii, 1980a; ROBERTS et alii, 1984; LASTA & FONROUGE, 1988; STOLLE, 1989 e LASTA et alii, 1992). LASTA & FONROUGE (1988) encontraram diferenças de até 2,0 ciclos logarítmicos na determinação microbiológica em diferentes partes da mesma carcaça. Os mesmos autores concluíram que as áreas de maior contaminação são geralmente pequenas. Foi concluído também que amostragens realizadas em áreas inferiores a 100cm² não podem ser consideradas como representativas do universo de germes presentes à superfície da carcaça bovina e, conseqüentemente, não poderão ser utilizadas como parâmetros de avaliação da higiene do processo de abate ou da eficiência de tratamentos adicionais, como a sanitização.

DAVEY & SMITH (1989) sugeriram que sejam coletadas amostras em pelo menos seis diferentes locais de cada meia carcaça: paleta, pescoço, peito, lombo, coxão e cavidade abdominal. Em geral, as áreas de maior contaminação foram as partes laterais e o dianteiro. Resultados semelhantes foram observados por STOLLE (1988), em trabalho realizado com carcaças de 45 animais, em três diferentes abatedouros. Um ano depois esse mesmo pesquisador apresentou o resultado de nova pesquisa; os dados encontrados confirmaram os resultados da pesquisa anterior (STOLLE, 1989).

Em pesquisas realizadas por RIDELL et alii (1991), o coxão apresentou os menores índices de contaminação. As áreas de maior contaminação encontradas em pesquisas realizadas por LAZARUS et alii (1977) foram as costelas, o pescoço e a paleta. Mas CARTIER (1992) afirmou que as bactérias contaminantes encontram-se uniformemente distribuídas em toda a superfície da carcaça bovina.

HYTYIAINEN (1975), DELAZARI et alii (1980) e RIDELL et alii (1991) consideram que amostragem por zaragatoa, em áreas do pescoço, paleta, flanko, ponta de agulha e coxão, em cada meia carcaça, são capazes de representar significativamente a microbiota existente na superfície da carcaça bovina, podendo apresentar variações de acordo com o nível de higienização do abatedouro, do processo de abate e da higiene dos manipuladores.

Como pode ser observado foram pesquisadas diversas técnicas de sanitização, com o objetivo de reduzir a flora microbiana da carcaça e da carne bovina. Foram empregados tanto os agentes físicos como os agentes químicos. Os ácidos orgânicos foram as substâncias mais estudadas, dando-se ênfase, principalmente, às técnicas de aplicação, às concentrações utilizadas, às combinações entre os componentes e aos resultados obtidos. No entanto, ainda há muitas discrepâncias nos resultados apresentados pelos pesquisadores dos diversos centros de pesquisa. Na literatura consultada não foi encontrado nenhuma publicação de pesquisadores brasileiros relatando trabalhos dessa natureza.

3-Materiais e Métodos

3.1-Eficiência da Solução de Ácidos Orgânicos Utilizada como Sanitizante

A avaliação da eficiência da solução de ácidos orgânicos contra bactérias deterioradoras foi realizada pela aplicação do teste da suspensão recomendado por BELOIAN (1990). O teste foi realizado com uma cultura de *Pseudomonas spp* liofilizada, isolada de carne bovina, gentilmente fornecida pela Fundação Tropical de Pesquisa "André Tosello", Campinas-SP.

Para esse teste, a cultura foi reativada em caldo nutriente, formulado com 0,3% de extrato de carne BIOBRAS e 0,5% de peptona OXOID em água destilada estéril. Em seguida, 1,0ml da suspensão contendo 10^8 células foi posto em contato com 99ml de uma solução de ácidos orgânicos (2,00% (v/v) de ácido acético, 1,00% (v/v) de ácido láctico, 0,25% (p/v) de ácido cítrico e 0,10% (p/v) de ácido ascórbico; pH 2,18), nos tempos de 0,5; 30; 60; 120; 180; 240; 300 e 360 minutos. Após cada tempo de contato, as amostras foram diluídas em água peptonada tamponada 0,1% (p/v) DIFCO, plaqueadas em "Plate Count Agar" (PCA) DIFCO e incubadas a 20°C por 72 horas, como recomenda OLIVEIRA & PARMELLE (1976).

3.2-Eficiência da Formação do Filme de Alginato de Cálcio

A formação de filmes pela utilização de soluções de alginato de cálcio, sugeridas por LAZARUS et alii (1976) e por WILLIAMS et alii (1978) foi verificada pela aspersão de soluções sobre uma superfície vítrea, de duas maneiras. Na primeira, aspergiu-se uma solução contendo 2,00% de ácido acético, 1,00% de ácido láctico, 0,25% de ácido cítrico, 0,10% de ácido ascórbico, sobre a superfície vítrea e, em seguida, uma solução contendo 0,50% (p/v) de alginato de sódio e 0,10% (p/v) de carbonato de cálcio. Na segunda maneira, aspergiu-se sobre a superfície vítrea, uma solução contendo 2,00% de ácido acético, 1,00% de ácido láctico, 0,25% de ácido cítrico, 0,10% de ácido ascórbico, 0,50% de alginato de sódio e 0,10% de carbonato de cálcio. Após a secagem das superfícies, foram realizadas micrografias em microscopia óptica com contraste de fase e 200 vezes de aumento ou em campo escuro e 100 vezes de aumento.

3.3-Sanitização do *Tensor Fasciae Latae* Bovino, pela Aspersão de Vapor de Água ou Solução de Ácidos Orgânicos

Nesta etapa do trabalho, realizaram-se três ensaios, utilizando-se o músculo *tensor fasciae latae* bovino, conhecido comercialmente como maminha, excisado da carcaça após 24 horas de armazenamento, sob refrigeração em abatedouro frigorífico. Durante todo o estudo, as maminhas foram fornecidas, sempre pelo mesmo frigorífico e transportadas em isopor com gelo, até os laboratórios do Centro de Tecnologia da Carne (CTC) do Instituto de Tecnologia de Alimentos (ITAL), onde o trabalho foi realizado.

No primeiro ensaio, os músculos foram submetidas a tratamentos por aspersão com uma solução de ácidos orgânicos ou com vapor a 80°C. No segundo ensaio, realizaram-se tratamentos com uma solução de ácidos orgânicos, com solução de ácidos orgânicos seguida de solução de alginato de cálcio ou com solução de ácidos orgânicos mais alginato de cálcio. No terceiro ensaio foram feitos os seguintes tratamentos: solução de ácidos orgânicos, solução de ácidos orgânicos mais sorbato de potássio e solução de ácidos orgânicos mais alginato de cálcio. Em todos os ensaios, um grupo de músculos, sem tratamento, foi analisado como controle.

Em todos os ensaios a aspersão das soluções foi feita com um atomizador Arprex Mod 25, com pressão interna de 6 kgf/cm². A distância entre o bico do aspersor e a superfície do músculo foi de aproximadamente 20cm. O tempo de aspersão foi de aproximadamente 15 segundos para cada músculo.

As soluções foram preparadas momentos antes de cada ensaio, seguindo as recomendações de OSTHOLD et alii (1984) com ácido acético glacial a 99,7%, ácido láctico a 85,0%, ácido cítrico a 98,8%, ácido ascórbico a 99,7% e água destilada. Todos os ácidos utilizados são de padrão analítico e foram fabricados pelos laboratórios de produtos químicos MERCK. O alginato de sódio foi gentilmente cedido pela GRINDSTED do BRASIL; o carbonato de cálcio, de padrão analítico e foi adquirido junto à MERCK e o sorbato de potássio foi de origem comercial.

3.3.1-Ensaio I

Neste ensaio 48 maminhas foram divididas aleatoriamente em três grupos iguais. Um grupo de músculos foi submetido ao tratamento por aspersão com uma solução de ácidos orgânicos; outro grupo foi tratado com vapor de água a 80°C, com a fonte de vapor sendo mantida a cerca de 30cm do músculo por aproximadamente 15 segundos, e o terceiro grupo que não recebeu nenhum tratamento foi utilizado como controle. Cada um desses grupos foi dividido em quatro subgrupos para análises microbiológicas e sensoriais, a cada dois dias de armazenamento.

A solução utilizada como sanitizante foi preparada com 2,00% de ácido acético, 1,00% de ácido láctico, 0,25% de ácido cítrico, 0,10% de ácido ascórbico e água destilada. O vapor foi produzido com água do abastecimento local, gerado pela caldeira que supre a linha de vapor do Centro de Tecnologia da Carne (CTC).

Após os tratamentos, os músculos foram armazenados sob refrigeração a 10±2°C, suspensas por ganchos metálicos em carrinhos galvanizados. Para facilitar a circulação do ar, a distância mantida entre os músculos foi de aproximadamente 10cm. Durante todo o ensaio, a velocidade do ar na câmara foi de aproximadamente 1,0m/s e a umidade relativa variou entre 85 e 88%.

3.3.2-Ensaio II

O Ensaio II foi realizado com 112 maminhas divididas em quatro grupos iguais: Grupo 1) aspersão com a solução A; Grupo 2) aspersão com a solução A, seguida da solução C; e Grupo 3) aspersão com a solução B. O Grupo 4, não recebeu nenhum tratamento (controle).

Soluções:

- A) 2,00% de ácido acético, 1,00% de ácido láctico, 0,25% de ácido cítrico e 0,10% de ácido ascórbico;
- B) 2,00% de ácido acético, 1,00% de ácido láctico, 0,50% de alginato de sódio, 0,25% de ácido cítrico, 0,10% de carbonato de cálcio e 0,10% de ácido ascórbico;
- C) 0,50% de alginato de sódio e 0,10% de carbonato de cálcio.

Após os tratamentos, os músculos foram divididos em subgrupos, a serem analisados a cada dois ou três dias de armazenamento refrigerado a $7\pm 2^{\circ}\text{C}$. As condições da câmara de armazenamento, foram semelhantes às observadas no Ensaio I.

3.3.3-Ensaio III

Neste ensaio, também foram utilizados 112 maminhas divididas em quatro grupos iguais: Grupo 1): aspersão com a solução A; Grupo 2): aspersão com a solução D (Solução A mais 2,00% (p/v) de sorbato de potássio); e Grupo 3): aspersão com a solução C. O grupo 4, foi analisado sem tratamento, como controle.

Logo depois dos tratamentos, os músculos foram armazenadas em câmara refrigerada a $7\pm 2^{\circ}\text{C}$, com velocidade do ar de aproximadamente 1,0m/s e umidade relativa entre 80 e 85%. Os critérios de avaliação do desempenho dos tratamentos, foram os mesmos utilizados no Ensaio II.

3.4-Determinação da Vida-de-Prateleira do *Tensor Fasciae Latae* Bovino, Submetido a Aspersão com Vapor de Água ou Solução de Ácidos Orgânicos.

Antes dos tratamentos realizou-se a caracterização microbiológica do *tensor fasciae latae* bovino, pela contagem total de bactérias mesófilas, psicrotróficas, bolores e leveduras, pesquisa de coliformes, *Salmonella spp* e *Enterobacteriaceae*.

Após os tratamentos, os músculos foram armazenadas sob refrigeração e submetidas a análises físico-químicas (perda de peso, pH, bases voláteis totais (BVT) e cor pelo sistema Hunter L.a.b.), sensoriais (odor, cor do músculo e da superfície externa e qualidade global) e microbiológicas (contagem total de bactérias psicrotróficas, bolores e leveduras e *Enterobacteriaceae*) a cada dois ou três dias de armazenamento, até que a equipe de análise sensorial as considerasse inadequadas para consumo.

3.4.1-Análises Microbiológicas

A amostragem para as determinações microbiológicas foi realizada pela fricção de uma zaragatoa em uma área contínua de 25cm² demarcada por um molde metálico estéril. A zaragatoa foi colocada em um tubo contendo 25ml de água peptonada 0,10% (p/v), DIFCO, e agitado por dois minutos em agitador de tubos FANEM Mod. 251. Cada mililitro da solução representou 1,0cm² de superfície (LEE & FUNG, 1986).

a) Contagem Total de Bactérias Mesófilas

Efetuadas as diluições necessárias, as amostras foram plaqueadas, 1,0ml de cada diluição, em "Plate Count Agar" (PCA), MERCK, e incubadas a 37°C por 48 horas, seguindo as recomendações de VANDERZANT & SPLITTSTOESSER (1990).

b) Pesquisa de Bactérias Coliformes

Esta determinação foi realizada pela semeadura de 1,0ml de cada diluição em uma série de três tubos contendo caldo lauril-sulfato triptose MERCK, incubados, em estufa, a 35°C por 48 horas. Dos tubos que apresentaram formação de gás, no interior do tubo de Duhran (teste presuntivo positivo), repicou-se com alça de platina para tubos contendo caldo verde bile brilhante MERCK e incubou-se em estufa a 35°C por 48 horas para verificar-se a presença de coliformes totais e para tubos contendo caldo EC MERCK e incubou-se em banho-maria a 44,5±0,2°C por 24 horas para verificar-se a presença de coliformes fecais, segundo método recomendado por VANDERZANT & SPLITTSTOESSER (1990).

c) Contagem Total de Bactérias Psicrotróficas

Nesta determinação as amostras foram diluídas, plaqueadas em "Plate Count Agar" (PCA) DIFCO e incubadas a 20°C por 72 horas, segundo método recomendado por OLIVEIRA & PARMELLE (1976).

d) Pesquisa de *Enterobacteriaceae*

Nesta determinação utilizou-se 1,0ml de cada diluição, que foi plaqueado em agar vermelho-violeta glicose com "Overlay" MERCK. Colocou-se o agar, esperou-se até a total solidificação, em seguida colocou-se outra camada de agar. Isto porque as colônias típicas, vermelhas, crescem tanto na superfície como em profundidade. A incubação foi feita a 35°C, por um período de 24 horas. Este método foi empregado como recomenda o ICMSF (1978).

e) Contagem Total de Bolores e Leveduras

A contagem total de bolores e leveduras foi realizada utilizando-se o método de diluições e semeadura em placas contendo "Potato Dextrose Agar" MERCK, acidificado com ácido tartárico a 1,0%, encubadas a 25°C por um período de três a cinco dias. Este método foi recomendado pela Food and Drug Administration (1984).

f) Pesquisa de *Salmonella spp*

Esta determinação foi realizada utilizando-se 25g de cada amostra, triturada e diluída em 225ml de água peptonada tamponada a 0,10% e incubada por 24 horas a 35°C, para o pré-enriquecimento. Em seguida, 1,0ml dessa cultura foi transferido para um tubo contendo 10ml do caldo tetratio-nato MERCK, que foi incubado a 35°C por 24 horas em banho-maria. Simultaneamente, 1,0ml do mesmo inóculo foi transferido para um tubo contendo 10ml de caldo selenito cistina MERCK, que foi incubado em estufa a 43°C por 24 horas (enriquecimento seletivo). Em seguida, alíquotas dos tubos de caldo tetratio-nato e de selenito cistina foram repicadas para agar xilose-desoxicolato MERCK e agar entérico Hektoen MERCK, por meio de alça de platina ou níquel-cromo e incubados em estufa a 35°C por 24 horas. Colônias características no agar xilose-desoxicolato (pequenas colônias com centro negro e halo rosa) e no agar entérico Hektoen (pequenas colônias com centro negro e halo azul) foram submetidas à identificação bioquímica. Essa determinação seguiu o método recomendado por VANDERZANT & SPLITTSTOESSER (1990).

3.4.2-Determinação das Perdas de Peso

A determinação das perdas de peso foi realizada usando-se a diferença encontrada entre o peso das maminhas no início do experimento e em pesagens simultâneas às demais determinações. Para esta determinação utilizou-se uma balança Mettler Mod. P5N eletrônica, semi-analítica, com precisão 0,1g.

3.4.3-Determinação do pH

O pH foi determinado na superfície dos músculos antes dos tratamentos e em intervalos coincidentes com as demais análises, utilizando-se potenciômetro portátil Ingold Mod. WTW pH 91, com sistema de indicação digital LCD, precisão $\pm 0,01$ pH, sensor de compensação de temperatura Tec 530 e eletrodo de vidro apropriado para determinações de pH em superfícies.

3.4.4-Determinação das Bases Voláteis Totais (BVT)

A determinação das bases voláteis totais (BVT), que são os peptídeos, aminoácidos, aminas, amônia e outros produto da degradação química ou microbiológica das proteínas, foi realizada logo após os tratamentos e com intervalos de dois ou três dias de armazenamento a $7\pm 2^{\circ}\text{C}$. Para essa determinação, triturou-se uma camada de aproximadamente 5,0mm de espessura do *tensor fasciae latae* bovino, em triturador de carne WALITA. Após homogeneização da pasta obtida, três porções de 20g foram utilizadas na determinação de bases voláteis totais. Essa determinação foi realizada em triplicata. Nas determinações individuais, os 20g de músculo foram homogeneizados com 60ml de ácido tricloroacético a 7,5%. O extrato resultante foi filtrado em papel de filtro, e três alíquotas de cerca de 25ml foram utilizadas na determinação das bases voláteis totais propriamente ditas. Cada alíquota foi transferida para um aparelho de destilação micro-kjeldahl, onde o extrato foi tornado alcalino com NaOH a 33%, e deixado destilar durante cerca de cinco minutos, tempo suficiente para recolher 15-25ml do destilado num erlenmeyer contendo 5ml de ácido bórico a 2%. O conteúdo do erlenmeyer foi então titulado com HCl 0,05N. Este procedimento foi preconizado por BERAQUET et alii (1983).

3.4.5-Análise Sensorial

Foi realizada por um painel composto por 10 provadores treinados, em um sistema de avaliação sensorial computadorizado desenvolvido pela COMPUSENSE INC. LTDA., versão 4.2 (CSA, 1992). Utilizou-se uma escala não estruturada de 0 a 10 pontos (0=extremamente aceitável a 10=extremamente inaceitável) para os parâmetros odor, cor (superfície e músculo) e qualidade global. Analisaram-se o odor, a cor e a aparência das maminhas em todos os ensaios. No primeiro ensaio foram analisados também o odor, a maciez e a qualidade global da carne após cocção, em forno Imegui Templex Mod. FELD-3 aquecido a 165°C, até atingir 70°C no centro da amostra. A temperatura no centro da amostra foi medida usando-se um termopar Alwi Control Mod. LPA/CMS-10 calibração -30 a 800°C, como preconizam MORI & BERAQUET (1989).

3.4.6-Determinação da Cor do *Tensor Fasciae Latae* Bovino pelo Sistema Hunter L.a.b.

A determinação objetiva da cor foi feita em aparelho Hunter L.a.b. utilizado-se iluminante C, onde quantificou-se a Luminosidade (L*), o vermelho (a*) e o amarelo (b*), no músculo e na gordura de cobertura. Para essa análise foram marcadas regiões no músculo e na gordura e as determinações foram feitas sempre na mesma área.

3.4.7-Análise Estatística

Todos as análises foram realizadas em triplicata e os resultados foram submetidos a análises da variância, pela utilização do teste de Tukey a nível de significância de 95% através do programa estatístico STATGRAPHICS (1989).

3.5-Sanitização e Determinação da Vida-de-Prateleira de Carcaças Bovinas Submetidas à Aspersão com Solução de Ácidos Orgânicos e da Carne Obtida após a sua Desossa

Para essa etapa da pesquisa, foram utilizadas as carcaças de três animais, cedidos pelo Instituto de Zootecnia da Secretaria de Agricultura e Abastecimento do Estado de São Paulo e abatidos sob a inspeção de um Médico Veterinário, no Centro de Tecnologia da Carne (CTC) do Instituto de Tecnologia de Alimentos (ITAL), após descanso e dieta hídrica, seguindo as recomendações do RIISPOA (BRASIL, 1962).

Logo depois do abate, as meias carcaças foram pesadas em uma balança mecânica marca FILIZOLA, com precisão de 200g, e em seguida meia carcaça de cada animal foi submetida ao tratamento por aspersão de 500ml de uma solução contendo 2,00% de ácido acético, 1,00% de ácido láctico, 0,25% de ácido cítrico e 0,10% de ácido ascórbico (pH 2,21 e temperatura 22°C). Meia carcaça de cada animal, foi utilizada como controle.

A solução foi preparada momentos antes do tratamento, como recomendado por OTHOLD et alii (1984) e a aspersão foi feita com um atomizador Arprex Mod 25, com pressão interna de 6 kgf/cm² a distância do bico do aspersor à superfície da meia carcaça foi de aproximadamente 20cm. O tempo de aspersão foi de aproximadamente dois minutos por meia carcaça.

3.5.1-Análises Microbiológicas

Nesta fase do trabalho, o nível inicial de contaminação das carcaças foi determinado pela sua caracterização microbiológica. As determinações realizadas foram: contagem total de bactérias mesófilas, pesquisa de coliformes, contagem total de bactérias psicrotróficas, contagem de *Enterobacteriaceae* e de bolores e leveduras.

A análise microbiológica realizada durante a determinação da vida-de-prateleira das carcaças constou de contagem total de bactérias psicrotróficas e de bolores e leveduras com intervalos de três ou cinco dias de armazenamento. Os métodos utilizados para as determinações microbiológicas foram os mesmos empregados na sanitização do *tensor fasciae latae* bovino.

A amostragem para as determinações microbiológicas, nessa etapa do trabalho, foi realizada por método não destrutivo, recomendado por LEE & FUNG (1986), na superfície das meias carcaças, utilizando-se um molde metálico e uma zaragatoa. A amostragem foi feita em cinco diferentes pontos de cada meia carcaça, conforme é mostrado na **Figura 1**. Cada um dos pontos (A, B, C, D e E) foi amostrado separadamente, com o uso de uma zaragatoa e um molde metálico com área interna de 10cm^2 , resultando num total de 50cm^2 de área amostrada por meia carcaça. As cinco zaragatoas foram colocadas em um tubo contendo 25ml de água peptonada e considerada como amostra referente a meia carcaça. Cada mililitro dessa solução representou a microbiota presente em $2,0\text{cm}^2$ de superfície (DELAZARI et alii, 1980).

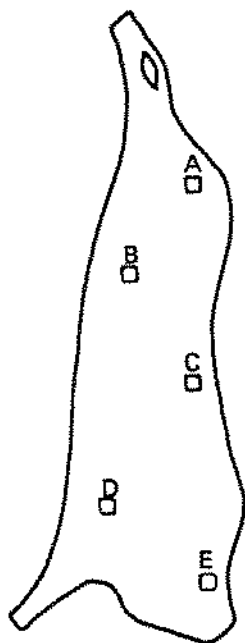


Figura 1. Pontos de coleta de amostras, na carcaça bovina.

3.5.2-Determinação das Perdas de Peso

As meias carcaças foram pesadas logo depois do abate, com 24 horas de estocagem e a cada três ou cinco dias de armazenamento refrigerado a $7\pm 2^{\circ}\text{C}$, utilizando-se sempre a mesma balança. As perdas de peso foram calculadas pela diferença existente entre o peso inicial e o peso atual, das carcaças, em cada determinação.

3.5.3-Determinação do pH

A determinação do pH das carcaças foi realizada logo após o abate dos animais, logo depois dos tratamentos, após 24 horas e com intervalos de três ou cinco dias de armazenamento a $7\pm 2^{\circ}\text{C}$. As determinações foram feitas em 12 pontos, escolhidos aleatoriamente, na superfície de cada meia carcaça. Em todo o trabalho, utilizou-se sempre o mesmo potenciômetro.

3.5.4-Análise Sensorial

Um painel composto por 12 analistas treinados opinou sobre a aparência geral das carcaças, logo depois dos tratamentos e com intervalos de três ou cinco dias de armazenamento.

As meias carcaças foram codificadas com números compostos por três algarismos, sendo os códigos aleatorizados pelo CSA (1992). Os analistas expressaram suas opiniões sobre a aparência geral de cada meia carcaça, em uma escala de 12 pontos que vai de 0=nenhuma alteração a 12=extremamente alterada, conforme a Figura 2, sugerida por MORAIS (1990).

Essa análise foi conduzida dentro da câmara de refrigeração. Durante a observação os analistas usaram máscaras, para evitar a contaminação das carcaças e agasalho para amenizar o desconforto com o frio no interior da câmara.

Avaliação sensorial da aparência

Nome: _____ Data: _____

Indique a intensidade da alteração da aparência de cada amostra

0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Nenhuma alteração	Ligeiramente alterada			Moderadamente alterada			Muito alterada			Extremamente alterada		

0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Nenhuma alteração	Ligeiramente alterada			Moderadamente alterada			Muito alterada			Extremamente alterada		

Comentários _____

Figura 2. Escala estruturada, para avaliação sensorial

3.5.5-Determinação da Cor da Superfície da Carcaça Bovina pelo Sistema Hunter L.a.b.

Essa determinação foi realizada com um aparelho portátil, MINOLTA CROMA METER CR 200b dotado de analisador compacto de tristímulos de cor, área de medida 8mm, iluminação difusa, ângulo de visão 0°, seis fotocélulas de silicone altamente sensíveis. Sistemas: Yxy (CIE), L* a* b*, (Yxy), $\Delta L^* a^* b^*$, ΔE^*ab , iluminantes C e D65. Neste trabalho, utilizou-se o iluminante C. A determinação foi realizada em 12 pontos escolhidos aleatoriamente, em toda a meia carcaça, a cada três ou cinco dias de armazenamento refrigerado a $7\pm 2^\circ\text{C}$, antecedendo a pesagem das meias carcaças e a coleta de amostras para as determinações microbiológicas.

3.5.6-Desossa das Carcaças para a Determinação da Vida-de-Prateleira da Carne

Após cinco, oito e quinze dias de estocagem, as carcaças foram desossadas obedecendo-se ao seguinte critério: desossou-se sempre ao mesmo tempo, a meia carcaça que recebeu o tratamento e a meia carcaça controle, provenientes do mesmo animal.

3.5.7-Determinação da Vida-de-Prateleira da Carne, após a Desossa das Carcaças

Imediatamente após a desossa, cortes do quarto dianteiro (acém e paleta) e do quarto traseiro (contrafilé, maminha e coxão duro) obtidos das meias carcaças submetidas ao tratamento e do controle, foram submetidos à contagem total de bactérias psicrotróficas e de bolores e leveduras. Nesta fase do trabalho, a amostragem foi realizada por zaragatoa, em 25cm^2 contínuos, todas as análises foram realizadas em duplicatas.

Os cortes foram armazenadas à $7\pm 2^\circ\text{C}$, para a determinação de sua vida-de-prateleira, por meio da contagem total de bactérias psicrotróficas e de bolores e leveduras. As análises foram realizadas com intervalos de três ou cinco dias de armazenamento, até que o número de microrganismos encontrado fosse igual ou superior aos números considerados por FUNG et alii (1980b) como índices indicadores de deterioração. Os métodos utilizados para as determinações microbiológicas, foram os mesmos do Item 3.4.1, utilizados nas fases anteriores do trabalho.

4-Resultados e Discussão

Alguns músculos da carcaça bovina, como o *longissimus dorsi* e o *tensor fasciae latae* resfriados foram submetidos a sanitização por aspersão com quatro soluções de ácidos orgânicos: 1) 1,00% de ácido acético; 2) 1,00% de ácido lático; 3) 2,00% de ácido acético e 1,00% de ácido lático; e 4) 2,00% de ácido acético, 1,00% de ácido lático, 0,25% de ácido cítrico e 0,10% de ácido ascórbico. Inicialmente realizou-se testes preliminares, nos quais investigou-se as alterações provocadas pelo tratamento à superfície dos músculos. Observou-se que todos os tratamentos provocavam descoloração na superfície dos músculos, mas os músculos tratados pela aspersão com a solução 4 voltavam à sua coloração anterior, durante o armazenamento refrigerado. A descoloração dos outros tratamentos era irreversível. Este fato foi atribuído a ação antioxidante dos ácidos cítrico e ascórbico, relatada por BAIRD-PARKER (1980). Face a esse resultado decidiu-se aprofundar os estudos usando essa mistura de ácidos.

Durante estes os testes verificou-se que o *tensor fasciae latae* bovino, adaptava-se melhor ao trabalho que estava sendo proposto, por ser um músculo relativamente pequeno, podendo ser utilizado inteiro e por estar localizado numa região externa da carcaça sujeito a contaminações durante o abate do animal.

4.1-Eficiência da Solução de Ácidos Orgânicos Utilizada como Sanitizante

A eficiência da solução de ácidos orgânicos utilizada como sanitizante da carne bovina foi testada com uma cultura contendo 10^8 UFC/ml de *Pseudomonas ssp.* Após o contato da cultura com a solução de ácidos orgânicos, não foi observado crescimento de microrganismos, para nenhum dos intervalos de tempo de contato. De acordo com GILL (1986), a microbiota predominante na carne bovina armazenada sob refrigeração é formada por esse gênero de microrganismos. Como a solução a ser utilizada como sanitizante eliminou a cultura de microrganismos utilizada no teste da suspensão, podemos supor que a solução de ácidos orgânicos utilizada como sanitizante seria eficiente na redução da microbiota da carne bovina.

4.2-Eficiência de Soluções de Alginato de Cálcio na Formação de Filmes Sobre Superfícies

O alginato de cálcio não forma uma barreira impermeável, impedindo a saída da umidade, como as embalagens plásticas, mas, é capaz de retardar a passagem da umidade por um mecanismo diferente. Entretanto, o mecanismo exato da formação do gel de alginato de cálcio ainda não é conhecido, alguns estudos realizados por autores anônimos, citados por LAZARUS et alii (1976) presumem que o cálcio é substituído por um cátion monovalente (na maioria das vezes sódio) e ligações cruzadas inter- e intra-moleculares formam o copolímero de alginato.

LAZARUS et alii (1976) aspergiram uma fina camada de alginato de cálcio sobre carcaças de carneiro e reduziram suas perdas de peso em mais de 40%. WILLIAMS et alii (1978) estudaram o efeito do alginato de cálcio sobre o crescimento de microrganismos na superfície da carne bovina.

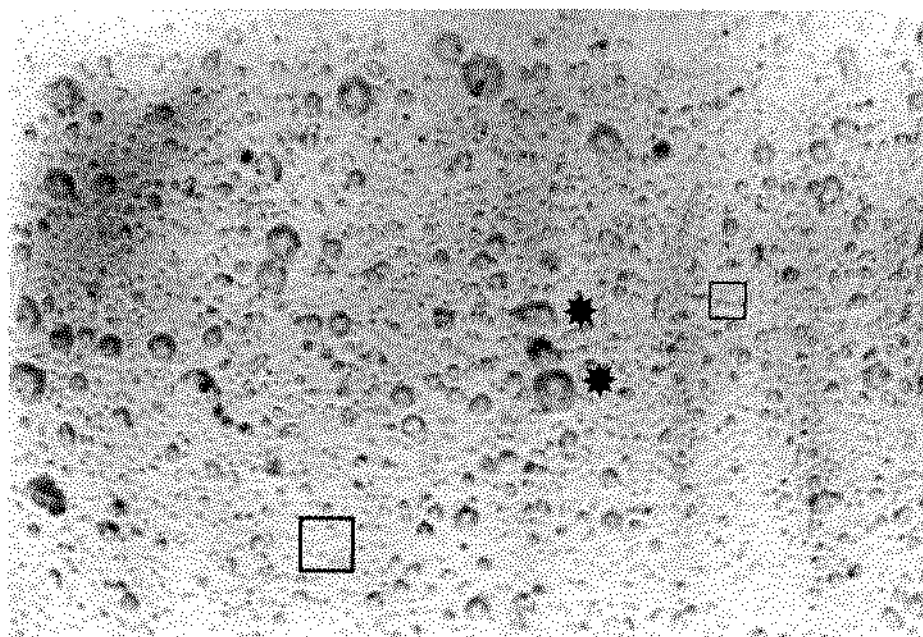


Figura 3. Micrografia óptica com contraste de fase e 200 vezes de aumento da solução de ácidos orgânicos seguida da solução de alginato de cálcio, em superfície vítrea

A Figura 3 mostra a micrografia óptica com contrastê de fase e 200 vezes de aumento, do filme formado pela solução de ácidos orgânicos seguida pela solução de alginato de cálcio, sobre a superfície vítrea. O filme é contínuo, mas apresentou grânulos (*) não dissolvidos de alginato de cálcio. Os grânulos não provocaram rupturas no filme. Nas áreas onde os grânulos têm diâmetros menores (□) nota-se a superfície do filme com mais clareza.

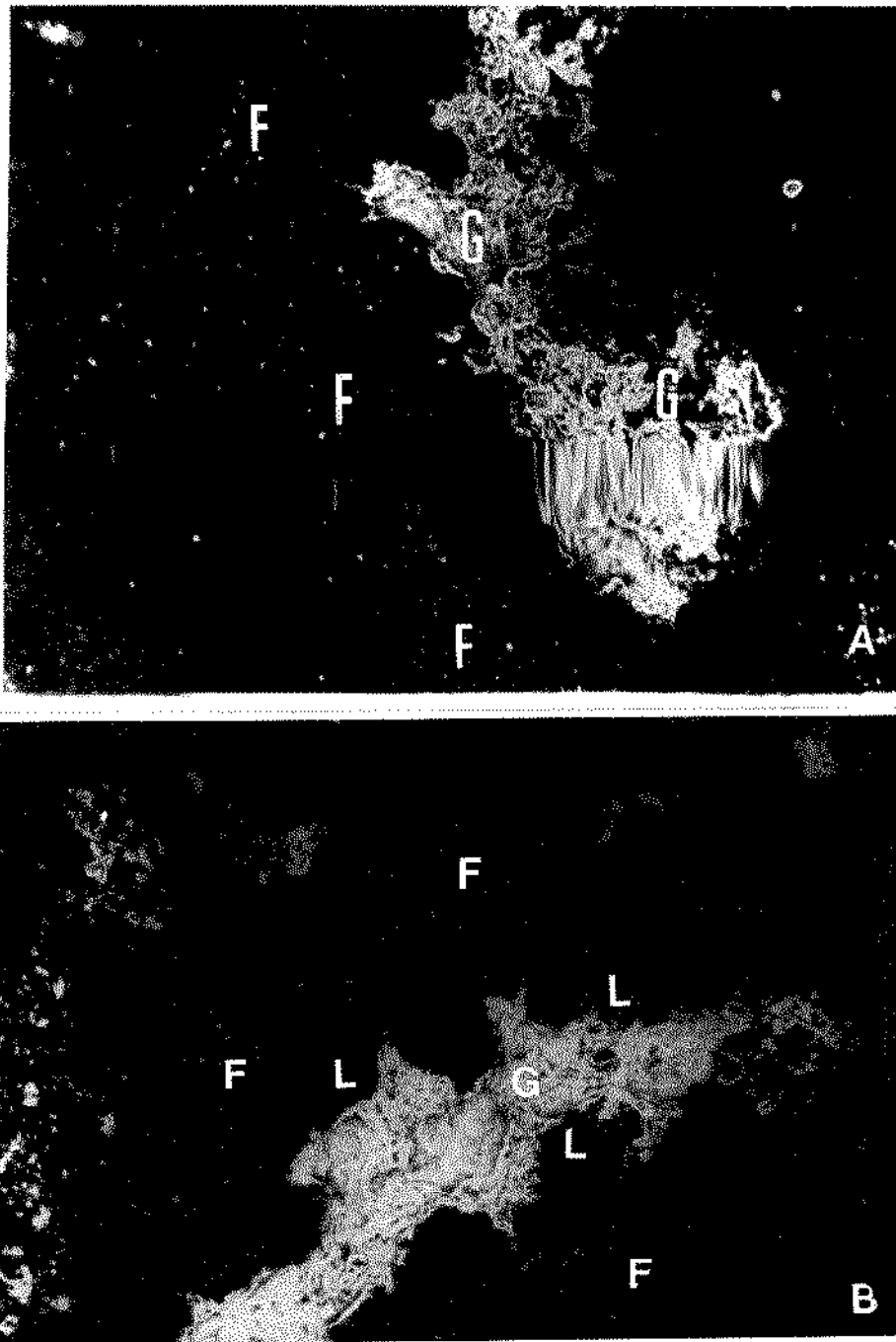


Figura 4(a e b). Micrografias ópticas, em campo escuro e 100 vezes de aumento da solução de ácidos orgânicos mais alginato de cálcio, em superfície vítrea

Na Figura 4 são apresentadas as micrografias ópticas, em campo escuro e 100 vezes de aumento, do filme formado pela solução de ácidos orgânicos mais alginato de cálcio, em uma superfície vítrea.

Na Figura 4(a) pode ser observado a presença de um filme (F) descontínuo, apresentando grumos (G). Na Figura 4(b) observa-se que o filme formado sobre a superfície, durante a secagem, sofreu retrações e os grumos provocaram o aparecimento de lacunas (L). As imperfeições verificadas no filme formado pela solução de ácidos orgânicos mais alginato de cálcio podem reduzir a ineficiência desse tratamento, tanto no controle do crescimento de microrganismos como na redução das perdas de peso.

Como pela análise das micrografias, não foi possível identificar qual das formas de aplicação da solução de alginato de cálcio, seria mais eficiente na formação do filme, foram realizados tratamentos, pela aspersão da solução de ácidos orgânicos seguida do alginato de cálcio e da solução de ácidos orgânicos mais alginato de cálcio.

4.3-Vida-de-Prateleira do *Tensor Fasciae Latae* Bovino, Submetido a Aspersão com Vapor de Água ou Solução de Ácidos Orgânicos - Ensaio I

4.3.1-Avaliação Microbiológica

O método padrão recomendado para a contagem de bactérias psicrótróficas baseia-se na incubação das placas a 7°C por um período de 10 dias, é fácil entender o pouco valor prático deste método no controle microbiológico, em carne fresca. Por ser os psicrótróficos, um dos grupos de microrganismos mais importantes em alimentos armazenados sob refrigeração, tem havido um elevado grau de interesse por parte dos pesquisadores, no sentido de desenvolver um método mais rápido que possa ser aplicado rotineiramente na determinação desse grupo de microrganismos. Neste trabalho, a pesquisa de bactérias psicrótróficas foi realizada a 20°C por 72 horas, este método foi desenvolvido por OLIVEIRA & PARMELE (1976).

Os valores médios encontrados na contagem total de bactérias psicrotróficas do *tensor fasciae latae* bovino, submetido aos tratamentos por aspersão da solução contendo 2,00% de ácido acético, 1,00% de ácido láctico, 0,25% de ácido cítrico e 0,10% de ácido ascórbico e de vapor a 80°C, comparados ao controle, armazenados a 10±2°C, são apresentados no Quadro 1.

Logo depois do tratamento com a solução de ácidos orgânicos, a contagem de bactérias psicrotróficas foi reduzida em um ciclo logarítmico. Após dois dias de armazenamento, essa redução aumentou para 2,59 log UFC/cm². Nos períodos seguintes, após quatro e seis dias de estocagem, o crescimento das bactérias psicrotróficas comportou-se de modo semelhante em todas as determinações, havendo sempre uma diferença superior a 2,0 log UFC/cm² entre o controle e os músculos submetidos ao tratamento.

O tratamento pela aspersão de vapor não teve o mesmo efeito observado com a aspersão da solução de ácidos orgânicos. As contagens microbianas obtidas nos músculos submetidos ao tratamento e no controle foram muito próximas. Durante os primeiros dois dias de armazenamento, o crescimento das bactérias psicrotróficas, nos músculos submetidos ao tratamento com vapor, foi menos acentuado do que no controle. Mas após quatro dias de estocagem, praticamente não havia diferença entre as contagens de bactérias psicrotróficas observadas nos músculos submetidos ao tratamento por aspersão de vapor e no controle.

Quadro 1. Bactérias psicrotróficas no *tensor fasciae latae* bovino, após tratamentos e durante armazenamento a 10±2°C. (Log UFC/cm²)¹

Tempo (dias)	Tratamento		
	Controle ²	Ácidos ²	Vapor ²
0	2,98 ^a	1,95 ^a	2,68 ^a
2	4,86 ^b	2,27 ^a	3,28 ^a
4	6,02 ^b	3,97 ^a	4,73 ^{a,b}
6	7,84 ^b	5,55 ^a	7,49 ^b

¹Diferentes letras, na mesma linha, indicam diferenças significativas (p<0,05) entre as médias

²Média de três repetições.

Tanto nos músculos submetidos ao tratamento por aspersão da solução de ácidos orgânicos como nos músculos tratados com o vapor, os valores encontrados na enumeração de bactérias psicrotróficas foi sempre menor do que os valores encontrados no controle.

Imediatamente após os tratamentos, a análise de variância não detectou diferença significativa ($p > 0,05$) entre os tratamentos e o controle. Nas análises seguintes com dois, quatro e seis dias de armazenamento, observou-se diferença significativa ($p < 0,05$) entre os músculos submetidos ao tratamento com a solução de ácidos orgânicos e o controle. Os músculos submetidos ao tratamento pela aspersão do vapor só apresentaram diferença significativa ($p < 0,05$) quando comparados ao controle, nas análises realizadas com dois dias de armazenamento.

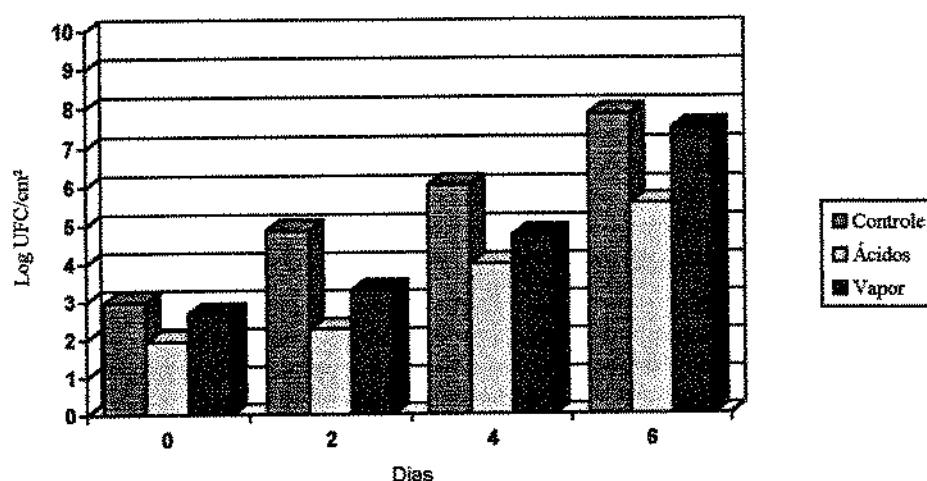


Figura 5. Bactérias psicrotróficas do *tensor fasciae latae* bovino, após tratamentos e durante armazenamento a $10 \pm 2^\circ\text{C}$.

Pela observação da Figura 5, podemos visualizar melhor os efeitos dos tratamentos aplicados no *tensor fasciae latae* bovino. Após dois dias de armazenamento, houve uma pequena recuperação do crescimento bacteriano nos músculos tratados pela aspersão da solução de ácidos orgânicos. ANDERSON & MARSHALL (1992a) relacionam a recuperação do crescimento de bactérias submetidas a tratamentos com soluções ácidas, ao fato de que esses organismos não foram eliminados, foram apenas injuriados e, portanto, dependendo das condições posteriormente oferecidas, poderão recuperar-se com diferentes graus de intensidade. Neste caso, tanto podia estar ocorrendo a recuperação dos microrganismos injuriados como a perda da

ação antimicrobiana dos ácidos utilizados na solução após um determinado espaço de tempo, como também podiam estar ocorrendo os dois fenômenos simultaneamente.

4.3.2-Avaliação Sensorial

Os resultados apresentados no Quadro 2 mostram a influência que os tratamentos exerceram, sobre a qualidade sensorial do *tensor fasciae latae* bovino. Estas análises foram realizadas logo depois dos tratamentos e com intervalos de dois dias, durante o armazenamento refrigerado, a $10\pm 2^{\circ}\text{C}$.

Analisando os valores apresentados no Quadro 2, podemos observar que os escores de odores dos músculos submetidos ao tratamento com a solução de ácidos orgânicos foram significativamente menores que os do controle e dos músculos tratados com vapor. Os provadores identificaram nos músculos tratados com a solução ácida, um leve e aceitável aroma ácido. Após dois dias de armazenamento refrigerado, esse aroma não foi mais detectado, e os escores não apresentaram diferenças significativas ($p>0,05$). Contudo, observou-se uma tendência do aumento nos escores de odor dos músculos tratados com a solução de ácidos orgânicos e uma redução nos escores atribuídos aos músculos tratados com vapor e ao controle. Resultado semelhante foi encontrado por OSTHOLD et alii (1984), que atribuíram este fato à volatilização do ácido acético, componente de maior volume na preparação da solução utilizada como sanitizante.

Em relação à avaliação sensorial da cor dos músculos, os resultados foram similares aos observados para o odor. Imediatamente após os tratamentos, os músculos tratados com a solução de ácidos orgânicos obtiveram escores significativamente menores que os tratados com vapor e o controle. Após dois dias de estocagem a $10\pm 2^{\circ}\text{C}$, não havia diferença significativa ($p>0,05$) de coloração entre os músculos submetidos aos dois tratamentos e o controle. Mas após quatro dias de armazenamento, os músculos tratados com a solução de ácidos orgânicos receberam escores significativamente maiores do que os músculos tratados com vapor e do que o controle. Esse mesmo comportamento foi observado por DAVEY & SMITH (1989), em pesquisa realizada pela aspersão de vapor e por OSTHOLD et alii (1984) em experimentos com solução ácida.

Como pode ser observado no **Quadro 2**, os tratamentos não afetaram a aparência do *tensor fasciae latae*, bovino, e portanto não há diferença significativa ($p>0,05$), entre os músculos submetidos aos tratamentos e o controle. Embora as diferenças não tenham sido estatisticamente significativas, logo depois dos tratamentos, os escores atribuídos à aparência dos músculos submetidos ao tratamento com a solução de ácidos orgânicos e com vapor foram inferiores aos atribuídos à aparência dos músculos utilizados como controle.

Quadro 2. Avaliação sensorial (odor, cor e aparência) do *tensor fasciae latae* bovino, após tratamentos e durante armazenamento a $10\pm2^{\circ}\text{C}^1$.

Tempo (dias)	Tratamento		
	Controle	Ácidos	Vapor
Odor			
0	8,40 ^a	6,61 ^b	9,19 ^a
2	8,69 ^a	8,34 ^a	8,95 ^a
4	8,09 ^a	7,51 ^a	6,88 ^a
6	6,87 ^a	7,59 ^a	7,44 ^a
Cor			
0	8,40 ^a	6,67 ^b	7,99 ^a
2	8,54 ^a	7,63 ^a	8,68 ^a
4	6,95 ^b	8,24 ^a	6,01 ^b
6	5,49 ^b	8,18 ^a	5,71 ^b
Aparência			
0	8,04 ^a	6,82 ^a	6,77 ^a
2	7,59 ^a	6,13 ^a	7,52 ^a
4	7,36 ^a	7,10 ^a	7,69 ^a
6	5,37 ^a	6,43 ^a	5,03 ^a

¹Diferentes letras, na mesma linha, indicam diferenças significativas ($p<0,05$) entre as médias

Neste ensaio também foram avaliados sabor, odor, maciez e qualidade global dos músculos submetidos aos tratamentos e do controle, seguindo a mesma periodicidade das demais análises, após preparo para consumo, cocção a 165°C até atingir 70°C, no centro do músculo. Os resultados dessa avaliação, são apresentados no Quadro 3.

Quadro 3. Avaliação sensorial (sabor, odor, maciez e qualidade global) do *tensor fasciae latae* bovino, após tratamentos e durante armazenamento a 10±2°C.

Tempo (dias)	Tratamento		
	Controle	Ácidos	Vapor
Sabor			
0	8,87	7,78	8,20
2	8,18	7,98	8,55
4	8,46	8,69	8,38
6	7,38	8,82	8,03
Odor			
0	8,60	8,59	8,59
2	8,22	7,99	8,73
4	8,36	8,56	7,90
6	8,03	8,51	8,44
Maciez			
0	5,55	5,29	6,16
2	6,89	7,80	6,81
4	5,28	6,23	4,64
6	6,85	6,59	4,72
Qualidade global			
0	7,60	6,48	6,72
2	6,89	7,80	6,81
4	6,87	7,97	6,87
6	6,79	6,59	6,49

Na opinião dos provadores, tanto os músculos submetidos aos tratamentos como o controle apresentaram sabor, odor, maciez e qualidade global semelhantes. Os escores atribuídos a cada atributo praticamente não variaram, no mesmo dia da análise. Ao submeter estes resultados à análise de variância, nenhum dos atributos analisados, apresentou diferença significativa ($p>0,05$), entre os tratamentos e o controle, durante o período em que foram realizadas as análises.

Estes resultados sugerem que os tratamentos a que o *tensor fasciae latae* bovino foi submetido, não exerceram influência sobre nenhum dos atributos pesquisados (sabor, odor, maciez e qualidade global), após o seu preparo para consumo, mantendo portanto, inalteradas as características organolépticas da carne, durante todo o período de armazenamento a $10\pm 2^{\circ}\text{C}$.

4.4-Vida-de-Prateleira do *Tensor Fasciae Latae* Bovino, Submetido a Tratamentos por Aspersão de Soluções de Ácidos Orgânicos - Ensaio II

4.4.1-Characterização Microbiológica do *Tensor Fasciae Latae* Bovino

Músculos sem tratamentos foram submetidos a análises microbiológicas com a finalidade de caracterizar sua contaminação microbiológica, antes dos tratamentos. Determinou-se a contagem total de bactérias mesófilas, psicrotróficas, bolores e leveduras, *Enterobacteriaceae*, bactérias do grupo coliformes e *Salmonella spp*.

As contagens de bactérias mesófilas, psicrotróficas, bolores e leveduras e *Enterobacteriaceae* foram $\log 2,40$; $2,51$; $1,66$ e $1,12$ UFC/cm² respectivamente. Pela metodologia utilizada, não foi detectada a presença de bactérias do grupo coliformes nem de *Salmonella spp*.

De acordo com FUNG et alii (1980b), contagens bacterianas inferiores a $2 \log$ UFC/cm² indicam baixa contaminação, contagens entre 3 e $4 \log$ UFC/cm² indicam contaminação intermediária e contagens entre 5 e $6 \log$ UFC/cm² alta contaminação. Portanto, estes músculos podem ser classificados como de contaminação microbiológica intermediária.

4.4.2-Avaliação Microbiológica

No Quadro 4 são apresentados os resultados da contagem total de bactérias psicrotróficas do *tensor fasciae latae* bovino submetido a tratamentos por aspersão de solução ácida, solução ácida seguida de solução de alginato de cálcio, solução ácida mais alginato de cálcio e do controle. Como pode ser observado, até o quinto dia de armazenamento a contagem desses microrganismos não apresentou diferença significativa ($p>0,05$) entre os tratamentos e o controle. Após sete dias, os músculos submetidos ao tratamento pela aspersão com a solução de ácidos orgânicos e os músculos tratados com a solução de ácidos orgânicos seguida da solução de alginato de cálcio, apresentaram contagens inferiores às observadas no controle, apresentando inclusive diferença significativa ($p<0,05$).

Embora não tenham apresentado diferença significativa ($p>0,05$) as contagens de bactérias psicrotróficas encontradas nos músculos tratados com a solução ácida seguida da solução de alginato de cálcio foram inferiores às contagens observadas nos músculos tratados com a solução de ácidos orgânicos contendo alginato de cálcio, durante todo o período em que foram analisados. Esse resultado pode ser atribuído à presença do filme formado pela solução de alginato de cálcio, sobre a solução ácida. A solução ácida contendo alginato de cálcio não forma filme contínuo, como pode ser observado nas Figuras 4(a e b).

No final do ensaio, após nove dias de armazenamento, as contagens continuaram menores para os músculos submetidos aos tratamentos; no entanto, não se detectou diferença significativa ($p>0,05$) entre os tratamentos e o controle. Este aumento no número de microrganismos viáveis nos músculos submetidos aos tratamentos pode ser atribuído a perda da eficiência dos ácidos utilizados na sanitização. Os resultados em questão estão de acordo com os valores encontrados no ensaio anterior e com relatos de BAIRD-PARKER (1980), sobre a ação antimicrobiana dos ácidos orgânicos. A perda da eficiência dos ácidos tanto pode ser atribuída ao alto poder tampicante da proteína muscular como à evaporação dos ácidos, permitindo assim o crescimento dos microrganismos. Essa última afirmação pode ser comprovada pelas medidas de pH, que serão discutidas posteriormente.

LAZARUS et alii (1976) e WILLIAMS et alii (1978) que estudaram a utilização de uma fina camada de alginato de cálcio sobre a superfície da carne, como forma de reduzir sua carga microbiana, obtiveram resultados semelhantes aos encontrados nesse trabalho, qual seja, não houve diferença significativa ($p>0,05$) entre os tratamentos e o controle.

Quadro 4. Bactérias psicrotróficas do *tensor fasciae latae* bovino, após tratamentos e durante armazenamento a $7\pm2^{\circ}\text{C}$. (Log UFC/cm²)¹.

Tempo (dias)	Tratamento			
	Controle ²	Ácidos ²	Ác./Alginato ²	Ác+Alginato ²
0	2,50	n.r.	n.r.	n.r.
2	1,99 ^a	1,03 ^a	1,27 ^a	1,19 ^a
5	2,79 ^a	3,17 ^a	2,43 ^a	2,93 ^a
7	5,54 ^b	4,52 ^a	4,54 ^a	4,88 ^{a,b}
9	5,45 ^a	4,62 ^a	4,51 ^a	4,89 ^a

¹Diferentes letras, na mesma linha, indicam diferenças significativas ($p<0,05$) entre as médias

²Média de três repetições.

n.r.=não foi realizado análise.

Embora não tenham desenvolvido altas contaminações, os músculos foram considerados impróprios à comercialização para consumo humano, pela equipe da análise sensorial, devido a sua aparência seca e sem brilho, características próprias de carne deteriorada. A perda de qualidade dos músculos pode estar relacionada às suas perdas de peso, que serão apresentadas posteriormente.

A Figuras 6 ilustra melhor a evolução do crescimento das bactérias psicrotróficas e dos efeitos causados pelos tratamentos, sobre esses microrganismos, nos músculos armazenados a $7\pm2^{\circ}\text{C}$. O crescimento desses microrganismos foi mais acentuado nos músculos utilizados como controle do que nos que foram submetidos aos tratamentos. Os músculos submetidos ao tratamento com a solução de ácidos orgânicos e os tratados com solução de ácidos orgânicos seguida da solução de alginato de cálcio apresentaram as

menores contagens totais de bactérias psicrotróficas, no final do período de observação. As contagens de bactérias psicrotróficas, estão abaixo dos índices críticos de avaliação microbiológica da superfície da carne bovina. A contagem total de bactérias aeróbias, no final da vida-de-prateleira da carne bovina foi determinada por VALLADARES et alii (1990) e encontram-se na faixa de 10^6 a 10^8 UFC/cm², muito acima das contagens encontradas nesse estudo.

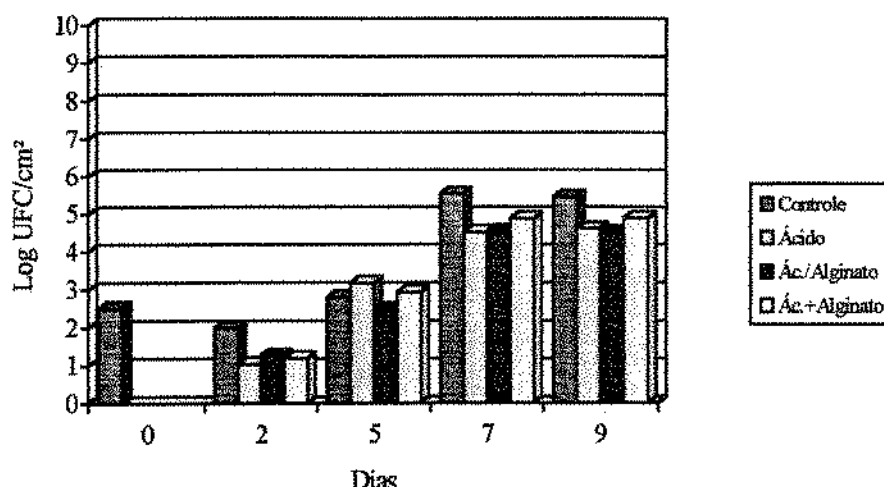


Figura 6. Bactérias psicrotróficas do *tensor fasciae latae* bovino, após tratamentos e durante armazenamento a $7\pm 2^\circ\text{C}$.

Os resultados da análise do crescimento de bolores e leveduras, durante o armazenamento refrigerado do *tensor fasciae latae* bovino, são apresentados no Quadro 5. Nas análises realizadas dois dias depois dos tratamentos, verificou-se uma sensível redução na contagem total desses microrganismos; os valores encontrados foram praticamente iguais, para todas os músculos. Após cinco dias de armazenamento, os valores encontrados, nos músculos submetidos aos tratamentos, foram superiores aos valores observados no controle. Nas análises seguintes, aos sete e nove dias de estocagem o número de bolores e leveduras encontrado no controle superou os valores observados nos músculos submetidos aos tratamentos.

O aumento da contagem total de bolores e leveduras na superfície dos músculos submetidos aos tratamentos com soluções de ácidos orgânicos já era esperado. Segundo OSTHOLD et alii, (1984), a redução do pH da superfície da carne estimula o crescimento desses microrganismos, durante o armazenamento refrigerado.

Quadro 5. Bolores e leveduras do *tensor fasciae latae* bovino, após tratamentos e durante armazenamento a $7\pm 2^{\circ}\text{C}$. (Log UFC/cm²)¹

Tempo (dias)	Tratamento			
	Controle ²	Ácidos ²	Ác/Alginato ²	Ác.+Alginato ²
0	2,33	n.r.	n.r.	n.r.
2	1,10 ^a	1,33 ^a	1,12 ^a	1,03 ^a
5	1,78 ^a	2,07 ^a	2,34 ^a	2,43 ^a
7	4,50 ^b	3,61 ^a	4,46 ^b	3,25 ^a
9	4,90 ^a	4,66 ^a	4,44 ^a	4,84 ^a

¹Diferentes letras, na mesma linha, indicam diferenças significativas ($p < 0,05$) entre as médias

²Média de três repetições.

n.r.=Não foi realizado análise.

A análise de variância revelou que esses valores não apresentaram diferenças significativas ($p > 0,05$) entre os tratamentos e o controle, até o quinto dia de armazenamento. Com sete dias de estocagem, os músculos submetidos ao tratamento com a solução de ácidos orgânicos e os músculos tratados com a solução de ácidos orgânicos mais alginato de cálcio apresentaram diferenças altamente significativas ($p < 0,001$), quando comparados com o controle. Com nove dias de armazenamento, não havia diferença significativa ($p > 0,05$) entre as contagens dos tratamentos e do controle.

A presença de *Enterobacteriaceae*, foi detectada somente no controle. Os valores encontrados foram: log 1,09; 0,85; 2,19; 1,85 e 3,35 UFC/cm² aos 0, 3, 5, 7 e 9 dias de armazenamento refrigerado, respectivamente, apresentando portanto evolução de crescimento, com o tempo de armazenamento refrigerado a $7\pm 2^{\circ}\text{C}$. Estes resultados indicam que os tratamentos foram eficientes na supressão do crescimento de bactérias da família *Enterobacteriaceae*.

4.4.3-Perdas de Peso

O Quadro 6 apresenta os resultados das perdas de peso quantificadas nos músculos submetidos aos tratamentos e no controle, durante o período de armazenamento a $7\pm 2^{\circ}\text{C}$. Após um dia de armazenamento, observou-se que os músculos submetidos ao tratamento com a solução de ácidos orgânicos mais alginato de cálcio apresentava as menores perdas de peso. As maiores perdas foram observadas no controle. A partir do quinto dia de armazenamento, as menores perdas de peso foram observadas no controle, seguido pelos músculos tratadas com a solução de ácidos orgânicos.

A análise de variância, mostrou que as perdas de peso dos músculos tratados com a solução de ácidos orgânicos e dos músculos tratados com a solução de ácidos orgânicos seguida da solução de alginato de cálcio, no final do experimento, com nove dias de armazenamento refrigerado, não apresentaram diferenças significativas ($p>0,05$), em relação ao controle. Neste ensaio, as maiores perdas de peso foram observadas no músculos tratados com a solução de ácidos orgânicos mais alginato de cálcio, apresentando inclusive diferença significativa ($p<0,05$), quando comparadas ao controle no final do período de observação.

Quadro 6. Percentagem das perdas de peso do *tensor fasciae latae* bovino, durante armazenamento a $7\pm 2^{\circ}\text{C}$ ¹.

Tempo (dias)	Tratamento			
	Controle ²	Ácidos ²	Ác./Alginato ²	Ác.+Alginato ²
1	0,88 ^b	0,52 ^{a,b}	0,55 ^{a,b}	0,35 ^a
3	2,59 ^a	2,49 ^a	2,98 ^a	2,97 ^a
5	4,05 ^a	5,06 ^a	5,53 ^a	5,35 ^a
7	5,52 ^a	6,93 ^a	7,64 ^a	7,63 ^a
9	6,31 ^a	8,06 ^{a,b}	8,77 ^{a,b}	9,00 ^b

¹Diferentes letras, na mesma linha, indicam diferenças significativas ($p<0,05$) entre as médias

²Média de três repetições.

Os músculos tratados com a solução de ácidos orgânicos mais alginato de cálcio apresentaram as maiores perdas de peso. Estes resultados não confirmam afirmação de KESTER & FENNEMA (1986), na qual a utilização de uma fina camada de alginato de cálcio na superfície de carnes reduziria as suas perdas de peso, durante armazenamento em ambientes refrigerados. LAZARUS et alii (1976) também reduziu em mais de 10%, as perdas de peso de carcaças de carneiros cobertas por uma fina camada de alginato de cálcio armazenadas sob refrigeração, a 2°C por sete dias.

As maiores perdas de peso observadas nos músculos submetidos aos tratamentos, pode ser explicado pelo efeito desnaturante dos ácidos aspergidos na superfície da carne. As proteínas exsudadas no corte do músculo formam um filme protéico na superfície do músculo diminuindo a taxa de perdas de umidade, durante o armazenamento refrigerado. Nos músculos submetidos aos tratamentos, os ácidos desnaturam as proteínas da superfície da carne impedindo a formação da película protéica. O próprio alginato de cálcio, pode ter funcionado como um veículo de absorção de água do músculo, facilitando a sua remoção pelo ar circulante.

4.4.4-Avaliação do pH

Os valores de pH encontrados na superfície dos músculos, submetidos aos tratamentos e do controle são mostrados no Quadro 7. Imediatamente após a aspersão das soluções, o pH superficial dos músculos foram abaixados significativamente, situando-se na faixa de 4,0 a 4,2. Contudo, após um dia de armazenamento refrigerado a $7\pm 2^{\circ}\text{C}$, já não se observou diferença significativa ($p>0,05$) nos valores de pH da superfície dos músculos submetidos aos tratamentos e do controle.

A elevação dos valores de pH da superfície dos músculos, nas primeiras horas depois da aspersão da solução de ácidos orgânicos, pode ser atribuída a pequena quantidade de ácidos aspergida na superfície para uma massa muscular de maior volume, o efeito tamponante da proteína muscular tende a neutralizar os ácidos. Durante o armazenamento prolongado, reações autolíticas ocasionam a formação de compostos básicos que aumentam o pH, e posteriormente a ação proteolítica das bactérias deterioradoras provocam o mesmo efeito.

Quadro 7. Medidas de pH do *tensor fasciae latae* bovino, após tratamentos e durante armazenamento a $7\pm 2^{\circ}\text{C}$ ¹.

Tempo (dias)	Tratamento			
	Controle ²	Ácidos ²	Ác./Alginato ²	Ác.+Alginato ²
0	5,57 ^a	4,21 ^b	4,11 ^b	3,97 ^b
1	5,35 ^a	5,24 ^a	5,33 ^a	5,12 ^a
3	5,47 ^a	5,38 ^a	5,48 ^a	5,33 ^a
5	5,40 ^a	5,38 ^a	5,52 ^a	5,36 ^a
7	5,67 ^a	5,56 ^a	5,74 ^a	5,51 ^a
9	5,73 ^a	5,52 ^a	5,71 ^a	5,69 ^a

¹Diferentes letras, na mesma linha, indicam diferenças significativas ($p < 0,05$) entre as médias

²Média de três repetições.

A avaliação destes resultados sugere que após 24 horas de armazenamento refrigerado, os tratamentos aplicados não exerceram influência no pH do *tensor fasciae latae* bovino. Pela avaliação dos valores de pH, observados até o final do experimento, todas as amostras continuaram em condições próprias para o consumo. De acordo com SHELEF & JAY (1977), carne bovina com pH inferior a 5,8 está em condições microbiológicas satisfatórias para consumo.

4.4.5-Bases Voláteis Totais (BVT)

A determinação de bases voláteis totais (BVT) pode ser utilizada para avaliar o grau de deterioração da proteína de origem animal durante armazenamentos prolongados, em baixas temperaturas principalmente, na determinação da vida-de-prateleira desses produtos (PEARSON, 1968).

Não há dados na literatura, sobre a quantificação de bases voláteis totais em carne bovina resfriada, que sirvam de comparação aos valores encontrados neste trabalho. Os relatos encontrados na literatura, referem-se à

determinação de bases voláteis totais em músculo de pescado e variam em torno de 12 a 35 mgN/100g de músculo (BERAQUET et alii, 1983), e em carne bovina moída, os valores variaram entre 10,6 e 19,3 mgN/100g de músculo (PEARSON, 1968).

As bases voláteis totais determinadas em pescado fresco são compostas de amônia e uma considerável quantidade de aminas. Em carne, a presença de aminas é insignificante e as bases voláteis totais consistem basicamente de amônia. Este fato justifica porque pescado salgado de boa qualidade pode apresentar teores de BVT acima de 100mgN/100g de músculo (BERAQUET et alii, 1983) e o valor máximo de BVT tolerado em carne bovina não pode exceder 20mgN/100g (PEARSON, 1968).

Considerando a interpretação de PEARSON (1968) e de BERAQUET et alii (1983), os resultados encontrados no presente estudo, apresentados no Quadro 8, evidenciam que não há indícios de deterioração dos músculos, visto que não houve evolução desses valores, tanto quando a comparação foi feita entre os tratamentos como quando compararam-se os tempos de armazenamento. Os resultados encontrados foram bastante semelhantes, em todos as análises realizadas.

Quadro 8. Bases voláteis totais (BVT) em mg/100g de amostra do *tensor fasciae latae* bovino, após tratamentos e durante armazenamento a 7±2°C¹.

Tempo (dias)	Tratamento			
	Controle ²	Ácidos ²	Ác./Alginato ²	Ác.+Alginato ²
0	1,64 ^a	2,11 ^b	1,89 ^{a,b}	1,60 ^a
3	1,62 ^a	1,63 ^a	1,50 ^a	1,81 ^a
5	1,72 ^a	1,60 ^a	1,64 ^a	1,72 ^a
7	1,84 ^a	1,75 ^a	1,73 ^a	1,68 ^a
9	1,97 ^a	1,75 ^a	1,81 ^a	1,94 ^a

¹Diferentes letras, na mesma linha, indicam diferenças significativas (p<0,05) entre as médias

²Média de três repetições.

4.4.6-Avaliação Sensorial

Os resultados apresentados no **Quadro 9** revelam a influência dos tratamentos a que foi submetido o *tensor fasciae latae* bovino, logo depois dos tratamentos e em intervalos de dois ou três dias de armazenamento refrigerado, comparados a um controle. Todos os músculos submetidos aos tratamentos, como observado no ensaio anterior, apresentaram um leve porém aceitável aroma de ácidos. Após dois dias de armazenamento, esse aroma não foi mais detectado. Resultados semelhantes foram relatos por OSTHOLD et alii (1984).

Logo depois dos tratamentos não se detectou diferença significativa ($p>0,05$) na coloração do *tensor fasciae latae* bovino. Após três dias de armazenamento a $7\pm 2^{\circ}\text{C}$ os escores atribuídos aos músculos submetidos ao tratamento com a solução de ácidos orgânicos e ao controle foram estatisticamente superiores aos escores atribuídos aos músculos tratados com a solução ácida seguida da solução de alginato de cálcio e aos músculos tratados com a solução ácida mais alginato de cálcio. Com cinco dias de armazenamento, os músculos tratados com a solução de ácidos orgânicos receberam escores estatisticamente superiores a todos os outros músculos. A partir deste período, os escores atribuídos à coloração dos músculos não apresentaram diferenças significativas ($p>0,05$).

O tratamento por aspersão de nenhuma das soluções afetou a aparência dos músculos, logo depois de sua aplicação. No terceiro dia de armazenamento, os músculos submetidos ao tratamento com a solução de ácidos orgânicos seguida da solução de alginato de cálcio e os músculos tratados com a solução de ácidos orgânicos mais alginato de cálcio, receberam escores estatisticamente inferiores aos músculos tratados com a solução de ácidos orgânicos e aos utilizados como controle. A partir do quinto dia de estocagem os provadores atribuíram os maiores escores aos músculos tratados com a solução de ácidos orgânicos. Embora não tenha sido encontrada diferença significativa ($p>0,05$), aos sete dias de armazenamento, todos os músculos ainda foram considerados aceitáveis. Aos nove dias de armazenamento, apenas os músculos submetidos ao tratamento com a solução de ácidos orgânicos seguida da solução de alginato de cálcio continuaram em condições adequadas para consumo humano.

Quadro 9. Avaliação sensorial do *tensor fasciae latae* bovino, após tratamentos e durante armazenamento a $7\pm 2^{\circ}\text{C}^1$.

Tempo (dias)	Tratamento			
	Controle	Ácidos	Ác./Alginato	Ác.+Alginato
Odor				
0	8,64 ^a	7,28 ^{a,b}	6,79 ^{a,b}	5,92 ^b
3	8,45 ^a	8,41 ^a	7,82 ^a	7,82 ^a
5	8,79 ^a	8,08 ^a	7,79 ^a	7,77 ^a
7	6,92 ^a	6,54 ^a	7,05 ^a	6,69 ^a
9	4,46 ^{a,b}	3,49 ^b	5,82 ^a	5,90 ^a
Cor				
0	8,36 ^a	7,15 ^a	6,82 ^a	6,44 ^a
3	8,30 ^a	8,93 ^a	7,13 ^b	7,10 ^b
5	7,36 ^b	8,26 ^a	7,72 ^{a,b}	7,36 ^b
7	6,38 ^a	6,92 ^a	6,69 ^a	5,95 ^a
9	5,10 ^a	5,92 ^a	5,54 ^a	5,51 ^a
Aparência				
0	8,59 ^a	7,90 ^a	6,90 ^a	6,62 ^a
3	8,36 ^a	9,05 ^a	7,77 ^b	7,90 ^b
5	7,51 ^a	8,18 ^a	8,41 ^a	7,56 ^a
7	5,67 ^a	5,23 ^a	5,05 ^a	5,23 ^a
9	3,41 ^b	4,87 ^a	5,33 ^a	4,33 ^{a,b}

¹Diferentes letras, na mesma linha, indicam diferenças significativas ($p<0,05$) entre as médias

4.4.7-Avaliação da Cor do *Tensor fasciae latae* Bovino pelo Sistema Hunter L.a.b.

Na Figura 7 são apresentados os dados da cor, do *tensor fasciae latae* bovino, mensurada pelo sistema Hunter L.a.b. em análise realizada aproximadamente uma hora depois dos tratamentos e durante armazenamento a $7\pm 2^{\circ}\text{C}$. A luminosidade (L Hunter) de todos os músculos sofreu redução com o tempo de estocagem, possivelmente, essa redução foi provocada pelo ressecamento da superfície dos músculos.

Os valores de Luminosidade (L Hunter) variaram de 35,47 para os músculos tratados com a solução de ácidos orgânicos a 30,80 nos músculos tratados com a solução ácida seguida do alginato de cálcio. Os valores de vermelho (a Hunter) variaram de 6,10 nos músculos tratados com a solução de ácidos orgânicos a 5,60 para o controle. E os valores de amarelo (b Hunter) variaram de 0,8 para os músculos tratados com a solução de ácidos orgânicos seguida de alginato de cálcio a 7,00 para o controle.

Aos nove dias de armazenamento, os músculos tratados com a solução de ácidos orgânicos apresentaram os maiores valores de luminosidade, mas essa diferença não foi estatisticamente significativa, nem pode ser relacionada com as perdas de peso, visto o controle apresentou a menor perda de peso e o menor valor de luminosidade.

Os valores de vermelho (a Hunter) e de amarelo (b Hunter) tiveram comportamentos semelhantes, aumentaram até o quinto dia de armazenamento para em seguida voltaram a diminuir até o final do período de armazenamento.

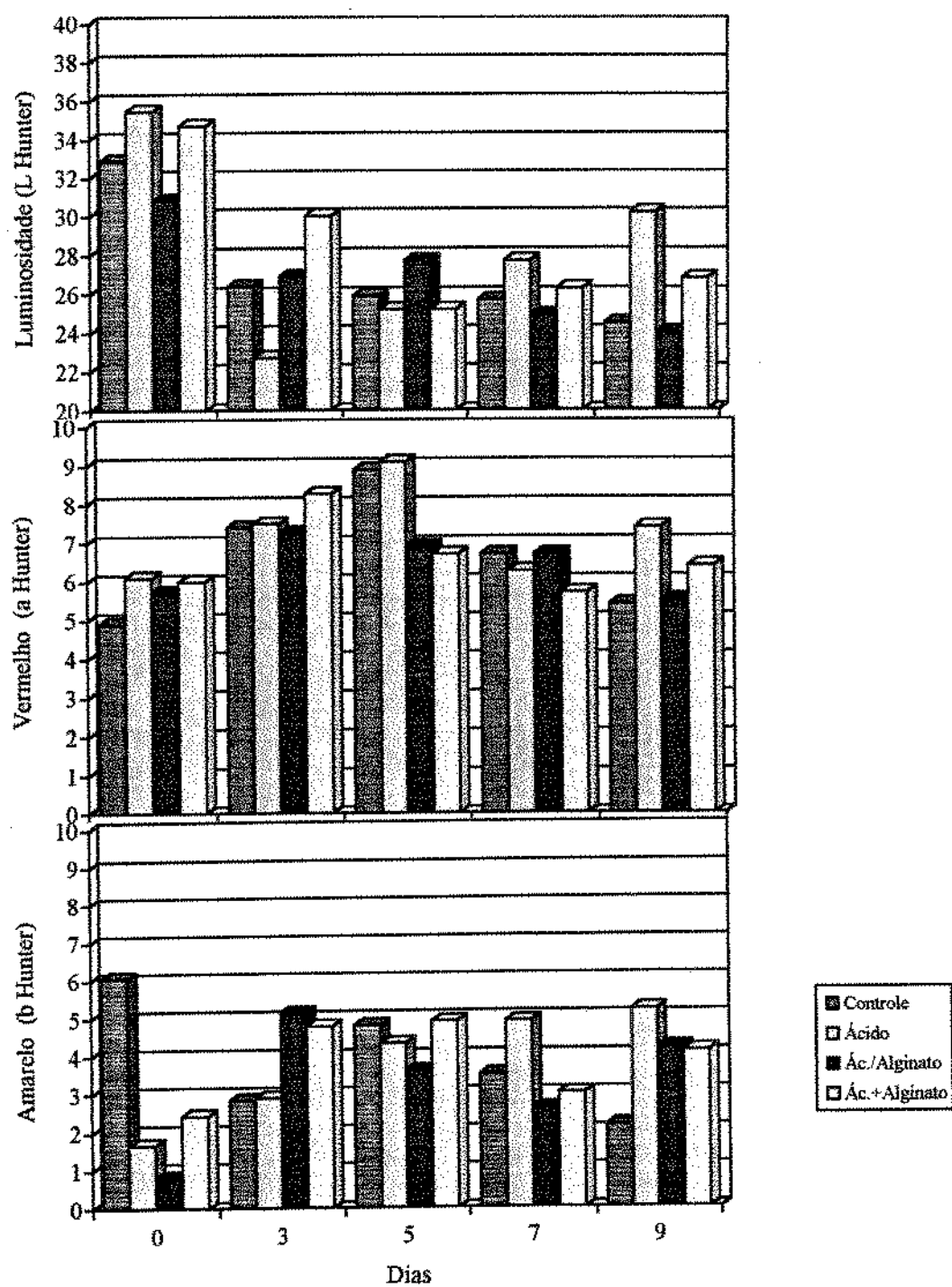


Figura 7. Dados da cor da superfície externa do *tensor fasciae latae* bovino, mensurados no sistema Hunter L.a.b., após tratamentos e durante armazenamento a $7\pm 2^{\circ}\text{C}$.

4.5-Vida-de-Prateleira do *Tensor Fasciae Latae* Bovino, Submetido a Tratamentos por Aspersão de Soluções de Ácidos Orgânicos - Ensaio III

Pelos resultados obtidos, durante a determinação da vida-de-prateleira do *tensor fasciae latae* bovino submetido a aspersão das soluções de ácidos orgânicos, ácidos orgânicos seguidos de alginato de cálcio e ácidos orgânicos mais alginato de cálcio, verificou-se que os três tratamentos aplicados reduziram a contagem de bactérias psicrotróficas da superfície do músculo. A contagem de bolores e leveduras dos músculos submetidos aos tratamentos e do controle praticamente não apresentou diferenças. Em suma, nenhum dos tratamentos foi inequívocamente melhor que os demais.

Com base nesses resultados, realizou-se o Ensaio III, na tentativa de identificar o melhor método de sanitização da carne bovina. Neste ensaio, repetiu-se os tratamentos com ácidos orgânicos e com ácidos orgânicos mais alginato de cálcio, com o objetivo de confirmar a eficiência dos mesmos, e introduziu-se um tratamento com a adição de 2,00% de sorbato de potássio à solução de ácidos orgânicos com o objetivo de reduzir o crescimento de bolores e leveduras, uma vez que existe significativo volume de trabalhos relatando sua eficiência contra estes microrganismos (EKLUND, 1983; KONDAIAH et alii, 1985 e ZAMORA & ZARITZKY, 1987).

4.5.1-Characterização Microbiológica do *Tensor Fasciae Latae* Bovino

Antes dos tratamentos, os músculos foram submetidos à caracterização microbiológica. Como no Ensaio II, determinou-se a contagem total de bactérias mesófilas, psicrotróficas, bolores e leveduras, *Enterobacteriaceae*, bactérias do grupo coliformes e *Salmonella spp.*

Os resultados encontrados foram: bactérias mesófilas 2,64 log UFC/cm², bactérias psicrotróficas 2,60 log UFC/cm² e bolores e leveduras 2,41 log UFC/cm². Pela metodologia utilizada, não foi detectada a presença de *Enterobacteriaceae*, de bactérias do grupo coliformes nem de *Salmonella spp.*

Os resultados encontrados, na caracterização desses músculos, foram semelhantes aos encontrados no Ensaio II, ou seja apresentaram contaminação microbiológica intermediária (FUNG et alii (1980b). Este resultado já era esperado, visto que, nos dois ensaios as amostras foram adquiridas no mesmo frigorífico e manipuladas nas mesmas condições.

4.5.2 Avaliação Microbiológica

Neste ensaio, até o sétimo dia de armazenamento houve diferenças significativas ($p < 0,05$) entre as contagens de bactérias psicrotróficas dos músculos submetidos aos tratamentos e do controle. As contagens de bactérias psicrotróficas de todos os tratamentos foram inferiores às do controle, com exceção do tratamento com a solução de ácidos orgânicos que no quinto dia de armazenamento não apresentou diferença significativa ($p > 0,05$). Os músculos submetidos ao tratamento pela aspersão da solução de ácidos orgânicos apresentaram as maiores contagens de bactérias psicrotróficas, entre os músculos que foram submetidos aos tratamentos, durante todo o tempo de armazenamento refrigerado, como mostram os valores apresentados no **Quadro 10**. No décimo dia de armazenamento, apenas as contagens do tratamento com solução ácida mais alginato de cálcio eram significativamente menores que as do controle.

Quadro 10. Bactérias psicrotróficas do *tensor fasciae latae* bovino, após tratamentos e durante armazenamento a $7 \pm 2^\circ\text{C}$. (Log UFC/cm²)¹

Tempo (dias)	Tratamento			
	Controle ²	Ácidos ²	Ác.+Sorbato ²	Ác.+Alginato ²
0	2,60 ^b	2,39 ^a	2,39 ^a	2,39 ^a
3	3,47 ^b	2,49 ^a	2,45 ^a	2,45 ^a
5	3,31 ^b	2,82 ^{a,b}	2,63 ^a	2,39 ^a
7	5,22 ^b	3,63 ^a	2,81 ^a	2,52 ^a
10	5,62 ^b	5,41 ^b	4,03 ^{a,b}	3,27 ^a

¹Diferentes letras, na mesma linha, indicam diferenças significativas ($p < 0,05$) entre as médias

²Média de três repetições.

Durante todo o período, os músculos tratados com a solução de ácidos orgânicos mais sorbato de potássio, apresentaram contagens totais de bactérias psicrotróficas, até 90% inferiores ao controle. Resultados semelhantes foram observados por ZAMORA & ZARITZKY (1987), pela utilização de soluções de sorbato de potássio em concentrações acima de 100 ppm, na sanitização da carne bovina armazenada em temperaturas que variaram entre 0 e 4°C.

As contagens de bactérias psicrotróficas de todas os músculos, ao término do período de estocagem estudado, também ficaram abaixo dos valores críticos de indicação de deterioração microbiana da carne bovina, estipulados entre 10^6 - 10^8 UFC/cm². No entanto, aos dez dias de armazenamento, todas os músculos foram consideradas inaceitáveis pela equipe de análise sensorial, devido a sua aparência seca e sem brilho. Este fato está relacionado com as perdas de peso dos músculos que serão discutidos no Item 4.5.3.

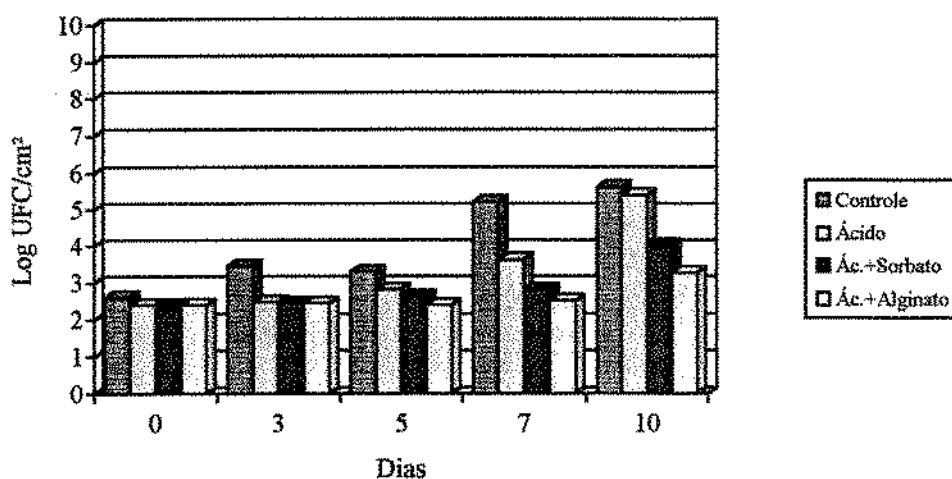


Figura 8. Bactérias psicrotróficas do *tensor fasciae latae* bovino, após tratamentos e durante armazenamento a 7±2°C.

Observando a Figura 8, percebe-se que os resultados encontrados para a contagem de bactérias psicrotróficas, confirmam os valores encontrados no Ensaio II, ou seja, o crescimento foi mais acentuado no controle do que em todos os músculos submetidos aos tratamentos. Os músculos que apresentaram o menor crescimento desse grupo de microrganismos, foram os tratados com a solução de ácidos orgânicos mais alginato de cálcio e os tratados com a solução de ácidos orgânicos mais sorbato de potássio.

Os valores apresentados no Quadro 11 referem-se a contagem total de bolores e leveduras do *tensor fasciae latae* bovino, tratado com soluções de ácidos orgânicos, de ácidos orgânicos mais sorbato de potássio, de ácidos orgânicos mais alginato de cálcio e do controle. Logo depois dos tratamentos e após três dias de armazenamento os valores dessa determinação, encontrados nos músculos tratados com a solução de ácidos orgânicos e nos tratados com a solução de ácidos orgânicos mais sorbato de potássio foram semelhantes aos valores observados no controle. Os músculos tratados com a solução de ácidos orgânicos mais alginato de cálcio apresentaram contagens significativamente menores, durante todo o período de observação.

Quadro 11. Bolores e leveduras do *tensor fasciae latae* bovino, após tratamentos e durante armazenamento a $7\pm 2^{\circ}\text{C}$. (Log UFC/cm²)¹

Tempo (dias)	Tratamento			
	Controle ²	Ácidos ²	Ác.+Sorbato ²	Ác.+Alginato ²
0	2,46 ^b	2,36 ^b	2,42 ^b	2,15 ^a
3	2,49 ^b	2,42 ^b	2,41 ^b	2,07 ^a
5	3,15 ^b	2,84 ^{a,b}	2,61 ^{a,b}	2,51 ^a
10	4,97 ^b	4,56 ^b	3,45 ^a	3,39 ^a

¹Diferentes letras, na mesma linha, indicam diferenças significativas ($p<0,05$) entre as médias

²Média de três repetições.

As contagens de bolores e leveduras determinadas nos músculos tratados com a solução de ácidos orgânicos mais alginato de cálcio apresentaram diferenças significativas ($p<0,05$), em todas as análises realizadas durante o período de observação. Embora não tenham apresentado diferenças significativas ($p>0,05$), as contagens dos músculos tratados com a solução de ácidos orgânicos e os tratados com a solução de ácidos orgânicos mais sorbato de potássio apresentaram contagens inferiores às observadas no controle, confirmando portanto a eficiência do sorbato de potássio contra o crescimento de bolores e leveduras em carnes, relatado anteriormente por KONDAIAH et alii (1985).

4.5.3-Perdas de peso

Os valores apresentados no **Quadro 12** referem-se às perdas de peso dos músculos submetidos aos tratamentos e do controle durante armazenamento a $7\pm 2^{\circ}\text{C}$. Após um dia de observação, os músculos submetidos ao tratamento pela aspersão da solução de ácidos orgânicos mais alginato de cálcio apresentaram as maiores perdas de peso. Neste mesmo intervalo, as menores perdas foram observadas no controle. A partir do terceiro dia, até o final das determinações, as menores perdas de peso foram observadas nos músculos tratados com a solução de ácidos orgânicos. Durante todo o período de observação os músculos tratados com a solução de ácidos orgânicos mais alginato de cálcio continuaram apresentando perdas de peso superiores a todos os outros músculos.

No final do ensaio, aos 10 dias de armazenamento, a análise de variância não detectou diferença significativa ($p>0,05$) nas perdas de peso dos músculos tratados com a solução de ácidos orgânicos mais alginato de cálcio e dos tratados com a solução de ácidos orgânicos mais sorbato de potássio, quando comparados ao controle. Os músculo tratados com a solução de ácidos orgânicos mais alginato de cálcio apresentaram perdas de peso, significativamente maiores, confirmando os resultados encontrados no Ensaio II.

Quadro 12. Percentagem das perdas de peso do *tensor fasciae latae* bovino, durante armazenamento refrigerado a $7\pm 2^{\circ}\text{C}$ ¹.

Tempo (dias)	Tratamento			
	Controle ²	Ácidos ²	Ác.+Sorbato ²	Ác+Alginato ²
1	1,37 ^a	1,45 ^a	1,62 ^a	2,18 ^a
3	4,77 ^{a,b}	3,99 ^a	4,78 ^{a,b}	5,64 ^b
5	7,05 ^a	6,71 ^a	7,52 ^a	8,70 ^b
7	9,63 ^a	9,26 ^a	10,30 ^{a,b}	11,55 ^b
10	13,69 ^{a,b}	13,39 ^a	13,77 ^{a,b}	15,72 ^b

¹Diferentes letras, na mesma linha, indicam diferenças significativas ($p<0,05$) entre as médias

²Média de três repetições.

Essas perdas de peso são maiores do que as normalmente encontradas em frigoríficos comerciais, no entanto o objetivo do estudo não era avaliar as perdas de peso em valores absolutos, mas sim a eficiência dos tratamentos na redução dessas perdas. Os dados encontrados na literatura, referem-se às perdas de peso, em carcaças de bovinos, nas primeiras 20 horas depois do abate. Os valores mencionados na literatura situam-se entre 1,0 e 1,4% (CROUSE et alii, 1988). Nesse trabalho, os ensaios foram realizados com carne desossada, após o resfriamento das carcaças por 24 horas, portanto não são adequadas comparações diretas, mesmo assim pode-se considerar altos os valores encontrados tanto nos músculos submetidos aos tratamentos como no controle.

As perdas de peso em cortes cárneos são mais acentuadas, porque, por ocasião da desossa, são retiradas as proteções naturais do tecido muscular, como camada de gordura e tecido conjuntivo. Normalmente cortes cárneos requerem a utilização de embalagem durante o armazenamento refrigerado para evitar perdas de peso excessivas. Neste estudo todas os músculos foram armazenados sem embalagem, para simular armazenamento de carcaças.

Neste ensaio, observou-se que no primeiro dia de armazenamento, as perdas de peso dos músculos submetidos ao tratamento com a solução de ácidos orgânicos mais alginato de cálcio foi superior a 2,0%. Após três dias de estocagem, todas os músculos apresentaram perdas de peso que variaram de 3,99%, nos tratados com a solução de ácidos orgânicos, a 5,64% nos tratados com a solução de ácidos orgânicos mais alginato de cálcio. No final do ensaio, com dez dias de armazenamento, as maiores perdas foram registradas nos músculos tratados com a solução de ácidos orgânicos mais alginato de cálcio e as menores, nos tratados com a solução de ácidos orgânicos. Estas perdas, que podem ser consideradas excessivas, devem ter provocado o escurecimento da superfície dos músculos, detectado pela análise sensorial, que será discutida posteriormente. O excesso de perdas de umidade também pode ser responsável pelas baixas contagens de bactérias psicrotróficas observadas nos músculos tratados com a solução ácida mais alginato de cálcio.

4.5.4-Avaliação do pH

No Quadro 13 são apresentados os valores de pH encontrados na superfície do *tensor fasciae latae* bovino submetido aos tratamentos e do controle. Os valores determinados neste ensaio, seguiram a mesma tendência dos resultados encontrados no Ensaio II, ou seja, baixos logo depois dos tratamentos, atingindo valores maiores, praticamente constantes e iguais aos valores observados no controle, até o nono dia de armazenamento. No décimo dia, os valores de pH foram um pouco mais elevados, em todas os músculos, mas, sem apresentarem diferenças significativas ($p > 0,05$).

O abaixamento do pH pode ser considerado decisivo na atividade antimicrobiana dos ácidos orgânicos (ANDERSON et alii, 1977; ANDERSON et alii, 1992a e BAIRD-PARKER, 1980). As baixas contagens de microrganismos estão associadas a esse fato.

Quadro 13. Medidas de pH do *tensor fasciae latae* bovino, após tratamentos e durante armazenamento a 7 ± 2 C¹.

Tempo (dias)	Tratamento			
	Controle ²	Ácidos ²	Ác.+Sorbato ²	Ác.+Alginato ²
0	5,47 ^a	5,08 ^b	5,24 ^{a,b}	5,08 ^b
1	5,39 ^a	5,37 ^a	5,28 ^a	5,29 ^a
3	5,40 ^a	5,46 ^a	5,38 ^a	5,47 ^a
5	5,46 ^a	5,60 ^a	5,40 ^a	5,49 ^a
7	5,54 ^a	5,68 ^a	5,48 ^a	5,49 ^a
9	5,54 ^a	5,74 ^a	5,53 ^a	5,60 ^a
10	5,63 ^a	5,72 ^a	5,72 ^a	5,66 ^a

¹Diferentes letras, na mesma linha, indicam diferenças significativas ($p < 0,05$) entre as médias

²Média de três repetições.

A redução do pH da superfície dos músculos pode ser um fator decisivo para a eficiência dos tratamentos da carne bovina por aspersão com soluções de ácidos orgânicos. Resultados semelhante aos observados neste trabalho, foram verificados por OSTHOLD et alii (1984), ao utilizarem soluções de ácidos orgânicos na sanitização de carcaças bovinas e ovinas. Esses autores consideraram a redução de pH muito importante na conservação de carnes submetidas a esse tipo de tratamento.

4.6.5-Bases Voláteis Totais (BVT)

Os valores da determinação de bases voláteis totais (BVT) encontrados na Ensaio II, foram muito baixos. A determinação foi repetida para confirmar a magnitude deste resultado. No **Quadro 14** são apresentados os resultados da determinação (BVT) do *tensor fasciae latae* bovino, submetido aos tratamentos e do controle no Ensaio III. Os valores encontrados foram ligeiramente superiores aos encontrados no Ensaio II, mas da mesma maneira, não apresentaram nenhuma diferença, quando se comparou os diferentes tratamentos e o controle nem quando se comparou o tempo de armazenamento. Este resultado sugere que não houve liberação de bases voláteis totais desses músculos, durante o armazenamento a $7\pm2^{\circ}\text{C}$ por um período de 10 dias, e portanto, a determinação de BVT não é viável para se avaliar a vida-de-prateleira da carne bovina armazenada sob essas condições.

Quadro 14. Bases voláteis totais (BVT) em mg/100g de amostra do *tensor fasciae latae* bovino após tratamentos e durante armazenamento a $7\pm2^{\circ}\text{C}$.

Tempo (dias)	Tratamento			
	Controle ¹	Ácidos ¹	Ác./Alginato ¹	Ác.+Alginato ¹
0	1,79	1,82	2,49	2,36
3	2,59	2,56	2,62	2,64
5	2,64	2,97	2,55	2,68
7	2,87	2,74	2,76	2,68
10	2,76	2,66	2,68	2,72

¹Média de três repetições.

As baixas contagens de microrganismos podem ser responsáveis pelos baixos valores encontrados na quantificação das bases voláteis totais (BVT). Os valores encontrados para essa determinação apresentaram uma variação muito pequena, podendo-se afirmar que, durante o armazenamento refrigerado dos músculos, não houve degradação bacteriana de proteínas, visto que, em contagens de microrganismos inferiores a 10^6 UFC/cm² não há penetração bacteriana no músculo bovino (GILL & PENNEY, 1977).

4.5.6-Avaliação sensorial

No Quadro 15 são apresentados os resultados da análise sensorial do *tensor fasciae latae* bovino submetido a tratamentos por aspersão de solução de ácidos orgânicos, de ácidos orgânicos mais sorbato de potássio e ácidos orgânicos mais alginato de cálcio e do controle, logo depois dos tratamentos e durante armazenamento a $7\pm2^\circ\text{C}$.

Durante os três primeiros dias de estocagem, todos os músculos submetidos aos tratamentos apresentaram odor ácido. Do quinto ao sétimo dia de armazenamento, não foi verificada diferença significativa ($p>0,05$), no odor dos músculos submetidos aos tratamentos e o controle. No final do ensaio, com dez dias de armazenamento, os músculos tratados com a solução de ácidos orgânicos mais alginato de cálcio e o controle foram consideradas inaceitáveis. De maneira geral, os melhores resultados foram obtidos pelos músculos tratados com a solução de ácidos orgânicos, mas, aos dez dias de armazenamento, os músculos tratados com a solução de ácidos orgânicos mais sorbato de potássio continuaram com o odor aceitável.

Logo depois dos tratamentos, a cor dos músculos tratados com a solução de ácidos orgânicos mais sorbato de potássio recebeu escores significativamente maiores que o controle e os demais tratamentos. Nas análises seguintes, com três e cinco dias de estocagem, todos os músculos apresentaram coloração satisfatória. Mas, aos sete dias de armazenamento, com base na coloração da superfície dos músculos, os provadores consideraram o controle e os músculos tratados com a solução de ácidos orgânicos mais alginato de cálcio inadequados para consumo. Aos dez dias de armazenamento, nenhum músculo apresentou coloração aceitável à comercialização para consumo humano.

Nos três primeiros dias de estocagem os escores atribuídos à aparência dos músculos tratados com a solução de ácidos orgânicos mais alginato de cálcio foram significativamente inferiores aos atribuídos ao controle e aos demais tratamentos, mas, até o quinto dia de armazenamento, a aparência de todos os músculos continuou satisfatória. Com base nesse atributo, aos sete dias de estocagem, os músculos tratados com a solução de ácidos orgânicos mais alginato de cálcio, foram considerados impróprios para consumo, e aos dez dias de estocagem, todos os músculos foram rejeitados.

Embora os tratamentos com a solução de ácidos orgânicos mais alginato de cálcio e com a solução de ácidos orgânicos mais sorbato de potássio tenham inibido tanto o crescimento de bactérias psicrotróficas como de bolores e leveduras, de acordo com os resultados obtidos na análise sensorial, a aplicação desses tratamentos, não significou aumento na vida-de-prateleira do *tensor fasciae latae* bovino. Segundo o painel que o analisou, os tratamentos em questão provocaram escurecimento, perda de brilho e ressecamento, na superfície dos músculos, dando-lhes uma aparência de carne velha, deteriorada, que foi considerada inferior aos músculos submetidos ao tratamento com a solução de ácidos orgânicos e ao controle.

Quadro 15. Avaliação sensorial do *tensor fasciae latae* bovino, após tratamentos e durante armazenamento a $7\pm 2^{\circ}\text{C}^1$.

Tempo (dias)	Tratamento			
	Controle	Ácidos	Ác.+Sorbato	Ác.+Alginato
Odor				
0	9,09 ^a	8,63 ^{a,b}	8,49 ^{a,b}	7,98 ^b
3	8,56 ^a	7,90 ^{a,b}	7,79 ^b	7,78 ^b
5	8,28 ^a	8,13 ^a	7,92 ^a	8,21 ^a
7	5,28 ^a	6,13 ^a	6,90 ^a	6,21 ^a
10	4,97 ^{a,b}	5,21 ^a	5,03 ^{a,b}	3,69 ^b
Cor				
0	7,98 ^b	8,66 ^{a,b}	9,06 ^a	7,86 ^b
3	8,23 ^a	6,69 ^b	7,85 ^a	7,79 ^a
5	7,56 ^{a,b}	7,07 ^b	7,05 ^b	8,46 ^a
7	3,97 ^b	6,26 ^a	6,28 ^a	3,54 ^b
10	4,38 ^a	3,67 ^a	3,33 ^a	1,56 ^b
Aparência				
0	8,60 ^{a,b}	8,86 ^{a,b}	8,95 ^a	8,15 ^b
3	8,33 ^a	7,85 ^{a,b}	8,28 ^a	7,56 ^b
5	8,10 ^a	6,97 ^b	6,46 ^b	7,97 ^{a,b}
7	5,77 ^a	5,33 ^{a,b}	6,26 ^a	4,90 ^b
10	4,74 ^a	4,41 ^a	3,82 ^a	2,21 ^b

¹Diferentes letras, na mesma linha, indicam diferenças significativas ($p<0,05$) entre as médias

4.5.7-Avaliação da Cor do *Tensor Fasciae Latae* Bovino pelo Sistema Hunter L.a.b.

Os dados da cor do *tensor fasciae latae* bovino, mensurados no sistema Hunter L.a.b., logo depois dos tratamentos e durante o estudo da vida-de-prateleira a $7\pm 2^{\circ}\text{C}$, são mostrados na Figura 9. Como pode ser observado, os valores da luminosidade (L Hunter) de todos os músculos sofreram reduções gradativas com o tempo de estocagem, confirmando portanto, a ausência de influência dos tratamentos, sobre a luminosidade do *tensor fasciae latae* bovino.

Os valores de vermelho (a Hunter) não apresentaram uma tendência definida de aumento ou redução nem com a aplicação dos tratamentos nem com o tempo de armazenamento. Logo depois dos tratamentos e durante toda a estocagem a $7\pm 2^{\circ}\text{C}$. Os músculos tratados com a solução de ácidos orgânicos mais sorbato de potássio e os tratados com a solução de ácidos orgânicos mais alginato de cálcio apresentaram os maiores valores de amarelo (b Hunter), tanto logo depois dos tratamentos como durante o armazenamento. Durante a estocagem todos os músculos sofreram redução em seus valores de amarelo, mas sem apresentar diferença significativa ($p>0,05$) em determinações realizadas no mesmo intervalo de tempo.

No Quadro 16 são apresentados os dados da cor da gordura de cobertura do *tensor fasciae latae* bovino, mensurados no sistema Hunter L.a.b., logo depois dos tratamentos e durante armazenamento a $7\pm 2^{\circ}\text{C}$.

Os valores da luminosidade (L Hunter) encontrados no controle e nos músculos tratados com a solução de ácidos orgânicos, permaneceram praticamente constantes, do início do ensaio até o sétimo dia de observação. Nos músculos tratados com a solução de ácidos orgânicos mais sorbato de potássio e nos músculos tratados com a solução de ácidos orgânicos mais alginato de cálcio observou-se uma variação mais acentuada. Os valores de vermelho (a Hunter) variaram apenas nas amostras tratadas com a solução de ácidos orgânicos mais alginato de cálcio; as demais amostras continuaram praticamente estáveis, durante todo o armazenamento. Os valores de amarelo (b Hunter) da gordura de cobertura do *tensor fasciae latae* bovino, só apresentou alguma variação na análise realizada aos sete dias de estocagem.

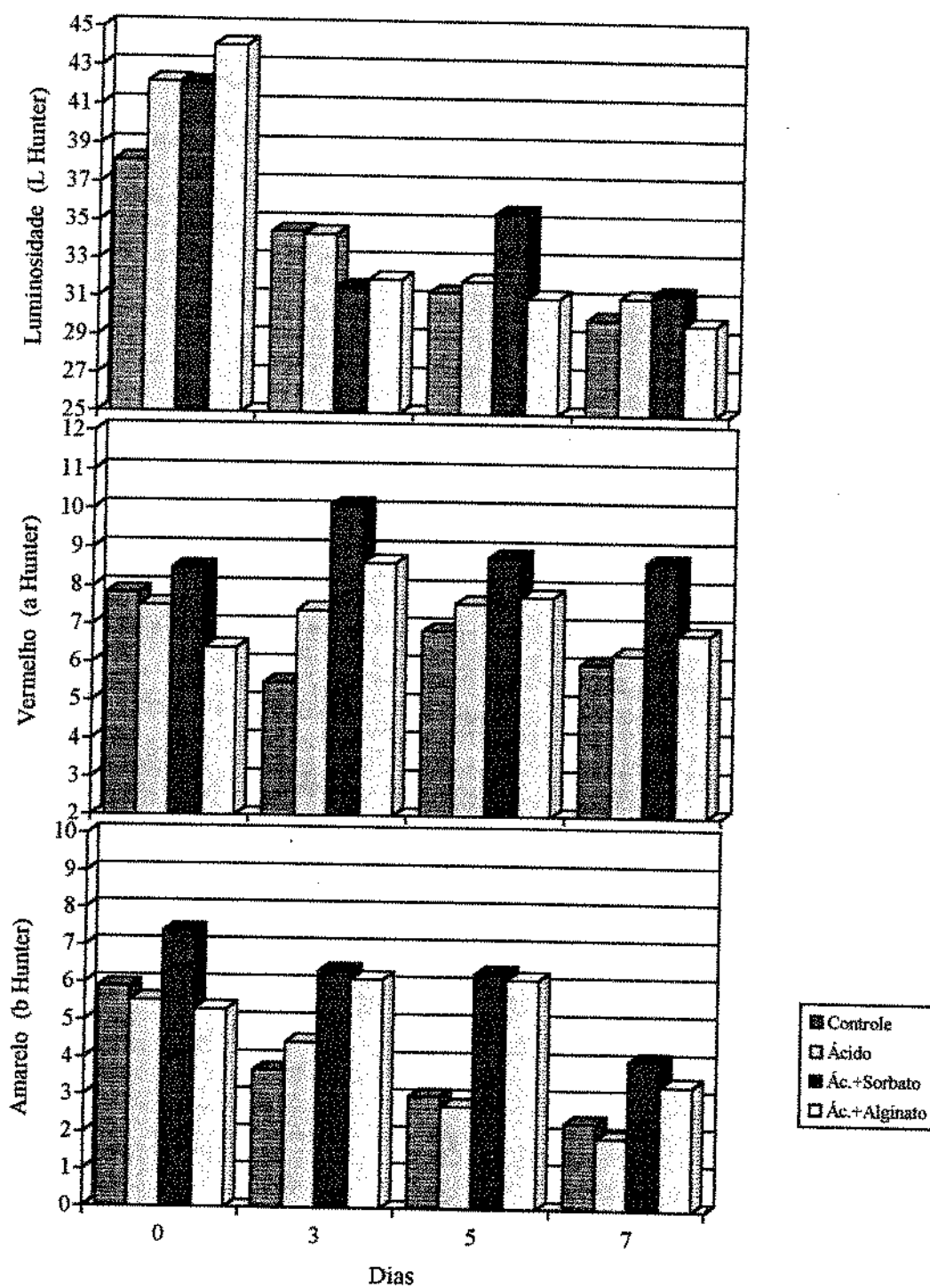


Figura 9. Dados da cor da superfície externa do *tensor fasciae latae* bovino, mensurados no sistema Hunter L.a.b., após tratamentos e durante armazenamento a $7\pm 2^{\circ}\text{C}$.

Quadro 16 - Dados da cor da gordura de cobertura do *tênsor fasciae latae* bovino, mensurados no sistema Hunter L.a.b., após tratamentos e durante armazenamento a $7\pm 2^{\circ}\text{C}$

Tempo (dias)	(L Hunter) ²	(a Hunter) ²	(b Hunter) ²
Controle			
0	57,51 ^a	5,26 ^a	21,28 ^a
3	56,86 ^a	5,49 ^a	18,96 ^a
5	56,67 ^a	6,21 ^a	20,68 ^a
7	55,83 ^a	6,68 ^a	21,34 ^{a,b}
Ácidos			
0	55,29 ^a	5,20 ^a	19,84 ^a
3	54,81 ^a	5,90 ^a	20,59 ^a
5	55,60 ^a	5,29 ^a	19,88 ^a
7	55,93 ^a	5,11 ^a	20,11 ^a
Ác.+Sorbato			
0	58,03 ^a	7,11 ^a	25,22 ^a
3	54,17 ^a	6,30 ^a	25,44 ^a
5	54,93 ^a	6,52 ^a	26,05 ^a
7	54,72 ^a	6,81 ^a	27,92 ^b
Ác+Alginato			
0	64,37 ^a	5,36 ^a	20,99 ^a
3	58,49 ^a	4,58 ^a	23,20 ^a
5	58,74 ^a	3,42 ^a	20,09 ^a
7	59,74 ^a	3,03 ^a	18,95 ^a

¹Diferentes letras, na mesma linha, indicam diferenças significativas ($p<0,05$) entre as médias

²Média de três repetições.

Quando esses resultados foram submetidos à análise de variância, nem a luminosidade (L Hunter) nem o vermelho (a Hunter), diferiram significativamente, em nenhuma etapa do período de avaliação. No sétimo dia de armazenamento a $7\pm 2^{\circ}\text{C}$, os valores de amarelo (b Hunter) da cobertura de gordura dos músculos tratados com a solução de ácidos orgânicos mais sorbato de potássio foram significativamente maiores do que os valores do controle e dos demais tratamentos.

De maneira geral, todos os tratamentos a que o *tensor fasciae latae* bovino foi submetido, causaram modificações na sua coloração, logo depois dos tratamentos, mas durante o período de armazenamento, os músculos recuperaram a sua coloração normal, que foi perdida gradualmente, com o tempo de armazenamento. Em uma análise mais abrangente verifica-se que esses resultados estão de acordo com os resultados da análise sensorial, onde não foram encontradas evidências da influência dos tratamentos, sobre a coloração dos músculos, em períodos superiores a 24 horas depois de sua aplicação, sugerindo porém, que os tratamentos não afetaram negativamente a coloração do *tensor fasciae latae* bovino.

4.6-Sanitização e Vida-de-Prateleira da Carcaça Bovina, Submetida a Tratamento por Aspersão com a Solução de Ácidos Orgânicos

Concluídas as análises da primeira fase do trabalho, onde pesquisou-se o efeito de um agente físico, vapor a 80°C , e soluções de ácidos orgânicos, alginato de cálcio e sorbato de potássio na sanitização do *tensor fasciae latae* bovino, verificou-se que, embora todas as soluções testadas tenham algum poder sanitizante, a solução composta por 2,00% de ácido acético, 1,00% de ácido láctico, 0,25% de ácido cítrico e 0,10% de ácido ascórbico, foi a que apresentou os melhores resultados. Essa solução foi utilizada na supressão da carga microbiológica da carcaça de bovinos, imediatamente após o abate dos animais, que foi realizado no Centro de Tecnologia da Carne (CTC), como descrito no Item 3.5.

Imediatamente após o abate, meia carcaça de cada animal foi submetida ao tratamento com 500ml da solução de ácidos orgânicos a 22°C e pH 2,21. As outras meias carcaças foram analisadas como controle.

A sanitização da carcaça ainda quente é importante porque logo depois do abate, inicia-se o processo de adesão das bactérias à superfície. PIETTE & IDZIAK (1991) afirmam que 20 minutos, é tempo suficiente para que muitos microrganismos fixem-se à carne. Após a fixação, o processo de sanitização torna-se muito mais difícil. Segundo ACUFF et alii (1987), e DICKSON (1992) os microrganismos presentes à superfície da carcaça, logo depois do abate, estão associados a um filme de água, ou estão fisicamente aderidos à superfície. As células podem estar fracas ou fortemente aderidas. As células fracamente aderidas e as associadas ao filme de água podem ser removidas simplesmente por uma lavagem, enquanto que as células fortemente aderidas só podem ser eliminadas por meio da sanitização com substâncias apropriadas, como os ácidos orgânicos. Portanto, a sanitização com ácidos na carcaça ainda quente é mais eficiente do que em carnes resfriadas.

Os valores médios encontrados para a caracterização microbiológica das carcaças foram: bactérias mesófilas $1,96 \log \text{UFC/cm}^2$, bactérias psicrotróficas $1,83 \log \text{UFC/cm}^2$, bolores e leveduras $<1,0 \text{ UFC/cm}^2$. Não foram detectadas, bactérias do grupo coliformes nem *Enterobacteriaceae*. Estes resultados são interpretados por FUNG et alii (1980b) como índice de baixa contaminação microbiológica.

4.6.1-Avaliação Microbiológica

Logo depois dos tratamentos e durante o armazenamento das carcaças a $7 \pm 2^\circ\text{C}$ realizou-se a contagem total de bactérias psicrotróficas e de bolores e leveduras. Os resultados encontrados para a contagem total de bactérias psicrotróficas são apresentados no Quadro 17. Nas meias carcaças submetidas ao tratamento, as contagens totais de bactérias psicrotróficas mantiveram-se próximas de $2 \log \text{UFC/cm}^2$, até o oitavo dia de armazenamento, e podem ser classificadas como baixa contaminação. No final do experimento, com 15 dias de armazenamento, os valores mantiveram-se na faixa de contaminação intermediária, ou seja inferiores a $4 \log \text{UFC/cm}^2$ (FUNG et alii, 1980b).

Nas meias carcaças controle, após cinco dias de estocagem, as contagens totais de bactérias psicrotróficas foram superiores a de 2 log UFC/cm², podendo ser classificadas como contaminação intermediária. Após 15 dias de armazenamento, a enumeração desse grupo de microrganismos alcançou valores superiores a 4 log UFC/cm², resultado considerado por FUNG et alii (1980b), como índice de alta contaminação.

Quadro 17. Bactérias psicrotróficas da superfície externa da carcaça bovina, após tratamento durante armazenamento a 7±2°C¹. (Log UFC/cm²)

Tempo (dias)	Controle ²	Ácidos ²
0	1,83 ^a	1,26 ^a
5	2,68 ^b	1,24 ^a
8	3,52 ^b	2,21 ^a
11	3,61 ^b	2,57 ^a
15	5,35 ^b	3,54 ^a

¹Diferentes letras, na mesma linha, indicam diferenças significativas (p<0,05) entre as médias

²Média de 3 repetições aos 0 e 5 dias e 2 repetições aos 8 dias. Aos 11 e 15 dias realizou-se apenas uma análise em cada meia carcaça.

A análise de variância dos resultados apresentados no Quadro 17 revelou que a contagem de bactérias psicrotróficas logo depois do tratamento não apresentou diferença significativa (p>0,05), entre os tratamentos e o controle. A partir do quinto dia de armazenamento foi verificado diferença significativa (p<0,05), entre o tratamento e o controle, em todas as etapas da análise, até o final do experimento.

Todos os valores da contagem total de bactérias psicrotróficas, das meias carcaças submetidas aos tratamentos, foram inferiores aos valores observados nas meias carcaças controle. A partir do quinto dia de armazenamento, essa diferença foi sempre superior a um ciclo logaritmo. Isto signi-

fica que o tratamento por aspersão da solução de ácidos orgânicos reduziu em mais de 90% a contagem total de bactérias psicrotróficas, podendo manter essa redução por até 15 dias de estocagem, em temperaturas relativamente elevadas, como $7\pm 2^{\circ}\text{C}$. A diferença da contagem total de bactérias psicrotróficas, entre as meias carcaças submetidas ao tratamento e o controle pode ser melhor visualizada na Figura 10.

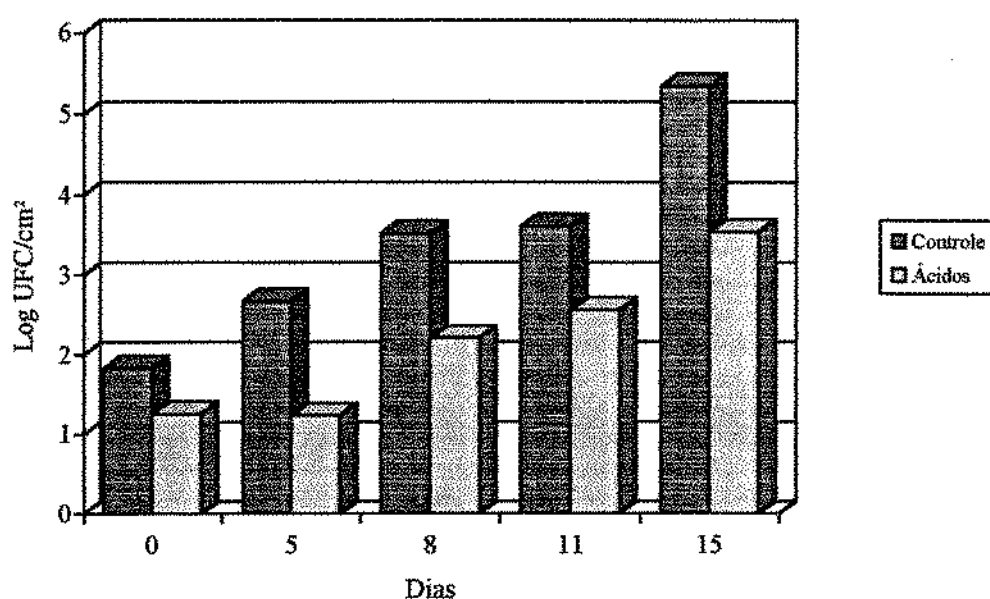


Figura 10. Bactérias psicrotróficas da carcaça bovina, após tratamento e durante armazenamento a $7\pm 2^{\circ}\text{C}$.

No Quadro 18 observa-se que logo depois do tratamento as contagens de bolores e leveduras das meias carcaças submetidas ao tratamento com a solução de ácidos orgânicos e do controle apresentaram valores relativamente baixos. Tanto no controle como nas meias carcaças submetidas ao tratamento, os valores encontrados foram $<1,0 \text{ UFC/cm}^2$. Até o oitavo dia de armazenamento, nas amostras tratadas com a solução ácida, as contagens continuaram inalteradas, mas no controle o crescimento desses microrganismos foi mais acentuado.

Quadro 18. Bolores e leveduras da superfície externa da carcaça bovina, após tratamento durante armazenamento a $7\pm 2^{\circ}\text{C}$. (Log UFC/cm²)

Tempo (dias)	Controle ¹	Ácidos ¹
0	<1	<1
5	1,43	<1
8	2,24	<1
11	3,20	2,19
15	4,81	4,54

¹Média de 3 repetições aos 0 e 5 dias e 2 repetições aos 8 dias. Aos 11 e 15 dias realizou-se apenas uma análise em cada meia carcaça.

A aspersão da solução de ácidos orgânicos sobre a carcaça bovina logo depois do abate dos animais inibiu por uma semana, o crescimento de bolores e leveduras sobre a sua superfície, indicando porém, a eficiência do tratamento na supressão do crescimento desses microrganismos. O desenvolvimento desses microrganismos é retomado, provavelmente depois que os ácidos perdem a sua eficiência antimicrobiana. Outros fatores que podem ter contribuído para o desenvolvimento de bolores e leveduras são o ressecamento da superfície da carcaça e as baixas contagens de bactérias psicrótróficas, ou seja a ausência de competidores. Este resultado contradiz pesquisa realizada por OSTHOLD et alii (1984), na qual a utilização de ácidos orgânicos na descontaminação de carcaças bovinas, armazenadas sob refrigeração, estimulou o desenvolvimento de bolores e leveduras.

Os valores encontrados nas contagens de bolores e leveduras da superfície da carcaça, não podem ser submetidos a uma comparação direta com os valores encontrados no *tensor fasciae latae* tratados por aspersão de solução de ácidos orgânicos, visto que, nos músculos, o tratamento foi realizado após resfriamento e manipulação, ou seja, carga inicial de bolores e leveduras em torno de dois ciclos logarítmicos, enquanto que nas carcaças, o tratamento foi realizado logo depois do abate dos animais, apresentando menos de um ciclo logarítmico na contagem de bolores e leveduras.

4.6.2-Perdas de peso

Os valores apresentados no **Quadro 19**, mostram os resultados da mensuração das perdas de peso observadas, tanto nas meias carcaças submetidas ao tratamento como no controle, durante todo o período de observação. As perdas de peso, nas primeiras 24 horas de armazenamento foram de 0,81% para o controle e 2,22% para as meias carcaças submetidas ao tratamento. Nas análises seguintes, as perdas de peso verificadas nas meias carcaças submetidas ao tratamento continuaram maiores do que as do controle, mas a diferença entre esses valores começou a diminuir. Após oito dias de armazenamento essa diferença não foi mais detectada.

Quadro 19. Percentagem das perdas de peso da carcaça bovina, após tratamentos e durante armazenamento a $7\pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ ¹.

Tempo (dias)	Controle ²	Ácidos ²
1	0,81 ^a	2,22 ^b
5	1,76 ^a	3,04 ^a
8	3,05 ^a	4,22 ^a
11	4,38 ^a	4,50 ^a
15	4,76 ^a	4,68 ^a

¹Diferentes letras, na mesma linha, indicam diferenças significativas ($p<0,05$) entre as médias

²Média de 3 repetições aos 0 e 5 dias e 2 repetições aos 8 dias. Aos 11 e 15 dias realizou-se apenas uma medidas em cada meia carcaça.

A análise de variância dos resultados, apresentados no **Quadro 19**, mostrou que apenas nas primeiras 24 horas de estocagem refrigerada, havia diferença significativa ($p<0,05$), entre os valores observados nas meias carcaças submetidas ao tratamento e no controle. Nas análises seguintes essa diferença não foi mais detectada, em nenhuma das etapas da análise, confirmando resultados publicados por CROUSE et alii (1986), nos quais, as maiores perdas de peso, em carcaças de bovinos, ocorre durante o resfria-

mento, nas primeiras 20 horas de armazenamento; essas perdas ficam em torno de 1,3%. POWELL & STARK (1991) estimam que as carcaças perdem de 1,0 a 3,0% de seu peso pela evaporação da água existente na superfície. As camadas de gordura e de tecido conjuntivo existente na superfície das carcaças do gado bovino constituem uma barreira de proteção contra a evaporação dessa água.

ESTEVENSON et alii (1978), verificaram que carcaças de bovinos que já desenvolveram a camada externa de gordura perdem menos peso do que as carcaças desprovidas dessa proteção. Nas primeiras 48 horas de armazenamento refrigerado, a diferença média foi em torno de 20%, apresentando inclusive, diferença significativa ($p < 0,05$).

Observando a Figura 11, que representa graficamente os resultados das perdas de peso de todas as meias carcaças podemos observar que a diferença entre o controle e as meias carcaças submetidas ao tratamento com a solução de ácidos orgânicos, em valores absolutos manteve-se em torno de 1,0%, até o oitavo dia de armazenamento; nas análises seguintes, aos 11 e 15 dias, a diferença observada foi bem menor.

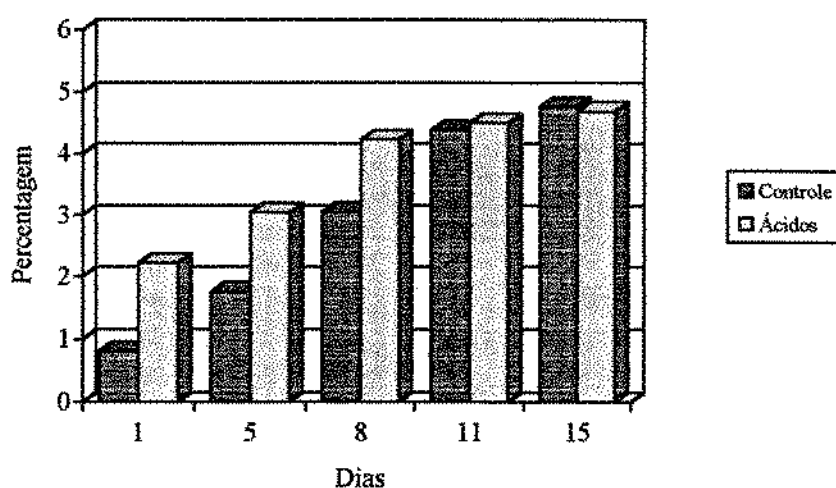


Figura 11. Percentagem das perda de peso da carcaça bovina após tratamento e durante armazenamento a $7 \pm 2^\circ\text{C}$.

Uma análise mais detalhada desse gráfico nos permite afirmar que o tratamento da superfície da carcaça bovina logo depois do abate, com a solução de ácidos orgânicos aumenta, suas perdas de peso durante a primeira semana de armazenamento refrigerado; após esse período pratica-

mente não houve diferença entre as perdas de peso observadas nas meias carcaças submetidas ao tratamento e o controle. Pode ser observado também que, a partir do oitavo dia de armazenamento, as perdas de peso, tanto nas meias carcaças submetidas ao tratamento como nas meias carcaças controle foram bem menores. Este resultado está de acordo com as afirmações de CROUSE et alii, 1986.

4.6.3- Avaliação do pH

As medidas de pH da superfície das carcaças após o tratamento e durante o armazenamento refrigerado, são apresentadas no **Quadro 20**. Os valores de pH das meias carcaças controle, logo depois do abate, são muito próximos do pH fisiológico do músculo do animal vivo (JUDJE et alii, 1989). Um dia depois do abate, esses valores caíram um pouco, ficaram em torno de 6,3, e finalmente, na análise realizada no quinto dia de armazenamento, o pH encontrava-se em torno de 5,6, valor considerado por JUDJE et alii (1989), como pH normal da carne.

Nas meias carcaças submetidas ao tratamento, o pH baixou para 5,21, logo depois do tratamento; um dia depois aumentou um pouco, e permaneceu na faixa de 5,40 e 5,70 até o final do experimento. Resultado semelhante foi observado nos tratamentos efetuados no *tensor fasciae latae* bovino, na fase anterior do trabalho. No controle o pH inicial foi 6,94. Após 24 horas de armazenamento refrigerado, esse valor baixou para 6,29. GREER & JONES (1991) realizaram tratamentos pela aspersão de uma solução contendo 1,0% de ácido láctico em carcaças de bovinos. O pH das carcaças submetidas a esse tratamento, após 24 horas de armazenamento, aumentou de 3,64 para 5,19. No mesmo período, o pH das carcaças controle diminuiu de 7,35 para 6,42. Os resultados da análise realizada 24 horas depois dos tratamentos, contidos no **Quadro 20**, apresentaram comportamento semelhante aos resultados obtidos por GREER & JONES (1991).

Quadro 20. Medidas de pH da carcaça bovina, após tratamento e durante armazenamento a $7\pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ ¹.

Tempo (dias)	Controle ²	Ácidos ²
0	6,94 ^b	5,21 ^a
1	6,29 ^b	5,40 ^a
5	5,65 ^a	5,58 ^a
8	5,48 ^a	5,53 ^a
11	5,45 ^a	5,56 ^a
15	5,94 ^b	5,69 ^a

¹Diferentes letras, na mesma linha, indicam diferenças significativas ($p<0,05$) entre as médias

²Média de 12 pontos aleatórios em cada meia carcaça.

A análise de variância dos valores das medidas de pH apresentadas no **Quadro 20**, só apresentou diferença significativa ($p<0,05$) entre o tratamento e o controle, logo depois da aspersão com a solução de ácidos orgânicos, com 24 horas depois do tratamento e aos 15 dias de armazenamento refrigerado. Nas análises aos cinco, oito e onze dias de estocagem, os valores de pH do controle e das meias carcaças submetidas ao tratamento mantiveram-se praticamente constantes e muito próximos, sem diferença significativa ($p>0,05$).

Estes resultados estão de acordo com afirmações de BACUS (1988), segundo as quais ácidos orgânicos não penetram significativamente o tecido da carcaça bovina e o pH da superfície retorna aos valores normais em períodos que podem variar de 48 a 72 horas depois de sua aplicação. Mas segundo BAIRD-PARKER (1980), essa redução inicial do pH da superfície da carne tem influência decisiva na ação antimicrobiana dos ácidos utilizados na sanitização.

4.6.4-Avaliação sensorial

A análise sensorial da aparência global das meias carcaças submetidas ao tratamento e do controle foi realizada por um painel composto por 12 analistas treinados, utilizando-se de uma escala estruturada de 12 pontos, conforme foi apresentado na Figura 2.

A média dos valores da opinião dos analistas é apresentada no Quadro 21. Esses valores nos mostram que, em todas as etapas da análise, os painelistas não encontraram diferença entre as meias carcaças submetidas ao tratamento e o controle. Foram observadas diferenças muito pequenas em favor das meias carcaças submetidas ao tratamento, mas quando efetuou-se a análise de variância desses valores, não foi verificado diferença significativa ($p>0,05$) entre o tratamento e o controle, em nenhuma etapa em que as carcaças foram submetidas às análises sensoriais.

Quadro 21. Avaliação sensorial da aparência global da carcaça bovina, após tratamento e durante armazenamento a $7\pm2^{\circ}\text{C}$ ¹.

Tempo (dias)	Controle	Ácidos
0	0,4	0,4
5	1,9	1,8
8	3,4	3,2
11	5,3	4,8
15	7,8	7,8

¹0=Nenhuma alteração 12=Extremamente alterada

Na Figura 12, podemos visualizar que ocorreu diferença gradual, tanto nas meias carcaças submetidas aos tratamentos como nas utilizadas como controle. Este resultado indicam que tanto as meias carcaças submetidas ao tratamento pela aspersão com a solução de ácidos orgânicos como o

controle sofreram as mesmas modificações, provocadas pelos efeitos ambientais, no interior da câmara; perda de umidade, tempo e temperatura de resfriamento e estocagem, e não pelo tratamento a que foram submetidas.

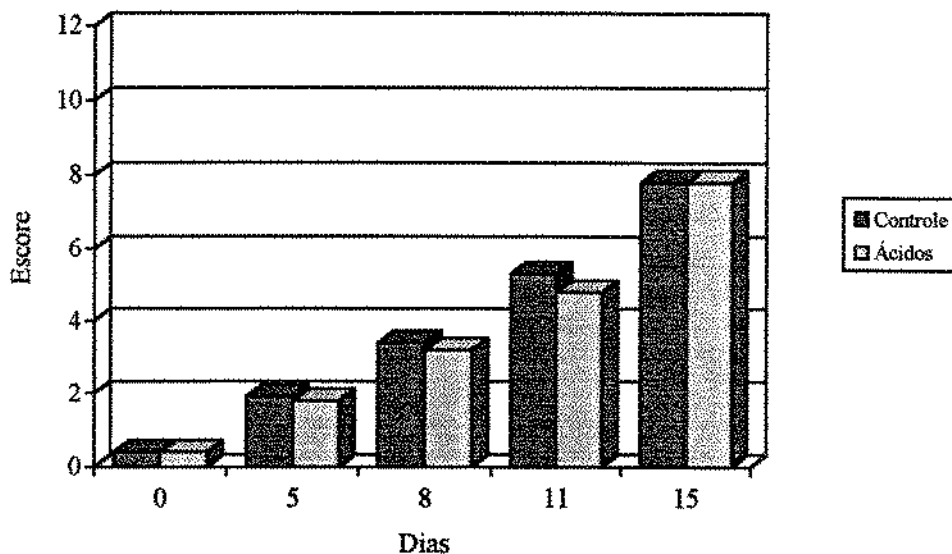


Figura 12. Avaliação sensorial da aparência global da carcaça bovina, após tratamento e durante armazenamento a $7\pm 2^{\circ}\text{C}$. Em escala estruturada com 12 pontos.

0=Nenhuma alteração a 12=Extremamente alterada.

Segundo os membros do painel responsável pela análise sensorial, aos 15 dias de estocagem as meias carcaças já estavam muito alteradas, os escores obtidos foram próximos de 8,0. A principal alteração observada nas meias carcaças foi o ressecamento de sua superfície, fato esse que contribuiu para o escurecimento gradativo e uniforme, de todas as carcaças. Na última etapa da análise, após 15 dias de armazenamento, observou-se a presença de algumas colônias de bolores, visíveis, principalmente na parte dianteira das meias carcaças. Todas as anormalidades observadas pelos analistas, ocorreram tanto nas meias carcaças controle como nas meias carcaças submetidas ao tratamento com a solução de ácidos orgânicos.

4.6.5-Avaliação da Cor da Carcaça bovina, no Sistema Hunter L.a.b.

Os resultado da análise da cor pelo sistema Hunter L.a.b. mostrados na Figura 13, apresentam redução da luminosidade (L Hunter) entre a análise inicial, aproximadamente uma hora depois do tratamento e após cinco dias de armazenamento refrigerado; essa redução foi observada, tanto no controle como nas meias carcaças submetidas ao tratamento.

Quanto aos teores de vermelho (a Hunter), tanto o controle como as meias carcaças submetidas à aspersão com a solução de ácidos orgânicos, apresentaram valores baixos, no início do experimento. Nas análises seguintes, esses valores foram aumentando gradativamente. Os maiores valores foram observados aos oito dias de armazenamento; a partir desse período, os valores observados começaram a diminuir, em todas as carcaças. Os valores de vermelho (a Hunter) foram sempre maiores nas meias carcaças submetidas ao tratamento.

Os valores encontrados para o amarelo (b Hunter), não apresentaram nenhuma variação, nem entre as meias carcaças submetidas ao tratamento e o controle, nem entre os dias de análises. Estes resultados sugerem que o tratamento com a solução de ácidos orgânicos não exerceu nenhuma influência no teor de amarelo da superfície da carcaça bovina.

Após um período que pode variar de três a cinco dias de armazenamento refrigerado, a superfície da carcaça fica um pouco amarelada, devido a dessecação. Os pigmentos vermelhos, também podem sofrer modificações, adquirindo uma aparência escurecida (POWELL & STARK, 1991). As variações observadas na cor da superfície das meias carcaças ocorreram tanto nas meias carcaças submetidas ao tratamento como no controle. Este resultado sugere que as alterações ocorridas na cor da superfície das carcaças não foram provocadas pelo tratamento e sim decorrente dos efeitos ambientais, durante o armazenamento refrigerado

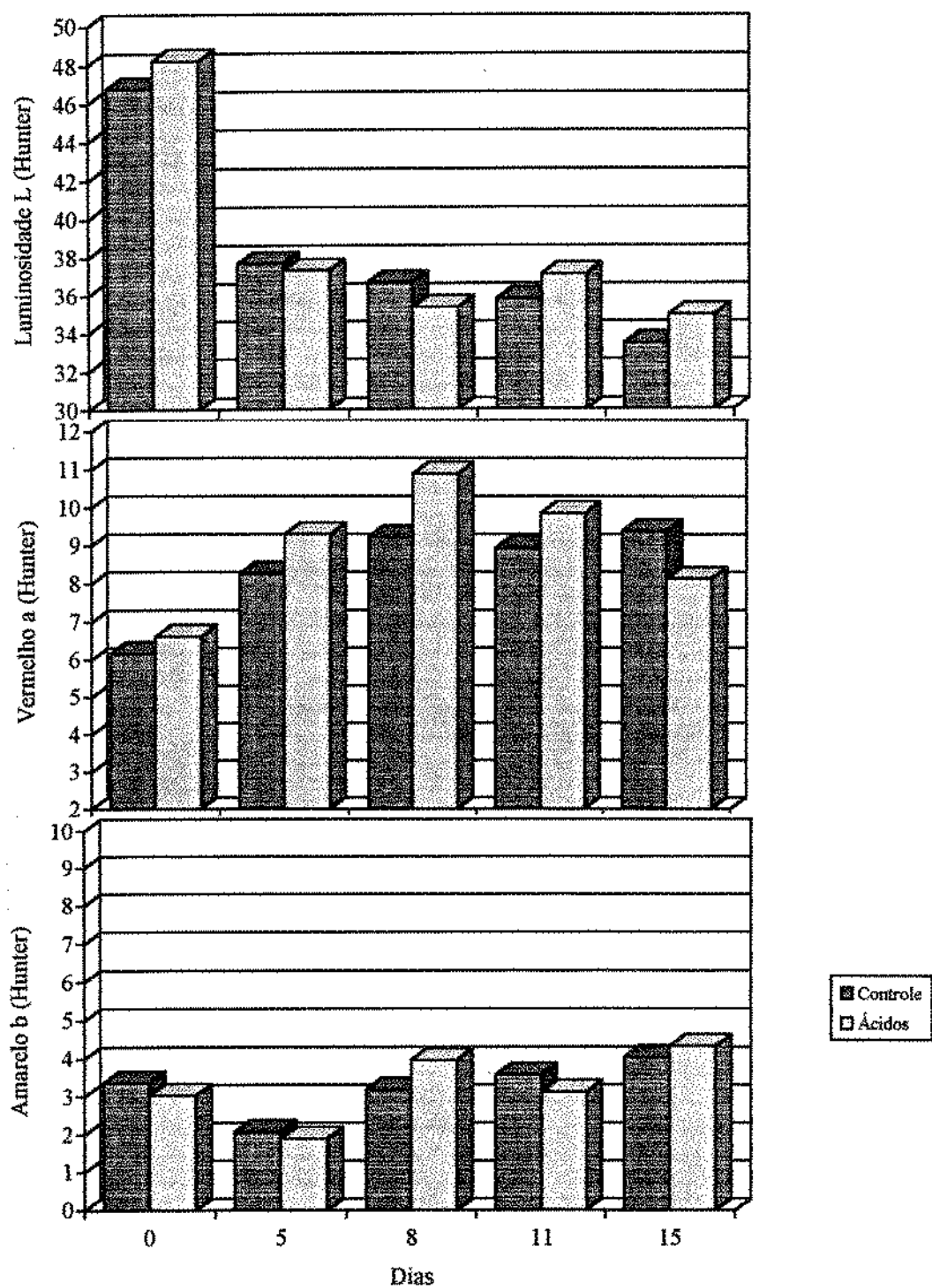


Figura 13 - Dados da cor, da superfície externa da carcaça bovina, mensurados no sistema Hunter L.a.b., após tratamento e durante armazenamento a $7\pm2^{\circ}\text{C}$

4.7-Vida-de-Prateleira da Carne Bovina Submetida ao Tratamento, após a Desossa das Carcaças

Após cinco, oito e quinze dias de armazenamento a $7\pm 2^{\circ}\text{C}$, uma carcaça foi escolhida aleatoriamente e desossada, na qual meia carcaça tinha sido submetida ao tratamento com a solução de ácidos orgânicos e a outra meia tinha sido utilizada como controle. Foram retirados alguns cortes do quarto dianteiro (acém e paleta) e outros do quarto traseiro (contrafilé, maminha e coxão duro) de cada meia carcaça, nos quais foram realizadas contagem total de bactérias psicrotróficas e bolores e leveduras, logo após a desossa e em intervalos de três ou cinco dias de armazenamento. Para a determinação da vida-de-prateleira da carne depois da desossa. Os cortes foram armazenados em uma câmara, separados das carcaças, mas à mesma temperatura, $7\pm 2^{\circ}\text{C}$.

4.7.1-Avaliação Microbiológica

Os resultados da contagem total de bactérias psicrotróficas e de bolores e leveduras obtidos durante a determinação da vida-de-prateleira dos cortes provenientes das meias carcaças submetidas ao tratamento e do controle, desossadas aos cinco dias de armazenamento, foram apresentados no **Quadro 22**. A contagem total de bactérias psicrotróficas, logo depois da desossa das meias carcaças, é muito superior ao valor observado nas mesmas meias carcaças, antes da desossa. As contagens totais de bactérias psicrotróficas das meias carcaças antes da desossa foram 2,24 e 3,31 log UFC/cm², para o controle e o tratamento respectivamente, como mostrado no **Quadro 17**. Após a desossa, os valores encontrados foram, 4,87 e 3,87 log UFC/cm² para os cortes correspondentes às mesmas meias carcaças.

A análise de variância das contagens de bactérias psicrotróficas mostrados no **Quadro 22**, só detectou diferença significativa ($p < 0,05$) entre o tratamento e o controle na determinação realizada aos oito dias de armazenamento. Nas demais análises os resultados dessa contagem estiveram sempre muito próximos, e não apresentaram uma evolução definida.

Quadro 22. Bactérias psicrotróficas e bolores e leveduras, durante o armazenamento refrigerado da carne proveniente da meia carcaça submetida ao tratamento e da meia carcaça controle, desossadas aos 5 dias de estocagem a $7\pm 2^{\circ}\text{C}$. (Log UFC/cm²)¹

Tempo (dias)	Bactérias Psicrotróficas ²		Bolores e Leveduras ²	
	Controle	Ácidos	Controle	Ácidos
0	4,87 ^a	3,87 ^a	3,76 ^a	4,04 ^a
3	4,21 ^a	4,47 ^a	3,71 ^a	4,77 ^a
8	5,76 ^b	3,75 ^a	5,52 ^b	3,68 ^a
11	5,55 ^a	5,67 ^a	5,51 ^a	4,97 ^a

¹Diferentes letras, na mesma linha, indicam diferenças significativas ($p < 0,05$) entre as médias

²Média de duas repetições

Pelos valores encontrados para a contagem de bolores e leveduras podemos observar que estas contagens apresentaram diferenças ainda maiores, do que os valores observados na contagem total de bactérias psicrotróficas, nas análises realizadas antes da desossa. Os valores encontrados para a contagem total de bolores e leveduras nas meias carcaças foram menores que um ciclo logarítmico, tanto no controle como naquelas submetidas ao tratamento. Logo depois da desossa as contagens observadas foram 3,76 e 4,04 log UFC/cm², para o controle e o tratamento respectivamente. O aumento destas contagens está relacionado à contaminação, durante a desossa da carcaça.

No Quadro 23 são apresentados os resultados das contagens totais de bactérias psicrotróficas e de bolores e leveduras da carcaça desossada após oito dias de armazenamento refrigerado. A exemplo da carcaça desossada anteriormente, os valores observados, logo depois da desossa também foram mais elevados. Antes da desossa verificaram-se as seguintes contagens de bactérias psicrotróficas nas meias carcaças destinadas à desossa: 2,53 e 3,16 log UFC/cm² para tratamento e controle respectivamente. Após a desossa, os valores encontrados foram 5,67 log UFC/cm², nos cortes correspondentes à meia carcaça submetida ao tratamento e 3,92 log UFC/cm² nos cortes obtidos pela desossa da meia carcaça controle.

Com cinco, oito e onze dias de armazenamento, a contagem total desses microrganismos não mostrou uma evolução constante. Logo depois da desossa registrou-se uma contagem bastante elevada, nos cortes provenientes da meia carcaça submetida ao tratamento, cinco dias depois, esses valores diminuíram em aproximadamente $2,0 \log \text{ UFC/cm}^2$. Nos cortes do controle, o comportamento observado para o crescimento desse grupo de microrganismo foi o inverso, no mesmo período, aumentou em um ciclo logarítmico. As reduções das contagens de bactérias psicrotróficas e de bolores e leveduras observada aos cinco dias de armazenamento dos cortes podem estar relacionadas a ação antimicrobiana dos ácidos utilizados na sanitização das carcaças, sobre os microrganismos que contaminaram os cortes durante a desossa da carcaça, SMULDERS & WOOLTHINS (1985) detectaram ação bacteriostática no ácido láctico, 14 dias depois de sua aplicação. A diferença nas contagens de microrganismos também pode estar relacionada as diferenças existentes no número de contaminantes entre os cortes utilizados nessa determinação.

Quadro 23. Bactérias psicrotróficas e bolores e leveduras, durante o armazenamento refrigerado da carne, proveniente da meia carcaça submetida ao tratamento e da meia carcaça controle, desossadas aos 8 dias de estocagem. (Log UFC/cm²)¹

Tempo (dias)	Bactérias Psicrotróficas ²		Bolores e Leveduras ²	
	Controle	Ácidos	Controle	Ácidos
0	3,92 ^a	5,67 ^a	2,51 ^a	4,89 ^b
5	4,91 ^a	3,63 ^a	3,89 ^a	3,57 ^a
8	6,37 ^b	5,69 ^a	5,10 ^a	6,17 ^a
11	6,25 ^a	5,67 ^a	5,39 ^a	5,15 ^a

¹Diferentes letras, na mesma linha, indicam diferenças significativas ($p < 0,05$) entre as médias

²Média de duas repetições

A análise de variância da contagem total de bactérias psicotróficas, só detectou diferença significativa ($p < 0,05$) entre os cortes referentes à meia carcaça submetida ao tratamento e os cortes que representaram o controle, nas análises realizadas aos oito dias de armazenamento.

Os valores encontrados para a contagem total de bolores e leveduras foram semelhantes aos resultados encontrados nas análises anteriores. Antes da desossa a meia carcaça controle apresentou $2,41 \log \text{ UFC/cm}^2$ e a meia carcaça submetida ao tratamento tinha $< 1,0 \log \text{ UFC/cm}^2$. Depois da desossa, os valores observados foram $4,89 \log \text{ UFC/cm}^2$ para o tratamento e $2,51 \log \text{ UFC/cm}^2$, para o controle.

Após a análise de variância desses resultados, verificou-se que apenas a contagem total de bolores e leveduras das análises realizadas logo depois da desossa apresentou diferença significativa ($p < 0,05$), entre os cortes representantes da meia carcaça submetida ao tratamento e os cortes que representavam a meia carcaça controle.

Logo depois da desossa e aos cinco dias de armazenamento, as contagens de bactérias psicotróficas e de bolores e leveduras foram bastante variadas; a partir do oitavo dia de armazenamento, essas contagens se tornaram mais uniformes e bastante elevadas, sendo que as amostras controle apresentaram contagens superiores a $6 \log \text{ UFC/cm}^2$, logo depois do oitavo dia de armazenamento.

A terceira e última carcaça foi desossada após 15 dias de armazenamento, quando já apresentava média e alta contaminação, tanto na meia carcaça controle como na meia carcaça submetida ao tratamento. Depois da desossa os valores observados foram ainda maiores, confirmando a tendência das análises anteriores. Durante todo o período de observação as contagens mantiveram próximas de $6,0 \log \text{ UFC/cm}^2$, exceto o resultado da análise dos cortes provenientes do controle que aos 11 dias de estocagem apresentou uma contaminação muito elevada, próxima de $9,0 \log \text{ UFC/cm}^2$. FUNG et alii (1980b) consideram carnes portadoras de contaminações superiores a $6,0 \log \text{ UFC/cm}^2$ impróprias para consumo humano. Considerando essa afirmação, os cortes da meia carcaça controle estavam fora de especificação para consumo, desde a desossa. Os cortes da meia carcaça submetida ao tratamento pela aspersão da solução de ácidos orgânicos, mantiveram-se dentro dos padrões de consumo, até o oitavo dia de observação.

Pela análise de variância dos resultados obtidos, podemos observar que logo depois da desossa havia diferença significativa ($p < 0,05$) entre o tratamento e o controle. Nas análises seguintes, com cinco e oito dias de armazenamento, não havia diferença significativa ($p > 0,05$). Com onze dias de armazenamento, a diferença voltou a ser observada, mas os cortes obtidos das meias carcaças submetidas ao tratamento também já apresentavam contaminação superior àquelas toleradas em carnes destinadas ao consumo humano.

Quadro 24. Bactérias psicrotróficas e bolores e leveduras durante o armazenamento refrigerado da carne, proveniente da meia carcaça submetida ao tratamento e da meia carcaça controle, desossadas aos 15 dias de estocagem. (Log UFC/cm²)¹

Tempo (dias)	Bactérias Psicrotróficas ²		Bolores e Leveduras ²	
	Controle	Ácidos	Controle	Ácidos
0	6,60 ^b	5,43 ^a	6,21 ^a	6,03 ^a
5	6,86 ^a	5,96 ^a	5,56 ^a	4,82 ^a
8	6,50 ^a	5,93 ^a	5,50 ^a	5,78 ^a
11	8,98 ^b	7,32 ^a	7,44 ^a	7,21 ^a

¹Diferentes letras, na mesma linha, indicam diferenças significativas ($p < 0,05$) entre as médias

²Média de duas repetições

Após 15 dias de armazenamento refrigerado, a $7 \pm 2^\circ\text{C}$, a equipe de análise sensorial detectou colônias visíveis de bolores e leveduras, tanto na meia carcaça controle como na meia carcaça submetida ao tratamento. A contagem total desses microrganismos, antes da desossa foram 4,81 e 4,54 log UFC/cm², para a meia carcaça controle e a meia carcaça submetida ao tratamento, respectivamente. Após a desossa os valores verificados foram 6,21 log UFC/cm² para os cortes referentes à meia carcaça controle e 6,03 log UFC/cm² para os cortes representantes da meia carcaça submetida ao tratamento.

Nas análises realizadas após cinco dias de observação, os valores encontrados diminuíram um pouco, ficaram em torno de $5,0 \log \text{UFC/cm}^2$, mas voltaram a aumentar nas análises seguintes. Os valores encontrados para quantificar a população de bolores e leveduras, diminuíram entre 0,6 e 1,2 ciclos logarítmico na análise realizada cinco dias depois da desossa. Nas análises seguintes aos oito e onze dias de armazenamento, esses valores voltaram a aumentar, atingindo valores superiores a $7,0 \log \text{UFC/cm}^2$.

A análise de variância desses resultados, não detectou diferença significativa ($p > 0,05$), entre os valores encontrados na contagem total de bolores e leveduras de nenhum dos cortes, representantes das meia carcaça submetida ao tratamento, nem da meia carcaça controle, desossada após 15 dias de armazenamento, em nenhuma etapa do período de observação depois da desossa.

JAY & MARGITIC (1981) compararam a contagem de bactérias aeróbias totais e de bolores e leveduras, em carne frescas; os resultados obtidos mostraram que, em média, a contagem de bactérias aeróbias totais é o dobro da contagem total de bolores e leveduras. No presente estudo, praticamente não há diferença na contagem total desses dois grupos de microrganismos.

De maneira geral, os cortes provenientes das meias carcaças submetidas ao tratamento com a solução de ácidos orgânicos, tiveram aumento de até uma semana em sua vida-de-prateleira.

5-Conclusões

- 5.1-A sanitização da carne bovina resfriada, pela utilização de soluções contendo 2,00% de ácido acético, 1,00% de ácido láctico, 0,25% de cítrico e 0,10% de ácido ascórbico reduz a microbiota da sua superfície e mantém baixas contagens de microrganismos por até sete dias de armazenamento a $7\pm 2^{\circ}\text{C}$, sem afetar suas qualidades sensoriais.
- 5.2-A sanitização da carcaça bovina, logo depois do abate, pela aspersão da solução de ácidos orgânicos reduziu em mais de 90% a carga microbiana existente na superfície da carcaça, e manteve baixas as contagens totais de bactérias psicrotróficas e de bolores e leveduras durante 15 dias de armazenamento a $7\pm 2^{\circ}\text{C}$, sem afetar a sua aparência.
- 5.3 O emprego da solução de ácidos orgânicos mais alginato de cálcio, e da solução de ácidos orgânicos seguida da solução de alginato de cálcio formou um filme sobre a superfície da carne, apresentou efetividade no controle do crescimento de microrganismos, mas não reduziu as perdas de peso, nem aumentaram a vida-de-prateleira dos músculos, que foram rejeitados pela aparência, seca e sem brilho.
- 5.4-O tratamento da carcaça bovina com a solução de ácidos orgânicos aumentou a vida-de-prateleira da carne obtida após a desossa das carcaças em mais de 30%, nas análises realizadas durante o armazenamento dos cortes cárneos a $7\pm 2^{\circ}$.

5-Referências Bibliográficas

- 1 ACUFF, G. R.; VANDERZANT, C.; SAVELL, J. W.; JONES, D. K.; GRIFFIN, D. B.; EHLERS, J. G. Effect of acid decontamination of beef subprimal cuts on the microbiological and sensory characteristics of steaks. *Meat Sci.* 19(3): 217-226, 1987.
- 2 ADAMS, M. R. & HALL, C. J. Growth inhibition of food-borne pathogens by lactic and acetic acids and their mixtures. *Int. J. Food Sci. Technol.* 23(3): 297-301, 1988.
- 3 ALI, S.H. & HOSHYARE, D. F.; AL-DELAIFY, K. S. Microbiol counts on surfaces of lamb carcasses and shelf-life of refrigerated ground lamb. *J. Food Prot.* 45(11): 1013-1015, 1982.
- 4 ANDERSON, M. E.; MARSHALL, R. T.; STRINGER, W. C.; NAUMANN, H, D. Efficacies of three sanitizers under six conditions of application to surfaces of beef *J. Food Sci.* 42(2): 326-329, 1977.
- 5 ANDERSON, M. E.; SEBAUGH, J. L.; MARSHALL; R. T., STRINGER, W. C.; A method for decreasing sampling variance in bacteriological analyses of meat surfaces. *J. Food Prot.* 43(1): 21-22, 1980a.
- 6 ANDERSON, M. E.; MARSHALL, R. T.; STRINGER, W. C.; NAUMANN, H, D. In-plant evaluation of a prototype beef carcass cleaning and sanitizing unit. *J. Food Prot.* 43(7): 568-570, 1980b.
- 7 ANDERSON, M. E.; MARSHALL, R. T.; STRINGER, W. C.; NAUMANN, H, D. Evaluation of a prototype beef carcass washer in a commercial plant. *J. Food Prot.* 44(1): 35-38, 1981.
- 8 ANDERSON, M. E.; MARSHALL, R. T.; STRINGER, W. C.; NAUMANN, H. D. Evaluation of a unique chamber for a beef carcass cleaning unit. *J. Food Prot.* 45(1): 19-22, 1982a.
- 9 ANDERSON, M. E.; HUFF, H. E.; MARSHALL, R. T.; STRINGER, W. C. Inexpensive device for CIP cleaning of the inside of a beef carcass spray chamber. *J. Food Prot.* 45(7): 643-645, 1982b.

- 10 ANDERSON, M. E.; HUFF, H. E.; NAUMANN, H. D.; MARSHALL, R. T.; DAMARE, J. M.; PRATT, M.; JOHNSTON, R. Evaluation of an automated beef carcass washing and sanitizing system under production conditions. **J. Food Prot.** 50(7): 562-566, 1987a.
- 11 ANDERSON, M. E.; HUFF, H. E.; NAUMANN, H. D.; MARSHALL, R. T.; DAMARE, J.; JOHNSTON, R.; PRAT, M. Evaluation of swab and tissue excision methods for recovering microorganisms from washed and sanitized beef carcasses. **J. Food Prot.** 50(9): 741-743, 1987b.
- 12 ANDERSON, M. E.; HUFF, H. E.; NAUMANN, H. D.; MARSHALL, R. T. Counts of six types of bacteria on lamb carcasses dipped or sprayed with acetic acid at 25°C or 55°C and stored vacuum packaged at 0°C. **J. Food Prot.** 51(11): 874-877, 1988.
- 13 ANDERSON, M. E.; MARSHALL, R. T.; DICKSON, J. Efficacies of acetic, lactic and two mixed acids in reducing numbers of bacteria on surfaces of lean meat. **J. Food Safety** 12(2): 139-147, 1992a.
- 14 ANDERSON, M. E.; MARSHALL, R. T.; DICKSON, J. S. Estimating depths of bacterial penetration into post-rigor carcass tissue during washing. **J. Food Safety** 12(3): 191-198, 1992b.
- 15 ANDERSON, M. E. & MARSHALL, R. T. Interaction of concentration and temperature of acetic acid solution on reduction of various species of microorganisms on beef surfaces. **J. Food Prot.** 52(5): 312-315, 1989.
- 16 ANDERSON, M. E. & MARSHALL, R. T. Reducing microbial populations on beef tissues: concentration and temperature of lactic acid. **J. Food Safety** 10(2): 181-190, 1990a.
- 17 ANDERSON, M. E. & MARSHALL, R. T. Reducing microbial populations on beef tissues: concentration and temperature of a acid mixture. **J. Food Sci.**, 55(4): 903-905, 1990b.
- 18 BACUS, J. Microbial control methods in fresh and processed meats. In: ANNUAL RECIPROCAL MEAT CONFERENCE. 41. Laraine, jun. 12-15, 1988. **Proceedings.** Chicago, National Live Stock and Meat Board, p.7-10, 1988.

- 19 BARULA, M. & SHELEF, L. A. Growth suppression of pseudomonads by glucose utilization. **J. Food Sci.** 45(2): 349-351, 1980.
- 20 BAIRD-PARKER, A. C. Organic acids. In: SILLIKER, J. H. **Microbiol ecology of foods.** New York, Academic, 1980. v.1, p.126-135.
- 21 BARKATE, M. L.; ACUFF, G. R.; LUCIA, L. M.; HALE, D. S. Hot water decontamination of beef carcasses for reduction of initial bacterial numbers. **Meat Sci.** 35(3): 397-401, 1993.
- 22 BELL, M. F.; MARSHALL, R. T.; ANDERSON, M. E. Microbiological and sensory test of beef treated with acetic and formic acids. **J. Food Prot.** 49(3): 207-210, 1986.
- 23 BELOIAN, A. Disinfectants. In: HELRICH, K. ed. **Official methods of analysis.** Arlington, AOAC, 15 ed, v.1, 1990. p.133-146.
- 24 BENEDICT, R. C. Microbial attachment to meat surfaces. In: ANNUAL RECIPROCAL MEAT CONFERENCE, 41. Laraine, jun. 12-15, 1988. **Proceedings.** Chicago, National Live Stock and Meat Board, p.1-6. 1988.
- 25 BERAQUET, N. J.; IADEROZA, M.; JARDIM, D. C. P.; LINDO, M. M. K. Salga da cavalinha *Scomber Japonicus*. 2. Comparação entre os processos de "salga úmida" e "salga mista" em relação à absorção de sal e alterações de qualidade. **Col. ITAL** 13: 175-198, 1983.
- 26 BRASIL. Ministério da Agricultura. Departamento Nacional de Inspeção de Produtos de Origem Animal. **Regulamento de inspeção industrial e sanitária de produtos de origem animal-RIISPOA,** Brasília, 1962. 362p.
- 27 BUTLER, J. L.; STEWART, J. C.; VANDERZANT, C.; CARPENTER, Z. L.; SMITH, G. C. Attachment of microorganisms to pork skin and surfaces of beef and lamb carcasses. **J. Food Prot.** 24(5): 401-406, 1979.
- 28 CARLET Jr., D. A. & BROWN, M. H. pH and acidity. In: SILLIKER, J. H. **Microbiol ecology of foods,** New York, Academic, 1980. v.1, p.92-110.

- 29 CARTIER, P. Sampling plans to monitor microbial quality of commercial beef carcasses. In:INTERNATIONAL CONGRESS OF MEAT SCIENCE AND TECHNOLOGY, 38. Clermont-Ferrand, aug. 23-28, 1992. **Proceedings.** v.4, p.635-638, 1992.
- 30 CHANDRAN, S. K.; SAVELL, J. W.; GRIFFIN, D. B.; VANDERZANT, C. Effect of slaughter-dressing, fabrication and storage conditions on the microbiological and sensory characteristics of vacuum-packaged beef steaks. **J. Food Sci.** 51(1): 37-39, 1986.
- 31 COMTERIZED Sensory Analysis (CSA): version 4.2, User Guide, Ontario, Compusense Inc., 1992. 225p.
- 32 CORDRAY, J. C. & HUFFMAN, D. L. Comparison of three methods for estimating surface bacteria on pork carcasses. **J. Food Prot.** 48(7): 582-585, 1985.
- 33 CROUSE, J. D.; ANDERSOS, M. E.; NAUMANN, H. D. Microbial decontamination and weight of carcass beef as affected by automated washing pressure and length of time of spray. **J. Food Prot.** 51(6): 471-474, 1988.
- 34 CUDJOE, K. S. The effect of lactic acid sprays on the keeping qualities of meat during storage. **Int. J.Food Microbiol.** 7(1): 1-7, 1988.
- 35 CUTTER, C. N. & SIRAGUSA, G. R. Efficacy of organic acids against *Escherichia coli* 0157:H7 attached to beef carcass tissue using a pilot scale model carcass washer. **J. Food Prot.** 57(2): 97-103, 1994.
- 36 DAINITY, R. H. & MACKEY, B. M. The relationship between the phenotypic properties of bacteria from chill-stored meat and spoilage processes. **J. Appl. Bacteriol. Symposium Supplement**, 73(2): 103-114, 1992.
- 37 DAVEY, K. R. & SMITH, M. G., A laboratory evaluation of a novel hot water cabinet for the decontamination of sides of beef. **Int. J. Food Sci. Technol.** 24(2): 305-316, 1989.

- 38 DELAZARI, I., GERALDINI, A. M.; LEITÃO, M. F. F.; CORTE, O. O.
Incidência de bactérias esporogênicas anaeróbias em carne bovina.
Bol. ITAL 17(4): 441-450, 1980.
- 39 DICKSON, J. S. Reduction of bacteria attached to meat surfaces by
washing with selected compounds. **J. Food Prot.** 51(11): 869-873,
1988.
- 40 DICKSON, J. S. & KOOHMARAIE, M. Cell surface charge
characteristics and their relationship to bacterial attachment to meat
surfaces. **Appl. Environ. Microbiol.** 55(4): 832-836, 1989.
- 41 DICKSON, J. S. Attachment of *Salmonella typhimurium* and *Listeria
monocytogenes* to beef tissue: effects of inoculum level, growth
temperature and bacterial culture age. **Food Microbiol.** 8(2):
143-151, 1991.
- 42 DICKSON, J. S. Acetic acid action on beef tissue surfaces
contaminated with *Salmonella typhimurium*. **J. Food Sci.** 57(2):
297-301, 1992.
- 43 DICKSON, J. S & ANDERSON, M. E. Microbiological decontamination
of food animal carcasses by washing and sanitizing systems: A
review. **J. Food Prot.** 55(2): 133-140, 1992.
- 44 DIXON, Z. R.; VANDERZANT, C.; ACUFF, G. R.; SAVELL, J. W.;
JONES, D. K. Effect of acid treatment of beef strip loin steaks on
microbiological and sensory characteristics. **Int. J. Food
Microbiol.** 5(2): 181-186, 1987.
- 45 DIXON, Z. R.; ACUFF, G. R.; LUCIA, L. M.; VANDERZANT, C.;
MORGAN, J. B.; MAY, S. G.; SAVELL, J. W. Effect of degree of
sanitation from slaughter through fabrication on the microbiological
and sensory characteristics of beef. **J. Food Prot.** 54(3): 200-207,
1991.
- 46 DRUMM, B. M.; JOSEPH, R. L.; McKENNA, B. M. Line chilling of
beef 1: The prediction of temperatures. **J. Food Enginn.** 16(4):
251-256, 1992.

- 47 EKLUND, T. The antimicrobial effect of dissociated and undissociated sorbic acid at different pH levels. **J. Appl. Bacteriol.** 54(3): 383-389, 1983.
- 48 ELLERBROEK, L. I.; WEGENER, J. F.; ARNDT, G. Does spray washing of lamb carcasses alter bacterial surface contamination? **J. Food Prot.** 56(5): 432-436, 1993.
- 49 FARBER, J. M. & IDZIAK, E. S. Attachment of psychrotrophic meat spoilage bacteria to muscle surfaces. **J. Food Prot.** 47(2): 92-95, 1984.
- 50 FIRSTENBERG-EDEN, R. Attachment of bacteria to meat surfaces: a review. **J. Food Prot.** 44(8): 602-607, 1981.
- 51 FLISS, I.; SIMARD, R. E.; ETTRIKI, A. Comparison of three sampling techniques for microbiological analysis of meat surfaces. **J. Food Sci.** 56(1): 249-251, 1991.
- 52 FOOD and DRUG ADMINISTRATION. **Bacteriological analytical manual for foods.** 6 ed. Arlington, AOAC, 1984. pag. irreg.
- 53 FUNG, D. C. Y.; LEE, C. Y.; KASTNER, C. L. Adhesive tape method for estimating microbial load on meat surfaces. **J. Food Prot.** 43(4): 295-297, 1980a.
- 54 FUNG, D. Y. C.; KASTNER, C. L.; HUNT, M. C.; DIKEMAN, M. E.; KROPF, D. Mesophilic and psychrotrophic bacteria population on hot-boned and conventionally processed beef. **J. Food Prot.** 43(7): 547-550, 1980b.
- 55 GILL, C. O.; PENNEY, N.; NOTTINGHAM, P.M. Effect of delayed evisceration on the microbial quality of meat. **Appl. Environ. Microbiol.** 34(4): 465-468, 1976.
- 56 GILL, C. O. Substrate limitation of bacterial growth at meat surfaces. **J. Appl. Bacteriol.** 41(3): 401-410, 1976.
- 57 GILL, C. O. & PENNEY, N. Penetration of bacteria into meat. **Appl. Environ. Microbiol.** 33(6): 1284-1286, 1977.

- 58 GILL, C. O. & NEWTON, K. G. The ecology of bacterial spoilage of fresh meat at chill temperatures. **Meat Sci.** 2(3): 207-217, 1978.
- 59 GILL, C. O. A review: intrinsic bacteria in meat. **J. Appl. Bacteriol.** 47(2): 367-378, 1979.
- 60 GILL, C. O. Microbial interaction with meat. In: BROWN, M. H. **Meat microbiology**. London, Applied Science, 1982. p.225-261.
- 61 GILL, C. O. Total and intramuscular bacterial populations of carcasses and cuts. In: ANNUAL RECIPROCAL MEAT CONFERENCE, 33. West Lafayette, jun. 22-25, 1980. **Proceedings**. Chicago, National Live Stock and Meat Board, p.47-53 1980.
- 62 GILL, C. O. & PENNEY, N. Bacterial penetration of muscle tissue. **J. Food Sci.** 47(2): 690-691, 1982.
- 63 GILL, C. O. & NEWTON, K. G. Effect of lactic acid concentration on growth on meat of Gram-negative psychrotrophs from meatworks. **Appl. Environm. Microbiol.** 43(2): 284-288, 1982.
- 64 GILL, C. O. The control of microbial spoilage in fresh meat. In: PEARSON, A. M. & DUTSON, T. R. **Advances in meat research: Meat and poultry microbiology**. Westport, Avi, 1986. v.2, p.49-88.
- 65 GILL, C. O.; HARRISON, J. C. L.; PHILLIPS, D. M. Use of a temperature function integration technique to assess the hygiene adequacy of a beef carcass cooling process. **Food Microbiol.** 8(2): 83-94, 1991.
- 66 GILL, C. O. & PHILLIPS, D. M. The efficiency of storage during distant continental transportation of beef sides and quarters. **Food Res. Intern.** 26(4): 239-245, 1993.
- 67 GLICKSAMAN, M. Utilização de hidricolóides marinhos na indústria de alimentos. **Alimentos & Tecnologia** 13: 58-62, 1987
- 68 GRAU, F. H. Role of pH, lactate, and anaerobiosis in controlling the growth of some fermentative Gram-negative bacteria on beef. **Appl. Environm. Microbiol.** 42(6): 1043-1050, 1981.

- 69 GRAU, F. H. Microbial ecology of meat and poultry. In: PEARSON, A. M. & DUTSON, T. R. **Advances in Meat Research: Meat and poultry microbiology**. Westport, Avi, 1986. v.2, p.49-88.
- 70 GREER, G. G. & JONES, S. D. M. Effects of lactic acid vacuum pakaging on beef processed in a research abattoir. **Can. Inst. Sci. Technol. J.** 24(3/4): 161-168, 1991.
- 71 GREER, G. G. & DILTS, B. D. Factors affecting the susceptibility of meatborne pathogens and spoilage bacteria to organic acids. **Food Res. Int.** 25(3): 355-364, 1992.
- 72 GUSTAVSSON, P.; BORCH, E. Contamination of beef carcasses with spoilage bacteria during slaughter and chilling. In: INTERNATIONAL CONGRESS OF MEAT SCIENCE AND TECHNOLOGY, 35. Copenhagen, aug. 20-25, 1989. **Proceedings.** p.363-370, 1989.
- 73 GUSTAVSSON, P. & BORCH, E. Contamination of beef carcasses by psychrotrophic *Pseudomonas* and *Enterobacteriaceae* at different stages along the processing line. **Int. J. Food Microbiol.** 20(1): 67-83, 1993.
- 74 HAMBY, P. L.; SAVELL, J. W.; ACUFF, G. R.; VANDERZANT, C.; CROSS, H. R. Spray-chilling and carcass decontamination systems using lactic and acetic acid. **Meat Sci.** 21(1): 1-14, 1987.
- 75 HANNA, M. O.; SAVELL, J. W.; SMITH, G. C.; PURSER, D. E.; GARDNER, F. A.; VANDERZANT, C. Effect of growth of individual meat bacteria on pH, color and odor of aseptically prepared vacuum-packaged round steaks **J. Food Prot.** 46(3): 216-221, 1983.
- 76 HARMAYANI, E.; SOFOS, J. N.; SCHMIDT, G. R. Effect of sodium lactate, calcium lactate and sodium alginate on bacterial growth and aminopeptidase activity. **J. Food Safety** 11(4): 269-283, 1991.
- 77 HOLY, A. V. & HOLZAPFEL, W. H. The influence of extrinsic factors on the microbiological spoilage pattern of ground beef. **Int. J. Food Microbiol.** 6(4) 269-280, 1988.

- 78 HYYTIAINEN, M. Über Mikrobiologische Untersuchungsmethoden Und Über Qualitätsbeurteilung Des Fleisches. **Fleischwirtsch.** 55(4): 549-552, 1975.
- 79 INTERNATIONAL COMMISSION ON MICROBIOLOGICAL SPECIFICATIONS FOR FOODS (ICMSF). **Microorganisms in foods. I. their significance and methods of enumeration.** 2 ed. Toronto, University of Toronto Press. v.1, 434p.
- 80 JAY, J. M. & MARGITIC, S. Incidence of yeasts in fresh ground beef and their ratios to bacteria. **J. Food Sci.** 46(2): 648-649, 1981.
- 81 JOHNSON, R. C.; MULLER, T. S.; ROMANS, J. R.; COSTELLO, W. J.; JONES, K. W. Effects of alginate/calcium and adipic acid concentration muscle-juncture formation. **J. Food Sci.** 55(4): 906-910, 914, 1990.
- 82 JUDGE, D. M.; ABERLE, E. D.; FORREST, J. C.; HEDRICK, H. B.; ARKEL, R. A. **Principles of meat science.** 2 ed, Dubuque, Freeman, 1989. 351p.
- 83 KASPROWIAK, R. & HECHELMANN, H. Puntos críticos de higiene en los establecimientos de sacrificio, de deshuesado y de procesamiento de la carne. **Fleischwirtsch. (español)** 1: 42, 45-51, 1993.
- 84 KELLY, C. A.; LYNCH, B.; McLOUGHLIN, A. J. The effect of spray washing on the development of bacterial numbers and storage life of lamb carcasses. **J. Appl. Bacteriol.** 53(3): 335-341, 1982.
- 85 KESTER, J. J. & FENNEMA, O. R. Edible films and coatings: a review. **Food Technol.** 40(12): 47-59, 1986.
- 86 KONDAIAH, N.; ZEUTHEN, P.; JUL, M. Effect of chemical dips on unchilled fresh beef inoculated with *E. coli*, *S. aureus*, *S. faecalis* and *Cl. perfringens* and stored at 30°C and 20°C. **Meat Sci.** 12(1): 17-30, 1985.
- 87 KOTULA, A. W.; LUSBY, W. R.; CROUSE, D. J.; VRIES B. Beef carcass washing to reducing bacterial contamination. **J. Anim. Sci.** 39(4): 674-679, 1974.

- 88 KRIAA, H.; ARTHAUD, J. F.; FOURNAUD, J. Contamination and bacterial retention capacity of beef carcasses at the abattoir. **J. Appl. Bacteriol.** 59(1): 23-28, 1985.
- 89 LAMBERT, A. D.; SMITH, J. P.; DODDS, K. L. Shelf life extension and microbiological safety of fresh meat. A review. **Food Microbiol.** 8(4): 267-297, 1991.
- 90 LASTA, J. & FONROUGE, R. Significance of samples taken for bacterial counts from reduced areas of bovine carcasses. **J. Food Prot.** 51(3): 214-217, 1988.
- 91 LASTA, J. A.; RODRÍGUEZ, R.; ZANELLE, M.; MARGARÍA, C. A. Bacterial count from bovine carcasses as an indicator of hygiene at slaughtering places: A proposal for sampling. **J. Food Prot.** 54(4): 271-278, 1992.
- 92 LAZARUS, C. R.; WEST, R. L.; OBLINGER, J. L.; PALMER, A. Z. Evaluation of a calcium alginate coating and a protective plastic wrapping for the control of lamb carcass shrinkage. **J. Food Sci.** 41(3): 639-641, 1976.
- 93 LAZARUS, C. R.; ABU-BAKER, A.; WEST, R. L.; OBLINGER, J. L. Comparison of microbial counts of beef carcasses by using the mosit-swab contact method and secondary tissue removal technique. **Appl. Environ. Microbiol.** 33(1): 217-218, 1977.
- 94 LEE, J. Y. & FUNG, D. Y. C. Methods for sampling meat surfaces. **J. Environm. Health** 48(4): 200-205, 1986.
- 95 LIEBICH, H.; JÖCHLE, W.; MAYER, E. Coating of chilled beef cuts with acetylated monoglycerides for prolongation of freshness and reduction of weight loss from purge. **J. Vet Med. B.** 33: 740-750, 1986.
- 96 MATHIEU, A. M. & KAPAY, M. Hot boning and apray. A technology for developing countries? In: INTERNACIONAL CONGRESS OF MEAT SCIENCE AND TECHNOLOGY, 36. Havana, aug. 27-sept.1, 1990. **Proceedings.** p.500-503, 1990.
- 97 MAXCY, R. B. Surface microenvironment and penetration of bacteria into meat. **J. Food Prot.** 44(7): 550-552, 1981.

- 98 McMEEKIN, T. A. & THOMAS, C. J. Retention of bacteria on chicken skin after immersion in bacterial suspension. **J. Appl. Bacteriol.** 45(3): 383-387, 1987.
- 99 MEANS, W. J.; CLARKE, A. D.; SOFOS, J. N.; SCHMIDT, G. R. Binding, sensory and storage properties of algin/calcium structured beef steaks. **J. Food Sci.** 52(2):252-256, 262, 1987.
- 100 MORAIS, M. A. C. **Métodos para avaliação sensorial de alimentos.** 7 ed experimental. Campinas, 1990, 93p.
- 101 MORI, E. E. M. & BERAQUET, N. J. **Curso de análise sensorial de produtos cárneos.** Campinas, 16-20 out. 1989, 111p.
- 102 MOSSEL, D. A. A. Intervention as the rational approach to control diseases of microbial etiology transmitted by foods. **J. Food Safety** 6(2): 89-104, 1984.
- 103 MUCCIOLO, P. **Carnes: estabelecimentos de matança e de industrialização.** São Paulo, Ícone, , 1985. 102p.
- 104 MUERMANS, M. L. T.; STEKELENBURG, F. K.; ZWIETERING, M. H.; HUIS in't VELD, J. H. J. Modelling of the micro biological quality of meat. **Food Control** 4(4): 216-221, 1993.
- 105 NEVES FILHO, L. C. **A cadeia do frio no Brasil.** São Paulo, IBF, 1992. 8p. (Folheto).
- 106 NORTJE, G. L. & NAUDE, R. T. Microbiology of the beef carcass surface. **J. Food Prot.** 44(5): 355-358, 1981.
- 107 NORTJE, G. L.; SWANEPOEL, E.; NAUDE, R. T.; HOLHAPFEEL, W. H.; STEYN, P. L. Evaluation of three carcass surface microbial sampling techniques. **J. Food Prot.** 45(11): 1016-1017, 1982.
- 108 NOTERMANS, S.; FIRSTENBERG-EDEN, R.; van SCHOTHOST, M. Attachment of bacteria to teats of cows. **J. Food Prot.** 42(3): 228-232, 1979.
- 109 NOTTINGHAM, P. M. Microbioligy of carcass meats. In: BROWN, M H. **Meat microbiology**, London, Appied Science, 1982. p.13-65.

- 110 OLIVEIRA, J. S. & PARMELEE, C. E. Rapid enumeration of psychrotrophic bacteria in raw and pasteurized milk. **J. Milk Food Technol.** 39(4): 269-272, 1976.
- 111 OSTHOLD, W.; SHIN, H. K.; DRESEL, J.; LEISTNER, L. Improving the storage life of carcasses by treating their surfaces with an acid spray. **Fleishwirtsch.** 64(7): 828-830, 1984.
- 112 PALUMBO, S. A. Is refrigeration enough to restrain foodborn pathogens? **J. Food Prot.** 49(12): 1003-1009, 1986.
- 113 PASSOS, R. B. Efeitos de dois tipos de embalagem a vácuo e de um monoglicerídeo acetilado (DFG) na microbiota deterioradora e patogênica da carne bovina armazenada sob refrigeração. Campinas, 1991. 128p. Tese (Mestrado em Ciências de Alimentos).- Faculdade de Engenharia de Alimentos. Universidade Estadual de Campinas.
- 114 PEARSON, D. Assessment of meat freshness in quality control employing chemical techniques: a review. **J. Sci. Food Agric.** 19: 357-363, 1968.
- 115 PIETTE, J. P. G. & IDZIAK, E. S. New method to study bacterial adhesion to meat. **Appl. Environ. Microbiol.** 56(6): 1531-1536, 1989.
- 116 PIETTE, J. P. G. & IDZIAK, E. S. Role of flagella in adhesion of *Pseudomonas fluorescens* to tendon slices. **Appl. Environ. Microbiol.** 57(6): 1635-1639, 1991.
- 117 PONCE, E. A. & GUERRERO, I. L. Studies on meat inoculated with two lactic acid strains as a means of decontamination. In: INTERNATIONAL CONGRESS OF MEAT SCIENCE AND TECHNOLOGY, 36. Havana, aug. 27-sept. 1, 1990. **Proceedings.** v. 2, p.504-510, 1990.
- 118 POWELL, V. H. & CAIN, B. P. A hot water decontamination for beef sides. **CSIRO Food Res. Q.** 47(4): 79-89, 1987.

- 119 POWELL, V. H. & STARK, J. Edible surface coating for the reduction of weight losses from carcasses and cuts- 2. In: INTERNATIONAL CONGRESS OF MEAT SCIENCE AND TECHNOLOGY, 37. Kulmbach, sept. 1-6, 1991. **Proceedings.** v.1, p.289-292, 1991.
- 120 PRASAI, R. K.; ACUFF, G. R.; LUCIA, L. M.; HALE, D. S.; SAVELL, J. W.; MORGAN, J. B. Microbiological effects of acid decontaminatin of beef carcasses at various locations in processing. **J. Food Prot.** 54(11): 868-872, 1991.
- 121 PRASAI, R. K.; ACUFF, G. R.; LUCIA, L. M.; MORGAN, J. B.; MAY, S. G.; SAVELL, J. W. Microbiological effects of acid decontamination of pork carcasses at various locations in processing. **Meat Sci.** 32(4): 413-423, 1992.
- 122 QUEVEDO, F.; LASTA, J. A.; DINELLI, J. A. Control microbiologico de superficies con esponjas de poliuretano. **Rev. Latino-Amer. Microbiol.** 19: 79-82, 1977.
- 123 RIDELL, J.; KORKEALA, H.; RAHKIO, M. Relative bacterial levels at different sampling sites of beef carcasses measured with Olgaard method. In: INTERNATIONAL CONGRESS OF MEAT SCIENCE AND TECHNOLOGY, 37. Kulmbach, sept. 1-6, 1991. **Proceedings.** v.2, p.630-632, 1991.
- 124 ROBERTS, T. A.; HUNDSON, W. R.; WHELEHAN, O. P. Number and distribution of bacteria on some beef carcasses at selected abattoirs in some number states of the European Communités. **Meat Sci.** 11(3): 191-205, 1984.
- 125 SCHMIDT, U. Cleaning and disinfection methds, effects of rinsing on surface bacterial count. **Fleischwirtsch.** 69(1): 71-74, 1989.
- 126 SELGAS, D.; MARIN, M, L.; PIN, C.; CASAS, C. Attachment of bacteria to meat surfaces: a review. **Meat Sci.** 34(3): 265-273, 1993
- 127 SERRANO, A. M. Métodos de amostragem para avaliação da limpeza e sanificação. **Rev. ILCT** 39: 13-15, 1984.

- 128 SHELEF, L. A. & JAY, J. M. Use of titrimetric method to assess the bacterial spoilage of fresh beef. **Appl. Microbiol.** 19(6): 902-905, 1970.
- 129 SHELEF, L. A. Effect of glucose on the bacterial spoilage of beef. **J. Food Sci.** 42(5): 1172-1174, 1977.
- 130 SIRAGUSA, G. R. & DICKSON, J. S. Inhibition of *Listeria monocytogenes*, *Salmonella typhimurium* and *Escherichia coli* 0157:H7 on beef muscle tissue by lactic or acetic acid contained in calcium alginate gels. **J. Food Safety** 13(2): 147-158, 1993.
- 131 SMITH, M. G. & GRAHAN, A. Destruction of *Escherichia coli* and salmonellae on mutton carcasses by treatment with hot water. **Meat Sci.**, 2(2): 119-128, 1978.
- 132 SMULDERS, F. J. M. Prospectives for microbial decontamination of meat and poultry by organic acids with special references to lactic acid. In: SMULDERS, F.J.M Elimination of pathogenic organisms from meat and poultry: International Symposium. Prevention of Contamination and Decontamination in the Meat Industry **Proceedings**. Zeist, 1986. Elsevier Science, p.319-344.
- 133 SMULDERS, F. J. M. & WOOLTHUIS, C. H. J. Influence of two levels of hygiene on the microbiological condition of veal as a product of two slaughtering/processing sequence. **J. Food Prot.** 46(12): 1032-1035, 1983.
- 134 SMULDERS, F. J. M.; WOOLTHUIS, C. H. J. Immediate and delayed microbiological effects of lactic acid decontamination of calf carcasses influence on conventionally boned versus hot-boned and vacuum-packaged cuts. **J. Food Prot.** 48(10): 838-847, 1985.
- 135 SMULDERS, F. J. M.; BARENDSEN, P.; van LOGTESTIJN, J. G.; MOSSEL, D. A. A.; van der MARREL, G. M. Review: Lactic acid: Considerations in favour of its acceptance as a meat decontaminant. **J. Food Technol.** 21(4): 419-436, 1986.
- 136 SNIJDERS, J. Good manufacturing practices in slaughter lines. **Fleischwirtsch.** 68(6): 753-756, 1988.

- 137 STATGRAPHICS. Statistical graphics system: v. 4.0. Ontário, Statistical Graphics Corporation, 1989.
- 138 STERMER, A. R.; LASATER-SMITH, M.; BRASINGTON, C. F. Ultraviolet radioation: an effective bactericide for fresh meat. **J. Food Prot.** 50(2): 108-111, 1987.
- 138 STEVENSON, K. E.; MERKEK, R. A.; LEE, H. C. Effects of chilling rate, carcass fatness and chlorine spray on microbiological quality and case-life of beef. **J. Food Sci.** 43(3): 849-852, 1978.
- 140 STILES, M. E. & HASTING, J. W. Bacteriocin production by lactic acid bacteria: potential for use in meat preservation. **Trends Food Sci. Technol.** 247-251, 1991.
- 141 STOLLE, F. A. Establishing microbiological survaillance programmes at slaughterlines-a new concept of meat hygiene. **Meat Sci.** 22(2): 203-211, 1988.
- 142 STOLLE, F. A. Microbial surveillance programes at slaughterlines: Are they realistic? In: INTERNATIONAL CONGRESS OF MEAT SCIENCE AND TECHNOLOGY, 35. Copenhagen, aug. 22-25, 1989. **Proceedings.** v.2, p 351-355, 1989.
- 143 TORPOFF, J. & SWIENTEK, R. J. Beef carcass washing system cuts cleaning time 85%. Saves energy-by using plant's existing cold water supply; cuts water usage 25%. **Food Proc.** 42(9): 82, 1981.
- 144 TROUT G. R. The effect of calcium carbonate and sodium alginate on the color and bind streng of restrutured beef steaks. **Meat Sci.** 25(3): 163-175, 1989.
- 145 VALLADARES, C.; GARCIA, M.; CANTILLO, J. Shelf life of meat and meat products after a non-refrigerated transport. In: INTERNATIONAL CONGRESS OF MEAT SCIENCE AND TECHNOLOGY, 36. Havana, aug 27-sept. 1. 1990. **Proceedings,** v.2, p.523-530, 1990.
- 146 VANDERZANT, C.; CARPENTER, Z. L.; SMITH, G. C. Sampling carcasses and meat products. In: ANNUAL RECIPROCAL MEAT CONFERENCE, 29. Provo, jun. 20-23, 1976. **Proceedings.** National Live Stock and meat Board, p.258-267, 1976.

- 147 VANDERZANT, C. & SPLITTSTOOSER, R. D. F. **Compendium of methods for the microbiological examination of foods.** 15 ed., Washington, DC. APHA 1992, 1219p.
- 148 VAN NETTEN, P.; HUIS in't VELD, J. H. J.; MOSSEL, D. A. A. The immediate bactericidal effect of lactic acid on meat-borne paphogens. **J. Appl. Bacteriol.** 77(5): 490-496, 1994.
- 149 WOOLTHUIS, C. H. J. & SMULDERS, F. J. M. Macrobial decontamination of calf carcasses by lactic acid sprays. **J. Food Prot.** 48(10): 832-837, 1985.
- 150 WILLIAMS, S. K.; OBLINGER, J. L.; WEST, R. L. Evoluotion of a calcium alginate film for use on beef cuts. **J. Food Sci.** 43(2): 292-296, 1978.
- 151 ZAMORA, M. C. & ZARITZKY, N. E. Potassium sorbate inibition of microorganisms growing on refrigeration packaged beef. **J. Food Sci.** 52(2): 257-262, 1987.
- 152 ZURIGA, A. G.; ANDERSON, M. E.; MARSHALL, R. T.; IANNOTTI, E. L. A model system for studying the penetration of microorganisms into meat. **J. Food Prot.** 54(4): 256-258, 1991.