



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
DEPARTAMENTO DE TECNOLOGIA DE ALIMENTOS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS

IVILANE LIMA DA SILVA

ESTUDO DA QUALIDADE DE BIFE BOVINO SUBMETIDO À TECNOLOGIA *SOUS VIDE* EM ESCALA DE PRODUÇÃO INDUSTRIAL

FORTALEZA

2012

IVILANE LIMA DA SILVA

ESTUDO DA QUALIDADE DE BIFE BOVINO SUBMETIDO À TECNOLOGIA *SOUS VIDE* EM ESCALA DE PRODUÇÃO INDUSTRIAL

Dissertação submetida à coordenação do Programa de pós-graduação, do curso de Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos.

Orientadora: Prof^ª. Dr^ª Evânia Altina Teixeira de Figueiredo

Co-orientadora: Prof^ª. PhD Elisabeth Mary Cunha da Silva

FORTALEZA

2012

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Biblioteca de Ciências e Tecnologia

S58e

Silva, Ivilane Lima da.

Estudo da qualidade de bife bovino submetido à tecnologia *Sous vide* em escala de produção industrial. / Ivilane Lima da Silva. – 2012.

95 f.: il. color, enc. ; 30 cm.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências Agrárias, Departamento de Tecnologia de Alimentos, Programa de Pós-Graduação em Ciências e Tecnologia de Alimentos, Fortaleza, 2012.

Área de Concentração: Ciência e Tecnologia de Alimentos.

Orientação: Profa. Dra. Evânia Altina Teixeira Figueiredo.

Coorientação: Profa. PhD. Elisabeth Mary Cunha da Silva.

1. Carne bovina – qualidade. 2. Carne – indústria. 3. carne - conservação I. Título.

IVILANE LIMA DA SILVA

ESTUDO DA QUALIDADE DE BIFE BOVINO SUBMETIDO À TECNOLOGIA *SOUS VIDE* EM ESCALA DE PRODUÇÃO INDUSTRIAL

Dissertação submetida à coordenação do Programa de pós-graduação, do curso de Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos.

Aprovada em: ___/___/___

Banca Examinadora

Prof^a. Dr^a Evânia Altina Teixeira de Figueiredo (Orientadora)
Universidade Federal do Ceará – UFC

Prof^a. PhD Elisabeth Mary Cunha da Silva (Co-Orientadora)
Universidade Federal do Ceará – UFC

Prof. Dr. Paulo Henrique Machado de Sousa
Universidade Federal do Ceará – UFC

Prof^a Dr. Socorro Vanesca Froto Madeira
Universidade Federal do Ceará – UFC

Dr^a Ana Paula Dionísio
Pesquisadora da Embrapa

FORTALEZA

2012

Ao nosso Deus, fonte suprema e inesgotável de sabedoria;

Aos meus pais Raimundo e Iva, que uma dia me disseram: “minha filha, o conhecimento e a cultura ninguém tira de você”. Por todo amor que me oferecem, permitindo-me ultrapassar barreiras, medos e dúvidas. Obrigada por serem exemplo de vida, e por acreditarem em meus sonhos.

Dedico

AGRADECIMENTOS

A Deus pelas bênçãos concedidas por toda esta minha trajetória, por guiar meus passos e abrir caminhos para que tudo em minha vida se realizasse.

Ao curso de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos UFC, pela oportunidade para a realização deste trabalho.

A FUNCAP, pela bolsa de mestrado.

Ao meu pai, Raimundo José da Silva e minha mãe, Maria Iva Lima da Silva pela dedicação, paciência inesgotável, apoio e principalmente, seus exemplos e companheirismo que ajudaram a definir meu caráter e prosseguir com os estudos. Obrigada pai e mãe, eu amo muito vocês.

A minha irmã, Ivelise Lima, pela dedicação, carinho, paciência, amizade e apoio em tudo que eu faço.

Ao Bruno, pelo amor, paciência, compreensão e acima de tudo companheirismo. Agradeço pelo apoio diante das dificuldades, pelo incentivo para que eu realizasse meus sonhos.

A professora e amiga Evânia Altina Teixeira de Figueiredo, pela orientação, por sua amizade, dedicação, apoio, incentivo e sobretudo pela confiança depositada em mim para a conclusão deste trabalho. Seus exemplos, aulas e conversa, deixaram-me fascinada pela área de microbiologia de alimentos, fazendo com que meus objetivos na Engenharia de Alimentos fossem além do que os pequenos micro-organismos. Tudo isso contribuiu muito para meu crescimento profissional.

A minha Co-orientadora Elisabeth Mary Cunha da Silva por toda atenção e ajuda dispensada sempre que necessário. Que de várias maneiras colaborou para a realização desta dissertação. Muito grata mesmo!

Ao professor Paulo Henrique pela ajuda na análise estatística, por aceitar participar da minha banca, por sempre estar disponível e disposto a ajudar.

A pesquisadora Ana Paula e a professora Socorro Vanesca Froto Madeira que aceitaram participar da minha banca e nela me proporcionaram um olhar sobre o texto, engrandecendo e melhorando minha dissertação.

Ao Sandro Tomaz e Leônia por todas as dicas e apoio.

A Ticiane (Tici), que nos momentos de maior aflição me ajudou a desatar os nós. Agradeço pela força amiga nas horas que a dissertação parecia muito maior e mais

complicada. Pela força em todas as horas. Mesmo na dificuldade com os experimentos a gente ainda conseguia sorrir do que acontecia, mesmo que não fosse o que a gente esperava.

As minhas amigas Larissa e Patrícia (Paty), que tanto me ajudaram durante a vida acadêmica. Sempre me incentivaram.

A minha amiga Anna Patrícia. Obrigada por toda ajuda. Você nunca hesitou em me ajudar!

A Luana Guabiraba pela colaboração nos cálculos da parte estatística.

As minhas amigas Marina Rebouças, Carolina Xerex, Sheila, Fátima, Álya, Flayanna, Heloísa, pela amizade e contribuições fornecidas.

Ao NUTEC que abriu as portas para os procedimentos experimentais, em especial aos técnicos: Sônia, Silvana e Sávio.

As meninas do laboratório de microbiologia de alimentos, em especial a Larissa e Fernanda (Fernandinha), as meninas da área de lavagem (Lívia, Auzira e Camila) que me ajudaram muito, as técnicas Gisani e Natália, pela amizade, ensinamentos e paciência, cada uma com a importância do seu trabalho.

Aos técnicos desta Universidade em especial a Rosy e Luís Bitú pela colaboração no laboratório de carnes.

A indústria beneficiadora dos bifes *sous vide*, que aceitaram colaborar na realização deste trabalho, oferecendo as amostras, mas principalmente pela abertura de portas e facilidade na utilização das suas instalações, equipamentos e pessoal para a manufatura dos lotes a ensaiar.

A todas as pessoas que de alguma maneira, tornaram possível a realização deste trabalho,

Aos que eventualmente me falta aqui referir e que de uma forma ou de outra contribuíram para a realização deste trabalho.

Á todos...

Meu sincero e emocionado MUITO OBRIGADA!

RESUMO

Este trabalho teve como objetivo estudar a qualidade de bife bovino processado em escala industrial através de tecnologia *sous vide* durante as etapas sequenciais do processo. Foram realizadas análises físico-químicas e microbiológicas em bife de Músculo bovino *Supraspinatus in natura*, temperado e processado por tecnologia *sous vide* (80°C/5horas) e armazenados a 3°C durante 0, 15, 30, 45 e 60 dias, para estudo da estabilidade. Foi ainda realizada avaliação sensorial dos bifes durante armazenamento a 0 e 30 dias a 3°C para verificação da aceitação quanto a cor, aroma, sabor, suculência, textura, impressão global e atitude de compra. O estudo da estabilidade dos bifes bovinos *sous vide* permitiu observar poucas alterações para os parâmetros de cinzas, proteína, a*, b*, Chroma, Hue e nenhuma alteração para os parâmetros L*, umidade e gordura no decorrer do tempo de armazenamento por 60 dias a 3°C. Não houve diferença significativa ($p < 0,05$) entre as amostras para características de sabor, suculência, textura e impressão global, contudo houve diferença significativa ($p > 0,05$) dos parâmetros de cor e aroma. As respostas para a intenção de compra mostraram que os consumidores classificaram as amostras próximo ao termo hedônico (4) correspondente a “provavelmente compraria”, não havendo diferença significativa ($p > 0,05\%$) entre as amostras. Foram encontradas contagens de aeróbios mesófilos, coliformes fecais e coliformes totais no bife bovino *in natura*, bife bovino temperado e presença de *Listeria monocytogenes* em uma das cinco coletas de bife *in natura*, contudo estes micro-organismos não foram encontrados em nenhuma das amostras submetidas à tecnologia *sous vide* e durante estudo de estabilidade. Foram detectados esporos de aeróbios e anaeróbios nos bifes *sous vide* durante armazenamento. Desta forma, o tratamento (80°C/5 horas) não é suficiente para tornar o alimento isento de micro-organismos capazes de se reproduzir no produto em condições de estocagem não refrigerada. O cozimento *sous vide* proporcionou um produto final com uma maior retenção de nutrientes (proteína, gordura). O armazenamento por 30 dias a 3°C parece não ter contribuído para a alteração das características sensoriais das amostras. Isto indica que os bifes *sous vide* podem ser armazenado com sucesso até a 30 dias a 3°C e ser de qualidade sensorial aceitável para os consumidores. Os resultados deste estudo confirmam o potencial tecnológico do músculo *Supraspinatus* para a elaboração de bife *sous vide*, e sua viabilidade de produção e comercialização para consumo humano. De uma forma geral, o bife *sous vide* manteve suas propriedades ao longo do armazenamento, sendo uma excelente fonte de nutrientes, principalmente no que se refere ao teor de proteína. A tecnologia *sous vide* apresenta-se como uma excelente alternativa para o mercado de carne, por agregar valor ao produto e conservar suas características de qualidade.

Palavra chave: Músculo bovino *Supraspinatus*. *Sous vide*. Qualidade. Estabilidade.

ABSTRACT

The aim of this study was to verify the quality of steak cattle processed in industrial scale using *sous vide* technology during the sequential steps of the process. Physico-chemical and microbiological analysis were performed with the bovine muscle steaks *Supraspinatus in natura*. Steaks were spiced and processed by *sous vide* technology (80°C/5 hours) and stored at 3°C for 0, 15, 30, 45 and 60 days for stability studies. It was also performed sensory evaluation of steaks during storage at 0 and 30 days at 3 ° C to verify the acceptance and the color, aroma, flavor, juiciness, texture, overall impression and attitude of purchase. The stability of *sous vide* bovine steak allowed to observe a few changes in parameters such as ash, protein, a *, b *, Chroma, Hue, and no changes in L *, moisture and fat during the storage time for 60 days at 3°C. There was no significant difference ($p < 0.05$) between the characteristics of samples for flavor, juiciness, texture and overall impression, however significant difference ($p > 0.05$) was achieved for color and aroma. The responses for purchase intent showed that consumers rated the samples near the hedonic term (4) corresponding to "I would probably buy", with no significant difference ($p > 0.05\%$) between samples. There were counts of aerobic mesophilic, coliform and fecal coliforms *in natura* steak, steak seasoned and *Listeria monocytogenes* in one of five collections of *in natura* steak, but these microorganisms were not found in any sample submitted to *sous vide* technology and for stability studies. Spores were detected in aerobic and anaerobic *sous vide* steak during storage. Thus, treatment (80 °C/5 hours) is not sufficient to make the food free of microorganisms capable of reproduction in the product in non-refrigerated storage conditions. Cooking *sous vide* a final product provided with a greater retention of nutrients (proteins, fat). The storage for 30 days at 3°C seems to have contributed to the change of the sensory characteristics of the samples. This indicates that the *sous vide* steaks may be stored successfully for 30 days at 3°C and sensory quality can be acceptable to consumers. The results of this study confirm the technological potential of the *Supraspinatus* muscle for the preparation of steak *sous vide*, and the viability of its production and marketing for human consumption. In general, the steak *sous vide* kept its properties during the storage, being an excellent source of nutrition, especially in regard to protein content. The *sous vide* technology presents itself as an excellent alternative to the meat market by adding value to the product and maintain their quality characteristics.

Keyword: cattle *Supraspinatus* Muscle. *Sous vide*. Quality. Stability.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

FIGURA 1 -	Corte peixinho bovino.....	16
FIGURA 2 -	Ciclo da cor da carne	20
FIGURA 3 -	Diagrama de fluxo do cozimento <i>sous vide</i> ou à vácuo (ORDÓÑEZ <i>et al.</i> , 2005a).	28
FIGURA 4 -	Fluxograma de beneficiamento de bife bovino submetido à tecnologia <i>sous vide</i> com os pontos de coletas (1, 2 e 3) de coletas das amostras para estudo.....	39
FIGURA 5 -	Amostra identificada após cozimento <i>sous vide</i>	41
FIGURA 6 -	Valores de pH de bife bovino processado pela tecnologia <i>sous vide</i> durante armazenamento a 3°C por 60 dias.....	59
FIGURA 7 -	Valores de proteína em bife bovino processado pela tecnologia <i>sous vide</i> durante armazenamento a 3°C por 60 dias.....	61
FIGURA 8 -	Valores da coordenada b* em bife bovino processado pela tecnologia <i>sous vide</i> durante armazenamento a 3°C por 60 dias.....	64
FIGURA 9 -	Histograma de frequência dos resultados da análise sensorial de bife bovino após o processamento <i>sous vide</i> (T0), com relação aos valores hedônicos atribuídos a cor, aroma, sabor, suculência, textura e impressão global (9= gostei muitíssimo e 1= desgostei muitíssimo).....	68
FIGURA 10 -	Histograma de frequência dos resultados da análise sensorial de bife bovino com 30 dias de armazenamento a 3°C, com relação aos valores hedônicos atribuídos a cor, aroma, sabor, suculência, textura e impressão global (9= gostei muitíssimo e 1= desgostei muitíssimo).....	69
FIGURA 11 -	Histograma de frequência dos resultados da análise sensorial de bife bovino após o processamento <i>sous vide</i> (T0) e com 30 dias de armazenamento a 3°C, com relação aos valores atribuídos a intenção de compra (5= Certamente compraria e 1 = Certamente não compraria).....	70

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 -	Composição centesimal de cortes de carne bovino cru e cozido por 100g de parte comestível.....	18
TABELA 2 -	Composição mineral de diversos cortes de carne bovina crua e cozida por 100g de parte comestível.....	19
TABELA 3 -	Média \pm desvio-padrão de pH em bife bovino <i>in natura</i> , bife bovino temperado e bife bovino após aplicação da tecnologia <i>sous vide</i> (T0).....	52
TABELA 4 -	Média \pm desvio-padrão da composição centesimal em bife bovino <i>in natura</i> , bife bovino temperado e bife bovino após aplicação da tecnologia <i>sous vide</i> (T0).....	53
TABELA 5 -	Média \pm desvio-padrão da cor instrumental com relação as coordenadas L*, a*, b*, Chroma e Hue em bife bovino <i>in natura</i> , bife bovino temperado e bife bovino após aplicação da tecnologia <i>sous vide</i> (T0).....	56
TABELA 6 -	Média \pm desvio-padrão de umidade em bife bovino processado pela tecnologia <i>sous vide</i> durante armazenamento a 3°C por 60 dias.....	60
TABELA 7 -	Média \pm desvio-padrão de gordura em bife bovino processado pela tecnologia <i>sous vide</i> durante armazenamento a 3°C por 60 dias.....	60
TABELA 8 -	Média \pm desvio-padrão de cinzas em bife bovino processado pela tecnologia <i>sous vide</i> durante armazenamento a 3°C por 60 dias.....	62
TABELA 9 -	Média \pm desvio-padrão da cor instrumental com relação a coordenada L* em bife bovino processado pela tecnologia <i>sous vide</i> durante armazenamento a 3°C por 60 dias.....	62
TABELA 10 -	Média \pm desvio-padrão da cor instrumental com relação a coordenada a* em bife bovino processado pela tecnologia <i>sous vide</i> durante armazenamento a 3°C por 60 dias.....	63
TABELA 11 -	Média \pm desvio-padrão da cor instrumental com relação a coordenada Chroma (c*) em bife bovino processado pela tecnologia <i>sous vide</i> durante armazenamento a 3°C por 60 dias.....	65
TABELA 12 -	Média \pm desvio-padrão da cor instrumental com relação a	

	coordenada Hue (H*) em bife bovino processado pela tecnologia <i>sous vide</i> durante armazenamento a 3°C por 60 dias.....	65
TABELA 13 -	Média ± desvio-padrão para o teste de escala hedônica para análise sensorial dos bifes bovinos após o processamento <i>sous vide</i> (T0) e com 30 dias de armazenamento a 3°C, com relação a cor, aroma, sabor, textura, impressão global e atitude de compra das amostras....	67
TABELA 14 -	Valores médios de contagem de bactérias mesófilas (UFC/g) em bife bovino <i>in natura</i> , bife bovino temperado e bife bovino após processamento <i>sous vide</i> (T0).....	71
TABELA 15 -	Valores médios de pesquisa de coliformes totais (UFC/g) em bife bovino <i>in natura</i> , bife bovino temperado e bife bovino após processamento <i>sous vide</i> (T0).....	71
TABELA 16 -	Valores médios de pesquisa de <i>E. coli</i> (UFC/g) em bife bovino <i>in natura</i> , bife bovino temperado e bife bovino após processamento <i>sous vide</i> (T0).....	72
TABELA 17 -	Valores médios de contagem de bolores e leveduras (UFC/g) em bife bovino <i>in natura</i> , bife bovino temperado e bife bovino após processamento <i>sous vide</i> (T0).....	72
TABELA 18 -	Bactérias formadoras de esporos em bife bovino processado pela tecnologia <i>sous vide</i> durante armazenamento a 3°C por 60 dias.....	74

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	13
2	REVISÃO DE LITERATURA	15
2.1	Carne bovina	15
2.1.1	Músculo <i>Supraspinatus</i>	15
2.1.2	Composição química da carne	17
2.1.3	Aspectos sensoriais das carnes	19
2.1.4	Micro-organismos contaminantes de carnes	22
2.2	Refeições coletivas e inovações tecnológicas	23
2.3	Tecnologia <i>sous vide</i>	26
2.3.1	Segurança microbiológica de alimentos <i>sous vide</i>	30
2.3.2	Aspectos sensoriais de alimentos <i>sous vide</i>	34
2.3.3	Vida útil de produtos <i>sous vide</i>	35
3.	JUSTIFICATIVA DO ESTUDO	37
4	MATERIAIS E MÉTODOS	38
4.1	Obtenção das amostras	38
4.2	Fluxograma de beneficiamento de bife bovino submetido a tecnologia <i>sous vide</i>	39
4.3	Transporte das amostras	41
4.4	Caracterização físico-química	41
4.4.1	pH	41
4.4.2	Composição centesimal	42
4.4.2.1	Umidade	42
4.4.2.2	Gordura	42
4.4.2.3	Proteínas	42
4.4.2.4	Cinzas	43
4.4.3	Cor	43
4.5	Análise sensorial	44
4.6	Análises microbiológicas	45
4.6.1	Preparo da amostra	45
4.6.2	Pesquisa de micro-organismos deteriorantes	45
4.6.2.1	Contagem de <i>E. coli</i> e coliformes totais	45

4.6.2.2	Contagem de bolores e leveduras	45
4.6.2.3	Contagem Total de aeróbio mesófilo	45
4.6.2.4	Pesquisa de bactérias produtoras de esporos	46
4.6.2.4.1	Bactérias produtoras de esporos: anaeróbias termófilas e/ou anaeróbias mesófilas	46
4.6.2.4.2	Bactérias produtoras de esporos: aeróbias mesófilas ou termófilas facultativas, aeróbias termófilas facultativas e aeróbias termófilas estritas	47
4.6.2.4.2.1	Coloração de Gram	47
4.6.2.4.2.2	Coloração de esporos	47
4.6.3	Pesquisa de micro-organismos patogênicos	48
4.6.3.1	Clostridium sulfito redutores a 46°C	48
4.6.3.2	Contagem de <i>Bacillus cereus</i>	48
4.6.3.3	<i>Listeria monocytogenes</i>	49
4.6.3.4	Pesquisa de <i>Salmonella</i> sp	49
4.7	Análise estatística	50
5	RESULTADOS E DISCUSSÕES	52
5.1	Caracterização físico-química	52
5.1.1	Caracterização físico-química de bife <i>in natura</i> , bife temperado e bife após aplicação da tecnologia <i>sous vide</i> (T0)	52
5.1.1.1	pH	52
5.1.1.2	Composição centesimal	53
5.1.1.3	Determinação da cor	55
5.1.2	Estudo da estabilidade de bife bovino submetido à tecnologia <i>sous vide</i> durante armazenamento a 3°C por 60 dias.	58
5.1.2.1	pH	58
5.1.2.2	Composição centesimal	59
5.1.2.3	Determinação da cor	62
5.2	Avaliação sensorial	66
5.3.	Análises microbiológicas	70
	CONCLUSÕES	77
	REFERÊNCIAS	78
	APÊNDICES	86

1. INTRODUÇÃO

A carne constitui o componente central da dieta humana, tanto como alimento direto, quanto como ingrediente essencial a vários outros produtos. O grande valor nutritivo atribuído às proteínas de origem animal faz da carne um dos principais alimentos da nossa dieta, suprimindo parte das necessidades nutricionais humanas. O Brasil é um grande produtor mundial de proteína animal e tem no mercado interno o principal destino de sua produção. Segundo a Associação Brasileira das Indústrias Exportadoras de Carne (ABIEC) (2010), o Brasil possui um consumo de 37,4 kg/habitante/ano.

As carnes são alimentos altamente perecíveis, assim, métodos de conservação (refrigeração, congelamento, processamento térmico, desidratação e irradiação) são essenciais para prolongar a vida útil e permitir a estocagem tanto de carnes frescas, como de produtos cárneos processados (ABERLE *et al.*, 2001). Na produção destes alimentos é essencial que medidas apropriadas sejam tomadas para garantir a segurança e a estabilidade do produto durante toda a sua vida de prateleira.

A demanda do Brasil por alimentos de conveniência é crescente. Segundo a Associação Brasileira das Empresas de Refeições Coletivas (ABERC) (2012) o setor de alimentação coletiva é um mercado em plena ascensão e vem se tornando representativo na economia brasileira, visto que apresenta faturamento de aproximadamente 15,1 bilhões de reais anuais mediante comercialização de refeições coletivas.

As indústrias do setor da carne têm buscado meios para agregar valor a cortes de maciez intermediária, considerados inadequados ao preparo rápido. Até hoje, diferentes tecnologias experimentais foram usadas para cozinhar carne. No entanto, as indústrias de processamento de alimentos estão apenas no início de reconhecer as vantagens que os novos sistemas de produção de alimentos podem oferecer. Nos últimos anos, o aumento do número de profissionais no ramo de restaurantes tem levado ao desenvolvimento de novas tecnologias para a produção de refeições coletivas. Dentro deste contexto, surgiu o interesse pela técnica *sous vide*, como uma forma de produzir refeições para consumo futuro com características, consistência e sabor idênticos aos preparados na hora.

O *sous vide* é uma técnica inovadora para o Brasil, contudo esta não é uma técnica nova, visto que seu primeiro uso foi realizado no final de 1960, na França. O *sous vide* é um cozimento que tem como característica principal o uso de baixa temperatura (abaixo de 100°C), por um período mais longo, se comparado ao método tradicional. Consiste em um

método de acondicionar alimentos crus em embalagens impermeáveis, realizar um cozimento à vácuo, submetendo-os a posterior resfriamento e armazenamento sob refrigeração (BORCH; ARINDER, 2002; ORDÓÑEZ *et al.*, 2005a). Esta tecnologia melhora as características sensoriais, retém nutrientes e prolonga a vida útil dos produtos.

O sistema *sous vide* aparece como uma interessante alternativa para a produção de produtos de carne bovina prontos para comer (GARCÍA-SEGOVIA; ANDRÉS-BELLO; MARTÍNEZ-MONZO, 2007; VAUDAGNA *et al.*, 2002). Devido às vantagens obtidas no cozimento à vácuo, o processamento *sous vide* seria adequado para produzir músculo bovino valorizado comercialmente, a partir de matéria-prima de baixo custo (VAUDAGNA *et al.*, 2002; BORCH; ARINDER, 2002). Desta forma, os produtos *sous vide* constituem uma excelente alternativa para o mercado de carnes, com benefícios tanto para o produtor, que encontra uma forma de agregar valor ao produto, quanto para o consumidor, diante da necessidade crescente de minimizar o tempo de preparo dos alimentos.

Segundo Molins (2009), a embalagem dos produtos *sous vide* retém os nutrientes por cozinhar o alimento no próprio exsudado, inibe o crescimento de micro-organismos aeróbicos, impede a recontaminação após o cozimento e retarda a oxidação dos lípidos que causam os odores e sabores estranhos ao alimento. Entretanto, por se tratar de um produto embalado à vácuo, pode proporcionar um ambiente favorável para o crescimento de bactérias patogênicas formadoras de esporos, que podem crescer e produzir toxinas, podendo apresentar problemas à saúde do consumidor, se não for absolutamente controlado.

A maioria das pesquisas para elucidar as características físico-químicas e microbiológicas de alimentos submetidos à tecnologia *sous vide* foram realizadas em laboratório (NYATI, 2000; VAUDAGNA *et al.*, 2002; SZERMAN *et al.*, 2011; GARCÍA-SEGOVIA; ANDRÉS-BELLO; MARTÍNEZ-MONZÓ, 2007). A importância de um maior conhecimento desta tecnologia e suas repercussões podem não só garantir alimentos de qualidade superior, mas também gerar subsídios para otimizar o processamento dos mesmos. Desta forma, as características de bifes bovinos submetidos à tecnologia *sous vide* devem ser observadas visando o controle do processo, portanto, esta pesquisa tem como objetivo estudar a qualidade de bife bovino *in natura*, temperado e processado em escala de produção industrial por tecnologia *sous vide*, através de determinações físico-químicas, microbiológicas e sensoriais.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Carne bovina

A carne bovina é um alimento amplamente consumido no Brasil e no mundo. De acordo com o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE) (2010), no segundo trimestre de 2010, o abate de bovino teve aumento de 7,2% com relação ao trimestre imediatamente anterior e de 10 % com relação à igual período de 2009. Esses resultados mostram uma retomada do crescimento, após a forte retração do mercado iniciada no 3º trimestre de 2008. O número de cabeças abatidas retornou ao patamar dos 7,6 milhões, alcançado no período pré-crise financeira internacional.

Segundo a Associação Brasileira das Indústrias Exportadoras de Carne (ABIEC) o Brasil produziu 9.180 toneladas de carne bovina em 2009, ficando atrás apenas dos EUA (11.816 toneladas/ano). Em 2009, o consumo interno de carne bovina foi de 79%, o que equivale a 7,2 milhões de toneladas em equivalente carcaça e 37,4 kg/ano por pessoa (ABIEC, 2010), constituindo-se uma importante fonte proteica para a população.

Visto este crescimento na produção e consumo, o agronegócio foi se modificando e se especializando até chegar aos dias atuais, através de inovações, como uso de altas tecnologias, exigidas tanto pelo consumidor, que se tornou mais exigente, quanto por parte do produtor, que buscou melhorias nos processos de cria, recria e engorda do gado. Mudanças no mercado de carne bovina possibilitam ao consumidor encontrar um produto com maiores informações, sejam elas nutricionais, de procedência ou até mesmo quanto ao sexo do animal. Essas mudanças, no mercado, somam-se à tendência de as pessoas consumirem produtos mais naturais (MONTINI, 2005).

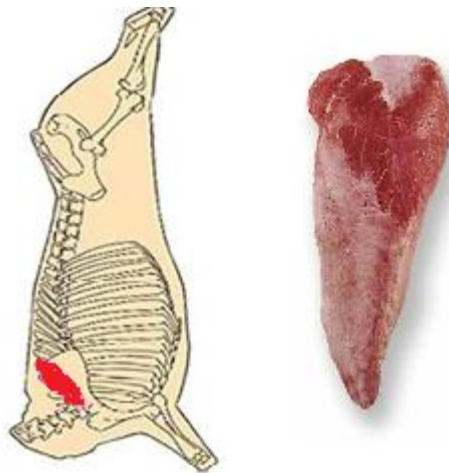
2.1.1. Músculo *Supraspinatus*

O quarto dianteiro é subdividido em duas peças: a paleta e o dianteiro sem paleta. No comércio retalhista, a paleta é subdividida em pá e músculo do dianteiro. A pá é retalhada em raquete, peixinho e coração da paleta (PARDI *et al.*, 1995; MAPA, 1988).

O corte peixinho (músculo *Supraspinatus*) (Figura 1), também chamado de coió, lagartinho-da-pá, lombinho, tatuzinho-da-paleta é constituído da massa muscular situada na porção anterior da espinha da escápula, chamada de fossa espinhosa, retirado da pá. O

peixinho é obtido pela separação do músculo inserido na fossa supra-espinhosa (CAIXETA, 1995; PARDI *et al.*, 1995, MAPA, 1988). O músculo *Supraspinatus* é comercialmente classificado como carne de segunda. São músculos com maior teor de colágeno e que requerem um método de cozimento apropriado para destacar as suas qualidades (GONÇALVES; LEMOS, 2005).

FIGURA 1 - Corte peixinho bovino



Fonte: (ABIEC, 2011)

No Brasil, os cortes de dianteiro são chamados popularmente de “carne de segunda”. O aproveitamento de tais cortes embalados a vácuo, cozidos e resfriados no abatedouro ou indústria de processamento poderia atender às necessidades de alimentação em hotéis, indústria/comércio, escolas e outros estabelecimentos institucionais, nos quais a carne bovina representa 60% do total de produtos cárneos consumidos (BLISKA *et al.*, 1998, apud GONÇALVES; OLIVEIRA; BARBIERO, 2002).

Silva, Contreras-Castillo e Ortega (2007) em pesquisa sobre efeito do cozimento na qualidade do músculo *Semitendinosus*, observaram que durante o cozimento da carne alcançando temperatura interna de 80°C ocorrem mudanças significativas nas proteínas miofibrilares e no tecido conectivo intramuscular. Em temperaturas de cozimento de 70 a 90°C ocorre um aumento do espaço extracelular que pode influenciar tanto na suculência como na maciez das amostras.

2.1.2. Composição química da carne

Os componentes majoritários da carne são água (65 a 80%), proteína (16 a 22%), gordura (1,5 a 13%) e cinzas. A composição da carne depende da espécie do animal, podendo variar amplamente, pois é dependente de diversos fatores, como idade, sexo, alimentação, corte da carne ou o músculo analisado (ORDÓÑEZ *et al.*, 2005b; IAL, 2008). Além disso, os processos de conservação, através de refrigeração e congelamento, bem como processamento térmico, podem alterar a composição química das carnes (ANDRADE *et al.*, 2004).

O valor nutritivo atribuído a carne se deve as proteínas e também ao fato de ser de grande qualidade biológica, visto que contêm todos os aminoácidos essenciais em porções bastante similares aquelas requeridas para o desenvolvimento dos tecidos humanos (ORDÓÑEZ *et al.*, 2005b). As diversas proteínas da carne são classificadas quanto a sua função em: miofibrilares (actina e miosina) correspondentes a aproximadamente 55% da proteína total, tecido conjuntivo (colágeno e elastina) correspondente aproximadamente a 15% da proteína total e o restante formado por proteínas do sistema muscular involuntário (coração e demais órgãos) (BOBBIO; BOBBIO, 1992).

O tecido conjuntivo, rico em colágeno, inicialmente se retrai quando aquecido, e, em seguida, quebra as pontes de hidroxiprolina atuando como articulações transversais entre moléculas de colágeno. Por conseguinte, estas moléculas adquirirão capacidade de hidratação e de mobilidade. A quantidade de tecido conjuntivo é talvez o fator que determina o tempo de cozimento da carne. O aquecimento provoca encurtamento e relaxamento do tecido conjuntivo que separa as fibras musculares, endomísio e perimísio e, como resultado, a carne amolece, melhora a elasticidade e as propriedades de mastigação. Além disso, aquecimento prolongado reduz a capacidade de retenção de água da carne devido à desnaturação progressiva de proteínas miofibrilares (MOLLINS, 2009).

Estudos mostram que procedimentos culinários envolvem transferência de calor e massa, além de reações químicas e físicas que podem causar profundas alterações na composição química dos alimentos (SHEARD; NUTE; CHAPPELL, 1998; TORNBERG, 2005; TACO, 2011). Desta forma, estudos vêm sendo realizados para caracterizar a composição de carne bovina, além de avaliarem os métodos de cocção, mostrando que o cozimento pode alterar os valores de umidade, proteína, gordura e cinzas dos alimentos (TACO, 2011). A Tabela 1 apresenta a composição centesimal de diversos cortes de carne bovina crua e cozida.

TABELA 1 - Composição centesimal de cortes de carne bovino cru e cozido por 100g de parte comestível

<i>Corte bovino</i>	<i>Umidade</i> %	<i>Proteína</i> (g)	<i>Lipídeo</i> (g)	<i>Carboi- drato</i> (g)	<i>Cinzas</i> (g)
Lagarto Cru	71	20,5	5,2	0,0	1,1
Lagarto Cozido	57,6	32,9	9,1	0,0	0,9
Paleta sem gordura crua	72,1	21,0	5,7	0,0	1,0
Paleta sem gordura cozida	62,9	29,7	7,4	0,0	0,8
Coxão mole s/ gordura cru	68,6	21,2	8,7	0,0	1,0
Coxão mole s/ gordura cozido	58,0	32,4	8,9	0,0	1,2
Coxão duro s/ gordura cru	69,8	21,5	6,2	0,0	1,1
Coxão duro s/ gordura cozido	58,5	31,9	8,9	0,0	0,9
Patinho s/ gordura cru	72,9	21,7	4,5	0,0	1,0
Patinho s/ gordura grelhado	55,2	35,9	7,3	0,0	1,3

Fonte: Tabela brasileira de composição de alimentos (TACO, 2011).

A carne é uma excelente fonte de zinco, ferro e cobre. Proporciona quantidades significativas de fósforo, potássio, magnésio e selênio (ORDÓÑEZ *et al.*, 2005b), sendo por isso um dos alimentos mais nutritivos utilizados na alimentação humana (ABERLE *et al.*, 2001). Segundo a Tabela de Composição de Alimentos (TACO) (2011), a composição mineral da carne bovina apresenta variações para carne crua, cozida e de acordo com o tipo de corte. Em 100g de parte comestível os minerais em maior concentração são o potássio, fósforo e sódio (Tabela 2).

Estudo sobre o teor de cobre e zinco em carnes cruas, processadas termicamente, resfriadas e congeladas no período de um mês, realizado por Andrade *et al.* (2004), foi verificado que houve uma influência do tipo do tecido das amostras de carnes estudadas, pois as perdas foram diferenciadas mesmo com aplicação havendo o mesmo processo de conservação e cocção. Mesmo com perdas no processamento térmico, e com a conservação em temperatura de congelamento durante o período de 4 semanas, o teor de cobre foi superior a 0,025mg/100g e o teor de zinco foi superior a 0,6mg/100g para as amostras de carnes bovinas.

TABELA 2 - Composição mineral de diversos cortes de carne bovina crua e cozida por 100g de parte comestível.

<i>Corte bovino</i>	<i>Ca</i> (mg)	<i>Mg</i> (mg)	<i>P</i> (mg)	<i>Fe</i> (mg)	<i>Na</i> (mg)	<i>K</i> (mg)	<i>Cu</i> (mg)	<i>Zn</i> (mg)
Lagarto Cru	3	20	185	1,3	54	362	0,05	2,4
Lagarto Cozido	4	13	167	1,9	48	254	0,05	7,0
Paleta sem gordura crua	4	14	158	1,8	65	250	0,08	3,7
Paleta com gordura cozida	6	18	197	2,2	58	250	0,10	6,8
Coxão mole s/ gordura cru	3	21	175	1,9	61	335	0,05	2,6
Coxão mole s/ gordura cozido	4	13	183	2,6	44	239	0,11	4,7
Coxão duro s/ gordura cru	3	21	189	1,9	49	358	0,05	2,8
Coxão duro s/ gordura cozido	4	14	189	1,7	41	252	0,07	5,0
Patinho s/ gordura cru	3	20	170	1,8	49	318	0,05	4,5
Patinho s/ gordura grelhado	5	27	289	3,0	60	421	0,12	8,1

Fonte: Tabela brasileira de composição de alimentos (TACO, 2011).

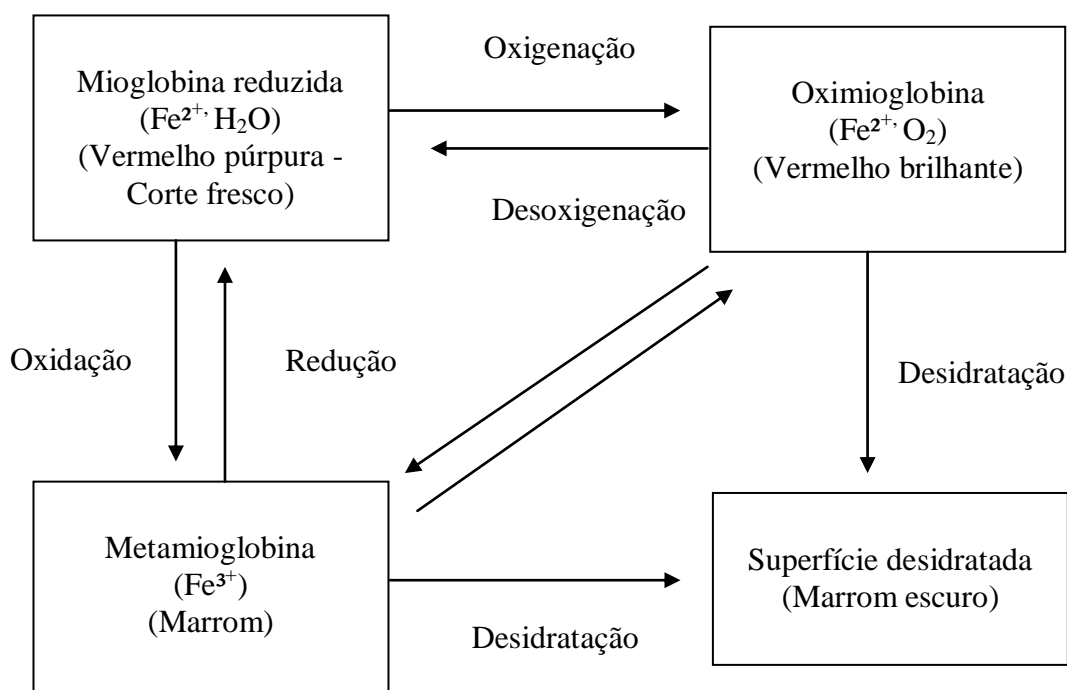
2.1.3. Aspectos sensoriais das carnes

A carne é considerada um dos alimentos de origem animal mais valorizado pelo consumidor, devido a suas características sensoriais e valor nutritivo (ORDÓÑEZ *et al.*, 2005b). Dos atributos de qualidade sensoriais da carne, a cor, a capacidade de retenção de água e um pouco de aroma são detectados tanto antes quanto após o cozimento (LAWRIE, 2005). O aspecto da carne fresca determina sua utilização para o comércio, sua atração para o consumidor e sua adaptabilidade para um futuro processamento. A cor é a primeira característica a ser observada pelo consumidor na compra (OSÓRIO; OSÓRIO; SAÑUDO, 2009). O consumidor espera ver nos alimentos, frescos ou processados, uma aparência natural que os torna atraente, em consequência de pigmentos naturais ou da adição de compostos sintéticos específicos (SARANTÓPOULOS; OLIVEIRA; CANAVESI, 2001).

A cor da carne pode ser associada ao tempo de armazenamento, à vida útil, à dureza e à suculência. Os dois pigmentos associados a cor da carne são a mioglobina (Mb) e a hemoglobina (Hb), duas proteínas de natureza e comportamento similares. Dependendo do estado químico do ferro da Mb, distinguem-se três formas básicas do pigmento: mioglobina propriamente dita (Fe^{2+}) que proporciona a carne cor vermelho púrpura (pouco apreciada pelo

consumidor), Mb oxigenada ou oximioglobina (compartilha elétrons com oxigênio muscular), que confere à carne cor vermelho-brilhante (a preferida pelo consumidor) e Mb oxidada ou metamioglobina (Fe^{3+}), que dá a carne cor parda (recusada pelo consumidor). Entre as três formas, estabelecem-se interações que permitem converter-se uma em outras até que, com o tempo, a Mb se oxida irreversivelmente. A cor apresentada pela carne depende, fundamentalmente, da quantidade total de Mb que contenha e do equilíbrio estabelecido nas camadas superficiais entre as três formas do pigmento (Figura 2) (ORDÓÑEZ *et al.*, 2005b).

FIGURA 2 – Ciclo da cor da carne



Fonte: Adaptado de Sarantópoulos, Oliveira e Canavesi (2001).

Segundo Pardi *et al.* (1995), o grupo heme constitui o verdadeiro pigmento responsável pela cor vermelha, ou vermelho cereja quando combinado com o oxigênio, requerendo, porém, neste caso, a participação da globina para fixar o O_2 . A mioglobina é a substância que dá a cor típica a carne, tem como principal característica o átomo de ferro no centro do grupo heme. A mioglobina, presente nas células dos tecidos atua como depósito temporário de O_2 .

O processo de cozimento provoca várias mudanças na aparência e nas propriedades físicas das carnes. Estas alterações incluem a descoloração das carnes, devido à oxidação de grupos de pigmentos heme. Com o tempo de cozimento, ocorre aumento da

perda do teor de pigmentos vermelhos e aumento da intensidade do vermelho-acastanhado. Um aumento na temperatura de cozimento significa uma redução do teor de vermelho (GARCÍA-SEGOVIA; ANDRÉS-BELLO; MARTÍNEZ-MONZÓ, 2007).

O aquecimento da carne resulta em escurecimento pela reação de Maillard e pelas transformações químicas da mioglobina que é o pigmento vermelho da carne (BOBBIO; BOBBIO, 1992). Participam ainda da tonalidade castanha das carnes cozidas os produtos resultantes da caramelização dos açúcares e da reação do tipo não-enzimática (Maillard) (ORDÓÑEZ *et al.*, 2005b; FOX, 1994).

Outro aspecto relacionado a qualidade da carne é o aroma. Existem variações no aroma da carne crua que estão relacionadas ao sexo, idade e espécie do animal em questão. O aroma da carne cozida é afetado pelo método de cozimento e os possíveis tratamentos aos quais a carne foi submetida antes de ser processada, tais como: adição de temperos e amaciamento. Com o aquecimento, ocorre a reação de “Maillard”, que envolve aminoácidos e açúcares redutores existentes na carne, além da degradação térmica dos lipídios (SILVA, 2004). Com o aquecimento da carne pode ocorrer alterações nas gorduras que resultam na formação de aromas particulares para cada tipo de carne (BOBBIO; BOBBIO, 1992).

De todas as características da carne, a textura é um dos principais fatores que orientam a aceitação de um produto. Desse modo, ela tem sido muito estudada por vários cientistas (CASTILLO, 2006). O consumidor utiliza os atributos de textura para determinar a qualidade e a aceitabilidade da carne. A melhor qualidade é expressa em termos de maior maciez e maior suculência (BORGES *et al.*, 2006). Quando uma carne é submetida a processo de cozimento, sua textura é afetada pelas alterações estruturais das fibras das proteínas miofibrilares, alteração do pH e capacidade de retenção de água, liquefação e redistribuição da gordura e alteração do tecido conectivo. Todas essas alterações que afetam a qualidade da carne processada estão também ligadas à espécie do animal, sua alimentação, idade e sexo, bem como ao estado físico (maior ou menor teor de glicogênio) antes do abate (BOBBIO; BOBBIO, 1992).

O tratamento térmico pode diminuir ou aumentar a dureza da carne, dependendo de diversos fatores, como a temperatura alcançada e a porção cárnea. Em geral a cocção determina amolecimento ao converter o colágeno em gelatina, mas determina também a coagulação e o endurecimento das proteínas miofibrilares, os dois efeitos dependem do tempo e da temperatura de tratamento. Para o amolecimento do colágeno, o tempo é mais importante, enquanto, para o endurecimento das miofibrilas, a temperatura é o fator mais

crítico. Se a temperatura da carne se mantém dentro da margem de 57 a 60°C durante certo tempo, é possível amolecer o tecido conjuntivo sem endurecer as proteínas miofibrilares. Por essa razão, quando a carne é rica em tecido conectivo, aconselham-se tempos de cozimento prolongados e temperaturas baixas ou inverso (ORDÓÑEZ *et al.*, 2005b).

2.1.4. Micro-organismos contaminantes de carnes

A carne fresca é um produto altamente perecível, devido a sua composição química e elevada atividade de água (ORDÓÑEZ *et al.*, 2005b), possuindo nutrientes necessários para o crescimento de micro-organismos deteriorantes e patogênicos (JAY, 2005).

As carnes podem sofrer contaminação por bactérias deteriorantes como as dos gêneros *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Moraxella*, *Clostridium*, *Lactobacillus*, *Micrococcus*, *Proteus*, *Enterobacter* e outras (CASTILLO, 2006) e patogênicas como *Bacillus*, *Clostridium*, *Listeria*, *Salmonella*, *Camphylobacter*, *Staphylococcus* e outras (JAY, 2005).

Em geral, a microbiota das carnes reflete os micro-organismos do abate e de suas etapas de processamento. As principais fontes de contaminação de carnes frescas por micro-organismos são a pele do animal, o trato intestinal, mãos de manipuladores, ambiente de manuseio e armazenamento, equipamentos e utensílios (JAY, 2005).

O animal vivo carrega bactérias patogênicas, enquanto o ambiente de processamento os abriga. O homem é uma importante fonte de agentes patogênicos de bactérias, mais frequentemente por contaminação cruzada. Limitar a contaminação e posterior ocorrência de bactérias patogênicas será decisivo para o segurança dos produtos (BORCH; ARINDER, 2002).

Quando o animal é sacrificado e a carne fica exposta à contaminação por diversos micro-organismos deteriorantes, pode apresentar risco da presença de patógenos, o que resulta em uma vida útil reduzida (ORDÓÑEZ *et al.*, 2005b). As bactérias provenientes do animal podem, durante o abate, contaminar a carcaça e, posteriormente, serem distribuídas através de pedaços de carne destinados à transformação de outros produtos cárneos (BORCH; ARINDER, 2002).

2. 2. Refeições coletivas e inovações tecnológicas

Um dos fatores fundamentais para entender o consumo de alimento é o ritmo da vida urbana, que gerou grandes transformações na vida privada das pessoas. As mudanças no consumo de alimentação podem ser observadas a partir da década de 1970, quando a mulher passa a ter uma atividade extra-domiciliar, o que gera mudança, tanto na relação dela com sua casa, com sua família, como com a sociedade. A entrada da mulher no mercado de trabalho deu plenas condições de crescimento ao comércio de refeições prontas, aliadas a comodidade e falta de tempo, tornaram-se cada vez mais freqüentes as refeições fora do lar (ORTIGOZA, 2008).

Durante a história da alimentação humana, esteve presente a necessidade de aumentar a produção e a disponibilidade dos alimentos. Hoje os alimentos estão disponíveis em maior volume e diversidade. Os consumidores estão cada vez mais preocupados com atributos de qualidade do alimento e dos serviços de alimentação. Desta forma, os consumidores procuram informações nutricionais, a quantidade adequada, frequência de consumo, entre outros aspectos. A qualidade dos serviços de alimentação também é um aspecto considerado essencial para acesso à segurança alimentar e nutricional. Na comercialização dos alimentos, em restaurantes e hipermercados, há uma ampla oferta de produtos, marcas, lançamentos, serviços e os consumidores têm dificuldade para selecionar criteriosamente os produtos a serem adquiridos. O aumento da alimentação fora do domicílio é decorrente das constantes mudanças profissionais, culturais, econômicas, entre outras (LEAL, 2010).

O aumento da competitividade entre as empresas tem feito com que o setor de Alimentação Coletiva, em nível mundial, experimentasse mudanças significativas. Neste setor, identificam-se aspectos de qualidade, voltados tanto às questões de higiene e sanidade dos alimentos e preparações, quanto ao atendimento de normas que regem o preparo e distribuição de alimentos (PROENÇA, 1999).

O mercado que supre a demanda por alimentação fora do domicílio tem uma participação significativa e crescente no setor alimentício e na geração de empregos diretos e indiretos, principalmente nos grandes centros urbanos e, portanto, demanda atenção redobrada dos diversos segmentos da sociedade (LEAL, 2010).

Segundo a Associação Brasileira das Empresas de Refeições Coletivas (ABERC) (2012) no Ceará existem pelo menos três empresas de refeições coletivas associadas. No

Brasil, a importância econômica do mercado de refeições coletivas pode ser expressa na geração de 190 mil empregos diretos, no fornecimento de 11,2 milhões de refeições/dia e na movimentação financeira mediante comercialização das refeições, gerando uma cifra superior a 15,1 bilhões de reais por ano. O mercado potencial teórico de refeições está estimado em 24 milhões/dia para empregados de empresas, e em 17 milhões nas escolas, hospitais e Forças Armadas. Estes dados representam a constante expansão e competitividade do setor de refeições coletivas.

Na busca de aumentos expressivos de qualidade e produtividade, nos Estados Unidos da América e em vários países da Europa Ocidental têm sido desenvolvidos e implantados novos processos tecnológicos de produção para o setor de Alimentação Coletiva. A implantação das principais inovações no setor de Alimentação Coletiva teve origem na França, a partir dos processos denominados cadeia fria e cozinha de montagem, com a utilização de alimentos pré-elaborados, ambos produzidos com equipamentos que aportam novas técnicas de cocção e acondicionamento. Estas inovações tecnológicas, após serem testadas e implantadas nos países desenvolvidos, começam a serem transferidas para os novos países industrializados, no caso, o Brasil (PROENÇA, 1999).

Nas últimas décadas, tornou-se necessário fornecer refeições de um modo cada vez mais rápido e eficiente, o que levou à criação de sistemas de produção de alimentos capazes de ir ao encontro dessas novas realidades (CASTANHEIRA, 2009). No modo tradicional de produção de alimentos, as refeições são preparadas no mesmo dia e local em que são consumidas. Neste tipo de processo produtivo, comumente utiliza-se uma grande quantidade de alimentos *in natura*, com curto período de validade (ALVES, 2005).

As inovações tecnológicas para a produção de alimentação coletiva envolvem novos equipamentos (um diferencial principalmente com relação à transmissão de calor, através de aparelhos de cocção e resfriamento), produtos alimentícios (permite uma elaboração prévia dos mesmos, facilitando o preparo e aumentando o prazo de validade) e os processos produtivos (produção a partir de alimentos pré-elaborados). Estes aspectos trazem impactos significativos nos custos totais, bem como a utilização do processo de cadeia fria, que permite a dissociação temporal e espacial entre preparo e distribuição (PROENÇA, 1999).

Segundo Proença (2000), as Unidades de Alimentação e Nutrição seguem para modificações do processo tradicional, com a utilização de novas tecnologias para antecipar as necessidades dos clientes. Entre as tendências do setor de alimentação coletiva estão o

fornecimento de serviços mais rápidos, com a utilização de gêneros pré-preparados, os quais são apenas finalizados no local.

Os alimentos prontos para consumo (frescos e transformados), que são preservados apenas por técnicas relativamente leves, vêm apresentando uma crescente popularidade. A fim de controlar o crescimento de micro-organismos e a intoxicação alimentar, a tecnologia dos obstáculos estabelece um conjunto de fatores de conservação (embalagem de atmosfera modificada, refrigeração), que adequadamente pode garantir a segurança do produto. Além de tornar os alimentos estáveis e seguros, o conceito de tecnologia de obstáculos também pode contribuir para melhorar ou alterar a qualidade sensorial ou qualidade total dos alimentos para cumprir com as expectativas dos consumidores (GORRIS, 1995).

Nos últimos 30 anos, foram desenvolvidos vários tipos de processamento de alimentos, tais como *cook-freeze*, *cook-chill* e o *sous-vide*, para superar os problemas da escassez de mão de obra qualificada e a necessidade de reduzir custos operacionais (LIGHT; WALKER, 1990, apud CREED, 2001). Desta forma, existe uma crescente necessidade de variedade de produtos de alta qualidade pré-cozidos para racionalizar o trabalho na cozinha doméstica e profissional. Como os custos de trabalho no serviços de alimentação é, em muitos casos mais de 50% dos custos totais, existe uma necessidade para o desenvolvimento de tecnologia que pode diminuir os custos de trabalho, sem afetar a qualidade, variedade e flexibilidade. Os produtos pré-cozidos se encaixam muito bem nesta evolução de mercado. Os produtos *cook-chill* são bem conhecidos, uma vez que os requisitos tecnológicos são muito semelhantes aos da cozinha tradicional. Embora a tecnologia *sous vide* tenha muitas vantagens sobre o tradicional *cook-chill*, a aceitação é inferior devido ao fato de que a técnica requer reformulação de receitas, equipamento novo e um padrão de higiene muito elevado (MARTENS; SCHELLEKENS, 1995).

O sistema *cook-chill* faz uso da técnica tradicional para cozinhar alimentos (XIE, 2000), sendo similar nas etapas de preparo e cocção (HILL, 1994). As refeições são produzidas em uma cozinha central, transportadas para cozinhas satélite e servidas em refeitórios. O método de produção destas refeições é baseado na preparação prévia do alimento, porcionamento logo após o cozimento, refrigeração em condições de temperatura controladas e armazenamento sob refrigeração, seguido de reaquecimento antes da distribuição e consumo (KINTON; CESERANI; FOSHETT, 1998). O *cook-freeze* usa um sistema de produção similar ao usado no sistema *cook-chill*. Difere por congelar o alimento a

-18°C que garante o seu armazenamento por seis meses, enquanto que o sistema *cook-chill* garante o armazenamento do produto sob refrigeração por dias (KAWASAKI, 2003). Segundo Castanheira (2009), por ser um sistema que requer manipulação, o tempo que decorre entre a produção e o consumo pode criar oportunidades para o crescimento microbiológico.

Alimentos preparados através do sistema *cook-chill* e *cook-freeze* necessitam de reaquecimento antes de serem servidas. Para o reaquecimento são necessários equipamentos específicos para garantir um produto satisfatório. Atualmente são indicados os fornos combinados para grandes quantidades e os fornos de microondas para as pequenas quantidades, que permitem que os alimentos sejam uniformemente aquecidos a temperaturas seguras, sem que haja ressecamento da superfície (KAWASAKI, 2003).

As refeições prontas como o *sous vide* pode proporcionar oportunidades para satisfazer muitos grupos de consumidores com relação a aspectos nutricionais, conveniência, sensorial e aspectos de segurança. No entanto, quando se trata de novas tecnologias, torna-se necessário algum cuidado para evitar conservadorismo do consumidor em relação à tecnologia nova (CREED, 2001).

2.3. Tecnologia *sous vide*

De acordo com Tucker (2004), para agregar valor a um produto existente é necessário fazer melhorias nos métodos de processamento e embalagem, aperfeiçoar o processo para fabricar o mesmo produto, com maior qualidade.

Vários métodos de conservação vêm sendo usados com o objetivo de melhorar e/ou manter a qualidade dos produtos alimentícios (ABERLE *et al.*, 2001). Segundo Molins (2009), a aplicação de tratamentos térmicos é o mais difundido na conservação de alimentos. O tratamento de esterilização tem permitido aparecimento de conservas de refeições prontas, cozidas a partir de receitas tradicionais, com uma maior vida de prateleira, sem refrigeração. Entretanto, este é um tratamento muito agressivo às propriedades nutricionais e sensoriais, causando a rejeição dos consumidores. Por outro lado, a pasteurização permite manter o frescor dos pratos preparados e obter os odores e sabores semelhantes aos alimentos frescos cozidos, reduzindo os danos térmicos aos nutrientes. Segundo Sarantópoulos, Oliveira e Canavesi (2001), quando o alimento é aquecido a temperaturas superiores a 100°C, os

aminoácidos começam a interagir gradualmente, alguns deles perdem seu valor nutricional ou são destruídos a estas temperaturas.

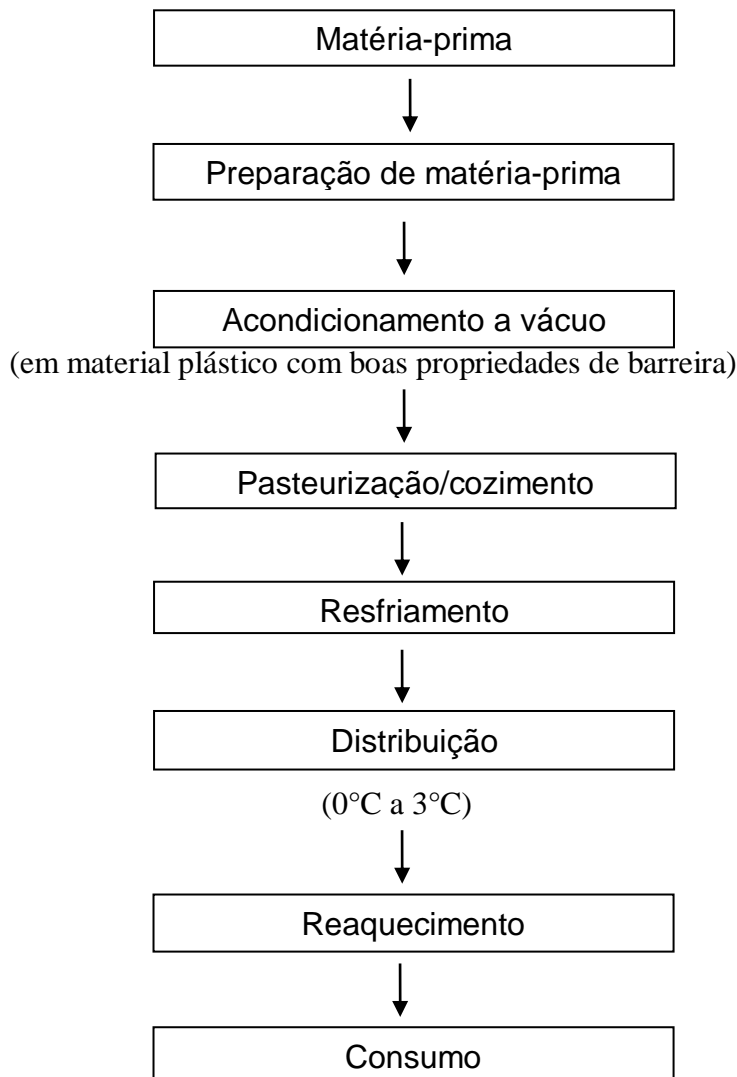
Poucas tecnologias modernas de processamento de carnes tiveram tanto impacto na indústria como a tecnologia de cozimento dentro de embalagem plástica ou termoformada, ou seja, a tecnologia *cook-in*. Dentre as vantagens do sistema está a redução na contaminação microbiana, visto que o produto não é exposto a micro-organismos após o cozimento, maior rendimento e retenção de líquidos, proporcionando melhor qualidade sensorial e nutricional (SARANTÓPOULOS; OLIVEIRA; CANAVESI, 2001).

A técnica culinária *sous vide* foi desenvolvido por George Pralus no final de 1960, na França (MOLINS, 2009; CREA, 2000, *apud* RAMOS, 2004). É similar à tecnologia *cook-in*, mas recebe denominação própria, visando ser associada à produção de pratos prontos especiais, preferencialmente a base de carnes vermelhas, aves e pescado (SARANTÓPOULOS; OLIVEIRA; CANAVESI, 2001). Consiste basicamente em um processo de cozinhar alimentos embalados à vácuo (ORDÓÑEZ *et al.*, 2005a), proporcionando o preparo de alimentos com um cozimento mínimo em temperatura baixa (TEWARI; JUNEJA; SNYDER, 2007; GHAZALA *et al.*, 1995). Sua vantagem quando comparado aos métodos de cozimento tradicionais é que os alimentos são cozidos em seu próprio suco (ORDÓÑEZ *et al.*, 2005a), tendo como resultado um alimento com um melhor sabor, cor, textura e retenção de nutrientes (CREED, 1995). A preservação desses alimentos é alcançada pela combinação de embalagem a vácuo, cozimento leve, resfriamento rápido e armazenamento refrigerado (BOLTON *et al.*, 2000).

Diferentes etapas são envolvidas na operação de preparo dos alimentos submetidos a tecnologia *sous vide* (Figura 3). Os ingredientes a serem cozidos são primeiramente preparados, podendo então ser marinados, aparados, aromatizados e /ou grelhados (TEWARI; JUNEJA; SNYDER, 2007). Posteriormente, a matéria-prima ou refeições prontas são embaladas a vácuo, em sacos estáveis ao calor, cozidos usando combinações de temperaturas moderadas (65-90°C), por longos períodos (2-8 horas), resfriados rapidamente (3°C no centro do produto em 90 min) e armazenado sob refrigeração (0-3°C) (MOLINS, 2009). O cozimento do produto através da tecnologia *sous vide* pode ser feita em água aquecida ou em forma de vapor (SARANTÓPOULOS; OLIVEIRA; CANAVESI, 2001). Como consequência deste processo, obtendo-se a redução da perda de água durante o cozimento, preservando a qualidade sensorial e nutricional dos alimentos e aumentando a vida útil do produto em relação a outros métodos de cozimento e de

resfriamento (MOLINS, 2009). Além disso, a embalagem à vácuo reduz a exsudação de líquidos e oferece conveniência pela possibilidade de reaquecimento do produto na própria embalagem (SARANTÓPOULOS; OLIVEIRA; CANAVESI, 2001).

FIGURA 3 - Diagrama de fluxo do cozimento *sous vide* ou à vácuo (ORDÓÑEZ *et al.*, 2005a).



Em estudo comparativo do cozimento tradicional e o cozimento *sous vide* de salmão e truta, García-Linares *et al.* (2004) verificaram que se o peixe é cozido de forma tradicional, seu teor de proteínas é maior e tem menos gordura e cinzas em comparação com o *sous vide*.

Machado (2011) estudou o efeito do cozimento de polvo em embalagem à vácuo e cozimento em água sem embalagem. Observou que o teor de cinzas foi maior no cozimento que fez uso de embalagem à vácuo. Com relação à gordura não houve diferença significativa entre os cozimentos. Para o teor de umidade o cozimento sem embalagem indicou menor valor de umidade e maior média em relação aos valores de proteína. Segundo a autora, este comportamento pode ser explicado pela expressiva perda de água sofrida pelas amostras do tratamento controle quando comparado com os demais tratamentos que usam cozimento à vácuo, tendo em vista a não utilização de embalagens, fazendo, portanto, com que o conteúdo aquoso fosse perdido, concentrando alguns componentes, como a proteína.

Segundo Gonçalves e Lemos (2005), o cozimento de carne dentro da embalagem, retém o exsudado, podendo ser utilizado como base na rápida preparação de molhos para a complementação de pratos, minimizando a sensação de perda de suculência nos tratamentos mais severos. Estas condições agregam valor e conveniência ao corte cozido por meio de uma tecnologia simplificada e que poderia ser utilizada em pequenos abatedouros ou indústrias de processamento.

Devido ao uso de embalagem a vácuo e o fato desta manter-se fechada até o produto acabado ser servido, a chance de contaminação cruzada é bastante remota (TEWARI; JUNEJA; SNYDER, 2007). No entanto, segundo Nyati (2000), qualquer vazamento na embalagem pode permitir a contaminação pós-processamento térmico com patógenos. As embalagens devem ser cuidadosamente verificadas quanto à existência de vazamentos, para evitar a contaminação pós-processo e conseqüente redução da vida útil e a segurança do produto.

Os requisitos básicos que uma embalagem *sous vide* deve atender é ser termosselável, oferecendo um fechamento que resista a abusos durante o processamento e a comercialização, protegendo o alimento de recontaminação. Além de ser resistente as temperaturas de pasteurização/cozimento e refrigeração, a embalagem deve resistir a abusos mecânicos e apresentar certa barreira ao oxigênio e ao vapor d'água (SARANTÓPOULOS; OLIVEIRA; CANAVESI, 2001).

Os produtos *sous vide* são formulados com pouco ou nenhum conservante, não sendo considerados comercialmente estéril, pois o conteúdo desses produtos passam por tratamento térmico mínimo, devendo ser mantidos refrigerados (ICMSF, 1998, *apud* TEWARI; JUNEJA; SNYDER, 2007; FDA, 2001a). Desta forma, é importante não negligenciar a segurança e tratamento térmico, usando o equivalente a pasteurização para

assegurar a conservação, durante armazenagem a longo prazo. Por conseguinte, é essencial estabelecer uma relação tempo/temperatura ideal para atingir um equilíbrio entre segurança, qualidade sensorial e nutricional das refeições preparadas (MOLINS, 2009).

Espera-se que quanto maior o tempo ou temperatura de aquecimento dos alimentos, maior o efeito de morte dos micro-organismos pelo calor. Existe uma relação entre a resistência dos micro-organismos ao calor e suas ótimas temperaturas de crescimento. Em geral, os micro-organismos psicrófilos são mais sensíveis ao calor, seguidos por mesófilos e termófilos. As bactérias formadoras de esporos são mais resistentes ao calor que as bactérias não formadoras, e os bolores e leveduras tendem a ser razoavelmente sensíveis ao calor (JAY, 2005). Desta forma, é um desafio manter o equilíbrio entre uma vida de prateleira longa e a segurança microbiológica do produto (GARCÍA-LINARES *et al.*, 2004).

Deve haver um rígido controle da temperatura na distribuição e estocagem destes produtos. A refrigeração abaixo de 3°C é uma segurança contra riscos de saúde pública (SARANTÓPOULOS; OLIVEIRA; CANAVESI, 2001).

A segurança alimentar constitui-se num fator importante a ser considerado no tratamento de produtos elaborados industrialmente (SILVA; CONTRERAS-CASTILLO; ORTEGA, 2007).

2.3.1. Segurança microbiológica de alimentos *sous vide*

A segurança microbiológica de alimentos processados termicamente depende da garantia de que agentes patogênicos, de origem alimentar, que possam estar presentes nos alimentos, sejam eliminados durante o tratamento térmico (JUNEJA; MARKS, 2003). A etapa mais importante na produção de produtos prontos para consumo é o processo de aquecimento para a inativação de patógenos (TEWARI; JUNEJA; SNYDER, 2007).

O segmento de refeições coletivas, além do papel que representa na economia, corresponde pela sua parcela de responsabilidade na saúde pública, à medida que pode afetar a saúde e o bem estar das pessoas com a qualidade do alimento que produz (KAWASAKI, 2003). Quando se trata de alimentos elaborados industrialmente, a segurança alimentar constitui-se um fator importante no tratamento destes produtos (SILVA; CONTRERAS-CASTILLO; ORTEGA, 2007).

Os produtos *sous vide* vêm sendo cada vez mais empregados em restaurantes, para aumentar a conservação e prolongar a vida de prateleira, aliados a refrigeração (ORDÓÑEZ *et*

al., 2005a). A combinação de calor com tecnologia de obstáculos tem enorme potencial para melhorar a margem de segurança de alimentos *sous vide* (TEWARI; JUNEJA; SNYDER, 2007). A segurança microbiológica dos produtos *sous vide* pode ser determinada pela intensidade e duração do tratamento térmico, além da temperatura alcançada na rapidez do resfriamento e do controle no armazenamento refrigerado (GARCIA-LINARES *et al.*, 2004). A qualidade microbiológica da matéria-prima é um fator essencial para assegurar a segurança dos produtos *sous vide*, pois a sobrevivência de patógenos durante o processamento térmico é dependente da carga microbiana inicial. Portanto, *sous vide* pode ser utilizado com segurança se existem uma adequada higiene e manipulação dos alimentos (NYATI, 2000; SEBASTIÁ *et al.*, 2010).

Os tratamentos térmicos utilizados no cozimento *sous vide* são capazes de eliminar as bactérias patogênicas que podem crescer durante o armazenamento em anaerobiose (embalagem a vácuo) e refrigeração (KRAMER, 1988, *apud* MOLINS, 2009). Silva, Contreras-Castillo e Ortega (2007), avaliando a efetividade do processo de pasteurização no tratamento de músculo *Semintendinosus* a uma temperatura de 80 °C, tanto em água quanto em vapor, utilizando embalagens tipo *cook-in*, observaram que as reduções decimais alcançadas foram consideradas compatíveis com o desejado para um processo de pasteurização. Os tratamentos térmicos empregados foram eficazes, uma vez que a menor redução decimal alcançada foi de 8,33 ciclos logarítmicos no aquecimento com vapor, o que caracterizou um processamento térmico adequado para o *Semintendinosus* sob o ponto de vista de inocuidade do produto com relação ao microrganismo *Clostridium botulinum* tipo E.

A embalagem à vácuo do produto *sous vide* inibe o crescimento de microorganismos aeróbios, sejam eles deteriorantes ou patogênicos, evita a recontaminação após o cozimento e diminui a oxidação de lipídios (MOLINS, 2009; ORDÓÑEZ *et al.*, 2005a). No entanto, as preocupações quanto à segurança microbiológica e conservação desses produtos são justificadas devido ao fatos dessas embalagens proporcionar um ambiente favorável para patógenos anaeróbios como *C. Botulinum*, que podem crescer e produzir toxina (ICMSF, 1998, *apud* TEWARI; JUNEJA; TANSEY *et al.*, 2005) podendo representar sérios problemas à saúde do consumidor, se não for absolutamente controlado. Estas condições favorecem a esporulação de bactérias patogênicas. Os esporos são estruturas de resistência das bactérias, podendo suportar condições adversas como congelamento e exposição a altas temperaturas. Uma vez formados, permanecem em estado de dormência e, ao contrário das células vegetativas, não apresentam atividades metabólicas e não se multiplicam. Entretanto, em

condições favoráveis, podem germinar e dar origem a novas células vegetativas que podem produzir toxinas (SILVA *et al.*, 2007).

A maioria das pesquisas sobre pratos *sous vide* à base de carne têm estudado os micro-organismos patogênicos e possíveis estratégias para controlar o seu crescimento (DÍAZ *et al.*, 2008). Vários estudos mencionam a resistência dos esporos e seus potenciais riscos microbiológicos. Os micro-organismos mais relatados em pesquisas sobre *sous vide* são os psicrotróficos esporulados como *Clostridium botulinum*, *Clostridium perfringens* e *B. Cereus*. A grande preocupação é devido à capacidade desses micro-organismos sobreviver a um tratamento térmico brando e seu posterior crescimento durante o armazenamento refrigerado (BORCH; ARINDER, 2002).

Segundo Jay (2005), em produtos *sous vide*, a maioria, se não todas as células vegetativas, são destruída pela ação do calor, mas os esporos bacterianos sobrevivem. Consequentemente, o *sous vide* é um produto que contém esporos bacterianos em um ambiente com reduzida concentração de oxigênio, no qual não há micro-organismos competidores. Desta forma, em alimentos pouco ácidos, como carnes, aves e frutos do mar, esporos de *C. Botulinum* podem germinar, crescer e produzir toxinas.

As células vegetativas de *C. perfringens* são destruídas pelo calor durante a produção de alimentos, enquanto os esporos podem sobreviver e ser ativado pelo calor durante o processo de cozimento. Se esses alimentos não forem devidamente resfriados e armazenados sob refrigeração adequada, os esporos ativados pelo calor podem germinar (MIGUEL-GARCIA *et al.*, 2009).

O *Clostridium botulinum* é o agente causador do botulismo, uma intoxicação alimentar grave. Esta bactéria anaeróbica formadoras de esporos, produz uma neurotoxina muito potente. Desta forma alimentos mantidos em condições anaeróbicas merecem preocupação (FDA, 2001a). No aspecto de segurança a tradicional preocupação com relação a este micro-organismos é que na elaboração de alimento *sous vide* aplica-se tratamento térmico brando, em conjunto com embalagem a vácuo e armazenamento, por longos períodos, sob refrigeração, podendo representar um risco para a sobrevivência e o crescimento de *Clostridium botulinum* e produção de toxinas (TANSEY *et al.*, 2005; BETTS; GAZE, 1995). Esse micro-organismo pode produzir a toxina dentro de 31 dias a 3,3 °C e 2 dias a 8°C, no entanto, é relativamente sensíveis ao calor e podem ser destruídos através de um adequado tratamento térmico (BETTS; GAZE, 1995).

Alimentos contaminados com *Bacillus cereus* podem causar intoxicação, quando são preparados e mantidos sem refrigeração adequada, durante várias horas antes de servir (FDA, 2001b). *Bacillus cereus* são bactérias anaeróbias facultativas, capazes de crescer em temperatura mínima de 4°C. Os alimentos mais frequentemente implicados em surtos são produtos cozidos ou contendo ingredientes cozidos, particularmente os ricos em amido ou proteínas. O cozimento ativa os esporos e, se a refrigeração não for adequada, esses esporos podem germinar e produzir toxinas (SILVA *et al.*, 2007).

A preocupação com a *Listeria monocytogenes* é devido ao fato deste micro-organismo crescer em temperaturas entre 1°C e 45°C e pH de 4,1 a 9,6, o que faz pressupor que ela sobreviva em alimentos por longos períodos de tempo (JAY, 2005). A preocupação aumenta em produtos muito manipulados como os *sous vide* (BORCH; ARINDER, 2002).

Em um estudo sobre a caracterização do valor-D para *Salmonella* spp., Juneja e Marks (2003) sugerem que a resistência térmica de *Salmonella* spp. é afetada pela taxa de cozimento e que as condições ambientais antes do tratamento térmico podem influenciar a resistência de *Salmonella* spp ao calor. Confirmam que uma variação na taxa de aquecimento em carne cozida pelo método *sous vide* inoculada com *Salmonella* pode resultar em mudanças significativas na capacidade das células em sobreviver a um tratamento térmico na temperatura desejada. Segundo os autores, quando um alimento é exposto à temperatura ambiente e submetido a cozimento lento pelo método *sous vide*, onde a temperatura é mudada lentamente, as cepas de *Salmonella* tornaram-se mais termotolerantes ao calor.

Estudos indicam que a qualidade microbiológica de carne cozida pode ser assegurada por pasteurização. Alguns micro-organismos patogênicos psicrotrófico não esporulação como *Listeria monocytogenes*, *Salmonella* spp e *Escherichia coli* O157: H7 podem proliferar neste tipo de alimento, embora possam ser inativado por aquecimento moderado (SUTHERLAND; PORRIT, 1997, *apud* DÍAZ *et al.*, 2008). Segundo Díaz *et al.* (2008), a tecnologia *sous vide* assegura a qualidade microbiológica de pratos a base de carne durante longos períodos de armazenamento refrigerados. A temperatura de cozimento de 70°C por 12h é efetiva na pasteurização de cortes embalados a vácuo. Isto concorda com outros estudos sobre refeições *sous vide* a base de carne. A vida útil de produtos a base de carne *sous vide* foi estabelecida entre 4 a 7 semanas, dependendo do produto e condições de processamento (NYATI, 2000; WANG; CHANG; CHEN, 2004).

GALIMPIN-JOHAN *et al.* (2007), examinando carne bovina em três condições de processamento (cozimento convencional, *sous vide* a 70 e 85°C) durante o armazenamento,

observaram que nenhum crescimento microbiano foi detectado para contagem de anaeróbios mesófilos totais, *C. perfringens*, *Salmonella* sp., *S. aureus* e coliformes totais para cozimento convencional, cozimento *sous vide* a 70 e 85°C, armazenados sob refrigeração a 2°C e *sous vide* a 70 e 85°C, armazenados sob refrigeração a 10°C. No entanto, foi observado crescimento de *B. cereus* e *L. Monocytogenes* durante os 35 dias de armazenamento a 10°C no alimento cozimento convencionalmente. O crescimento microbiano foi limitado a 3 log UFC/g para ambos os micro-organismos. Apenas amostras de *sous vide* processadas a 70 e 85°C foi microbiologicamente estável a 10°C. Os produtos processados através do cozimento convencional armazenados a 10°C tiveram uma vida útil máxima de 21 dias com base no crescimento de micro-organismos.

A Resolução de Diretoria Colegiada RDC N°12 de 2 de janeiro de 2001 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) (BRASIL, 2001), que estabelecer os Padrões Microbiológicos Sanitários para Alimentos, não especifica nenhum padrão para produtos que se aplica tecnologia *sous vide*.

2.3.2. Aspectos sensoriais de alimentos *sous vide*

A atenção aos alimentos *sous vide* tem se concentrado nos riscos e nas medidas necessárias para assegurar a segurança desses produtos. Contudo, pesquisas tem mostrado que este método promove uma melhoria das qualidades sensoriais e nutricionais dos alimentos quando comparados com aqueles produzidos por métodos convencionais (CREED, 1995).

No método de cozimento *sous vide*, sabores e aromas são concentrados no alimentos. Neste tipo de cozimento, a maciez da carne depende da temperatura de cozimento atingida. Entre 45 e 60°C a dureza é reforçada pela ação das catepsinas (proteases). Para obter um efeito apreciável, esta temperatura deve ser mantida por longo tempo. Entre 64 e 72°C a carne se torna mais dura. Este endurecimento é devido à desnaturação de proteínas, o encurtamento das fibras musculares e tecido conjuntivo, e a perda de água que acompanha os processos anteriores. A exsudação de água diminui a maciez da carne. Quando embalada a vácuo, estes exsudados são retidos dentro da embalagem. Ao comparar as receitas *sous vide* e refeições convencionais, menos intensificadores de sabor e aditivos são usados em refeições cozidas à vácuo, uma vez que os sabores naturais são retidos em um grau mais elevado do que no cozimento convencional (MARTENS; SCHELLEKENS, 1995).

Church e Parsons (2000) compararam os efeitos da tecnologia *sous vide* e do cozimento sem embalagem a vácuo sobre as características sensoriais de peito de frango e de batatas cortadas em creme. Observaram que o cozimento *sous vide*, aumentou a intensidade do sabor de ambos os produtos em comparação com produtos recém cozidos não embalados à vácuo. Concluíram ainda que o tratamento térmico *sous vide* em frango evitou a perda de água durante o cozimento, resultando em um alimento mais saboroso e suculento.

Outros estudos referem-se ao armazenamento de produtos *sous vide* sob-refrigeração e seu efeito sobre a qualidade sensorial destes produtos. Armstrong e Mcilveen (2000) verificaram que o atributo fundamental que determina a aceitação do consumidor no armazenamento de pratos *sous vide* a base de carne é a aparência. Os produtos no tempo zero de estocagem apresentaram menores escores (aroma e sabor menos apetitoso) que produtos armazenados por 40 dias. Concluíram que os pratos *sous vide* à base de carne podem ser armazenado com sucesso até por 40 dias a $0 \pm 3^\circ \text{C}$ e ser de qualidade sensorial aceitável para os consumidores.

2.3.3. Vida útil de produtos *sous vide*

A vida útil de um alimento pode ser mantida por um determinado período de tempo pelo controle das interações químicas, das ações enzimáticas e de micro-organismos que comprometem a qualidade do produto, por causarem alterações sensoriais, microbiológicas e nutricionais indesejáveis (DUTCOSKY, 1996). Segundo Sarantópoulos, Oliveira e Canavesi (2001) os alimentos, quer industrializados ou não, mantêm-se em constante atividade biológica, manifestada por alterações de natureza química, física, microbiológica ou enzimática, que levam a deterioração da qualidade.

Segundo Henriques (2008), para um alimento ser viável do ponto de vista comercial, os alimentos devem ter segurança microbiológica aceitável. A vida útil de um alimento baseia-se na sobrevivência e crescimento de microrganismos de alteração e/ou patogênicos. Uma vida útil mal estimada pode colocar em risco a saúde do consumidor. Tendo em conta o aumento da procura de refeições pré-preparadas e considerando o aumento no tempo de prateleira dessas refeições, quando comparadas com refeições tradicionais, surge a necessidade de determinar qual a validade dessas refeições.

É difícil prever com precisão a vida de útil de alimentos *sous vide*, entretanto, a maioria desses estudos estabelecem a vida útil em função de aspectos microbiológicos do produto em estudo.

Wang, Chang e Chen (2004) avaliaram asas de frango embaladas e cozidas a vácuo (*sous vide*) durante sete semanas e os resultados demonstram que o tratamento *sous vide* foi um método eficaz para evitar a oxidação lipídica durante o armazenamento e aumentar a vida de prateleira de produtos de asas de frango.

Shakila *et al.* (2009) compararam o cozimento *sous vide* com o cozimento convencional de bolinhos de peixes sob armazenamento a 3°C. Avaliaram micro-organismos como: bactérias lácticas, Estafilococos, Bacilos, Aeromonas, Clostrídios anaeróbios sulfitorreduzidores. Verificaram que os bolinhos de peixe permaneceram seguros por 112 dias (16 semanas) contra bactérias patogênicas quando submetidos a cozimento *sous vide*.

Assumindo um conteúdo médio de esporos igual a 1 esporo/g e estocagem a 3°C a 5°C, produtos cárneos pouco ácidos *sous vide* podem ser seguros por pelo menos 21 dias. Em 21 dias de armazenamento a 4°C, nenhuma toxina pôde ser detectada em filés de peixes inoculados com um esporo por amostra, de uma mistura de 13 linhagens de *C. botulinum* dos tipos E, B e F (IKAWA, *apud* JAY, 2005).

Díaz *et al.* (2008) verificaram que lombo de porco *sous vide* foi considerado inaceitável após 10 semanas. Concluíram que esta perda de aceitação foi principalmente devido à deterioração de sabor e odor de carne, embora a perda de suculência, aparência e firmeza também tenham contribuído. Segundo os autores, a análise sensorial foi o método mais eficaz para a determinação da vida útil dos pratos *sous vide* de porco, uma vez que foi encontrada ausência ou baixas contagens de micro-organismos.

Díaz, Garrido e Bañón (2010) estudaram os efeitos de dois métodos de embalagem sobre a deterioração de prato *cook-chill* a base de porco, mantidas sob-refrigeração. Cortes de carne de porco crua e pré-cozidos ao molho de tomate foram embalados a vácuo *sous vide* em embalagem de poliamida polipropileno (SV) ou em bandejas de polipropileno translúcido sob atmosfera modificada (80% N₂ + CO₂ 20%) e selado com um filme (PT). Amostras foram cozidas dentro da embalagem em um forno a 70°C/7 h, refrigerado a 3°C e armazenado a 2°C por até 90 dias. Foi observado que as embalagens SV e PT tiveram efeitos semelhantes sobre a preservação sensorial dos pratos. A perda gradual de aceitação da carne de porco cozida e molho de tomate foi observada. Sabor de ranço nas

embalagens PT e SV foram observadas nos estágios finais de armazenamento. De acordo com a pontuação de aceitação, o prazo de validade de ambos os *sous vide* foi de 56 dias a 2° C.

3. JUSTIFICATIVA DO ESTUDO

A maioria das pesquisas para elucidar as características tecnológicas, sensoriais e microbiológicas de alimentos submetidos a tecnologia *sous vide* foram realizadas em laboratório e pouco se sabe sobre as características destes alimentos quanto a composição química, aceitação sensorial e estabilidade microbiológica em escala de produção industrial.

Este tipo de produto permite a presença de esporos, sendo interessante alertar para o risco de crescimento de patógeno anaeróbio, como o *Clostridium botulinum*, se a cadeia do frio for quebrada. No Brasil não existe legislação específica para alimentos produzidos através de cozimento *sous vide*, tendo em vista que cada tipo de alimento favorece o crescimento de grupos específicos de micro-organismos, a verificação microbiológica de produtos *sous vide* é fundamental para avaliação da presença de patógenos e de micro-organismos deteriorantes, bem como para o estabelecimento de padrões de referência para a legislação sanitária.

No Brasil, os cortes de segunda são cortes de rendimento inferior e menor valor comercial, mas com boas propriedades nutricionais. Diante da desvalorização destes cortes é preciso encontrar soluções para agregar valor à "carne de segunda" e viabilizar o seu consumo. O aproveitamento de tais cortes através da tecnologia *sous vide* poderia ampliar o atendimento às necessidades de alimentação em restaurantes comerciais e industriais, hotéis, escolas, hospitais, forças armadas e outros estabelecimentos institucionais.

A utilização do processamento *sous vide* para produtos cárneos tem grande importância industrial, do ponto de vista econômico, o cozimento dentro da embalagem possibilita manutenção do peso inicial do produto, já que exsudado fica retido na embalagem. No entanto, para um alimento ser viável do ponto de vista comercial, o operador econômico deverá ser capaz de produzir, de modo sistemático, alimentos com segurança microbiológica aceitável, alto valor nutritivo e com boa aceitação pelos consumidores. Tendo em conta o aumento da procura por refeições pré-preparadas e considerando o maior tempo de vida útil dessas refeições, quando comparadas com refeições tradicionais, surge a necessidade de verificar a estabilidade dessas refeições produzidas em escala industrial.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1. Obtenção das amostras

As amostras de bife bovino foram fornecidas por uma indústria beneficiadora de alimentos através da tecnologia *sous vide* (Figura 4). As amostras de bife foram obtidas a partir do corte peixinho bovino (Músculo *Supraspinatus*), localizado no quarto dianteiro.

Foram realizadas ao todo cinco coletas em meses distintos, sendo cinco coletas para análises microbiológicas, três para avaliação físico-química e duas para avaliação sensorial de forma concomitante para cada avaliação. As amostras foram obtidas conforme sequência descrita no fluxograma de beneficiamento de bife bovino submetido à tecnologia *sous vide* (Figura 4). Em cada coleta foram obtidas em embalagens de 500g as seguintes amostras de bifos para análise:

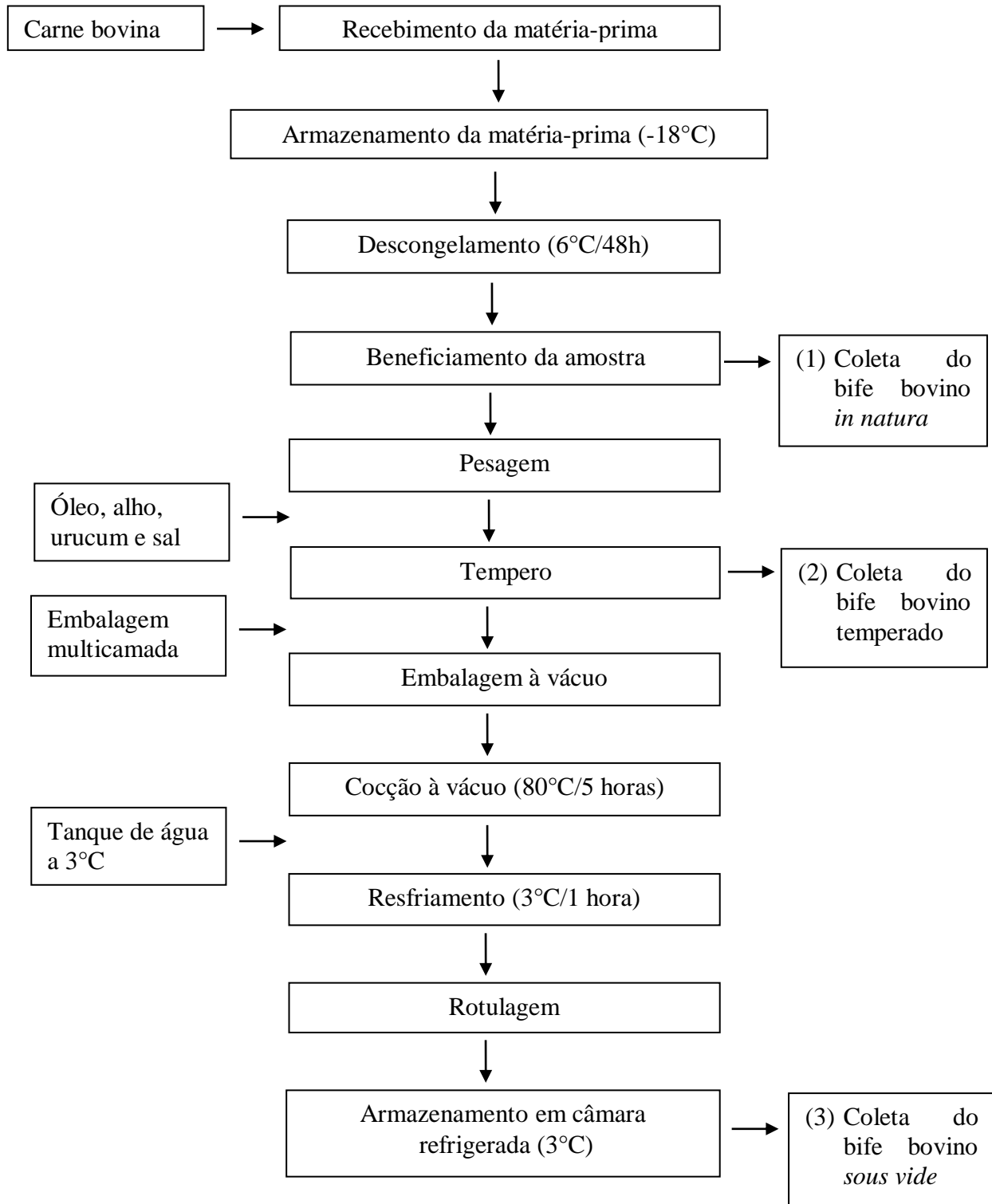
- Bife *in natura* (embalada sem vácuo);
- Temperado (embalada sem vácuo);
- Processado por tecnologia *sous vide*, logo após processamento (T0) e nos tempos 15, 30, 45 e 60 dias de armazenamento a 3°C para estudo de estabilidade.

Para análise sensorial, so foram avaliadas as amostras de bife processado por tecnologia *sous vide*, logo após processamento (T0) e no tempo de 30 dias de armazenamento a 3°C.

4.2. Fluxograma de beneficiamento de bife bovino submetido a tecnologia *sous vide*

O fluxograma de beneficiamento de bife bovino submetido a tecnologia *sous vide* é apresentado na Figura 3, indicando os pontos de coleta das amostras para análises.

FIGURA 4 - Fluxograma de beneficiamento de bife bovino submetido à tecnologia *sous vide* com os pontos de coletas (1, 2 e 3) das amostras para estudo



A carne bovina foi recebida na plataforma de recebimento de matéria-prima e armazenada em câmara de congelamento a -18°C .

Dois dias antes do beneficiamento (48 horas), as carnes foram transferidas para a câmara de resfriamento (6°C), para descongelamento. Após esse tempo os produtos foram transportados até a área de beneficiamento.

Na área de beneficiamento da amostra, o músculo *Supraspinatus in natura* (peixinho bovino) foi retirado da embalagem original e colocado sobre a mesa de beneficiamento. As carnes foram cortadas em bifés de aproximadamente 15 cm de comprimento, 10 cm de largura e 2 cm de espessura. Os bifés cortados seguiram um padrão de 80 gramas, onde foram recolhidas as amostras de bife *in natura* para análise (Figura 4).

Os bifés cortados foram acondicionados em um reservatório (marfinito) previamente higienizado. O marfinito contendo a carne foi levado até a área de pesagem. Após pesagem, foi adicionada a carne uma mistura de óleo, alho frito, corante natural urucum e sal. O tempero foi misturado aos bifés no próprio marfinito utilizado para pesagem, com auxílio de uma pá de mistura, onde foram recolhidas as amostras de bife temperado para análise (Figura 4). Após o tempero, a carne foi levada para a área de embalagem.

Na área de embalagem, os bifés temperados foram acondicionados em embalagens multicamada (Parnaplast), formadas por três camadas: uma camada estrutural de polipropileno, que promove a proteção da camada barreira e selagem, uma camada adesivo de laminação, que promove a adesão entre a camada estrutural e a camada barreira e uma camada de Nylon, que promove a barreira. As amostras foram acondicionadas em embalagens de 500g e seladas em máquina de embalagem a vácuo (Orved e Brock, Modelo 53).

Os bifés embalados a vácuo foram levados para a área de cocção à vácuo, acondicionados em cestos e imersos no tanque de cocção por 5 horas a 80°C .

Logo após o tempo de cozimento, a cesta com as amostras foi retirada e imersa no tanque de resfriamento, com água corrente a 3°C por 1 hora.

Após o período de resfriamento, a cesta com as amostras foi retirada do tanque de resfriamento. As amostras foram retiradas da cesta para posterior pesagem e identificação de cada embalagem, com o nome do produto, peso, data de fabricação e data de validade (tratamento *sous vide* T0) (Figura 5).

Após identificação, os bifés processados através da tecnologia *sous vide* foram armazenados em estantes com prateleiras dentro da câmara de refrigeração com temperatura de 3°C , até o momento de recolhimento da amostra para análise.

FIGURA 5 - Amostra identificada após cozimento *sous vide*

4.3. Transporte das amostras

As amostras foram transportadas em caixas isotérmicas com “*ice-block*” até os Laboratórios de Microbiologia de Alimentos para análise microbiológica, Carnes e pescado e frutos tropicais/DTA/CCA/UFC para caracterização físico-química e Exército Brasileiro (10º Depósito de Suprimento) para análise sensorial e armazenadas em temperatura controlada em BOD a 3°C até o início das análises.

4.4. Caracterização físico-química

As embalagens dos bifes processados por *sous vide* foram avaliados antes das análises, verificando-se ausência de vácuo ou estufamento. Cada amostra de 500g de bife bovino foi cortada, triturada e homogeneizada em multiprocessador de alimentos. As determinações de pH, composição centesimal (umidade, gordura, proteína e cinzas) e cor foram realizadas em triplicata. A avaliação da cor foi realizada em bife inteiro em três pontos de leitura.

4.4.1. pH

O valor do pH foi medido em pHmetro (QUIMIS, ISO9001) calibrado a cada utilização com soluções tampão de pH 4,0 e pH 7,0. Foram pesados 10 g da amostra em um

béquer, misturados 100 mL de água destilada conforme o método 017/IV descrito no IAL (2008). A mistura foi homogeneizada e submetida à leitura.

4.4.2. Composição centesimal

4.4.2.1. Umidade

A determinação de umidade foi realizada por método gravimétrico, onde foram pesadas em balança analítica (OHAUS, AS200) 5g da amostra em cápsula de porcelana, utilizando para secagem estufa (FANEM, 315SE) a temperatura de 105°C até peso constante, de acordo com o método 012/IV descrito no IAL (2008). Os resultados foram expressos em percentual com relação à massa da amostra.

4.4.2.2. Gordura

A determinação de gordura foi realizada a partir da análise de umidade, em aparelho de extração Soxhlet (TECNAL, TE-044), utilizado como solvente o hexano, conforme método descrito pela AOAC (2005). Os resultados foram expressos em percentual com relação a massa da amostra.

4.4.2.3. Proteínas

O teor de proteína foi determinado pelo método de Kjeldahl, no qual foi avaliado o teor de nitrogênio total de origem orgânica, segundo o método da AOAC (2005).

Foi pesado 1g da amostra e transferido para bloco aquecedor para digestão da amostra. Foi utilizada unidade de destilação (TECNAL, TE-036/1), após a destilação a amostra foi titulada com a solução padronizada de NaOH 0,1N até a viragem do indicador. Determinou-se o nitrogênio total das amostras e utilizou-se o fator 6,25 para a conversão deste em proteína total. Os resultados foram expressos em percentual com relação à massa da amostra.

4.4.2.4. Cinzas

Para determinação do teor de cinzas foi pesada em balança analítica 5 gramas de amostra em cadinho de porcelana, seguida pelo aquecimento gradual em forno mufla (QUIMIS) até incineração do material a 550°C, para obtenção de peso constante, conforme normas da AOAC (2005). Os resultados foram expressos em percentual com relação à massa da amostra.

4.4.3. Cor

A cor instrumental foi determinada pela média de leituras efetuadas das amostras depositadas em uma placa de petri, em quantidade para cobrir a base da placa, usando colorímetro da marca CHROMA METER modelo CR 400 (Konica Minolta Inseng, Japão), calibrado por meio de placa de cerâmica branca. Os resultados foram expressos de acordo com as coordenadas CIE lab que inclui as variáveis L*, a*, b*, Chroma (c*) e Ângulo Hue (H*).

A coordenada L* representa a luminosidade, portanto mede a quantidade de luz que é refletida de uma cor. O brilho de um determinado objeto, tendo o branco absoluto como referência, apresenta limites nas cores preto e branco, onde a luminosidade de um objeto varia de 0 (para o preto) até o 100 (para o branco) (KONICA MINOLTA, 1998).

Segundo Konica Minolta (1998), a coordenada a* mede os valores dos componentes cromáticos a* (+a*: grau de cor vermelha da carne; -a*: grau de cor verde) e a coordenada b* mede os valores dos componentes cromáticos b* (+b*: grau da cor amarela; -b*: grau da cor azul).

As coordenadas cilíndricas Chroma (C*) e ângulo hue (H*) também foram adquiridas no próprio equipamento, onde o C* representa o grau de concentração ou pureza de uma cor. A cor é mais saturada quanto menor a quantidade de branco ou preto apresentar, estando completamente saturada sem a presença dessas duas cores (KONICA MINOLTA, 1998). O H* e o valor de C* podem ser determinados a partir das equações 1 e 2, respectivamente:

$$H^* = \tan^{-1} \left(\frac{b^*}{a^*} \right) \quad (1)$$

$$C^* = \sqrt{(a^*)^2 + (b^*)^2} \quad (2)$$

Os valores L^* , a^* , b^* , Chroma e Ângulo Hue foram gerados da média de três leituras, tomadas em diferentes posições no mesmo bife.

4.5. Análise sensorial

A avaliação sensorial foi realizada no Exército Brasileiro no 10º Depósito de Suprimento de Fortaleza. O exército foi escolhido para realização das análises devido ao fato da técnica de cozimento *sous vide* já ser utilizada na instituição.

Para avaliação do perfil do consumidor foi realizado um questionamento sobre frequência de consumo de carne bovina (APÊNDICE H).

Foi realizada avaliação sensorial dos bifes *sous vide* nos tempos 0 e 30 dias de armazenamento a 3°C. As amostras analisadas foram submetidas a um teste de aceitabilidade, utilizando sessenta provadores não treinados, todos do sexo masculino, com diferentes faixas etárias, que expressaram sua opinião por meio de ficha de análise sensorial (APÊNDICE I).

Para seu preparo, as amostras de bife *sous vide* foram submetidas a aquecimento em banho-maria até ebulição e a partir de então foram contabilizados 15 minutos para em seguida fazer a retirada das amostras do banho. A análise foi realizada em cabines improvisadas e as amostras foram servidas a cada provador à uma temperatura de 45°C, juntamente com a ficha sensorial, onde cada provador avaliou as amostras quanto a cor, aroma, sabor, suculência, textura, impressão global e atitude de compra.

Os provadores avaliaram cada amostra usando escala hedônica estruturada de 9 pontos (STONE; SIDEL, 1993), variando de “gostei muitíssimo” (9) a “desgostei muitíssimo” (1) e escala de intenção de compra de 5 pontos, variando de “certamente compraria” (5) a “certamente não compraria” (1). Os provadores receberam água para remover sabores que poderiam interferir na análise entre a degustação das diferentes amostras. Os resultados foram avaliados através de gráficos em histogramas de frequência.

4.6. Análises microbiológicas

Antes das análises microbiológicas, todas as embalagens dos bifés processados por tecnologia *sous vide* foram verificadas quanto à ausência de vácuo ou estufamento.

4.6.1. Preparo da amostra

Cada amostra de 500g de bife bovino foi cortada e homogeneizada. As análises foram realizadas em duplicata e o resultado foi obtido através da média das análises. Foram pesadas assepticamente 25g da amostra e transferidos para 225 ml de água peptonada 0,1%. Em seguida, foram realizadas diluições decimais seriadas em tubos contendo 9 ml de água peptonada 0,1% até a diluição 10^{-5} .

4.6.2. Pesquisa de micro-organismos deteriorantes

Foram realizadas análises para a contagem de *E. coli*, coliformes totais, aeróbios mesófilos, bolores e leveduras e detecção de esporos.

4.6.2.1. Contagem de *E. coli* e coliformes totais

A partir de cada diluição foi transferido 1mL para a superfície de placas de Petrifilm™ EC e após aplicação do difusor foram incubadas a 37°C por 48 horas. As colônias típicas de coliformes totais (colônias vermelhas, com bolhas de gás) e *E. coli* (colônias azuis ou vermelho azuladas com bolhas de gás) foram contadas e o resultado expresso em UFC/g de bife bovino (APHA, 2001).

4.6.2.2. Contagem de bolores e leveduras

A partir de cada diluição foi transferido 1mL para a superfície de placas de Petrifilm™ YM e após aplicação do difusor foram incubadas a 25°C por 3 a 5 dias. As colônias de bolores e leveduras grandes ou pequenas, com bordas difusas ou bem definidas, de cor marrom-rosada ou verde azulada, planas ou elevadas, com centro escuro ou uniforme foram contadas e o resultado expresso em UFC/g de bife bovino (APHA, 2001).

4.6.2.3. Contagem de aeróbio mesófilo

A partir de cada diluição foi transferido 1mL para a superfície de placas de Petrifilm™ AC e após aplicação do difusor foram incubadas a 37°C por 48h. As colônias de vermelhas, independente do tamanho ou intensidade foram contadas e o resultado expresso em UFC/g de bife bovino (APHA, 2001).

4.6.2.4. Pesquisa de bactérias produtoras de esporos

A pesquisa de bactérias produtoras de esporos foi realizada empregando-se a metodologia para determinação da causa da deterioração de alimentos de baixa acidez (APHA, 2001), não tendo sido pré-incubados as amostras antes das análises.

As embalagens foram lavadas com detergente, enxaguadas em água corrente e secadas com papel toalha, sendo em seguida desinfetadas com solução de álcool iodado. Foram abertas assepticamente em fluxo laminar, sendo o bife transferido para um recipiente estéril, onde foi cortado com auxílio de garfo e faca estéril. A amostra foi homogeneizada e pesada assepticamente 50g em frasco estéril como contra amostra e armazenada sob refrigeração. Foram distribuídos 2g da amostra em oito tubos de ensaio, quatro contendo Caldo de Fígado (CF) previamente desaerado e quatro contendo Caldo Dextrose Triptona. Os tubos de Caldo Fígado foram cobertos com Ágar selo para garantir a anaerobiose. Dois tubos contendo Caldo Fígado foram incubados a 35°C/10 dias e dois tubos a 55°C/4 dias. Dois tubos contendo Caldo Dextrose Triptona foram incubados a 35°C/10 dias e dois tubos a 55°C/4 dias.

4.6.2.4.1. Bactérias produtoras de esporos: anaeróbias termófilas e/ou anaeróbias mesófilas

Cada cultura positiva em Caldo Fígado foi inoculada por estria em Ágar Fígado de Vitela. Duas placas foram incubadas a 55°C/4 dias, sendo uma em aerobiose e outra em anaerobiose. Duas placas foram incubadas a 35°C/4 dias, sendo uma em aerobiose e outra em anaerobiose. Crescimento exclusivo em placa anaeróbica indica cultura anaeróbica estrita e crescimento nas duas placas (aeróbia e anaeróbica) indica cultura anaeróbica facultativa ou mista de anaeróbios facultativos ou anaeróbios estritos.

A partir de cada colônia distinta foi feito esfregaço em lâmina e observado ao microscópio óptico. A presença apenas de bastonetes com esporo indica bactérias esporogênicas anaeróbias termófilas ou anaeróbias mesófilas em função da temperatura de incubação.

4.6.2.4.2. Bactérias produtoras de esporos: aeróbias mesófilas ou termófilas facultativas, aeróbias termófilas facultativas e aeróbias termófilas estritas

Os tubos que apresentaram crescimento foram submetidos à caracterização. Cada cultura em caldo DTB foi transferida por estria para placas de Ágar ANMn, sendo duas placas incubadas a 35°C/10 dias e duas a 55°C/4 dias. A partir de colônias distintas fez-se coloração de gram e coloração de esporos. As colônias isoladas das placas de ANMn incubadas a 35°C/10dias que apresentaram-se como Gram+ e produtoras de esporos foram caracterizadas como bactérias esporogênicas aeróbias mesófilas ou termófilas facultativas. As colônias isoladas das placas de ANMn incubadas a 55°C/4 dias que apresentaram-se como Gram positiva e produtoras de esporos foram transferidas para 1ml de água destilada e submetida a choque térmico por 10 minutos sob fervura. Imediatamente foi resfriado em banho de gelo e o material estriado em duas novas placas de ANMn. As placas foram incubadas a 35°C/4 dias e uma placa a 55°C/4 dias. O crescimento a 35°C e a 55°C indicou termófilos facultativos. O crescimento apenas a 55°C indicou termófilos estritos.

4.6.2.4.2.1. Coloração de Gram

A coloração de Gram foi realizada segundo o método de análise descrito por Silva *et al.* (2007).

As células das bactérias Gram positivas ficaram coradas de roxo, enquanto as Gram negativas ficaram coradas de vermelho.

4.6.2.4.2.2. Coloração de esporos

A coloração de esporos foi realizada segundo o método de análise descrito por Silva *et al.* (2007).

Após preparo do esfregaço, fixação e coloração as lâminas foram observadas ao microscópio óptico com objetiva de imersão. Os esporos ficaram corados de verde e as células vegetativas de vermelho.

4.6.3. Pesquisa de micro-organismos patogênicos

Foram realizadas análises para a detecção de *Listeria monocytogenes*, *Salmonella* sp., contagem de Clostridium Sulfito redutores a 46°C e *Bacillus cereus*.

4.6.3.1. Clostridium sulfito redutores a 46°C

A metodologia empregada para contagem de Clostridium sulfito reductor foi o método de análise descrito por Silva *et al.* (2007).

A partir de cada diluição foi transferido 1 mL e distribuído, individualmente, em placas de Ágar Triptose Sulfito Cicloserina (TSC) para plaqueamento em profundidade. As placas foram inoculadas em duplicata para cada diluição. Após solidificação das placas, foi aplicada uma sobrecamada de TSC na superfície do meio e as placas foram incubadas (sem inverter) a 46°C/24h, em atmosfera anaeróbica. Foram contadas as colônias pretas, típicas de clostrídios sulfito-redutores em Ágar TSC.

4.6.3.2. Contagem de *Bacillus cereus*

A técnica de contagem de *Bacillus cereus* foi realizada conforme metodologia descrita pelo Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods (APHA, 2001).

De cada diluição, foram transferidas alíquotas de 0,1mL para a superfície do meio Ágar Manitol Gema de Ovo Polimixina (MYP), semeado com o auxílio de uma alça de Drigalsky. As placas foram inoculadas em duplicata para cada diluição. Após a secagem, as placas foram incubadas a 37°C por 48h. Após o período de incubação, foram selecionadas cinco colônias típicas para serem submetidas ao teste confirmatório. Foi realizado o isolamento de *B. cereus* através da repicagem em tubos com Ágar nutriente inclinado e incubado a 30°C por 24h, antes da realização dos seguintes testes bioquímicos: coloração de esporos e lipídios intracelulares, motilidade e verificação da atividade hemolítica.

4.6.3.3. *Listeria monocytogenes*

A metodologia empregada para detecção de *Listeria monocytogenes* foi o método Health Protection Branch do Canadá (PAGOTTO; DALEY; FARBER, 2001).

Foram pesados assepticamente e homogeneizados 25 g da amostra em 225ml de caldo de enriquecimento para *Listeria* (LEB) e incubados a 30°C/48 horas. Após o período de incubação, foram transferidos 0,1 ml do caldo LEB previamente homogeneizado, para um tubo contendo 10 ml de caldo Fraser, incubados a 35°C por 24-26 horas. Após o período de incubação os tubos positivos (escurecido, preto, verde escuro ou marrom escuro) foram submetidos a isolamento seletivo. Se negativos (cor de um caldo feito recentemente) foram incubados novamente durante 24 horas, e semeado em meio seletivo.

A partir do tubo de caldo Fraser positivo homogeneizado, foi realizada estrias de esgotamento em placas de placas de Agar Oxford (OXA) e Agar PALCAM (PAL) e incubadas a 35°C/24-48h. Em OXA as colônias de *L. monocytogenes* são de cor preta rodeada por halo preto, marrom-escuro ou verde-negro e em PAL são colônias cinza-esverdeado, com centro preto e um halo negro sobre um fundo vermelho-cereja.

Para a confirmação das colônias típicas foram selecionadas pelo menos cinco colônias típicas para serem estriadas em placa de Ágar Trypticase de Soja com 0,6% de extrato de levedura (TSA-YE), para purificação e incubadas a 30°C/24-48h. As colônias típicas foram transferidas com auxílio de uma alça de inoculação para um tubo de TSA-YE inclinado. Os tubos foram incubados a 30°C/24h, após o tempo de incubação foi utilizado para testes confirmatórios. As colônias típicas foram submetidas aos seguintes testes confirmatórios: hemólise, teste de utilização dos carboidratos (dextrose, esculina, maltose, ramnose, manitol e xilose), catalase, Gram e motilidade.

4.6.3.4. Pesquisa de *Salmonella* sp.

A técnica de detecção de *Salmonella* foi o método de presença/ausência, descrito por Food and Drug Administration (FDA, 2007).

Foram pesadas assepticamente 25g da amostra e transferidos para 225 ml de Caldo lactosado (CL), homogeneizados e incubados a 35°C/24h. Após o tempo de incubação, foram retiradas alíquotas da suspensão de CL e inoculado 1ml em tubo contendo 10mL de Caldo Tetrionato (CT) (previamente suplementado com 0,2mL de iodo e 0,1mL de verde

brilhante) e 0,1ml em tubo contendo 10mL Caldo Rappaport-Vassiliadis Modificado (RV). O tubo contendo Caldo Tetrionato foi incubado a 35°C por 24h em estufa, enquanto o tubo contendo Caldo Rappaport foi incubado em banho-maria à 42°C por 24h. Após o período de incubação, os tubos de caldo Tetrionato e Rappaport foram agitados cuidadosamente em um agitador do tipo Vortex, e procedeu-se sementeiras por estria de esgotamento em placas de Petri contendo Ágar Entérico Hectoen (HE), em Ágar Xilose Lisina Desoxicolato (XLD) e em Ágar Bismuto Sulfito (BS), incubadas a 35°C por 24h.

Após o período de incubação das placas foi observada em cada meio seletivo a presença de colônias típicas de *Salmonella* sp., tendo sido selecionadas cinco colônias típicas ou atípicas de *Salmonella* sp. que apresentaram as seguintes características nos meios seletivos: Ágar HE são colônias transparentes, verde azuladas com ou sem o centro preto, Ágar XLD são colônias cor de rosa escura, com centro preto e uma zona avermelhada levemente transparente em redor e em Ágar BS são colônias castanhas, cinzas ou pretas com ou sem o brilho metálico. Com auxílio de uma agulha de inoculação foram isoladas e inoculadas em um tubo inclinado de Ágar Tríplice Açúcar Ferro (TSI) e em um tubo de Agar Lisina Ferro (LIA), com picadas no fundo e estrias na rampa. Os tubos foram incubados a 35°C por 24h. Após o período de incubação foi observada a ocorrência de reação típica ou atípica de *Salmonella* sp.

Após incubação, as culturas com características típicas em TSI (rampa alcalina e fundo ácido com ou sem a produção de H₂S) e LIA (fundo e rampa alcalinos, com ou sem produção de H₂S), foram submetidas aos testes bioquímicos e sorológicos. Foram realizados os teste bioquímicos: urease, indol, fermentação do dulcitol, crescimento em KCN, malonato, fermentação da lactose e sacarose, VM e VP e citrato. Foi efetuado o teste sorológico polivalente somático e flagelar.

4.7. Análise estatística

Os experimentos físico-químicos e microbiológicos foram conduzidos em delineamento inteiramente casualizado, onde foram avaliados bife *in natura*, bife temperado e bife processado por tecnologia *sous vide*, logo após processamento (T0) e nos tempo de 15, 30, 45 e 60 dias de armazenamento a 3°C, enquanto que a avaliação sensorial foi conduzida em delineamento em blocos completos balanceados, utilizando bife processado por tecnologia *sous vide*, logo após processamento (T0) e no tempo de 30 dias de armazenamento a 3°C.

Os resultados foram analisados pelo programa estatístico Statistical Analysis System for Windows SAS versão 9.1 (2006). Para as amostras de bife *in natura*, bife temperado e bife processado por tecnologia *sous vide*, logo após processamento (T0), foram realizadas análises de variância e quando significativo ($p \leq 0,05$) realizado teste de média (Tukey 5% de significância). Para os tempos de armazenamento das análises físico-químicas foi realizada análise de regressão, testando-se os modelos linear, quadrático e cúbico, verificando-se o coeficiente de determinação (R^2) ao nível de 5% de significância.

5. RESULTADOS E DISCUSSÕES

5.1. Caracterização físico-química

5.1.1. Caracterização físico-química de bife *in natura*, bife temperado e bife após aplicação da tecnologia *sous vide* (T0)

5.1.1.1. pH

Os valores de pH encontrados para bife *in natura*, bife temperado e bife após aplicação de tecnologia *sous vide* (T0) estão apresentados na Tabela 3.

Conforme os resultados obtidos, a adição de tempero não contribuiu para a alteração de pH do bife temperado, não diferindo significativamente ($p > 0,05$) do bife *in natura*. Gonçalves e Lemos (2005) estudaram cortes de *Supraspinatus* e obtiveram um valor médio de pH de 5,62 na carne bovina *in natura* semelhantes aos encontrados neste estudo. Valores médios de 5,63; 5,63 e 5,70 foram encontrados por Lins (2001) em músculo *Supraspinatus* bovino moído fresco, resultados estes próximos aos obtidos no presente estudo.

TABELA 3 - Média \pm desvio-padrão de pH em bife bovino *in natura*, bife bovino temperado e bife bovino após aplicação da tecnologia *sous vide* (T0)

Bife	pH
<i>in natura</i>	5,58 ^b \pm 0,28
Temperado	5,56 ^b \pm 0,22
<i>Sous vide</i> (T0)	5,95 ^a \pm 0,09
DMS	0,1228

Teste de médias (Tukey) (n=3). Médias na mesma coluna seguidas de mesma letra não são significativas ao nível de 5% no teste de Tukey. DMS = Diferença Mínima Significativa.

Após o cozimento *sous vide* (T0), percebe-se que houve um aumento do pH e que este tratamento diferiu significativamente dos demais ($p \leq 0,05$), contudo, os valores de pH do presente trabalho estão dentro dos encontrados para carne bovina. O tratamento térmico por si só induz um aumento do valor do pH. As carnes cozidas ou parcialmente cozidas possuem pH maior que as carnes cruas (JAY, 2005). Segundo Pardi *et al.* (1995), no cozimento da carne, à

medida que a temperatura aumenta de 0° a 80°C, produz-se uma perda de grupos ácidos livres, diminuindo-se assim a capacidade de retenção de água e elevando-se o pH.

5.1.1.2. Composição centesimal

Na Tabela 4 estão apresentados os valores médios e desvio-padrão da composição centesimal para os bifes *in natura*, bife temperado e bife após aplicação da tecnologia *sous vide* (T0). Observa-se que a porcentagem dos valores de umidade para o bife *in natura* (72,16%) foi significativamente maior que o bife temperado (69,61%). A adição do tempero promoveu uma redução do teor de umidade dos bifes temperados devido a uma desidratação causada pela adição de sal e gordura, diferindo significativamente ($p \leq 0,05$) do bife *in natura*. Este comportamento pode ser justificado pela transferência de massa, em virtude de diferenças de concentração, que se dá na direção do meio mais concentrado para o menos concentrado (OZISIK, 1985).

O teor de umidade do bife após aplicação da tecnologia *sous vide* (T0) não diferiu significativamente ($p > 0,05$) do bife temperado. Neste caso a retenção de umidade possivelmente se deve a aplicação da embalagem *sous vide*.

TABELA 4 - Média \pm desvio-padrão da composição centesimal em bife bovino *in natura*, bife bovino temperado e bife bovino após aplicação da tecnologia *sous vide* (T0)

Bife	Umidade (%)	Gordura (%)	Proteína (%)	Cinzas (%)
<i>In natura</i>	72,16 ^a \pm 2,08	7,43 ^b \pm 0,84	18,63 ^a \pm 0,44	0,92 ^b \pm 0,06
Temperado	69,61 ^b \pm 1,50	8,59 ^{ba} \pm 1,21	18,01 ^b \pm 0,32	1,52 ^a \pm 1,13
<i>Sous vide</i> (T0)	69,22 ^b \pm 2,05	9,66 ^a \pm 1,67	17,77 ^b \pm 0,79	1,38 ^a \pm 0,15
DMS	1,8006	1,4097	0,4728	0,1994

Teste de médias (Tukey) (n=3). Médias na mesma coluna seguidas de mesma letra não são significativas ao nível de 5% no teste de Tukey. DMS = Diferença Mínima Significativa.

Com relação ao teor de gordura (Tabela 4) o bife *in natura* não diferiu do bife temperado ($p > 0,05$), isso talvez possa ser explicado pela falta de padronização na etapa de tempero, observado pelas discrepâncias entre os desvios padrão dos bifes *in natura* (0,84) e temperado (1,21), respectivamente. O bife temperado não diferiu significativamente ($p > 0,05$) do bife *sous vide* (T0). Este comportamento pode justificar o fato do teor de umidade não ter

variado no presente estudo após o cozimento, uma vez que o teor de gordura também não variou.

Observa-se que os valores de proteína (Tabela 4) para o bife temperado diferiram significativamente ($p \leq 0,05$) do bife *in natura*. Este comportamento talvez possa ser explicado pela perda de proteínas hidrossolúveis juntamente com o exsudado da carne. O teor de proteína dos bifes submetidos à tecnologia *sous vide* (T0), não diferiu significativamente ($p > 0,05$) dos bifes temperados. Este comportamento pode ser explicado pelo tratamento térmico dado aos bifes submetidos à tecnologia *sous vide* (T0). Durante os tratamentos térmicos, como a pasteurização, a esterilização ou a cocção de um alimento proteico ocorre entre tantas reações, a conversão do colágeno em gelatina e a desnaturação das proteínas (BOBBIO; BOBBIO, 1992). Quando um alimento é aquecido, suas estruturas são rompidas e elas são desnaturadas. A desnaturação das proteínas resulta em coagulação irreversível e pode até mesmo formar aglomerados rígidos e insolúveis em água. A desnaturação produzida por aquecimento normal a uma temperatura inferior a 100°C não danifica sua estrutura primária, o valor nutritivos do alimento não é destruído, pelo contrário, o aproveitamento nutricional melhora (SARANTÓPOULOS; OLIVEIRA; CANAVESI, 2001).

O teor de cinzas (0,92%) (Tabela 4) do bife *in natura* foi significativamente ($p \leq 0,05$) menor que o bife temperado (1,52%). Este comportamento pode ser explicado pela etapa de adição de tempero. Segundo Cestari (2007), o teor de cinzas variou porque a adição de sal aumenta o conteúdo de sódio do produto, conduzindo ao aumento do teor de cinzas. No entanto, o processamento *sous vide* (T0) não diferiu do bife temperado ($p > 0,05$). Comportamento diferente foi observado por Garcia-Linares *et al.* (2004) em salmão, onde o teor de cinzas aumentou após o processamento *sous vide*.

De modo geral o bife cozido pela tecnologia *sous vide* conseguiu manter a composição centesimal sem variações significativas ($p > 0,05$) em relação ao bife temperado. Este comportamento pode ser justificado devido ao fato destes produtos serem cozidos em embalagens e não permitir a perda de nutrientes, pois são cozidos no próprio exsudado. No entanto, em relação ao bife *in natura*, foram observadas diferenças significativas, pois o próprio ato de se cozer os alimentos, já contribui para uma variação na sua composição centesimal.

5.1.1.3. Determinação da cor

Os resultados da determinação da cor instrumental dos bifes *in natura*, temperado e após aplicação da tecnologia *sous vide* (T0), representados pelos parâmetros L* (luminosidade), a* (teor de vermelho/verde), b* (teor de amarelo/azul), Chroma (c*) e Hue (H*) estão apresentados na Tabela 5.

A cor é um importante critério pelo qual o consumidor avalia a qualidade da carne. Os resultados da cor para a coordenada de cor L* para o bife *in natura* foi de 36,35 (Tabela 5). Comparando este valor com o obtido por Gonçalves e Lemos (2005) que também estudaram os cortes *Supraspinatus in natura*, estes obtiveram um valor médio de L* inferior (31,55) ao encontrado neste estudo. Cestari (2007) estudou a cor do corte bovino *Supraspinatus* reestruturado com transglutaminase e também obteve valores de L* inferior (33,25) ao encontrado neste estudo. O maior valor da coordenada L* encontrado neste estudo indica amostra mais pálida.

O valor de a* de 6,85 (Tabela 5) encontrado para bife *in natura* foi inferior aos mostrados por Gonçalves e Lemos (2005), que obtiveram um valor médio de a* de 15,46 e Cestari (2007) que obteve valor de a* de 17,22.

O valor de b* encontrado para o bife *in natura* foi de 3,53 (Tabela 5), valor semelhante ao encontrado por Gonçalves e Lemos (2005), estes obtiveram um valor médio de b* (3,33), enquanto Cestari (2007) encontrou valor de b* superior (18,01) ao encontrado neste estudo. Quanto maiores forem os valores de a* e b* maiores serão as intensidades das cores vermelha e amarela, respectivamente.

O resultado da cor obtido para o bife *in natura* com relação a coordenada c* foi de 7,78 (Tabela 5). Comparando este valor com aquele obtido por Cestari (2007), este encontrou valor de c* superior (46,31) ao encontrado neste estudo. O Chroma (c*) é dependente dos valores de a* e b* na mesma intensidade e indica a saturação da cor. Quando o c* diminuiu, a carne torna-se menos vermelha.

O valor de H* para o bife *in natura* foi de 27,13 (Tabela 5). Cestari (2007) obteve valores de H* inferior (24,92) ao encontrado neste estudo. O ângulo hue (H*) representa a tonalidade. O valores mínimo e máximo para H* indicam que quando o ângulo hue aumenta a carne torna-se menos vermelha e mais amarela.

As diferenças encontradas neste trabalho com relação as coordenadas de cor dos referidos autores talvez se deva ao processo de congelamento e descongelamento que as

carne foram submetidas, terem afetado as fibras, fazendo com que elas refletissem mais a luz incidente, se tornando um pouco mais claras. Como a variável a^* está ligada também ao conteúdo de mioglobina no músculo, essa pode ter extravasado junto com o exsudado da carne, diminuindo a intensidade da cor vermelha (FARIA *et al.*, 2011), explicando assim o baixo valor da coordenada a^* . Segundo Jeong *et al.* (2011) a rápida deterioração de cor da carne tem sido muitas vezes observada em carne descongelada em comparação com carne fresca. A mioglobina (Mb) é um fator responsável pela deterioração da qualidade de carne fresca, e é geralmente assumido que a oxidação de lípidos está intimamente relacionada à sua oxidação. O processo de congelamento e descongelamento pode acelerar a deterioração da cor da carne, resultando em uma carne menos vermelha e com uma porcentagem maior de metamioglobina (MetMb).

TABELA 5 - Média \pm desvio-padrão da cor instrumental com relação as coordenadas L^* , a^* , b^* , Chroma e Hue em bife bovino *in natura*, bife bovino temperado e bife bovino após aplicação da tecnologia *sous vide* (T0)

Bife	L^*	a^*	b^*	Chroma	Hue
<i>in natura</i>	36,35 ^b \pm 1,82	6,85 ^a \pm 1,85	3,53 ^b \pm 1,57	7,78 ^a \pm 2,09	27,13 ^c \pm 9,11
Temperada	37,58 ^b \pm 1,59	3,21 ^b \pm 1,13	3,06 ^b \pm 0,94	4,46 ^b \pm 1,36	43,85 ^b \pm 6,82
<i>Sous vide</i> (T0)	40,66 ^a \pm 2,56	5,76 ^a \pm 1,14	7,31 ^a \pm 1,49	9,38 ^a \pm 1,81	51,99 ^a \pm 2,89
DMS	2,2414	1,5837	1,6832	2,1059	7,4908

Teste de médias (Tukey) (n=3). Médias na mesma coluna seguidas de mesma letra não são significativas ao nível de 5% no teste de Tukey. DMS = Diferença Mínima Significativa.

Na Tabela 5 estão apresentados os valores das coordenadas L^* de 37,58, a^* de 3,21, b^* de 3,06, Chroma de 4,46 e Hue de 43,85 para o bife temperado, sob as condições experimentais estudadas. Conforme os resultados obtidos, a adição de tempero não contribuiu para a alteração dos parâmetros L^* e b^* , mas afetou significativamente ($p \leq 0,05$) os parâmetros a^* , c^* e H^* dos bifos. O bife temperado apresentou valores de a^* e c^* significativamente menores que o bife *in natura*. A cor da carne se deve a presença das três formas de pigmentos (oximioglobina, mioglobina reduzida e metamioglobina) (PARDI *et al.*, 1995; BOBBIO; BOBBIO, 1992; SARANTÓPOULOS; OLIVEIRA; CANAVESI, 2001). A variação entre os teores de cada pigmento é responsável pela variação da coordenada a^* . Baublits *et al.* (2006) sugerem que ocorre uma diminuição da saturação do vermelho quando se aumenta o nível de sal utilizado nos produtos. Este fato pode ocorrer devido o aumento da retenção de água com o aumento da concentração de sal, que pode diminuir a penetração de

oxigênio e/ou maior alcance da molécula de mioglobina, assim permitindo maior proporção de desoximioglobina.

No presente estudo, o valor de H* do bife temperado (Tabela 5) apresentou-se significativamente maior que para o bife *in natura*. O Chroma e o ângulo Hue dão informações sobre as mudanças de cor devido aos diferentes tratamentos. Segundo Cestari (2007), um menor H* indica melhor habilidade para manter a cor vermelho-cereja das carnes. Neste trabalho um aumento do valor de H* significa que a carne tornou-se menos vermelha. Isto talvez possa ser explicado pela composição dos temperos adicionados. Harder *et al.*, (2010) avaliando a coloração de cortes cozidos de frangos alimentados com urucum, verificaram que no frango *in natura* o ângulo hue também teve uma tendência a aumentar conforme o aumento da administração de urucum.

Os valores de L* de 40,66, a* de 5,76, b* de 7,31, Chroma de 9,38 e Hue de 51,99 para bife após aplicação da tecnologia *sous vide* (T0) estão mostrados na Tabela 5. Após o cozimento *sous vide* (T0), percebe-se que houve um aumento significativo ($p \leq 0,05$) de todos os parâmetros de cor avaliados. Pode-se observar que com o cozimento houve um aumento significativo ($p \leq 0,05$) da luminosidade do bife, resultando em uma aparência mais clara como consequência da transformação do pigmento da carne. O aumento da opacidade sobre a superfície da carne causada pelo calor pode ser explicada por perdas de água, enquanto a capacidade de reflectir a luz aumenta, a medida que a sua cor é modificada (GARCÍA-SEGOVIA; ANDRÉS-BELLO; MARTÍNEZ-MONZÓ, 2007).

Com relação ao valor de a*, Gonçalves e Lemos (2005) observaram que o tratamento *sous vide* promoveu uma redução de 41,4% do valor de a*, do cozimento "mal-passado" para o "bem-passado", mostrando uma brusca transformação do rosa avermelhado para o marron-acinzentado. No presente estudo, obteve-se um efeito contrário, o valor de a* do bife aumentou significativamente ($p \leq 0,05$) após aplicação da tecnologia *sous vide* (T0). Isto talvez se deva a adição do corante natural (urucum) usado durante a etapa de tempero.

O valor de b* aumentou significativamente após aplicação da tecnologia *sous vide* (T0) ($p \leq 0,05$) em relação ao bife temperado (Tabela 5). Este comportamento é consequência da transformação do pigmento vermelho da carne para marrom, caracterizando a desnaturação da mioglobina. Segundo Pardi *et al.* (1995) a coloração marrom que toma a carne cozida é devida, em parte, a transformação da mioglobina em metamioglobina e, em parte, a caramelização dos açúcares contidos no músculo.

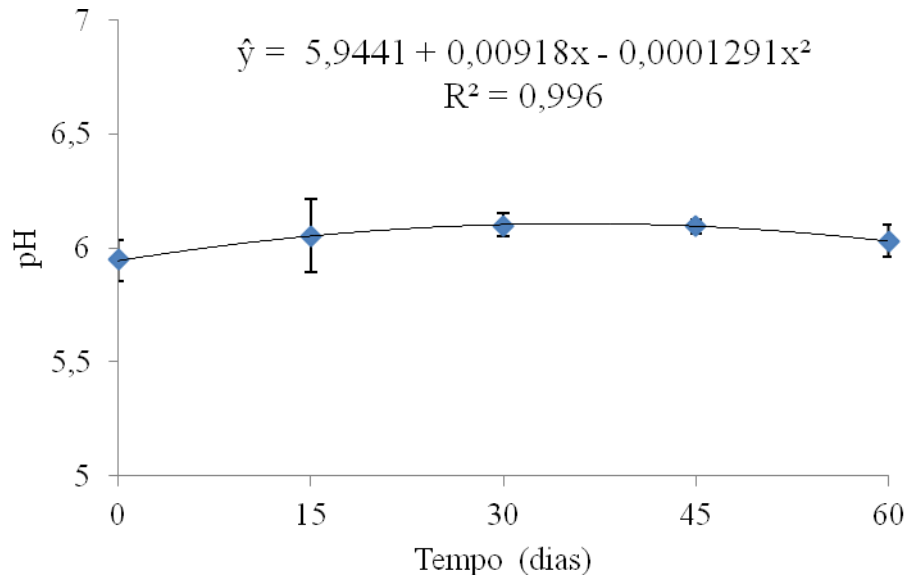
Alteração significativa ($p \leq 0,05$) após aplicação da tecnologia *sous vide* (T0) também foi observada para a coordenada Chroma e Hue (Tabela 5). A cor interna dos bifes se tornou menos vermelha, com ângulo hue maior (carne mais marrom) (YANCEY; WHARTON; APPLE, 2011). O aumento do valor H^* implica que os tratamentos encontram-se afastadas do vermelho, segundo Pulgar, Gázquez e Ruiz-Carrascal (2012), o angulo Hue (H^*) é afetado pelo estado químico da mioglobina e está inversamente relacionada com o valor a^* . No entanto, isto não foi observado neste trabalho no qual ambos os valores de a^* e Hue aumentaram com o cozimento. Isto talvez se deva a adição de temperos utilizados neste experimento, que sob o efeito do cozimento, contribuíram para este comportamento incomum.

5.1.2. Estudo da estabilidade de bife bovino submetido à tecnologia *sous vide* durante armazenamento a 3°C por 60 dias

5.1.2.1. pH

Os valores de pH durante o tempo de armazenamento a 3°C por 60 dias ajustaram-se ao modelo quadrático (Figura 6). Pôde-se verificar que os valores de pH apresentaram variações significativas ($p \leq 0,05$) durante os 60 dias de armazenamento (Apêndice D), sendo o maior valor observado (6,10) nos tempos de 30 e 45 dias de armazenamento (Figura 6). Este comportamento talvez se deva a alterações dos constituintes biológicos do bife durante o armazenamento, contribuindo assim para essa alteração do pH. Conforme Sarantópoulos, Oliveira e Canavesi (2001), embora de forma lenta, os alimentos processados industrialmente mantêm-se em constante atividade biológica, sejam por alterações microbiológicas, físicas, químicas ou enzimáticas, que levam a deterioração da qualidade.

FIGURA 6 - Valores de pH de bife bovino processado pela tecnologia *sous vide* durante armazenamento a 3°C por 60 dias



5.1.2.2. Composição centesimal

O teor de umidade (Tabela 6) não apresentou variações significativas ($p > 0,05$) ao longo dos 60 dias de armazenamento a 3°C (Apêndice E). Este comportamento pode ser explicado pelo uso de embalagem multicamadas, evitando-se assim significativa perda de água, fazendo, portanto, com que o conteúdo aquoso ficasse retido na embalagem. Segundo Sarantópoulos, Oliveira e Canavesi (2001), dentre os benefícios associados ao uso da tecnologia *sous vide* estão a redução de exsudação de líquidos, a retenção de nutrientes, além de impedir a perda de peso e aumentar a vida útil do produto. Resultados diferentes foram observados por García-Linares *et al.* (2004) após o processamento *sous vide*, onde a carne tinha perdido 5% da sua água e esta perda aumentava até a 7% após 45 dias de armazenamento. As diferenças encontradas pelos referidos autores e os resultados aqui encontrados talvez se deva a composição do material de embalagem utilizado.

TABELA 6 - Média \pm desvio-padrão de umidade em bife bovino processado pela tecnologia *sous vide* durante armazenamento a 3°C por 60 dias

Tempo	Umidade (%)
0	69,22 \pm 2,05
15	68,41 \pm 2,06
30	67,67 \pm 1,57
45	68,52 \pm 0,97
60	69,09 \pm 1,96

Com relação ao teor de gordura (Tabela 7), este não apresentou variação significativa ($p > 0,05$) ao longo de 60 dias de armazenamento a 3°C (Apêndice E). A umidade é um fator que influe diretamente na quantidade de nutrientes dos alimentos, devido ao fato de levar a flutuações da proporção dos demais constituintes. Neste estudo, como não foi observado variação significativa no teor de umidade, conseqüentemente não houve variação no teor de gordura.

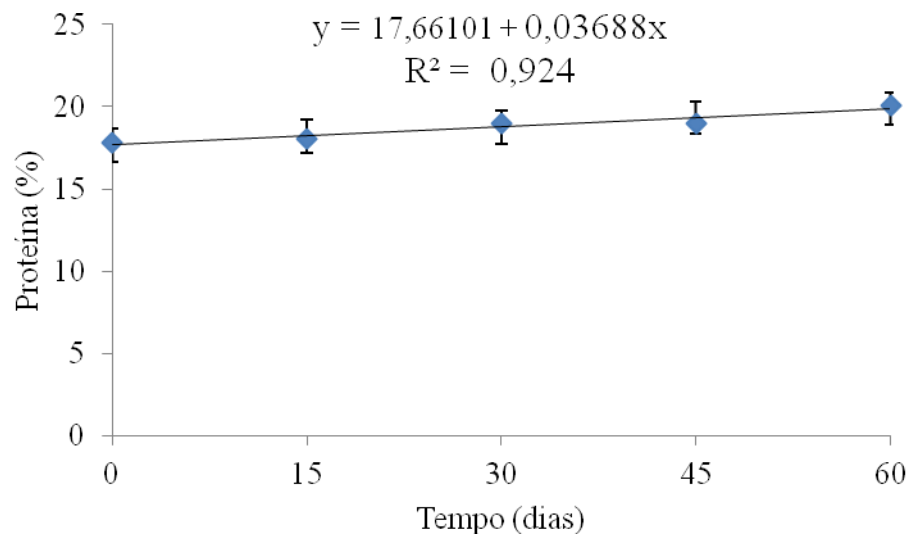
TABELA 7 - Média \pm desvio-padrão de gordura em bife bovino processado pela tecnologia *sous vide* durante armazenamento a 3°C por 60 dias

Tempo	Gordura (%)
0	9,66 \pm 1,67
15	10,34 \pm 1,77
30	10,22 \pm 1,22
45	9,48 \pm 1,12
60	8,58 \pm 2,00

Pode-se observar com relação ao teor de proteína que houve aumento significativo ($p \leq 0,05$) durante o armazenamento a 3°C por 60 dias (Apêndice E), onde o modelo linear se enquadrou aos resultados (Figura 7). Este comportamento pode ser conseqüência da variação da matéria-prima, pois as amostras a cada coleta são consideradas diferentes, uma vez que a

composição das carnes sofre influência de diversos fatores como sexo do animal a ser abatido, idade, alimentação, ente outros. No entanto, em estudo realizado por García-Linares *et al.* (2004) em salmão *sous vide* ao longo dos 45 dias de armazenamento, o teor de proteínas do salmão aumentou. De acordo com os autores isso possivelmente ocorre devido a interação entre os nutrientes quando armazenados durante longos períodos (20 a 45 dias).

FIGURA 7 - Valores de proteína em bife bovino processado pela tecnologia *sous vide* durante armazenamento a 3°C por 60 dias.



Na Tabela 8 podem ser observados os valores médios e desvio-padrão para o teor de cinzas ao longo do armazenamento a 3°C por 60 dias, que variaram de 1,36% a 1,68%, sendo consideradas variações significativas ($p \leq 0,05$). O teor de cinzas teve uma tendência a aumentar até os 45 dias de armazenamento, porém os modelos testados não se ajustaram a estes resultados (Apêndice E). Resultados semelhantes foram observados por García-Linares *et al.* (2004), onde o teor de cinzas aumentou significativamente em truta cozida durante 45 dias de armazenamento.

TABELA 8 - Média \pm desvio-padrão de cinzas em bife bovino processado pela tecnologia *sous vide* durante armazenamento a 3°C por 60 dias

Tempo	Cinzas (%)
0	1,38 \pm 0,15
15	1,41 \pm 0,18
30	1,65 \pm 0,27
45	1,68 \pm 0,41
60	1,36 \pm 0,27

5.1.2.3. Determinação da cor

As médias de luminosidade (L^*) das amostras de bife bovino *sous vide* podem ser observadas na Tabela 9, não havendo efeito de interação significativa ($p > 0,05$) no tempo de armazenamento das amostras estudadas (Apêndice F). Segundo Pulgar, Gázquez e Ruiz-Carrascal (2012), os valores de L^* estão inversamente relacionados com a perda de umidade e parece ser afetado positivamente pelo teor de umidade. Este comportamento pode justificar o fato do valor de L^* não ter variado no presente estudo durante o armazenamento, uma vez que o valor de umidade também não variou.

TABELA 9 - Média \pm desvio-padrão da cor instrumental com relação a coordenada L^* em bife bovino processado pela tecnologia *sous vide* durante armazenamento a 3°C por 60 dias

Tempo	L^*
0	40,66 \pm 2,56
15	37,85 \pm 1,20
30	38,28 \pm 1,91
45	39,63 \pm 3,62
60	38,07 \pm 1,88

A variável a^* que indica a intensidade da cor vermelha apresentou valores com médias variando entre 4,08 a 6,87 durante armazenamento a 3°C (Tabela 10). O valor de a^*

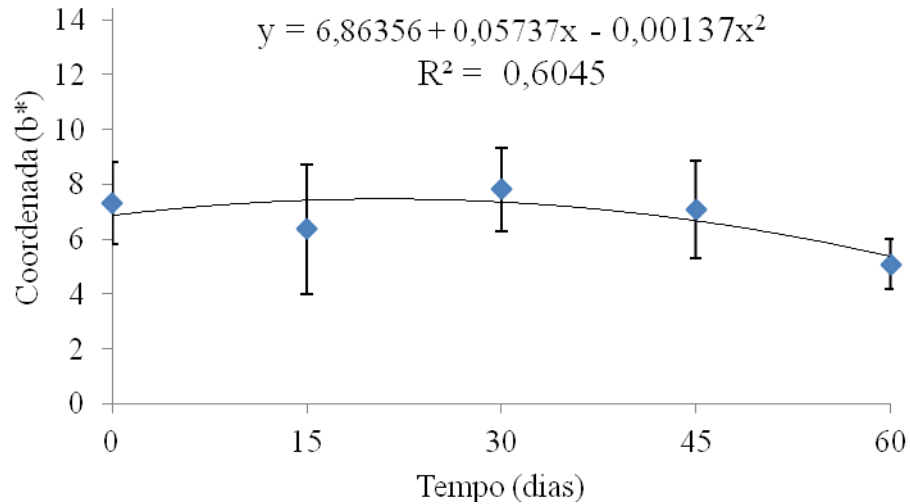
diminuiu significativamente ($p \leq 0,05$) até 60 dias de armazenamento, sendo esta variação mais acentuada após os 30 dias. No entanto os modelos de regressão testados não se ajustaram aos resultados (Apêndice F). A variável a^* indica o teor de vermelho e está relacionada com o pigmento do músculo, a mioglobina. Quanto maior for seu valor, mais vermelha será a carne (ZEOLA *et al.*, 2007). As variações da coordenada a^* podem ser influenciadas tanto pelo cozimento quanto pelo tempo de armazenamento sob vácuo, sendo que quanto menor o valor encontrado, menos intensa é essa tonalidade (PULGAR; GÁZQUEZ; RUIZ-CARRASCAL, 2012). Conforme Seydim *et al.* (2006), uma diminuição do teor de vermelho é devido a oxidação da mioglobina, especialmente quando o pH da carne é superior a 6,0. De acordo com Gonçalves e Lemos (2005), uma forma de avaliar a evolução das perdas da cor é comparar os valores de a^* em cada tratamento e expressá-los em percentagem. De fato, o armazenamento de bifes *sous vide* até 60 dias foi capaz de reduzir o valor de a^* em quase 30%.

TABELA 10 - Média \pm desvio-padrão da cor instrumental com relação a coordenada a^* em bife bovino processado pela tecnologia *sous vide* durante armazenamento a 3°C por 60 dias

Tempo	a^*
0	5,76 \pm 1,14
15	5,01 \pm 1,33
30	6,87 \pm 1,25
45	5,03 \pm 0,94
60	4,08 \pm 0,72

O modelo quadrático se ajustou aos resultados do componente de cor para o teor de amarelo (b^*), obtidos durante 60 dias de armazenamento (Figura 8). Os valores da coordenada b^* variaram significativamente ($p \leq 0,05$) (Apêndice F) de 5,09 a 7,83. Pode-se perceber que com 30 dias de armazenamento a 3°C os bifes submetidos a tecnologia *sous vide* apresentaram os valores mais altos para a coordenada b^* , após os quais diminuíram até os 60 dias de armazenamento (Figura 8).

FIGURA 8 - Valores da coordenada b* em bife bovino processado pela tecnologia *sous vide* durante armazenamento a 3°C por 60 dias.



Os valores de Chroma variaram significativamente ($p \leq 0,05$) de 6,54 a 10,42 no decorrer de 60 dias de armazenamento a 3°C (Tabela 11), porém não houve ajuste dos modelos testados à esses resultados (Apêndice F). Com o aumento dos valores de a^* e b^* durante 30 dias de armazenamento, houve aumento da saturação da cor (c^*), onde se observou o maior valor de Chroma (10,42). Segundo Pomeranz e Meloan, 1971, *apud* Rodrigues, Cunha e Hubinger (2003), o maior valor de Chroma significa a mais pura e intensa cor. Após 30 dias de armazenamento os valores de Chroma tiveram uma tendência a diminuir, resultando em uma cor menos saturada. Segundo Boakye e Mittal (1996) o valor de Chroma descreve a intensidade de cor no que diz respeito à quantidade de luz branca incidida no fundo. Isto pode ter ocorrido neste estudo devido uma interação dos constituintes do alimento, que podem ter contribuído para diminuição da saturação da cor dos bifes.

TABELA 11 - Média \pm desvio-padrão da cor instrumental com relação a coordenada Chroma (c^*) (média \pm desvio-padrão) em bife bovino processado pela tecnologia *sous vide* durante armazenamento a 3°C por 60 dias

Tempo	Chroma
0	9,38 \pm 1,81
15	8,12 \pm 2,66
30	10,42 \pm 1,92
45	8,70 \pm 1,99
60	6,54 \pm 1,01

O ângulo H* apresentou variações significativas ($p \leq 0,05$) ao longo dos 60 dias de armazenamento, porém os modelos testados não se ajustaram aos resultados (Apêndice E). Um menor ângulo de tonalidade indica melhor habilidade para manter a cor das carnes. Os valores variaram de 51,13 a 53,99, apresentando-se de forma aleatória, sendo o maior valor (53,99) observado aos 45 dias de armazenamento a 3°C (Tabela 12). O aumento no ângulo de tonalidade (valores de H*) ao longo do tempo de armazenamento, correlaciona-se bem com a acumulação de metamioglobina na superfície da carne e, portanto, pode dar uma perspectiva de escurecimento da carne (LUCIANO *et al.*, 2011).

TABELA 12 - Média \pm desvio-padrão da cor instrumental com relação a coordenada Hue (H*) em bife bovino processado pela tecnologia *sous vide* durante armazenamento a 3°C por 60 dias

Tempo	Hue
0	51,99 \pm 2,89
15	51,10 \pm 3,20
30	48,53 \pm 2,61
45	53,99 \pm 2,70
60	51,13 \pm 5,25

Nas condições estudadas, verificou-se que os bifes bovinos submetidos à tecnologia *sous vide* não apresentaram perda significativa de pigmentação, apresentando

pouca variação na saturação da cor durante o tempo de armazenamento. A carne cozida por tratamento *sous vide* exibe uma cor mais intensa. As alterações de cor mais importantes são observadas quando se faz uso de curtos tempos e baixas temperaturas (GARCÍA-SEGOVIA; ANDRÉS-BELLO; MARTÍNEZ-MONZÓ, 2007), desta forma a embalagem *sous vide* parece ter favorecido à estabilidade da cor dos bifos bovinos submetidos a tecnologia *sous vide*. Foi observado durante o armazenamento que as alterações de cor se deram principalmente após os 30 dias de armazenamento a 3°C.

5.2. Avaliação sensorial

O exército foi escolhido como local para realização da avaliação sensorial pelo fato de produtos *sous vide* já serem consumidos pela instituição para alimentação coletiva. Analisando o perfil dos 60 provadores que participaram da avaliação sensorial, todos eram homens, na faixa etária de 18 e 25 anos, sendo 56,6% com ensino médio completo. Entre os 60 provadores, 76,6% dos provadores gostam muitíssimo de carne bovina, onde 48,1% relataram o consumo diário e 48,3% semanal, o que expressa uma frequência de consumo alta da maioria dos consumidores.

De acordo com os resultados, observa-se uma tendência expressiva de consumo de carne bovina, conforme Stone e Sidel (1993), este quesito é importante na avaliação sensorial através de estudos com consumidores.

As médias e os respectivos desvios padrão das respostas hedônicas para os bifos bovinos após o processamento *sous vide* (T0) e com 30 dias de armazenamento a 3°C, com relação a cor, aroma, sabor, textura, impressão global e intenção de compra das amostras podem ser visualizados na Tabela 13.

Percebe-se que houve uma aceitação maior pela cor e aroma dos bifos armazenados por 30 dias do que logo após o processamento *sous vide* (T0) (Tabela 13). Observa-se que a porcentagem dos valores de cor para a mostra com 30 dias (7,50) foi maior que para amostra logo após o processamento *sous vide* (T0) (6,75), diferindo significativamente entre si ($p \leq 0,05$). A média de aroma para a amostra com 30 dias de armazenamento (7,70) foi significativamente maior ($p \leq 0,05$) que a amostra logo após o processamento *sous vide* (T0) (7,13), correspondente a “gostei moderadamente”. Resultado semelhante foi encontrado por Armstrong e Mcilveen (2000) em *sous vide* de molho de carne bolonhesa. O produto com 0 dia de armazenamento apresentou menores escores para aroma.

Estes escores mais baixos indicam que o produto 0 dia tinha um aroma menos apetitoso e foi considerado como de qualidade inferior, ocorrendo também diferenças significativas ($p \leq 0,01$) entre 10 e 40 dias para a cor dos produtos.

Não houve diferença significativa ($p > 0,05$) entre as amostras para características de sabor, suculência e textura (Tabela 13). Em relação à impressão global, as amostras também não diferiram significativamente ($p > 0,05$) entre si. Os consumidores classificaram as amostras próximo ao termo hedônico “gostei moderadamente”. Os escores médios das amostras após o processamento *sous vide* (T0) e amostra com 30 dias de armazenamento a 3°C variaram de 7,27 a 7,57, respectivamente.

As respostas para a intenção de compra (Tabela 13) mostram que os escores médios após o processamento *sous vide* (T0) e amostra com 30 dias de armazenamento a 3°C variaram de 3,97 (“talvez comprasse, talvez não comprasse”) a 4,28 (“provavelmente compraria”), respectivamente. No entanto, não houve diferença significativa ($p > 0,05\%$) entre as amostras.

TABELA 13 - Média \pm desvio-padrão para o teste de escala hedônica para análise sensorial dos bifes bovinos após o processamento *sous vide* (T0) e com 30 dias de armazenamento a 3°C, com relação a cor, aroma, sabor, textura, impressão global e atitude de compra das amostras

Atributo sensorial	<i>Sous vide</i> (T0)	30 dias	DMS
Cor	6,75 ^b \pm 1,76	7,50 ^a \pm 1,16	0,435
Aroma	7,13 ^b \pm 1,73	7,70 ^a \pm 1,32	0,5153
Sabor	7,23 ^a \pm 1,82	7,58 ^a \pm 1,61	0,5744
Suculência	6,98 ^a \pm 1,69	7,15 ^a \pm 1,80	0,5509
Textura	7,12 ^a \pm 1,80	7,30 ^a \pm 1,66	0,5264
Impressão global	7,27 ^a \pm 1,94	7,57 ^a \pm 1,44	0,5553
Intenção de compra	3,97 ^a \pm 1,06	4,28 ^a \pm 0,92	0,3479

Teste de médias (Tukey). Médias na mesma linha seguidas de mesma letra não são significativas ao nível de 5% no teste de Tukey. DMS = Diferença Mínima Significativa.

Analisando os histogramas de frequência (Figuras 9 e 10) com relação aos atributos de cor, aroma, sabor, textura, impressão global e intenção de compra, foi possível observar uma ótima aceitação, classificando as amostra entre “gostei muito” e “gostei muitíssimo”.

Na avaliação da impressão global das amostras após o processamento *sous vide* (T0) e com 30 dias de armazenamento a 3°C, todos os atributos das amostras são avaliados ao mesmo tempo. Observando-se a frequência das respostas hedônicas para a impressão global (Figuras 9 e 10), verifica-se uma distribuição das respostas entre todas as categorias da escala com maior frequência entre as categorias referentes a gostar (8), correspondente a “gostei muito”. A amostra após o processamento *sous vide* (T0) obteve 41,67% e a amostra com 30 dias de armazenamento 35% nesta categoria.

Observando-se os percentuais de respostas para a amostra no tempo 0 (Figura 9), verifica-se que estão na faixa de aceitação, tendo em vista que a maior frequência de respostas situa-se na categorias de gostar (8), correspondente a “gostei muito”. Os percentuais de respostas do histograma de frequência para a amostra no tempo 30 dias (Figura 10), mostram um bom nível de aceitação, tendo em vista que a maior frequência de respostas situa-se nas categorias de gostar (8-9).

FIGURA 9 - Histograma de frequência dos resultados da análise sensorial de bife bovino após o processamento *sous vide* (T0), com relação aos valores hedônicos atribuídos a cor, aroma, sabor, suculência, textura e impressão global (9= gostei muitíssimo e 1= desgostei muitíssimo)

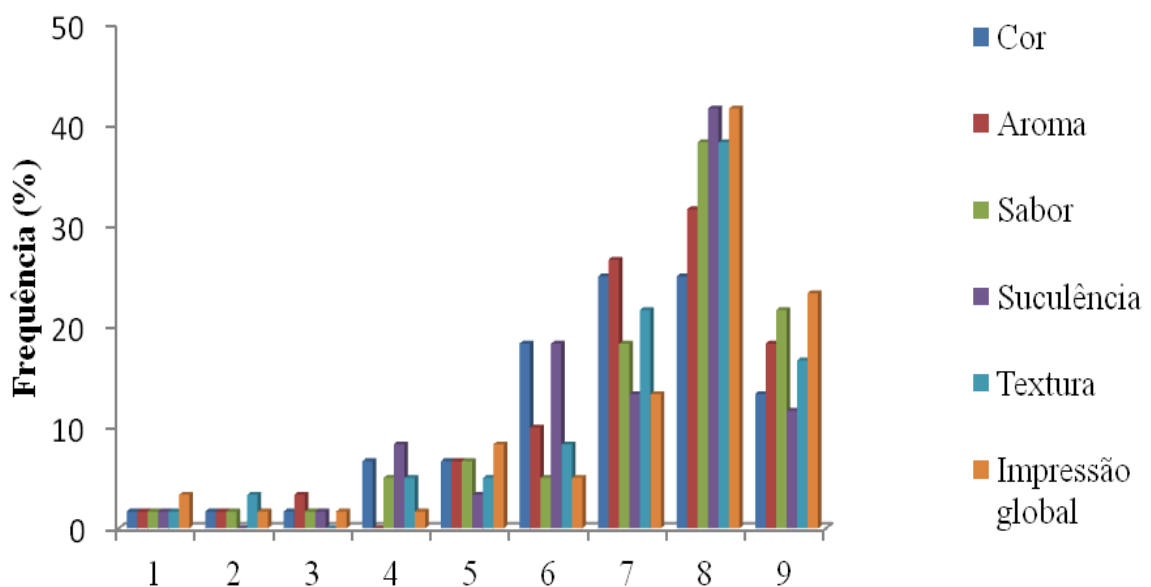
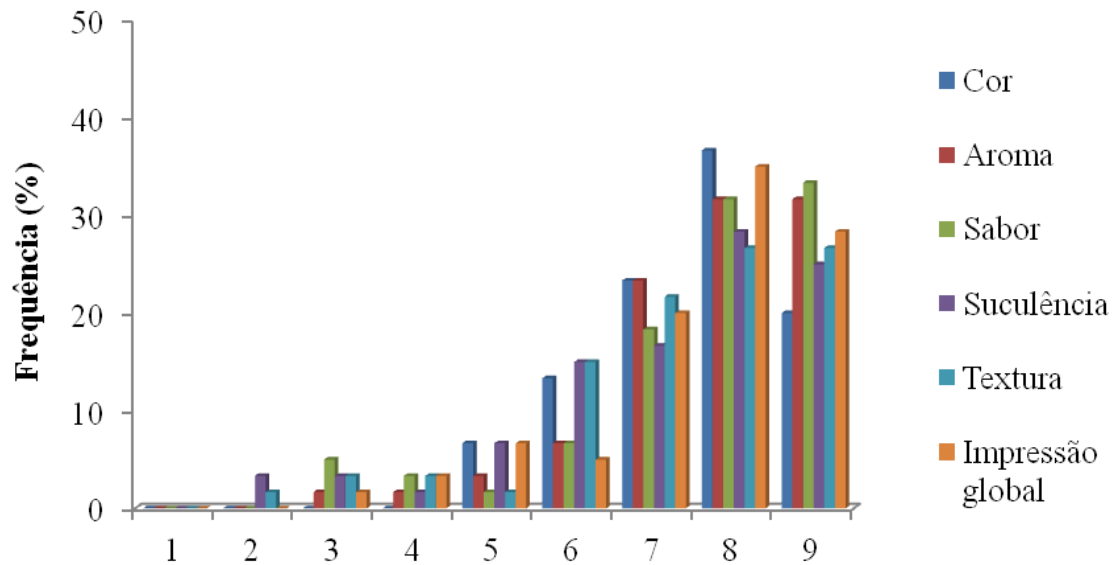


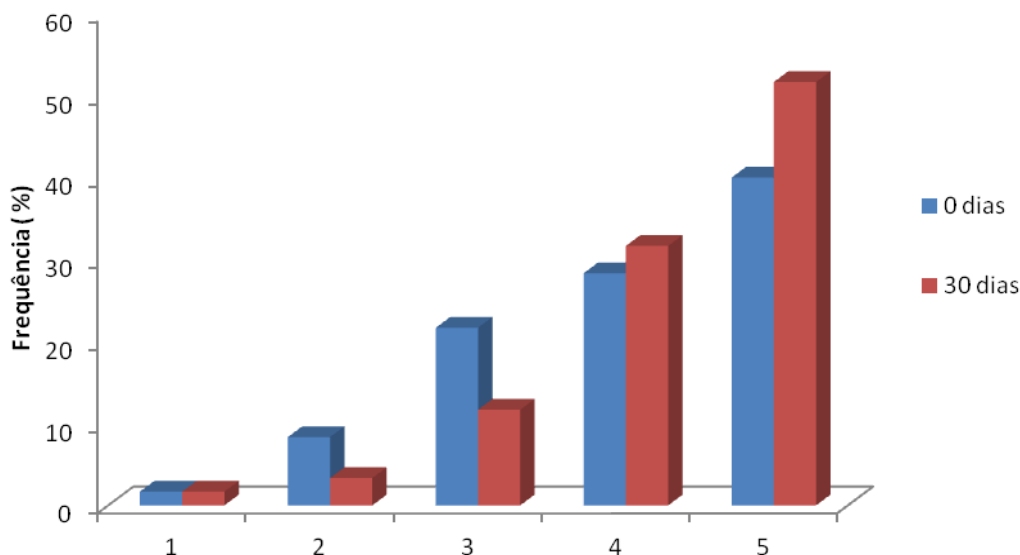
FIGURA 10 - Histograma de frequência dos resultados da análise sensorial de bife bovino com 30 dias de armazenamento a 3°C, com relação aos valores hedônicos atribuídos a cor, aroma, sabor, suculência, textura e impressão global (9= gostei muitíssimo e 1= desgostei muitíssimo)



Verifica-se que a maior frequência de resposta para intenção de compra (Figura 11) situa-se na categoria de compra (5), correspondente a “certamente compraria”. A amostra após o processamento *sous vide* (T0) recebeu percentual de respostas de 40%, enquanto que a amostra com 30 dias de armazenamento recebeu percentual de resposta de 51,67%.

O armazenamento por 30 dias a 3°C parece não ter contribuído para a alteração de sabor, suculência, textura, impressão global e intenção de compra dos bifes até 30 dias de armazenamento. Os resultados deste estudo confirmam o potencial tecnológico do músculo *Supraspinatus* para a elaboração de bife *sous vide*, e sua viabilidade de produção e comercialização para consumo humano. Isto indica que os bifes *sous vide* podem ser armazenados com sucesso até a 30 dias a 3°C e ser de qualidade sensorial aceitável para os consumidores. Estes resultados concordam com aqueles obtidos a partir da avaliação de *sous vide* de molho de carne bolonhesa (ARMSTRONG; MCILVEEN, 2000).

FIGURA 11 - Histograma de frequência dos resultados da análise sensorial de bife bovino após o processamento *sous vide* (T0) e com 30 dias de armazenamento a 3°C, com relação aos valores atribuídos a intenção de compra (5= Certamente compraria e 1 = Certamente não compraria)



5.3. Análises microbiológicas

Os resultados da avaliação microbiológica de bactérias mesófilas são apresentados na Tabela 14. Foram encontrados valores médios de contagens entre 5,11 \log_{10} a 5,36 \log_{10} UFC/g bactérias aeróbias mesófilas em bife *in natura* e contagens entre 4,73 \log_{10} a 5,08 \log_{10} UFC/g de bactérias aeróbias mesófilas em bife temperado. Em estudo realizado por Lins (2001) em peixinho bovino moído fresco foi encontrado, em média, 3,3 \log_{10} UFC/g de carne de bactérias aeróbias mesófilas. Nas cinco coletas realizadas, verificou-se que o bife *in natura* apresentou o mesmo nível de contaminação com bactérias mesófilas e com a adição de tempero (alho, sal, óleo e urucum) ocorrendo uma redução de um ciclo logaritmo na última coleta. Estes resultados podem estar relacionados com a atividade antimicrobiana do alho. Em estudo realizado por Indu *et al.* (2006) foi avaliada a atividade antimicrobiana de extratos de alho (*Allium sativum*) sobre 20 sorotipos de *Escherichia coli*, 8 sorotipos de *Salmonella*, *Listeria monocytogenes* e *Aeromonas hydrophila*. O alho apresentou atividade antimicrobiana excelente sobre todos os microrganismos testados, exceto para *L. monocytogenes*.

TABELA 14 - Valores médios de contagem de bactérias mesófilas (UFC/g) em bife bovino *in natura*, bife bovino temperado e bife bovino após processamento *sous vide* (T0)

Bife	COLETAS				
	1° Coleta	2° Coleta	3° Coleta	4° Coleta	5° Coleta
<i>In natura</i>	5,36 log ₁₀	5,11 log ₁₀	5,36 log ₁₀	5,15 log ₁₀	5,30 log ₁₀
Temperado	5,15 log ₁₀	5,58 log ₁₀	5,15 log ₁₀	5,08 log ₁₀	4,73 log ₁₀
<i>Sous vide</i> (T0)	<10	<10	<10	<10	<10

As contagens médias de coliformes totais e *E. coli* podem ser encontradas nas Tabelas 15 e 16, respectivamente. Nas amostras *in natura* foram encontrados valores médios de contagens entre 2,73 e 3,66 log₁₀ UFC/g de coliformes totais e contagens entre 1,90 e 2,65 log₁₀ UFC/g de *E. coli*. Enquanto que nas amostras temperadas foram encontrados valores médios de contagens de 2,76 e 3,68 log₁₀ UFC/g de coliformes totais e 1,54 e 2,76 log₁₀ UFC/g de *E. coli*. No bife temperado, com relação aos coliformes totais, observou-se redução de um ciclo logarítmico na última coleta, enquanto que para *E. coli* ocorreu redução na 3° e 5° coleta, esta redução talvez seja atribuída a ação antimicrobiana do alho utilizado na etapa de tempero dos bifés.

TABELA 15 - Valores médios de pesquisa de coliformes totais (UFC/g) em bife bovino *in natura*, bife bovino temperado e bife bovino após processamento *sous vide* (T0)

Bife	COLETAS				
	1° Coleta	2° Coleta	3° Coleta	4° Coleta	5° Coleta
<i>In natura</i>	3,66 log ₁₀	3,11 log ₁₀	2,73 log ₁₀	2,80 log ₁₀	3,04 log ₁₀
Temperado	3,68 log ₁₀	3,28 log ₁₀	2,93 log ₁₀	2,86 log ₁₀	2,76 log ₁₀
<i>Sous vide</i> (T0)	<10	<10	<10	<10	<10

TABELA 16 - Valores médios de pesquisa de *E. coli* (UFC/g) em bife bovino *in natura*, bife bovino temperado e bife bovino após processamento *sous vide* (T0)

Bife	COLETAS				
	1° Coleta	2° Coleta	3° Coleta	4° Coleta	5° Coleta
<i>In natura</i>	1,90 log ₁₀	2,62 log ₁₀	2,20 log ₁₀	2,38 log ₁₀	2,65 log ₁₀
Temperado	1,90 log ₁₀	2,76 log ₁₀	1,54 log ₁₀	2,52 log ₁₀	1,30 log ₁₀
<i>Sous vide</i> (T0)	<10	<10	<10	<10	<10

Com relação aos bolores e leveduras, foram encontrados valores médios de contagens entre 2,53 e 3,08 log₁₀ UFC/g em bife *in natura* e contagens entre 2,68 e 3,36 log₁₀ UFC/g de bolores e leveduras em bife temperado, conforme Tabela 17.

TABELA 17 - Valores médios de contagem de bolores e leveduras (UFC/g) em bife bovino *in natura*, bife bovino temperado e bife bovino após processamento *sous vide* (T0)

Bife	COLETAS				
	1° Coleta	2° Coleta	3° Coleta	4° Coleta	5° Coleta
<i>In natura</i>	3,08 log ₁₀	2,90 log ₁₀	3,08 log ₁₀	3,30 log ₁₀	2,53 log ₁₀
Temperado	3,36 log ₁₀	3,26 log ₁₀	3,36 log ₁₀	3,28 log ₁₀	2,68 log ₁₀
<i>Sous vide</i> (T0)	<10	<10	<10	<10	<10

Não foi verificada presença de *Salmonella* sp/25g, contagens de *Bacillus cereus* e Clostridium Sulfito Redutores a 46°C nas amostras de bife bovino *in natura* e bife temperado. Em três coletas de bife *in natura* foram isoladas espécies do gênero *Listeria*, onde *L. monocytogenes* foi identificada nas amostras da 1ª e 3ª coletas, enquanto *L. innocua* foi identificada na amostra da 2ª coleta. *L. monocytogenes* foi isolada na 1ª coleta do bife temperado. Segundo Jay (2005), a *Listeria* é uma bactéria ambiental, está amplamente distribuída na natureza, podendo estar presente em carnes, sendo a *L. monocytogenes* o patógeno de maior importância para o homem. Segundo Henriques (2008), um tratamento térmico que seja eficaz para *L. monocytogenes*, considerada uma bactéria patogênica não produtora de esporos mais resistente ao tratamento, também o será para outras formas vegetativas de bactérias patogênicas não produtoras de esporos como *Salmonella* spp., *S.*

aureus, *Y. enterocolitica*, *V. parahaemolyticus* e *E. coli* O157:H7 que possam estar presentes no alimento.

As amostras de bife bovino *in natura* e bife temperado apresentaram contagens de coliformes fecais, Clostridium sulfito redutores a 46°C e *Salmonella* sp. dentro dos limites estabelecidos para carne bovina segundo RDC nº 12 (BRASIL, 2001).

O processo térmico (80°C/5h e resfriamento a 3°C/1h) empregado no bife bovino *in natura* foi eficiente na eliminação de células vegetativas viáveis de bactérias aeróbias mesófilas (Tabela 14), coliformes totais (Tabela 15), *E. coli* (Tabela 16) e bolores e leveduras (Tabela 17).

Não foi verificada *Salmonella* sp/25g, *Listeria*, contagens de *Bacillus cereus*, Clostridium Sulfito Redutores a 46°C, *E. Coli*, coliformes totais, bactérias mesófilas e bolores e leveduras nas amostras de bife bovino submetidos a tecnologia *sous vide* e durante estudo de estabilidade por 60 dias de armazenamento a 3°C. Isto se deve ao fato das células vegetativas dos micro-organismos estudados serem sensíveis à temperatura relativamente baixas. Em estudo realizado por Nyati (2000), *Listeria monocytogenes*, *Salmonella*, *Clostridium perfringens*, *Bacillus cereus* e *Enterobacteriaceae* não foram detectados em nenhuma das amostras de carne e de frango processados por tecnologia *sous vide* a uma temperatura de 70°C/2 min, apesar da presença de todos estes micro-organismos nas matérias-primas. Segundo Neusely *et al.* (2007), poucos minutos de permanência a 65,5°C são suficientes para destruir bolores, leveduras e bactérias, na maioria dos casos. Segundo Jay (2005), as carnes são produtos susceptíveis tanto a bactérias quanto a bolores e levedura, isso se deve ao seu pH. Segundo Silva *et al.* (2007), os produtos com pH maior que 4,6 permitem o crescimento da maioria dos micro-organismos, porque o pH não é restrito, portanto, tanto espécies patogênicas quanto não patogênicas podem crescer, incluindo esporogênicas e não esporogênicas.

Nos bifés processados por tecnologia *sous vide* em todas as coletas realizadas e tempos estudados, verificou-se a presença de esporos de bactérias aeróbios mesófilos (AEM), exceto na 1ª coleta no tempo de 15 dias (Tabela 21). Segundo Silva *et al.* (2007), esse grupo cresce melhor a 35°C do que a 55°C, sendo algumas cepas capazes de crescer acima de 50°C. Fazem parte desse grupo as espécies de *Bacillus licheniformis*, *Bacillus cereus*, *Paenibacillus macerans* e *Paenibacillus polymyxa*, cujos esporos são menos resistentes do que as bactérias termófilas.

A ocorrência de esporos de bactérias aeróbias termófilas facultativas (AETF) foi constatada em três amostras de bife *sous vide* no tempo de 15 dias (4° coleta), 30 dias e 45 dias (5° coleta) (Tabela 19). Conforme Silva *et al.* (2007) as células vegetativas desse grupo crescem bem a 55°C e abaixo de 37°C, ao contrário das termófilas estritas. As espécies típicas deste grupo são *Bacillus coagulans* e *Alicyclobacillus acidoterrestris*, esporos bem menos resistentes que os dos termófilos estritos.

A constatação de esporos de bactérias aeróbias mesófilas (AEM) e aeróbias termófilas facultativas (AETF) indicam a necessidade de um efetivo controle durante as etapas de acondicionamento, selagem a vácuo e manuseio das embalagens dos produtos *sous vide* para que não ocorra entrada de oxigênio que ofereça condições para esses esporos germinarem, conduzindo ao crescimento tanto de bactérias deteriorantes como de patogênicos.

Foram verificados esporos de bactérias anaeróbias termófilas (ANT) no tempo 0 da 5° coleta (Tabela 18). Estas bactérias crescem bem a 55°C ou em temperatura mais alta e não crescem em temperaturas inferiores a 37°C. São espécies típicas desse grupo em alimentos *Thermoanaerobacterium thermosaccharolyticum* e *Desulfotomculum nigrificans*, cujos esporos estão entre os mais resistentes ao calor e não crescem em condições ácidas (SILVA *et al.*, 2007). A presença de esporos de bactérias anaeróbios termófilos não é muito significativo para produtos *sous vide*, pois são bactérias deteriorantes que crescem a 55°C e estes produtos são mantidos em temperaturas de refrigeração ou congelamento.

TABELA 18 - Bactérias formadoras de esporos em bife bovino processado pela tecnologia *sous vide* durante armazenamento a 3°C por 60 dias

Tempo (dias)	Coletas				
	1° coleta	2° coleta	3° coleta	4° coleta	5° coleta
0	AEM, ANMF	AEM	AEM, ANMF	AEM, ANM	AEM, ANMF, ANT
15	ND	AEM	AEM, ANMF	AEM, AETF	AEM
30	AEM	AEM, ANMF	AEM	AEM	AEM, AETF
45	AEM	AEM	AEM	AEM	AEM, AETF
60	AEM	AEM	AEM	AEM	AEM

AEM: esporos de bactérias aeróbios mesófilos; **AETF:** esporos de bactérias aeróbias termófilas facultativas; **ANT:** esporos de bactérias anaeróbias termófilas; **ANMF:** esporos de anaeróbias mesófilas facultativas; **ANM:** esporos de anaeróbias mesófilas; **ND:** não detectado.

Esporos de anaeróbias mesófilas facultativas (ANMF) foram constatados com 0 dia de armazenamento da 3° e 5° coleta, com 15 dias da 3° coleta e 30 dias da 2° coleta (Tabela 19). Também foi constatado esporos de anaeróbias mesófilas (ANM) com 0 dia de armazenamento (Tabela 18). Esporos de anaeróbios mesófilos indica a presença do gênero *Clostridium* que apresentam espécies deteriorantes e patogênicas como o *C. Botulinum*. Os clostrídios proteolíticos (putrefativos) (*C. sporogenes*, *C. bifermentans*, *C. putrefasciens*, *C. hystolyticum* e *C. botulinum* tipos A e B) produzem esporos de maior resistência térmica e os clostridium não proteolíticos (sacarolíticos) produzem esporos pouco resistentes ao calor, comparados aos dos putrefativos (SILVA *et al.*, 2007).

De acordo com Molins (2009), a grande preocupação é que estes alimentos são preparados e submetidos a um tratamento térmico insuficiente para garantir a esterilidade. São resfriados rapidamente e, finalmente, armazenado sob temperatura de refrigeração ou congelamento. A queda rápida da temperatura inibe o crescimento de micro-organismos deteriorantes e agentes patogênicos na forma vegetativa e esporos. Diversos autores têm estudado os efeitos do abuso de temperatura em produtos *sous vide*. Nyati (2000) observou que enquanto alguns produtos tinham níveis microbianos aceitáveis de 10^2 a 10^4 UFC/g depois de três semanas, armazenados a 8°C, outros, tais como frango apresentou contagens acima de 10^6 UFC/g até a segunda semana de armazenamento. *B. cereus* em contagens de $> 3 \times 10^4$ UFC/g foi isolado de amostras de frango estragado na quarta semana de armazenamento a 8°C.

A manutenção dos bifes *sous vide* sob refrigeração em temperatura $\leq 3^\circ\text{C}$ logo após tratamento térmico deve ser monitorado e registrado tanto durante armazenamento refrigerado, como transporte, entrega e na etapa de preparo. É fundamental o treinamento do pessoal nessas etapas para que não ocorra a quebra da cadeia do frio e o risco de uma doença transmitida por alimento.

É importante ressaltar que os bifes submetidos à tecnologia *sous vide* não devem ficar a temperatura ambiente antes do processamento, pois a permanência do produto formulado por períodos prolongados, antes da aplicação do tratamento térmico, pode permitir a multiplicação de micro-organismos.

Os tratamentos térmicos reduzem a contagem de bactérias e selecionam os tipos de bactérias que sobrevivem e que possivelmente irão crescer em temperatura de armazenamento refrigerado. *Clostridium botulinum* psicotróficos e *B. Cereus* são uma preocupação especial em alimentos *sous vide*, devido à sua capacidade para sobreviver a um

tratamento térmico brando e seu subsequente crescimento durante o armazenamento refrigerado (BORCH; ARINDER, 2002). Os esporos bacterianos são estruturas de resistência das bactérias, desta forma em condições adversas, permanecem em estado de dormência e, em condições favoráveis, germinam e dão origem a novas células vegetativas. Segundo Vaudagna *et al.* (2002) a pasteurização de músculo bovino *sous vide* utilizando temperaturas de 50 a 65°C e tempos de 90 a 360 min foi um tratamento térmico suficiente para inativar as células vegetativas, mas foi insuficiente para atingir uma redução significativa nos esporos de *C. botulinum*.

CONCLUSÕES

Os bifes *in natura* e temperado apresentaram parâmetros microbiológicos satisfatórios de acordo com a RDC n° 12 (BRASIL, 2001).

O tratamento térmico de 80°C/5 horas seguido de resfriamento a 3°C/1h aplicado para obtenção de bife bovino *sous vide* foi eficiente na eliminação de células vegetativas de micro-organismos patogênicos e deteriorantes presentes nos bifes *in natura* e temperado.

A contaminação de esporos de bactérias aeróbias e anaeróbias em bife *sous vide* armazenados a 3°C durante estocagem por 60 dias mostram a necessidade de um rígido controle de processo até o preparo do produto, visando manter sua qualidade e principalmente sua inocuidade.

O método de cozimento *sous vide* demonstrou que foi eficiente na obtenção de um produto final com uma maior retenção de nutrientes (proteína e gordura), após o cozimento (T0). Este fato sugere o potencial do alimento *sous vide* em cozinhar a carne mantendo o valor nutritivo, já que os nutrientes ficarão retidos na embalagem.

O estudo da estabilidade dos bifes bovinos *sous vide* permitiu observar alterações ao longo de 60 dias de armazenamento para pH, cinzas, proteína, a*, b*, Chroma e Hue, sendo as principais alterações observadas após 30 dias de armazenamento.

A avaliação sensorial dos bifes *sous vide* com 0 e 30 dias de armazenamento a 3°C foram similares ($p > 0,05$) em sabor, suculência, textura e impressão global. Isto indica que os bifes *sous vide* podem ser armazenado com sucesso até a 30 dias a 3°C e ser de qualidade sensorial aceitável para os consumidores.

Nas condições do estudo, a tecnologia *sous vide* apresenta-se como uma excelente alternativa para o mercado de carne, como uma forma de agregar valor a carnes consideradas de segunda, como o músculo *Supraspinatus* e aumentar a vida útil, sem recorrer à adição de conservantes ou aditivos. Os resultados mostram a viabilidade de produção e comercialização para consumo humano deste tipo de produto.

REFERÊNCIAS

- ABERC - ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DAS EMPRESAS DE REFEIÇÕES COLETIVA. **Mercado real de Refeições**. São Paulo: ABERC, 2012. Disponível em: <<http://www.aberc.com.br/mercadoreal.asp?IDMenu=21>>. Acesso em: 03 set. 2012.
- ABERLE, E. D.; FORREST, J. C.; GERRARD, D. E.; MILLS, E. W.; **Principles of meat science**. 4^a ed. Kendall/Hunt, Iowa, 354p, 2001.
- ABIEC - Associação Brasileira das Indústrias Exportadoras de Carnes. Estatística: **Mercado Mundial de Carne Bovina**. Disponível em: <http://www.abiec.com.br/download/stat_mercadomundial.pdf>. Acesso em: 15 dez. 2010.
- ABIEC - Associação Brasileira das Indústrias Exportadoras de Carnes. **Corte Peixinho bovino**. Disponível em: <http://www.abiec.com.br/3_cortes.asp>. Acesso em: 06 dez. 2011.
- ALVES, F.S. **A Organização da Produção de Unidades de Alimentação e Nutrição**. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Santa Catarina, Programa de Pós-Graduação em Administração. 158f. Florianópolis, 2005.
- ANDRADE, E. C. B.; BARROS, A. M.; MELLO, V. S.; TAKASE, I. **Avaliação do teor de cobre e zinco em carnes cruas, processadas termicamente, resfriadas e congeladas no período de um mês**. Ciência e Tecnologia de Alimentos, Campinas, v. 24, n. 3, p. 393-396, jul.-set. 2004.
- AOAC (ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTRY). **Official methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemistry**. 12th ed. Washington: D.C, 1115p. 2005.
- APHA (AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION). **Compendium of methods for the microbiological examination of foods**. Washington, 676p. 2001.
- ARMSTRONG, G. A.; MCILVEEN, H. **Effects of prolonged storage on the sensory quality and consumer acceptance of sous vide meat-based recipe dishes**. Food Quality and Preference, v. 11, p. 377-385, 2000.
- BAUBLITS, R.T.; POHLMAN, F.W.; BROWN JR, A.H.; YANCEY, E.J.; JOHNSON, Z.B. **Impact of muscle type and sodium chloride concentration on the quality, sensory, and instrumental color characteristics of solution enhanced whole-muscle beef**. Meat Science, v. 72, p.704–712, 2006.
- BRASIL. Agência Nacional de Vigilância sanitária (ANVISA). 2001. Regulamento Técnico Sobre **Padrões Microbiológicos Para Alimentos**. Resolução - RDC n^o 12, de 2 de janeiro de 2001. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/legis/resol/12_01rdc.htm>. Acesso: 08 nov. 2010.
- BETTS, G.D.; GAZE, J.E. **Growth and heat resistance of psychrotrophic *Clostridium botulinum* in relation to 'sous vide' products**. Food Control, v. 6, n. 1, p. 57-63, 1995.

BOAKYE, K. e MITTALB, G. S. **Changes in Colour of Beef *M. longissimus dorsi* Muscle During Ageing**. Meat Science, v. 42, n. 3, p. 347-354, 1996.

BOBBIO, P. A.; BOBBIO, F. O. **Química do processamento de alimentos**. 2ª ed. São Paulo: Varela, 1992.

BOLTON, D. J.; MCMAHON, C. M.; DOHERTY, A. M.; SHERIDAN, J. J.; MCDOWELL, D. A.; BLAIR, I. S.; HARRINGTON, D. **Thermal inactivation of *Listeria monocytogenes* and *Yersinia enterocolitica* in minced beef under laboratory conditions and in sous-vide prepared minced and solid beef cooked in a commercial retort**. Journal of Applied Microbiology, v. 88, p. 626-632, 2000.

BORCH, E.; ARINDER, P. **Bacteriological safety issues in red meat and ready-to-eat meat products, as well as control measures**. Meat Science, v. 62, p. 381–390, 2002.

BORGES, A. S.; ZAPATA, J. F. F.; GARRUTI, D. S.; RODRIGUES, M. C. P.; FREITAS, E. R.; PEREIRA, A. L. F. **Medições instrumentais e sensoriais de dureza e suculência na carne caprina**. Ciência e Tecnologia de Alimentos, Campinas, v. 26, n. 4, p. 891-896, out.-dez. 2006.

BUSCH, K.; ZENTEC, J.; WORTMANN, F. J.; BIOURGE, V. **UV light, temperature, and humidity effects on white hair color in dogs**. American Society for Nutritional Sciences. Journal of Nutrition. v. 134, p. 2053-2055, 2004.

CAIXETA, J. S. **Agroindústria: abate e preparação de carne, padronização de cortes de carne bovina**. Ciência da Informação, v. 24, n. 3, 1995.

CASTANHEIRA, F. **Cook-chill**. Faculdade de Ciência da Nutrição e Alimentação Universidade do Porto, 2009.

CASTILLO, C. J. C. **Qualidade da carne**. São Paulo: livraria varela, 240p, 2006.

CESTARI, L. A. **Carne bovina reestruturada com transglutaminase: desenvolvimento e determinações de cor e textura**. Dissertação (mestrado). Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Engenharia de Alimentos. Campinas, SP: [s.n.], 2007.

CHURCH, I. J.; PARSONS, A. L. **The sensory quality of chicken and potato products prepared using cook–chill and sous vide methods** International Journal of Food Science and Technology, v. 35, p. 155–162, 2000.

CREED, P. G. **The sensory and nutritional quality of ‘sous vide’ foods**. Sous-Vide Revie. Food Control, v. 6, n. 1. p. 4-52, 1995.

CREED, P. G. **The potential of foodservice systems for satisfying consumer needs**. Inovative Food Science & Emerging Technologies, v. 2, p. 219 – 227, 2001.

DÍAZ, P.; GARRIDO, M. D.; BAÑÓN, S. **The effects of packaging method (vacuum pouch vs. plastic tray) on spoilage in a cook-chill pork-based dish kept under refrigeration**. Meat Science, v. 84, p. 538–544, 2010.

DÍAZ, P.; NIETO, G.; GARRIDO, M. D.; BAÑÓN, S. **Microbial, physical–chemical and sensory spoilage during the refrigerated storage of cooked pork loin processed by the *sous vide* method.** *Meat Science*, v. 80, p. 287–292, 2008.

DUTCOSKY, S. D. **Análise sensorial de alimentos.** Curitiba: Champagnat, 123p, 1996.

FARIA, D. S.; GIANGARELI, B. L.; GODRIM, J. S.; PEREIRA, C. S.; BRIDI, A. M.; FAGAN, E. P.; CONSTANTINO, C.; BOLFE, F. C. **Estabilidade da cor da carne de bovinos armazenada sob refrigeração. XXI CONGRESSO BRASILEIRO DE ZOOTECNIA.** Universidade Federal de Alagoas. Maceió, maio 2011.

FDA. Food and Drug Administration. **Food Code - Annex 6 Food Processing**, 2001a. Disponível em:

<<http://www.fda.gov/Food/FoodSafety/RetailFoodProtection/FoodCode/FoodCode2001/ucm089315.htm>> Acesso em: 16 dez. 2010.

FDA. ***Bacillus cereus***. Bacteriological Analytical Manual. Chapter 14. Food Drug Administration (FDA), January 2001b. Disponível em:

<http://www.fda.gov/Food/ScienceResearch/LaboratoryMethods/BacteriologicalAnalyticalManualBAM/UCM070875>> Acesso em: 06 jan 2011.

FDA. ***Salmonella***. Bacteriological Analytical Manual (BAM). 2007. Chapter 5. Food Drug Administration (FDA). December 2007 Edition. Disponível em:

<<http://www.fda.gov/Food/ScienceResearch/LaboratoryMethods/BacteriologicalAnalyticalManualBAM/UCM070149>> Acesso em: 06 jan 2011.

FOX, J.B. **Los pigmentos de la carne. In: Ciencia de La Carne Y de Los Productos Cárnicos** (edited by J.F. Price & B.S. Schweigert). p. 175–198. Spain: Editorial Acribia, 1994.

GALIMPIN-JOHAN, S. M. C.; RAHMAN, R. A.; JAMILAH, B.; MAN, Y. B. C.; RUSUL, G. **Pasteurization, development and storage of *sous vide* rending (spicy beef stew).** *Journal Compilation, Blackwell Publishing Journal Of Foodservice*, v. 18, p. 251–263, 2007.

GARCÍA-LINARES, M.C.; GONZALEZ-FANDOS, E.; GARCÍA-FERNÁNDEZ, M.C.; GARCÍA-ARIAS, M.T. **Microbiological And Nutritional Quality Of *Sous Vide* Or Traditionally Processed Fish: Influence Of Fat Content.** *Journal of Food Quality*, v. 27, p. 371–387, 2004.

GARCÍA-SEGOVIA, P.; ANDRÉS-BELLO, A.; MARTÍNEZ-MONZÓ, J. **Effect of cooking method on mechanical properties, color and structure of beef muscle (*M. pectoralis*).** *Journal of Food Engineering*, v.80, p. 813–821, 2007.

GHAZALA, S.; RAMASWAMY, H.S.; SMITH, J.P.; SIMPSON, M.V. **Thermal process simulations for *sous vide* processing of fish and meat foods.** *Food Research International*, v. 28, n. 2, p. 117-122, 1995.

GONÇALVES, J. R. ; LEMOS, A. L. S. C. **Efeitos do grau de cozimento na qualidade de cortes de *Supraspinatus* acondicionado a vácuo em embalagem *cook-in*.** *Ciênc. Tecnol. Aliment.*, Campinas, v. 25, n. 2, p. 358-362, abr.-jun. 2005.

GONÇALVES, J. R.; OLIVEIRA, J.; BARBIERO, R. **Nota Prévia - Características da Carne (Músculo *Supraspinatus*) Embalada a Vácuo e Cozida até a Condição de “Malpassada” e “Bem-Passada”**. Braz. J. Food Technol., v. 5, p. 67-71, 2002.

GORRIS, L.G. M. **The Concept of Combined Processing (“Hurdle Technology”) for Minimally Processing of Food. In: Proceedings of the first main meeting. Minimal & Combined Processes**. Escola Superior de Biotecnologia, v. 5, Porto, Portugal, Dez. 1995.

HARDER, M. N. C.; SPADA, F. P.; SAVINO, V. J. M.; COELHO, A. A. D.; CORRER, E.; MARTINS, E. **Coloração de cortes cozidos de frangos alimentados com urucum**. Ciência e Tecnologia de Alimentos, Campinas, v. 30, n. 2, p. 507-509, abr.-jun. 2010.

HENRIQUES, A. R. B. C. S. **Avaliação da vida útil de refeições “cook-chill” e “cook-freeze”**: Indicadores microbiológicos, físico-químicos e sensoriais. Dissertação de mestrado. UNIVERSIDADE TÉCNICA DE LISBOA. FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA. Lisboa, 2008.

Hill, M. A. **Vitamin retention in microwave cooking and cook-chill foods**. Food Chemistry, v. 49, p. 131-136, 1994.

IAL (INSTITUTO ADOLFO LUTZ). **Métodos físico-químicos para análise de alimentos**. coordenadores Odair Zenebon, Neus Sadocco Pascuet e Paulo Tiglea, 4ª ed., São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, p. 1020, 2008.

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Indicadores IBGE Estatística da Produção Pecuária**. Setembro de 2010. p. 4 -22. Disponível em: <http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/indicadores/agropecuaria/producaoagropecuaria/aba-te-leite-couro-ovos_201002_publ_completa.pdf>. Acesso: 13 dez. 2010.

INDU, M. N.; HATHA, A.A.M.; ABIROSH; C.; HARSHA, U.; VIVEKANANDAN, G. **Antimicrobial Activity of Some of the South-Indian Spices Against Serotypes of *Escherichia Coli*, *Salmonella*, *Listeria Monocytogenes* and *Aeromonas Hydrophila***. Brazilian Journal of Microbiology, n. 37, p. 153-158, 2006.

JAY, James M. **Microbiologia de Alimentos**, 6ª Ed., Porto Alegre: Artmed, p. 658-659, 2005.

JEONG, J-Y; KIM, G-D; YANG, H-S; JOO, S-T. **Effect of freeze–thaw cycles on physicochemical properties and color stability of beef *semimembranosus* muscle**. Food Research International, v. 44, p. 3222–3228, 2011.

JUNEJA, V. K.; MARKS, H. M. **Characterizing asymptotic *D*-values for *Salmonella* spp. subjected to different heating rates in *sous-vide* cooked beef**. Innovative Food Science and Emerging Technologies, v. 4, p. 395–402, 2003.

KAWASAKI, V. M. **Custo-efetividade da produção de refeições coletivas seguras sob o aspecto higiênico-sanitário em sistema *cook-chill* e tradicional**. Dissertação de mestrado. Universidade de São Paulo. FCF/FEA/FSP. Programa de Pós-Graduação Interunidades em Nutrição Humana Aplicada – PRONUT. 89p. São Paulo, 2003.

KINTON R.; CESERANI V.; FOSHETT D. **Enciclopédia de serviços de alimentação**. São Paulo: Varela; 1998.

KONICA MINOLTA, Konica Minolta Sensing, Inc. **Precise color communication. Color control from perception to instrumentation**. Daisennishimachi, Sakai. Osaka, Japan, p. 59, 1998.

LAWRIE, R. A. **Ciência da carne**. Porto Alegre: Artmed Editora. 384 p. 2005.

LINS, P. G. **Campo magnético pulsado na preservação de carne bovina moída**. Universidade de São Paulo. Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos. Dissertação (mestrado). 84f. Pirassununga, 2001.

LEAL, D. **Crescimento da alimentação fora do domicílio**. Segurança Alimentar e Nutricional, Campinas, v. 1, n. 17, p. 123-132, 2010.

LUCIANO, G.; VASTA, V.; MONAHAN, F. J.; LÓPEZ-ANDRÉS, P.; BIONDI, L.; LANZA, M.; PRIOLO, A. **Antioxidant status, colour stability and myoglobin resistance to oxidation of longissimus dorsi muscle from lambs fed a tannin-containing diet**. Food Chemistry, n. 124, p. 1036–1042, 2011.

MACHADO, A. L. **Efeito do cozimento sobre as propriedades físicas e sensoriais da carne de polvo (*Octopus insularis*)**. Dissertação de mestrado. UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ. 92f. Fortaleza, 2011.

MAPA - MINISTÉRIO DA AGRICULTURA PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. Aprovar a Padronização dos Cortes de Carne Bovina, proposta pela Divisão de Padronização e Classificação de Produtos de Origem Animal. **PORTARIA Nº 5, DE 8 DE NOVEMBRO DE 1988**. Disponível em: <<http://extranet.agricultura.gov.br/sislegis-consulta/servlet/VisualizarAnexo?id=15075>> Acesso em: 29 mai 2012.

MARTENS, T.; SCHELLEKENS, M. **The Sous Vide Process. In: Proceedings of the first main meeting. Minimal & Combined Processes**. Escola Superior de Biotecnologia, v. 5, Porto, Portugal, Dez. 1995.

MIGUEL-GARCIA, D. Y.; JUNEJA, V. K.; VALENZUELA-MELENDEZ, M.; D'IAZ-CINCO, M. E.; THIPPAREDDI, H.; PEÑA-RAMOS, E. A. ***Clostridium Perfringens* Growth from Spore Inocula in Sous-Vide Processed Pork-Based Mexican Entrée**. Journal of food science, v. 74, n. 4, p. 172-176, 2009.

MOLINS, P. D.; **Calidad Y Deterioro De Platos "Sous Vide" Preparados A Base Decarne Y Pescado Y Almacenados En Refrigeración**. 2009. Tesis Doctoral, UNIVERSIDAD DE MURCIA, 339 p. 2009.

MONTINI, A. L. **Consumo de carne bovina: uma análise aplicada às redes varejistas, Londrina, Estado do Paraná**. Informações Econômicas, SP, v.35, n.10, p. 54-59, 2005.

NYATI, H. **An evaluation of the effect of storage and processing temperatures on the microbiological status of sous vide extended shelf-life products**. Food Control, v.11, p. 471- 476, 2000.

ORDÓÑEZ, JUAN A.; RODRÍGUEZ, M. I. C.; ÁLVAREZ, L. F.; SANZ, M. L. G.; MINGUILLÓN, G. D. G. F.; PERALES, L. I. H.; CORTECERO, M. D. S. **Tecnologia de alimentos: componentes dos alimentos e processos**. Editora: Artemed, Porto Alegre, v. 1. 2005a.

ORDÓÑEZ, J. A.; RODRÍGUEZ, M. I. C.; ÁLVAREZ, L. F.; SANZ, M. L. G.; MINGUILLÓN, G. D. G. F.; PERALES, L. I. H.; CORTECERO, M. D. S. **Tecnologia de Alimentos. Alimentos de Origem Animal**. Porto Alegre: Artmed, v. 2, 2005b.

ORTIGOZA, S. A. G. **Alimentação e Saúde: As Novas Relações Espaço-Tempo e Suas Implicações nos Hábitos de Consumo de Alimentos**. R. RA E GA, Editora UFPR: Curitiba, n. 15, p. 83-93, 2008.

OSÓRIO, J. C. S.; OSÓRIO, M. T. M.; SAÑUDO, C. **Características sensoriais da carne ovina**. Revista Brasileira de Zootecnia, v. 38, p. 292-300, 2009.

OZISIK, M.N. **Transferência de massa. In: Transferência de calor. Um texto básico**. Rio de Janeiro: Guanabara, p. 597, 1985.

PAGOTTO F., DALEY E., FARBER J., WARBURTON D. **Isolation of *Listeria Monocytogenes* From all Food and Environmental Samples**. Government of Canada. MFHPB-30, January 2001.

PARDI, M. C.; SANTOS, I. F. S.; SOUZA, E. R.; PARDI, H. S. **Ciência, higiene e tecnologia da carne**. V. 1, 1º ed. (reimpressão) Goiânia: CEGRAF-UFG/Niterói: EDUFF, 585p.1995.

PROENÇA, R. P. C. **Novas tecnologias para a produção de refeições coletivas: recomendações de introdução para a realidade brasileira**. Revista de Nutrição, Campinas, v. 12, n. 1, p. 43-53, jan./abr., 1999.

PROENÇA, R. P. C. **Inovação tecnológica na produção de alimentação coletiva**. Florianópolis: Insular, 2000.

PULGAR, J. S. D.; GÁZQUEZ, A.; RUIZ-CARRASCAL, J. **Physico-chemical, textural and structural characteristics of *sous-vide* cooked pork cheeks as affected by vacuum, cooking temperature, and cooking time**. Meat Science, v. 90, n. 3, p. 828–835, Mar. 2012.

RAMOS, A. E. A.; **O sistema *sous vide*. Monografia. 2004. Universidade de Brasília. Curso de especialização lato sensu em qualidade em alimentos**. 34p. Brasília, jun. 2004.

RODRIGUES, A. C. C.; CUNHA, R. L.; HUBINGER, M. D. **Rheological properties and colour evaluation of papaya during osmotic dehydration processing**. Journal of Food Engineering, n. 59, p. 129–135, 2003.

SARANTÓPOULOS, C.I.G.L.; OLIVEIRA, L.M.; CANAVESI, E. **Requisitos de conservação de alimentos em embalagens flexíveis**. 215p. Campinas: CETEA/ITAL, 2001.

- SEBASTIÁ, C.; SORIANO, J. M.; IRANZO, M.; RICO, H. **Microbiological quality of sous vide cook–chill Preserved food at different shelf life.** Journal of Food Processing and Preservation v. 34, p. 964–974, 2010.
- SEYDIM, A. C.; ACTON, J. C.; HALL, M. A.; DAWSON, P. L. **Effects of packaging atmospheres on shelf-life quality of ground ostrich meat.** Meat Science, n. 73, p. 503–510, 2006.
- SHAKILA, R. J.; JEYASEKARAN, G.; VIJAYAKUMAR, A.; SUKUMAR, D. **Microbiological quality of sous-vide cook chill fish cakes during chilled storage (3°C).** International Journal of Food Science and Technology, v. 44, p. 2120–2126, 2009.
- SHEARD, P.R.; NUTE, CHAPPELL, A.G. **The effect of cooking on the chemical composition of meat products with special reference to fat loss.** Meat Science, v. 49, n.2, p. 175-191, 1998.
- SILVA, M. L.; **Efeito de dois métodos de cocção - água e vapor - nos parâmetros de qualidade do músculo *Semitendinosus*.** 2004. Escola superior de Agricultura Luiz de Queiroz. Dissertação de mestrado. São Paulo: Piracicaba, 102p. dez. 2004.
- SILVA, M. L.; CONTRERAS-CASTILLO, C. J.; ORTEGA, E. M. M. **Efeito do cozimento na qualidade do músculo *Semitendinosus*.** , Ciência e Tecnologia de Alimentos, Campinas, v. 27, n. 3, p. 441-445, jul.-set. 2007.
- SILVA, N.; JUNQUEIRA, V. C. A.; SILVEIRA, N. F. A.; TANIWAKI, M. H.; SANTOS, R. F. S.; GOMES, R. A. R. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos.** 3ª ed. São Paulo: Livraria Varela, 552p. 2007.
- STONE, H.; SIDEL, J. L. **Sensory evaluation practices.** 2nd ed. London: Academic Press. 337 p. 1993.
- SZERMAN, N.; GONZALEZ, C. B.; SANCHO, A. M.; GRIGIONI, G.; CARDUZA, F.; VAUDAGNA, S. R. **Effect of the addition of conventional additives and whey proteins concentrates on technological parameters, physicochemical properties, microstructure and sensory attributes of *sous vide* cooked beef muscles.** Meat Science, n. 90, v. 3, p. 701-10. Nov, 2011.
- TACO - **Tabela brasileira de composição de alimentos.** Campinas, SP: Núcleo de Estudos e Pesquisas em Alimentação / NEPA-UNICAMP. 4ª ed. Campinas: NEPAUNICAMP, 161p. 2011.
- TANSEY, F.; GORMLEY, R.; CARBONELL, S.; OLIVEIRA, J.; BOURKE, P.; O'BEIRNE, D.; **Developing *Sous Vide*/Freezing Systems for Ready-Meal Components.** 2005. Agriculture and food development Authority. April, 2005. Disponível em: <<http://www.teagasc.ie/research/reports/foodprocessing/4875/eopr-4875.pdf>>. Acesso em: 16 dez. 2010.
- TEWARI, G.; JUNEJA, V. K.; SNYDER, O. P. ***Sous Vide* and Cook-Chill Processing of Foods: Concept Development and Microbiological Safety.** Advances in thermal and Non- thermal food preservation. Blackwell publishing, Cap 8, p. 146 -160, 2007.

TORNBERG, E. **Review - Effects of heat on meat proteins – Implications on structure and quality of meat products.** *Meat Science*, v. 70, p. 493–508, 2005.

TUCKER, G. S. **Roundtable 3: Food Waste Management and Value-added Products. Using the Process to Add Value to Heat-treated Products.** *Journal of Food Science*, v. 69, n. 3, 2004.

VAUDAGNA, S. R.; SÁNCHEZ, G.; NEIRA, M. S.; INSANI, E. M.; PICALLO, A. B.; GALLINGER, M. M.; LASTA, J. A. **Sous vide cooked beef muscles: effects of low temperature–long time (LT–LT) treatments on their quality characteristics and storage stability.** *International Journal of Food Science and Technology*, n. 37, p. 425–441, 2002.

WANG, S.H.; CHANG, M.H.; CHEN, T.C. **Shelf-life and Microbiological Profiler of Chicken Wing Products Following Sous vide Treatment.** *International Journal of Poultry Science*, v. 3, n. 5, p. 326–332, 2004.

YANCEY, J.W.S.; WHARTON, M.D.; APPLE, J.K. **Cookery method and end-point temperature can affect the Warner–Bratzler shear force, cooking loss, and internal cooked color of beef longissimus steaks.** *Meat Science*, n. 88, p. 1–7, 2011.

XIE, G. **Comparison of textural changes of dry peas in sous vide cook-chill and traditional cook-chill systems.** *Journal of Food Engineering*, v. 43, p. 141–146, 2000.

ZEOLA, N.M.B.L.; SOUZA, P.A.; SOUZA, H.B.A.; SILVA SOBRINHO, A.G.; BARBOSA, J.C. **Cor, capacidade de retenção de água e maciez da carne de cordeiro maturada e injetada com cloreto de cálcio.** *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v. 59, n. 4, p.1058–1066, 2007.

APÊNDICES

APÊNDICE A - Quadrados médios dos valores de pH da análise estatística dos dados (ANOVA 5%) dos tratamentos *in natura*, temperado e *sous vide* (T0)

		QM
FV	GL	pH
TRATAMENTO	2	0,4237*
REPETIÇÃO	2	0,4206*
CV		1,8209

*significativo ao nível de 5% de probabilidade;

NS: não significativo ao nível de 5% de probabilidade;

FV: fonte de variação;

GL: grau de liberdade;

QM: quadrado médio;

CV: coeficiente de variação.

APÊNDICE B - Quadrados médios dos teores de umidade, gordura, cinzas e proteínas da análise estatística dos dados (ANOVA 5%) dos tratamentos *in natura*, temperado e *sous vide* (T0)

FV	GL	QM			
		UMIDADE (%)	GORDURA (%)	PROTEÍNA (%)	CINZAS (%)
TRATAMENTO	2	22,9612*	11,1524*	1,7658*	0,8955*
REPETIÇÃO	2	17,7650*	4,2794 ^{NS}	1,1918*	0,0894 ^{NS}
CV		2,1618	13,9070	2,2010	13,2477

*significativo ao nível de 5% de probabilidade;

NS: não significativo ao nível de 5% de probabilidade;

FV: fonte de variação;

GL: grau de liberdade;

QM: quadrado médio;

CV: coeficiente de variação.

APÊNDICE C - Quadrados médios das coordenadas de cor L*, a*, b*, Chroma (c*) e Hue (H*) da análise estatística dos dados (ANOVA 5%) dos tratamentos *in natura*, temperado e *sous vide* (T0)

FV	GL	QM				
		L*	a*	b*	c*	H*
TRATAMENTO	2	44,3508*	31,3983*	48,8845*	56,6672*	1444,9007*
REPETIÇÃO	2	10,2501 ^{NS}	4,3590 ^{NS}	0,1447 ^{NS}	3,3293 ^{NS}	111,3046 ^{NS}
CV		4,9548	25,3619	30,6889	24,6649	15,4319

*significativo ao nível de 5% de probabilidade;

NS: não significativo ao nível de 5% de probabilidade;

FV: fonte de variação;

GL: grau de liberdade;

QM: quadrado médio;

CV: coeficiente de variação.

APÊNDICE D - Quadrados médios para os valores de pH da análise estatística dos dados da estabilidade de bife submetidos à tecnologia *sous vide* armazenados por 60 dias a temperatura de 3°C

FV	GL	QM
		pH
TEMPO	4	0,0372*
LINEAR	1	0,04182*
F.AJ	3	0,0356*
QUADRÁTICA	2	0,0741*
F.AJ	2	0,0003 ^{NS}
CÚBICA	3	0,0495*
F.AJ	1	0,0000 ^{NS}

F.AJ: falta de ajuste;
 FV: fonte de variação;
 GL: grau de liberdade;
 QM: quadrado médio;
 CV: coeficiente de variação.

APÊNDICE E - Quadrados médios para os teores de umidade, gordura, cinzas e proteínas da análise estatística dos dados da estabilidade de bife submetidos à tecnologia *sous vide* armazenados por 60 dias a temperatura de 3°C

FV	GL	QM			
		UMIDADE (%)	GORDURA (%)	CINZAS (%)	PROTEÍNA (%)
TEMPO	4	3,4696 ^{NS}	4,4383 ^{NS}	0,2172*	7,4524*
LINEAR	1	0,0196 ^{NS}	8,1616 ^{NS}	0,0524 ^{NS}	27,5446*
F.AJ	3	4,6196 ^{NS}	3,1971 ^{NS}	0,2722*	0,7550 ^{NS}
QUADRÁTICA	2	6,1473 ^{NS}	8,6781 ^{NS}	0,2911 ^{NS}	13,8967*
F.AJ	2	0,7919 ^{NS}	0,1983 ^{NS}	0,1434 ^{NS}	1,0081 ^{NS}
CÚBICA	3	4,1361 ^{NS}	5,9147 ^{NS}	0,2872 ^{NS}	9,2954*
F.AJ	1	1,4701 ^{NS}	0,0089 ^{NS}	0,0074 ^{NS}	1,9232*

F.AJ: falta de ajuste;

FV: fonte de variação;

GL: grau de liberdade;

QM: quadrado médio;

CV: coeficiente de variação.

APÊNDICE F - Quadrados médios das coordenadas de cor L*, a*, b*, Chroma (c*) e Hue (H*) da análise estatística dos dados da estabilidade de bife submetidos à tecnologia *sous vide* armazenados por 60 dias a temperatura de 3°C

FV	GL	QM				
		L*	a*	b*	c*	H*
TEMPO	4	13,0971 ^{NS}	9,6767*	10,1257*	18,9111*	34,7820*
LINEAR	1	10,4858 ^{NS}	10,0868*	12,5067*	23,3886*	1,2697 ^{NS}
F.AJ	3	13,9676 ^{NS}	9,5400*	9,3320*	17,4186*	45,9528*
QUADRÁTICA	2	9,0024 ^{NS}	10,4144*	12,2426*	22,5486*	6,0001 ^{NS}
F.AJ	2	17,1918 ^{NS}	8,9389*	8,0087 ^{NS}	15,2736*	63,5640*
CÚBICA	3	17,3729 ^{NS}	7,8373*	12,1829*	19,8431*	17,2136 ^{NS}
F.AJ	1	0,2694 ^{NS}	15,1947*	3,9539 ^{NS}	16,1152*	87,4872*

F.AJ: falta de ajuste

FV: fonte de variação;

GL: grau de liberdade;

QM: quadrado médio;

CV: coeficiente de variação.

APÊNDICE G - Quadrados médios dos atributos de cor, aroma, suculência, textura, impressão global e intenção de compra da análise estatística dos dados (ANOVA 5%).

FV	GL	QM						
		COR	AROMA	SABOR	SUCULÊNCIA	TEXTURA	IMPRESSÃO GLOBAL	INTENÇÃO DE COMPRA
Amostra	1	16,8750*	9,6333*	3,6750 ^{NS}	0,8333 ^{NS}	1,0083 ^{NS}	2,7000 ^{NS}	3,0083 ^{NS}
Provador	59	178,6250*	2,7485 ^{NS}	3,4151 ^{NS}	3,8384 ^{NS}	3,9371*	3,5282 ^{NS}	1,0614 ^{NS}
CV		16,7092	19,0168	21,2211	21,3393	19,9890	20,4933	23,0830

*significativo ao nível de 5% de probabilidade;

NS: não significativo ao nível de 5% de probabilidade;

FV: fonte de variação;

GL: grau de liberdade;

QM: quadrado médio;

CV: coeficiente de variação.

APÊNDICE H – Ficha de recrutamento sensorial.ANÁLISE SENSORIAL DE BIFE BOVINO COZIDO
AVALIAÇÃO DO PERFIL DO CONSUMIDOR

Nome: _____ Data: _____

Sexo: () M () F

Idade: () 18-25 () 26-35 () 36-45 () 46-50 () acima de 50

Escolaridade: () Fundamental Incompleto () Médio Incompleto
() Fundamental Completo () Superior Completo
() Médio Completo () Superior Incompleto

1. Você consome carne bovina cozida?

- () Sim
() Não

2. O quanto você gosta de carne bovina cozida?

- () Gosto muitíssimo
() Gosto muito
() Gosto moderadamente
() Gosto ligeiramente
() Não gosto

3. Qual sua frequência de consumo de carne bovina cozida?

- () Diariamente. Quantas vezes? _____
() Semanalmente
() Outro. Qual? _____

APÊNDICE I - Ficha de avaliação sensorial.

NOME: _____

PRODUTO: Carne cozida

DATA: _____ SEXO: _____ IDADE: () <18 () 18-25 () 25-35 () 36-50 () > 50

1. Você está recebendo duas amostras de carne cozida. Por favor, **OBSERVE** e **CHEIRE** a amostra e indique o quanto você gostou ou desgostou da **COR**, da **APARÊNCIA** e do **AROMA**. Em seguida, **PROVE** a amostra e indique o quanto você gostou ou desgostou do **SABOR**, **TEXTURA** e **IMPRESSÃO GLOBAL**, utilizando-se a escala abaixo:

- | |
|--|
| <p>9. gostei muitíssimo
 8. gostei muito
 7. gostei moderadamente
 6. gostei ligeiramente
 5. nem gostei nem desgostei
 4. desgostei ligeiramente
 3. desgostei moderadamente
 2. desgostei muito
 1. desgostei muitíssimo</p> |
|--|

	COR	APARÊNCIA	AROMA	SABOR	TEXTURA	IMPRESSÃO GLOBAL
Amostra:	_____	_____	_____	_____	_____	_____
Amostra:	_____	_____	_____	_____	_____	_____

2. Baseado na **IMPRESSÃO GLOBAL** desta amostra, indique na escala abaixo o grau de certeza com que você compraria ou não compraria esta amostra, caso esta estivesse à venda nos supermercados, utilizando-se a escala abaixo:

- | |
|--|
| <p>5. Certamente compraria
 4. Possivelmente compraria
 3. Talvez comprasse, talvez não comprasse
 2. Possivelmente não compraria
 1. Certamente não compraria</p> |
|--|

Amostra: _____

- () certamente compraria
 () possivelmente compraria
 () talvez comprasse, talvez não comprasse
 () possivelmente não compraria
 () certamente não compraria

Amostra: _____

- () certamente compraria
 () possivelmente compraria
 () talvez comprasse, talvez não comprasse
 () possivelmente não compraria
 () certamente não compraria