

EFECTO DE LA TEMPERATURA EN LA CALIDAD BACTERIOLÓGICA DEL PLASMA SANGUÍNEO DE BOVINO

Effect of temperature in the bacteriological quality of bovine blood plasma

Gabriela Pérez Medina
Yasmina Barboza de Martínez
Enrique Márquez Salas

Unidad de Investigación en Ciencia y Tecnología de los Alimentos
Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad del Zulia
Apdo 15252, 4003-A Las Delicias
Maracaibo, Estado Zulia, Venezuela

RESUMEN

Con el fin de evaluar la calidad bacteriológica del plasma y el efecto que la relación temperatura-tiempo ejerce sobre la carga bacteriana del mismo, se obtuvieron muestras de sangre proveniente de bolsas de recolección y de tanques de almacenamiento ubicados en un matadero de la localidad. Para obtener el plasma, la sangre se centrifugó a 2500 rpm durante 20 minutos, y se le aplicaron los siguientes tratamientos: Refrigeración (5°C) por cuatro días, congelación (-15°C) por siete días, calentamiento a 45°C por 5 ó 10 minutos, calentamiento a 48°C por 5 minutos, y calentamiento a 60°C a través de un Milkotester a una velocidad de 33 ml/minuto. A todos los tratamientos se les determinó recuento total de aerobios (RTA), coliformes totales (CT), coliformes fecales (CF), recuento y detección de *Staphylococcus aureus* y *Salmonella*, así mismo siembra en Mc Conkey e identificación bioquímica de colonias fermentadoras o no de la lactosa. Los resultados muestran que el RTA y CT fueron mayores ($P < 0.05$) cuando el plasma provenía de sangre recogida del tanque de almacenamiento. Los CF estuvieron ausentes en todas las muestras. El contenido bacteriológico aumentó durante los cuatro días de refrigeración. Se observó una disminución ($P < 0.05$) del RTA y CT cuando el plasma se sometió a calentamiento durante 10 minutos a 45°C ó durante 5 minutos a 48°C ó a 60°C a través del Milkotester, siendo éste último el más efectivo. El congelamiento y el calentamiento a 45°C durante 5 minutos no fueron efectivos para disminuir la carga bacteriológica, aunque si disminuyó la cantidad de coliformes totales, mientras que el calentamiento a 48°C durante 5 minutos produjo turbidez en el plasma. En ninguna de las muestras se detectó *Staphylococcus aureus* ó

Salmonella. Los géneros de bacterias aisladas fueron *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Serratia*, *Proteus*, *Citrobacter* y *Pseudomonas*.

Palabras clave: Plasma, calidad bacteriológica, temperatura.

ABSTRACT

In order to evaluate the plasma bacteriological quality and the effect that temperature-time exert on plasma bacterial count, blood samples were collected from bags and storage tank placed in a slaughterhouse of the locality. Blood samples were subjected to the following treatment: Refrigeration storage for 4 days (5°C), frozen storage (-15°C) for seven days, heat at 45°C for 5 or 10 minutes, heat at 48°C for 5 minutes and heat at 60°C through a Milkotester machine with a speed of 33 ml/minute. Total aerobic plate count (APC), total coliform (TC), fecal coliform (FC) and detection and count of *Staphylococcus aureus* and *Salmonella* were determined to all the treatments. In the same way were cultivate in Mc Conkey agar, in addition, colonies lactose whether ferment or not, were biochemical identifying. Results showed that APC and TC were higher ($P < 0.05$) for plasma obtained collected from blood storage tank. FC were absent in all the samples. Bacteriological count increased during the four days of refrigeration storage. A decreased of APC and CT was observed when plasma was subjected to 45°C for 10 minutes at 48°C for 5 minutes or 60°C through a Milkotester, being the last one the most effective. Frozen treatment and heat at 45°C for 5 minutes were not effective to decreasing bacteriological count, though total coliform decreased; while heat at 48°C for 5 minutes produced turbidity in the plasma. *Staphylococcus aureus* and *Salmonella* were not in any samples. Isolated bacteria genus were

Enterobacter, Klebsiella, Serratia, Proteus, Citrobacter and *Pseudomonas*.

Key words: Plasma, bacteriological quality, temperature.

INTRODUCCIÓN

Actualmente la hambruna a nivel mundial ha generado la necesidad de conseguir nuevas fuentes de proteínas de alto valor nutritivo, esto ha llevado a considerar la proteína sanguínea como una alternativa alimenticia. Debido a su contenido en aminoácidos esenciales y a sus propiedades funcionales, se ha utilizado para formular alimentos de consumo humano y animal [10, 23, 24, 31, 32, 36, 38]. Su utilización, contribuye a mejorar los problemas de contaminación generados por las industrias cárnicas [31,38] y evita la pérdida de cantidades significativas de proteínas utilizables [25,26].

La sangre por su alta actividad de agua, su pH alrededor de 7.4 [29] y por su alto valor nutritivo, es un excelente caldo de cultivo [27, 33, 37], aun para los microorganismos más exigentes. Uno de los problemas en la utilización de la proteína sanguínea consiste en que durante la exanguinación del animal, la sangre que por naturaleza es estéril es contaminada por los distintos microorganismos que se encuentran en el área de matanza. Esto se debe a la forma de recolección y al poco control sanitario de dichas áreas [1, 11, 35].

Los niveles de contaminación microbiana encontrados en diferentes lugares de un matadero señalan que la piel del animal, el piso y el contenido intestinal poseen altas poblaciones microbianas y son las mayores fuentes de contaminación [28]. La calidad bacteriológica de la sangre depende de diversos factores, entre los cuales están: la salud de los animales, la limpieza de los animales y de las instalaciones de reposo, la extensión de la línea de matanza, así como de las condiciones del local [27].

Entre los géneros que se han encontrado en la sangre se incluyen estreptococos aerobios y anaerobios, estafilococos, neumococos, *Salmonellas*, *pseudomonas* y bacilos coliformes [23, 35]. La sangre, así como el plasma pueden ser esterilizados por filtración, ya que este es el método más empleado para materiales lábiles al calor [20], sin embargo, ésta técnica posee una gran desventaja, la cual es su alto costo, sobre todo cuando se requiere filtrar grandes volúmenes de líquido, como es el caso de la sangre proveniente de mataderos. Con el propósito de disminuir los costos que acarrea la esterilización por filtración se ha sugerido utilizar tratamientos térmicos. Experimentos a nivel de laboratorio han demostrado que una pasteurización de cuatro minutos a 68°C, en un intercambiador de placas mejora la calidad bacteriológica del plasma o la sangre. Pero a nivel industrial los tratamientos han fracasado, debido al taponamiento de los intercambiadores por coagulación del producto [3]. El tratamiento térmico al cual debe ser sometido el plasma sanguíneo debe ser tal que mejore su calidad bacteriológica sin producir pérdida de sus propiedades funcionales.

A pesar de que en algunos países se han realizado estudios para determinar la calidad bacteriológica del plasma que es empleado en el consumo humano, en Venezuela existe escasez de información.

El objetivo de este trabajo es el de evaluar la calidad bacteriológica del plasma obtenido por centrifugación de la sangre proveniente tanto de bolsa de recolección, como del tanque de almacenamiento y medir el efecto que la relación temperatura-tiempo ejerce sobre la carga microbiana del plasma sin producir turbidez en el mismo.

MATERIALES Y MÉTODOS

Recolección de la sangre

La sangre fresca de bovino se recolectó en un matadero de la localidad (Frigorífico MAIMCA) al momento de sacrificar el animal. El sistema de recolección de sangre en este matadero es de la siguiente manera: en el momento de la exanguinación la sangre es recogida directamente del animal en bolsas conteniendo una solución de citrato de sodio al 2% por litro de sangre, inmediatamente es vertida en tanques refrigerados donde se mantiene con agitación constante. El muestreo se hizo de la bolsa y del tanque, utilizando material estéril el cual fue colocado en cava con hielo (4°C) para ser transportado al laboratorio.

Obtención del plasma

Con el propósito de obtener el plasma, la sangre fue sometida a centrifugación a 2500 rpm por 20 minutos, en una centrífuga marca International modelo K, N° 69984M=3, el mismo día que fue recolectada.

Tratamiento de muestras

El plasma proveniente de la sangre de bolsa o del tanque fue dividido en varias porciones de 40 ml en tubos de ensayo estériles. Estas porciones fueron sometidas a los siguientes tratamientos:

1. Refrigeración a 5°C por un período de cuatro días
2. Congelación a -15°C durante siete días.
3. Calentamiento a 60°C utilizando un Milkotester MK II tipo FEM N°PO23, de la casa A/S N. Foss Electric, a velocidad de flujo de 33 ml/minuto.
4. Calentamiento en baño de agua termostatzado a 45°C por 5 ó 10 minutos y 48°C por 5 minutos.

Análisis bacteriológico del plasma

Antes y después de cada tratamiento se realizó un análisis bacteriológico a la muestra. Durante el tratamiento refrigeración el análisis bacteriológico se realizó a diario. El procedimiento fue de la siguiente manera: De cada muestra se tomó 11 ml y se homogeneizó con 99 ml de agua peptonada al

TABLA I

VALORES PROMEDIOS DE RECuento TOTAL DE AEROBIOS, COLIFORMES TOTALES Y COLIFORMES FECALES EN PLASMA SANGUÍNEO DE BOVINO PROVENIENTE DE SANGRE RECIÉN COLECTADA DE BOLSA DE RECOLECCIÓN Y TANQUE DE ALMACENAMIENTO

Características	Método de Recolección	
	Bolsa	Tanque
RTA	1.3 ^a	8.5 ^b
CT	6.2 ^a	43
CF	< 3*	< 3*

a,b Medias con diferentes superíndices y dentro de una misma fila difieren significativamente ($P < 0.05$). RTA: Recuento total de aerobios expresados en UFC/ml $\times 10^4$. CT: Coliformes totales expresados en NMP/ml. CF: Coliformes fecales expresados en NMP/ml. * <3 significa ningún tubo positivo según la Técnica del Número Más Probable, serie de tres tubos.

0.1%, a partir de este se hicieron diluciones seriadas hasta 10^{-6} [4]. A partir de estas diluciones se realizó el conteo estándar en placas para determinar el recuento de aerobios totales [2, 5]. Se aplicó la técnica del número más probable para la determinación de coliformes totales y fecales en serie de tres tubos, así como para la confirmación de *Escherichia coli* [6].

Para la determinación y recuento de *Staphylococcus aureus* se sembraron por extensión diluciones de la muestra en agar Baird Parker completo (Merck, Germany) [7].

Para verificar la presencia de *Salmonella*, se sembró 25 ml de la muestra en caldo lactosado de pre-enriquecimiento, después de incubado por 24 horas a $35^\circ\text{C} \pm 2$, se inoculó en caldo selenito cistina (Hi-Media Laboratories, India) y caldo tetraciónato (Hi-Media Laboratories, India) como medios de enriquecimiento, se incubaron por 24 horas a 43°C en baño de agua y posteriormente se sembraron en medios sólidos de diagnóstico selectivo: bismuto sulfito agar (Merck, Germany), xilosa lisina agar (Merck, Germany), desoxicolato citrato agar (Difco, USA) y *Salmonella-Shigella* agar (Merck, Germany). Los medios fueron examinados para observar la presencia de colonias, que por sus características fueron consideradas presuntivas de *Salmonella*. Para la confirmación, se determinaron las características bioquímicas [8].

A otras colonias que crecieron en los medios de diagnóstico selectivo de *Salmonella* se les realizaron pruebas bioquímicas para identificar microorganismos presentes en el plasma, estos fueron identificados según las características señaladas por el Manual de Bergey [22] y Koneman y col. [21].

Paralelamente las muestras de plasma se sembraron en agar Mc Conkey (Hi-Media Laboratories, India), se incubaron a 37°C por 24 horas. A las colonias fermentadoras o no de la lactosa aisladas del Mc Conkey se les estudió la morfología colo-

nial, se inocularon en medio triple azúcar hierro (TSI) (Merck, Germany) y agar nutritivo (Merck, Germany) y se incubaron a 37°C por 24 horas. Las colonias oxidasa negativas con TSI ácido/ácido o ácido/alcalino con o sin producción de H_2S se sembraron en caldo indol (BBL, USA), agar urea (Merck, Germany), agar citrato (Difco, USA), agar motilidad (BBL, USA) y caldos ornitina y lisina decarboxilasa (Sigma, USA), incubados a 37°C por 24 horas para su caracterización según la metodología descrita por Farmer y col. [13]. Se tomaron las colonias no fermentadoras de la lactosa del agar Mc Conkey que presentaran TSI inactivo (alcalino/alcalino) y oxidasa positiva o negativa compatibles con los bacilos gram negativos no fermentadores de la glucosa, se les efectuaron las pruebas de motilidad en gota pendiente, utilización de la glucosa y presencia o no de pigmento en el TSI, según Gilardi [14].

Análisis estadístico

Se utilizó análisis de varianza para detectar defectos significativos de los tratamientos. Los datos obtenidos fueron analizados utilizando el procedimiento del SAS PROC GLM [34]. Las medias se compararon empleando el procedimiento de Duncan [12]. Las diferencias entre las medias se declararon a un nivel de 5% de probabilidad.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la TABLA I se presentan los valores promedios de recuento total de aerobios expresados en UFC/ml por 10^4 , coliformes totales y coliformes fecales expresados en NMP/ml en plasma sanguíneo de bovino proveniente de sangre recién colectada en bolsa de recolección y tanque de almacenamiento. Se observa que dichos valores son menores ($P < 0.05$) para el plasma proveniente de bolsa de recolección. El mayor contenido de microorganismos encontrados en el plasma obtenido de el tanque pudiera deberse a una mayor manipulación.

Estos resultados coinciden con lo señalado por Piske [27], el cual indica que a medida que existan mayores pasos en la manipulación de la materia prima, mayor será el grado de contaminación de dicha materia.

El método de colecta de la sangre influye considerablemente en la calidad microbiológica de la misma. En una colecta en recipientes abiertos está presente el riesgo de contaminación. Un sistema de colecta cerrado envuelve el uso de cuchillos especiales de sangría, posibilitando reducir aún más la contaminación [35]. Una de las técnicas comúnmente utilizadas [27], la cual es empleada en el matadero donde se tomaron las muestras, es aquella donde un cuchillo es introducido directamente en el sistema (arco aortal) y la sangre fluye a una bolsa plástica debidamente higienizada, conteniendo un anticoagulante.

Al comparar nuestros resultados con respecto a los valores que señala la norma COVENIN-903 [9] para recuento total estándar en leche cruda (leche grado A: 0.5×10^6 UFC/ml) se observa que los niveles en los cuales se encuentran el plasma

TABLA II

VALORES PROMEDIOS DE RECUENTO TOTAL DE AEROBIOS, COLIFORMES TOTALES Y COLIFORMES FECALES EN PLASMA SANGUÍNEO DE BOVINO RECIÉN COLECTADO Y REFRIGERADO POR UN PERÍODO DE 1 A 4 DÍAS

Característica	Día de Refrigeración				
	0	1	2	3	4
RTA	4.9 ^a	14.1 ^b	25.4 ^{bc}	48.7 ^{cd}	66.2 ^d
CT	24.6 ^a	113.4 ^b	120.5 ^b	134.4 ^b	210.3 ^b
CF	<3 [*]	<3 [*]	<3 [*]	<3 [*]	<3 [*]

a,b,c,d Medias con diferentes superíndices y dentro de una misma fila difieren significativamente. (P < 0.05) RTA: Recuento total de aerobios expresados en UFC/ml x 10⁴. CT: Coliformes totales expresados en NMP/ml. CF: Coliformes fecales expresados en NMP/ml. * <3 significa ningún tubo positivo según la Técnica del Número Más Probable, serie de tres tubos.

TABLA III

VALORES PROMEDIOS DE RECUENTO TOTAL DE AEROBIOS, COLIFORMES TOTALES, COLIFORMES FECALES Y TURBIDEZ EN PLASMA SANGUÍNEO DE BOVINO SOMETIDO A DIFERENTES TRATAMIENTOS CON CALOR

Característica	Tratamientos ^{''}				
	A	B	C	D	E
RTA	4.9 ^a	1.8 ^a	0.5 ^b	0.3 ^b	0.1 ^b
CT	24.6 ^a	7.1 ^b	<3 [*]	<3 [*]	<3 [*]
CF	<3 [*]	<3 [*]	<3 [*]	<3 [*]	<3 [*]
Turbidez**	No	No	No	Sí	No

a,b Medias con diferentes superíndices y dentro de una misma fila difieren significativamente. (P < 0.05). RTA: Recuento total de aerobios expresados en UFC/ml x 10⁴. CT: Coliformes totales expresados en NMP/ml. CF: Coliformes fecales expresados en NMP/ml. * <3 significa ningún tubo positivo según la Técnica del Número Más Probable, serie de tres tubos. ** La turbidez se determinó de manera visual.

proveniente de bolsa, así como el proveniente de tanque son menores, oscilando todos estos en 10⁴.

La TABLA II muestra los valores promedios de recuento total de aerobios expresado en UFC/ml por 10⁴, coliformes totales y fecales expresados en NMP/ml en plasma sanguíneo de bovino recién colectado y refrigerado por un período de 1 a 4 días. Aquí se observa que los valores de recuento total de aerobios, así como de coliformes totales aumentaron a medida que el plasma permaneció refrigerado a 5°C, indicando que la refrigeración a esa temperatura, es un proceso en el cual el plasma es mantenido con índices bacterianos bajos, pero cierta clase de bacterias son capaces de crecer bajo estas condiciones.

Golubkov [16] reportó un incremento del 100% en el recuento total de aerobios en plasma sanguíneo bovino después de 36 horas de refrigeración a 4°C.

Schiesser y Cundari [35] trabajando con sangre mantenida por 48 horas en envases de refrigeración a 4°C observaron un aumento en los contajes de coliformes.

Estos resultados nos indican que el plasma se mantuvo en condiciones aceptables durante los primeros 4 días de refrigeración, en la cual los valores de recuento total de aerobios y coliformes totales, permanecieron bajos y son seguros para su incorporación en alimentos que serán dirigidos a humanos.

La TABLA III presenta los valores promedios de recuento total de aerobios expresado en UFC/ml por 10⁴, coliformes totales y coliformes fecales expresados en NMP/ml y turbidez en plasma sanguíneo de bovino sometido a diferentes tratamientos con calor. Todos los tratamientos con la excepción del calentamiento a 45°C durante 5 minutos disminuyeron significativamente el recuento total de aerobios. La presencia de coliformes totales fue reducida en todos los casos, observándose ausencia total cuando el plasma se expuso a 48°C por 5 minutos o cuando se pasó a través del Milkotester. No se observó la presencia de coliformes fecales en las muestras sometidas a tratamiento con calor. Es importante resaltar que estos tratamientos disminuyen la carga bacteriana pero no garantizan la destrucción de patógenos. Entre los resultados se observa una disminución de los valores de recuento total de aerobios y coliformes totales a medida que aumenta la temperatura a la cual fueron calentadas las muestras. Así como también se puede señalar que el período de tiempo, como es el caso de las muestras calentadas a 45°C por 5 ó 10 minutos, influyó en la cantidad de microorganismos presentes. Los valores de recuento total de aerobios y de coliformes totales resultaron mayores en las muestras sometidas a 45°C por 5 minutos, que en las calentadas por 10 minutos. El método más eficiente resultó ser el Milkotester, donde ocurre la aplicación de calentamiento a mayor temperatura por un período más corto, lo cual evita la

TABLA IV

VALORES PROMEDIOS DE RECUENTO TOTAL DE AEROBIOS, COLIFORMES TOTALES Y COLIFORMES FECALES EN PLASMA SANGUÍNEO DE BOVINO FRESCO Y SOMETIDO A CONGELACIÓN

Características	Plasma fresco	Plasma congelado
RTA	4.9 ^a	2.8 ^a
CT	24.6 ^a	2.3 ^b
CF	<3*	<3*

a,b Medias con diferentes superíndices y dentro de una misma fila difieren significativamente ($P < 0.05$) RTA: Recuento total de aerobios expresados en UFC/ml $\times 10^4$. CT: Coliformes totales expresados en NMP/ml. CF: Coliformes fecales expresados en NMP/ml. *<3 significa ningún tubo positivo según la Técnica del Número Más Probable, serie de tres tubos.

TABLA V

GÉNEROS DE MICROORGANISMOS AISLADOS DE PLASMA SANGUÍNEO DE BOVINO

Enterobacter
Klebsiella
Serratia
Proteus
Citrobacter
Pseudomonas

turbidez del plasma, obteniendo valores menores para recuento total de aerobios.

Hayashi y col. [17] compararon el efecto de las radiaciones ionizantes con rayos gamma y tratamiento térmico sobre las propiedades funcionales y esterilidad del plasma deshidratado, los tratamientos pasteurizantes a soluciones plasmáticas al 1% a 63°C por 30 minutos disminuyendo los contajes iniciales de 2.2×10^4 /ml a 5.5×10^3 /ml indicando una mejora en la carga bacteriana; sin embargo, observaron una disminución en la capacidad de emulsificación.

En la TABLA IV se observan los valores promedios de recuento total de aerobios expresados en UFC/ml por 10^4 , coliformes totales y coliformes fecales expresados en NMP/ml de muestras de plasma sanguíneo de bovino fresco y sometido a congelación. El congelamiento no afectó los valores de recuento total de aerobios, pero disminuyó significativamente los coliformes totales, tal como fue reportado por Rossi y col. [30] donde observaron un decrecimiento en los coliformes en plasma congelado durante su almacenamiento a -15°C. Al igual que como ocurrió en los casos anteriores, los coliformes fecales están ausentes en muestras de plasma congelado.

Entre los géneros de microorganismos identificados en el plasma sanguíneo de bovino (TABLA V) se pueden nombrar

Enterobacter, *Klebsiella*, *Serratia*, *Citrobacter*, *Proteus* y *Pseudomonas*. Han sido también identificados en muestras de plasma y sangre trabajados por Schiesser y Cundari [35] excepto *Serratia* y *Proteus*. Por otro lado en plasma mantenido bajo refrigeración se ha identificado *Pseudomonas* la cual ha sido reportada por Schiesser y Cundari [35] en plasma sanguíneo de bovino así como Jay y Shelef [18, 19] y Gill [15] como flora contaminante de carne mantenida en aire frío. Es de hacer notar que no fueron observados en ninguna de las muestras *Staphylococcus aureus* ni *Salmonella*.

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

El plasma sanguíneo de bovino presenta mayores niveles de contaminación cuando está almacenado en tanque, debido a una mayor manipulación.

Los tratamiento con calor a 45°C durante 10 minutos y el Milkotester resultaron ser los mejores.

Se recomienda la utilización de aparatos que presenten las características del Milkotester, los cuales funcionan como un pasteurizador.

AGRADECIMIENTO

Los autores desean expresar su agradecimiento al Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico (CONDES), al Parque Tecnológico Universitario del Zulia y a Corpozulia por el financiamiento de este trabajo.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] Akers, J. "Utilization of blood". Food Manuf. 4:31-32. 1973.
- [2] American Public Health Association (APHA). Compendium of methods for the microbiological examination of foods. L. M. Speck. Washington: 75-95. 1992.
- [3] Billon, J.; Rosset, R. y Roussel-Ciquard, N. Problemas microbiológicos del provechamiento del quinto cuarto de los animales de carnicería. En C. Bourgeois y P. Le Roux. Proteínas Animales. El Manual Moderno. Mexico. 1ra Edición: 331.1986.
- [4] Comisión Venezolana de Normas Industriales (COVENIN). Identificación y preparación de muestras para el análisis microbiológico. (Categoría C- 1126-89) Caracas, Venezuela: 1-6. 1989.
- [5] Comisión Venezolana de Normas Industriales (COVENIN). Método para recuento de microorganismos aerobios en placas de Petri. (Categoría B-902-78) Caracas, Venezuela: 1-7. 1978.
- [6] Comisión Venezolana de Normas Industriales (COVENIN). Determinación del número más probable de coliformes, de coliformes fecales y de *Escherichia coli*. (Categoría D-1104-77). Caracas, Venezuela: 1-23. 1977.

- [7] Comisión Venezolana de Normas Industriales (COVENIN). Detección y recuento de *Staphylococcus aureus* (Categoría C-1292-79) Caracas, Venezuela: 1-14. 1979.
- [8] Comisión Venezolana de Normas Industriales (COVENIN). Aislamiento e identificación de *Salmonella*. (Categoría E-1291-88). Caracas, Venezuela: 1-26. 1988.
- [9] Comisión Venezolana de Normas Industriales (COVENIN). Leche cruda (Categoría C-903-93) Caracas, Venezuela: 1-7. 1993.
- [10] Del Ríos de Reys, M.; Constantinides, S.; Sgarbieri, V. and El-Dash, A. "Chicken blood plasma proteins: Physicochemical, nutritional and functional". J. Food Sci. 45:17-20. 1980.
- [11] Dill, C. "Use of plasma in edible meat products". Proceedings 29th Annual Reciprocal Meat Conference of the American Meat Science Association: 162-173. 1976.
- [12] Duncan, D. "Multiple range and multiple F test". Biometrics. 11:1-5. 1955.
- [13] Farmer, J. and Kelly, M. Enterobacteriaceae. In Ballows, A., Hausler, W., Hermam, K., Inseberg, H. and Shadony, H. 5th Ed. American Society for Microbiology. Washington. D.C: 360-383. 1980.
- [14] Gilardi, G. Bacilos gram negativos no fermentadores de la glucosa. In Ballows, A., Hausler, W., Hermam, K., Inseberg, H. and Shadony, H. 5th Ed. American Society for Microbiology. Washington. D.C: 429-441. 1980.
- [15] Gill, C. "Meat spoilage and evaluation of the potential storage life of fresh meat". J. Food Prot. 46:444-452. 1983.
- [16] Golubkov, V. "Preventing microbial infection of edible food". Veterinariya. 2:69-70. 1996.
- [17] Hayashi, T.; Biagio, R.; Saito, M.; Todoriki, S. and Tajima, M. "Effect of ionizing radiation on sterility and functional qualities of dehydrated blood plasma". J. Food Sci. 56:168-171. 1991.
- [18] Jay, J. and Shelef, L. "Effect of microorganisms on meat proteins at low temperatures". J. Agric. Food Chem. 24:1113-1116. 1976.
- [19] Jay, J. and Shelef, L. "Microbial modifications in raw and processed meats and poultry at low temperatures". Food Technol : 195-196. 1978.
- [20] Joklik, M., Willett, H. y Amos, D. Microbiología de Zinsser. Panamericana. 18a Ed. Buenos Aires, Argentina: 299. 1987.
- [21] Koneman, E.; Allen, S.; Dowell, V.; Janda, W.; Sommers, H. and Winn, W. Diagnóstico Microbiológico. Panamericana. 7a Ed. Buenos Aires, Argentina: 354-359. 1992.
- [22] Kried, N. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. Williams & Wilkins. Baltimore 3th Ed: 546-551. 1984.
- [23] Lara, F.; Ramírez, F. y Sánchez, N. "Estudio para la obtención de proteínas de sangre de bovino". Rev. Tecnol. Aliment. 12:141-144. 1977.
- [24] Márquez, E.; Izquierdo, P.; Arias, B. y Torres, G. "Efecto de la adición de plasma sanguíneo de bovino sobre la estabilidad de la emulsión y contenido proteico de productos cárnicos emulsificados". Rev. Fac. Agron. (LUZ). 12:511-522. 1995.
- [25] Patgiri, G. and Arora, A. "Coliform counts on blood meals and characterization of *Escherichia coli* isolated from them". J. Food Technol. 12:369-374. 1977.
- [26] Patgiri, G. and Arora, A. "Microbial load in blood meals". J. Food Technol. 13:477-481. 1978.
- [27] Piske, D. "Aproveitamento de sangue de abate para alimentação humana. I. Uma Revisão". Bol. Ital. Campinas. 19:227-252. 1982.
- [28] Rao, D. and Ramesh, B. "The microbiology of sheep carcasses processed in a modern Indian abattoir". Meat Sci. 32:425-436. 1992.
- [29] Rawn, J. Bioquímica. Interamericana. Madrid. 1: 108. 1990.
- [30] Rossi, O.; Santos, Y.; Nader, A. and Schocken, R. "Microbiological study of bovine blood and plasma, collected in slaughterhouses, used in the production of edible products. Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinaria e Zootecnia. 46:31-39. 1994.
- [31] Rusig, O. "Evaluation of plasma and plasma alginate fibres for use in sausages". Meat Sci. 3:295-307. 1979.
- [32] Saito, M.; Ishibashi, E. and Taira, H. "Emulsifying properties of plasma protein". J. Jap. Soc. Food Sci. and Technol. 37:805-808. 1996.
- [33] Sankaran, R.; Thangamani, R.; Leela, D. ; Parihar, D. and Nath, H. "Microbial profile of dehydrated cured mutton mince from raw material to the finished product". J. Food Technol. 11:161-169. 1976.
- [34] SAS Institute. INC "SAS User's statistics". 5th Ed. SAS Institute. INC., Carry, NC. U.S.A. 1985.
- [35] Schiesser, A. e Cundari, E. "Problemi microbiologici nella preparazione di un concentrato proteico da plasma bovino". Industrie Alimentari. Giugno: 452-456. 1979.
- [36] Tybor, P.; Dill, C. and Landmann, W. "Functional properties of proteins isolated from bovine blood by a continuous pilot process". J. Food Sci. 40:155-159. 1975.
- [37] Yasuda, K.; Nakamura, R. and Hayakawa, S. "Factors affecting heat-induced gel formation of bovine serum albumin". J. Food Sci. 51: 1289-1292. 1986.
- [38] Young, R. and Lawrie, R. "Utilization of edible protein from meat industry by-products and waste. II The spinning of blood plasma proteins". J. Food Technol. 9:171-177. 1974.