



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

LORANE SARMENTO FIGUEIRÓ

**INFLUÊNCIA DA REDUÇÃO DO TEOR DE NITRITO DE SÓDIO NA
ESTABILIDADE OXIDATIVA E AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA DE
LINGUIÇA SUÍNA FRESCAL**

ALEGRE- ES
AGOSTO- 2013

LORANE SARMENTO FIGUEIRÓ

**INFLUÊNCIA DA REDUÇÃO DO TEOR DE NITRITO DE SÓDIO NA
ESTABILIDADE OXIDATIVA E AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA DE
LINGUIÇA SUÍNA FRESCAL**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Espírito Santo, como parte das exigências para obtenção do Título de Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos.

ALEGRE- ES
AGOSTO- 2013

Dados Internacionais de Catalogação-na-publicação (CIP)
(Biblioteca Setorial de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Espírito Santo, ES, Brasil)

F475i Figueiró, Lorane Sarmento, 1986-
Influência da redução do teor de nitrito de sódio na estabilidade oxidativa e avaliação microbiológica de linguiça suína frescal. – 2013.
68 f. : il.

Orientador: Joel Camilo Souza Carneiro.
Coorientadores: Consuelo Domenici Roberto; Elisabete Fantuzzi.
Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) –
Universidade Federal do Espírito Santo, Centro de Ciências Agrárias.

1. Alimentos – microorganismos – contaminação. 2. Alimentos conservação química. 3. Nitrito de sódio. 4. Oxidação lipídica. 5. Linguiça suína frescal. I. Carneiro, Joel Camilo Souza. II. Roberto, Consuelo Domenici. III. Fantuzzi, Elisabete. IV. Universidade Federal do Espírito Santo. Centro de Ciências Agrárias. V. Título.

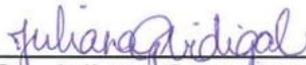
CDU: 664

INFLUÊNCIA DA REDUÇÃO DO TEOR DE NITRITO DE SÓDIO NA
ESTABILIDADE OXIDATIVA E AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA DE
LINGUIÇA SUÍNA FRESCAL

Lorane Sarmento Figueiró

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Espírito Santo, como parte das exigências para obtenção do Título de Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos.

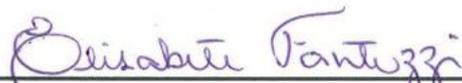
Aprovada em 28 de agosto de 2013



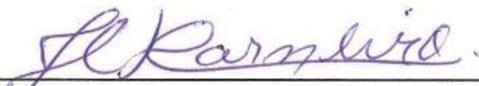
Prof^a. DSc. Juliana Gonçalves Vidigal
Instituto Federal Fluminense
(Membro externo)



Prof^a. DSc. Consuelo Domenici Roberto
Universidade Federal do Espírito Santo
(Coorientadora)



Prof^a. DSc. Elisabete Fantuzzi
Universidade Federal do Espírito Santo
(Coorientadora)



Prof. DSc. Joel Camilo Souza Carneiro
Universidade Federal do Espírito Santo
(Orientador)

AGRADECIMENTOS

À Deus, que me deu o dom da vida, me concedeu forças e, em meio a todas as barreiras e dificuldades, tornou possível a concretização de mais uma etapa de minha caminhada.

À Universidade Federal do Espírito Santo (UFES) e ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos (PCTA), pela minha formação.

À Capes pela concessão da bolsa de estudo.

A meu orientador Joel Camilo Souza Carneiro, pelo incentivo, força, confiança e por ter me guiado durante a realização deste trabalho sempre de forma competente e flexível.

Às minhas coorientadoras Consuelo Domenici Roberto e Elisabete Fantuzzi pelos ensinamentos e sugestões no trabalho.

À Lucas e Raquel pelo auxílio na execução do experimento.

Aos meus queridos pais, Lia e Flávio, pela formação, educação, incentivo, compreensão e imenso amor, sendo meu alicerce, meu porto seguro em todos os momentos de minha vida.

À toda minha família, em especial meus irmãos Larissa e Luciano, pelo suporte, apoio e amor dedicado durante todos os momentos e que firmam a base para minha caminhada.

As minhas amigas e amigos, Fernandinha, Jane, Gab, Cris, Larissa, Nayara, Tereza, Carol, Sthefann e toda galera PCTA pelo carinho, incentivo, momentos de descontração e aprendizado compartilhado.

Ao Instituto Federal Fluminense, Campus Bom Jesus do Itabapoana, pelo apoio.

A todos os colegas IFF- Bom Jesus, em especial ao grupo da agroindústria, pelo apoio e compreensão.

A todas as pessoas que de alguma forma contribuíram para a execução deste trabalho ou na minha caminhada.

Muito Obrigada!

Que nunca me falte...
a estrada que me leva
e a força que me levanta
o amor que me humaniza
e a razão que me equilibra
o pão de todo dia
e o verso de cada poema.

Low Witt

LISTA DE TABELAS

Tabela 1- Composição da carne suína	14
Tabela 2- Formulações da linguiça suína frescal	29
Tabela 3- Constituição dos tratamentos em estudo	33
Tabela 4- Valores de F para as características avaliadas na linguiça suína frescal.	39
Tabela 5- Valores médios de pH e acidez em função da concentração de nitrito da linguiça suína frescal.	42
Tabela 6- Valores médios de cor em função da concentração de nitrito da linguiça suína frescal.....	47
Tabela 7- Valores médios de a^* em função do tempo de armazenamento da linguiça suína frescal.....	49
Tabela 8- Valores de F para as contagens de Coliformes totais e termotolerantes, <i>Staphylococcus</i> sp e microrganismos psicrotróficos avaliados na linguiça suína frescal.....	51
Tabela 9- Média dos valores do Numero Mais Provável (NMP) para Coliformes Totais e Coliformes Termotolerantes em relação a concentração de nitrito de sódio e tempo de armazenamento da linguiça suína frescal.....	52
Tabela 10- Médias de contagens de microrganismos psicrotróficos (Log.UFC.g ⁻¹) e <i>Staphylococcus</i> sp (UFC.g ⁻¹) em relação a concentração de nitrito de sódio utilizada na elaboração da linguiça suína frescal.....	53
Tabela 11- Médias de contagens de <i>Staphylococcus</i> sp e psicrotróficos em função do tempo de acondicionamento da linguiça suína frescal	55

LISTA DE FIGURAS

Figura 1- Mecanismo de oxidação dos óleos e gorduras.....	18
Figura 2- Mudanças químicas da mioglobina durante a reação de cura.....	24
Figura 3- Fluxograma do processamento de linguiça suína frescal.	30
Figura 4- Linguiças após o embutimento.	31
Figura 5- Linguiças acondicionadas em embalagem a vácuo a 5 °C.	31
Figura 6- Valores médios de pH em função do tempo de armazenamento da linguiça suína frescal.....	40
Figura 7- Valores médios de acidez em função do tempo de armazenamento da linguiça suína frescal.....	41
Figura 8. Valores médios de TBARS (mg de malonaldeído.kg ⁻¹) em função do tempo de armazenamento da linguiça suína frescal.	43
Figura 9- Valores médios de TBARS (mg de malonaldeído.kg ⁻¹) em função da concentração de nitrito (mg. kg ⁻¹) da linguiça suína frescal.	44
Figura 10. Valores médios de nitrito residual (mg de nitrito.kg ⁻¹) em função da concentração de nitrito (mg.kg ⁻¹) da linguiça suína frescal, nos três tempos avaliados.	46
Figura 11- Valores médios de L* em função do tempo de armazenamento da linguiça suína frescal.....	48
Figura 12- Valores médios de b* em função do tempo de armazenamento da linguiça suína frescal.....	48

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO	12
2.	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	14
2.1.	CARNE SUÍNA E PRODUTOS CÁRNEOS	14
2.1.1.	Carne suína	14
2.1.2.	Produtos cárneos	15
2.1.2.1.	Linguiça frescal.....	16
2.2.	OXIDAÇÃO LIPÍDICA.....	17
2.2.1	Processos de oxidação lipídica	17
2.2.2.	Oxidação lipídica em produtos cárneos	19
2.3.	NITRITO DE SÓDIO	20
2.3.3.	Efeito do nitrito na cor da carne curada	22
2.4.	MICROBIOTA DE LINGUIÇA FRESCAL.....	24
2.5.	EMBALAGEM Á VÁCUO	26
3.	MATERIAL E MÉTODOS	28
3.2.	MATÉRIA-PRIMA	28
3.3.	INGREDIENTES.....	28
3.4.	ELABORAÇÃO DAS FORMULAÇÕES DE LINGUIÇA SUÍNA FRESCAL.....	28
3.5.	PROCESSAMENTO DA LINGUIÇA SUÍNA FRESCAL.....	29
3.5.2.	Descrição das etapas de processamento	30
3.6.	PLANEJAMENTO EXPERIMENTAL E ANÁLISE ESTATÍSTICA DOS DADOS.....	32
3.7.	ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS	33
3.7.2.	Determinação do pH	33
3.7.3.	Determinação da acidez titulável	34
3.7.4.	Determinação de cor	34
3.7.5.	Determinação de nitrito residual	34
3.7.5.1.	Determinação da curva padrão.....	35
3.7.6.	Determinação de substâncias reativas ao ácido 2-tiobarbitúrico	35
3.8.	ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS	35
3.8.2.	Determinação de coliformes	36
3.8.2.1.	Prova presuntiva	36

3.8.2.2.	Prova confirmativa	36
3.8.2.2.1.	Coliformes totais.....	36
3.8.2.2.2.	Coliformes termotolerantes	36
3.8.3.	Contagem de <i>Staphylococcus</i> coagulase positiva	37
3.8.3.1.	Teste da coagulase.....	37
3.8.3.2.	Testes complementares.....	37
3.8.3.2.1.	Coloração de gram.....	37
3.8.3.2.2.	Prova da catalase	38
3.8.4.	Contagem de psicrotróficos	38
4.	RESULTADOS E DISCUSSÃO	39
4.2.	AVALIAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DA LINGUIÇA SUÍNA FRESCAL..	39
4.3.	AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA DA LINGUIÇA SUÍNA FRESCAL	50
5.	CONCLUSÃO	56
6.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	57

RESUMO

FIGUEIRÓ, Lorane Sarmento. **Influência da redução do teor de nitrito de sódio na estabilidade oxidativa e avaliação microbiológica de linguiça suína frescal**. 2013. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal do Espírito Santo, Alegre-ES. Orientador: Prof. DSc. Joel Camilo Souza Carneiro. Coorientadoras: Prof^a.DSc. Consuelo Domenici Roberto e Prof^a. DSc. Elisabete Fantuzzi.

Durante o processamento de produtos cárneos curados são utilizados alguns conservantes químicos como o nitrito de sódio, com o objetivo de conservar, alterar características sensoriais e diversificar a produção. A adição de nitrito tem sido associada a uma imagem negativa em relação a saúde dos consumidores devido a formação de nitrosaminas, o que tem levado a indústria de alimentos a reconsiderar a quantidade de nitrito utilizada. Considerando essa abordagem, o objetivo deste trabalho consistiu em avaliar a influência da concentração do nitrito de sódio na estabilidade oxidativa e na contagem microbiológica da linguiça suína frescal. Foram elaborados amostras de linguiça com 0, 50, 100, 150 e 200 mg.kg⁻¹ de nitrito de sódio, que foram embaladas a vácuo e armazenadas a temperatura de 5°C. Foram avaliados o perfil de oxidação lipídica, por meio do número de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS), a cor, o pH, a acidez e a quantificação de nitrito residual ao longo do período de armazenamento (Dias 1, 8 e 15). A avaliação microbiológica foi feita por meio de contagens de coliformes totais (NMP.g⁻¹); coliformes termotolerantes (NMP.g⁻¹), microrganismos psicotróficos (Log.UFC.g⁻¹) e *Staphylococcus* coagulase positiva (UFC.g⁻¹) nos dias 0, 7 e 14. Durante o período estudado, observou-se número de TBARS de 0,24 mg.kg⁻¹, quando adicionou-se 50 mg.kg⁻¹ de nitrito e 0,09 mg.kg⁻¹, quando utilizou-se 200 mg.kg⁻¹, verificando-se uma redução ($P \leq 0,05$) no número de TBARS com o aumento da concentração de nitrito de sódio. Durante o tempo de armazenamento foi observado um aumento ($P \leq 0,05$) nos valores de TBARS, de 0,14 mg.kg⁻¹ para 0,21 mg.kg⁻¹, evidenciando que houve desenvolvimento do processo de oxidação lipídica.

Com relação à determinação objetiva da cor, foi observado durante o tempo avaliado, aumento ($P \leq 0,05$) dos valores de L^* de 57,77 para 59,2, e redução ($P \leq 0,05$) dos valores de b^* de 14,9 para 13,3, não sendo observada influência ($P > 0,05$) do nitrito de sódio em nenhum dos parâmetros de cor avaliados. Embora os valores de pH e acidez não tenham tido diferenças significativas nas distintas concentrações de nitrito, apresentaram variação ($P \leq 0,05$) durante o período de armazenamento, verificando valores de 5,78 para 5,66 e 7,95 para 9,75 % de ácido láctico, respectivamente. Os teores de nitrito residual aumentaram ($P \leq 0,05$) de 1,95 para 6,57 mg.kg^{-1} no 1º dia, quando a concentração de nitrito se elevou de 50 para 200 mg.kg^{-1} , mas durante o tempo de acondicionamento, reduziu-se quase que completamente, apresentando níveis menores que 2 mg.kg^{-1} no 15º dia. Durante a avaliação microbiológica da linguiça suína frescal, observou-se contagens para coliformes totais e termotolerantes inferiores a 1×10^3 NMP.g⁻¹ e para *Staphylococcus* coagulase positiva, todos os resultados foram negativos, mostrando-se em acordo com a legislação brasileira. Na contagem de microrganismos psicotróficos, todos os tratamentos apresentaram contagens superiores a 6 Log UFC.g⁻¹. Diante dos resultados apresentados, conclui-se que todos os tratamentos apresentaram-se estáveis à oxidação lipídica e à avaliação microbiológica. Assim, poderia ser possível reduzir as concentrações de nitrito de sódio usadas no preparo da linguiça suína frescal. Porém, antes de adotar esta medida, são necessários mais estudos para avaliar a influência das concentrações de nitrito sobre outras variáveis associadas à conservação e segurança da linguiça suína frescal.

Palavras-chave: linguiça suína frescal, nitrito de sódio, oxidação lipídica, contaminação microbiológica.

ABSTRACT

FIGUEIRÓ, Lorane Sarmento. **Influence of reduction in the sodium nitrite content on oxidation stability and microbiological evaluation of fresh pork sausage** 2013. Dissertation (Master's in Food Science and Technology) – Universidade Federal do Espírito Santo, Alegre-ES. Advisor: Prof. DSc. Joel Camilo Souza Carneiro. Co-advisors: Prof.DSc. Consuelo Domenici Roberto and Prof. DSc. Elisabete Fantuzzi.

The processing of cured meat products involves some chemical preservatives such as sodium nitrite aiming to preserve, modify sensory traits and diversify production. Addition of nitrite has been associated with a negative image as regards the health of consumers due to the formation of nitrosamine, which has led the food industry to reconsider the amount of nitrite used. Given this scenario, the objective of this study was to evaluate the influence of the sodium nitrite concentration on the oxidation stability and microbiological count of fresh pork sausage. Sausage samples containing 0, 50, 100, 150 and 200 mg.kg⁻¹ sodium nitrite were prepared, vacuum-packed and stored at 5 °C. We evaluated the lipid oxidation profile, by the number of substances reactive to thiobarbituric acid (TBARS), color, pH, acidity and quantification of residual nitrite throughout the storage period (Days 1, 8 and 15). The microbiological evaluation was performed by counting the total coliforms (NMP.g⁻¹); thermo-tolerant coliforms (NMP.g⁻¹), psychrotrophic microorganisms (Log.cfu.g⁻¹) and coagulase-positive *Staphylococcus* (cfu.g⁻¹) on days 0, 7 and 14. During the studied period, a TBARS of 0.24 mg.kg⁻¹ was observed when 50 mg.kg⁻¹ nitrite were added, and 0,09 mg.kg⁻¹ when we utilized 200 mg.kg⁻¹, displaying a decrease ($P \leq 0.05$) in the number of TBARS as the sodium nitrite concentration was elevated. During the storage time, an increase ($P \leq 0.05$) from 0.14 mg.kg⁻¹ to 0.21 mg.kg⁻¹ was observed in TBARS, demonstrating development of the lipid-peroxidation process. With regard to the objective determination of the color, increase was observed ($P \leq 0.05$) in the L^* values (57.77 to 59.2), whereas the b^* values were found to reduce (14.9 to 13.3), and no influence ($P > 0.05$) of sodium nitrite was observed for

any of the color parameters assessed. Although the pH and acidity values had no significant differences at the different concentrations of nitrite, they did show variation ($P \leq 0.05$) during the storage period, specifically 5.78 to 5.66 and 7.95 to 9.75% lactic acid, respectively. The residual nitrite contents increased ($P \leq 0.05$) from 1.95 to 6.57 mg.kg⁻¹ on the 1st day, when the nitrite concentration rose from 50 to 200 mg.kg⁻¹, but during the conditioning time, it reduced almost completely, presenting levels below 2 mg.kg⁻¹ on the 15th day. In the microbiological evaluation of the fresh pork sausage, counts lower than 1×10^3 NMP.g⁻¹ were observed for total and thermo-tolerant coliforms; for coagulase-positive *Staphylococcus* all the results were negative, showing it to be in accordance with the Brazilian legislation. At the count of psychrotrophic microorganisms, all treatments presented counts above 6 Log cfu.g⁻¹. Given the aforementioned results, we conclude that all treatments showed to be stable at lipid peroxidation and microbiological evaluation. Thus, it may be possible to reduce the sodium nitrite concentrations used in the preparation of fresh pork sausage. However, before adopting this measure, more studies should be conducted to evaluate the influence of nitrite concentrations on the other variables associated with preservation and safety of fresh pork sausage.

Key words: fresh pork sausage, sodium nitrite, lipid peroxidation, microbiological contamination

1. INTRODUÇÃO

A carne fresca é um produto altamente perecível que apresenta vida de prateleira limitada pelo crescimento de microrganismos e pelas condições de armazenamento (OLIVEIRA, ARAÚJO e BORGIO, 2005; LAMBERT, SMITH e DODDS, 1991). O processamento de produtos cárneos visa prolongar a vida útil, desenvolver sabores e aproveitar cortes de baixo valor comercial quando no estado fresco (TERRA,1998).

O mercado de embutidos tem apresentado significativa expansão e alta competitividade, e dentre os embutidos, a linguiça frescal constitui o derivado cárneo mais produzido no Brasil, destacando-se por sua aceitação e comercialização (OLIVEIRA, ARAÚJO e BORGIO, 2005). A linguiça frescal é um produto com grande quantidade de água livre e gordura, podendo ocorrer reações de oxidação e desenvolvimento de microrganismos deterioradores e patogênicos durante o processamento e a comercialização do produto (ALMEIDA, 2005; TERRA,1998).

Durante o processamento de embutidos cárneos, alguns conservantes químicos são utilizados, como o nitrito de sódio. O nitrito é um composto existente naturalmente em alimentos ou adicionado durante o processamento dos mesmos, que confere cor e sabor característicos aos produtos cárneos, age como antioxidante e impede ou retarda o crescimento microbiano, aumentando a vida de prateleira do produto (HONIKEL, 2008; SHAHIDI e PEGG, 1992; TOYOHARA, 1989).

No Brasil, para a produção de embutidos cárneos, o emprego de nitrito de sódio pode ser feito na proporção máxima de 150 mg/kg, desde que no produto pronto para o consumo, o teor de nitrito de sódio ou qualquer combinação deste com nitrito de potássio e nitrato não ultrapasse 200 mg/kg (BRASIL, 1952).

A utilização de aditivos em grande quantidade pela indústria de produtos cárneos, com o objetivo de conservar, alterar características sensoriais e diversificar a produção, tem sido associada a uma imagem negativa em relação a saúde pelos consumidores (BIESALSKI, 2005). Alguns

autores têm relatado problemas de saúde ocasionados por altos níveis de nitrito no organismo (FERGUSON, 2010; NASCIMENTO, 2010; HSU, ARCOT e LEE, 2009 e TOYOHARA, 1989).

Por outro lado, alguns estudos mostram que se os limites legais estabelecidos forem respeitados na formulação e controlados no produto final, não há risco para a saúde dos consumidores (SEBRANECK e BACUS, 2007; PAIXÃO, CARDOSO e BERTOTTI, 2007). Em contrapartida, a preocupação da população com relação à formação de nitrosaminas tem levado a indústria de alimentos a reconsiderar a quantidade de nitrito utilizada em seus produtos (ARISSETO, 2003).

O nitrito de sódio pode alterar várias características dos produtos cárneos, portanto, é um trabalho desafiador tornar um produto mais saudável em relação ao teor dessa substância, sem modificar suas propriedades tecnológicas, seus atributos de qualidade e sua segurança (NASCIMENTO, 2010).

Diante do exposto, este trabalho teve como objetivo estudar a influência da concentração do nitrito de sódio na estabilidade oxidativa e na avaliação microbiológica da linguiça suína frescal. Neste contexto, os objetivos específicos foram:

- Formular linguiça suína frescal com diferentes concentrações de nitrito de sódio;
- Avaliar a segurança do produto em relação ao teor residual de nitrito ao final do tempo de armazenamento em estudo;
- Avaliar o efeito dos diferentes níveis de nitrito de sódio sobre a estabilidade oxidativa da linguiça suína frescal;
- Avaliar a microbiota da linguiça suína frescal com reduzidos níveis de nitrito de sódio durante o armazenamento sob refrigeração.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. CARNE SUÍNA E PRODUTOS CÁRNEOS

2.1.1. Carne suína

A carne suína é rica em nutrientes essenciais, apresentando diversos benefícios à saúde humana. Possui elevado teor de proteínas, ácidos graxos monoinsaturados, vitaminas do complexo B e diversos minerais (SARCINELLI; VENTURINI e SILVA, 2007; ARIHARA, 2006). Representa a proteína de origem animal mais consumida no mundo, contribuindo para a obtenção de uma alimentação balanceada. Possui sabor e maciez característicos, além de ser fonte de vitaminas e minerais (ABIPECS, 2012).

Na tabela 1, é apresentada a composição da carne suína.

Tabela 1- Composição da carne suína

Constituintes	Carne suína/ 100g
Calorias (Kcal)	134
Água (%)	72,97
Proteína (%)	21,2
Carboidratos (%)	0
Lipídeos (%)	4,82
Cinzas (%)	1,01

Fonte: Compilada de U.S. Department of Agriculture Research Service (2012).

O Setor de carne suína está em constante crescimento. No período de 2008/2009, o Brasil se encontrava como o 4º maior produtor e exportador (BRASIL, 2013). Já no período de 2011/2012, houve crescimento na produção, e o Brasil passou a ocupar a 3º posição como maior produtor, com 3,49 milhões de toneladas produzidas, mas permanece como o 4º maior exportador com 581 mil toneladas exportadas (ABIPECS, 2012).

A preferência dos consumidores é pelos produtos industrializados, no entanto o consumo *per capita* da carne suína encontra-se acima de 15

kg/habitante/ano, com potencial crescimento nesta década (ABIPECS, 2012).

O aumento no consumo de carne suína é devido, principalmente, às características sensoriais que a carne apresenta. A composição química e a elevada atividade de água, além de influenciar as características sensoriais, tornam a carne altamente perecível, o que delimita a vida de prateleira (OLIVEIRA, ARAÚJO e BORGIO, 2005; LAMBERT, SMITH e DODDS, 1991).

2.1.2. Produtos cárneos

Os derivados cárneos surgiram na antiga Grécia romana, como forma de conservar a carne que se deteriorava rapidamente. As formas de conservação empregavam o uso do calor, a redução da atividade de água, a salga e a fermentação, que combina a redução da atividade de água com a redução do pH do produto (VANDENDRIESSCHE, 2008).

Nos dias atuais, a preocupação com a qualidade dos produtos cárneos e com a saúde dos consumidores é primordial. Estudos sugeriram que a ingestão excessiva de carne processada é uma das causas de cânceres, devido ao desequilíbrio provocado no organismo pelos aditivos e ingredientes utilizados no processamento (AGGETT et al., 2005; NORAT et al., 2005).

Como todos os produtos industrializados, produtos cárneos contêm ingredientes que, quando utilizados em proporções excessivas, exercem efeito negativo sobre a saúde humana. Alguns destes são constituintes da carne, como a gordura. Outros são adicionados ao produto durante o processamento por razões tecnológicas, microbiológicas ou sensoriais como sal, nitrito de sódio, fosfato, dentre outros (JIMÉNEZ-COLMENERO e COFRADES, 2001).

A indústria de derivados cárneos engloba diversos produtos, cada um com particularidades nos aspectos tecnológicos e sensoriais (SANCHES, 2010). Entre estes, o mercado de embutidos tem apresentado significativa expansão e alta competitividade (OLIVEIRA, ARAÚJO e BORGIO, 2005).

Os embutidos cárneos são produtos elaborados com carnes de animais de açougue de diferentes espécies animais, submetidas ao processo de moagem, condimentadas e embutidas em envoltórios naturais ou artificiais.

Esses produtos podem ser classificados como frescos, curados, fermentados, cozidos, defumados e/ou emulsionados de acordo com o processamento aos quais são submetidos (BRASIL, 1952).

2.1.2.1. Linguiça fresca

A linguiça fresca é um produto que pode ser curado ou não e se destaca entre os embutidos por constituir o derivado cárneo mais produzido e comercializado no Brasil, possuindo notória aceitação (OLIVEIRA, ARAÚJO e BORGIO, 2005).

Segundo a ABIPECS (2011), o setor de embutidos frescos, com 32,8% dos produtos cárneos, representa a maior participação no mercado interno dentre estes produtos. Segundo dados obtidos pelo IBGE na pesquisa de orçamentos familiares de 2008-2009, a aquisição domiciliar *per capita* de linguiça alcançou 2,092 kg/ano (IBGE, 2013).

A linguiça é um produto cárneo industrializado, obtido de carne bovina, suína e aves, adicionado ou não de gordura, ingredientes, embutido em envoltório natural ou artificial e submetido a processo tecnológico adequado. Suas características sensoriais são definidas de acordo com o processo de obtenção do produto, sendo a cor, o sabor, a textura e o odor característicos da matéria-prima e dos demais ingredientes utilizados, bem como dos processos tecnológicos empregados (BRASIL, 2000).

No processamento de linguiça fresca, são requeridas uma série de etapas que envolvem a manipulação do produto, o que favorece a contaminação por espécies de microrganismos patogênicos e deterioradores, podendo comprometer a qualidade microbiológica do produto final, caso ocorram falhas e não conformidades em seu processamento (MARQUES et al., 2006; TUTENEL et al., 2003).

Por ser um produto fresco, com grande quantidade de água livre e gordura, a linguiça possui uma vida útil reduzida, podendo ocorrer reações de oxidação e desenvolvimento de microrganismos patogênicos e deterioradores. Dentre as várias causas, as alterações oxidativas e microbiológicas dependem do tipo e quantidade de aditivos utilizados e da

temperatura de refrigeração durante o processamento e comercialização do produto (SALINAS et al., 2014; ALMEIDA, 2005; KITAKAWA, 2002; TERRA, 1998).

Dessa forma, retardando a oxidação lipídica e impedindo o crescimento bacteriano pode-se ter uma contribuição significativa para a extensão da vida de prateleira da linguiça frescal. Com este objetivo são adicionados aditivos com propriedades antioxidantes e antimicrobianas, como o nitrito de sódio (MASTROMATTEO et al., 2011).

Além da adição de aditivos químicos, a refrigeração é um processo crítico, e age como método complementar na manutenção da qualidade do produto. A linguiça frescal quando armazenada de 12 a 30 dias a 4°C mantém sua conservação. A partir deste tempo, inicia-se o processo de deterioração da linguiça. (TOYOHARA, 1989).

Segundo Almeida (2005), mesmo quando a linguiça frescal é armazenada a 5°C, o desenvolvimento da rancidez e de microrganismos limita sua vida útil para 30 dias, ainda que todos os requisitos de higiene sejam obedecidos durante o processamento e a comercialização.

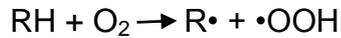
2.2. OXIDAÇÃO LIPÍDICA

2.2.1 Processos de oxidação lipídica

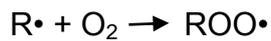
Oxidação lipídica é o termo utilizado para descrever uma sequência complexa de alterações químicas resultantes da interação de lipídeos com o oxigênio. Esse processo pode ocorrer por mecanismos químicos e enzimáticos (DAMODARAN, PARKIN e FENNEMA, 2010).

A auto-oxidação é um processo químico, considerado o principal mecanismo de oxidação dos óleos e gorduras. Dá-se através da reação do oxigênio com ácidos graxos insaturados e envolve três etapas, mostradas na Figura 1 (RAMALHO e JORGE, 2006):

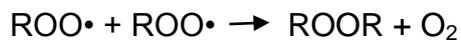
1. Iniciação



2. Propagação



3. Terminação



Em que,

RH: Ácido graxo insaturado

R•: Radical livre formado

ROO•: Radical peróxido

ROOH : Hidroperóxido

Figura 1- Mecanismo de oxidação dos óleos e gorduras.

Os hidroperóxidos são considerados os produtos mais importantes da reação inicial obtidos da oxidação lipídica. Os produtos oriundos de sua decomposição, como, malonaldeídos, cetonas, álcoois, hidrocarbonetos e ácidos são de extrema importância para a qualidade e segurança dos alimentos (ARAÚJO, 2011; CERQUEIRA, MEDEIROS e AUGUSTO, 2007).

O malonaldeído tem sido muito utilizado como um modelo para os produtos secundários da oxidação. Por meio da sua reação com o ácido tiobarbitúrico (TBA), forma-se um composto de coloração rósea, utilizado para

detectar o nível de oxidação dos produtos alimentícios, principalmente os cárneos (FRANKEL, 1983). Entretanto, o teste de TBA mede a concentração do malonaldeído somente na fase inicial e de propagação da oxidação (QUEIROZ, 2006).

Para se evitar a oxidação, há a necessidade de diminuir a incidência de todos os fatores que a favorecem, mantendo ao mínimo os níveis de temperatura e luz, que são responsáveis pelo desencadeamento do processo de formação de radicais livres. Ainda é necessário evitar a presença de traços de metais, contato com o oxigênio e bloquear a formação de radicais livres por meio do emprego de antioxidantes, os quais, em pequenas quantidades, atuam interferindo nos processos de oxidação de lipídeos (ARAÚJO, 2011; RAMALHO e JORGE, 2006).

2.2.2. Oxidação lipídica em produtos cárneos

A deterioração em produtos cárneos pode ser causada por reações físicas, químicas, enzimáticas e desenvolvimento microbiológico durante toda a linha de processamento até o consumo (GOULD, 1996). Entretanto, a oxidação lipídica é a reação desencadeadora da deterioração dos produtos cárneos (GRAY, GOMAAA e BUCKLEYB, 1996).

Uma das principais causas de deterioração de produtos cárneos é a rancidez oxidativa, atuando como responsável por mudanças na qualidade nutricional, perda de vitaminas e aminoácidos essenciais, e alterações de cor, sabor, odor e textura (GEORGANTELIS et al., 2007, AGUIRREZÁBAL et al., 2000).

A grande maioria dos produtos cárneos é conservada em embalagens permeáveis ao ar. Isto permite a oxidação de ácidos graxos insaturados, o que é um problema para estes produtos, principalmente os de origem suína, já que a sua gordura é composta de 60% de ácidos graxos insaturados (BLOUKAS e HONIKEL, 1992). Além da natureza e composição dos lipídeos, o elevado teor de catalizadores (ferro e mioglobina) contribui para a suscetibilidade às reações oxidativas dos produtos cárneos (DECKER et al., 1995).

A moagem e a homogeneização da carne, durante o processamento, favorece a incorporação de oxigênio à carne, além de romper a estrutura do tecido, fazendo com que o átomo de Fe^{2+} da molécula de mioglobina entre em contato com as moléculas de ácido graxo insaturado, atuando assim como agente iniciador e catalisador da reação de oxidação lipídica (FIGUEIREDO, 2010).

A associação da exposição ao oxigênio e temperaturas inadequadas de armazenamento do produto, pode resultar em rancidez no produto final, tornando-o inaceitável pelos consumidores (SEBRANEK et al., 2005; GRAY, GOMAAA e BUCKLEYB, 1996).

A propensão de carnes e produtos cárneos em sofrer oxidação lipídica depende de vários fatores, incluindo os fatores pré-abate, como o estresse, e os pós-abate, como o pH e temperatura da carcaça (GANDEMER, 2002). Além disso, qualquer processo que age na modificação da integridade das membranas musculares como, desossa, moagem, reestruturação ou cocção altera a exposição celular. Isso facilita as interações de pro-oxidantes com ácidos graxos insaturados, resultando na geração de radicais livres e propagação das reações oxidativas (GANDEMER, 2002; GRAY, GOMAAA e BUCKLEYB, 1996).

2.3. NITRITO DE SÓDIO

Durante o processamento de produtos cárneos, alguns conservantes químicos são utilizados, como o nitrito de sódio, composto existente naturalmente em alimentos e adicionados durante o processamento dos mesmos. Este aditivo é usado com a finalidade de conferir cor e sabor característico aos produtos cárneos, agir como antioxidante e impedir ou retardar o crescimento microbiano, aumentando a vida de prateleira do produto (HONIKEL, 2008; SHAHIDI e PEGG, 1992; TOYOHARA, 1989).

Como antioxidante, atua nos produtos cárneos por meio de vários mecanismos. Segundo Igene (1985), o nitrito forma um complexo com os compostos heme da mioglobina e, deste modo, previne a liberação de ferro durante as operações de processamento dos produtos cárneos, estabilizando

os lipídeos insaturados nas membranas.

Segundo Aguirrezábal et al. (2000) o nitrito adicionado em doses iguais ou superiores a 50 mg.kg^{-1} , age como antioxidante reduzindo a oxidação no produto. No entanto, o nível de nitrito adicionado no produto cárneo, além de ser efetivo contra a oxidação, deve ser suficiente para garantir proteção contra a multiplicação dos microrganismos e a produção da toxina do *Clostridium botulinum* (ARISSETO, 2003).

O nitrito de sódio é, naturalmente, encontrado em produtos cárneos e o nitrato, através de algumas reações químicas, pode ser reduzido a nitrito de sódio (HONIKEL, 2008). Dessa forma, no Brasil, o emprego do nitrito de sódio em produtos cárneos com base cárnea picada ou triturada, só pode ser feito na proporção máxima de 150 mg.kg^{-1} (BRASIL, 1952; BRASIL, 1998), desde que no produto pronto para o consumo o teor de nitrito de sódio ou qualquer combinação deste com nitrito de potássio e nitrato não ultrapasse 200 mg.kg^{-1} (BRASIL, 1952).

A utilização de aditivos em grande quantidade pela indústria de produtos cárneos, com o objetivo de conservar, alterar características sensoriais e diversificar a produção, tem sido associado a uma imagem negativa em relação à saúde pelos consumidores (BIESALSKI, 2005). Altos níveis de nitrito no organismo agem sobre a hemoglobina, oxidando o ferro, do estado ferroso ao férrico, impedindo assim a função normal da hemoglobina no transporte do oxigênio (TOYOHARA, 1989).

Segundo Nascimento (2010), esse aditivo é frequentemente relacionado com o aumento da pressão arterial, doenças cardíacas e até mesmo com alguns tipos de câncer. Já outros autores, associam a alta ingestão de nitrito ao risco de câncer gastrointestinal, devido à formação de substâncias químicas carcinogênicas, conhecidas como nitrosaminas (FERGUSON, 2010; HSU, ARCOT e LEE, 2009).

Estudo realizado por Cassens (1997) mostra que quando o nitrito de sódio é utilizado em produtos cárneos curados, este interage com vários constituintes do sistema biológico da carne. Dessa forma, no final do processamento, cerca de 10-20% do nitrito originalmente utilizado pode ser detectado em análises. Níveis de nitrito residual podem cair ainda mais

durante o armazenamento, distribuição, e novamente durante a preparação e consumo de produtos cárneos curados.

Se os limites legais estabelecidos forem respeitados na formulação e controlados no produto final, não há risco para a saúde dos consumidores (SEBRANECK e BACUS, 2007; PAIXÃO; CARDOSO e BERTOTTI, 2007).

Diante das informações sobre a segurança de produtos cárneos, os consumidores tornaram-se mais conscientes e preocupados com relação à ingestão destes produtos cárneos devido aos efeitos a longo prazo associados à presença de aditivos e contaminantes (CURIEL, 2011; CASSENS, 1997). Portanto, o controle dos processos é necessário para garantir saúde e para manter a confiança e satisfação dos consumidores (ANDRÉE et al., 2010),

A preocupação da população com relação à formação de nitrosaminas tem levado a indústria de alimentos a reconsiderar a quantidade de nitrito utilizada. A redução do teor de nitrito nas formulações de produtos cárneos não significa apenas a redução deste ingrediente, pois outras características de qualidade como sabor, textura e conservação também são afetadas (ARISSETO, 2003). Portanto, é um trabalho desafiador tornar um produto cárneo mais saudável em relação ao teor dessa substância, sem alterar suas propriedades tecnológicas, seus atributos de qualidade e a segurança (NASCIMENTO, 2010).

2.3.3. Efeito do nitrito na cor da carne curada

A cor e a estabilidade da cor são atributos importantes na avaliação da qualidade global de produtos cárneos (TROY e KERRY, 2010). A aparência da carne e de seus derivados determina como os consumidores percebem a qualidade do produto e influencia significativamente na percepção de frescor e decisão de compra pelo consumidor (CARPENTER; CORNFORTH; WHITTTLER, 2001).

A proteína cárnea mioglobina é primariamente a responsável pela cor da carne. Esse pigmento pode existir em três estados químicos. Mioglobina reduzida (Mb), de cor vermelho púrpura, mioglobina oxigenada ou

oximioglobina (O_2Mb), de coloração vermelho brilhante e mioglobina oxidada ou metamioglobina (MetMb), de coloração marrom (O'GRADY et al., 2000).

A cor rósea, característica dos produtos curados é formada por meio de modificações químicas entre os pigmentos naturais da carne e suas reações com o nitrito. Nessas reações é formada a nitrosomioglobina (NOMb), pigmento responsável pela coloração característica (CHASCO; LIZASO; BERIAIN, 1996).

Este é um processo lento e complexo, que resulta em uma série de reações que compreendem microrganismos, enzimas e processos químicos e depende de parâmetros como pH, concentração de pigmentos na carne, potencial de oxi-redução, distribuição do agente de cura, temperatura, umidade, entre outros (CHASCO; LIZASO; BERIAIN, 1996).

Na Figura 2 é apresentada as principais rotas químicas do processo de cura. A formação do pigmento que dá a coloração à carne curada se dá por meio da oxidação da mioglobina a oximioglobina pela ação do nitrito levando à formação de metamioglobina, com a simultânea redução de nitrito a óxido nítrico (NO). O óxido nítrico reage com a metamioglobina originando a nitrosometamioglobina, que pode reduzir-se ao nitrosomioglobina, pigmento instável na presença de oxigênio. Quando o produto cárneo é submetido ao calor é formado o nitrosohemocromo, pigmento estável responsável pela coloração rósea característica de produtos curados (ORDONEZ et al, 2005 e CASSENS et al, 1979).

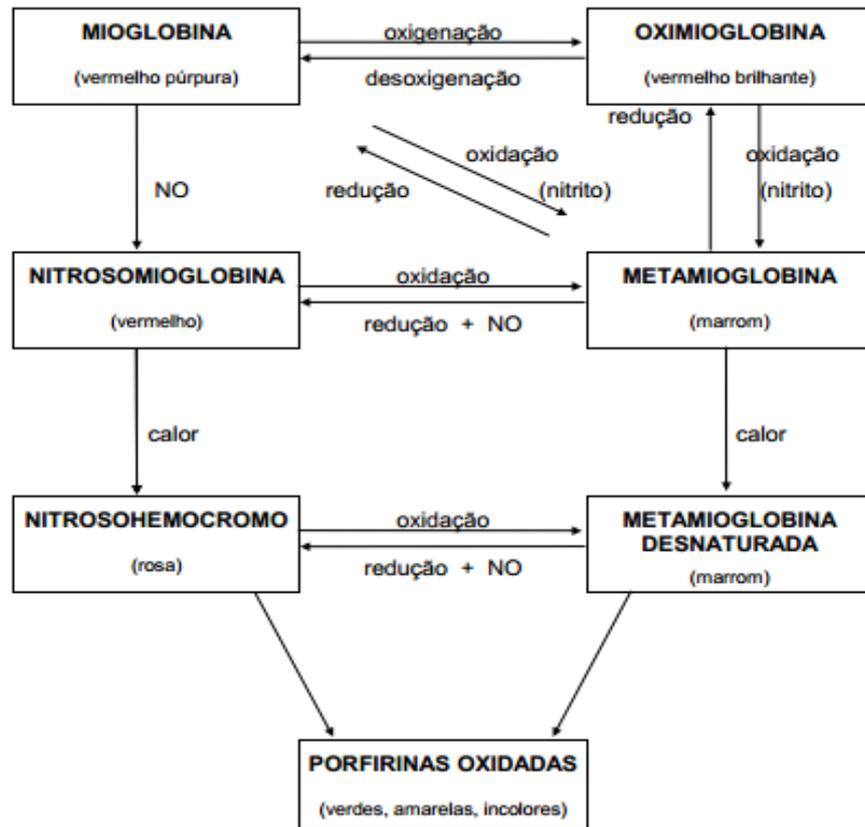


Figura 2- Mudanças químicas da mioglobina durante a reação de cura.
 Fonte: PRICE; SCHWEIGERT (1994)

2.4. MICROBIOTA DE LINGUIÇA FRESCAL

A carne é um excelente substrato para o crescimento bacteriano. Dessa forma, as populações microbianas características que se desenvolvem nas carnes e produtos cárneos são o resultado do efeito das condições de abate e processamento na microbiota inicial da matéria-prima, além dos microrganismos introduzidos pela contaminação cruzada (MOSCHONAS et al., 2011; DELHALLE et al., 2009; CASTELLANO et al., 2008).

A sanidade da matéria-prima, a higiene no manuseio, as condições de fabricação e conservação e a limpeza dos equipamentos são fatores importantes que estão ligados diretamente à qualidade dos embutidos frescos (DIAS et al., 2008; JAY, 2005).

Numerosos fatores influenciam o crescimento dos microrganismos em carne e produtos cárneos. Esses fatores podem ser intrínsecos, como pH,

atividade de água e quantidade de nutrientes da carne, e também extrínsecos como forma de processamento, embalagens e temperatura de armazenamento (CASTELLANO et al., 2008; ALMEIDA, 2005).

No caso de embutidos frescos, a operação de moagem da carne é um fator adicional que pode favorecer a contaminação e a multiplicação de microrganismos (ALMEIDA et al., 2002).

Embora algumas das alterações do produto não se devam apenas à atuação de microrganismos, a multiplicação microbiana é o fator mais importante que influencia a qualidade da carne (GOMIDE, RAMOS e FONTES, 2013).

Vários microrganismos são frequentemente encontrados em produtos cárneos processados como, por exemplo, bactérias do gênero *Bacillus*, *Enterobacter*, *Enterococcus*, *Listeria*, *Staphylococcus*, sendo encontrados com maior frequência *Lactobacillus*, além de fungos dos gêneros *Aspergillus* e *Penicillium* (MANHOSO, 1996).

A qualidade microbiológica de linguiça fresca é determinada pelo padrão microbiológico estabelecido na Resolução RDC nº 12, de 2 de janeiro de 2001, no qual define limites para Coliformes a 45°C, *Staphylococcus* coagulase positiva, *Clostridium* sulfito redutor a 46°C e *Salmonella* sp (BRASIL, 2001).

Visando a segurança dos alimentos, a contagem de coliformes termotolerantes tem sido utilizada para avaliar as condições higiênico-sanitárias dos alimentos (QUILO et al., 2010, GONZALEZ et al., 2003, DE SOUSA, et al., 2002, BUCHANAN, 1992).

Coliformes termotolerantes constituem um grupo de enterobactérias capazes de fermentar a lactose a 45°C com produção de gás e ácido. Altas contagens de coliformes termotolerantes indicam falhas higiênicas ao longo do processamento e possibilidade da presença de microrganismos patogênicos (CHIGBU, GORDON, STRANGE, 2005, FRANCO; LANDGRAF, 2008).

Bactérias do gênero *Staphylococcus* são cocos gram positivos, anaeróbicos facultativos, podendo ser coagulase positivo ou negativo (JAY, 2005). A prova de coagulase comumente é utilizada para identificar

Staphylococcus aureus em alimentos, visto que, outros membros do gênero *Staphylococcus* sp, normalmente encontrados em alimentos, não produzem a enzima coagulase (DIANE, HOOPER e MELODY, 2000). Contudo, apesar desta ser útil na identificação de espécies que podem produzir enterotoxinas estafilocócicas, não se pode atribuir à coagulase nenhum efeito patogênico (TORTORA, CASE e FUNKE, 2012).

Staphylococcus aureus é uma das espécies patogênicas mais comuns, causando a maioria das infecções estafilocócicas, por meio da produção de enterotoxinas (MURRAY, 2004). Este microrganismo é capaz de produzir sete enterotoxinas distintas: A, B, C1, C2, C3, D e E, sendo que a enterotoxina A, está mais frequentemente relacionada aos casos de intoxicação alimentar (MADIGAN, MARTINKO e PARKER, 2004).

As enterotoxinas são termoestáveis, não sendo destruídas pela cocção dos alimentos. Uma vez formadas, podem causar intoxicação mesmo após a destruição do microrganismo durante o processamento (OLIVEIRA, 2010).

A microbiota psicrotrófica de carnes e produtos cárneos pode se multiplicar em temperaturas iguais ou inferiores a 0°C e são responsáveis por grande parte das alterações dos produtos (VIEIRA e TEIXEIRA, 1997). Em ambiente aeróbio, a microbiota psicrotrófica de carnes resfriadas é predominantemente composta de bactérias gram negativas causadoras de putrefação, enquanto que em ambiente anaeróbio, como embalagens a vácuo ou em atmosfera modificada com alto nível de dióxido de carbono, a microbiota psicrotrófica é composta de bactérias lácticas não putrefativas (ALMEIDA, 2005, FERNANDO et al., 1995).

Apesar dos microrganismos psicrotróficos não serem considerados um fator determinante na qualidade de linguiça frescal, se presentes, podem atuar como indicativo da deterioração microbiológica, e o aumento de sua contagem resulta em perda da qualidade do produto (JAY, 2005).

2.5. EMBALAGEM Á VÁCUO

A preservação da qualidade e segurança dos produtos frescos deve ser baseada na aplicação de tratamentos que dificultem a sobrevivência e

crescimento dos microrganismos, reduzindo a deterioração nos produtos cárneos e a incidência de doenças transmitidas por estes aos consumidores. Dessa forma, para auxiliar no controle de possíveis deterioradores, a embalagem a vácuo pode ser utilizada, com finalidade de proporcionar maior vida útil aos produtos cárneos durante a estocagem e comercialização (CORREIA, 2008).

A embalagem a vácuo, regula as transferências que podem ocorrer entre o meio interno e o meio externo, ao qual o produto é exposto durante o armazenamento. A técnica de embalar a vácuo consiste em extrair o ar presente no interior da embalagem, entre o produto e o filme. Impedindo o contato dos gases, como O_2 , CO_2 e N_2 , com o produto, prolongando sua vida útil, já que estes gases são precursores da degradação do alimento (MERGEN, 2012).

A ausência de oxigênio no produto embalado a vácuo impede o crescimento de grande parte da microbiota aeróbia deterioradora. Por outro lado, a ausência de oxigênio, apesar de acarretar uma maior conservação do produto, favorece o crescimento de microrganismos anaeróbios, que podem se desenvolver e causar deterioração, dependendo das condições de armazenamento (KAWAICHI, 2010).

A embalagem a vácuo possui baixo custo e além de retardar ou impedir o crescimento de alguns microrganismos, é eficaz na redução de reações oxidativas. A eficácia em retardar a oxidação nos alimentos é devido principalmente a ausência de oxigênio no produto embalado a vácuo, melhorando a eficiência do controle desta reação e do crescimento microbiológico, quando a embalagem a vácuo é associada a outros métodos de conservação, como a refrigeração e o congelamento (MANJU et al, 2007).

3. MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Espírito Santo (UFES), nos laboratórios de Tecnologia de Produtos Agrícolas, Química de Alimentos e Microbiologia, no período de 30 de novembro de 2012 a 04 de junho de 2013.

3.2. MATÉRIA-PRIMA

Utilizou-se lombo suíno como matéria-prima principal e toucinho de carcaça suína, ambos refrigerados, e adquiridos no comércio local.

3.3. INGREDIENTES

Na elaboração das formulações de linguiça suína frescal foram utilizados cloreto de sódio (NaCl – P.A.), ácido ascórbico ($\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_6$ – P.A.), fosfato de sódio monobásico (NaH_2PO_4 – P.A.) e nitrito de sódio (NaNO_2 – P.A.).

3.4. ELABORAÇÃO DAS FORMULAÇÕES DE LINGUIÇA SUÍNA FRESCAL

Foram elaboradas cinco formulações, variando-se o teor de nitrito de sódio (0 mg.kg^{-1} a 200 mg.kg^{-1}), sendo que as matérias-primas e os demais ingredientes foram mantidos constantes, conforme é apresentado na Tabela 2. Em apenas uma das formulações foi adicionado teor de nitrito de sódio acima do preconizado pela legislação (BRASIL, 1952), sendo uma extrapolação para efeito comparativo com as demais formulações.

Tabela 2- Formulações da linguiça suína frescal

	Formulações				
	A	B	C	D	E
Lombo suíno (%)	80	80	80	80	80
Toucinho (%)	20	20	20	20	20
Massa total (%)	100	100	100	100	100
Água (%)	10	10	10	10	10
Cloreto de sódio (%)	2	2	2	2	2
Fosfato de sódio (mg.kg⁻¹)	250	250	250	250	250
Ácido ascórbico (mg.kg⁻¹)	250	250	250	250	250
Nitrito de sódio (mg.kg⁻¹)	0	50	100	150	200

3.5. PROCESSAMENTO DA LINGUIÇA SUÍNA FRESCAL

O produto foi elaborado a partir de matéria-prima de qualidade, assegurada pelo serviço de inspeção sanitária da indústria e do comércio onde foram adquiridas. O processamento ocorreu sob condições de higiene, seguindo as Boas Práticas de Fabricação (BRASIL, 2004). Na Figura 3 é apresentado o fluxograma do processamento de linguiça suína frescal.

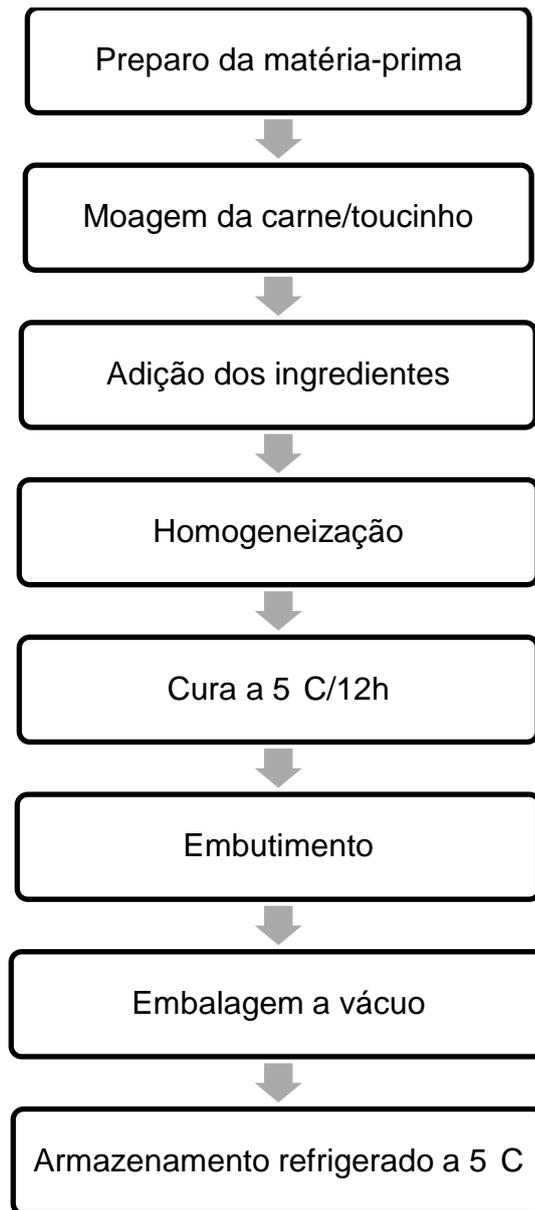


Figura 3- Fluxograma do processamento de linguiça suína fresca.

3.5.2. Descrição das etapas de processamento

Foram retiradas as aparas, a fim de se remover o excesso de gordura das peças de lombo suíno. A carne foi pesada e então, calculou-se a quantidade de toucinho a ser utilizado. A carne e o toucinho foram moídos em moedor (Boca 22, Poli), em disco de 8 mm, e a massa cárnea foi dividida em cinco partes. Em relação ao peso de cada parte foi calculado o peso dos ingredientes e adicionados à massa. Os ingredientes foram misturados à massa cárnea até se obter uma mistura homogênea. Após a

homogeneização, a massa cárnea foi armazenada a 5°C por 12 horas. Concluído o período de cura, deu-se início ao embutimento da massa, em embutideira (Picelli, EP8). Para o embutimento, utilizou-se tripa de carneiro salgada, previamente lavada para retirada do sal e reidratada por imersão em água a 25°C. As linguiças foram acondicionadas em embalagens para vácuo (160 x 260 mm, Embalavac), em unidades individuais de 170 g, utilizando-se seladora a vácuo (Supervac, SVC-300), e armazenadas a 5°C por 15 dias (Figura 4 e 5).



Figura 4- Linguiças após o embutimento.



Figura 5- Linguiças acondicionadas em embalagem a vácuo a 5 °C.

3.6. PLANEJAMENTO EXPERIMENTAL E ANÁLISE ESTATÍSTICA DOS DADOS.

Para as análises físico-químicas (pH, acidez, TBARS, nitrito residual e cor) e microbiológicas (Coliformes totais e termotolerantes, *Staphylococcus* sp e microrganismos psicotróficos) os tratamentos foram dispostos em delineamento inteiramente casualizado, segundo um esquema de parcelas subdivididas, em que os níveis de nitrito de sódio constituíram as parcelas e o tempo de armazenamento, as subparcelas. Assim tiveram-se como parcelas os níveis de nitrito 0, 50, 100, 150 e 200 mg. Kg⁻¹ e como subparcelas os tempos de armazenamento 1, 2 e 3.

Para todas as análises utilizou-se 5 níveis de nitrito de sódio e 3 tempos de acondicionamento, perfazendo 15 tratamentos (Tabela 3). O ensaio experimental foi realizado em três repetições e os resultados foram interpretados por meio de análise de variância univariada (ANOVA) e análise de regressão, utilizando-se o teste F a 5% de probabilidade.

As análises estatísticas foram realizadas empregando-se o programa SAEG- Sistema para Análises Estatísticas, versão 9.1 (SAEG, 2007).

Tabela 3- Constituição dos tratamentos em estudo

Tratamento	Concentração de nitrito de sódio (mg.kg⁻¹)	* Tempo de acondicionamento
T ₁	0	1
T ₂	0	2
T ₃	0	3
T ₄	50	1
T ₅	50	2
T ₆	50	3
T ₇	100	1
T ₈	100	2
T ₉	100	3
T ₁₀	150	1
T ₁₁	150	2
T ₁₂	150	3
T ₁₃	200	1
T ₁₄	200	2
T ₁₅	200	3

***Tempo 1:** 0 dia para as análises microbiológicas e 1 dia para as análises físico-químicas;
Tempo 2: 7 dias para as análises microbiológicas e 8 dias para as análises físico-químicas;
Tempo 3: 14 dias para as análises microbiológicas e 15 dias para as análises físico-químicas.

3.7. ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS

A avaliação físico-química da linguiça suína fresca foi realizada por meio das análises de pH, acidez titulável, cor, determinação de nitrito residual e determinação de TBARS. As análises foram realizadas em triplicata, nos tempos 1, 8 e 15 dias de acondicionamento.

3.7.2. Determinação do pH

O pH foi determinado de acordo com a metodologia descrita no Manual de Análises do Instituto Adolfo Lutz (IAL, 2008), usando-se de um

potenciômetro de bancada (L'DeILab, DLA-PH).

3.7.3. Determinação da acidez titulável

A acidez titulável foi determinada segundo metodologia descrita no Manual de Análises do Instituto Adolfo Lutz (IAL, 2008), utilizando-se hidróxido de sódio (NaOH 0,1N) e fenolftaleína como indicador.

3.7.4. Determinação de cor

A cor foi avaliada utilizando-se colorímetro (Konica minolta, CM-5). Foi utilizado o sistema de cor CIElab, para medição das coordenadas: **L***, que representa a luminosidade numa escala de 0 (preto) a 100 (branco); **a*** que representa uma escala de tonalidade de vermelho (+a) a verde (-a) e **b*** que representa uma escala de amarelo (+b) a azul (-b) (STEWART; ZIPSER; WATTS, 1965).

3.7.5. Determinação de nitrito residual

O método utilizado para a determinação do nitrito residual presente nas amostras de linguiça suína frescal seguiu a metodologia descrita no Manual de Análises do Instituto Adolfo Lutz (IAL, 2008).

O princípio da determinação de nitrito baseia-se na formação de um composto de coloração rósea, resultante das reações de diazotação de nitritos com ácido sulfanílico e copulação com cloridrato de alfa-naftilamina em meio ácido.

Com a utilização de um espectrofotômetro, detectou-se o pigmento róseo formado, pela leitura a 540 nm. O resultado foi convertido em miligrama de nitrito de sódio por Kg de produto (mg.Kg^{-1}):

$$\frac{(A - b) \times 1000}{P \times a} = \text{Nitrito de sódio, em mg/ kg}$$

Em que,

A= Absorbância da amostra

b= Coeficiente linear da reta obtida na curva padrão

a= Absortividade (coeficiente angular da reta obtida na curva padrão)

P= Massa da amostra em gramas

3.7.5.1. Determinação da curva padrão

Para obtenção da curva padrão utilizou-se alíquotas de solução de trabalho de nitrito de sódio (8 µg/ml). Após o preparo das soluções com as concentrações desejadas de nitrito de sódio, foram obtidas as respectivas absorbâncias e a curva padrão sucessivamente.

3.7.6. Determinação de substâncias reativas ao ácido 2-tiobarbitúrico

Para determinação do número de substância reativas ao ácido 2-tiobarbitúrico utilizou-se a metodologia descrita por Tarladgis et al. (1960) e modificado por Zipser e Watts (1962). Este método tem como princípio a formação de um composto de coloração rósea, resultante da reação do malonaldeído com o ácido 2-tiobarbitúrico. Realizou-se a leitura espectrofotométrica a 538 nm e, então, converteu-se o valor encontrado para mg de malonaldeído kg⁻¹, multiplicando a absorbância pela constante 7,8 encontrada no experimento de Tarladgis.

3.8. ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS

As análises microbiológicas da linguiça suína frescal compreenderam determinação de coliformes totais e coliformes termotolerantes, contagem de microrganismos psicotróficos e estafilococos coagulase positiva. As análises foram realizadas em duplicata, nos tempos 0, 7 e 14 dias de acondicionamento, de acordo com a metodologia descrita na Instrução Normativa nº 62, de 26 de agosto de 2003, do Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento- MAPA (BRASIL, 2003).

As embalagens das amostras passaram por assepsia com álcool 70%

e foram abertas com auxílio de uma tesoura previamente esterilizada. Alíquotas de 25g \pm 0,2 da amostra, adicionados de 225 ml de água peptonada 0,1% (Himédia), foram transferidas para saco plástico estéril e homogeneizadas em homogeneizador estéril de amostras (Logscientific, LS1901N) por 60 segundos.

3.8.2. Determinação de coliformes

3.8.2.1. Prova presuntiva

A partir de diluições apropriadas foram inoculados 1mL em série de três tubos contendo caldo Lauril Sulfato de Sódio - LST (Himedia). Os tubos foram incubados em estufa bacteriológica, a 36 \pm 1°C, por 48 horas. Os tubos que apresentaram formação de gás nos tubos de Durham foram considerados positivos (BRASIL, 2003).

3.8.2.2. Prova confirmativa

3.8.2.2.1. Coliformes totais

A partir dos tubos considerados positivos na prova presuntiva, foi repicada uma alíquota para tubos contendo caldo Verde Brillhante Bile - VLB 2% lactose (Himédia). Os tubos foram incubados em estufa bacteriológica a 36 \pm 1°C por 48 horas. Os tubos que apresentaram formação de gás nos tubos de Durham foram considerados positivos e tiveram o NMP.g⁻¹ determinado com auxílio de uma tabela de NMP adequada às diluições inoculadas(BRASIL, 2003).

3.8.2.2.2. Coliformes termotolerantes

A partir dos tubos considerados positivos na prova presuntiva, foi repicada uma alíquota para tubos contendo caldo *Escherichia coli*- EC (Himédia). Os tubos foram incubados em banho maria com circulação de

água a $45 \pm 0,2^{\circ}\text{C}$ por 48 horas. Os tubos que apresentaram formação de gás nos tubos de Durham foram considerados positivos e tiveram o NMP.g⁻¹ determinado com auxílio de uma tabela de NMP adequada às diluições inoculadas (BRASIL, 2003).

3.8.3. Contagem de *Staphylococcus coagulase positiva*

A partir das diluições apropriadas, foi realizado o plaqueamento em ágar Baird-Parker (Difco) suplementado com solução de gema de ovo e telurito de potássio, em duplicata. As placas foram incubadas em estufa bacteriológica a $36^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$, por 48 horas.

A partir do crescimento obtido, selecionou-se de três a seis colônias suspeitas, sendo estas típicas e atípicas, para semeadura de cada uma em um tubo contendo caldo cérebro coração - BHI (Prodimol Biotecnologia), para posterior confirmação da atividade da coagulase. Os tubos foram incubados em estufa bacteriológica a $36^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$, por 24 horas (BRASIL, 2003).

3.8.3.1. Teste da coagulase

Foram transferidos 0,3 mL de cada tubo de cultivo em BHI para tubos esterilizados contendo 0,3 mL de plasma de coelho. Os tubos com plasma de coelho foram incubados a $36^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$, por 6 horas. Os tubos negativos foram incubados novamente até completar 24 horas. Posteriormente, a reação de coagulação foi interpretada (BRASIL, 2003).

3.8.3.2. Testes complementares

3.8.3.2.1. Coloração de gram

A partir das colônias obtidas nas placas com ágar Baird-Parker foram preparados esfregaços que, posteriormente, foram corados pelo método de gram. A ausência de cocos gram positivos indica teste negativo para *Staphylococcus* (BRASIL, 2003).

3.8.3.2.2. Prova da catalase

Com o auxílio de uma alça de platina, colônias obtidas nas placas com ágar Baird-Parker foram retiradas e transferidas para uma lâmina de vidro contendo uma gota de peróxido de hidrogênio a 3%. A formação de borbulhas indica prova positiva para catalase e presença de *S. aureus* (BRASIL, 2003).

3.8.4. Contagem de psicotróficos

A partir das diluições apropriadas, foi realizado o plaqueamento em superfície, com auxílio de uma alça de drigalsky, em Ágar Padrão para Contagem - PCA (Himédia), em duplicata. As placas foram incubadas em câmara incubadora BOD a $7^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$, por 10 dias (BRASIL, 2003).

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.2. AVALIAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DA LINGUIÇA SUÍNA FRESCAL

Observa-se, a partir dos valores de F para as características avaliadas (Tabela 4), que a interação entre os fatores tempo e nitrito só foi significativa ($P \leq 0,05$) para o nitrito residual. Para as demais características avaliadas, a interação tempo e nitrito foi não significativa ($P > 0,05$), sendo necessário realizar um estudo de cada fator isoladamente.

F.V	G.L.	pH	Acidez	TBARS	Nitrito residual	Cor		
						L*	a*	b*
Nitrito (N)	4	0,12 ^{n.s.}	0,78 ^{n.s.}	5,20 [*]	9,8 [*]	1,51 ^{n.s.}	1,57 ^{n.s.}	0,35 ^{n.s.}
Erro (A)	10	-	-	-	-	-	-	-
Tempo (T)	2	6,68 [*]	8,36 [*]	7,93 [*]	15,83 [*]	4,17 [*]	0,79 ^{n.s.}	29,52 [*]
N X T	8	0,33 ^{n.s.}	0,44 ^{n.s.}	1,12 ^{n.s.}	2,92 [*]	0,52 ^{n.s.}	1,00 ^{n.s.}	0,96 ^{n.s.}
Erro (B)	20	-	-	-	-	-	-	-

Tabela 4- Valores de F para as características avaliadas na linguiça suína frescal.

^{n.s.}: Não significativo ao nível de 5% de probabilidade pelo teste F.

^{*}: Significativo ao nível de 5% de probabilidade pelo teste F.

O teor de nitrito de sódio exerceu influência significativa ($P \leq 0,05$) sobre o TBARS e o nitrito residual, no entanto para as demais características avaliadas esse efeito foi não significativo ($P > 0,05$), não observando influências no produto final.

O efeito do fator tempo foi significativo ($P \leq 0,05$) para praticamente todas as características (pH, Acidez, TBARS, Nitrito residual e parâmetros de cor **L*** e **b***), causando alterações nestas, durante o tempo de armazenamento da linguiça suína frescal. Já para o parâmetro de cor **a***, o tempo não exerceu influência, demonstrando-se não significativo ($P > 0,05$).

Está apresentada, na Figura 6, a dispersão dos valores de pH em função do tempo de armazenamento.

Apesar de o fator tempo ter sido significativo ($P \leq 0,05$) para o pH, não obteve-se modelo que se ajustasse ao comportamento dos dados.



Figura 6- Valores médios de pH em função do tempo de armazenamento da linguiça suína frescal.

O pH e a acidez da carne são importantes não apenas por influenciar a microbiota que pode se desenvolver no produto, implicando de forma direta no estado de conservação dos mesmos, como também está relacionado com a cor e o sabor que a linguiça apresenta (ALMEIDA, 2005).

Durante o tempo de armazenamento avaliado, a linguiça suína frescal apresentou redução do pH, o que pode ser justificado pelas condições favoráveis (embalagem a vácuo) ao desenvolvimento de bactérias lácticas, cujos produtos metabólicos têm capacidade de aumentar a acidez do produto (DELAZARI, LEITÃO e HSU, 1977).

Hayes et al. (2011), durante a avaliação da adição de extrato de plantas nutraceuticas na estabilidade de linguiças frescas, verificaram resultados semelhantes ao presente estudo ao avaliarem a amostra controle (sem adição de extrato de planta). O pH da amostra controle no tempo 0 dias foi 6,42 decaindo para 4,97 ao final dos 21 dias de armazenamento. A redução do pH da linguiça foi associada a embalagem com atmosfera modificada, na qual a linguiça foi embalada.

Semelhanças nos resultados também foram observados por Chiavaro et al. (2008) ao avaliarem a eficácia de diferentes formas de acondicionamento em relação às propriedades da linguiça suína frescal, verificaram que a redução no pH foi devido ao desenvolvimento de bactérias lácticas durante o tempo de armazenamento.

Já Georgantelis (2007), na avaliação de linguiça suína frescal embalada em bandejas de isopor, revestidas com filme plástico PVC, observou resultados diferentes do obtido no presente estudo. Esse autor verificou um aumento crescente nos valores de pH de 5,8 para 6,2 no decorrer dos 20 dias de armazenamento, sendo que esse aumento foi associado ao desenvolvimento de microrganismos da família *Enterobacteriaceae* e *Pseudomonadaceae*.

Na Figura 7, é apresentada a variação da acidez com o tempo de armazenamento da linguiça suína frescal.

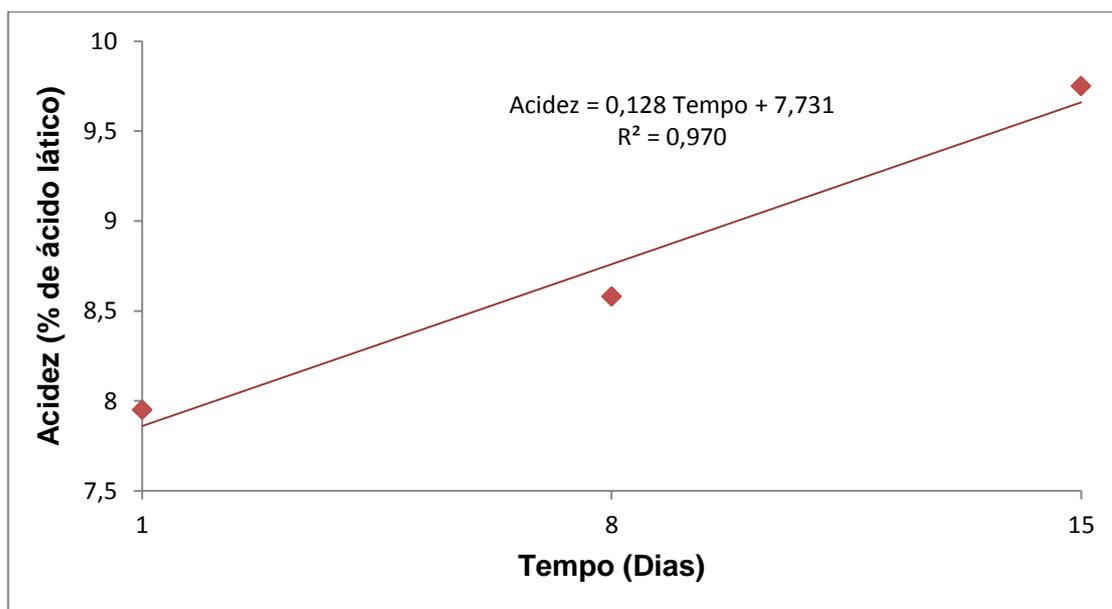


Figura 7- Valores médios de acidez em função do tempo de armazenamento da linguiça suína frescal.

Os valores de acidez titulável diferiram entre si ($P \leq 0,05$), apresentando aumento de 7,95 a 9,75 % de ácido láctico com o tempo de armazenamento da linguiça suína frescal. Estes resultados estão

relacionados com o pH da linguiça, o qual, valor médio apresentou redução, quando o tempo de armazenamento variou de 1 para 15 dias.

O aumento da acidez, bem como a redução do pH no presente estudo pode estar relacionado ao desenvolvimento de bactérias lácticas, devido principalmente as condições que a linguiça frescal foi submetida, como a embalagem a vácuo, a qual favorece o desenvolvimento de tais microrganismos.

A concentração de nitrito de sódio não influenciou o pH e a acidez da linguiça, que apresentaram média de 5,68 e 8,76 % de ácido láctico, como é apresentado na tabela 5.

Corroborando os resultados deste estudo, Soutos et al. (2008) também não observaram alterações nos valores de pH, quando o nitrito variava nas amostras controle, de 0 – 150 mg.kg⁻¹ de linguiça suína frescal.

Tabela 5- Valores médios de pH e acidez em função da concentração de nitrito da linguiça suína frescal.

Nitrito (mg.kg⁻¹)	pH	Acidez (% de ácido láctico)
0	5,70 A	8,28 A
50	5,69 A	8,82 A
100	5,63 A	9,33 A
150	5,71 A	8,48 A
200	5,65 A	8,90 A
Média	5,68	8,76

*Médias seguidas de pelo menos uma mesma letra, na mesma coluna não diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo teste F.

A variação dos valores médios de TBARS com o tempo de armazenamento da linguiça suína frescal é apresentada na Figura 8.

Os números de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) diferiram entre si ($P \leq 0,05$), apresentando um aumento no decorrer do tempo de armazenamento de 0,14 – 0,21 mg de malonaldeído.kg⁻¹ de amostra, indicando o nível de oxidação da linguiça suína frescal.

Segundo Tarladgis (1960), o produto cárneo é considerado aceitável quando o valor de TBARS atinge 0,5 a 1,0 mg de malonaldeído.kg⁻¹ de

amostra. Ariseto (2003), ao avaliar hambúrguer com reduzido teor de nitrito, corrobora com estes resultados, afirmando que valores da ordem de 0,66 mg de malonaldeído.kg⁻¹ de produto não possui sabor oxidado. Portanto de acordo com Tarladgis (1960) e Ariseto (2003), no presente estudo, a linguiça suína frescal obteve baixos níveis de oxidação, sendo considerada própria para consumo.

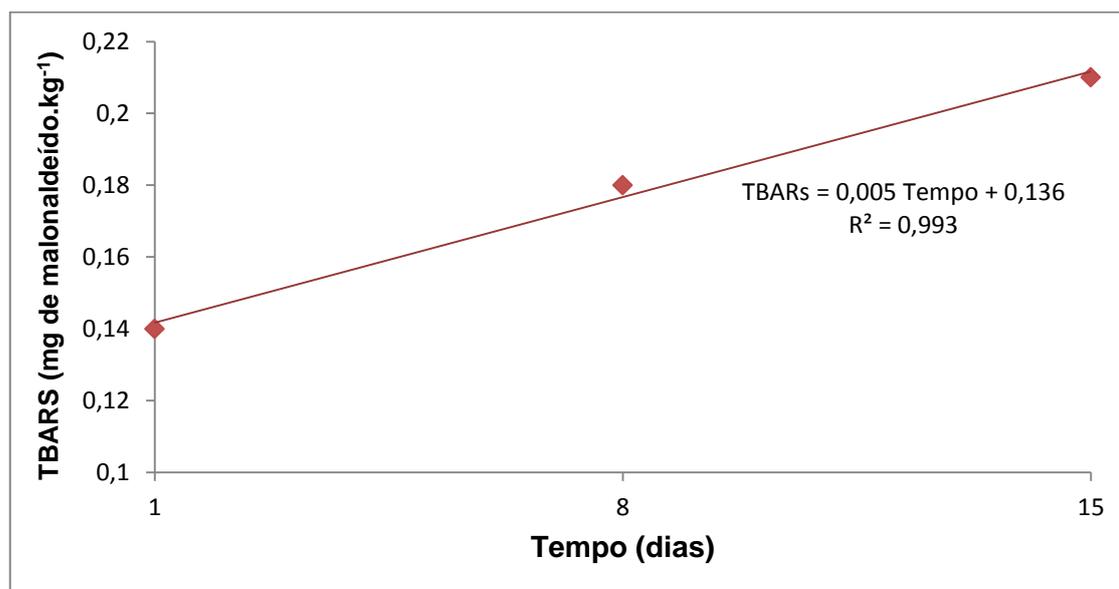


Figura 8. Valores médios de TBARS (mg de malonaldeído.kg⁻¹) em função do tempo de armazenamento da linguiça suína frescal.

Martinez et al. (2006), ao estudarem a variação da concentração de O₂ na vida de prateleira de linguiça suína frescal, embalada em atmosfera modificada, reportaram valores crescentes de 0,2 a 0,4 mg de malonaldeído.kg⁻¹ em 16 dias de armazenamento de linguiças embaladas à vácuo, atingindo 0,8 mg de malonaldeído.kg⁻¹, em 20 dias. Apesar de valores crescentes de TBARS, Martinez et al.(2006), verificaram baixas taxas de oxidação no período estudado, verificando aumento da vida de prateleira, quando a linguiça era embalada a vácuo.

Outros estudos também obtiveram resultados semelhantes em linguiças frescas, obtendo teores crescentes de TBARS no decorrer do tempo de armazenamento. Chiavaro et al. (2008) observaram aumento de 0,2 para 0,4 mg de malonaldeído.kg⁻¹ em linguiça suína frescal embalada em atmosfera modificada. Kamderm, Patrignani e Guerzoni (2007) observaram

aumento em 14 dias de armazenamento de 0,052 à 0,086 mg de malonaldeído.kg⁻¹ de linguiça toscana. Já Soutos et al. (2008) encontraram teores de 0,1 a 0,4 mg de malonaldeído.kg⁻¹ de linguiça frescal grega armazenada em embalagem permeável ao oxigênio por 28 dias.

Valores de TBARS mais elevados (0,49 para 0,82 mg de malonaldeído.kg⁻¹) foram encontrados por Georgantelis (2007) em estudo com linguiça suína. O aumento verificado por este autor pode estar associado a forma de acondicionamento da linguiça, que foi realizado em bandejas de isopor, revestidas com filme plástico PVC. Nesta forma de acondicionamento, a presença de oxigênio, pode ter contribuído para aumentar o nível de oxidação.

Na Figura 9, é apresentada a variação do número de TBARS com a concentração de nitrito de sódio da linguiça suína frescal.

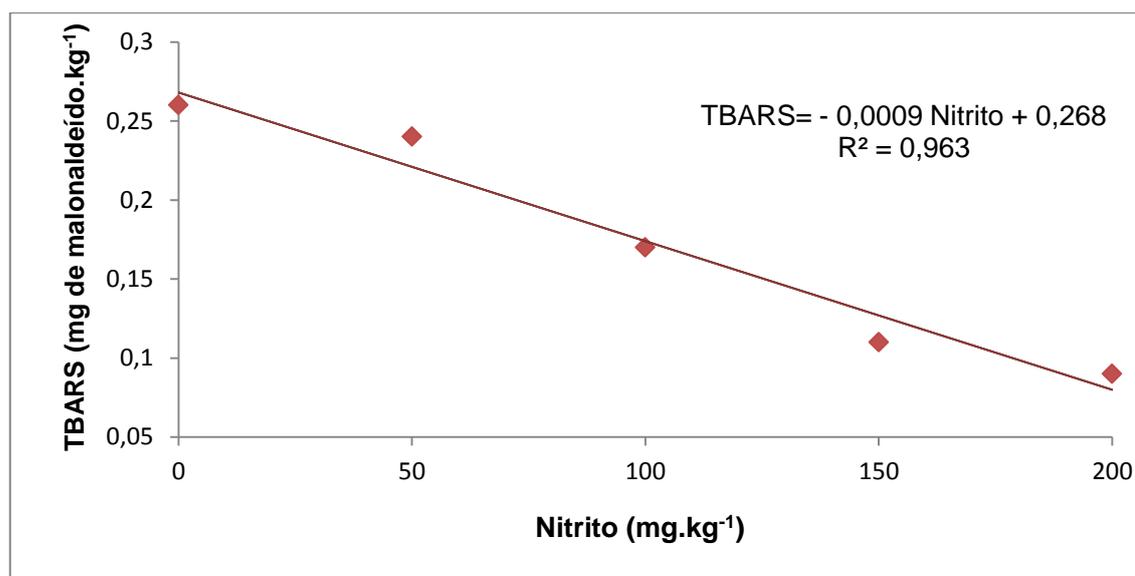


Figura 9- Valores médios de TBARS (mg de malonaldeído.kg⁻¹) em função da concentração de nitrito (mg. kg⁻¹) da linguiça suína frescal.

A concentração de nitrito de sódio influenciou de forma significativa ($P \leq 0,05$) o número de TBARS, acarretando redução nestes valores à medida que se elevou a concentração de nitrito.

Apesar dos tratamentos com menor concentração de nitrito de sódio (50 e 100 mg.kg⁻¹) apresentarem maior nível de oxidação (0,24 e 0,17 mg de malonaldeído.kg⁻¹), em relação aos tratamentos com maior concentração de

nitrito (150 e 200 mg.kg⁻¹), todas as amostras mostraram-se estáveis à oxidação lipídica, como é evidenciado no estudo realizado por Tarladgis (1960). Isto mostra a possibilidade de reduzir os teores de nitrito de sódio adicionados no presente estudo, em relação a manutenção da estabilidade oxidativa.

De acordo com Tarladgis (1960), no presente estudo, os tratamentos sem adição de nitrito de sódio (0 mg.kg⁻¹) também se mostraram estáveis à oxidação lipídica durante o período avaliado, porém apresentaram valores de TBARS mais elevados em relação aos tratamentos que possuíam nitrito em sua formulação. Este fato se deve provavelmente as condições de acondicionamento (embalagem a vácuo, temperatura de 5°C e pouca luminosidade), contribuindo para manter a estabilidade da linguiça.

Resultados semelhantes, aos obtidos nesta pesquisa, foram encontrados por Kitakawa (2002), que observou em seu estudo sobre a avaliação da vida de prateleira de linguiça mista fresca, maior nível de TBARS em amostras com 0 mg de nitrito.kg⁻¹ em relação a amostras com 200 mg.kg⁻¹ deste aditivo.

Os valores médios de nitrito residual (mg de nitrito.kg⁻¹) em função da concentração de nitrito (mg.kg⁻¹) da linguiça suína fresca durante o período de armazenamento são apresentados na Figura 10.

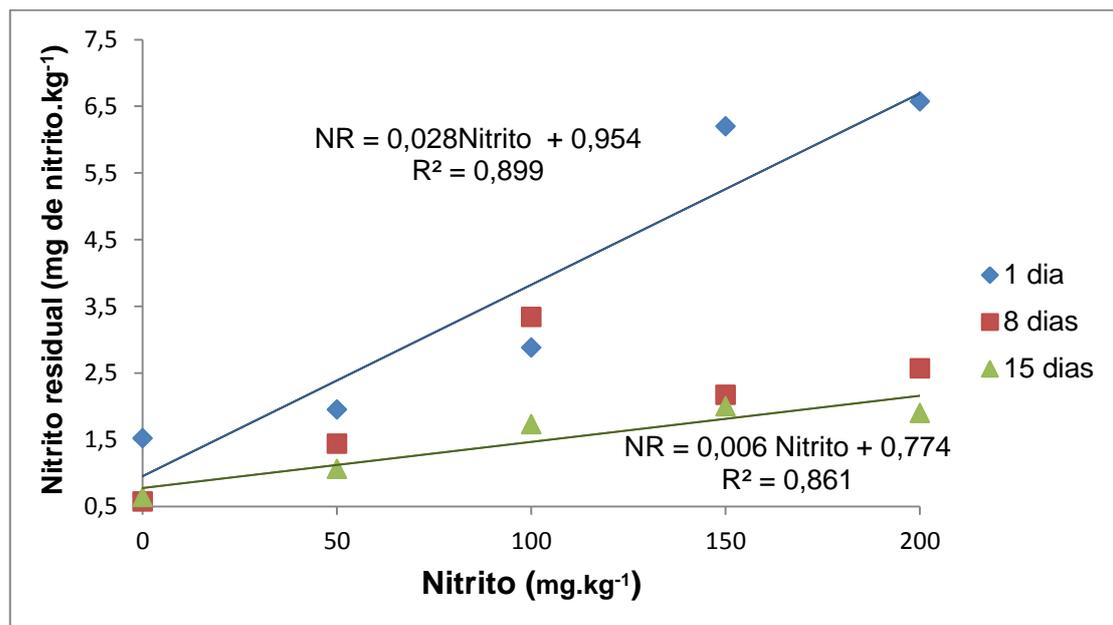


Figura 10. Valores médios de nitrito residual (mg de nitrito.kg⁻¹) em função da concentração de nitrito (mg.kg⁻¹) da linguiça suína frescal, nos três tempos avaliados.

No primeiro dia de armazenamento da linguiça suína frescal, o nitrito residual das amostras formuladas com menor concentração de nitrito de sódio (50 e 100 mg.kg⁻¹) variaram entre 1,95 e 2,88 mg de nitrito.Kg⁻¹ (Figura 10). Nas amostras com maior concentração (150 e 200 mg.Kg⁻¹), o nitrito residual foi em média 3,97 mg mais elevado, atingindo valores de 6,2 e 6,57 mg de nitrito.kg⁻¹, respectivamente.

O teor de nitrito residual reduziu ao final dos 15 dias de armazenamento, apresentando níveis menores que 2 mg.kg⁻¹.

Segundo Ferraccioli e Almeida (2012) o nível de nitrito residual detectado em carnes é bastante reduzido em relação ao teor adicionado, pois o mesmo reage com aminas da carne durante o processamento e armazenamento. Outros autores apoiam essa afirmativa e dizem que mais de 50% do nitrito adicionado é perdido em 24horas (PARDI et al., 2001 e PINHO et al., 1998).

Birzele, Djordjevic e Kramer (2005) obtiveram resultados semelhantes quando avaliaram o efeito da concentração de nitrito de sódio em presunto. Esses autores verificaram que ao final de 15 dias de armazenamento, o nitrito residual apresentava níveis menores que 1 mg de nitrito.kg⁻¹.

Já Wang et al. (2013), apesar de terem observado redução do nitrito residual durante o armazenamento, em relação ao teor adicionado (100 mg.kg⁻¹), ao avaliarem linguiça fermentada obtiveram valores mais elevados (32 mg.kg⁻¹), quando comparados com o presente estudo.

Não houve efeito significativo ($P > 0,05$) da concentração de nitrito de sódio sobre nenhum dos atributos de cor avaliados. Os parâmetros **L***, **a*** e **b*** apresentaram médias de 58,70; 10,26 e 13,9 como mostra a Tabela 6.

Segundo Ramos e Gomide (2007) e Shahidi e Pegg (1990), a adição de nitrito de sódio em produtos cárneos acarreta a formação de nitrosomioglobina, que é um pigmento de cor vermelho-rosado, responsável pela cor típica dos produtos curados. Esse pigmento é instável, podendo voltar a sua forma original (Oximoglobina). A estabilização ocorre quando o

produto é submetido ao tratamento térmico, possibilitando a formação do nitrosohemocromo de coloração rósea estável.

Tabela 6- Valores médios de cor em função da concentração de nitrito da linguiça suína frescal

Teor de nitrito (mg.kg ⁻¹)	L*	a*	b*
0	57,49 A	9,18 A	14,27 A
50	59,61 A	9,38 A	13,71 A
100	58,86 A	9,71 A	13,52 A
150	57,86 A	13,61 A	14,20 A
200	59,70 A	9,40 A	13,78 A
Média	58,70	10,26	13,90

* Médias seguidas de pelo menos uma mesma letra, na mesma coluna não diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo teste F.

O tempo de armazenamento influenciou de forma significativa ($P \leq 0,05$) os parâmetros de cor **L*** e **b*** como é apresentado nas Figuras 11 e 12.

O valor médio de **L*** aumentou com o tempo de armazenamento, apresentando valores de 57,77 no tempo 1 e 59,2 no tempo 15 (Figura 11), o que indica que as amostras de linguiça suína frescal tenderam a se apresentarem mais claras ao longo do período de acondicionamento.

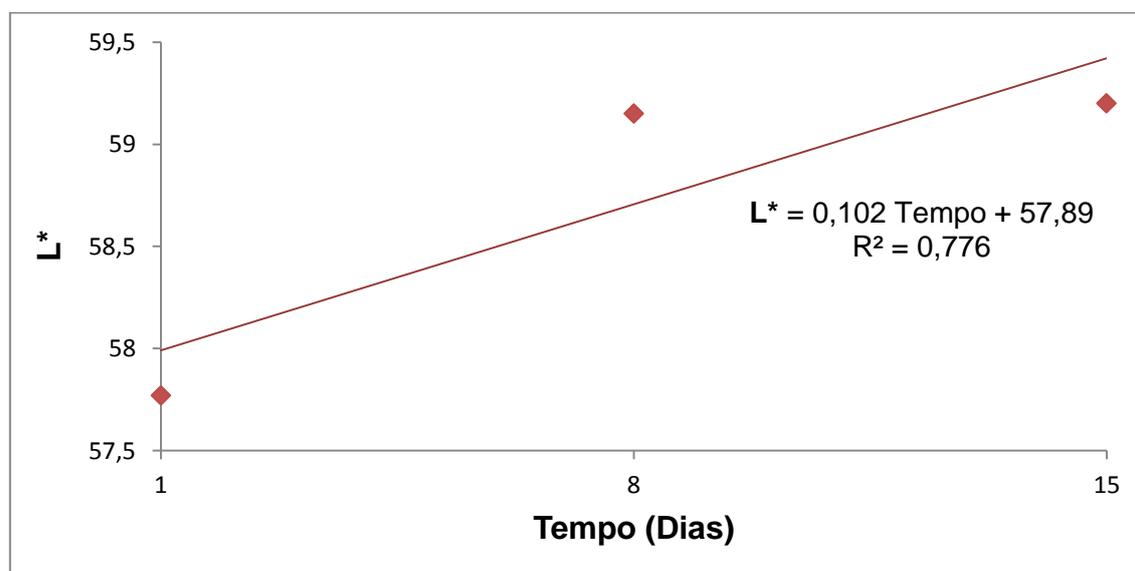


Figura 11- Valores médios de L^* em função do tempo de armazenamento da linguiça suína frescal.

Embora alguns estudos reportem aumento na luminosidade de linguiça suína frescal, valores de L^* mais baixos foram observados por outros autores. Ruiz-Capillas e Jiménez-Colmenero (2010), em avaliação de linguiça suína frescal durante o armazenamento refrigerado, verificaram no início do armazenamento valor de L^* de 46,28, apresentando uma elevação nos primeiros 4 dias e mantendo-se constante ao final do período avaliado. Martínez et al. (2006), ao estudarem linguiça suína frescal armazenada em atmosfera modificada verificaram uma elevação no valor de L^* no final dos 16 dias de armazenamento, atingindo 47,86.

Já Chiavaro et al. (2008) na avaliação da eficácia de diferentes formas de armazenamento nas propriedades da linguiça suína frescal, observaram redução do valor de L^* de 62,8 para 52,9, no final dos 15 dias de armazenamento.

Em relação aos valores de b^* , observou-se redução ($P \leq 0,05$), verificando no final de 15 dias de armazenamento valor igual a 13,3 (Figura 12).

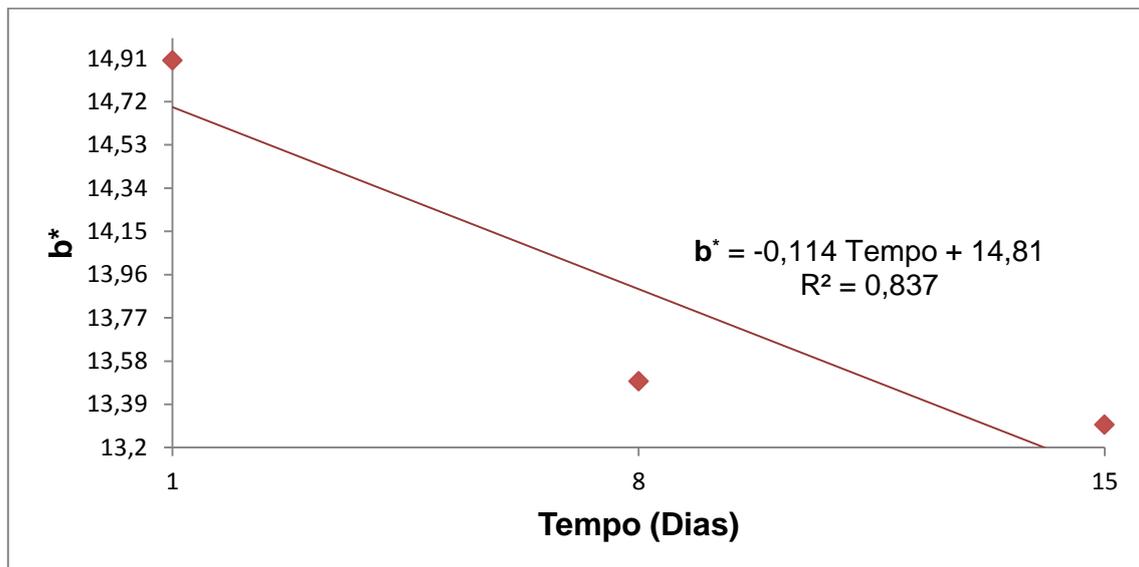


Figura 12- Valores médios de b^* em função do tempo de armazenamento da linguiça suína frescal.

Apesar de ter observado redução, no valor inicial de 6,08, nos

primeiros dias de acondicionamento, Ruiz- Capillas e Jiménez-Colmenero (2010) verificaram após o 4ª dia, que o atributo **b*** manteve-se constante até o final do armazenamento, fato atribuído ao tipo de embalagem utilizada no produto (a vácuo). Ao não ter contato com o oxigênio, as variações neste parâmetro são reduzidas. De forma distinta, Chiavaro et al. (2008), observaram um aumento no valor de **b***, verificando no final de 15 dias de armazenamento, valor igual a 6,7. Segundo os autores este aumento pode estar relacionado com a maior oxidação do produto, também favorecido pela exposição à luz durante o armazenamento.

Já Martínez et al. (2006) não verificaram variação nos 16 dias de acondicionamento da linguiça suína frescal, observando valores de **b*** iguais a 13,20, valor este, similar ao encontrado no presente estudo após 15 dias de armazenamento. Os valores de **b*** encontrados no presente estudo se deve as condições da embalagem (a vácuo) e de armazenamento (baixa temperatura e pouca incidência de luz), que auxiliam na manutenção da cor do produto.

O tempo de armazenamento não promoveu modificação ($P > 0,05$) no parâmetro **a*** (intensidade da cor vermelha). O valor médio de **a***, por tempo, foi de 10,26 como é apresentado na Tabela 7. Embora o tempo tenha influenciado os parâmetros de cor **L*** e **b*** da linguiça suína frescal, as condições de armazenamento foram suficientes para manter a estabilidade da cor vermelha, durante o período avaliado.

Tabela 7- Valores médios de **a*** em função do tempo de armazenamento da linguiça suína frescal

Tempo (Dias)	a*
1	11,5 A
8	9,42 A
15	9,86 A
Média	10,26

* Médias seguidas de pelo menos uma mesma letra, na mesma coluna não diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo teste F.

Corroborando com os valores encontrados no presente estudo,

Chiavaro et al. (2008), na avaliação da eficácia de diferentes formas de armazenamento nas propriedades da linguiça suína frescal, observou no 15º dia de armazenamento valor de a^* igual a 10,7, quando a linguiça era embalada a vácuo. Neste estudo realizado por Chiavaro et al. (2008), a linguiça apresentou descoloração durante o tempo de acondicionamento, relacionado a formação da metamioglobina, devido a ausência do oxigênio na embalagem

Apresentando algumas variações em relação ao presente estudo, Martínez et al. (2006), em avaliação da vida de prateleira da linguiça suína frescal embalada a vácuo, encontraram valores de a^* constantes, acima de 7, durante os 20 dias de armazenamento. Já Ruiz- Capillas e Jiménez-Colmenero (2010) observaram valores de a^* menores que 20 em 21 dias de acondicionamento nas mesmas condições. Apesar de verificar resultados diferentes, estes autores afirmam que a manutenção do produto em baixas temperaturas de refrigeração auxilia na estabilidade da cor dos produtos.

4.3. AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA DA LINGUIÇA SUÍNA FRESCAL

A partir dos valores de F apresentados na Tabela 8 observa-se que não houve interação ($P > 0,05$) entre os fatores nitrito de sódio e tempo de armazenamento da linguiça suína frescal para nenhuma das características avaliadas, sendo necessário realizar um estudo de cada fator isoladamente.

O nitrito de sódio e o tempo de armazenamento em estudo independente não exerceram influência significativa ($P > 0,05$) sobre coliformes totais e termotolerantes, microrganismos psicrotróficos e *Staphylococcus* sp (Tabela 8).

Tabela 8- Valores de F para as contagens de Coliformes totais e termotolerantes, *Staphylococcus* sp e microrganismos psicrotróficos avaliados na linguiça suína frescal

F.V	G.L.	F			
		Coliformes totais	Coliformes termotolerantes	<i>Staphylococcus</i> sp	Psicrotróficos
Nitrito	4	0,48 ^{n.s.}	0,51 ^{n.s.}	0,63 ^{n.s.}	0,41 ^{n.s.}
Erro (A)	8	-	-	-	-
Tempo	2	1,3 ^{n.s.}	2,93 ^{n.s.}	1,42 ^{n.s.}	3,23 ^{n.s.}
Tempo x Nitrito	8	0,84 ^{n.s.}	0,52 ^{n.s.}	0,9 ^{n.s.}	0,05 ^{n.s.}
Erro (B)	20	-	-	-	-

^{n.s.}: Não significativo ao nível de 5% de probabilidade pelo teste F.

*: Significativo ao nível de 5% de probabilidade pelo teste F.

Na Tabela 9 são apresentadas as contagens médias de coliformes totais e termotolerantes por concentração de nitrito de sódio, para os tempos de armazenamento.

De acordo com o observado na Tabela 9, verifica-se que as contagens médias de coliformes totais para todos os tratamentos, foram inferiores a 1×10^3 NMP.g⁻¹, evidenciando qualidade higiênico-sanitária satisfatória da linguiça suína frescal. Valores maiores que 10^3 NMP.g⁻¹ são considerados preocupantes (ABREU, MERLINI e BEGOTTI, 2011) e acima de 10^5 NMP.g⁻¹, considerados altamente contaminados (SILVA, 1991; FUNG et al, 1980). No entanto, a legislação brasileira não especifica limite para contagem de coliformes totais em carnes e produtos derivados.

Em relação a contagem de coliformes termotolerantes, apresentada na Tabela 9, verifica-se que não houve diferença significativa ($P > 0,05$) entre as contagens médias para concentração de nitrito e tempo armazenamento. Pode-se observar que todos os tratamentos avaliados encontraram-se dentro do limite de 5×10^3 NMP.g⁻¹, estabelecido pela RDC nº 12 (Brasil, 2001). Soutos et al. (2008) alega que o nitrito é normalmente ineficaz contra enterobactérias (*Escherichia coli*, *Salmonellas* sp e outros), concordando com os resultados do presente estudo.

Tabela 9- Média dos valores do Numero Mais Provável (NMP) para Coliformes Totais e Coliformes Termotolerantes em relação a concentração de nitrito de sódio e tempo de armazenamento da linguiça suína frescal.

Coliformes totais (NMP.g⁻¹)						
NaNO₂ (mg.kg⁻¹)						
Tempo (Dias)	0	50	100	150	200	Média
0	3,7 x 10 ²	7,3 x 10 ²	1,7 x 10 ²	1,7 x 10 ²	3,7 x 10 ²	3,6 x 10² A
7	1 x 10 ²	3,8 x 10 ²	4,3 x 10 ²	1,3 x 10 ²	2,3 x 10 ¹	2,1 x 10² A
14	3,7 x 10 ²	4 x 10 ²	8,5 x 10 ¹	1,5 x 10 ²	2,9 x 10 ¹	2,1 x 10² A
Média	2,8 x 10²A	5,1 x 10²A	2,3 x 10²A	1,5 x 10²A	1,4 x 10²A	
Coliformes termotolerantes (NMP.g⁻¹)						
NaNO₂ (mg.kg⁻¹)						
Tempo (Dias)	0	50	100	150	200	Média
0	3,7 x 10 ²	1,6 x 10 ²	3,7 x 10 ²	9,6 x 10 ⁰	5,2 x 10 ¹	1,9 x 10² A
7	1,5 x 10 ²	3,3 x 10 ¹	1,5 x 10 ²	9,6 x 10 ⁰	7 x 10 ⁰	7,2 x 10¹ A
14	8,2 x 10 ¹	1,2 x 10 ¹	2,7 x 10 ¹	3,3 x 10 ¹	5,2 x 10 ⁰	3,1 x 10¹ A
Média	2 x 10² A	6,7 x 10¹A	1,8 x 10²A	1,7 x 10¹A	2,1 x 10¹A	

*Médias seguidas de pelo menos uma mesma letra, na mesma linha e na mesma coluna, não diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo teste F.

Na Tabela 10 é apresentada a contagem de microrganismos psicrotóxicos e *Staphylococcus* sp em relação à concentração de nitrito de sódio na linguiça suína frescal.

Tabela 10- Médias de contagens de microrganismos psicrotróficos (Log.UFC.g⁻¹) e *Staphylococcus* sp (UFC.g⁻¹) em relação a concentração de nitrito de sódio utilizada na elaboração da linguiça suína frescal

Nitrito de sódio (mg.kg⁻¹)	Psicrotróficos (Log.UFC.g⁻¹)	<i>Staphylococcus</i> sp (UFC.g⁻¹)
0	7,7 A	4,4 x 10 ³ A
50	7,6 A	3,3 x 10 ^{3a}
100	7,4 A	9,3 x 10 ² A
150	7,3 A	7,1 x 10 ² A
200	7,1 A	4,6 x 10 ² A
Média	7,4	2 x 10³

*Médias seguidas de pelo menos uma mesma letra na mesma coluna não diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo teste F.

Observa-se na Tabela 10, que a concentração de nitrito de sódio não exerceu influência significativa ($P > 0,05$) na contagem de microrganismos psicrotróficos.

Embora não tenha se observado alteração na contagem média de psicrotróficos, contagens superiores a 6 Log UFC.g⁻¹ foram encontradas. Na maioria dos alimentos quando ocorre contagens maiores que 6 log UFC.g⁻¹, verifica-se alterações e a deterioração torna-se perceptível sensorialmente (GILL, 1996).

A alta contaminação por microrganismos psicrotróficos pode ter tido origem no comércio local, onde a matéria-prima utilizada foi adquirida e durante o processamento da linguiça. Segundo Franco e Landgraf (2008), os resultados referentes à contagem de microrganismos psicrotróficos é de grande relevância por avaliar o grau de deterioração de alimentos refrigerados.

De acordo com a contagem de *Staphylococcus* sp apresentada na Tabela 10, verifica-se que não houve diferença significativa ($P > 0,05$) entre as contagens médias nas distintas concentrações de nitrito de sódio. A média geral foi 2 x 10³ UFC.g⁻¹.

Rantsiou et al. (2005) durante a caracterização de espécies de *Staphylococcus* em linguiça frescal, verificou contagens menores que 10² UFC.g⁻¹ durante 10 dias de armazenamento. A baixa contagem encontrada foi

devido as boas práticas durante o processamento, temperatura controlada e utilização de carne de boa qualidade.

Segundo Tortora, Case e Funke (2012) uma população de bactérias de 10^6 UFC.g⁻¹. é capaz de produzir enterotoxina suficiente para causar doença.

Estudo realizado por Correia (2008) avaliou linguiças frescas com diferentes teores de nitrito de sódio (50, 150 e 200 mg.kg⁻¹). Ao final de 10 dias de armazenamento a 7°C, verificou-se que o nitrito utilizado, independentemente das concentrações, não exerceu efeito inibidor para *S. aureus*.

Resultado semelhante foi obtido por Birzele, Djordjevic e Kramer (2005), ao avaliarem linguiças frescas adicionadas de 0,5% e 0,9% de nitrito de sódio, armazenadas sob refrigeração a 8°C. Apesar de verificarem redução nas contagens de *S. aureus* de 10^7 para 10^6 UFC.g⁻¹ durante os 15 dias de armazenamento, não verificou-se diferença significativa entre as concentrações de nitrito.

Alguns autores afirmam que o nitrito possui efeito inibitório sobre *Staphylococcus* sp quando é utilizado altas dosagens, e que sua eficácia aumenta à medida que o pH diminui (JAY, 2005, ARCHER, 2002). Porém este efeito não foi observado no presente estudo.

Os valores de pH obtidos durante todo o tempo de estocagem mantiveram-se similares ao pH normalmente encontrado em carnes *in natura* e produtos que não passam por fermentação. Este fator pode ter influenciado negativamente a ação do nitrito de sódio sobre o *Staphylococcus* sp, já que de acordo com Correia (2008) a ação ótima do nitrito ocorre entre pH 5,5 a 4,5.

De acordo com a Tabela 11, o tempo de armazenamento não exerceu influência ($P > 0,05$) na contagem de *Staphylococcus* sp. e psicrotóxicos apresentando média de $1,9 \times 10^3$ UFC.g⁻¹ e 7,4 Log.UFC.g⁻¹, respectivamente.

Tabela 11- Médias de contagens de *Staphylococcus* sp e psicrotróficos em função do tempo de acondicionamento da linguiça suína frescal

Tempo (Dias)	<i>Staphylococcus</i> sp (UFC.g ⁻¹)	Psicrotróficos (Log.UFC.g ⁻¹)
0	1,7 x 10 ³ A	7,2 A
7	2,9 x 10 ³ A	7,7 A
14	1,3 x 10 ³ A	7,2 A
Média	1,9 x 10³	7.4

*Médias seguidas de pelo menos uma mesma letra, na mesma coluna, não diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo teste F.

Por meio da pesquisa de *Staphylococcus* coagulase positiva, verificou-se que em nenhuma das amostras avaliadas foram encontradas unidades formadoras de colônias capazes de produzir enterotoxina (*Staphylococcus aureus*), e que os valores encontrados mantiveram-se dentro do limite especificado pela RDC nº 12, que é de no máximo de 5 x 10³ UFC.g⁻¹ (BRASIL, 2001).

Vieira (2012) e Almeida (2005), em avaliação da qualidade de linguiça toscana, verificaram presença de *Staphylococcus* coagulase positiva, porém dentro do limite estabelecido pela legislação.

Correia (2008) observou que contagens de *S. aureus* e microrganismos psicrotróficos aumentaram durante o tempo de armazenamento de linguiça frescal, verificando que a temperatura de 7°C não foi suficiente para inibir o crescimento do *S. aureus*.

Já Martínez et al., (2006), observaram aumento nas contagens iniciais de microrganismos psicrotróficos, verificando contagem de 10⁷ UFC.g⁻¹ durante 20 dias de armazenamento. Segundo esse autor, a embalagem a vácuo prolongou a vida de prateleira, devido a lenta proliferação destes microrganismos, mas não foi suficiente para prevenir o crescimento.

No presente estudo, observa-se que as condições de armazenamento nas quais a linguiça suína frescal foi submetida, foi suficiente para manter a estabilidade destes microrganismos durante o período avaliado.

5. CONCLUSÃO

A adição de nitrito de sódio não influenciou o pH da linguiça suína fresca, sendo este afetado apenas pelo tempo de armazenamento.

Houve oxidação da linguiça durante o armazenamento, detectado pelo aumento do número de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS). Todavia, após 15 dias de armazenamento, a linguiça ainda estava apta para consumo, devido ao baixo número de TBARS, mesmo na linguiça não adicionada de nitrito. O uso de nitrito de sódio na linguiça reduziu a oxidação da mesma. Porém, pode-se reduzir as concentrações de nitrito adicionadas na linguiça, quando se leva em consideração a oxidação lipídica.

O teor de nitrito residual na linguiça foi influenciado pela concentração de nitrito adicionado e pelo tempo de armazenamento, apresentando valores menores que $7,0 \text{ mg.Kg}^{-1}$, muito inferior ao máximo permitido pela legislação que é 200 mg.kg^{-1} .

Após 15 dias de armazenamento, as linguiças apresentaram coloração mais claras (maiores valores de L^*) e com menor intensidade de amarelo (menores valores de b^*). A intensidade da cor vermelha, valores de a^* , não se alterou durante o armazenamento.

Em relação aos aspectos microbiológicos, conclui-se que a variação gradual de nitrito de sódio adicionado na linguiça (0 a 200 mg.Kg^{-1}) não afetou o NMP.g^{-1} de Coliformes totais e Coliformes termotolerantes (valores obtidos inferiores a $1 \times 10^3 \text{ NMP.g}^{-1}$), a contagem de *Staphylococcus* coagulase positiva e a contagem de microrganismos psicrótróficos. O mesmo comportamento foi observado em relação ao tempo de armazenamento. Inclusive os valores obtidos possuem a mesma ordem de grandeza. Estes valores são aceitáveis quando comparados a legislação ou a dados da literatura.

Para as variáveis estudadas, e considerando o exposto, pode-se concluir que há a possibilidade de redução dos teores de nitrito no preparo de linguiça suína fresca. Porém, antes de tomar tal medida, outros estudos são necessários, tendo em vista que o nitrito pode influenciar outras variáveis, por exemplo, o crescimento de *Salmonella* sp. e *Clostridium* sulfito redutor.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABIPECS. Associação Brasileira das Indústrias Processadoras e Exportadoras de Carne Suína. Relatório 2011- 2012. Disponível em: <<http://www.abipecs.org.br>>. Acesso em 02 julho, 2013.

ABIPECS. Associação Brasileira das Indústrias Processadoras e Exportadoras de Carne Suína. Relatório 2012- 2013. Disponível em: <<http://www.abipecs.org.br>>. Acesso em 02 julho, 2013.

ABREU, C. O. de.;MERLINI, L. S.; BEGOTTI, I. L. Pesquisa de *Salmonella* spp., *Staphylococcus aureus*, coliformes totais e coliformes termotolerantes em carne moída comercializada no município de Umuarama - PR. **Arquivos de Ciências Veterinárias e Zoologia da UNIPAR**, Umuarama, v. 14, n. 1, p. 19-23, 2011.

AGGETT, P. J. et al. Passclaim, process for the assessment of scientific support for claims on foods. **European Journal of Nutrition**, v. 4, n. 1, 2005.

AGUIRREZÁBAL, M. M. et al. The effect of paprika, garlic and salt on rancidity in dry sausages. **Meat Science**, v. 54, p. 77-81, 2000.

ALMEIDA, C. O. de. **Avaliação físico-química e microbiológica de linguiça toscana porcionada e armazenada em diferentes embalagens, sob condições de estocagem similares às praticadas em Supermercado**. 2005. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos), Universidade Estadual de Campinas, Campinas, SP, 2005.

ALMEIDA, A. S.; GONÇALVES, P. M. R.; FRANCO, R. M. *Salmonella* em corte de carne bovina inteiro e moído. **Higiene Alimentar**, v.16, n. 96, p.77-81, 2002.

ANDRÉE, S. et al. Chemical safety of meat and meat products. **Meat Science**, v. 86, p. 38-48, 2010.

ARAÚJO, J. M. A. **Química de alimentos: Teoria e prática**.5 ed. Viçosa: UFV,2011.

ARCHER, D. L. Evidence that ingested nitrate and nitrite are beneficial to health. **Journal of Food Protection**. v. 65, p. 872-875, 2002.

ARIHARA, K. Strategies for designing novel functional meat products. **Meat Science**, v. 74, p. 219–229, 2006.

ARISSETO, A. P. **Avaliação da qualidade global do hambúrguer tipo calabresa com reduzidos teores de nitrito**. 2003. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos), Universidade Estadual de Campinas, Campinas, SP, 2003.

BIESALSKI, H. K. Review: Meat as a component of a healthy diet are there any risks or benefits if meat is avoided in the diet. **Meat science**, v. 70, p. 509-524, 2005.

BIRZELE, B., DJORDJEVIC, S., KRAMER, J. A study of the role of different nitrite concentrations on human pathogenic bacteria in fresh spreadable ham and onion sausage. **Food Control**. v.16, p.695-699, 2005.

BLOUKAS, I.; HONIKEL, K. O. The influence of additives on the oxidation of pork back fat and its effect on water and fat binding in finely comminuted batters. **Meat science**, v. 32, p. 31-43, 1992.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Aprovado pelo decreto nº 30.691 de 1952 e alterado pelo decreto nº 2244 de 1997. Regulamento de Inspeção Industrial e Sanitária de produtos de origem animal (RIISPOA). Brasília, 1997.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Portaria nº 1.004, de 11 de dezembro de 1998. Regulamento Técnico: Atribuição de Função de Aditivos, Aditivos e seus Limites Máximos de uso para a Categoria 8 - Carne e Produtos Cárneos. Brasília, 1998.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 4, de 31 de março de 2000. Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Linguiça. Brasília, 2000.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução – RDC nº 12, de 2 de janeiro de 2001. Regulamento Técnico sobre Padrões Microbiológicos para Alimentos. Brasília, 2001.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 62, de 26 de agosto de 2003. Oficializa os Métodos Analíticos Oficiais para Análises Microbiológicas para Controle de Produtos de Origem Animal e Água. Brasília, 2003.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução- RDC nº. 216, de 15 de setembro de 2004. Dispõe sobre regulamento técnico de Boas Práticas para Serviços de Alimentação. Brasília, 2004.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Agosto de 2013, Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br/animal/especies/suinos>> Acesso em: 14 de agosto de 2013.

BUCHANAN, R. L. et al. Feasibility of using microbiological indicator assays to detect temperature abuse in refrigerated meat, poultry, and seafood products. **Food Microbiology**, v. 9, p. 279-301, 1992.

CARPENTER C.E.; CORNFORTH D.P.; WHITTAKER R.D. Consumer preferences for beef color and packaging did not affect eating satisfaction. **Meat Science**, v. 57, n. 4, p. 359-363, 2001.

CASSENS, R. G. et al. Reactions of nitrite in meat. **Food Technology**. V. 33, n. 7, p. 46-57, 1979.

CASSENS, R. G. Composition and safety of cured meats in the USA. **Food Chemistry**, v. 59, n. 4, p. 561-566, 1997.

CASTELLANO, P. et al. A review of bacteriocinogenic lactic acid bacteria used as bioprotective cultures in fresh meat produced in Argentina. **Meat Science**, v. 79, p. 483–499, 2008.

CERQUEIRA, F. M.; MEDEIROS, M. H. G.; AUGUSTO, O. Antioxidantes dietéticos: controvérsias e perspectivas. **Quim. Nova**, v. 30, n. 2, p. 441-449, 2007.

CHASCO, J., LIZASO, G., BERIAIN, M. J. Cured colour development during sausage processing. **Meat Science**. v. 44, p. 203-211, 1996.

CHIAVARO, E. et al. Efficacy of different storage practices in maintaining the physicochemical and microbiological properties of fresh pork sausage. **Journal of Muscle Foods**, v. 19, p. 157–174, 2008.

CHIGBU, P., GORDON, L., STRANGE, T. R. Fecal coliform bacteria disappearance rates in a north-central Gulf of Mexico estuary. **Estuarine, Coastal and Shelf Science**, v. 65, p.309-318, 2005.

CORREIA, L. M. M. **Multiplicação de microbiota autóctone e de *Staphylococcus aureus* inoculado em linguiças frescas produzidas com diferentes concentrações de sais de cura**. Dissertação (Mestrado em tecnologia de alimentos), Universidade Federal do Paraná, Curitiba, PR, 2008.

CURIEL, J. A. et al. Production of biogenic amines by lactic acid bacteria and enterobacteria isolated from fresh pork sausages packaged in different atmospheres and kept under refrigeration. **Meat Science**, v. 88, p. 368–373, 2011.

DAMODARAN, S.; PARKIN, K. L.; FENNEMA, O. R. **Química de Alimentos de Fennema**. 4 ed. Porto Alegre: Artmed, 2010.

DE SOUSA, G. B., et al. Microbial enumeration in ready-to-eat foods and their relationship to good manufacturing practice. **Journal of Food Safety**, v. 22, p. 27–38, 2002.

DECKER, E. A. et al. Interactions between carnosine and the different redox status of myoglobin. **Journal of Food Science**, v. 60, p.1201–1204, 1995.

DELAZARI, I.; LEITÃO, M.F; HSU, L.A. Efeito da microflora contaminante sobre o desenvolvimentos de *Staphylococcus aureus* em linguiças. **Coletânea do Instituto de Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.8, p. 557-571, 1977.

DELHALLE, L. et al. Salmonella surveillance and control at post-harvest in the Belgian pork meat chain. **Food Microbiology**, v. 26, p. 265–271, 2009.

DIANE, R.; HOOPER, W.; MELODY, G. **Microbiología práctica de los alimentos: métodos para examen de microorganismos de los alimentos de interés para la salud pública**. Zaragoza: Acribia, 2000.

DIAS, P. A. et al. Qualidade higiênico-sanitária de carne bovina moída e de embutidos frescos comercializados no sul do rio grande do sul, brasil. **Instituto de biologia**, v.75, n.3, p.359-363, 2008.

FERGUSON, L. R. Meat and cancer. **Meat Science**, v. 84, p. 308-313, 2010.

FERNANDO, G. D. G. et al. Growth/survival of psychrotrophic pathogens on meat packaged under modified atmospheres. **Journal of Food Microbiology**, v. 28, p. 221-231, 1995.

FERRACCIOLI, V. R. de. ALMEIDA, C. O. de. **Avaliação da qualidade de salsichas do tipo hot dog durante o armazenamento**. 2012. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Processos Químicos e Bioquímicos), Centro Universitário do Instituto Mauá de Tecnologia. São Caetano do Sul, SP, 2012.

FRANCO, B. D. G. de M.; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos alimentos**. São Paulo: Atheneu, 2008.

FRANKEL, E. N.; NEFF, W. E. Formation of malonaldehyde from lipid oxidation products. **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 754, p. 264-270, 1983.

FUNG, D. Y. C., KASTNER, C. L., HUNT, M. C., DIKEMAN, M. E., KROPK, D. Mesophilic and psychrotrophic bacteria population on hot-boned and conventionally processed beef. **Journal of Food Protection**, v. 43, n. 7, p. 547-550, 1980.

GANDEMER, G. Lipids in muscles and adipose tissues, changes during processing and sensory properties of meat products. **Meat Science**, v. 62, p. 309–321, 2002.

GEORGANTELIS, D. et al. Effect of rosemary extract, chitosan and α -tocopherol on microbiological parameters and lipid oxidation of fresh pork sausages stored at 4°C. **Meat Science**, v. 76, p. 172–181, 2007.

GILL, C. O. Cold storage temperature fluctuations and predicting microbial growth. **Journal of Food Protection**, suppl, p. 43-47, 1996.

GOMIDE, L.A. M.; RAMOS, E. M. **Ciência e fundamento da carne: Fundamentos**. Viçosa: UFV, 2007.

GONZALEZ, R. D., et al. Evaluation of a chromogenic medium for total coliforms and *Escherichia coli* determination in ready-to-eat foods. **Food Microbiology**, v. 20, p. 601–604, 2003.

GOULD, G. W. Methods for preservation and extension of shelf life. **International Journal of Food Microbiology**, v. 33, p. 51-64, 1996.

GRAY, J. I.; GOMAAA, E. A.; BUCKLEYB, D. J. Oxidative quality and shelf life of meats. **Meat Science**, v.43, p. 111-123, 1996.

HAYES, J. E. Evaluation of the effects of selected plant-derived nutraceuticals on the quality and shelf-life stability of raw and cooked pork sausages. **Food Science and Technology**, v. 44, p. 164-172, 2011.

HONIKEL, K. O. The use and control of nitrate and nitrite for the processing of meat products. **Meat Science**, v. 78, p. 68-76, 2008.

HORITA, C. N. **Redução de cloreto de sódio em produto emulsionado tipo mortadela: influência sobre a qualidade global**. 2010. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos), Universidade Estadual de Campinas, Campinas, SP, 2010.

HSU, J.; ARCOT, J.; LEE, N. A. Nitrate and nitrite quantification from cured meat and vegetables and their estimated dietary intake in. **Australians Food Chemistry**, v. 115,p. 334-339, 2009.

IAL- Instituto Adolfo Lutz. **Métodos físico-químicos para análise de alimentos: Carnes e produtos cárneos**. 4. ed. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 2008.

IGENE, J. O. et al. Mechanisms by which nitrite inhibits the development of warmed-over flavour (WOF) in cured meat. **Food Chemistry**, v. 18,p.1-18, 1985.

IBGE, Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Aquisição alimentar domiciliar *per capita* anual. Disponível em: <http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/populacao/condicaodevida/pof/2008_2009_aquisicao>. Acesso em: 14 julho. 2013.

JAY, J. M. **Microbiologia de alimentos**. 6. ed. Porto Alegre: Artmed, 2005.

JIMÉNEZ- COLMENERO, F.; COFRADES, C. S. Healthier meat and meat products: their role as functional foods- Review. **Meat Science**,v. 59, p. 5–13, 2001.

KAMDEM, S. S.; PATRIGNANI, F.; GUERZONI, M. E. Shelf-life and safety characteristics of Italian Toscana traditional fresh sausage (Salsiccia) combining two commercial ready-to-use additives and spices. **Food Control**, v. 18, p. 421–429, 2007.

KAWAICHI, M. E. **Efeito da inoculação de esporos de *Clostridium estertheticum* e *Clostridium gasigenes* em carne bovina embalada a vácuo e Capacidade de *Clostridium estertheticum* de formar biofilmes**.

Dissertação (Mestrado em tecnologia de alimentos), Universidade Estadual de Campinas, Campinas, SP, 2010.

KITAKAWA, J. H. A. **Efeito do lactato de sódio na vida de prateleira de linguiça mista frescal**. 2002. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos), Universidade Estadual de Campinas, Campinas, SP, 2002.

LAMBERT, A. D.; SMITH, J. P.; DODDS, K. L. Shelf life extension and microbiological safety of fresh meat: A review. **Food Microbiology**, v. 8, p. 267-297, 1991.

MADIGAN, M. T.; MARTINKO, J. M.; PARKER, J. **Microbiologia de Brock**. 10. ed. São Paulo: Pearson Prentice Hall, 2004.

MANHOSO, F. F. R. Aspectos químicos e microbiológicos das linguiças tipo frescal no Brasil. **Rev. Nac. da Carne**, v.230, p. 90-92, 1996.

MANJU, S. et al. Effects of sodium acetate dip treatment and vacuum-packaging on chemical, microbiological, textural and sensory changes of Pearlsport (*Etroplus suratensis*) during chill storage. **Food Chemistry**, v.102, p.27–35, 2007.

MARQUES, S. C. et al. Avaliação higiênico-sanitárias. de linguiças tipo frescal comercializadas nos municípios de Três Corações e Lavras –MG. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.30, n. 6, p. 1120-1123, 2006.

MARTÍNEZ, L. et al. Comparative effect o fredy east rice (*Monascus purpureus*), red beet root (*Beta vulgaris*) and betanin (E-162) on colour and consumer acceptability of fresh pork sausages packaged in a modified atmosphere. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.86, p. 500–508, 2006.

MARTÍNEZ, L. et al. Effect of varying oxygen concentrations on the shelf-life of fresh pork sausages packaged in modified atmosphere. **Food Chemistry**, v. 94, p. 219–225, 2006b.

MASTROMATTEO, M. et al. Shelf life of reduced pork back-fat content sausages as affected by antimicrobial compounds and modified atmosphere packaging-Review. **International Journal of Food Microbiology**, v. 150, p. 1–7, 2011.

MERGEN, I. Z. **Estudo da perda de vácuo em embalagens plásticas multicamadas para produtos cárneos curados cozidos**. 2012. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química), Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, SC, 2012.

MOSCHONAS, G. et al. The effect of heat shrink treatment and storage temperature on the time of onset of “blown pack” spoilage. **Meat Science**,v.87, p. 115-118, 2011.

MURRAY, P. R. **Microbiologia Médica**. 4ª ed. Elsevier, 2004.

NASCIMENTO, R. do. **Redução de cloreto de sódio e substituição de nitrito de Sódio em produto cárneo embutido cozido: Características físico-químicas, microbiológicas e Sensoriais**. 2010. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos), Universidade Estadual de Campinas, Campinas, SP, 2010.

NORAT, T. et al. Meat, fish and colorectal cancer risk. The European prospective investigation into cancer and nutrition. **Journal of the National Cancer Institute**, v. 97, n. 12, p. 906–916, 2005.

O'GRADY, M.N.; MONAHAN F.J.; BURKE, R.M.; ALLEN, P. The effect of oxygenlevel and exogenous α -tocopherol on the oxidative stability of minced beef in modified atmosphere packs. **Meat Science**, v. 55, n. 1, p. 39-45, 2000.

OLIVEIRA, M. J. de; ARAÚJO, W. M. C.; BORGIO, L. A. Quantificação de nitrato e nitrito em linguiças do tipo frescal. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 25, n. 4, p. 736-742, 2005.

OLIVEIRA, A. V. B. **Avaliação microbiológica de carnes de frangos de corte comercializadas em granjas produtoras no município de Patos – PB**. 2010. Dissertação (Mestrado em Zootecnia), Universidade Federal de Campina Grande, Patos, PB, 2010.

ORDÓÑEZ, J. A. P. et al. **Tecnologia de alimentos**. 2 ed. Porto Alegre: Artmed, 2005.

PAIXÃO, T. R. L. C.; CARDOSO, J. L.; BERTOTTI, M. Determination of nitrate in mineral water and sausage samples by using a renewable in situ copper modified electrode. **Talanta**, v.71, p.186-191, 2007.

PARDI, M.C. et al. **Ciência, higiene e tecnologia da carne**. 2 v. Goiânia:UFG, 2001.

PINHO, O. et al. FIA evaluationof nitrite and nitrate contents of liver pâtés. **Food Chemistry**, v. 62, n. 3, p. 359-362, 1998.

QUEIROZ, A. M.P. **Efeitos do tripolifosfato de sódio sobre as características microbiológicas, físico-químicas e vida de prateleira em linguiça frescal de frango**. 2006. Mestrado em Ciências veterinárias, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, 2006.

QUILO, S. A. et al. Microbial, instrumental color and sensory characteristics of inoculated ground beef produced using potassium lactate, sodium metasilicate or peroxyacetic acid as multiple antimicrobial interventions. **Meat Science**, v. 84, p.470–476, 2010.

RAMALHO, V. C.; JORGE, N. Antioxidantes utilizados em óleos, gorduras e alimentos gordurosos. **Quim.Nova**, v. 29, n. 4, p. 755-760, 2006.

RAMOS, E. M.; GOMIDE, L. A. M. **Avaliação da qualidade de carnes: Fundamentos e metodologias**. Editora UFV, 2007.

RANTISIOU, K. et al. Ecology and characterization by molecular methods of Staphylococcus species isolated from fresh sausages. **International Journal of Food Microbiology**, v. 97, p. 277- 284, 2005.

RUIZ-CAPILLAS, C., JIMENEZ-COLMENERO F. Effect of an argon-containing packaging atmosphere on the quality of fresh pork sausages during refrigerated storage. **Food Control**, v. 21, p. 1331–1337, 2010.

SAEG – **Sistema para Análises Estatísticas**, Versão 9.1. Fundação Arthur Bernardes. Viçosa: UFV, 2007.

SALINAS, Y. et al. A novel colorimetric sensor array for monitoring fresh pork sausages spoilage. **Food Control**, v. 35, p. 166-176, 2014.

SANCHES, F. M. Composição centesimal e quantificação de ácidos graxos em derivados de carnes. 2010. Mestrado em Química, Universidade Estadual de Maringá, Maringá, PR, 2010.

SARCINELLI, M. F.; VENTURINI, K. S.; SILVA, L. C. Características da carne suína. Boletim Técnico - **PIE-UFES**. Espírito Santo, 2007.

SEBRANEK, J. G. et al. Comparison of a natural rosemary extract and BHA/BHT for relative antioxidant effectiveness in pork sausage. **Meat Science**, v. 69, p. 289-296, 2005.

SEBRANEK, J. G. & BACUS, J. N. Cured meat products without direct addition of nitrate or nitrite: what are the issues. **Meat Science**, v. 77, p. 136-147, 2007.

SHAHIDI, F.; PEGG, R. B. Colour characteristic of cooked cured-meat pigment and its application to meat. **Food Chemistry**, v. 38, p. 61-68, 1990.

SHAHIDI, F.; PEGG, R. B. Nitrite- free meat curing systems: Update and review. **Food Chemistry**, v. 43, p. 185-191, 1992.

SILVA, M. C. D. **Incidência de Staphylococcus aureus enterotoxigênicos e coliformes fecais em Carne-de-sol comercializada na cidade do Recife-PE**. 1991. Mestrado. em Nutrição, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, PE, 1991.

SOULTOS, N. et al. Chitosan effects on quality properties of Greek style fresh pork sausages. **Meat Science**, v. 80, p. 1150–1156, 2008.

STEWART, M.R.; ZIPSER, M.W.; WATTS, B.M. The use of reflectance spectrophotometry for the assay of raw meat pigments. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 30, n. 3, p. 464-469, 1965.

TARLADGIS, B. G. et al. A distillation method for the quantitative determination of malonaldehyde in rancid foods. **Journal of American Oil Chemists Society**, v. 37, n. 1, p. 44-48, 1960.

TERRA, N. N.; BRUM, M. A. R. **Carne e seus derivados: técnicas de controle de qualidade**. São Paulo: Nobel, 1988.

TERRA, N. N. **Apontamentos de tecnologia de carnes**. São Leopoldo: Unisinos, 1998.

TOYOHARA, D. Q. K. **Determinação de nitrato, nitrito e N- nitrosaminas em linguiça**. 1989. Tese (Doutorado em Ciências de Alimentos), Universidade Estadual de Campinas, Campinas, SP, 1989.

TORTORA, G. J.; CASE, C. L.; FUNKE, B. R. **Microbiologia**. 10. ed. Porto Alegre: Artmed, 2012.

TROY, D. J.; KERRY, J. P. Consumer perception and the role of science in the meat industry. **Meat Science**, v.86, p. 214–226, 2010.

TUTENEL, A. V. et al. Isolation and molecular characterization of Escherichia coli O157 isolated from cattle, pigs and chickens at slaughter. **International Journal of Food Microbiology**, v. 84, p. 63– 69, 2003.

U.S. Department of Agriculture, Agricultural Research Service.2012. USDA National Nutrient Database for Standard Reference, Release 25. Nutrient Data Laboratory Home Page, <http://www.ars.usda.gov/ba/bhnrc/ndl>

VANDENDRIESSCHE, F. Meat products in the past, today and in the future. **Meat Science**, v.78, p. 104–113, 2008.

VIEIRA, C. R. N., TEIXEIRA, C. G. Condições higiênico-sanitárias de carcaças resfriadas de frango comercializadas em Poços de Caldas-MG. **Higiene Alimentar**, v.11, n.48, p.36-40, 1997.

VIEIRA, V. B. **Obtenção do extrato de própolis assistida por micro-ondas, aplicação em linguiça toscana e avaliação da sua capacidade antioxidante**. 2012. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia dos Alimentos), Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS, 2012.

ZIPSER, M. V.; WATTS, B. M.A modified 2- thiobarbituric acid (TBA) method for the determination of malonaldehyde in cured meat. **Food Technology**, v. 16, n. 7, p. 102-104, 1962.

WANG, X. H. et al. Effects of inoculating *Lactobacillus sakei* starter cultures on the microbiological quality and nitrite depletion of Chinese fermented sausages. **Food Control**, v. 32, p. 591-596, 2013.