

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

LUCYANNE MARIA MORAES CORREIA

**MULTIPLICAÇÃO DE MICROBIOTA AUTÓCTONE E DE *Staphylococcus aureus*
INOCULADO EM LINGUIÇAS FRESCAIS PRODUZIDAS COM DIFERENTES
CONCENTRAÇÕES DE SAIS DE CURA.**

CURITIBA

2008

LUCYANNE MARIA MORAES CORREIA

**MULTIPLICAÇÃO DE MICROBIOTA AUTÓCTONE E DE *Staphylococcus aureus*
INOCULADO EM LINGUIÇAS FRESCAIS PRODUZIDAS COM DIFERENTES
CONCENTRAÇÕES DE SAIS DE CURA.**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós Graduação de Tecnologia de Alimentos do Setor de Tecnologia da Universidade Federal do Paraná, como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Tecnologia de Alimentos.

Orientador: Prof. Dr. Luciano dos Santos Bersot

CURITIBA

2008

C824m

Correia, Lucyanne Maria Moraes, 1975-

Multiplicação de microbiota autóctone e de *Staphylococcus aureus* inoculado em lingüiças frescas produzidas com diferentes concentrações de sais de cura [manuscrito] / Lucyanne Maria Moraes Correia. – 2008.

85 f. : grafs., tabs. color. ; 30 cm.

Impresso.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Paraná, Setor de Tecnologia, Programa de Pós-Graduação em Tecnologia de Alimentos, 2008.

“Orientador: Prof. Dr. Luciano dos Santos Bersot”.

Bibliografia: f. 72-81

1. Embutidos (Alimentos). 2. Sais de cura. 3. Nitritos. 4. Nitratos. 5. Salsichas - Contaminação. 6. Estafilococos áureos. I. Universidade Federal do Paraná. II. Bersot, Luciano dos Santos. III. Título.

CDD: 664.91

Bibliotecário: Arthur Leitis Junior - CRB 9/1548

TERMO DE APROVAÇÃO

LUCYANNE MARIA MORAES CORREIA

MULTIPLICAÇÃO DE MICROBIOTA AUTÓCTONE E DE *Staphylococcus aureus*
INOCULADO EM LINGUIÇAS FRESCAIS PRODUZIDAS COM DIFERENTES
CONCENTRAÇÕES DE SAIS DE CURA.

Dissertação aprovada como requisito parcial para a obtenção do grau de Mestre no Curso de Pós-Graduação em Tecnologia de Alimentos, Setor de Tecnologia da Universidade Federal do Paraná, pela seguinte banca examinadora:

Orientador:

Prof. Dr. Luciano dos Santos Bersot
Departamento de Medicina Veterinária, UFPR

Prof. Dr. José Paes de Almeida Nogueira Pinto
Departamento de Higiene Veterinária e Saúde Pública,
UNESP

Prof. Dr. Giovani Mocelin
Departamento de Engenharia Química, UFPR

Curitiba, 26 de agosto de 2008.

Dedico este Trabalho:

Ao meu avô Aldo Moraes, por seu exemplo de integridade, dedicação e doçura, que será lembrado eternamente.

Aos meus queridos pais Olavo e Angela, que me deram todas as oportunidades para chegar até aqui.

Ao meu marido Ricardo, pela compreensão, companheirismo e incentivo em todas as etapas da minha vida.

Á minha amada filha Ana Beatriz, razão maior da minha existência.

AGRADECIMENTOS

A Deus, por sempre me acompanhar.

A toda minha família pelo incentivo e apoio.

Ao Professor Dr. Luciano dos Santos Bersot, pelos conhecimentos transmitidos, disposição e paciência, e por não medir esforços para o sucesso da pesquisa. Além disso, pela disponibilização de toda a estrutura do laboratório e técnicos para a realização do projeto.

Aos estagiários do Laboratório de Controle Microbiológico de Água e Alimentos (LACOMA), do curso de Medicina Veterinária UFPR (Campus Palotina), Fabio Massao Fujisawa, Juliano Pereira, Matheus Goto Hirai, Priscila Vincenzi dos Santos, Cibeli Viana, e às Técnicas Rosana dos Reis Andrade Maito e Krishna Raquel Marques, pela imensa ajuda na realização das análises e pela disponibilidade demonstrada.

A Dra. Vera Lúcia Mores Rall, do Laboratório de Microbiologia do Instituto de Biociências da Universidade Estadual Paulista (UNESP), Campus de Botucatu, pela disponibilização das cepas de *Staphylococcus aureus*.

Ao Dr. José Paes de Almeida Nogueira Pinto, pelo fornecimento dos meios de cultura para a elaboração do projeto.

À empresa Frimesa, pela disponibilização da matéria-prima para as formulações.

A todos os professores do Programa de Pós-Graduação em Tecnologia de Alimentos, que certamente contribuíram para o desenvolvimento deste trabalho.

A Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Tecnologia de Alimentos pela oportunidade de realização deste trabalho.

A todos os colegas de turma pela amizade construída nesses dois anos.

Comece fazendo o que é necessário, depois o que é possível,
e de repente você estará fazendo o impossível.

São Francisco de Assis

RESUMO

A lingüiça frescal é um embutido curado de simples formulação que não passa por processamento tecnológico que promova a redução de microrganismos deteriorantes ou patógenos. Vários autores sugerem que os sais de cura, tradicionalmente utilizados para redução de *Clostridium botulinum* apresentam ação contra outros microrganismos. O presente trabalho teve como objetivo avaliar a influência de diferentes concentrações de sais de cura (50, 150 e 200 ppm) adicionadas durante produção da lingüiça frescal, sobre *Staphylococcus aureus*, durante estocagem sob refrigeração a 7° e 12°C. Foram inoculadas no produto cepas enterotoxigênicas de *S. aureus*, e a quantificação do microrganismo foi realizada nos dias 0, 2, 4, 7 e 10. Foi também pesquisada a microbiota autóctone de bactérias mesófilas, psicotróficas e enterobactérias. Os resultados demonstraram que a influência das concentrações de sais de cura e temperaturas utilizadas sobre a multiplicação de *S. aureus* e da microbiota autóctone foi mínima, sendo dependente apenas do período de estocagem. Entretanto, ao final de dez dias, as contagens foram estatisticamente iguais em todos os grupos estudados, mostrando que as condições de temperatura e concentrações de sal de cura utilizados não exerceram controle efetivo no desenvolvimento destes microrganismos. Sugere-se que este produto seja armazenado sob temperaturas inferiores a 7°C ou sob congelamento para maior estabilidade microbiológica.

Palavras-chave: Lingüiça frescal. Nitrito. Nitrato. Sais de cura. *Staphylococcus aureus*.

ABSTRACT

Fresh sausage is a curing meat product with simple manufacture process and formulation. This product does not suffer cooking, smoking or drying to reduce food spoilage and food-poisoning bacteria, so it requires refrigeration. Some authors have suggested curing salts, known traditionally by their action against *Clostridium botulinum* have positive effects in preserving products against other microorganisms. The aim of this work was to evaluate the role of different cure salt concentration (50, 150 e 200 ppm) in *Staphylococcus aureus* behavior, during refrigeration under 7° and 12°C. Enterotoxigenic *S. aureus* strain was inoculated on fresh sausage and was enumerated in days 0, 2, 4, 7 and 10. The growth curve was also determinate for mesophylic and psicrotrophyc microorganisms and *Enterobacteriaceae*, in same conditions. Results indicated that curing salt concentration and temperature had low influence on *S. aureus* and spoilage bacteria growth, depending only on storage time. However, after ten days, independent of temperature and treatment, the count was statistically the same for all study groups. This indicates that neither temperature nor cure salt concentration did exert influence on microorganisms growth. The suggestion is to store fresh sausage below 7°C or freezing for microbiological stability.

Key words: Curing salt. Fresh sausage. Nitrites. Nitrates. *Staphylococcus aureus*

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 01 -	REAÇÕES REDOX ENVOLVENDO O NITRITO.....	31
FIGURA 02 -	MUDANÇAS QUÍMICAS DA MIOGLOBINA DURANTE REAÇÃO DE CURA.....	36
FIGURA 03 -	FLUXOGRAMA DE PRODUÇÃO DAS LINGUIÇAS FRESCAIS UTILIZADAS NO EXPERIMENTO.....	46
FIGURA 04 -	REPRESENTAÇÃO ESQUEMÁTICA DA ESTOCAGEM DAS AMOSTRAS E PLANO DE AMOSTRAGEM.....	50
FIGURA 05 -	COMPORTAMENTO DE <i>Staphylococcus aureus</i> EM LINGUIÇAS FRESCAIS PRODUZIDAS EM DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE SAL DE CURA E ESTOCADAS EM TEMPERATURAS DE REFRIGERAÇÃO DISTINTAS.....	54
FIGURA 06 -	COMPORTAMENTO DE MESÓFILOS EM LINGUIÇAS FRESCAIS PRODUZIDAS COM DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE SAL DE CURA E ESTOCADAS EM TEMPERATURAS DE REFRIGERAÇÃO DISTINTAS.....	59
FIGURA 07 -	COMPORTAMENTO DE PSICOTRÓFICOS EM LINGUIÇAS FRESCAIS PRODUZIDAS EM DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE SAL DE CURA E ESTOCADAS EM TEMPERATURAS DE REFRIGERAÇÃO DISTINTAS.....	62
FIGURA 08 -	COMPORTAMENTO DE ENTEROBACTÉRIAS EM LINGUIÇAS FRESCAIS PRODUZIDAS EM DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE SAL DE CURA E ESTOCADAS EM TEMPERATURAS DE REFRIGERAÇÃO DISTINTAS.....	64

FIGURA 09 -	COMPORTAMENTO DA MICROBIOTA AUTÓCTONE E DE <i>Staphylococcus aureus</i> INOCULADO EM LINGUIÇAS FRESCAIS SUBMETIDAS AO TRATAMENTO A AO LONGO DA ESTOCAGEM A 7°C.....	66
FIGURA 10 –	COMPORTAMENTO DA MICROBIOTA AUTÓCTONE E DE <i>Staphylococcus aureus</i> INOCULADO EM LINGUIÇAS FRESCAIS SUBMETIDAS AO TRATAMENTO B AO LONGO DA ESTOCAGEM A 7°C.....	67
FIGURA 11 –	COMPORTAMENTO DA MICROBIOTA AUTÓCTONE E DE <i>Staphylococcus aureus</i> INOCULADO EM LINGUIÇAS FRESCAIS SUBMETIDAS AO TRATAMENTO C AO LONGO DA ESTOCAGEM A 7°C.....	67
FIGURA 12 –	COMPORTAMENTO DA MICROBIOTA AUTÓCTONE E DE <i>Staphylococcus aureus</i> INOCULADO EM LINGUIÇAS FRESCAIS SUBMETIDAS AO TRATAMENTO A AO LONGO DA ESTOCAGEM A 12°C.....	68
FIGURA 13 –	COMPORTAMENTO DA MICROBIOTA AUTÓCTONE E DE <i>Staphylococcus aureus</i> INOCULADO EM LINGUIÇAS FRESCAIS SUBMETIDAS AO TRATAMENTO B AO LONGO DA ESTOCAGEM A 12°C.....	69
FIGURA 14 –	COMPORTAMENTO DA MICROBIOTA AUTÓCTONE E DE <i>Staphylococcus aureus</i> INOCULADO EM LINGUIÇAS FRESCAIS SUBMETIDAS AO TRATAMENTO C AO LONGO DA ESTOCAGEM A 12°C.....	69

LISTA DE TABELAS

TABELA 01 –	CODIFICAÇÃO DAS CEPAS DE <i>Staphylococcus aureus</i> UTILIZADAS NO EXPERIMENTO E RESPECTIVAS ENTEROTOXINAS.....	44
TABELA 02 -	CONDIMENTOS E ERITORBATO DE SÓDIO PARA 1 kg DE MASSA.....	48
TABELA 03 -	CONCENTRAÇÕES DE SAL DE CURA E CLORETO DE SÓDIO UTILIZADOS PARA MASSAS (KG).....	48
TABELA 04 -	MÉDIA DOS VALORES DE pH OBTIDOS DE LINGUIÇAS FRESCAIS DURANTE ESTOCAGEM EM DUAS TEMPERATURAS (7 e 12°C) NOS TRATAMENTOS A, B e C.....	55
TABELA 05 -	MÉDIA DAS CONTAGENS E DESVIO PADRÃO (log de UFC/g) DE <i>Staphylococcus aureus</i> RECUPERADOS APÓS INOCULAÇÃO E AO LONGO DO TEMPO EM DUAS TEMPERATURAS (7 E 12°C) NOS TRATAMENTOS A, B e C DE LINGUIÇAS FRESCAIS.....	57
TABELA 06 -	MÉDIA DAS CONTAGENS E DESVIO PADRÃO (log de UFC/g) DE MESÓFILOS AUTÓCTONES RECUPERADOS APÓS A ESTOCAGEM EM DUAS TEMPERATURAS (7 e 12°C) NOS TRATAMENTOS A, B E C DE LINGUIÇAS FRESCAIS.....	58

TABELA 07 - MÉDIA DAS CONTAGENS E DESVIO PADRÃO (log de UFC/g) DE PSICROTRÓFICOS AUTÓCTONES RECUPERADOS APÓS A ESTOCAGEM EM DUAS TEMPERATURAS (7 E 12°C) NOS TRATAMENTOS A, B e C DE LINGUIÇAS FRESCAIS..... 61

TABELA 08 - MÉDIA DAS CONTAGENS E DESVIO PADRÃO (log de UFC/g) DE ENTEROBACTÉRIAS RECUPERADAS APÓS A ESTOCAGEM EM DUAS TEMPERATURAS (7 E 12°C) NOS TRATAMENTOS A, B e C DE LINGUIÇAS FRESCAIS..... 63

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	16
1.1	OBJETIVOS.....	18
1.1.1	Objetivo Geral.....	18
1.1.2	Objetivos Específicos.....	18
2	REVISÃO DE LITERATURA.....	19
2.1	EMBUTIDOS CÁRNEOS.....	19
2.1.1	Matéria prima e mercado.....	19
2.2	SEGURANÇA ALIMENTAR.....	21
2.2.1	Contaminação microbiológica na cadeia de produção da lingüiça frescal.....	22
2.2.2	Influência da temperatura na contaminação microbiológica.....	25
2.2.3	<i>Staphylococcus aureus</i>	27
2.3	NITRATOS E NITRITOS.....	29
2.3.1	Química do nitrito e nitrato.....	31
2.3.2	Efeitos dos sais de cura sobre a microbiota das carnes curadas.....	32
2.3.3	Efeitos dos sais de cura na cor da carne curada.....	34
2.3.4	Efeitos dos sais de cura no sabor das carnes curadas.....	37
2.3.5	Efeito antioxidante dos sais de cura.....	38
2.3.6	Efeitos tóxicos dos sais de cura.....	39
2.3.7	Nitrito e nitrato residual em produtos curados.....	40
2.3.8	Regulamentação.....	41
3	MATERIAIS E MÉTODOS.....	44
3.1	PREPARO DO INÓCULO DE <i>Staphylococcus aureus</i>	44
3.2	PROCESSAMENTO DAS AMOSTRAS.....	45

3.2.1	Preparo do local de manipulação.....	45
3.2.2	Preparo dos utensílios utilizados.....	45
3.2.3	Preparo da lingüiça frescal.....	46
3.3	ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS.....	51
3.3.1	Determinação da população de <i>Staphylococcus aureus</i> inoculada.....	51
3.3.2	Quantificação dos demais microrganismos.....	51
3.4	DETERMINAÇÃO DO pH.....	53
3.5	ANÁLISES ESTATÍSTICAS.....	53
4	RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	54
4.1	DESENVOLVIMENTO DA POPULAÇÃO DE <i>Staphylococcus aureus</i>	54
4.2	COMPORTAMENTO DOS MICRORGANISMOS MESÓFILOS.....	58
4.3	COMPORTAMENTO DOS MICRORGANISMOS PSICROTRÓFICOS.....	61
4.4	COMPORTAMENTO DAS ENTEROBACTÉRIAS.....	63
4.5	MULTIPLICAÇÃO DA MICROBIOTA AUTÓCTONE E DE <i>Staphylococcus aureus</i>	66
5	CONCLUSÕES.....	71
	REFERÊNCIAS.....	72
	ANEXOS.....	82

ANEXOS

ANEXO 1 – FICHA TÉCNICA ERITORBATO DE SÓDIO.....	83
ANEXO 2 – FICHA TÉCNICA SAIS DE CURA.....	85

1 INTRODUÇÃO

O termo “cura” relativo a carnes processadas é universalmente conhecido como a adição de sais de nitrito ou nitrato e outros aditivos às carnes com objetivo de melhorar a sua conservação. Além disso, a cura resulta em uma enorme variedade de produtos com cor e sabor característicos devido a variações no material cru, nas formulações e diferenças em processos e técnicas aplicadas.

O mercado de embutidos tem apresentado significativa expansão e alta competitividade na última década, uma vez que o seu consumo se tornou parte do hábito alimentar de uma parcela considerável de consumidores brasileiros, e dentre os embutidos, a lingüiça frescal é um dos mais consumidos devido a seu processamento relativamente simples e preço acessível.

A lingüiça frescal é um produto curado que por não sofrer processamento térmico ou dessecação, e apresentar alta atividade de água, tem curto prazo comercial e qualidade microbiológica dependente da ausência ou de baixos níveis de contaminação na matéria-prima e demais ingredientes empregados na produção. A elaboração deste tipo de produto requer uma série de etapas de manipulação, o que eleva as possibilidades de contaminação por uma gama de espécies de microrganismos patogênicos ou deterioradores, podendo comprometer a qualidade microbiológica do produto final, caso ocorram falhas durante o processo. Por isso é fundamental o controle da temperatura do produto ao longo de todo o processo.

Dos microrganismos reconhecidos como potenciais causadores de doenças, o principal envolvido nos surtos provocados por manipulação inadequada é o *Staphylococcus aureus*, que possui ampla distribuição na natureza e capacidade de sobreviver e se multiplicar facilmente nos alimentos quando encontra condições adequadas.

A preservação da estabilidade microbiológica, segurança e qualidade dos produtos frescos devem ser baseadas na aplicação de obstáculos que dificultem a sobrevivência, crescimento e permanência dos microrganismos, reduzindo a deterioração e a incidência de doenças. Dentre estes fatores, o emprego de baixas temperaturas é muito importante, caso contrário o desenvolvimento de microrganismos deterioradores e/ou patogênicos pode ocorrer rapidamente.

A utilização de nitrito e nitrato como conservantes é muito discutida, tendo em vista os riscos associados ao emprego indiscriminado desses aditivos e algumas evidências de toxicidade. Entretanto, quando utilizados dentro das concentrações permitidas são fundamentais na prevenção do crescimento do *Clostridium botulinum* que produz a toxina botulínica, potencialmente fatal. Além disso, são indispensáveis por serem responsáveis pelas reações que promovem a coloração e sabores característicos dos produtos curados, e dão aos mesmos as características sensoriais desejáveis.

A ação antimicrobiana dos sais de cura já foi testada para vários microrganismos, inclusive *S. aureus*, e a concentração efetiva se mostra dependente de fatores intrínsecos e extrínsecos. O presente trabalho busca avaliar as relações entre tempo e temperatura de armazenamento e concentração de nitrito e nitrato necessária para exercer efeito antimicrobiano sobre o *S. aureus* em lingüiças frescas, e ainda verificar se existe influência da microbiota competidora e do pH do produto neste processo.

1.1 OBJETIVOS

1.1.1 Objetivo Geral

Verificar a influência de diferentes concentrações de sais de cura adicionados no processo de produção da lingüiça frescal sobre a estabilidade microbiológica do produto durante estocagem sob refrigeração.

1.1.2 Objetivos Específicos

- Verificar o efeito de duas temperaturas de estocagem (7°C e 12°C) sobre o desenvolvimento de *Staphylococcus aureus*, durante armazenamento por até 10 dias, em lingüiça frescal formulada com concentrações de 50, 150 e 200 ppm de sais de cura.
- Analisar os diferentes tratamentos quanto à presença e desenvolvimento de microrganismos mesófilos, psicrotróficos e enterobactérias ao longo da estocagem sob refrigeração nas temperaturas de 7°C e 12°C.
- Verificar a influência do pH do produto sobre a ação antimicrobiana dos sais de cura em relação ao *Staphylococcus aureus* e microbiota competidora.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 EMBUTIDOS CÁRNEOS

Entendem-se como produtos cárneos processados ou preparados, aqueles em que as propriedades originais da carne fresca foram modificadas através de tratamento físico, químico ou biológico, ou através da combinação destes métodos. O processo envolve geralmente cortes ou cominuições mais ou menos intensos, adição de condimentos, especiarias e aditivos diversos (PARDI *et al.*, 1996).

Os embutidos são definidos pelo Regulamento de Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal (RIISPOA) como todo produto elaborado com carne ou órgãos comestíveis curados ou não, condimentado, podendo ou não ser cozido, defumado, dessecado, e contido em envoltório natural ou artificial (BRASIL, 1997).

Neste contexto inclui-se a lingüiça, que segundo a Instrução Normativa 04 de 31 de março de 2000 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), "é o produto cárneo industrializado obtido de carnes de animais de açougue, adicionado ou não de tecidos adiposos, ingredientes, embutido em envoltório natural ou artificial e submetido ao processo tecnológico adequado" (BRASIL, 2000). A lingüiça frescal, segundo a mesma legislação se caracteriza por ser um produto cru e curado, de carne, gordura e outros ingredientes. Dentre as lingüiças denominadas "frescal" a Toscana é caracterizada por ser um produto cru e curado obtido exclusivamente de carne suína, adicionado de gordura suína e ingredientes.

A lingüiça frescal deve apresentar as seguintes características físico-químicas: 70% de umidade máxima, 30% de gordura, e no mínimo, 12% de proteína, sendo proibida a adição de carne mecanicamente separada (CMS) (BRASIL, 2000).

2.1.1 Matéria prima e mercado

A carne suína é a matéria-prima básica da elaboração da lingüiça no Brasil, e dados de estudo realizado pela Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária

(EMBRAPA) e Associação Brasileira das Indústrias Processadoras e Exportadoras de Carne Suína (ABIPECS) afirmam que o ano de 2007 fechou com um crescimento líquido na produção industrial de carne suína da ordem de 120.000 toneladas em relação ao ano anterior, com o consumo per capita na faixa de 13 quilos por habitante, no melhor desempenho da história do setor (EMBRAPA, 2007).

Embora seja proibida para mais de 20% da população mundial, que são judeus e muçulmanos, a carne suína é a mais produzida e consumida no mundo. O principal produtor e consumidor mundial é a China, que no ano de 2005 participou com 48,9% da produção. O Brasil encontra-se na quinta colocação com produção de 2,6% da carne suína mundial. Em relação ao consumo, o Brasil obteve a sexta colocação, com 2.091 toneladas, atrás da China, União Européia (25 países), Estados Unidos, Japão e Rússia (OLIVO; OLIVO, 2006).

De acordo com a ABIPECS (2008), o consumo médio mundial de carne suína é de 15,9 kg. Na Europa, o consumo médio per capita é de 45,4 kg, enquanto que em países como a Áustria e Espanha isoladamente, fica em torno de 70 kg/habitante/ano. Para OLIVO & OLIVO (2006), a preferência dos europeus pelo produto ocorre devido ao seu sabor e praticidade.

Dados de 2007 colocam o Paraná como um dos Estados que mais consomem carne suína no Brasil, chegando à média de 20 kg/ habitante/ano (AGROPECUÁRIA BRASIL, 2008). O consumo de carne suína fresca no Sul e Sudeste do Brasil representa 29,3% do total da produção, enquanto o da carne industrializada chega a 70,6%, comprovando a importância destes produtos no mercado destas regiões (EMBRAPA, 2007).

PRICE & SCHWEIGERT (1996) citam que nos Estados Unidos, em torno da décima parte da carne é consumida sob a forma de embutidos, e PARDI *et al.* (1996), descrevem que na Alemanha a produção de embutidos é de 50% da produção cárnea.

O ainda baixo consumo brasileiro de carne suína comparado aos demais países deve-se provavelmente, a preconceito e falta de informações sobre a qualidade atual da produção. Em pesquisa realizada por FARIA *et al.* (2005), com moradores da cidade de Belo Horizonte, 29,2% afirmaram consumir produtos derivados de carne suína de duas a três vezes na semana, e 26,2% a carne "in natura". Dos entrevistados, 10% nunca consomem o produto, sendo as maiores preocupações demonstradas o teor de gordura e colesterol (38,4%), e o aspecto

higiênico-sanitário (27,8%). Resultados similares foram descritos por TRAMONTINI (2000) em relação aos consumidores da cidade de São Paulo, onde grande maioria dos entrevistados consome carne suína apenas 2 a 3 vezes ao ano.

Apesar do baixo consumo de carne suína no país, a preferência do consumidor é por embutidos e outros derivados, o que deve-se à grande diversificação, possibilidade de fracionamento em porções menores, e preço acessível (PARDI *et al.*, 1996; TERRA, 1998).

Dados recentes demonstram que no Brasil, a lingüiça preferida é a frescal, própria para churrascos, que responde por quase 60% das vendas totais da categoria cujo consumo cresceu 17% no ano de 2007, principalmente pela participação do tipo Toscana (BRASIL, 2007).

Segundo o Ministério do Planejamento do Brasil, no ano de 2007, a venda de lingüiças aumentou em 14% em relação a 2006, totalizando 382 mil toneladas, o maior crescimento dos últimos seis anos. Em reais, o consumo foi igualmente expressivo, representando alta de 15%, para R\$ 2,5 bilhões, tornando a lingüiça a líder no segmento de embutidos, responsável por 30% do faturamento deste mercado. Na seqüência, estão a mortadela (14% das vendas), presunto (12,5%) e salsicha (11%). Isto pode se explicar pelo fato de que em 2007 o preço da lingüiça praticamente não subiu (alta de 0,15%), enquanto a inflação dos alimentos em geral foi de 12,73%, segundo a Fundação Instituto de Pesquisas Econômicas (Fipe).

2.2 SEGURANÇA ALIMENTAR

A segurança alimentar é definida no *Codex Alimentarius* como “garantia de que os alimentos não apresentam perigo para o consumidor quando são preparados e/ou consumidos de acordo com o uso para o qual foram destinados” (WHO, 2002).

Alimentos seguros tornaram-se preocupação mundial em função do processo de urbanização desordenado, que levou a mudanças na sociedade, nos hábitos e preferências alimentares, e aumento das enfermidades transmitidas por alimentos (ETA). Mais de duzentas doenças são reconhecidamente veiculadas pelos alimentos, e as causas incluem bactérias, vírus, parasitos, toxinas, metais, e príons. (MEAD *et al.*, 1999). Nos países desenvolvidos mais de um terço da população é afetada por ETA a cada ano, e nos Estados Unidos, estima-se que acometam

anualmente oitenta e um milhões de pessoas, e causem mais de 9000 mortes (MEAD *et al.*, 1999).

As lingüiças do tipo frescal são alimentos grandemente expostos a contaminação e representam um excelente meio para a multiplicação de microrganismos. As prováveis fontes de contaminação envolvem matéria prima de qualidade higiênico-sanitária insatisfatória, envoltórios, temperos ou condimentos, assim como a água utilizada em todas as operações de limpeza, (MILANI *et al.*, 2003).

A carência de boas práticas na fabricação de produtos frescais torna-se um risco à saúde do consumidor, sendo necessária a fiscalização da fabricação e comercialização através de padrões rigorosos, pois as condições de higiene em que os alimentos são beneficiados ou preparados são um dos fatores responsáveis pela multiplicação microbiana (CUNHA NETO; SILVA; STAMFORD, 2002; MARQUES *et al.*, 2006).

2.2.1 Contaminação microbiológica na cadeia de produção da lingüiça frescal

As etapas pelas quais o alimento deve passar para chegar à mesa do consumidor são longas e numerosas, e até que se origine a lingüiça, a carne e demais ingredientes percorrem uma longa cadeia, que apresenta riscos potenciais à segurança do produto. O animal é abatido e transportado à indústria em caminhão frigorífico, onde passa por diferentes processamentos até ser embalado. O produto final é estocado até o momento de envio para o comércio varejista, através de nova etapa de transporte seguido de armazenamento, e finalmente, aquisição pelo consumidor, que também transportará o produto e o estocará, para posterior preparo e consumo (GERMANO & GERMANO, 2003).

Numerosos fatores influenciam o tipo de microrganismo que contamina a carne e os produtos cárneos frescos, incluindo a faixa de pH; a adição de sal, nitrito, açúcar, fumaça (líquida ou natural), acidulantes e o estado da carne (aquecida, fermentada, ou seca). Após o processamento, o tipo e a proporção da contaminação são influenciados pela embalagem, temperatura de armazenamento, composição final do produto e sobrevivência ou multiplicação de microrganismos (ANDRADE, 2005).

O potencial para contaminação da carne com perigos químicos e microbiológicos inicia nas áreas de criação, portanto um programa adequado de segurança deve propor estratégias envolvendo o animal ainda vivo, suas condições de saúde e bem estar durante abate, a redução de disseminação de contaminação durante processamento, a temperatura, condições de armazenamento e distribuição, até chegar ao consumidor final (DESMARCHELIER *et al.*, 2007; MATARAGAS *et al.*, 2007).

As características intrínsecas das carnes, particularmente sua composição química (carne suína apresenta 42% de água, 12% de proteína e 45% de gordura) e pH próximo a neutralidade, são fatores que favorecem o desenvolvimento de uma microbiota extremamente variada. Após a morte de um animal descansado, a quantidade normal de 1% de glicogênio presente na carne é convertida em ácido láctico, o que causa a diminuição do pH de aproximadamente 7,4 para valores por volta de 5,6, fator de proteção contra o crescimento de alguns microrganismos (JAY, 2005). Os valores de pH da carne são importantes não apenas por influenciar a microbiota que pode se desenvolver no produto, como também para indicar o seu estado de conservação, a partir das considerações dos valores de referência.

Normalmente, considerando as condições ambientais e disponibilidade de certos nutrientes, as bactérias deteriorantes constituem o maior grupo de microrganismos presentes nas carnes e seus produtos, as quais levam a perda de cor, odor desagradável, formação de muco e de dióxido de carbono (MATARAGAS *et al.*, 2007).

Em linhas gerais, a microbiota da carne é constituída por bactérias psicotróficas gram-negativas não-fermentativas, dos gêneros *Pseudomonas*, *Moraxella*, *Acinetobacter* e *Shewanella*, ao lado de fermentativas da família *Enterobacteriaceae* e do gênero *Aeromonas*. Entre as gram-positivas destacam-se *Lactobacillus* sp e *Brochothrix thermosphacta* (LEITÃO, 2003).

Pseudomonas é o principal microrganismo que contribui para a deterioração da carne em aerobiose. Na carne refrigerada é selecionada pelo uso da baixa temperatura e também pela sua aptidão proteolítica. Esta atividade libera aminoácidos e sua degradação gera amônia, ácidos orgânicos e gás sulfídrico, substâncias fortemente aromáticas, sendo que o último possui limiar de percepção bastante baixo. A proteólise gera formação de muco (também causado pelo crescimento das colônias) e altera a consistência da carne. O pH da carne tende a

se alcalinizar em função dos compostos formados, o que facilita o desenvolvimento bacteriano (JAY, 2005; PORTO, 2006).

Dentre os microrganismos patogênicos que potencialmente podem estar presentes no produto final destacam-se *Salmonella* spp., *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* e *Listeria monocytogenes*, que entram nas plantas de abate a partir dos animais vivos e operários. (BIRZELE; DJORDJEVIC; KRAMER, 2005). CASTAGNA *et al.* (2004) pesquisaram a prevalência de *Salmonella* spp. em frigorífico de abate de suínos e detectaram o microrganismo em 83,33% dos animais. A prevalência média encontrada no produto final (lingüiça frescal) fabricado com matéria-prima oriunda destes animais foi de 93,94%, não havendo diferença estatística entre a prevalência de animais portadores e a encontrada no produto final.

O tipo de microbiota presente nas unidades produtoras é associado à diversidade na formulação dos produtos embutidos, e pode estar relacionada à matéria-prima utilizada ou ao ambiente de processamento. É composta por microrganismos utilizados para fermentação e deteriorantes, que podem causar mudanças negativas na aparência, odor, sabor e consistência do produto final devido a sua atividade metabólica e pode incluir alguns microrganismos patogênicos (TALON *et al.*, 2007)

Pesquisa realizada por TALON *et al.* (2007), em 54 unidades processadoras de embutidos em pequena escala do leste e sul europeu demonstrou que todas apresentavam contaminação ambiental por microrganismos deteriorantes mesmo após processo de limpeza e desinfecção, e que foram encontrados *Salmonella* (4,8%), *Listeria monocytogenes* (6,7%) e *Staphylococcus aureus* (6,1%), sendo os pontos críticos os equipamentos utilizados para corte e embutimento, paredes das câmaras frias, mesas e facas. Resultados semelhantes foram obtidos por LEBERT *et al.* (2007), que encontraram *Staphylococcus*, bactérias ácido lácticas (LAB), *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas*, fungos e leveduras, e enterococos em superfícies de unidades de processamento de embutidos na França.

Na etapa da trituração dos ingredientes, o aumento da área superficial promove a distribuição da contaminação microbiológica inicial, antes mais restrita à superfície da matéria prima, potencializando a deterioração do produto final com maior rapidez (GONÇALVES in CTC, 2003; MILANI *et al.*, 2003). Durante a moagem e mistura dos ingredientes pode ocorrer contaminação proveniente do contato da

carne com os equipamentos, utensílios e pessoal, ou da adição da matéria-prima ou aditivos contaminados (ORDONEZ *et al.*, 2005).

Os condimentos adicionados também podem ser contaminados na origem, estocagem, transporte ou durante manipulação, por esporos, fungos, leveduras, enterobactérias e bactérias patogênicas como *Salmonella* sp., assim como por insetos. A perda de qualidade se traduz por diminuição das propriedades sensoriais de cor, odor e sabor (GERMANO; GERMANO, M., 2003; ZOCHE *et al.*, 2003; MOREIRA; RALL; PINTO, 2005), além de tornar o produto perigoso à saúde do consumidor.

Os envoltórios naturais utilizados para proteger os embutidos frescos das influências externas, dar forma e estabilidade são provenientes dos intestinos de animais, principalmente suínos. Tendo em vista o elevado grau de contaminação inicial (aproximadamente 10 log UFC/g) por microrganismos patogênicos e saprófitas, devem ser aplicados cuidados higiênico-sanitários intensos no momento do seu beneficiamento e utilização (PARDI *et al.*, 1996). JAY (2005) afirma que dentre os ingredientes da lingüiça fresca suína, os envoltórios têm demonstrado conter um maior número de bactérias.

Devem ser seguidos também procedimentos de higiene relacionados à manipulação da massa durante o embutimento, evitando contaminação cruzada (PARDI *et al.*, 1996).

2.2.2 Influência da temperatura na contaminação microbiológica

A temperatura parece ser o fator mais importante que influencia a deterioração ou a segurança microbiológica da carne. Um ponto importante da distribuição e consumo da carne fresca e de seus produtos é o efetivo monitoramento das condições de tempo/temperatura do processo, que afetam tanto a segurança como a qualidade. Produtos cárneos, a menos que apropriadamente embalados, transportados e armazenados, deterioram em um tempo relativamente curto (NYCHAS *et al.*, 2008).

O risco potencial, o prazo de validade e a qualidade final dos produtos processados resfriados e embalados seguindo as normas de boas práticas de processamento e de higiene são determinados pelas condições de temperatura em

toda a cadeia de frio (NYCHAS *et al.*, 2008). Conseqüentemente, durante o processamento e armazenamento devem ser criadas condições desfavoráveis à sobrevivência e crescimento de contaminantes (BROMBERG, 1998).

Vários estágios da cadeia de frio, como veículos de transporte, pontos de transferência ou salas de estocagem representam o ponto fraco da cadeia de perecíveis. Existem ainda etapas que estão fora do controle direto do produtor e que freqüentemente desviam das especificações, que são o transporte e distribuição final dos produtos. Varejistas nem sempre conseguem manter adequada a cadeia de frio, o que acarreta um aumento dos riscos microbiológicos para produtos cárneos (VANDERDRIESSCHE, 2008).

MURMANN, SANTOS e CARDOSO (2007), demonstraram que o crescimento de três sorovares de *Salmonella* spp em lingüiça frescal foi influenciado pela temperatura de armazenamento do produto. Quando mantida à temperatura ambiente, num período entre 6 a 8 horas houve multiplicação significativa do patógeno (10^5 a 10^7 UFC/g), enquanto sob refrigeração entre 6°C a 11°C a quantidade inoculada inicialmente manteve-se constante por 30 dias.

SOUSA, FARIA e NEVES (2003) avaliaram a adequação das temperaturas de armazenamento e exposição de embutidos em Belém-PA, e detectaram que as câmaras frias apresentavam temperaturas adequadas, porém os balcões refrigerados apresentaram temperaturas acima da máxima permitida (10°C), evidenciando a necessidade de monitoramento e de regulagem dos mesmos para manutenção da segurança microbiológica e prazo de validade do produto.

SALVATORI, BESSA e CARDOSO (2003) pesquisaram embutidos frescos (70 amostras de lingüiças cruas e similares) coletados no Mercado Público da cidade de Porto Alegre (RS), em relação a coliformes totais, fecais e *Escherichia coli*. Cinco das amostras que encontravam-se fora de refrigeração no momento da coleta apresentaram contagens superiores às da legislação vigente para coliformes fecais.

Há evidências de que o controle apresenta-se totalmente falho no trajeto entre o mercado e residências, no armazenamento em domicílio, e também durante o preparo até o consumo, demonstrando a necessidade de ações educativas direcionadas aos consumidores (NYCHAS *et al.*, 2008). Isto é comprovado em pesquisa realizada por PATTRON (2006), em Trinidad, onde os consumidores afirmaram que após a compra, os alimentos perecíveis eram freqüentemente transportados em carros de passeio sem embalagens isotérmicas ou refrigeradas, e

permaneciam em média 4,2 horas fora de refrigeração. Quando questionados sobre a temperatura ideal de refrigeração e de congelamento, a maioria dos entrevistados não soube responder ou respondeu incorretamente.

Com o objetivo de garantir alimentos íntegros e seguros ao consumidor, o Governo Federal exige que os produtores, indústrias de processamento, fornecedores, restaurantes e estabelecimentos que manipulam alimentos implantem o Sistema APPCC. A regulamentação estabelece que o produtor ou indústria de alimentos de origem animal deve implantar procedimentos técnicos referentes ao controle de qualidade, higiene e segurança do produto, instalações, água, pragas, equipamentos e utensílios, manipulador, armazenamento, transporte e embalagem, as chamadas Boas Práticas de Fabricação (BPF), registradas em Manual específico para garantir a segurança do produto (BRASIL, 1993; BRASIL, 1997; BRASIL, 1998).

2.2.3 *Staphylococcus aureus*

As bactérias do gênero *Staphylococcus* são cocos Gram-positivos, pertencentes à família Staphylococcaceae e por dividirem-se em planos diferentes, quando vistos ao microscópio aparecem na forma de cacho de uva. São anaeróbias facultativas, com maior desenvolvimento sob condições aeróbias, quando produzem catalase. Apresentam temperatura de crescimento na faixa de 7°C a 47,8°C, sendo as enterotoxinas produzidas entre 10°C e 46°C, com ótimo entre 40°C e 45°C. Em geral, quanto menor a temperatura, maior o tempo para produção de enterotoxina (JAY, 2005).

Este grupo é tolerante a concentrações de 10% a 20% de NaCl, e o valor mínimo de atividade de água (Aa) considerado é de 0,86 apesar de, sob condições ideais, já ter sido observado o crescimento em Aa de 0,83, mas não a produção de enterotoxina (JAY, 2005). Crescem na faixa de pH de 4 a 9,8, com ótimo entre 6 e 7. Assim como para os outros parâmetros, o valor mínimo de pH necessário para o crescimento depende do quão próximo das condições ideais estão os demais fatores do meio (JAY, 2005; FRANCO; LANDGRAF, 2005).

O gênero *Staphylococcus* inclui mais de 30 espécies, e embora a produção de enterotoxinas esteja normalmente associada a *S. aureus* coagulase e

termonuclease (TNase) positivos, algumas espécies de estafilococos que não produzem nenhuma dessas enzimas também podem produzir enterotoxinas, porém pouca informação é disponível sobre surtos causados por espécies coagulase negativa (CARMO *et al.*, 2003; JAY, 2005).

As enterotoxinas são proteínas de cadeia curta secretadas no meio, solúveis em água e soluções salinas, ricas em lisina, ácido aspártico, glutâmico e resíduos de tirosina, e a maioria possui uma cisteína, requerida para conformação apropriada e provavelmente responsável pela atividade emética. Elas são altamente estáveis ao calor e resistentes à maioria das enzimas proteolíticas como pepsina e tripsina, e exercem sua atividade no trato digestivo, após ingestão do alimento. Atualmente vários grupos de enterotoxinas com diferentes características são reconhecidas, sendo a maioria dos surtos provocados pelas A e D (LE LOIR *et al.*, 2003; JAY, 2005).

Os *S. aureus* são os principais microrganismos implicados em surtos de DTA, e são transmitidos aos alimentos principalmente pelo homem e por condições inadequadas de higiene, que permitem contaminações cruzadas por contato com equipamentos, utensílios e matéria-prima. A frequência de portadores de *S. aureus* é relativamente alta e pode constituir-se em elemento importante na cadeia epidemiológica da intoxicação alimentar estafilocócica, desde que ocorra infecção por *S. aureus* produtor de enterotoxina (IARIA; FURLANETTO; CAMPOS, 1980). A partir de portadores o *S. aureus* pode, por vários mecanismos, atingir o ambiente, vestimentas, mobiliário, utensílios e equipamentos, assim como os alimentos, direta ou indiretamente. Deve-se ainda considerar que os animais domésticos também podem albergar o *S. aureus*, constituindo-se em possíveis fontes de contaminação de alimentos (IARIA, 1981)

DESMARCHELIER (2007) estudou a incidência de *S. coagulase* positiva no processamento de carne bovina na Austrália, e demonstrou que durante o abate, entre 20% a 68% das amostras apresentavam o microrganismo. A incidência diminuiu imediatamente após a evisceração (6,5 a 16,7%), embora tenha aumentado para 46% a 83% após resfriamento entre 10 a 12°C por 72 horas. O número de *Staphylococcus* aumentou de menos de 50 UFC/cm² para até 112 UFC/cm² após resfriamento. As mãos dos manipuladores e os lavadores de bota nos pontos de evisceração também estavam contaminados.

A gastroenterite estafilocócica é causada pela ingestão de alimentos que contenham uma ou mais enterotoxinas, e tanto o período de incubação da intoxicação como a severidade dos sintomas dependem da quantidade de enterotoxina ingerida e da suscetibilidade do indivíduo, variando de trinta minutos a oito horas (CUNHA NETO; SILVA; STANFORD, 2002). Níveis de enterotoxina entre 0,01 a 0,4 µg por grama do alimento são suficientes para provocar a intoxicação, afetando indivíduos mais sensíveis, e são alcançados quando o número de células contaminantes ultrapassa 5 log UFC/g (JAY, 2005).

Os principais sintomas da doença são náuseas, vômito e dores abdominais bastante severas, tendo duração aproximada de 2 a 24 horas após a ingestão do alimento, mas a intoxicação raramente é fatal (FRANCO; LANDGRAF, 2006).

A maioria das carnes curadas contém apenas 3 a 6% de sal na fase aquosa, o que as constitui um ambiente adequado à produção de enterotoxinas estafilocócicas, caso ocorra oxigênio em quantidade suficiente. Nos produtos que sofrem processamento térmico, o *S. aureus* é destruído facilmente pelo calor, e nos crus, as condições anaeróbicas do interior da massa constituem um sistema inibidor do seu crescimento e toxigênese (ICMSF, 1985).

2.3 NITRITOS E NITRATOS

A química dos nitritos e nitratos de potássio ou de sódio (conservadores 249, 250, 251 e 252, respectivamente) em carnes curadas é uma mistura extremamente complexa de reações químicas que envolvem vários diferentes reagentes.

O nitrito é considerado vital no processo de cura da carne devido a sua contribuição para as transformações responsáveis pelas características próprias destes produtos. Ele é eficiente na prevenção do botulismo e tem outras propriedades bacteriostáticas que asseguram a qualidade microbiológica do produto, leva ao retardo da oxidação lipídica, dá o sabor e aroma característicos das carnes curadas, e promove a fixação da cor dos pigmentos cárneos, resultando na coloração “rosa” característica (ROMANS *et al.*, 1994).

Os efeitos podem ser obtidos utilizando-se nitrito ou nitrato de sódio ou de potássio puros ou associados ao sal comum e outras substâncias, como sal de cura (LUCK; JAGER, 2000). Certa quantidade de nitrato é convertida a nitrito pela ação

de bactérias durante processos longos de cura, porém com os processos rápidos atuais, o nitrito é adicionado diretamente à massa (ROMANS *et al.*, 1994).

Historicamente sabe-se que o nitrato estava presente como um contaminante natural do sal usado na cura. Produtores descobriram que o sal proveniente de certas áreas da Europa produzia lingüiças de qualidade superior, entretanto não sabiam que era devido a uma contaminação do sal por esta substância (LUCK; JAGER, 2000).

O nitrato foi usado por séculos na cura de carnes e peixes com o objetivo de preservar o produto contra contaminação, sendo esta ação associada à redução da atividade de água. No século XIX, descobriu-se que não era o sal puro (NaCl) que produzia a cor de curado associada ao processo de salga e conferia a ação conservante, mas sim os nitratos de sódio e de potássio (salitre) presentes como contaminantes em sais não purificados utilizados no processo. Em 1899 houve a confirmação de que a coloração característica dos produtos era resultado de reação sofrida pelo nitrito (NO_2^-) e não pelo nitrato (NO_3^-), e sua estabilidade ao calor foi demonstrada. Só no século XX (1901) o mecanismo de formação da cor pela combinação do óxido de nitrogênio (NO) com o pigmento da carne (mioglobina) foi elucidado, e estudos concluíram que era o ácido nitroso (HNO_2) ou um metabólito como o NO (óxido nítrico) que reagia com a mioglobina no processo de coloração da carne. Estes pesquisadores descobriram que o nitrato se convertia em nitrito pela ação microbiana, e que a adição direta de nitritos eliminaria a necessidade desta fase, tornando o processo de cura mais rápido e controlável (HONIKEL, 2008; LUCK; JAGER, 2000; PRICE; SCHWEIGERT, 1994; ROMANS *et al.*, 1994).

O poder inibidor do nitrito frente às bactérias foi descrito primeiramente em 1929, e na década de 40 foi estabelecido indiscutivelmente, assim como, no mesmo período foi demonstrada a existência de um sabor característico associado ao nitrito nos produtos curados (GIRARD, 1991).

Entre os anos de 1960 e 1970, concomitante ao aumento da utilização dos nitratos e nitritos, iniciaram-se discussões sobre os problemas de toxicidade provocados principalmente pela formação de compostos carcinogênicos denominados nitrosaminas, decorrentes da concentração residual de nitrito nos produtos, e foram impostos controles ao seu uso (PEGG; SHAHIDI, 2004).

2.3.1 Química do nitrito e nitrato

O nitrito é um composto altamente reativo que pode funcionar como agente oxidante, redutor ou nitrosilante, e pode ser convertido em uma variedade de compostos na carne incluindo ácido nitroso, óxido nítrico e nitrato (SEBRANEK; BACUS, 2007).

Conforme esquematizado na FIGURA 1, o nitrato (NO_3^-) deve ser inicialmente reduzido a nitrito (NO_2^-) pela ação de bactérias (*Achromobacter*, *Micrococcus*, *Lactobacillus* ou *Staphylococcus*), em meio ácido, para participar dos processos de cura de carnes (CASSENS *et al.*, 1979).

A temperatura ótima para ação destes microrganismos fica em torno de 8°C a 10°C, por isso é necessária maturação do produto a estas temperaturas, o que pode levar à multiplicação de bactérias deteriorantes ou patogênicas (HONIKEL, 2008). Por esta razão, e também para controle das concentrações residuais de nitrito, a adição de nitrato foi eliminada da maioria dos produtos curados, sendo utilizado apenas no processamento de produtos que possuem cura longa e necessitam de reservas a longo prazo (SEBRANEK; BACUS, 2007).

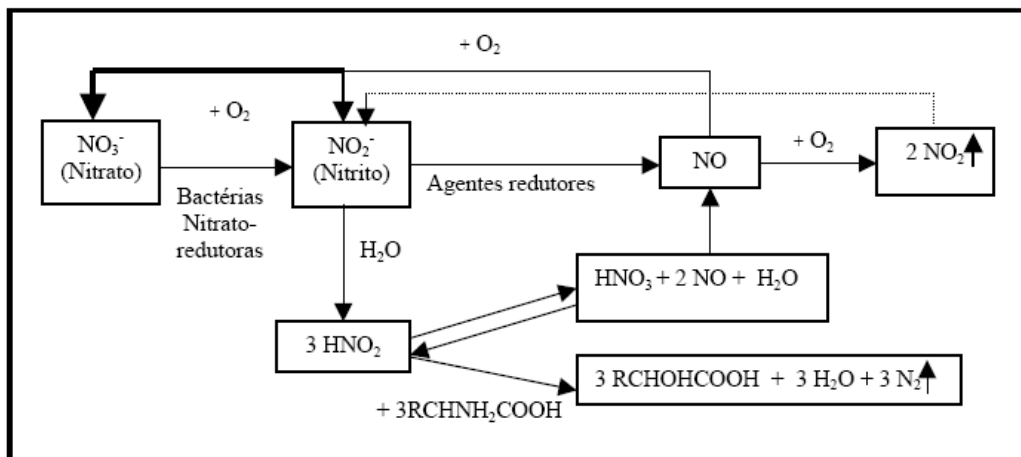


FIGURA 1 - REAÇÕES REDOX ENVOLVENDO O NITRITO
 FONTE: PRICE; SCHWEIGERT(1994)

O nitrito em meio ácido dá origem ao ácido nitroso (HNO_2), que pode formar seu anidrido (N_2O_3) o qual se desdobra em dois óxidos, o dióxido de nitrogênio (NO_2) e óxido nítrico (NO). O NO reage com a mioglobina e/ou com grupos SH de

aminoácidos, enquanto o NO_2 reage com a água formando novamente uma molécula de ácido nitroso (HNO_2) e uma molécula de ácido nítrico (HNO_3) (HONIKEL, 2008).

A passagem do nitrito a ácido nitroso é facilitada quando em pH ácido por isso, nas curas rápidas para lingüiça é prática corrente a adição do ácido ascórbico, na forma de isoascorbato ou eritorbato (TERRA, 1998). HONIKEL (2008) cita que a adição destes agentes também previne a formação de nitrosaminas, possivelmente pela redução do nitrito residual decorrente de sua ligação com o mesmo, ou pela ligação com o NO, tornando-o indisponível para outras reações.

2.3.2 Efeitos dos sais de cura sobre a microbiota das carnes curadas

Da década de 1920 a 1940, muitas pesquisas relacionadas aos efeitos antimicrobianos do nitrito foram realizadas. Foi demonstrado que o nitrito tinha a capacidade de inibir bactérias anaeróbias e exercer a bacteriostase sobre bactérias associadas a carne de peixes como *Achromobacter*, *Aerobacter*, *Escherichia*, *Flavobacterium*, *Micrococcus* e *Pseudomonas*, e ainda *Enterobacter*, *Escherichia* e *Moraxella* (ARCHER, 2002).

Nas concentrações e condições normalmente utilizadas, os sais de cura não causam uma destruição bacteriana rápida, mas reduzem ou previnem o crescimento dos microrganismos prejudiciais em produtos que não são tratados pelo calor, e dos termotolerantes não esporulados dos produtos pasteurizados, e evitam o desenvolvimento dos esporos que sobrevivem ao tratamento térmico aplicado a certos produtos curados (ICMSF, 1985).

LUCK & JAGER (2000) descrevem que a ação inibidora dos sais de cura sobre os microrganismos pode ocorrer de diferentes formas. Os óxidos de nitrogênio podem agir sobre os grupos amino do sistema desidrogenase das células microbianas; podem exercer ação específica sobre enzimas bacterianas que catalisam a degradação da glicose, dificultando seu metabolismo; ou reagir com hemoproteínas, como citocromos e enzimas SH inibindo o crescimento dos microrganismos.

O efeito antibacteriano do nitrito é multifatorial e envolve a interação com fatores como concentração de NaCl, pH, tratamento térmico, inóculo inicial,

quantidade de esporos, nível original e residual no produto, abuso de temperatura, teor de eritorbato ou ascorbato, teores de ferro disponíveis no produto, tipo de carne, ingredientes adicionados, dentre outros (ROBINSON; GIBSON; ROBERTS, 1982; ARCHER, 2002; MASSAGUER, 2005; TRINDADE *et al.*, 2008).

A interação do nitrito e pH reduzido frente a bactérias está bem estabelecida. O efeito bacteriostático do nitrito aumenta dez vezes quando ocorre baixa de uma unidade de pH, atingindo a ação máxima em pH em torno de 5 (ICMSF, 1985). MASSAGUER (2005) descreve que este efeito está relacionado à concentração da forma não dissociada do ácido nitroso, a qual aumenta conforme ocorre redução do pH.

O nitrito mostra-se mais inibidor em condições anaeróbias, e o ascorbato e isoascorbato ressaltam a sua ação, provavelmente atuando como agentes redutores (DOYLE; BEUCHAT; MONTVILLE, 2001).

O principal organismo a ser eliminado quando se utiliza nitrito como conservante é o *Clostridium botulinum*, devido à letalidade de sua toxina, capacidade de desenvolvimento em ambientes anaeróbios e resistência térmica dos seus esporos (GIRARD, 1991). Os esporos botulínicos são encontrados em grande variedade de carnes, porém são inofensivos quando permanecem desta forma. Entretanto, durante o processo de produção dos embutidos devido à redução na concentração de oxigênio e à baixa acidez, os esporos podem passar à forma vegetativa e estas, provocar doenças (ICMSF, 1985).

Nestes produtos, o nitrito inibe a emergência das células vegetativas de esporos sobreviventes e previne a divisão celular naquelas que conseguem emergir, porém apenas quantidades muito altas de nitrito inibem significativamente a germinação dos esporos (DOYLE; BEUCHAT; MONTVILLE, 2001). Segundo LUCK & JAGER (2000), o efeito bacteriostático sobre o *C. botulinum* aumenta aproximadamente dez vezes se o produto sofrer processamento térmico, mas as causas deste efeito não foram completamente esclarecidas.

As propriedades antimicrobianas do nitrito já foram avaliadas em relação a outros microrganismos, e alguns autores demonstraram sua ação sobre *Staphylococcus aureus* (dependente do pH), *Salmonella* sp. e *E. coli* O157 (JAY, 2000; ARCHER, 2002). VIGNOLO *et al.* (1998) demonstraram que a redução na população de *Listeria monocytogenes* foi pequena, mesmo utilizando concentrações do sal de 400 ou 800 ppm, sugerindo que há um grande potencial de crescimento

para este patógeno em produtos durante o processo de cura. AMIN & OLIVEIRA (2006) demonstraram em pesquisa realizada com lingüiça bovina, que o *Clostridium perfringens* tipo A apresentou ausência de crescimento em amostras formuladas com nitrito e nitrato de sódio (0,02%) até 44 dias, enquanto na amostra controle, onde os aditivos não foram adicionados, apresentou crescimento variável, até 10^3 UFC/25g.

De acordo com a Resolução RDC 12/2001, para que a lingüiça frescal seja considerada própria para consumo não devem ser ultrapassados os seguintes padrões microbiológicos: 5×10^3 UFC/g de coliformes a 45°C, 5×10^3 UFC/g de Estafilococos coagulase positiva, 3×10^3 UFC/g de *Clostridium* sulfito redutor a 46°C, e ausência de *Salmonella* em 25 g (BRASIL, 2001).

2.3.3 Efeitos dos sais de cura na cor da carne curada

A cor dos produtos curados depende das modificações químicas que ocorrem entre os pigmentos naturais da carne e suas reações com o cloreto de sódio e sais de cura (nitritos e/ou nitratos). Nitrosomioglobina (NOMB) é formada durante este processo, dando ao produto sua coloração característica, quando a carne é tratada com nitrato, nitrito ou óxidos de nitrogênio, sendo o óxido nítrico (NO) o componente ativo da reação (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 oxidação-redução, distribuição do agente de cura, temperatura, umidade, entre outros (CHASCO; LIZASO; BERIAIN, 1996).

Nos procedimentos de cura comerciais o óxido nítrico é produzido pela redução do nitrato ou nitrito. Se o nitrito é adicionado diretamente a cor se desenvolve mais rapidamente, o que é vantajoso nos processos comerciais de cura rápida (FORREST, 1979).

A composição da cura tem um efeito pronunciado sobre os compostos voláteis na lingüiça, e um melhor desenvolvimento da cor tem sido atribuído ao uso do nitrato em comparação ao nitrito. Quase todos os compostos originários da degradação das cadeias ramificadas de aminoácidos (leucina, isoleucina e valina)

têm concentração mais alta na lingüiça formulada com nitrato comparada àquela onde foi utilizado o nitrito. O ascorbato é freqüentemente adicionado ao nitrito para aumentar a velocidade do desenvolvimento da cor (OLESEN; STAHNKE; TALON, 2004).

No músculo existe grande número de pigmentos, contudo a mioglobina é o mais abundante e seu estado é, em grande parte, responsável pela cor da carne (ORDONEZ *et al.*, 2005).

Na mioglobina fisiologicamente funcional, o ferro do grupo heme está no estado ferroso (Fe^{2+}) e pode fazer seis ligações coordenadas, quatro com os grupos pirrólicos do anel porfirínico heme, e uma quinta com o resíduo da molécula de proteína, para conectar o grupo prostético. O tamanho das moléculas que podem acessar e reagir com o ferro heme na última ligação é limitado, assim, a mioglobina reagirá somente com pequenos ligantes, tais como o oxigênio, quando origina a oximioglobina, pigmento vermelho brilhante. A forma não-oxigenada da proteína é de cor púrpura opaca (HONIKEL, 2008).

A interconversão entre as duas formas é rápida e dependente da pressão parcial de oxigênio à qual a mioglobina está exposta. Na concentração de oxigênio do ar, a oximioglobina é a forma predominante (HONIKEL, 2008)

O ferro heme da hemoglobina pode também ser convertido para o estado férrico (Fe^{3+}) através da oxidação por O_2 ou nitrito, formando metamioglobina, que tem cor marrom escuro. Mioglobina, oximioglobina e metamioglobina ocorrem juntas na carne, e a conversão de mioglobina para metamioglobina envolve a transferência de um elétron do ferro heme para um agente oxidante. Esta reação pode ocorrer rapidamente. Na oximioglobina os elétrons da órbita externa do ferro heme estão envolvidos nas ligações coordenadas, indisponíveis para participar das reações de transferência de elétrons, conseqüentemente, esta é resistente à oxidação. (PRICE; SCHWEIGERT, 1994).

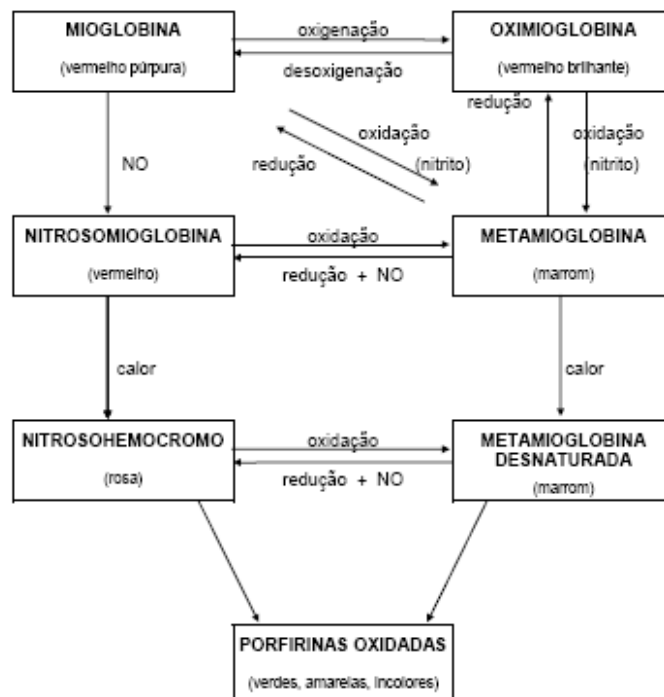


FIGURA 2 – MUDANÇAS QUÍMICAS DA MIOGLOBINA DURANTE A REAÇÃO DE CURA
 FONTE: PRICE; SCHWEIGERT (1994)

Conforme esquematizado na FIGURA 2, o primeiro passo da formação do pigmento que dá a coloração à carne curada é a oxidação da mioglobina a oximioglobina pela ação dos nitritos levando à formação de metamioglobina, com a simultânea redução de nitrito a óxido nítrico (NO). Posteriormente o óxido nítrico une-se à metamioglobina formando uma substância intermediária (nitrosometamioglobina), que sofre oxidação muito rápida originando o cátion nitrosomioglobina (NOMB), pigmento de cor avermelhada presente na carne curada sem ação do calor. Este pigmento é instável em presença do oxigênio e pode oxidar formando nitrosometamioglobina, porém quando em contato com o calor transforma-se em nitrosohemocromo, responsável pela coloração rosa característica dos produtos curados após cocção, estável ao calor, porém instável à luz e oxidações (ORDONEZ *et al.*, 2005). Durante a cocção a proteína é desnaturada, porém o pigmento nitrosohemocromo ainda existe e é encontrado em produtos cárneos cozidos a até 120°C (HONIKEL, 2008).

A cor final do produto curado depende da mistura de quantidades convenientes dos sais de cura com a mioglobina existente na carne, portanto a diminuição na quantidade de carne utilizada na fabricação de embutido buscando

reduzir custos de fabricação significa falta de mioglobina necessitando de uma suplementação através do uso de sangue estabilizado (hemoglobina) ou corante natural (bio-red, carmim de cochonilha) (TERRA, 1998). HEATON *et al.* (2000), promoveram a análise sensorial de produtos suínos curados com diferentes concentrações de nitrito, e descrevem que as mudanças na coloração foram distinguidas em concentrações tão baixas como 4 ppm.

Carnes curadas devem ser embaladas em filmes opacos de baixa permeabilidade ao oxigênio se a cor do produto tiver que ser mantida por período extenso. A adição de antioxidantes e o uso de 150 ppm concentrações de nitrito podem também melhorar a estabilidade da cor (PRICE; SCHWEIGERT, 1994).

2.3.4 Efeitos dos sais de cura no sabor das carnes curadas

O sabor é um atributo muito complexo da palatabilidade da carne. Existem centenas de componentes que contribuem para o sabor e aroma do produto, muitos dos quais podem ser alterados em função da estocagem e cocção (CALKINS; HODGEN, 2007).

Desde o primeiro estudo realizado em 1940, que estabelecia uma diferença de sabor relacionada à utilização do nitrito, vários outros trabalhos confirmaram a existência de um sabor especial diferente do correspondente à carne tratada apenas com cloreto de sódio (GIRARD, 1991).

O aroma de curado deve-se a uma diversidade de reações dos constituintes cárneos com os nitritos e óxido nítrico. De acordo com OLESEN, STAHNKE e TALON (2004) as principais reações ocorrem na degradação das cadeias ramificadas de aminoácidos tais como leucina, isoleucina e valina, originando substâncias de sabor intenso, identificadas como alcoóis, aldeídos, inosina, hipoxantina e, em particular, compostos sulfurados.

MARCO, NAVARRO e FLORES (2006) afirmam que a cura rápida resulta em perda das características sensoriais do produto final, especialmente relacionadas ao aroma e gosto do produto, conseqüentemente a utilização do nitrato incrementa a formação do sabor do produto, quando comparado ao nitrito. Os autores verificaram que a análise sensorial realizada no 105º dia de fabricação de lingüiças fermentadas formuladas com apenas nitrito ou nitrato não mostrou diferenças significativas com

respeito a cor e qualidade, mas uma pequena diferença foi notada em relação ao aroma, mostrando a preferência pela formulação feita com nitrato.

2.3.5 Efeito antioxidante dos sais de cura

Os lipídios são importantes componentes dos produtos cárneos, conferindo características desejáveis de suculência, aroma, sabor, valor nutricional e propriedades tecnológicas. Contudo, são facilmente oxidáveis, levando a rancificação, com a produção de toxinas indesejáveis e comprometendo a vida útil e qualidade dos produtos, provocando perdas de vitaminas e aminoácidos essenciais, cor, sabor, odor e textura, (AGUIRREZÁBAL, 2000; TERRA, 2006).

Os principais fatores que influenciam na perda da qualidade da carne através da oxidação lipídica incluem a composição de fosfolipídios, o teor de ácidos graxos poliinsaturados, presença de íons de metais leves, ação do oxigênio, concentração de pigmentos heme, processos mecânicos (moagem, mistura, corte e desossa) e adição de sal, além das várias formas de energia (luz e calor). Estes fatores contribuem com a produção de radicais livres que interagem com os compostos do grupo heme, como consequência, registra-se a redução do prazo comercial desses produtos (MARCHESI *et al.*, 2006).

Diversos produtos cárneos processados são particularmente suscetíveis à rancidez oxidativa devido à exposição ao oxigênio e/ou elevadas temperaturas durante o processamento, incluindo lingüiça fresca, produtos cozidos e embutidos desidratados. Fontes de carne com maior proporção de gorduras insaturadas como carne suína e de frango, são particularmente suscetíveis (SEBRANEK *et al.*, 2005).

Vários antioxidantes sintéticos têm sido utilizados para retardar o desenvolvimento da rancidez nestes produtos, e desta forma, aumentar seu prazo comercial, entre eles, os nitritos (AGUIRREZÁBAL, 2000). A molécula de óxido nítrico (NO), formada pela dissociação do ácido nitroso (HNO₂) pode ser facilmente oxidada a NO₂ em presença de oxigênio agindo como seqüestrante, o que explica a ação antioxidante do nitrito. Desta forma, com a deficiência de oxigênio livre no meio, também é retardada a reação de desenvolvimento da rancidez (HONIKEL, 2008). O nitrito liga-se também a substâncias oxidáveis do produto, como o ferro, com a mesma função (ICMSF, 1985)

O nitrito age como antioxidante, reduzindo a oxidação quando adicionado em doses iguais ou superiores a 50 ppm. Numerosos autores demonstraram valores de TBA mais baixos, mantendo os demais fatores, em produtos tratados com nitrito (GIRARD, 1991; AGUIRREZÁBAL, 2000; TRINDADE *et al.*, 2008). BOZKURT & ERKMEN (2007) demonstraram que a adição de nitrito/nitrato (150/300ppm) diminuiu os valores de TBARS em lingüiças fermentadas em relação ao controle (sem aditivos). O eritorbato apresenta um forte efeito antioxidante, prevenindo o desenvolvimento de rancidez oxidativa, quando aplicado em concentrações acima de 100 ppm, sendo que em concentrações mais baixas pode acelerar o desenvolvimento da mesma (BOZKURT; ERKMEN, 2007).

2.3.6 Efeitos tóxicos dos sais de cura

A segurança da utilização de nitratos e nitritos na cura de carnes tem sido discutida, principalmente em relação à toxicidade química, formação de compostos carcinogênicos nos alimentos ou no organismo humano, toxicidade reprodutiva, anomalias fetais e metahemoglobinemia em crianças. Contudo, estudos epidemiológicos mostram que nenhum destes aspectos representa preocupação se os limites legais de sais de cura forem utilizados na formulação e controlados no produto final (ARCHER, 2002; SEBRANEK; BACUN, 2007; PAIXÃO; CARDOSO; BERTOTTI, 2007).

O nitrito no sangue pode ter origem endógena e exógena. Na endógena, o óxido nítrico é produzido através da síntese enzimática e tem efeitos fisiológicos na regulação da pressão sanguínea, resposta imune, reparação de tecidos, e função neurológica (ARCHER, 2002). Ocorre também a formação endógena na cavidade oral através da nitrificação bacteriana quando o nitrato é convertido a nitrito na boca, sendo um importante mecanismo de resistência contra doenças infecciosas (MAGRA; BLOUKAS; FISTA, 2006). As fontes exógenas são provenientes dos alimentos e água, e embora o nitrito seja ingerido pelo homem como aditivo, apenas 4,8% do total vem dos produtos curados e 2,2% dos vegetais, os outros 92% resultam do ciclo salivar (ARCHER, 2002).

O N_2O_3 (anidrido nitroso) resultante da reação do nitrito no processo de cura origina o óxido nitroso, que pode reagir com aminas secundárias existentes em

grandes quantidades na carne fresca e em alimentos que possuem alto teor de proteínas. Esta reação ocorre a altas temperaturas (acima de 130°C) e origina compostos N-nitrosos, especialmente nitrosaminas que, segundo alguns estudos, apresentam efeitos neuro e nefrotóxicos, mutagênicos, e carcinogênicos. A reação pode ocorrer também no estômago com aminas secundárias, originando nitrosaminas, ou com as primárias que são instáveis e imediatamente degradadas a gás nitrogênio e álcool (PENNINGTON, 1998; JAFARI; EMAN-DJOMEH, 2006; HONIKEL, 2008).

Nos produtos curados frescos a concentração residual de NO é baixa, pela ausência de processamento térmico, portanto a formação de nitrosaminas é insignificante. Mas quando fritos, grelhados ou utilizados em coberturas de pizza podem originar este composto (HONIKEL, 2008). A utilização de ascorbatos (ácido ascórbico, ascorbato de sódio, ácido eritórbitico ou eritorbato de sódio) pela indústria processadora de carne inibe a reação de nitrosação que resulta na formação de aminas carcinogênicas (BORCHERT; CASSENS, 1998).

BORCHERT & CASSENS (1998) descrevem o texto sobre toxicologia médica escrito por Ellenhorn and Barceloux em 1988, no qual a dose estimada letal de nitrito é de 1 g (14 mg/kg). Os sinais e sintomas do envenenamento por nitrito incluem cianose intensa, náusea, vertigem, vômito, colapso, espasmo abdominal, taquicardia, taquipnéia, coma, convulsões e morte.

A avaliação periódica dos teores de nitratos e nitritos em alimentos deve ser realizada a fim de que a Ingestão Diária Aceitável (IDA) não seja ultrapassada, o que pode colocar em risco a população. Os valores de IDA para nitratos e nitritos preconizados no Brasil e em todo Mercosul, são os mesmos da FAO/OMS, ou seja, 0,06 mg/kg/dia de nitrito (como íon) e de 3,7 mg/kg/dia para nitrato, ressaltando que a IDA não deve ser aplicada às crianças menores de 3 meses de idade, e que alimentos destinados às crianças com menos de 6 meses de idade não podem conter nitrito como aditivo. (WHO, 1996).

2.3.7 Nitrito e nitrato residual em produtos curados

O nitrito adicionado à carne com o propósito de cura pode ser parcialmente detectado no produto final como nitrito residual, pois certas quantidades são

combinadas com pigmento ou sofrem outras reações durante o processamento. A quantidade detectável diminui rapidamente, pois o nitrito residual é grandemente reduzido pelo calor e continua a decrescer durante subsequente armazenamento dos produtos curados (CASSENS *et al.*, 1979; ICMSF, 1985; RODRÍGUES; BOSCH; MATA, 1996).

Fatores que influenciam o nível de nitrito detectado no final do processo são o tempo e temperatura; quantidade de proteína, gordura e carboidrato; concentração de sal; concentração de nitrato; número e tipo de microrganismos, e acidez do meio (CASSENS *et al.*, 1979). Quanto maior a temperatura do processamento térmico, maiores as perdas de nitrito, e menor a formação de nitrato no produto. Foi também detectado que altos níveis de pH retardam o desaparecimento de nitrito e nitrato (HONIKEL, 2008).

BIRZELE, DJORDJEVIC e KRAMER (2005) demonstraram que a adição de concentrações de nitrito de 0,5% e 0,9%, na formulação de lingüiça frescal, resultou em concentração residual que nunca excedeu 53 mg/kg do produto, e que com nove dias de armazenamento o nitrito já estava quase que completamente decomposto. De forma geral, as carnes no mercado têm um conteúdo residual de nitrito em torno de 10 ppm (BORCHERT; CASSENS, 1998).

HONIKEL (2008) cita que com vinte dias de armazenamento sob refrigeração, as concentrações de nitrito diminuem para um terço da adicionada, e o desaparecimento continua até 60 dias de armazenamento refrigerado. A concentração de nitrato também é reduzida com o tempo de armazenamento.

2.3.8 Regulamentação

Todas as regulamentações levam em conta que o nitrito é uma substância tóxica e que diferentemente de outros aditivos não permanece imutável no produto durante processamento. Observam ainda que o nitrato é apenas efetivo após ser reduzido a nitrito, o que ocorre apenas em produtos que não sofrem processamento térmico logo após manufatura, ou seja, produtos crus (alguns tipos de presunto e lingüiça). A ingestão de nitrito e nitrato deve ser limitada aos requerimentos mínimos necessários (HONIKEL, 2008).

O limite de nitrito e nitrato como aditivo alimentar depende, em particular, do produto alimentício e da legislação vigente de cada país. Em geral, é permitido adicionar aos produtos cárneos não cozidos 150 mg nitrito/kg mais 150 mg de nitrato/kg, ou seja, o máximo de 300 mg de nitrito e nitrato/kg (HONIKEL, 2008).

Concentrações entre 25 a 50 ppm de nitrito são suficientes para manter estável a cor das carnes curadas (GIRARD, 1991; ORDONEZ *et al.*, 2005), a quantidade de nitritos requerida para produzir aroma de curado típico em um produto cárneo é de 20 a 50 ppm (GIRARD, 1991). Em combinações adequadas de pH, temperatura e concentração de NaCl, entre 80 e 150 ppm de nitrito são suficientes para provocar efeitos antimicrobianos em *C. botulinum* (JAFAR; EMAM-DJOMEH, 2006; SEBRANEK; BACUN, 2007).

A legislação americana limita a adição de 200 ppm de nitrito de sódio, e 500 ppm de nitrato de sódio no produto final de carne e seus produtos (US, 2007). O governo canadense determina que a adição de nitritos e nitratos a produtos cárneos, exceto bacon, deve ser de no máximo, 200 ppm (PARDI *et al.*, 1996).

Na Alemanha, desde a década de 50, o uso de nitrito em produtos cárneos é permitido apenas em pré misturas com sal de mesa (NaCl), com o objetivo de facilitar a dosagem. A legislação também limitou o nitrito residual dos produtos cárneos prontos em 100 mg de nitrito de sódio/kg, ou seja 100 ppm. Em 2006, a União Européia limitou a adição de nitratos em produtos não tratados pelo calor em 150 ppm, e para demais produtos em 300 ppm; e de nitritos em 100 ppm para produtos esterilizados, e entre 150 a 180 ppm para produtos cárneos (HONIKEL, 2008).

Nas Filipinas o limite máximo de nitrito residual em produtos cárneos curados é de 125 mg/kg, e a adição máxima permitida é de 200 mg/kg (AZANZA; RUSTIA, 2004).

No Brasil, a Instrução Normativa 51/2006 do MAPA, padroniza a concentração máxima de nitritos e nitratos a serem utilizados em produtos cárneos, de acordo com a Resolução do Mercosul GMC nº. 73/97, que regulamenta os limites de aditivos em carnes e produtos cárneos, permitindo a utilização de nitrato de sódio ou de potássio na ordem de 0,03 g/100g do produto (300 ppm), e de nitrito de sódio ou potássio, 0,015 g/100g (150 ppm) (BRASIL, 2006).

Apesar da legislação brasileira preconizar um limite máximo para nitritos em carnes e seus produtos quando comercializados, observa-se embutidos de marcas

desconhecidas, elaborados artesanalmente, sem qualquer fiscalização por parte dos órgãos competentes, oferecidos indiscriminadamente, inclusive em feiras livres, expondo os consumidores aos riscos inerentes à ingestão de alimentos processados em condições precárias, ressaltando-se os relacionados aos aditivos empregados e suas quantidades (OLIVEIRA; ARAÚJO; BORGIO, 2005).

Em estudos realizados por OLIVEIRA *et al.* (2005) em Brasília, e por FERNANDEZ *et al.* (2005) em Petrópolis foram verificadas grandes variações dos teores de nitrito em lingüiças, sendo encontradas amostras que variaram entre zero e 780,45 ppm. No primeiro estudo foi verificado que 7,1% das amostras tinham teores acima de 150 ppm, padrão estabelecido pela legislação, e no segundo, 26,7%. Porém, pesquisa de OLIVEIRA *et al.* (2000), na região urbana de Bragança Paulista, detectou 60% das amostras de lingüiça analisadas apresentando nível de nitritos superior a 200 ppm.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

Os processamentos das amostras de lingüiça foram realizados na Planta Piloto de Carnes, pertencente ao curso de Medicina Veterinária do Campus Palotina da Universidade Federal do Paraná (UFPR).

Foram empregadas três formulações (tratamentos): A – 50 ppm de sais de cura (nitrito e nitrato de sódio); B – 150 ppm de sais de cura (nitrito e nitrato de sódio) e C – 200 ppm de sais de cura (nitrito e nitrato de sódio).

Os ingredientes e condimentos adicionados à massa não variaram em suas quantidades e seguiram as formulações empregadas rotineiramente na indústria.

3.1 PREPARO DO INÓCULO DE *Staphylococcus aureus*

Foram utilizadas seis cepas de *Staphylococcus aureus*, todas enterotoxigênicas, conforme indicado na TABELA 1, pertencentes ao Laboratório de Microbiologia do Instituto de Biociências da Universidade Estadual Paulista (UNESP), Campus de Botucatu, São Paulo, cedidas pela Dra. Vera Lúcia Mores Rall.

CÓDIGO DA CEPA	ENTEROTOXINA
ATCC 27664	E
ATCC 13565	A
ATCC 14458	B
ATCC 19095	C
FRI 361	D/G/J/I
FRI 137	H

TABELA 1- CODIFICAÇÃO DAS CEPAS DE *Staphylococcus aureus* UTILIZADAS NO EXPERIMENTO E RESPECTIVAS ENTEROTOXINAS
 FONTE: AUTORA (2008)

Para o preparo do inóculo, cada cepa mantida separadamente em ágar conservação e estocada em geladeira, foi resuspensa individualmente em tubos contendo caldo BHI (OXOID) e incubada a 37°C/24h. A partir de cada cultura obtida, foi semeada uma alçada em placa de ágar BHI pela técnica de esgotamento superficial sendo incubada a 37°C/24h. Feito isso, procedeu-se a transferência de

uma colônia para um frasco tipo SCOTT contendo 100 ml de Caldo BHI. O caldo inoculado foi incubado a 37°C/24 h. A seguir, cada caldo foi submetido, separadamente, a diluições decimais seriadas em solução salina 0,9%, até a diluição 10⁻¹². De cada diluição obtida, foi realizada a quantificação de *S. aureus* por meio de semeadura “pour plate” em ágar BHI, com incubação a 37°C/24h.

Este protocolo foi realizado com o intuito de determinar a concentração de *S. aureus* em cada uma das diluições até a obtenção de 10³ UFC/g. O procedimento foi realizado individualmente para cada uma das culturas de *S. aureus* utilizadas na pesquisa e então foi feito um “pool” das 6 cepas, o qual foi inoculado na massa a ser curada.

3.2 PROCESSAMENTO DAS AMOSTRAS

3.2.1 Preparo do local de manipulação

Todos os procedimentos para a fabricação das lingüiças foram realizados em capela asséptica devidamente esterilizada antes de cada trabalho. A assepsia das bancadas e da capela de fluxo laminar horizontal foi feita com algodão umedecido em álcool 70%. Após a assepsia, eram ligadas as lâmpadas germicidas da capela e do fluxo laminar, por 20 minutos, antes da utilização das mesmas.

3.2.2 Preparo dos utensílios utilizados

As facas e pinças usadas na manipulação da matéria-prima foram previamente lavadas e mantidas submersas em álcool absoluto até o momento do uso quando eram flambados em bico de bunsen.

As bandejas utilizadas foram devidamente lavadas e, no momento do uso, higienizadas com algodão embebido em álcool 70% e posteriormente colocadas na área de trabalho do fluxo laminar para diminuir ao máximo o contato com contaminantes externos.

As peças do moedor e da embutideira foram mantidas em solução de hipoclorito de sódio a 2% por 24 horas antes do uso, e posteriormente enxaguadas em água corrente, secas com papel toalha e flambadas em álcool absoluto imediatamente antes de serem utilizadas. As peças eram encaixadas no moedor dentro da área de trabalho do fluxo laminar.

3.2.3 Preparo da lingüiça frescal

A representação esquemática do processamento das lingüiças frescas pode ser observada na FIGURA 3.

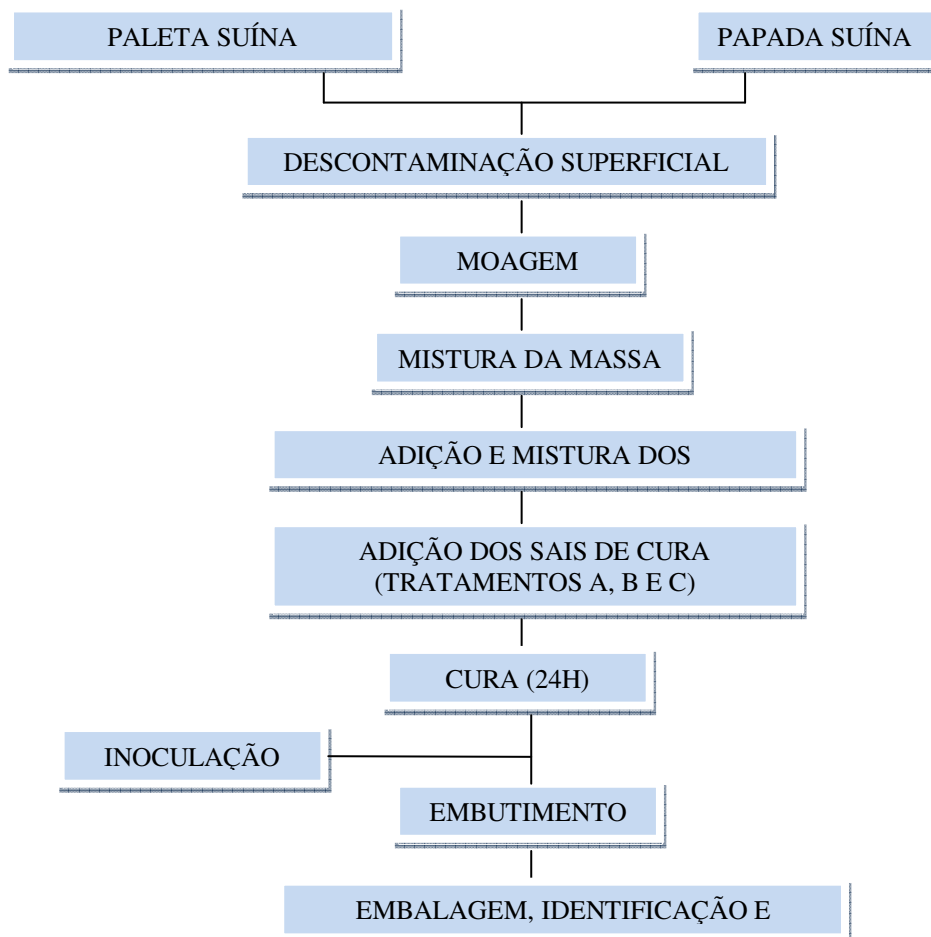


FIGURA 3 - FLUXOGRAMA DE PRODUÇÃO DAS LINGÜIÇAS FRESCAIS UTILIZADAS NO EXPERIMENTO
 FONTE: AUTORA (2008).

Obtenção da matéria-prima para moagem

Toda a matéria-prima cárnea (paletas e papadas) foi obtida em estabelecimento de abate de suínos, localizado no oeste do Estado do Paraná, com capacidade de abater 2.400 suínos/dia, habilitado para exportação.

As paletas desossadas e papadas eram frigorificadas até temperatura interna inferior a 2°C, acondicionadas separadamente em embalagem primária e transportadas ao laboratório em recipiente isotérmico dando-se início ao processo imediatamente após a chegada.

A embalagem primária contendo a carne suína resfriada foi higienizada com álcool 70% e sua abertura feita assepticamente em capela de fluxo laminar. Toda a manipulação da carne foi feita com luvas de procedimento higienizadas em álcool 70%.

As paletas suínas desossadas foram retiradas, uma a uma, da embalagem e colocadas em bandejas de polietileno no fluxo laminar onde foi realizada a descontaminação de toda a superfície externa utilizando algodão embebido em álcool 70%. Feito isso, foi retirado e descartado o excesso de gordura da paleta que, em seguida, era cortada em pedaços menores para facilitar a moagem.

Os mesmos procedimentos foram realizados com a papada suína.

Moagem da paleta e papada

Os pedaços de paleta e papada obtidos, conforme descrito no item anterior, foram cominuídos separadamente em disco de 0,5 cm de diâmetro em moedor de carne Harbel. Após a moagem as matérias-primas foram acondicionadas em temperatura de 2°C até o momento do processamento das lingüiças, o que não ultrapassava o período máximo de 1 hora.

Mistura da massa e pesagem dos condimentos

As massas de paleta e papada suína foram misturadas manualmente por três minutos sendo que ao final da mistura obteve-se uma massa de 16,5 kg, sendo 15 kg de paleta e 1,5 kg de papada (10%). Na bandeja foram adicionados, primeiramente os temperos diluídos em água, e logo após o eritorbato, cuja ficha

técnica encontra-se no ANEXO 1. A concentração dos condimentos e eritorbato utilizados na formulação está indicada na TABELA 2.

Condimento	Quantidade
Açúcar	1,0 g
Alho em pasta	2,0 g
Pimenta do reino	0,5 g
Pimenta malagueta	0,9 ml
Noz moscada	0,5 g
Água	6,0 ml
Eritorbato	1,2 g

TABELA 2 – CONDIMENTOS E ERITORBATO DE SÓDIO PARA 1 Kg DE MASSA
 FONTE: AUTORA, 2008.

Uma mistura manual foi realizada durante três minutos para homogeneização massa-condimento-eritobarto seguindo-se a adição do sal de cura, conforme descrito no item a seguir.

Adição dos sais de cura

A massa foi dividida em três porções de 5,5 kg cada para serem adicionadas de três concentrações de sal de cura correspondendo às concentrações finais de 50, 150 e 200 ppm de nitrito de sódio (tratamentos A, B e C, respectivamente) conforme indicado na TABELA 3. As quantidades de sal de cura e de NaCl utilizadas levaram em consideração o laudo de pureza (ANEXO 2) fornecido pelo fabricante do aditivo a fim de se obter as concentrações de nitrito e nitrato de sódio supracitadas e 2 % de NaCl. Para dissolver os sais, utilizou-se 50 ml de água destilada.

Tratamento	Sal de Cura (g)	NaCl (g)
A - 50 ppm	0,4	9,2
B - 150 ppm	1,3	8,1
C - 200 ppm	1,6	6,9

TABELA 3 – CONCENTRAÇÕES DE SAL DE CURA E CLORETO DE SÓDIO UTILIZADAS PARA MASSAS (1 Kg)
 FONTE: AUTORA (2008).

A mistura dos sais à massa se deu da menor concentração de nitrito (A) para a maior concentração (C). A homogeneização manual foi de aproximadamente 3 minutos. Após a completa mistura dos sais de cura, as três bandejas contendo as massas foram embaladas e acondicionadas em temperatura de aproximadamente 2º C por 24 horas, para realização da cura.

Inoculação

Decorrido o período de cura, o inóculo obtido conforme descrito no item 3.1 foi despejado uniformemente sobre a superfície de cada uma das massas de tratamento (A, B e C) e a homogeneização foi realizada manualmente por 5 minutos. Após o uso, as luvas utilizadas na manipulação foram autoclavadas a 121ºC/40 minutos.

Após o período de 5 minutos as massas já inoculadas estavam prontas para serem embutidas.

Embutimento

O embutimento se deu em tripa suína hidratada previamente desinfetada em hipoclorito de sódio a 2% por 30 minutos. Para o embutimento utilizou-se embutideira marca Arbel e este foi realizado sempre do tratamento com menor concentração de nitrito para uma maior concentração, respectivamente A, B e C. Cada gomo de lingüiça, ao final do embutimento, pesava aproximadamente 80 gramas.

Embalagem e identificação das amostras

Antes do processo de embalagem as lingüiças foram higienizadas superficialmente com álcool 70% para eliminar ou diminuir ao máximo a microbiota superficial existente.

Grupos de três lingüiças foram embaladas em bandejas de polietileno e adicionado de um papel absorvente Dry-Meat™, sendo duas para a realização das análises microbiológicas e uma para determinação do pH do produto. Feito isso, as

embalagens foram envoltas em filme de PVC e etiquetadas identificando o tratamento a que pertenciam (A, B ou C).

Estocagem das amostras durante a vida de prateleira

A estocagem das amostras está esquematizada na FIGURA 4. Imediatamente após a embalagem e identificação das amostras os tratamentos A, B e C foram subdivididos em dois grupos.

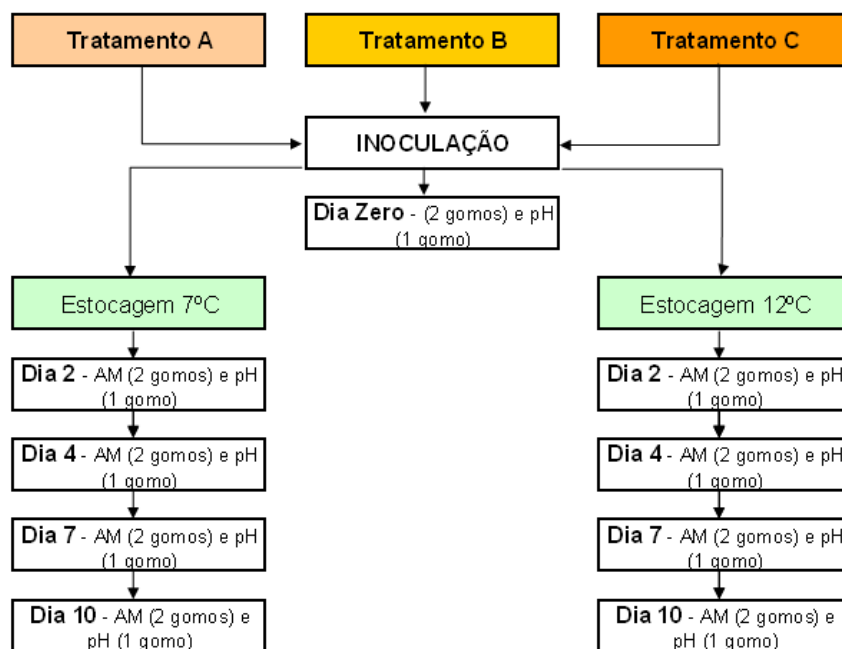


FIGURA 4 – REPRESENTAÇÃO ESQUEMÁTICA DA ESTOCAGEM DAS AMOSTRAS E PLANO DE AMOSTRAGEM

Legenda: AM – Análise Microbiológica; pH = determinação do pH

FONTE: AUTORA (2008).

Cada subgrupo foi estocado numa temperatura de refrigeração diferente, um a 7°C, simulando uma situação adequada de estocagem deste produto, e outra a 12°C, simulando uma situação de abuso de temperatura de estocagem. Ambas as estocagens foram realizadas em estufas do tipo B.O.D. (Demanda Bioquímica de Oxigênio), Marca Quimis, com aferição de temperatura interna duas vezes ao dia.

A estocagem foi realizada durante 10 dias e a quantificação de *S. aureus* e dos microrganismos indicadores foi realizada nos dia 0, 2, 4, 7 e 10 (T_0 , T_2 , T_4 , T_7 e T_{10} , respectivamente), durante armazenamento do produto para amostras incubadas a 7°C e 12°C (FIGURA 4).

3.3 ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS

3.3.1 Determinação da população de *Staphylococcus aureus* inoculada

Após o embutimento e acondicionamento dos gomos de lingüiça em bandejas de polietileno foi feita a confirmação do inóculo de *S. aureus*. Neste sentido, a população inicial de *S. aureus* em cada um dos tratamentos (A, B e C) obtida foi utilizada para a construção dos gráficos de sobreviventes de *S. aureus* tendo sido considerada como a análise do tempo zero, ou seja, T_0 .

Para a determinação da população de *S. aureus* foram retirados dois gomos de lingüiça de cada uma das formulações A, B e C. Cada uma das formulações foi homogeneizada em saco plástico esterilizado. A partir desta amostra composta foi retirada a unidade analítica de 25g.

Aos 25 g foram acrescentados 225 ml de solução salina 0,9% (SS), e homogeneizados em “stomacher” (CAP-LAB) obtendo-se a diluição 10^{-1} . A partir desta diluição, foram produzidas mais duas, 10^{-2} e 10^{-3} .

A quantificação de *S. aureus* foi feita pela utilização do método Petrifilm™ STX (3M™), incluído nos métodos oficiais de análise pela AOAC (ASSOCIATION OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS).

Foram seguidas as instruções do fabricante para a realização das análises (3M™, 2004). A placa foi incubada por 24 horas a 35°C, e as colônias típicas foram detectadas pela presença de coloração vermelho violeta característica (3M™, 2004).

3.3.2 Quantificação dos demais microrganismos

Cada bandeja contendo os gomos de lingüiças era higienizada superficialmente com álcool 70%. Feito isso, as embalagens eram abertas em capela de fluxo laminar, as lingüiças eram higienizadas externamente com álcool 70% e seu envoltórios retirados com uso de tesoura e pinças estéreis. Os gomos eram misturados em saco plástico estéril e homogeneizados. A partir deste “pool”, pesava-se a unidade analítica de 25 g, diluindo-se em 225 ml de Solução Salina

0,9% (SS), homogeneizando-se em “stomacher”, para obter a diluição 10^{-1} . A partir desta diluição, foram produzidas diluições subseqüentes em tubos contendo 9 mL de SS, sendo esses, homogeneizados em equipamento “vortex”.

Contagem de mesófilos (UFC/g)

A partir das diluições obtidas e descritas no item anterior, foi realizada a contagem de mesófilos pela técnica de semeadura em profundidade “pour plate” utilizando-se para isso Plate Count Agar (PCA) (OXOID). As placas foram incubadas a 35-37°C/48h seguindo as recomendações dos métodos analíticos do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, publicados pela Instrução Normativa n.62 de 2003 (BRASIL, 2003).

Contagem de microrganismo psicotróficos (UFC/g)

A partir das diluições obtidas e descritas no item 3.3.2 foi realizada a contagem de psicotróficos pela técnica de semeadura em superfície “spread plate” utilizando-se para isso Plate Count Agar (PCA) (OXOID). As placas foram incubadas a 7°C/10 dias seguindo as recomendações de SILVA *et al*, (2007).

Contagem de enterobactérias (UFC/g)

A partir das diluições obtidas e descritas no item 3.3.2, foi realizada a contagem de enterobactérias pela técnica de semeadura em profundidade “pour plate” com adição de uma segunda camada de meio “overlay” utilizando-se para isso Ágar Cristal Violeta Vermelho Neutro Bile Glicose (VRBG) (DIFCO). As placas foram incubadas a 35-37°C/24h seguindo as recomendações dos métodos analíticos do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, publicados pela Instrução Normativa n.62 de 2003 (BRASIL, 2003).

3.4 DETERMINAÇÃO DO pH

Para a determinação do pH foram utilizados os gomos de lingüiça reservados, pesadas 50g de amostra homogeneizados com 10 ml de água destilada em béquer de 150 ml aferidos por medidor de pH digital modelo MB-10, marca Marte, seguindo a recomendação de metodologia oficial (BRASIL, 1981).

3.5 ANÁLISES ESTATÍSTICAS

Os dados experimentais obtidos com as populações de *Staphylococcus aureus* e dos microrganismos indicadores autóctones nas lingüiças frescas nos tempos T₀, T₂, T₄, T₇ e T₁₀ nas duas temperaturas de estocagem (7° e 12°C) e nos três tratamentos (A, B e C) foram submetidos à Análise de Variância.

Para verificar as diferenças entre os tratamentos e a variação das contagens ao longo do tempo de estocagem, foi aplicado o Teste ANOVA de uma via ($p \leq 0,05$) / pos hoc: Student-Newman-Keuls (SNK); para a variação entre as temperaturas foi utilizado o teste-t ($p \leq 0,05$).

Para os tratamentos estatísticos utilizou-se o programa SigmaStat for Windows® Version 3.0.1, SPSS Inc., Chicago, Illinois, Estados Unidos (2003).

4. RESULTADOS

4.1 DESENVOLVIMENTO DA POPULAÇÃO DE *Staphylococcus aureus*

Os dados de desenvolvimento do *S. aureus* inoculado obtidos no presente estudo podem ser observados pela FIGURA 5, que representa a média das determinações ao longo da estocagem da lingüiça fresca nas duas temperaturas de refrigeração (7° e 12°C) para os tratamentos utilizados (50, 150 e 200 ppm de sal de cura).

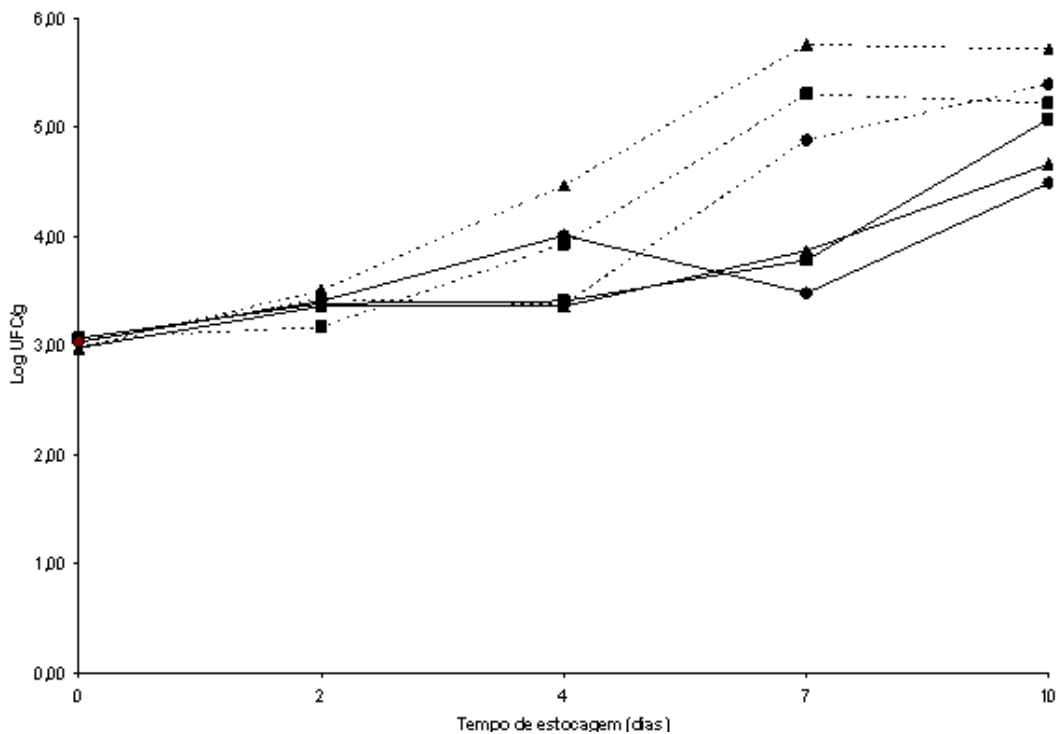


FIGURA 5 - COMPORTAMENTO DE *Staphylococcus aureus* EM LINGÜIÇAS FRESCAIS COM DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE SAL DE CURA E ESTOCADAS EM TEMPERATURAS DE REFRIGERAÇÃO DISTINTAS

Legenda: linha _____ = curva de desenvolvimento a 7°C; Linha - - - - - = curva do desenvolvimento a 12°C; ▲ = 50ppm (A); ■ = 150 ppm (B); ● = 200 ppm (C).

Não foi observada diferença estatística comparando-se o efeito dos tratamentos A, B e C sobre as contagens de *S. aureus* obtidas, considerando a

mesma temperatura ($p \leq 0,05$). Com isso, verificou-se que o sal de cura utilizado, independentemente das concentrações, e nas condições do presente estudo, não exerceu efeito inibidor às culturas de *S. aureus* inoculadas.

Resultado semelhante foi obtido por BIRZELE, DJORDJEVIC e KRAMER (2005), que demonstraram que o desenvolvimento de *S. aureus* inoculado em lingüiças frescas adicionadas de sal de cura com concentrações de 0,5% e 0,9% de nitrito e armazenadas sob refrigeração a 8°C não diferiu significativamente. Houve redução nas contagens do patógeno em 1 log de UFC/g a partir do 7º dia de armazenamento, a qual manteve-se constante até o 15º dia, independente da concentração de nitrito. Os autores sugerem que este pequeno declínio observado pode estar relacionado à redução do pH do produto, uma vez que a quantidade residual de nitrito detectada nas amostras mostrava-se bastante reduzida (20 mg/kg).

Alguns autores afirmam que o nitrito possui efeito inibitório sobre *S. aureus* em altas dosagens, e que sua eficácia aumenta à medida que o pH diminui (EVANGELISTA, 1996, ARCHER, 2002; JAY, 2005). Enquanto FRANCO e LANDGRAF (2005) descrevem que as bactérias deste gênero são tolerantes a concentrações de NaCl de 10 a 20% e a nitratos, o que torna os alimentos curados veículos potenciais para as mesmas.

TABELA 4 - MÉDIA DOS VALORES DE pH OBTIDOS DE LINGUIÇAS FRESCAIS DURANTE ESTOCAGEM EM DUAS TEMPERATURAS (7 e 12°C) NOS TRATAMENTOS A, B e C.

Dias	A		B		C	
	7°C	12°C	7°C	12°C	7°C	12°C
0	6,23	6,23	6,27	6,27	6,20	6,20
2	6,24	6,19	6,24	6,24	6,25	6,25
4	5,99	6,15	6,27	6,15	6,37	6,24
7	6,34	6,06	6,36	6,30	6,21	6,12
10	6,19	6,21	6,32	5,93	6,17	5,96

Resultados das médias de três determinações em cada tratamento.

* tratamentos: A = 50 ppm; B = 150 ppm; C = 200 ppm

Pesquisas descritas por LUCK & JAGER, (2000) e por TOMPKIN, AMBROSINO e STOKZ (1973) comprovaram que a concentração de sais de cura

para exercer ação antimicrobiana sobre o *S. aureus* foi menor à medida que o pH do meio diminuiu (de 7,0 para 4,5).

Na TABELA 4 é possível observar que não houve, no presente estudo, variação significativa nos valores de pH obtidos ao longo da estocagem do produto em duas temperaturas e nos três tratamentos, podendo se dizer que não houve interferência deste parâmetro na multiplicação dos microrganismos avaliados.

Os valores de pH obtidos durante todo o tempo de estocagem nas duas temperaturas e para os três tratamentos mantiveram-se entre 5,93 e 6,37, consoantes ao pH normalmente encontrado em carnes in natura e produtos que não passam por fermentação. Este fator pode ter influenciado negativamente a ação dos sais de cura sobre este microrganismo, já que de acordo com o ICMSF (1985) a ação ótima do nitrito ocorre entre pH 5,5 a 4,5.

KAMDEM, PATRIGNANI e GUERZONI (2007), ao estudar lingüiça toscana durante quatorze dias de armazenamento, obtiveram resultados semelhantes, demonstrando pequenas variações nos valores de pH, independente da formulação inicial, o que provavelmente ocorreu devido ao baixo crescimento de bactérias ácido lácticas observado no produto.

Ao se comparar as temperaturas de estocagem utilizadas (7° e 12° C), as mesmas não apresentaram efeito sobre o desenvolvimento de *S. aureus* quando considerado o mesmo tratamento ($p \leq 0,05$) (TABELA 5). Embora no 7º dia de estocagem tenham sido obtidas contagens distintas entre as duas temperaturas, nos três tratamentos, estas não foram estatisticamente significativas. Isto mostrou que o desenvolvimento de *S. aureus* neste tipo de produto independe das concentrações do sal de cura e da temperatura de armazenamento.

O único fator que mostrou ter efeito sobre o desenvolvimento deste microrganismo foi o tempo de armazenamento. A população de *S. aureus* inoculada no produto não apresentou aumento significativo ao longo dos dias a 7°C nos três tratamentos, porém, a 12°C a multiplicação passou a ser significativa ($p \leq 0,05$) a partir do 4º dia nos tratamentos A e B, e do 7º dia no tratamento C, mostrando que o armazenamento em menor temperatura foi fundamental para o controle do patógeno ao longo da estocagem em dias, independentemente do tratamento utilizado.

TABELA 5 – MÉDIA DAS CONTAGENS E DESVIO PADRÃO (log de UFC/g) DE *Staphylococcus aureus* RECUPERADOS APÓS A INOCULAÇÃO E AO LONGO DO TEMPO EM DUAS TEMPERATURAS (7 E 12°C) NOS TRATAMENTOS A, B e C DE LINGUIÇAS FRESCAIS

Dias	A		B		C	
	7°C	12°C	7°C	12°C	7°C	12°C
0	2,97 ^{Aa} ± 0,51	2,97 ^{Aa} ± 0,51	3,06 ^{Aa} ± 0,58	3,06 ^{Aa} ± 0,58	3,03 ^{Aa} ± 0,47	3,03 ^{Aa} ± 0,47
2	3,36 ^{Aa} ± 0,33	3,50 ^{Aa} ± 0,70	3,38 ^{Aa} ± 0,36	3,17 ^{Aa} ± 0,20	3,40 ^{Aa} ± 0,26	3,42 ^{Aa} ± 0,33
4	3,36 ^{Aa} ± 0,33	4,46 ^{Ab} ± 0,56	3,40 ^{Aa} ± 0,27	3,93 ^{Ab} ± 0,45	4,00 ^{Aa} ± 0,76	3,37 ^{Aa} ± 0,09
7	3,87 ^{Aa} ± 0,59	5,75 ^{Ab} ± 1,17	3,78 ^{Aa} ± 0,35	5,30 ^{Ab} ± 1,15	3,48 ^{Aa} ± 0,15	4,88 ^{Ab} ± 0,83
10	4,66 ^{Aa} ± 1,08	5,71 ^{Ab} ± 1,23	5,07 ^{Aa} ± 1,30	5,22 ^{Ab} ± 0,89	4,49 ^{Aa} ± 1,13	5,39 ^{Ab} ± 0,90

* Letras maiúsculas iguais na mesma linha não diferem significativamente quanto às contagens de *S. aureus* ($p \leq 0,05$), independente do tratamento.

Letras minúsculas iguais na mesma coluna, não diferem significativamente quanto às contagens de *S. aureus* ($p \leq 0,05$) ao longo do tempo.

**Resultados das médias de três determinações em cada tratamento (\pm desvio padrão)

***tratamentos: A = 50 ppm; B = 150 ppm; C = 200 ppm

Tal conclusão também foi obtida por ANDRADE (2005), que analisou amostras de lingüiça frescal adquiridas no mercado armazenadas a aproximadamente 5°C, nos dias 2 e 8, e demonstrou que não houve crescimento significativo do microrganismo ao longo do período.

Contudo, dados que merecem destaque foram as contagens de *S. aureus* superiores a 5 log de UFC/g nos três tratamentos a 12°C. Segundo a literatura, *S. aureus* em quantidades superiores a este valor, são potencialmente capazes de causar intoxicação alimentar devido à produção de enterotoxinas (CUNHA NETO; SILVA; STANFORD, 2002; JAY, 2005). Considerando que todas as cepas inoculadas no produto são enterotoxigênicas, pode-se dizer que caso o produto fosse contaminado com um inóculo semelhante ao utilizado experimentalmente, este produto tornar-se-ia um perigo à saúde pública.

MARQUES *et al.* (2006) demonstraram que 35% das amostras de lingüiça frescal adquiridas no comércio de Lavras e Três Corações (MG) encontravam-se impróprias para o consumo de acordo com as recomendações da legislação (10^3 UFC/g), podendo oferecer riscos à saúde do consumidor quanto à presença de *Staphylococcus* coagulase positiva. MOSCARDI (2006) em Botucatu, SP, encontrou 8,6% de lingüiças suínas adquiridas no comércio varejista nas mesmas condições. A intensa manipulação por que passa a lingüiça desde a fabricação até o consumo, e

a qualidade da matéria prima podem ter sido os fatores predisponentes à detecção destes microrganismos nas amostras analisadas.

4.2 COMPORTAMENTO DOS MICRORGANISMOS MESÓFILOS

O estudo demonstrou que houve multiplicação de mesófilos em ambas temperaturas de estocagem e nos três tratamentos (A, B e C), ao longo do tempo, conforme pode ser observado na TABELA 6, tendo sido observada multiplicação significativa ($p \leq 0,05$) a 7°C a partir do 4º dia nos tratamentos A e B, e do 7º dia no tratamento C. A 12°C, o desenvolvimento foi significativo a partir do 2º dia nos tratamentos A e B, e no 7º dia em C.

TABELA 6 – MÉDIA DAS CONTAGENS E DESVIO PADRÃO (log de UFC/g) DE MESÓFILOS AUTÓCTONES RECUPERADOS APÓS A ESTOCAGEM EM DUAS TEMPERATURAS (7 e 12°C) NOS TRATAMENTOS A, B E C DE LINGUIÇAS FRESCAIS

Dia	A		B		C	
	7°C	12°C	7°C	12°C	7°C	12°C
0	3,45 ^{aAα} ±0,40	3,45 ^{aAα} ± 0,40	3,83 ^{aAα} ±0,58	3,83 ^{aAα} ±058	3,95 ^{aAα} ±0,85	3,95 ^{aAα} ±0,85
2	4,52 ^{aAα} ±0,46	6,04 ^{bBα} ±0,26	4,21 ^{aAα} ±0,31	6,64 ^{bAα} ±0,93	5,38 ^{aAα} ±1,14	6,45 ^{aAα} ±1,44
4	6,81 ^{bAα} ±0,54	8,28 ^{cBα} ±0,48	6,08 ^{bAα} ±0,62	8,23 ^{cBα} ±0,66	4,85 ^{aAα} ±0,27	7,52 ^{aBα} ±0,56
7	8,90 ^{cAα} ±0,95	10,10 ^{cAα} ±1,02	8,81 ^{cAα} ±0,81	9,69 ^{cAα} ±0,41	8,94 ^{bAβ} ±1,47	10,98 ^{bAα} ±1,02
10	9,98 ^{dAα} ±0,85	9,66 ^{cAα} ±0,88	10,33 ^{dAα} ±0,75	8,81 ^{cAα} ±0,76	9,85 ^{bAα} ±1,82	9,41 ^{bAα} ±0,45

* Letras minúsculas iguais na mesma coluna não diferem significativamente quanto às contagens de mesófilos ($p \leq 0,05$) ao longo do tempo.

Letras iguais maiúsculas na mesma linha, para o mesmo tratamento, não diferem significativamente quanto às contagens de mesófilos ($p \leq 0,05$).

Letras gregas iguais para os diferentes tratamentos, à mesma temperatura e no mesmo dia, não diferem significativamente quanto às contagens de mesófilos ($p \leq 0,05$).

**Resultados das médias de três determinações em cada tratamento (\pm desvio padrão)

***Tratamentos: A = 50 ppm; B = 150 ppm; C = 200 ppm

Com base nestes resultados pode-se sugerir que concentrações mais altas de nitrito (200 ppm) possuem efeito redutor na velocidade inicial de multiplicação de mesófilos. Contudo, as contagens finais obtidas foram estatisticamente iguais no 10º dia independentemente da temperatura de estocagem e do tratamento.

O pH relativamente alto e constante das amostras do produto, conforme já demonstrado na TABELA 4, pode ter contribuído para as condições de crescimento destes microrganismos, uma vez que menos de 50% da quantidade inicial de nitrito permanece no produto após 24 horas do processamento, e menos que 10% após sete dias (PARDI *et al.*,1996).

Avaliando-se as contagens obtidas por data e comparando-se as temperaturas de estocagem, 7° e 12°C, verificou-se que houve diferença ($p \leq 0,05$) no 2º e 4º dias em A, e no 4º dia em B e C (TABELA 6).

Foi constatada também diferença significativa na multiplicação de mesófilos entre os tratamentos, apenas no dia 4 a 7°C, sendo a contagem obtida em C, menor que em A e B, porém nas demais datas o desenvolvimento deste grupo de microrganismos permaneceu estatisticamente igual, independente do tratamento utilizado (TABELA 6).

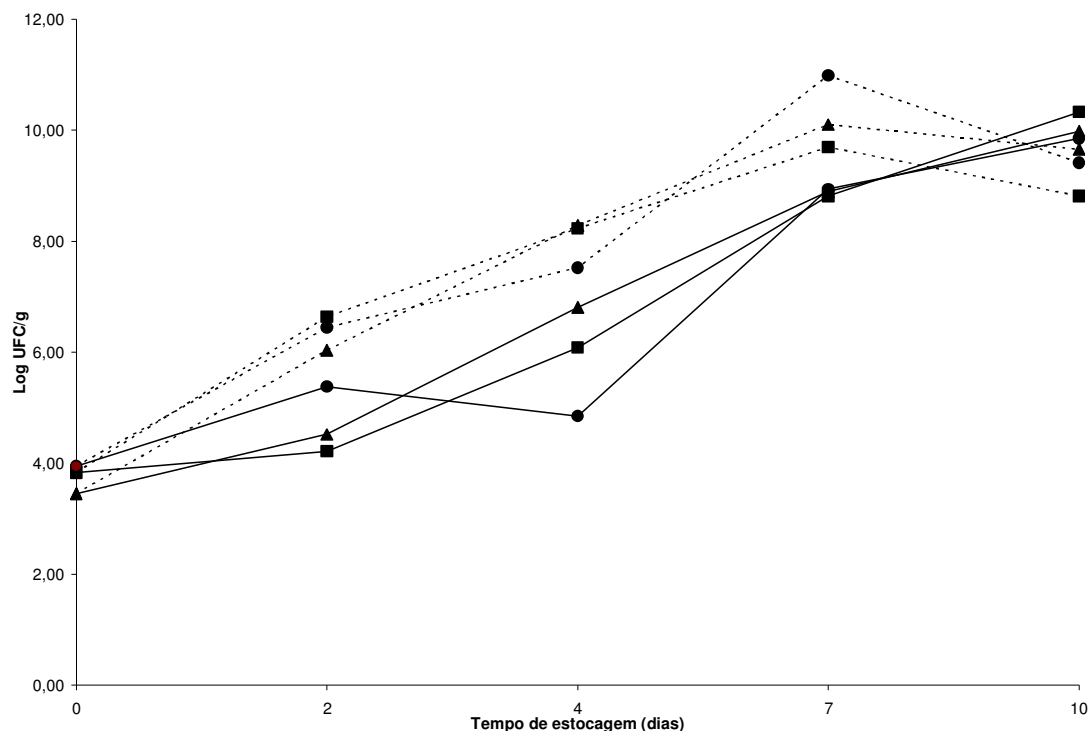


FIGURA 6 - COMPORTAMENTO DE MESÓFILOS EM LINGUIÇAS FRESCAS PRODUZIDAS COM DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE SAL DE CURA E ESTOCADAS EM TEMPERATURAS DE REFRIGERAÇÃO DISTINTAS

Legenda: linha _____ = curva de desenvolvimento a 7°C; Linha ----- = curva do desenvolvimento a 12°C; ▲ = 50ppm (A); ■ = 150 ppm (B); ● = 200 ppm (C).

Na FIGURA 6 pode ser observado o comportamento dos mesófilos nos três tratamentos e duas temperaturas. Pode-se dizer que as temperaturas utilizadas no estudo (7° ou 12° C) não tiveram influência ao longo da estocagem do produto no controle do desenvolvimento dos mesófilos autóctones, exceto no tratamento C, com maior concentração de sal de cura, no qual foi detectada uma população significativamente menor no 4º dia de estocagem a 7°C quando comparado aos tratamentos A e B.

KAMDEM, PATRIGNANI e GUERZONI (2007) observaram que ao longo do armazenamento de lingüiça frescal a 2°C ocorreu desenvolvimento de mesófilos em todas as amostras, independente da concentração do sal de cura. Entretanto a amostra controle e aquela que apresentava concentração baixa de nitrito (25 ppm), atingiram contagens de 6,5 log UFC/g antes de dez dias de armazenamento. Ao final do período de 14 dias, todas as amostras, independente da concentração apresentavam população de mesófilos acima de 6,5 log UFC/g, o que evidencia o fraco efeito inibidor no nitrito sobre este grupo de microrganismos.

Cabe destacar que o grupo dos mesófilos, quando em quantidades elevadas, geralmente superiores a 6 log UFC/g, pode indicar abusos relacionados a tempo e temperatura de armazenamento, e deterioração eminente. Ressalta-se que todas as bactérias patogênicas de origem alimentar são mesófilas, portanto, uma alta contagem deste grupo, significa que houve condições para estes patógenos se multiplicarem (FRANCO; LANDGRAF, 2006). No estudo realizado, tais contagens começaram a ser observadas a partir do 4º dia a 7°C, exceto para o tratamento C, e do 2º dia a 12°C nos três tratamentos.

Valores semelhantes foram encontrados nas amostras de lingüiça frescal expostas a comercialização analisadas por SABIONI *et al.* (1999), onde 82% excederam 10^6 UFC/g para mesófilos, e por ANDRADE (2005) que observou crescimento médio entre 10^7 e 10^8 UFC/g de mesófilos em lingüiça frescal armazenada sob refrigeração a 4°C por 15 dias, em embalagem original.

4.3 COMPORTAMENTO DOS MICRORGANISMOS PSICROTRÓFICOS

Pelos dados dispostos na TABELA 7, pode-se observar a variação das contagens de psicrotróficos autóctones ao longo do tempo em lingüiça frescal formulada com 50, 150 e 200 ppm de sais de cura.

TABELA 7 - MÉDIA DAS CONTAGENS E DESVIO PADRÃO (log de UFC/g) DE PSICROTRÓFICOS AUTÓCTONES RECUPERADOS APÓS A ESTOCAGEM EM DUAS TEMPERATURAS (7 E 12°C) NOS TRATAMENTOS A, B e C DE LINGUIÇAS FRESCAIS

Dias	A		B		C	
	7°C	12°C	7°C	12°C	7°C	12°C
0	2,71 ^{aAα} ±0,24	2,71 ^{aAα} ±0,24	2,81 ^{aAα} ±0,10	2,81 ^{aAα} ±0,10	2,71 ^{aAα} ±0,40	2,71 ^{aAα} ±0,40
2	4,21 ^{aAα} ±0,89	5,97 ^{bAα} ±0,85	3,58 ^{aAα} ±0,39	4,54 ^{bBαβ} ±0,18	3,10 ^{aAα} ±0,56	3,87 ^{aAβ} ±0,59
4	6,47 ^{bAα} ±0,46	7,67 ^{cBα} ±0,24	5,75 ^{bAα} ±0,21	7,31 ^{cBα} ±0,29	4,53 ^{aAβ} ±0,18	6,76 ^{bBα} ±0,66
7	7,86 ^{cAα} ±0,49	8,57 ^{cAα} ±0,87	8,17 ^{cAα} ±0,99	8,23 ^{cAα} ±0,76	8,03 ^{bAα} ±1,51	8,09 ^{cAα} ±0,68
10	9,50 ^{cAα} ±1,37	8,67 ^{cAα} ±0,08	9,60 ^{dAα} ±1,09	9,99 ^{cAα} ±1,65	8,60 ^{bAα} ±1,46	9,03 ^{cAα} ±0,27

* Letras minúsculas iguais na mesma coluna não diferem significativamente quanto às contagens de psicrotróficos ($p \leq 0,05$) ao longo do tempo.

Letras iguais maiúsculas na mesma linha não diferem significativamente quanto às contagens de psicrotróficos ($p \leq 0,05$) para o mesmo tratamento.

Letras gregas iguais à mesma temperatura e no mesmo dia para os diferentes tratamentos não diferem significativamente quanto às contagens de psicrotróficos ($p \leq 0,05$).

** Resultados das médias de três determinações em cada tratamento (\pm desvio padrão)

*** tratamentos: A = 50 ppm; B = 150 ppm; C = 200 ppm

Pode-se observar que a multiplicação deste grupo de microrganismo aumenta estatisticamente ao longo do tempo invariavelmente em relação à temperatura. Na temperatura de 7°C as contagens foram aumentando significativamente ($p \leq 0,05$) a partir do 4º dia em A e B e 7º dia em C. A 12°C, o mesmo fenômeno foi observado a partir do 2º dia em A e B e 4º dia em C.

Resultado semelhante foi obtido por ANDRADE (2005), que observou um aumento de 3 log UFC/g em relação à contagem inicial de psicrotróficos em lingüiça frescal, após oito dias de armazenamento a 4°C.

Com relação à influência da temperatura de estocagem, houve diferença significativa entre 7°C e 12°C em A, B e C no 4º dia de estocagem, sendo que em B tal diferença também foi observada no 2º dia. Porém, ao final do processo de estocagem, não houve diferença nas populações finais, indicando que este grupo de

microrganismo não foi controlado nem pela temperatura mais baixa utilizada (TABELA 7).

De acordo com o ICMSF (1985), em concentrações de 200 ppm e em pH de 5,7 - 6,0 o nitrito inibe o crescimento de *Acinetobacter*, *Moraxella*, *Flavobacterium*, *Pseudomonas*, *Enterobacter*, *Escherichia* e certos micrococcos.

Pela FIGURA 7 pode-se observar o desenvolvimento dos psicotróficos autóctones ao longo da estocagem do produto em refrigeração para os tratamentos utilizados.

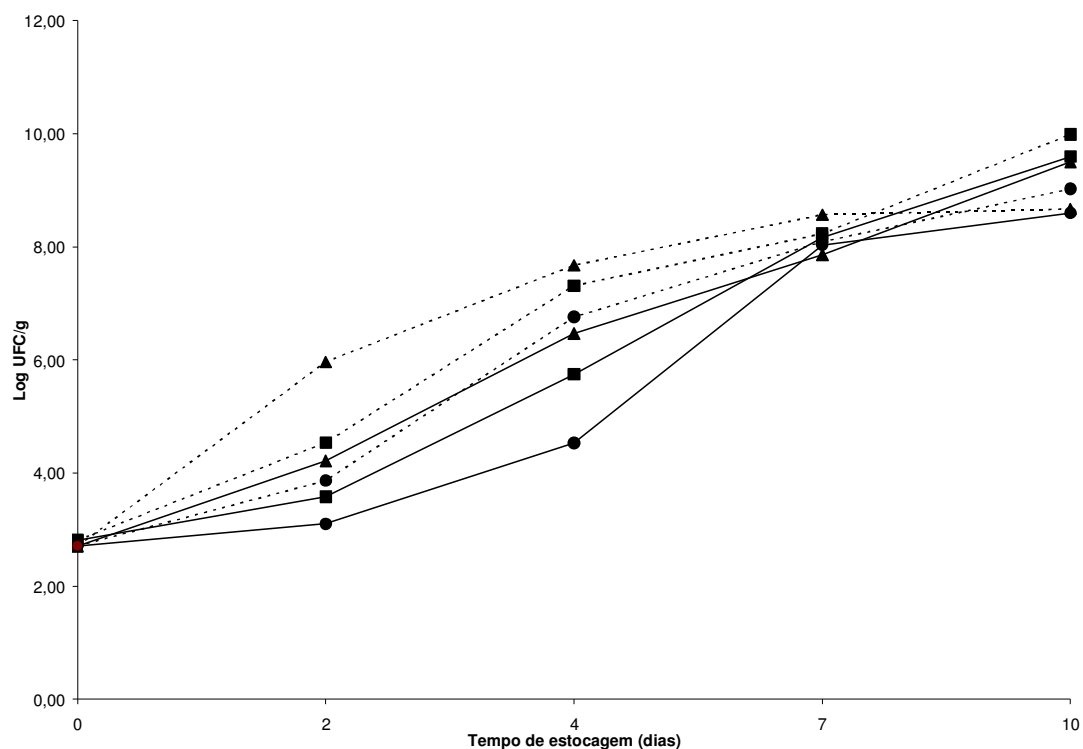


FIGURA 7 – COMPORTAMENTO DE PSICOTRÓFICOS EM LINGUIÇAS FRESCAS PRODUZIDAS EM DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE SAL DE CURA E ESTOCADA EM TEMPERATURAS DE REFRIGERAÇÃO DISTINTAS

Legenda: linha — = curva de desenvolvimento a 7°C; Linha - - - - - = curva do desenvolvimento a 12°C; ▲ = 50ppm (A); ■ = 150 ppm (B); ● = 200 ppm (C).

Comparando-se as contagens obtidas entre os tratamentos, A e B foram estatisticamente maiores ($p \leq 0,05$) em relação a C somente no 4º dia a 7°C. Na temperatura de 12°C, o tratamento A diferiu do C somente no 2º dia. É importante

frisar que ao final do 10º dia de estocagem, não houve influência significativa do tratamento no desenvolvimento dos psicotróficos.

4.4 COMPORTAMENTO DAS ENTEROBACTÉRIAS

Na TABELA 8 estão dispostas as contagens e respectivos desvios padrões obtidos para enterobactérias (log UFC/g) ao longo do tempo nas duas temperaturas e nos três tratamentos. Por esta tabela observa-se que as contagens a 7°C aumentaram significativamente ($p \leq 0,05$) a partir do 4º dia em A, e do 7º dia em B e C. A 12°C tal fenômeno foi observado a partir do 4º dia em A e C, e a partir do 2º dia em B.

TABELA 8 - MÉDIA DAS CONTAGENS E DESVIO PADRÃO (log de UFC/g) DE ENTEROBACTÉRIAS RECUPERADAS APÓS A ESTOCAGEM EM DUAS TEMPERATURAS (7 E 12°C) NOS TRATAMENTOS A, B e C DE LINGUIÇAS FRESCAIS

Dia	A		B		C	
	7°C	12°C	7°C	12°C	7°C	12°C
0	3,21 ^{aAα} ±0,56	3,21 ^{aAα} ±0,56	3,02 ^{aAα} ±0,40	3,02 ^{aAα} ±0,40	2,76 ^{aAα} ±0,43	2,76 ^{aAα} ±0,43
2	3,50 ^{aAα} ±0,39	5,31 ^{aBα} ±0,76	3,32 ^{aAα} ±0,42	4,77 ^{bAα} ±0,84	3,19 ^{aAα} ±0,32	3,60 ^{aBβ} ±0,11
4	5,32 ^{bAα} ±0,04	8,40 ^{abB} ±0,95	4,48 ^{aAα} ±0,36	8,26 ^{cAα} ±1,36	3,82 ^{aAα} ±0,77	6,56 ^{bAα} ±0,99
7	6,83 ^{bAα} ±0,33	9,04 ^{bBα} ±0,82	6,93 ^{bAα} ±0,90	8,59 ^{cdB} ±0,58	9,25 ^{bAβ} ±0,50	10,42 ^{cAα} ±1,41
10	8,88 ^{cAα} ±1,39	9,43 ^{bAα} ±0,48	8,57 ^{bAα} ±1,77	9,71 ^{dAα} ±0,71	9,68 ^{bAα} ±0,47	9,21 ^{cAα} ±0,27

* Letras minúsculas iguais na mesma coluna não diferem significativamente quanto às contagens enterobactérias ($p \leq 0,05$) ao longo do tempo.

Letras iguais maiúsculas na mesma linha, para o mesmo tratamento, não diferem significativamente quanto às contagens de mesófilos ($p \leq 0,05$).

Letras gregas iguais à mesma temperatura e no mesmo dia, para os diferentes tratamentos não diferem significativamente quanto às contagens de psicotróficos ($p \leq 0,05$).

**Resultados das médias de três determinações em cada tratamento (\pm desvio padrão)

*** tratamentos: A = 50 ppm; B = 150 ppm; C = 200 ppm

ICMSF (1985) descreve que em embutidos frescos com pH menor de 5,8 e Aa maior que 0,95 normalmente as, contagens de enterobactérias a 7°C vão de 10^3 a 10^5 /g em duas semanas, transcorridas as quais, desaparecem lentamente. No presente trabalho, a 7°C houve crescimento ao longo do tempo até o final do

experimento (dia 10), e foram observadas contagens de até 9 log UFC/g, porém o pH do produto manteve-se acima de 5,8.

Também é possível comparar as temperaturas de estocagem pela TABELA 8. Houve diferença estatística para as contagens obtidas a 7° e 12°C no 2º, 4º e 7º dias no tratamento A e no 7º dia no tratamento B, sendo as contagens a 7°C inferiores que a 12°C ($p \leq 0,05$). Em outras datas bem como no tratamento C, não foi observada influência significativa da temperatura.

KAMDEM, PATRIGNANI e GUERZONI (2007) não observaram crescimento superior a 2 log UFC/g de enterobactérias em lingüiça toscana mantida a 2°C durante 14 dias, independente da concentração de nitrito das amostras, inclusive na controle. Este fato demonstra que o crescimento de enterobactérias observado no presente estudo, pode ter sido influenciado pela temperatura de armazenamento utilizada.

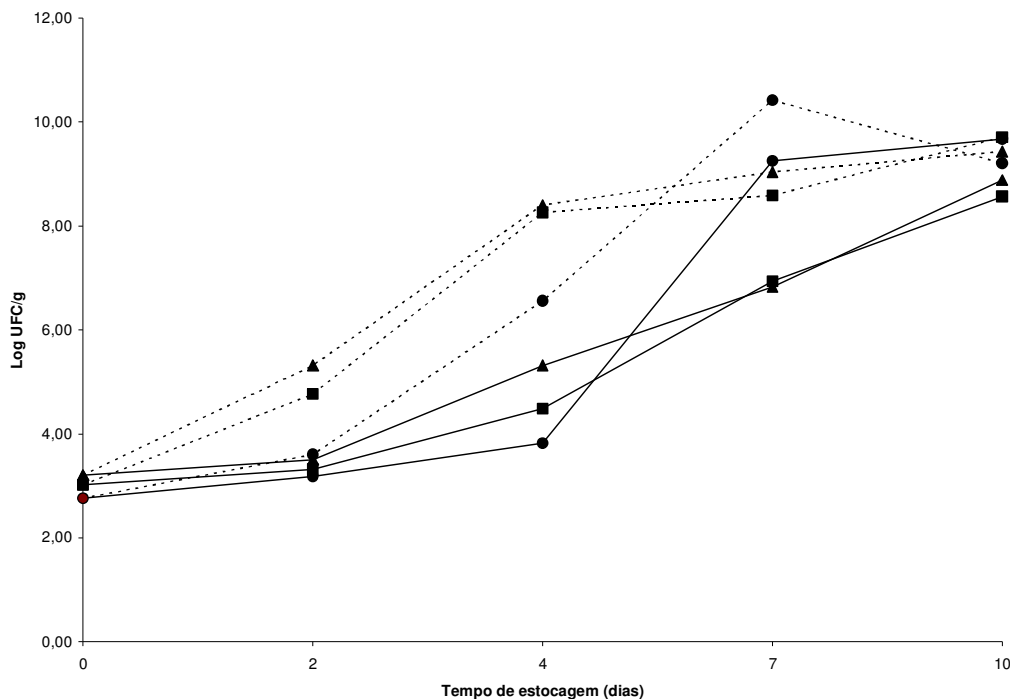


FIGURA 8 - COMPORTAMENTO DE ENTEROBACTÉRIAS EM LINGUIÇAS FRESCAS PRODUZIDAS EM DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE SAL DE CURA E ESTOCADAS EM TEMPERATURAS DE REFRIGERAÇÃO DISTINTAS

Legenda: linha ————— = curva de desenvolvimento a 7°C; Linha - - - - - = curva do desenvolvimento a 12°C; ▲ = 50ppm (A); ■ = 150 ppm (B); ● = 200 ppm (C).

Pela FIGURA 8 pode-se observar o desenvolvimento de enterobactérias autóctones ao longo da estocagem do produto em refrigeração para os tratamentos utilizados (A, B e C).

A partir do 7º dia nas duas temperaturas estudadas e nos três tratamentos, as contagens de enterobactérias foram superiores a 6 log UFC/g. Considerando que fazem parte deste grupo bactérias patogênicas como *Escherichia coli*, *Salmonella* sp., *Shigella* e *Enterobacter*, este resultado torna-se preocupante em termos de saúde pública, uma vez que surtos podem ser provocados caso estes microrganismos estejam presentes no produto.

Comparando-se os tratamentos das lingüiças frescas produzidas observou-se que houve diferença estatística entre eles somente no 7º dia de estocagem a 7°C e no 2º dia a 12°C (TABELA 8).

Em ambos os casos, os tratamentos A e B mostraram-se com contagens menores do que C, com maior teor de sal de cura. Contudo, tal diferença não foi observada em outras datas estudadas, mostrando mais uma vez que o tratamento não foi suficiente para controlar tal grupo de microrganismos.

No dia 7 a 7°C, a contagem de enterobactérias no tratamento C (200ppm de sais de cura) foi significativamente maior que para os demais tratamentos, mostrando que a concentração deste sal não influencia diretamente o crescimento do grupo.

O mesmo resultado foi obtido no estudo de BIRZELE, DJORDJEVIC e KRAMER (2005), onde não foram observados efeitos significativos da concentração de nitritos no crescimento de enterobactérias em lingüiças frescas. As curvas de crescimento se mostraram irregulares ao longo do tempo de armazenamento do produto (14 dias) sob refrigeração (8°C), provavelmente devido ao fato de ser uma família muito heterogênea, e os efeitos observados dependerem da dominância de uma determinada espécie e da sua sensibilidade ao nitrito.

JAY (2000) afirma que o nitrito é normalmente ineficaz contra enterobactérias, incluindo *Salmonella*, ou contra bactérias lácticas, apesar de terem sido observados alguns efeitos em relação à conservação de carnes curadas embaladas a vácuo. Contudo estes efeitos são provavelmente resultantes da ação conjunta do nitrito e outros fatores do meio.

4.5 MULTIPLICAÇÃO DE MICROBIOTA AUTÓCTONE E DE *Staphylococcus aureus*

Nas FIGURAS 9 a 14 estão ilustradas as curvas de desenvolvimento de todos os grupos bacterianos autóctones estudados bem como o de *S. aureus* inoculado. Em cada figura estão dispostos os resultados obtidos entre as TABELAS 4 a 7 e os mesmos têm por objetivo facilitar a visualização do comportamento dos microrganismos ao longo do tempo em cada tratamento (50, 150 e 200 ppm de sais de cura) e em cada temperatura de estocagem (7° e 12°C).

As FIGURAS 9, 10 e 11 mostram o padrão de crescimento dos diferentes microrganismos estudados a 7°C.

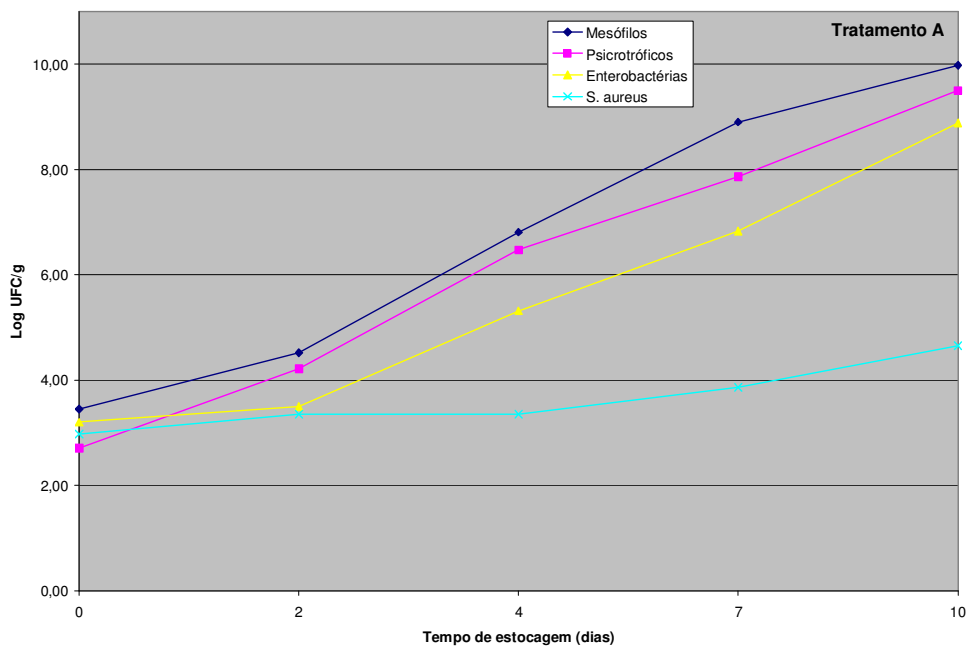


FIGURA 9 – COMPORTAMENTO DA MICROBIOTA AUTÓCTONE E DE *Staphylococcus aureus* INOCULADO EM LINGUIÇAS FRESCAS SUBMETIDAS AO TRATAMENTO “A” AO LONGO DA ESTOCAGEM A 7°C

*As contagens representam a média de três determinações.

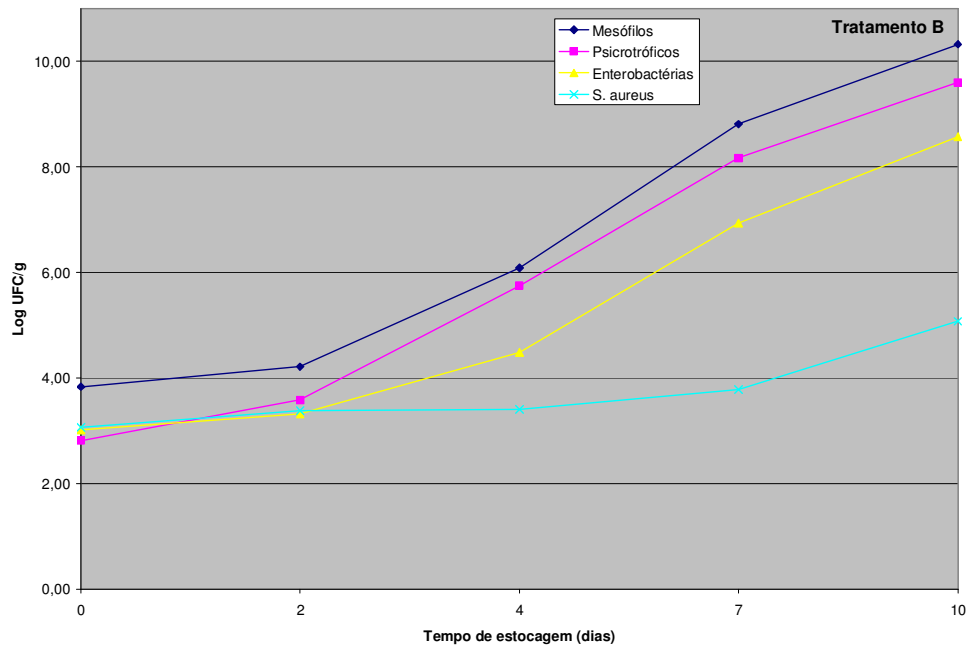


FIGURA 10 – COMPORTAMENTO DA MICROBIOTA AUTÓCTONE E DE *Staphylococcus aureus* INOCULADO EM LINGUIÇAS FRESCAS SUBMETIDAS AO TRATAMENTO B AO LONGO DA ESTOCAGEM A 7°C

*As contagens representam a média de três determinações.

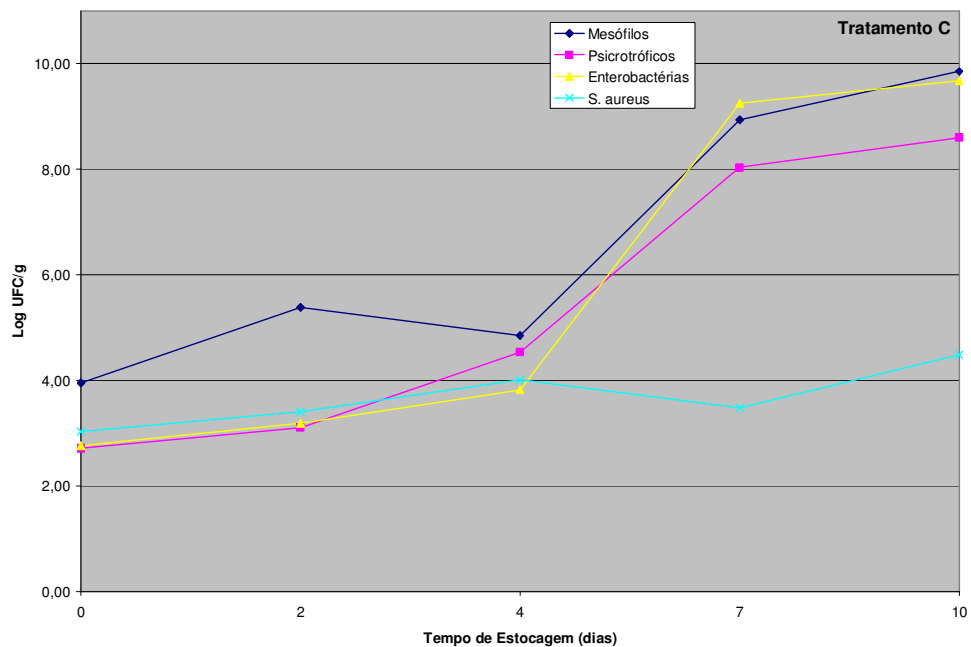


FIGURA 11 – COMPORTAMENTO DA MICROBIOTA AUTÓCTONE E DE *Staphylococcus aureus* INOCULADO EM LINGUIÇAS FRESCAS SUBMETIDAS AO TRATAMENTO C AO LONGO DA ESTOCAGEM A 7°C

*As contagens representam a média de três determinações.

Pode-se observar que embora todos os procedimentos de assepsia tenham sido utilizados na formulação das amostras de lingüiça fresca, ao longo do armazenamento os microrganismos autóctones apresentaram crescimento constante e superior ao do *S. aureus* inoculado.

A 7°C o crescimento de todos os grupos foi constante, e as curvas de crescimento apresentaram-se bem semelhantes nos tratamentos A e B. No tratamento C, o crescimento foi mais irregular, porém ao final do décimo dia, as contagens não apresentaram diferenças significativas.

Comparando as FIGURAS 12, 13 e 14, é possível verificar que a 12°C o desenvolvimento de todos os microrganismos continua constante ao longo do tempo, independente do tratamento.

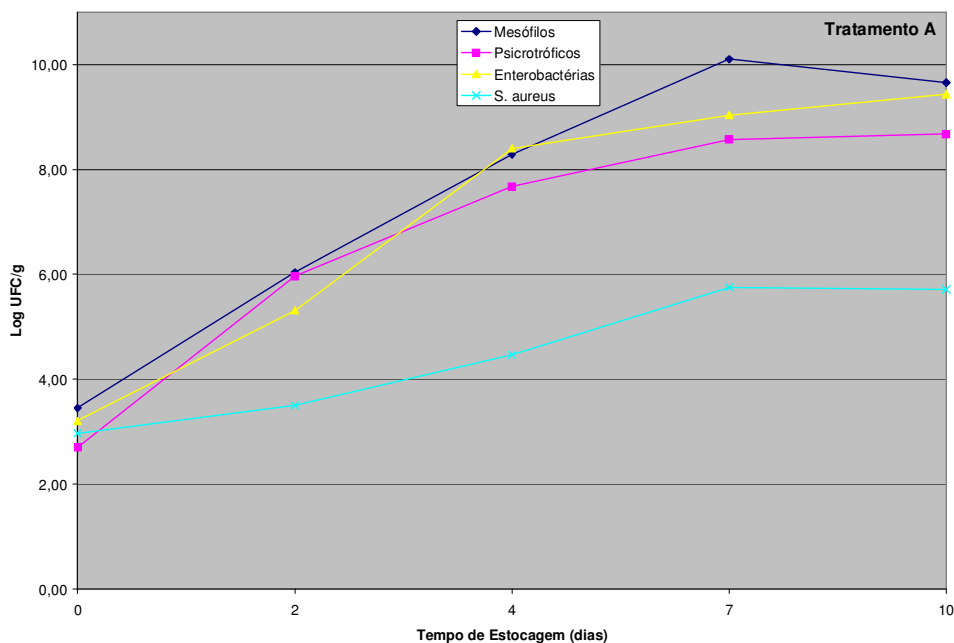


FIGURA 12 – COMPORTAMENTO DA MICROBIOTA AUTÓCTONE E DE *Staphylococcus aureus* INOCULADO EM LINGÜIÇAS FRESCAS SUBMETIDAS AO TRATAMENTO A AO LONGO DA ESTOCAGEM A 12°C

*As contagens representam a média de três determinações.

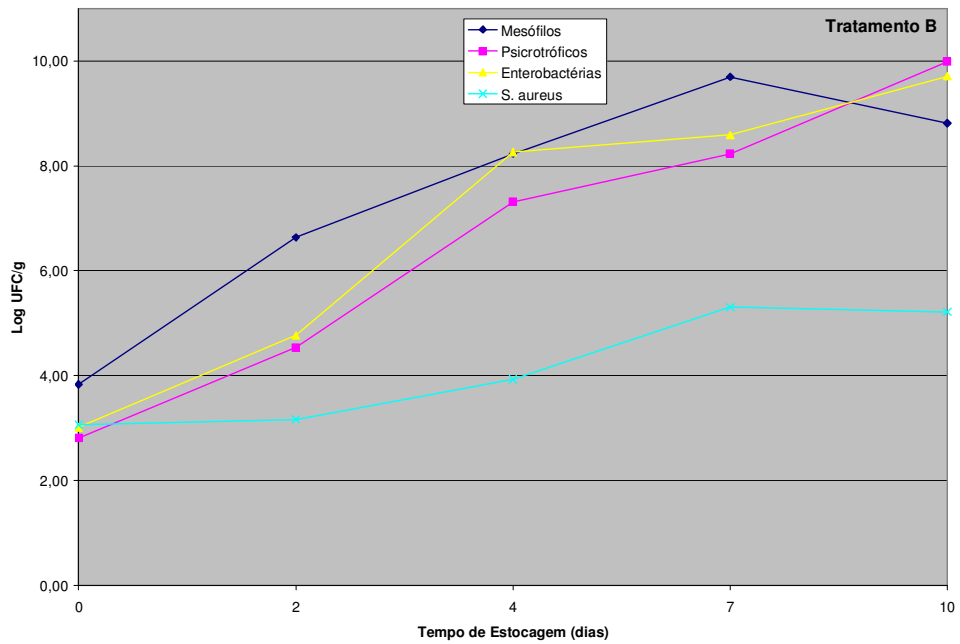


FIGURA 13 – COMPORTAMENTO DA MICROBIOTA AUTÓCTONE E DE *Staphylococcus aureus* INOCULADO EM LINGUIÇAS FRESCAS SUBMETIDAS AO TRATAMENTO B AO LONGO DA ESTOCAGEM A 12°C

*As contagens representam a média de três determinações.

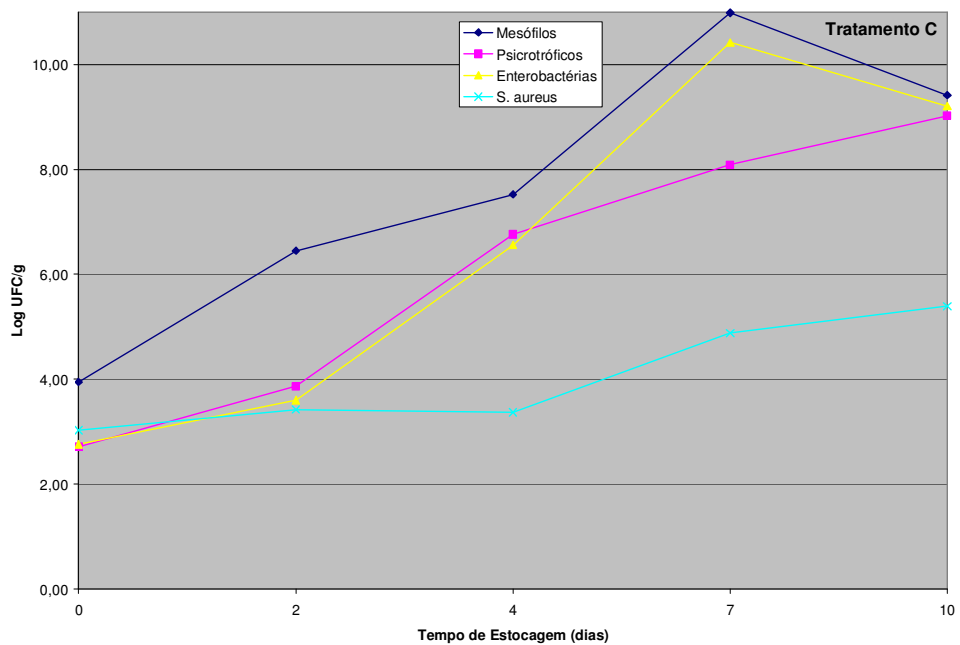


FIGURA 14 – COMPORTAMENTO DA MICROBIOTA AUTÓCTONE E DE *Staphylococcus aureus* INOCULADO EM LINGUIÇAS FRESCAS SUBMETIDAS AO TRATAMENTO C AO LONGO DA ESTOCAGEM A 12°C

*As contagens representam a média de três determinações.

Com base na análise das figuras anteriores, pode-se afirmar que basicamente não houve diferença significativa de crescimento influenciada pela temperatura (7°C ou 12°C) de nenhum dos microrganismos, em nenhum dos tratamentos (A, B e C).

Em geral, os *Staphylococcus* não competem bem com a microbiota autóctone da maioria dos alimentos. Em temperaturas que favorecem o seu crescimento, a microbiota saprofítica normal do alimento oferece proteção contra o desenvolvimento do *S. aureus* por meio de antagonismo, competição por nutrientes e modificações das condições ambientais, tornando-as menos favoráveis para o mesmo. Entre as bactérias consideradas antagonistas ao crescimento do *S. aureus* estão *Acinetobacter*, *Aeromonas*, *Bacillus*, *Pseudomonas*, *S. epidermitis*, Enterobacteriaceae, Lactobacillaceae, e enterococos (JAY, 2005).

Neste estudo, aparentemente, observa-se que *S. aureus* não teve o seu desenvolvimento inibido frente aos outros grupos de microrganismos, pois o mesmo apresentou uma média de crescimento de 2 log UFC/g.

5 CONCLUSÕES

O presente estudo demonstrou que quando são utilizadas formulações de lingüiça frescal com concentrações de sais de cura de 50, 150 e 200 ppm, e temperaturas de estocagem de 7° e 12°C, a influência destes fatores na multiplicação de *S. aureus* e da microbiota autóctone avaliada é mínima, sendo dependente do período de estocagem do produto.

Independentemente do grupo microbiano avaliado na pesquisa, houve aumento significativo das contagens obtidas ao longo do tempo (10 dias) nos três tratamentos, que sempre iniciou na temperatura de estocagem mais alta (12°C). Contudo, ao final da estocagem (10^o dia), as contagens foram iguais em todos os grupos estudados, mostrando que as condições de temperatura e concentração de sal de cura não exercem controle efetivo no desenvolvimento de *S. aureus*, microrganismos mesófilos, psicrotróficos e enterobacterias.

Foram detectadas contagens de *S. aureus* inoculado superiores a 5 log UFC/g, potencialmente capaz de causar intoxicação alimentar, pela formação de enterotoxinas. Entretanto, a microbiota autóctone competidora apresentou multiplicação ainda maior, chegando a valores superiores a 6 log UFC/g.

Os valores de pH obtidos durante estocagem nas duas temperaturas e para os três tratamentos mantiveram-se constantes (entre 5,93 e 6,37), podendo se dizer que não houve interferência deste parâmetro na multiplicação dos microrganismos avaliados.

REFERÊNCIAS

ABIEPCS. Associação Brasileira das Indústrias Processadoras e Exportadoras de Carne Suína. **Estatísticas do consumo mundial de carne suína**. Disponível em: <http://www.abiepcs.org.br/> acesso em 12/04/2008.

AGROPECUÁRIA BRASIL. **Paraná é o terceiro maior produtor de carne suína**. Disponível em: <http://www.agropecuariabrasil.com.br/parana-e-o-terceiro-maior-produtor-de-carne-suina/> acesso em 12/04/2008.

AGUIRREZÁBAL, M. M.; MATEO, J., DOMÍNGUEZ, M. C.; ZUMALACÁRREGUI, J. M. The effect of paprika, garlic and salt on rancidity in dry sausages. **Meat Science**. v. 54, 2000, p. 77-81.

AMIN, M., OLIVEIRA, J. V. Efeito do uso do nitrato e nitrito na inibição de *Clostridium perfringens* Tipo A em lingüiça bovina curada. **Boletim do Ceppa**. v. 24, 2006, p. 13-24.

ANDRADE, C. **Avaliação físico-química e microbiológica de lingüiça toscana porcionada e armazenada em diferentes embalagens, sob condições de estocagem similares às praticadas em supermercados**. 2005. 127 f. Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Tecnologia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas.

AOAC – ASSOCIATION OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS - HORWITZ, W. **Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists**. 17 ed. Arlington: AOAC Inc., v.2, 2000.

ARCHER, D. L. Evidence that Ingested Nitrate and Nitrite are Beneficial to Health. **Journal of Food Protection**. v. 65, p. 872-875, 2002.

AZANZA, Ma. P. V., RUSTIA, A. S. Residual nitrite levels in Philippine sweet bacon. **Food Control**. v. 15, 2004, p.385-389.

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.

BOZKURT, H., ERKMEN, O. Effects of some commercial additives on the quality of sucuk (Turkish dry-fermented sausage). **Food Chemistry**. v. 101, 2007, p. 1465-1473.

BRASIL. Ministério da Agricultura. Secretaria Nacional de Defesa Agropecuária. Laboratório Nacional de Defesa Animal. Portaria n.1, de 07 de outubro de 1981. Aprova os métodos analíticos para controle de produtos de origem animal e seus ingredientes. Publicado no D.O.U. de 13/10/1981.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Decreto 2244/1997. Altera dispositivos do Decreto 30,691/1952, que aprovou o regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal. Diário Oficial da União. Brasília, 05/06/1997.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Portaria 46, de 10 de fevereiro de 1998. Institui o Sistema de Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle nas indústrias de produtos de origem animal sob o regime do Serviço de Inspeção Federal – SIF. Diário Oficial da União. Brasília, 16/03/1998.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa n° 20/1999. Métodos Analíticos físico-químicos para controle de produtos cárneos e seus ingredientes, sal e salmoura. Diário Oficial da União. Brasília, 09/09/1999.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa 04/2000. Regulamentos Técnicos de Identidade e Qualidade de Carne Mecanicamente Separada, de Mortadela, de Lingüiça e de Salsicha. Diário Oficial da União, Brasília, 05/04/2000.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa n° 62/2003. Métodos analíticos oficiais para análises microbiológicas para controle de produtos de origem animal e água. Diário Oficial da União (seção 1). Brasília, 18/09/2003.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa n° 51/2006. Regulamento técnico de atribuição de aditivos e seus limites das seguintes categorias de alimentos: grupo 8 – carnes e produtos cárneos. Diário Oficial da União (seção 1), Brasília, 04/01/2007.

BRASIL. Ministério do Planejamento do Brasil. Renda maior e inflação zero disparam vendas de lingüiça. Disponível em : <http://clipping.planejamento.gov.br/Noticias.asp?NOTCod=421322>, acesso em 15/04/2008.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional da Vigilância Sanitária – ANVISA. Portaria 1428/1993. Aprova o "Regulamento Técnico para Inspeção Sanitária de Alimentos", as "Diretrizes para o Estabelecimento de Boas Práticas de Produção e de Prestação de Serviços na Área de Alimentos" e o "Regulamento Técnico para o Estabelecimento de Padrão de Identidade e Qualidade (PIQ's) para Serviços e Produtos na Área de Alimentos". Diário Oficial da União. Brasília, 02/12/1993.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional da Vigilância Sanitária – ANVISA. Portaria n° 326/97. Aprova o Regulamento Técnico sobre "Condições Higiênic-Sanitárias e de Boas Práticas de Fabricação para Estabelecimentos Produtores/Industrializadores de Alimentos". Diário Oficial da União. Brasília, 01/08/1997.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional da Vigilância Sanitária – ANVISA. Portaria n° 1004/1998. Regulamento Técnico – Atribuição de função de aditivos e seus limites máximos de uso para a categoria 8 – carnes e produtos cárneos. Diário Oficial da União (seção 1), Brasília, 11/12/1998.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional da Vigilância Sanitária – ANVISA. Resolução de Diretoria Colegiada (RDC) n° 12/2001. Aprova o Regulamento Técnico sobre os padrões microbiológicos para alimentos. Diário Oficial da União. Brasília, 10/01/2001.

BORCHERT, L.; CASSENS, R. **Chemical Hazard Analysis For Sodium Nitrite In Meat Curing**. University of Wisconsin, 1998.

BROMBERG, R. Armazenamento da carne e segurança do produto. **Boletim do Centro de Tecnologia da Carne do ITAL**. v. 8, n. 1, 1998. p.2-4.

CALKINS, C. R., HODGEN, J. M., et al. A fresh look at meat flavor. **Meat Science**. v. 77, 2007, p. 63-80.

CARMO, L. S., DIAS, R. S., LINARDI, V. R., SENA, M. J.; SANTOS, D. A. An Outbreak of Staphylococcal Food Poisoning in the Municipality of Passos, Mg, Brazil. **Brazilian Archives of Biology and Technology**. v. 46, 2003, p. 581-586.

CASTAGNA, S. M. F., SCHWARZ, P., CANAL, C. W., CARDOSO, M. R. I. Prevalência de suínos portadores de Salmonella sp. ao abate e contaminação de embutidos tipo frescal. **Acta Scientiae Veterinariae**. V. 32, 2004, P. 141-147.

CASTELLANI, A. G., NIVEN JR, C.F. Factors Affecting the Bacteriostatic Action of Sodium Nitrite. **Applied and Environmental Microbiology**. v. 3, 1955, p. 154-159.

CASSENS, R.; GREASER, M.; ITO,T.; LEE.M. Reactions of Nitrite in Meat. **Food Technology**. v.33. p. 46-57. 1979.

CHASCO, J., LIZASO, G., BERIAIN, M. J. Cured Colour Development during Sausage Processing. **Meat Science**. v. 44, 1996, p. 203-211

CUNHA NETO, A; SILVA, C; STAMFORD, T. Staphylococcus enterotoxigênico em alimentos in natura e processados no estado de Pernambuco, Brasil. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. v.22, 2002, p. 263-271.

DESMARCHELIER, P., FEGAN, N., SMALE, N., SMALL, A. Managing safety and quality through the red meat chain. **Meat Science**. v. 77, 2007, p. 28-35

DOYLE, M; BEUCHAT, L; MONTVILLE, T. **Food Microbiology. Fundamentals and Frontiers**. Washington: American Society for Microbiology, 2001.

EMBRAPA. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Embrapa Suínos e Aves. Levantamento Sistemático da Produção e Abate de Suínos: 2006 e 2007. Versão eletrônica disponível em: www.cnpsa.embrapa.br/down.php?tipo=publicacoes&cod_publicacao=1052 - acesso em 12/04/2008.

EVANGELISTA, J. **Tecnologia de alimentos**. 2^a ed. São Paulo: Atheneu, 2001. p. 410.

FARIA, I. G., FERREIRA, J. M., GARCIA, S. K. Mercado consumidor de carne suína e derivados em Belo Horizonte. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.58, 2006, p.251-256.

FORREST, J; ABERLE, E; HEDRICK, H; JUDGE, M; MERKEL, R. **Principles of meat science**. Zaragoza: Acribia, 1979.

FRANCO, B, LANDGRAF, M. **Microbiologia dos Alimentos**. São Paulo: Atheneu, 2005. p. 29.

GERMANO, M. L.; GERMANO, M.I. **Higiene e vigilância sanitaria de alimentos**. São Paulo: Varela, 2001

GIRARD, J.P. **Tecnología de la carne e de los productos carnicos**. Zaragoza: Acribia, 1991,

GONÇALVES, J. Princípios tecnológicos aplicados ao processamento de embutidos carneos. **Boletim do Centro de Tecnologia da Carne do ITAL**. v. 13, n. 1, 2003. p. 6-8.

HEATON, K.M., CORNFORTH, D. P., MOISEEV, I. V., EGBERT, W. R., CARPENTER, C. E. Minimum sodium nitrite levels for pinking of various cooked meats as related to use of direct or indirect-dried soy isolates in poultry rolls. **Meat Science**. v. 55, 2000, p. 321-329.

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

IARIA, S. *Staphylococcus aureus* enterotoxigênico em doces cremosos vendidos em padarias e confeitarias do município de São Paulo, Brasil. **Revista de Saúde Pública**. v.15, 1981. p. 321-327.

IARIA, S; FURLANETTO, S; CAMPOS. M. Pesquisa de *Staphylococcus aureus* enterotoxigênico nas fossas nasais de manipuladores de alimentos em hospitais, São Paulo, 1976. **Revista de Saúde Pública**. v.14, 1980, p. 93-100.

ICMSF (International Commission on Microbiological Specifications for Foods). **Ecología Microbiana de los Alimentos. II. Productos Alimenticios**. Zaragoza: Acribia, 1985. p. 143-152.

JAFARI, M.; EMAN-DJOMEH, Z. Reducing nitrite content in hot dogs by hurdle technology. *Meat Science*, v. 18, 2007. p. 1488-1493.

JAY, J. **Microbiologia de Alimentos**. Porto Alegre: Artmed, 2005. p. 52-55, 471-485.

KANDEM, S.; PATRIGNANI, F; GUERZONI, 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.

LE LOIR, Y.; BARON, F.; GAUTIER, M. *Staphylococcus aureus* and food poisoning. **Genetics and Molecular Research – online journal**. v. 2, n. 1, 2003. p. 63-76.
Disponível em: http://www.funpecrp.com.br/GMR/year2003/vol1-sim0009_full_text.htm

LEBERT, I., LEROY, S.; GIAMMARINARO, P.; LEBERT, A., CHACORNAC, J. P.; BOVER-CID, S., VIDAL-CAROU, M. C., TALON, R. Diversity of microorganisms in the environment and dry fermented sausages of small traditional French processing units. **Meat Science**. v. 76, 2007, p. 112-122.

LEITÃO, M. Aspectos microbiológicos das carnes. In: CASTILLO, C.; BROMBERG, R.; CIPOLLI, K; MIYAGUSKU, L. **Higiene e Sanitização na Indústria de Carnes e Derivados**. São Paulo: Varela, 2003.

LUCK, E; JAGER, M. **Conservacion química de los alimentos**. Zaragoza: Acribia, 2000.

MAGRA, T. I., BLOUKAS, J. G., FISTA, G. A. Effect of frozen and dried leek on processing and quality characteristics of Greek traditional sausages. **Meat Science**. v. 72, 2006, p. 280-287.

MARCHESI, C. M., CICHOSKI, A. J., ZANOELO, E. F., DARIVA, C. Influência das condições de armazenamento sobre os pigmentos cárneos e a cor do salame italiano fatiado. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. v.26, n.3, 2006, p. 697-704.

MARCO, A., NAVARRO, J. L., FLORES, M. The influence of nitrite and nitrate on microbial, chemical and sensory parameters of show dry fermented sausage. **Meat Science**. v. 73, 2006, p.660-673.

MARQUES, S; BOARI, C; BRCKO, C; NASCIMENTO, A.; PICCOLI, R. Avaliação higiênico-sanitária de lingüiças tipo frescal comercializadas nos municípios de Três Corações e Lavras, MG. **Ciências agrotecnicas**, v. 30, n. 6, 2006. p. 1120-1123,

MASSAGUER, P. **Microbiologia dos processos alimentares**. São Paulo: Varela, 2005.

MASSEY, R.C. Methods for analysis of nitrate and nitrite in food and water. In: HILL, M. **Nitrates and nitrites in food and water**. Cambridge: Woodhead Publishing Limited, 1996.

MATARAGAS, M., SKANDAMIS, P., NYCHAS, G.J. E., DROSINOS, E. H. Modeling and predicting spoilage of cooked, cured meat products by multivariate analysis. **Meat Science**. v. 77, 2007, 348-356.

MEAD et al. Food-Related Illness and Death in the United States. **Emerging Infections Disease**. v.5, n. 5, p. 607-625. 1999.

MILANI, L.; FRIES, L. PAZ, P., BELLÉ, M.; TERRA, N. Bioproteção de lingüiça de frango. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. v. 23, 2003. p. 161-166.

MOSCARDI, S.M.P. Qualidade higiênico-sanitária de lingüiças frescas comercializadas em Botucatu, SP. 2006. 56 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) - Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Campus de Botucatu, SP.

MOREIRA, P. L.; RALL, V.L.M.; PINTO, J.P.A.N. Avaliação higiênico-sanitária de condimentos comercializados na cidade de Botucatu. In: V Jornada de Nutrição da UNESP de Botucatu, 2005, Botucatu. Resumos da V Jornada de Nutrição da Unesp de Botucatu, 2005. p. 42-42.

MURMANN, L.; SANTOS, M.C.; CARDOSO, M. Curvas de crescimento e destruição térmica de sorovares de *Salmonella* sp. isolados de lingüiça frescal de carne suína. **Acta Scientiae Veterinariae**. v.35, n. 3, 2007. p. 309-313.

NYCHAS, G.J .E.; SKANDAMIS, P. N.; TASSOU, C. C., KOUTSOUMANIS, K. P. Meat spoilage during distribution. **Meat Science**. v. 78, 2008, p. 77-89

OLESEN, P. T., STAHNKE, L. H., TALON, R. Effect of ascorbate, nitrate and nitrite on the amount of flavour compounds produced from leucine by *Staphylococcus xylosus* and *Staphylococcus carnosus*. **Meat Science**. v. 68, 2004, p. 193-200.

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

OLIVEIRA, S.; TOLEDO, F.; FREIRE, J.; RODRIGUES, A.; NOGUEIRA, H.; MONTI, J. Determinação de nitritos e nitratos em lingüiças comercializadas na região de Bragança Paulista. **Lecta – USF**. v.18, n.1. 2000. p. 91-96.

OLIVO, R; OLIVO, N. O mundo das carnes – ciência, tecnologia e mercado. 3° ed. São Paulo: Global Food, 2006.

ORDONEZ, J.; RODRIGUEZ, M.; ÁLVAREZ, L.; SANZ, M.; MINGUILLON, G.; PERALES, L.; CORTECERO, M. *Tecnología de Alimentos: Alimentos de origem animal*. V. 2. Porto Alegre: Artmed, 2005.

PAIXAO, 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, 2007, p.181-191

PARDI et al. **Ciência, Higiene e Tecnologia da Carne – Tecnologia da carne e de subprodutos. Processamento tecnológico**. v.II. Goiânia: Editora de UFG, 1996. p. 215.

PATTRON, D. An Observational Study of The Awareness of Food Safety Practices in Households in Trinidad. **Internet Journal of Food Safety**. v.8, n.1. 2006. p.4-18.

PEGG, R.; SHAHIDI, F. **Nitrite curing of meat. The N-nitrosamine problem and nitrite alternatives**. 2004. Blackwell Publishing, 2004.

PENNINGTON, J. Dietary exposure models for nitrates and nitrites. **Food Control**. v. 9. 1998. p. 385-395.

PORTO, E. Microbiologia de carnes. In: CONTRERA-CASTILLO, J. **Qualidade da carne**. São Paulo: Varela, 2006.

PRICE, J.; SCHWEIGERT, B. **Ciência de la carne y de los productos carnicos**. 2.ed. Zaragoza: Acribia, 1994. 581p.

ROMANS, J.; COSTELLO, W.; CARLSON, C.; GREASER, M. **The meat we eat**. 13 ed. Danville: Interstate Printers and Publishers Inc, 1994. 780 p.

SABIONI, J.G.; MAIA, A.R.P.; LEAL, J.A. Avaliação microbiológica de lingüiça frescal comercializada na cidade de Ouro Preto – MG. **Higiene Alimentar**. v. 13. p. 110-113. 1999.

SALVATORI, R. U., BESSA, M. C. Qualidade Sanitária de embutidos coletados no mercado público central de Porto Alegre-RS. **Ciência Rural**. v.33, 2003, p. 771-773.

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

SKROKKI, A. Additives in Finnish Sausages and Other Meat Products. **Meat Science**. v. 39, 1995, p. 311-315.

SOUSA, C.; FARIA, C.; NEVES, E. Avaliação da temperatura de balcões e câmaras frias de armazenamento de queijos e embutidos em supermercados da cidade de Belem –PA (BRASIL). **Boletim do CEPPA**. v.21, n.1, 2003. p. 181-192.

TALON, R.; LEBERT, A.; LEROY, S.; GARRIGA, M.; AYMERICH, T.; DROSINOS, E.; ZANARDI, E.; IANIERI, A.; FRAQUEZA, M.; PATARATA, L.; LAUKOVA, A. Traditional dry fermented sausages produced in small-scale processing units in Mediterranean countries and Slovakia. 1: Microbial ecosystems of processing environments. **Meat Science**. v. 77, 2007. p. 570-579.

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

TERRA, N. in SHIMOKOMAKI, M.; OLIVO, R; TERRA, N; FRANCO, B. **Atualidades em Ciência e Tecnologia de Carnes**. São Paulo: Varela, 2006.

TERRA, N., CICHOSKI, A. J., FREITAS, R. J. S. Valores de nitrito e TBARS durante o processamento e armazenamento da paleta suína curada, maturada e fermentada. **Ciência Rural**. v. 36, 2006, p. 965-970.

THOMAZELLA, F.M.D.; ALFANI, R.; PINTO, J.P.A.N. Matéria-prima e ingredientes como fonte de contaminação de lingüiças frescas por *Salmonella* spp.. In: III Simpósio Internacional de Inocuidade de Alimentos, 2004, São Paulo. Programa e resumos do III Simpósio Internacional de Inocuidade de Alimentos, 2004.

TOMPKIN, R. B., AMBROSINO, J. M. , STOZEK, S. K. Effect of pH, Sodium Chloride, and Sodium Nitrite on Enterotoxin A Production. **Applied Microbiology**. v. 26, 1973, p.833-837.

TRAMONTINI, P. Consumo da carne suína: a experiência brasileira. In: SEMINÁRIO INTERNACIONAL DE SUINOCULTURA, 5., São Paulo, 2000. *Anais...* São Paulo, 2000. p.6-11.

TRINDADE, M., PACHECO, T., CONTRERAS-CASTILLO, C, FELICIO, P. Estabilidade oxidativa e microbiológica em carne de galinha mecanicamente separada e adicionada de antioxidantes durante período de armazenamento a –18°C. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. v.28, n. 1, 2008, p. 160-168.

U.S. Code of Federal Regulations. Food and Drugs. Title 21, Part 172: Food Additives Permitted for Direct addition to food for human consumption. Section 170 (sodium nitrate) e 175 (sodium nitrite). 2007.

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

VASCONCELOS, J.C. ; IARIA, S.T. Condições Microbiológicas (higiênico-sanitárias) das lingüiças frescas comercializadas em feiras livres no município de São Paulo – SP. **Boletim do Centro de Pesquisa e Processamento de Alimentos**, São Paulo, v. 9, n. 1, p. 64-75, jan./jun., 1991.

VIGNOLO, G., FADDA, S., KAIRUZ, M. N., HOLGADO, A. P. R., OLIVER, G. Effects of curing additives on the control of *Listeria monocytogenes* by lactocin 705 in meat slurry. **Food Microbiology**. v.15, 1998, p. 259-264.

ZOCHE, F.; BERSOT, L. S.; BARCELLOS, V. C.; FELIPETTO, A. ; ROSA, S.T.M. Estudo da disseminação de *Salmonella* sp. no processamento industrial de salames. In: XXII Congresso Brasileiro de Microbiologia 2003, 2003, Florianópolis-SC. XXII CBM, 2003.

WALTERS, C. L. Nitrate and nitrite in foods. In: HILL, M. **Nitrates and nitrites in food and water**. Cambridge: Woodhead Publishing Limited, 1996.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Technical Report Series 859 - Evaluation of certain food additives and contaminants. 44th report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. Genebra, 1996.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Global Strategy for food safety: safer food for better health. Genebra, 2002. Disponível em: http://www.who.int/foodsafety/publications/general/en/strategy_en.pdf, acesso 25/04/2008.

3M. **Petrifilm Count Plates – Instruction Manual**. 2000. Disponível em: <http://multimedia.3m.com/mws/mediawebserver>

ANEXO 1 – FICHA TÉCNICA ERITORBATO DE SÓDIO

EP0633 - 07

ERITORBATO DE SÓDIO**APRESENTAÇÃO**

O ERITORBATO DE SÓDIO é um agente redutor que quando adicionado em um produto cárneo apresenta as seguintes vantagens: proporciona a completa redução do nitrito em óxido nítrico; processa a conversão da metamioglobina em mioglobina; elimina as reações lentas e incompletas; reduz o tempo de cozimento e defumação, permitindo que o produto chegue na cor desejada antes de alcançar a temperatura interna de pasteurização. O resíduo do Eritorbato de Sódio proporciona a fixação da cor no produto final.

INDICAÇÃO

É indicado na conservação de carne e subprodutos (presuntos, salames), no armazenamento de congelados e produtos pesqueiros na conservação de frutas, verduras, bebidas entre outros. É utilizado também em produtos embutidos e tratados para melhorar a cor e acelerar o processo de cura.

COMPOSIÇÃO

Pureza	99,7 A 100 %
Metais pesados	Máx. 10 ppm
Chumbo	Máx. 1 ppm

ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS

Ausência de microrganismos patogênicos e halófilos em 25g.

ASPECTOS

Cor	branca
Sabor	característico
Odor	característico
Forma	cristais granulados
pH	5,8 a 8,0
Solubilidade	15g/100ml

UTILIZAÇÃO

Para produtos à base de carne: 550 mg de ERITORBATO DE SÓDIO para 1 kg de carne. Dissolver o produto em 1L de água, adicionando a solução 3 min antes do término da picagem da carne.

Obs: Não deve ser dissolvido em recipiente de níquel, ferro ou bronze.

ARMAZENAMENTO

Conservar em local seco e fresco.

EMBALAGEM

Caixas de papelão ondulado com peso líquido de 25kg.

PRAZO DE VALIDADE

24 meses a partir da data de fabricação.

ANEXO 2 – FICHA TÉCNICA SAIS DE CURA

FICHA TÉCNICA DE PRODUTO

PÓ PRAGUE

Sal de cura para carne

CARACTERÍSTICAS FÍSICO - QUÍMICAS

Aspecto	: cristais finos de coloração branca
pH(solução à 10%)	: 6,5 à 10,5
Teor de Nitrito de Sódio(%)	: 5,6 à 6,2
Teor de Nitrato de Sódio(%)	: 3,5 à 4,1
Teor de Cloreto de Sódio(%)	: 87 à 90
Metais pesados	: menor que 10 ppm
Arsênico	: menor que 3 ppm
Contém	: sal refinado, conservadores Nitrato e Nitrito de Sódio.

MODO DE USO

Na massa: 300 gramas para cada 100 quilos de carne; na salmoura: 3,3 quilos para 100 litros de água; para cura seca: 600 a 800 gramas para 100 quilos de carne misturado com sal refinado e açúcar. Indicado para uso em produtos carnes curados e cozidos.

EMBALAGEM

À granel, em saco multifoldado revestido internamente com polietileno, contendo 30 kg do produto; ou em sacos multifoldados de 40 kg, contendo pacotes de 1 kg em polipropileno.

ARMAZENAMENTO

Conservar a embalagem fechada, em local seco e arejado, protegida do calor e da luz solar direta.

VALIDADE DO PRODUTO

6 meses após a data de fabricação.