

**PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DO PARANÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E AMBIENTAIS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO STRICTO SENSU
NÍVEL DE MESTRADO EM CIÊNCIA ANIMAL**

TALLITA KAROLLINE NUNES

**DESENVOLVIMENTO DE SALSICHA ISENTA DE NITRATO E
NITRITO COM ATIVIDADE DE ÁGUA REDUZIDA**

(Development of sausage free of nitrate and nitrite and with water activity reduced)

SÃO JOSÉ DOS PINHAIS

2011

TALLITA KAROLLINE NUNES

**DESENVOLVIMENTO DE SALSICHA ISENTA DE NITRATO E
NITRITO COM ATIVIDADE DE ÁGUA REDUZIDA**

(Development of sausage free of nitrate and nitrite and with water activity reduced)

Dissertação Apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal. Área de concentração: Produção e Tecnologia de produtos de origem animal, do Setor de Ciências Agrárias e Ambientais da Pontifícia Universidade Católica do Paraná, para Obtenção do Título de Mestre em Ciência Animal.

Orientador: Profa. Dra. Laura B. Karam

Co-Orientador: Profa. Dra. Nery N. de Lima

SÃO JOSÉ DOS PINHAIS

2011



Pontifícia Universidade Católica do Paraná
Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal
Câmpus São José dos Pinhais

**ATA nº 0023 E PARECER FINAL DA DEFESA DE DISSERTAÇÃO DE
MESTRADO EM CIÊNCIA ANIMAL DA ALUNA TALLITA KAROLLINE
NUNES**

Aos vinte e cinco dias do mês de agosto do ano de dois mil e onze, às 14h00min, realizou-se no anfiteatro do Mestrado em Ciência Animal do Campus São José dos Pinhais da Pontifícia Universidade Católica do Paraná, localizada na Rodovia 376 – Km 14 – São José dos Pinhais - PR, a sessão pública de defesa da Dissertação da Mestranda Tallita Karolline Nunes: “**DESENVOLVIMENTO DE SALSICHA ISENTA DE NITRATO E NITRITO COM ATIVIDADE DE ÁGUA REDUZIDA**”. A Mestranda concluiu os créditos exigidos para obtenção do título de Mestre em Ciência Animal, segundo os registros constantes na secretaria do Programa. Os trabalhos foram conduzidos pela Professora orientadora e Presidente da banca, Dra. Laura Beatriz Karam (PUCPR), auxiliada pelas Professoras Doutoras, Diana Thomé Fachin (PUCPR) e Marcia Regina Beux (UFPR). Procedeu-se à exposição da Dissertação, seguida de sua arguição pública e defesa. Encerrada a fase, as examinadoras expediram o parecer final sobre a Dissertação, que nos termos do Artigo 53 do Regulamento deste Programa de Pós-Graduação, foi considerada

aprovada.

Profa. Dra. Laura Beatriz Karam (Presidente)

Assinatura Laura B. Karam

Profa. Dra. Diana Thomé Fachin (PUCPR)

Assinatura dfachin

Profa. Dra. Marcia Regina Beux (UFPR)

Assinatura marciaregina

Proclamado o resultado, a Presidente da Banca Examinadora encerrou os trabalhos e para que tudo conste, eu, Caroline Nocera, confiro e assino a presente ata juntamente com os membros da Banca Examinadora.

São José dos Pinhais, 25 de agosto de 2011.

Cristina Santos Sotomaior
Profa. Dra. Cristina Santos Sotomaior

Coordenadora do Programa de Pós Graduação em Ciência Animal

Caroline Nocera

**Caroline Nocera
Secretária do PPGCA**

AGRADECIMENTOS

A Deus, meu melhor amigo que ilumina todos os meus dias.

Aos meus queridos pais, Cristiane e Marcelo, pelo exemplo de perseverança, pelo grande amor dedicado a mim e ao Marcelinho. É por vocês que todos os dias, quero fazer o meu melhor.

Ao meu irmão Marcelinho, pelo amor, amizade e dedicação constante em todos os momentos da minha vida.

Ao meu noivo Paulo, meu companheiro em todas as horas. Obrigada pela ajuda durante esse trabalho, pelo amor, paciência e por estarmos juntos em mais esta etapa das nossas vidas.

À Prof^a. Dr^a. Laura Beatriz Karam de Lima, pela oportunidade de cursar o mestrado, por me receber em seu projeto, pelo privilégio de poder contar com a sua orientação e pela grande amizade e carinho dedicados durante todo o trabalho. Muito obrigada, pela disponibilidade em todos os momentos, sem se importar com final de semana, dia ou noite, sempre presente quando eu precisei.

À Prof^a. Dr^a. Nery Nishimura de Lima, muito obrigada pela amizade e dedicação, sempre me recebendo com muito carinho. Pela inesquecível oportunidade de ser sua orientada, depositando confiança em meu trabalho e possibilitando o meu aprimoramento profissional com seus preciosos ensinamentos.

À Prof^a. Dr^a. Diana Thomé Fachin e à Prof^a. Dr^a. Márcia Regina Beux, membros da banca examinadora, pela disponibilidade em avaliar este trabalho. Minha gratidão por terem acrescentado valiosos ensinamentos e pela ajuda e disposição a qualquer momento.

À Prof^a. Dr^a. Cinthia Bittencourt Spricigo, ao Prof. Dr. Álvaro Cesar Camargo do Amarante, à Prof^a. Dr^a. Renata Ernlund Freitas de Macedo e ao Prof. Dr. Peter

Gaberz Kirschnik, pela contribuição nas correções e ensinamentos transmitidos durante o trabalho, que contribuíram para o aprimoramento dessa pesquisa.

À querida amiga Aline Costa Beltramin, exemplo de organização e determinação. Com quem passei muitos dias no laboratório. Sua ajuda foi fundamental, obrigada!

Aos meus caros colegas de mestrado Bruna, Jorge e Luciane, pela amizade, convivência e apoio na realização dos experimentos.

À Débora Longhi e à Patrícia Beck, minhas irmãs de coração. Obrigada por todo apoio desde o início e as valiosas palavras de incentivo.

À empresa Anew, obrigada pela bolsa de estudo, que foi fundamental para eu realizar o projeto e cursar o mestrado.

À PUCPR, por apoiar a pesquisa e disponibilizar a estrutura física para realização deste trabalho.

Às empresas Frigorífico Juliatto, Parnaplast, Duas Rodas Industrial, Granotec e CornProducts, que gentilmente colaboraram para a realização desse trabalho.

E a todos os professores, técnicos e funcionários da PUCPR que estiveram presentes e auxiliaram direta ou indiretamente em todo esse projeto, contribuindo para a minha formação profissional.

Muito Obrigada!

SUMÁRIO

AGRADECIMENTOS	III
SUMÁRIO	V
LISTA DE ILUSTRAÇÕES	VIII
LISTA DE TABELAS	IIX
LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS	X
RESUMO GERAL	1
GENERAL ABSTRACT	2
CAPÍTULO 1 - APLICAÇÃO DE BARREIRAS TECNOLÓGICAS NO DESENVOLVIMENTO DE SALSICHA ISENTA DE NITRATO E NITRITO – REVISÃO	4
RESUMO	4
ABSTRACT -	5
1 INTRODUÇÃO	5
2 REVISÃO	7
2.1 INDÚSTRIA DA CARNE.....	7
2.2 PRODUTOS CÁRNEOS INDUSTRIALIZADOS	8
2.3 PRINCIPAIS MICRO-ORGANISMOS EM CARNE E DERIVADOS.....	10
2.3.1 Micro-organismos que comprometem a conservação de salsicha.....	11
2.4 MÉTODOS DE CONSERVAÇÃO DA CARNE E DERIVADOS CÁRNEOS	13
2.5 APLICAÇÃO DE NITRITO E NITRATO EM PRODUTOS CÁRNEOS CURADOS COMO SALSICHA.....	14
2.6 TOXICIDADE DO NITRITO E NITRATO.....	17
2.7 BARREIRAS TECNOLÓGICAS - TEORIA DOS OBSTÁCULOS	19
2.8 PRINCIPAIS BARREIRAS TECNOLÓGICAS UTILIZADAS PARA A CONSERVAÇÃO DE EMBUTIDOS CÁRNEOS	20
2.8.1 Ajuste do pH.....	21
2.8.2 Redução da Atividade de Água (Aa).....	22
2.8.3 Pasteurização como tratamento térmico em produtos cárneos.....	24
2.8.4 Aplicação de refrigeração durante a estocagem dos produtos cárneos.....	24
2.8.5 Embalagem a vácuo.....	26

CONSIDERAÇÕES FINAIS	27
REFERÊNCIAS	29
CAPÍTULO 2 - DESENVOLVIMENTO DE SALSICHA ISENTA DE NITRATO E NITRITO COM ATIVIDADE DE ÁGUA REDUZIDA	34
RESUMO	34
ABSTRACT	35
1. INTRODUÇÃO	35
2 MATERIAIS E MÉTODO	39
2.1 DEFINIÇÃO DA FORMULAÇÃO DA SALSICHA	39
2.1.1 Planejamento experimental para redução da atividade de água.....	39
2.1.2 Formulação controle.....	39
2.1.3 Processo de produção	39
2.2 CARACTERIZAÇÃO DO PRODUTO	41
2.2.1 Determinação do pH e atividade de água (Aa)	41
2.2.2 Composição química.....	42
2.2.3 Avaliação Sensorial <i>in home</i>	42
2.3 ANÁLISE ESTATÍSTICA DOS DADOS	43
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	44
3.1 DEFINIÇÃO DA FORMULAÇÃO DA SALSICHA	44
3.2 CARACTERIZAÇÃO DO PRODUTO.....	47
3.2.1 Determinação do pH e atividade de água (Aa)	47
3.2.2 Composição química.....	48
3.2.3 Avaliação Sensorial <i>in home</i>	50
4 CONCLUSÃO	53
REFERÊNCIAS	54
CAPÍTULO 3 - ESTUDO DA ESTABILIDADE DURANTE A ESTOCAGEM DE SALSICHA ISENTA DE NITRATO E NITRITO COM ATIVIDADE DE ÁGUA REDUZIDA	58
RESUMO	58
ABSTRACT	59
1. INTRODUÇÃO	60

2 MATERIAIS E MÉTODO.....	62
2.1 MATERIAL	62
2.2 DETERMINAÇÃO DA ESTABILIDADE DURANTE A ESTOCAGEM	62
2.2.1 Cor instrumental	62
2.2.2 Perfil de textura instrumental.....	63
2.2.3 Oxidação lipídica	63
2.2.4 Análise microbiológica.....	64
2.2.5 Teste de aceitabilidade em cabine.....	65
2.3 ANÁLISE ESTATÍSTICA DOS DADOS	65
3.1 ESTABILIDADE DURANTE A ESTOCAGEM.....	66
3.3.1 Cor.....	66
3.3.2 Perfil de textura	71
3.3.3 Oxidação lipídica	72
3.3.4 Análise microbiológica.....	74
3.3.5 Teste de aceitabilidade em cabine.....	75
4. CONCLUSÃO	78
REFERÊNCIAS.....	79
ANEXO A – APRESENTAÇÃO DA ANÁLISE SENSORIAL “IN HOME”	83
ANEXO B – FICHA DE CARACTERIZAÇÃO DA FAMÍLIA DE PROVADORES	84
ANEXO C – FICHA DE AVALIAÇÃO DO PRODUTO.....	86
ANEXO D – FICHA DE AVALIAÇÃO DO PRODUTO.....	86

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

CAPÍTULO 1

Figura 1. Reações químicas da mioglobina durante o processo de cura. 17

Figura 2. Exemplos da aplicação da Teoria dos Obstáculos..... 20

CAPÍTULO 2

Figura 1. Fluxograma do processo de produção da salsicha 40

Figura 2. Gráfico de Superfície de Metodologia de Resposta gerado para o desenvolvimento de salsicha sem nitrato/nitrito com atividade de água reduzida..... 46

Figura 3. Aceitação geral da família que participaram da análise sensorial *in home* ao avaliar a salsicha isenta de nitrato e nitrito com atividade de água reduzida, correspondente ao Tratamento A. 51

Figura 4. Avaliação sensorial geral da salsicha do Tratamento A, por provador. 52

CAPÍTULO 3

Figura 1. Luminosidade determinada nas amostras de salsicha do Controle e nas amostras de salsicha do Tratamento A, no 1º e 45º dia de estocagem..... 66

Figura 2. Componente vermelho-verde determinado nas amostras de salsicha do Controle e nas amostras de salsicha do Tratamento A, no 1º e 45º dia de estocagem..... 68

Figura 3. Componente amarelo-azul determinado nas amostras de salsicha do Controle e nas amostras de salsicha do Tratamento A, no 1º e 45º dia de estocagem..... 69

Figura 4. Diagrama de cromaticidade determinado para as amostras de salsicha do Controle e para as amostras de salsichas do Tratamento A, no 1º e 45º dia de estocagem..... 70

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 1

- Tabela 1.** Condições limite ou ótimas para o desenvolvimento e formação de esporo para os micro-organismos que comprometem a conservação de salsicha. ...12
- Tabela 2.** Concentrações máximas, permitidas pela legislação brasileira, para a ação conservante do nitrito e nitrato em produtos cárneos. 15
- Tabela 3.** Valores mínimos de Aa para o desenvolvimento de alguns micro-organismos patogênicos (nas condições ideais de pH e temperatura).23

CAPÍTULO 2

- Tabela 1.** Valores codificados de sal e dextrose utilizados no planejamento fatorial completo 2² com 3 repetições no ponto central e a variável resposta atividade de água. 44
- Tabela 2.** Quantidade de cada matéria-prima e insumos utilizados na formulação da salsicha isenta de nitrato e nitrito com atividade de água reduzida (Tratamento A)..... 46
- Tabela 3.** Valor de pH e atividade de água para Tratamento A e Controle..... 47
- Tabela 4.** Composição centesimal da formulação de salsicha referente ao Tratamento A e os limites máximos, estabelecidos pela legislação brasileira..... 49
- Tabela 5.** Avaliação sensorial de aceitação, realizado *in home*, da salsicha do Tratamento A, média por provador..... 51

CAPÍTULO 3

- Tabela 1.** Atributos determinados no perfil de textura para as amostras de salsicha Controle e para as amostras de salsicha do Tratamento A, durante a estocagem de 1 e 45 dias.71
- Tabela 2.** Dados de TBARS, em gramas de malonaldeído por quilograma de produto, para o Controle e para o Tratamento A, no primeiro e último dia de estocagem..... 73

Tabela 3. Resultado das análises microbiológicas para as amostras de salsicha do Tratamento A, nos dias 1 e 45 de estocagem e os limites máximos, estabelecidos pela legislação brasileira	74
Tabela 4. Avaliação sensorial de aceitação, realizado em cabine, da salsicha correspondente ao Tratamento A, média por provador.....	76

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

Aa	- atividade de água
ABCS	- Associação Brasileira dos Criadores de Suínos
ABIPECS	- Associação Brasileira da Indústria Produtora e Exportadora de Carne Suína
ANVISA	- Agência Nacional de Vigilância Sanitária
g/100g	- gramas por cem gramas de produto
MAPA	- Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento
NMP/g	- número mais provável por grama
NO	- óxido nitroso
NO ₂ ⁻	- Nitrito
NO ₃ ⁻	- Nitrato
ppm	- partes por milhão
RDC	- resolução
SIF	- Serviço de Inspeção Federal
TBARS	- ácido tiobarbitúrico
UFC	- unidade formadora de colônia

RESUMO GERAL

Os nitratos e nitritos são os principais agentes químicos utilizados na conservação de salsicha, derivado cárneo muito popular em diversas culturas. Apesar das importantes funções tecnológicas em produtos cárneos curados, a aplicação desses conservantes preocupa a saúde pública, devido aos efeitos tóxicos do nitrito que podem dar origem a substâncias consideradas carcinogênicas, mutagênicas e teratogênicas. O objetivo desse trabalho, no primeiro capítulo, é apresentar o conceito e a importância da utilização das barreiras tecnológicas na conservação dos alimentos e mostrar a aplicação dessas barreiras na conservação de salsicha. No segundo capítulo, o objetivo é desenvolver uma formulação de salsicha isenta de nitrito e nitrato com atividade de água reduzida para valores inferiores a 0,95 (Tratamento A) e o objetivo do terceiro capítulo é avaliar a estabilidade de cor, a oxidação lipídica e o perfil de textura da salsicha desenvolvida (Tratamento A), no 1º e 45º dia de estocagem, comparando-a com uma formulação da salsicha comercial (Controle), com adição de nitrato/nitrito, ambos os produtos embalados a vácuo e conservados sob refrigeração (4 °C). Foi comprovado, a partir da revisão de literatura, que as barreiras tecnológicas, combinação eficaz de diversos métodos de conservação, garantem tratamentos de conservação mais brandos e podem reduzir ou até suprimir a aplicação dos conservantes químicos nitrato/nitrito na produção de salsicha. Através da revisão de literatura foram determinados os principais micro-organismos que comprometem a conservação da salsicha e foi verificado que a redução da atividade de água é uma das principais barreiras tecnológicas para o controle do *Clostridium botulinum*, considerado o principal micro-organismo patogênico em salsicha porque produzir toxina letal ao ser humano. Para definir a formulação do Tratamento A, foi utilizada a Metodologia de Superfície de Resposta a fim de determinar a proporção da dextrose e cloreto de sódio, utilizados na formulação para reduzir a atividade de água. O produto desenvolvido no Tratamento A, isento de nitrato/nitrito, resultou em uma salsicha com atividade de água igual a $0,946 \pm 0,003$. Ambos os produtos, Tratamento A e Controle, apresentaram oxidação lipídica, sendo maior na salsicha Controle. A coloração rósea, comum nos produtos curados, não foi obtida no Tratamento A. Para os dois tratamentos, durante a estocagem, houve redução significativa, em nível de 5%, dos atributos de dureza, gomosidade e mastigabilidade, porém a elasticidade dos produtos manteve-se constante e a coesividade aumentou significativamente. A salsicha correspondente ao Tratamento A obteve boa aceitação na avaliação sensorial em *in home* com 73% de aprovação pelos provadores. Nos testes de aceitação sensorial do produto realizado em cabine, os atributos de sabor, textura e aparência geral foram avaliados em uma Escala Hedônica de 9 pontos entre 'gostei extremamente' e 'desgostei extremamente' e o produto também foi considerado aceito. O shelf-life da salsicha, embalada a vácuo e refrigerada (4 °C), com atividade de água igual a $0,946 \pm 0,003$ e isenta de nitrito e nitrato (Tratamento A), foi definida como 45 dias, período em que o produto atendeu aos padrões microbiológicos para alimentos da legislação brasileira e apresentou estabilidade em relação as características físicas, físico-químicas e sensoriais.

Palavras-chaves: Atividade de água. Barreiras tecnológicas na conservação de carnes e derivados cárneos. Conservantes químicos. Desenvolvimento de produto.

GENERAL ABSTRACT

Nitrite and Nitrate are the principal chemical agents for preservation of sausage, which is a meat product very famous in different cultures. Although the important technologies functions in cooked-cured meat products, the application of these preservative preoccupation the public health, because the toxics effects of nitrite can produce carcinogenic, mutagenic and teratogenic substances. In this study, the first chapter introduces the concept and the importance of hurdle technologies in food conservation and it shows the relevance this hurdle in preservation of sausage. In the second chapter, the objective is development of a formulation of sausage free of nitrite and of nitrate and with water activity reduced for the values below 0.95 and in the third chapter the objective is evaluate the color stability, the lipid oxidation and the texture profile of a sausage developed, in 1st and 45th days of storage, comparing the sausage developed with a formulation of the sausage control/commercial, which have nitrate/nitrite, both products are vacuum packed and stored under refrigeration (4 °C). The review of the literature proved that the hurdle technologies are effective combination of a lot of methods of preservation for foods and with these hurdle is possible obtain soft methods of preservation and reduce or eliminate the application of chemical preservative, nitrite and nitrate, in production of cooked-cured meat products. Through of literature review, the principals microorganisms that affect the preservation of sausage were determined and the review showed also that reduce of water activity is an important hurdle technology protection against the *Clostridium botulinum*, after all it is the main pathogenic microorganism in sausage because it may produce a lethal toxin for human being. Using the Response Surface Methodology was possible define the formulation of sausage and determine the relation of dextrose and of sodium chloride utilized in formulation. The additives dextrose and sodium chloride were applied to reduce the water activity. The product developed, free of nitrate/nitrite, result in a sausage with water activity equals $0.946 \pm 0,003$. Both products, the new sausage and the commercial sausage, with nitrate/nitrite, had lipid oxidation, but in the commercial product the oxidation was larger. The sausage with free nitrate/nitrite and lowest water activity didn't obtain the characteristic pink color. In the two treatments, during storage, the attributes of hardness, gumminess and chewiness decreased significant, in level of 5%, however, the springiness of the products remained constant and the cohesiveness increase significantly ($p < 0.05$). The product developed had a well acceptance in the sensory analysis in home with 73% approval by the panelists. In the tests of acceptability sensory of product realized in cabin, the attributes taste, texture and general appearance were evaluation with the range with 9 point between 'like extremely' and 'don't like extremely' and the product was also considered accept. The shelf life of the sausage with water activity equals $0.946 \pm 0,003$ and free of nitrate/nitrite, when vacuum packing and stored under refrigeration (4 °C), was defined like 45 days, period in which the product attended the microbiological standards for foods, based in Brazilians laws, and the physical, physical-chemicals and sensory characteristics of the product was stable.

Keywords: Water activity. Hurdle technologies in conservation of meat and meat products. Chemical preservatives. Development of products.

CAPÍTULO 1

APLICAÇÃO DE BARREIRAS TECNOLÓGICAS NO DESENVOLVIMENTO DE SALSICHA ISENTA DE NITRATO E NITRITO – Revisão

(Application of hurdle technologies in development of sausage free of nitrate and nitrite – Review)

APLICAÇÃO DE BARREIRAS TECNOLÓGICAS NO DESENVOLVIMENTO DE SALSICHA ISENTA DE NITRATO E NITRITO – Revisão

(Application of hurdle technologies in development of sausage free of nitrate and nitrite – Review)

Tallita Karolline Nunes¹; Nery Nishimura de Lima²; Laura Beatriz Karam³

¹ Mestranda do Programa em Ciência Animal, Pontifícia Universidade Católica do Paraná

² Professora Doutora, curso de Engenharia de Alimentos, Pontifícia Universidade Católica do Paraná,

³ Professora Doutora, programa de Mestrado em Ciência Animal, Pontifícia Universidade Católica do Paraná.

RESUMO – Na conservação de salsicha, os principais agentes químicos utilizados são os nitratos e nitritos. A utilização desses aditivos em embutidos cárneos tem como principal função impedir o desenvolvimento de *Clostridium botulinum*, micro-organismo com grande potencial patogênico. Além da função tecnológica de conservação, esses agentes conservadores também são responsáveis pelo desenvolvimento da cor rósea, sabor e textura dos produtos cárneos curados. Entretanto, a aplicação desses conservantes químicos em alimentos preocupa a saúde pública, porque o nitrito, quando ingerido em excesso, pode dar origem a substâncias consideradas carcinogênicas. O objetivo desse artigo de revisão é apresentar o conceito e a importância da utilização das barreiras tecnológicas na conservação dos alimentos e mostrar a aplicação dessas barreiras na conservação de salsicha, derivado cárneo de grande consumo mundial. A redução da atividade de água em salsicha para valores inferiores a 0,95 é uma importante barreira tecnológica, pois quanto aplicada não há necessidade de usar o nitrito como agente conservante. O cozimento durante o processo de produção da salsicha é a barreira tecnológica tratamento térmico e a aplicação das barreiras tecnológicas refrigeração e embalagem a vácuo, durante a estocagem, aumentam a vida de prateleira do produto. Então, quando utilizadas na produção de salsicha, as barreiras tecnológicas, combinação eficaz de diversos métodos de conservação, são essenciais para garantir tratamentos de conservação mais brandos e reduzir ou até suprimir a necessidade da aplicação dos conservantes químicos nitrato e nitrito.

Palavras-chave: método de conservação de carnes e derivados cárneos. Conservantes químicos. Micro-organismos em carne e derivados. Toxidade do nitrito e nitrato.

ABSTRACT - In the conservation of sausages, the main chemical additives used are nitrates and nitrites. When used in meat emulsion system, these additives have the main function of providing requisite protection against *Clostridium botulinum*, a microorganism that is special because its big pathogenic potential. In addition, these chemical agents are responsible for producing the characteristic pink color, flavor and texture in cooked-cured meat products. However, the public health very concerned about the use of these chemical preservatives in foods, because, when consumed in excess, the nitrite may produce carcinogen substances. The present review introduces the concept and the importance of hurdle technology in food conservation and it shows these hurdles in the stability, safety and quality of sausage, that has a high worldwide consumption. The reduction of the water activity to values below 0.95 is an important hurdle technology, after all, the effects of nitrite like preservatives aren't necessary when this hurdle is applying. In the process of production, the cooking of sausage is the hurdle of heating. Application of refrigeration and of vacuum packing like hurdle technologies increase shelf life of the sausage during storage. Then, the hurdle technologies are an effective combination of a lot of methods of preservation for foods and they are essential to obtain soft methods of preservation and reduce or eliminate the use of nitrite and nitrate like chemical preservatives in cooked-cured meat products.

Keywords: Methods of conservation in meat and meat products. Chemical preservatives. Microorganisms present in meat and meat products. Toxicity of nitrite and nitrate.

1 INTRODUÇÃO

No Brasil, o consumo anual de carne, em 2009, foi de aproximadamente 14 quilos por habitante (KALSCHNE et al., 2010). Somente três quilos desse total equivalem à carne fresca, o restante é consumido na forma de embutidos, como salsichas (OLIVEIRA, 2008). Esse baixo consumo de carne *in natura* no mercado brasileiro é justificado pela aproximação dos produtos embutidos às necessidades dos consumidores, que preferem alimentos de preparo rápido (THOMAS et al., 2008), e em parte por desinteresse das agroindústrias (GIROTTO, 2005), onde agregar valor com a industrialização dos produtos é a expressão de ordem (SARMENTO, 2006).

As indústrias de alimentos procuram eliminar os riscos à saúde do consumidor (SARMENTO, 2006) e a composição diversificada da carne proporciona condições ideais para o desenvolvimento dos micro-organismos (ZHOU et al., 2010). Os aditivos químicos são importantes para a indústria alimentícia e são utilizados,

principalmente, para conservar os alimentos ou para desenvolver sabor, cor e textura dos alimentos (JENSEN, HANSEN, 2005).

Na produção de salsicha, que possui boa aceitação popular (THOMAS et al. 2008) e está presente em diferentes culturas (MERCADANTE et al., 2010), o nitrito de sódio ou potássio e nitrato de sódio ou potássio são os principais aditivos utilizados (JAFARI, DJOMEH, 2007; THOMAS et al., 2008), porque o nitrato é reduzido a nitrito e atua como reserva desse aditivo e o nitrito apresenta o efeito conservante contra micro-organismos, especialmente o *Clostridium botulinum* (SARMENTO, 2006; AMIN, OLIVEIRA, 2006; JAFARI, DJOMEH, 2007; RAYMUNDO, 2007; SANTOS, 2008; RIGA, RUIZ, 2010). Parrilli (2008) e Caranova (2008) destacam que entre os micro-organismos patogênicos de importância nos derivados cárneos está o *Clostridium botulinum*, que durante a intensa proliferação, é capaz de produzir uma toxina que pode provocar a morte por parada respiratória. Entretanto, a inibição que ocorre sobre os micro-organismos patogênicos em produtos curados não pode ser explicada somente pela atuação do nitrito, afinal, o controle do crescimento do *Clostridium* sp. pode ser obtido por muitas combinações diferentes de pH, atividade de água, cloreto de sódio e nitrito de sódio ou potássio, aplicados em diferentes processos e condições de estocagem (AMIN, OLIVEIRA, 2006).

Apesar das importantes funções tecnológicas do nitrato e nitrito na salsicha, o nitrito ingerido em excesso pode dar origem a substâncias consideradas carcinogênicas, mutagênicas e teratogênicas (MELO FILHO et al., 2004; DUTRA, 2006; RIGA, RUIZ, 2010). Por conta da preocupação das indústrias em oferecer produtos de qualidade, que garantam competitividade no mercado de carnes curadas, é de grande importância manter o controle sobre a quantidade dos nitratos e nitritos presentes nos alimentos (RIGA, RUIZ, 2010). Além disso, a conservação de um alimento não está baseada apenas na adição de conservantes químicos, como nitrito/nitrato. É necessário aplicar as barreiras tecnológicas que são considerados tratamentos de conservação mais brandos que asseguram estabilidade, segurança e produtos com melhores propriedades sensoriais e nutricionais, com teor reduzido de conservantes químicos (SANTOS, 2008).

Esse artigo de revisão fornece dados sobre a indústria de carnes; destaca os principais métodos de conservação utilizados em produtos cárneos e derivados; determina os principais micro-organismos que impactam na conservação de

salsichas e apresenta as funções de conservação, aspectos toxicológicos e legislação brasileira na utilização de nitrito e nitrato como agentes conservadores em produtos curados. O objetivo dessa revisão é apresentar o conceito e a importância da utilização das barreiras tecnológicas na conservação dos alimentos e mostrar a aplicação dessas barreiras na conservação do derivado cárneo salsicha.

2 REVISÃO

2.1 INDÚSTRIA DA CARNE

Na década de 90, o setor brasileiro de carnes tornou-se mais profissionalizado, adotou modernas técnicas de produção e redobrou os cuidados com a saúde dos animais. Esse empenho ajudou o Brasil a se colocar entre os principais fornecedores mundiais de proteína animal no início dos anos 2000 (VALOR ECONÔMICO, 2009). A produção de carne brasileira cresceu extraordinariamente nos últimos anos. De 2002 a 2009, as carnes bovina, de suíno e de frango tiveram crescimento de 3,1%, de 2,0% e de 7,3% ao ano, respectivamente. Essa dinâmica está relacionada à evolução das exportações e ao aumento do consumo interno *per capita* (CONTINI et al., 2010).

Kalschne et al., 2010 comentam que a Associação Brasileira da Indústria Produtora e Exportadora de Carne Suína – ABIPECS estimou o consumo de carne, no Brasil, em aproximadamente 14 quilos de carne por habitante durante um ano e o aumento da produção de industrializados de carne foi um dos principais fatores pelo maior consumo de carne nos últimos anos. Segundo Oliveira (2008), a Associação Brasileira dos Criadores de Suínos – ABCS avalia que desse total de carne consumida por habitante apenas três quilos equivalem à carne fresca e o restante é consumido na forma de embutidos como presuntos, lingüiças e salsichas.

O Brasil, que atualmente é o maior exportador de carne do mundo, destinou ao mercado externo mais de 755 mil toneladas de carne entre janeiro e julho de 2010. Comparado com o mesmo período de 2009, houve um pequeno aumento de 4% em volume, mas o forte incremento de 24% foi em valor, somando quase US\$ 3 bilhões, sendo que 60% do volume estão concentrados em três mercados: Rússia, Irã e Egito (SILVEIRA, 2010).

O maior concorrente da carne bovina, a carne de frango avançou no processo de integração e coordenação da cadeia agroindustrial e conseguiu colocar no mercado uma gama de produtos com preços extremamente competitivos. Um movimento semelhante pode ser observado na cadeia de carne suína que se encontra mais integrada, elevando a produtividade e reduzindo custos ao longo de todos os elos da cadeia. Vale destacar os esforços de diferenciação de produtos que os sistemas agroindustriais de frangos e suínos têm empreendido nos últimos anos. O resultado desses esforços pode ser medido pelo número de lançamento de novos produtos por esses dois setores e o objetivo desses lançamentos tem sido o de aproximar os produtos comercializados às necessidades dos consumidores atuais (alimentos congelados, pratos pré-preparados, etc.) (SARMENTO, 2006).

A grande demanda pelos produtos cárneos industrializados reduz a oferta de carne *in natura* no mercado brasileiro (GIROTTTO, 2005) e é explicada devido à urbanização e a mudança de estilos de vida dos consumidores (THOMAS et al., 2008). Segundo Sarmiento (2006), agregar valor é a expressão de ordem para a agroindústria da carne, que obtêm maior retorno do capital empregado com a venda de produtos com algum grau de industrialização (GIROTTTO, 2005).

2.2 PRODUTOS CÁRNEOS INDUSTRIALIZADOS

Em um mercado cada vez mais competitivo e com o aumento da exigência dos consumidores por qualidade, o melhoramento contínuo dos produtos torna-se imperativo para a sobrevivência das empresas no setor. A produção de embutidos apresenta-se como uma das soluções para atender à demanda por qualidade (SARMENTO, 2006).

O preço acessível de algumas marcas, a praticidade do preparo e o valor protéico desses produtos, especialmente da salsicha, contribuem para a redução do *déficit* nutricional, principalmente da população de menor renda. Todavia, convém considerar os principais diferenciadores entre os fabricantes: a qualidade, o preço e a apresentação do produto (MELO FILHO et al., 2004).

Todo produto feito com carnes picadas ou moídas, acondicionadas em invólucro é chamado de embutido. Esse tipo de produto apareceu no Brasil graças às receitas tradicionais trazidas por famílias imigrantes alemães e italianas, embora tenha sofrido adaptações às condições climáticas e ao paladar local. Com a

modernização e diversificação da produção nos frigoríficos, houve um aumento no volume de carne embutida, transformando-se em importante fonte de proteína animal (SARMENTO, 2006).

Os embutidos cárneos podem ser classificados em dois tipos, crus e cozidos. Os crus são aqueles embutidos que não sofrem tratamento térmico como método de conservação, mas, geralmente, sofrem um tratamento por agentes de cura (cloreto de sódio, nitrato e nitrito) ou fermentativo (por bactérias ácido lácticas). Exemplos de embutidos crus são a lingüiça frescal e o salaminho. Já os cozidos sofrem um tratamento térmico como processo de conservação, sendo o caso das salsichas, mortadelas e presuntos (SANTOS, 2008). De fato, diferentes matérias primas cárneas, condimentos e aditivos constituem os embutidos cozidos, agregando valor às porções de carne que não são comercializadas *in natura* e aumentando as opções de escolha dos consumidores (CESAR, 2008).

A salsicha, que possui boa aceitação popular (THOMAS et al., 2008) e está presente em diferentes culturas (MERCADANTE et al., 2010) é classificada, segundo o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento – MAPA (BRASIL, 2000) como um produto cárneo industrializado, obtido da emulsão de carne de uma ou mais espécies de animais de açougue, adicionados de ingredientes, embutido em envoltório natural, ou artificial ou por processo de extrusão, e submetido a um processo térmico adequado. O Ministério da Saúde, através da Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA, também qualifica a salsicha dentro de três subcategorias que fazem parte da grande Categoria 8 - Carnes e Produtos Cárneos. As subcategorias são produto cárneo industrializado cozido embutido ou não, produto salgado cozido ou conservas e semiconservas cárneas de origem animal (BRASIL, 1998). Conforme dado publicado pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) foi registrado em 2006 à produção de aproximadamente 350 mil toneladas de salsicha sob controle do Serviço de Inspeção Federal - SIF, sendo 94% da produção destinada ao mercado nacional (CESAR, 2008).

Entretanto, em contra ponto a essa tendência de mercado, Jafari e Djomeh (2007) destacam que os consumidores do século XXI exigem cada vez mais alimentos minimamente processados, que retêm o sabor natural, cor, textura, características nutricionais, e contenham menos aditivos químicos.

2.3 PRINCIPAIS MICRO-ORGANISMOS EM CARNE E DERIVADOS

Devido à composição diversificada dos nutrientes, a carne torna-se um produto com condições ideais para o desenvolvimento de micro-organismos deteriorantes e patogênicos (ZHOU et al., 2010). O crescimento microbiano pode ser determinado por vários fatores, tais como espécie e saúde do animal vivo, manejo antes e no abate, resfriamento da carcaça, condições sanitárias de manipulação, tipo de embalagem e condições de distribuição e estocagem (SANTOS, 2008).

As doenças transmitidas por alimentos (DTAs) são causadas por agentes biológicos, químicos ou físicos, os quais penetram no organismo humano pela ingestão de água ou alimentos contaminados. O perfil epidemiológico das doenças transmitidas por alimentos no Brasil ainda é pouco conhecido, somente alguns estados e/ou municípios dispõem de estatísticas e levantamentos reais sobre os agentes etiológicos mais comuns, alimentos mais freqüentemente envolvidos e fatores contribuintes. Além disso, doenças transmitidas por alimentos nem sempre são oficialmente notificadas (AMSON et al., 2006).

No Brasil, segundo dados do Ministério da Saúde, foram registrados, entre 1999 a 2008, 6.062 surtos de DTAs, com mediana de 7 pessoas por surto, totalizando 117.330 pessoas doentes e 64 óbitos. O Rio Grande do Sul, São Paulo, Paraná e Santa Catarina notificaram 83% dos surtos e foram os estados que apresentaram maior registro de casos, o que pode estar relacionado com o melhor funcionamento do Sistema Nacional de Vigilância Epidemiológica das Doenças Transmitidas por Alimentos – (VE-DTA). Dentre os agentes etiológicos mais freqüentes a *Salmonella* spp. foi responsável por 1.275 surtos (42%), seguida pelo *S. aureus*, responsável por 600 surtos (20%). O *B. cereus* foi o terceiro principal agente, sendo responsável por 205 surtos (7%). Do total de 3.984 surtos investigados, 23% tiveram como principal alimento envolvido preparações a base de ovos crus e/ou mal cozidos, 17% ocorreram devido ao consumo de alimentos mistos, 12% devido ao consumo de carnes vermelhas, 11% por sobremesas, 9% água, 7% leite e derivados e em 21% dos casos não foi possível identificar o alimento envolvido (BRASIL, 2008).

Greig e Ravel (2009) estudaram as DTAs ocorridas em alguns países como EUA, Canadá, União Européia (UE), Austrália e Nova Zelândia. Eles analisaram relatórios publicados de surtos identificados no período entre 1988 e 2007, de fontes

governamentais e artigos científicos. No total dos relatórios, foram registrados 4.093 surtos, destes, 70% foram causados por *Salmonella* sp., *Norovirus* e *E. coli*. Os autores verificaram que alimentos com vários ingredientes, como por exemplo, ovos, carne e outros foram os mais envolvidos em DTA.

2.3.1 Micro-organismos que comprometem a conservação de salsicha

Algumas bactérias podem ser potencialmente patogênicas em derivados cárneos, entre as quais se destacam: *Salmonella* sp., *Staphylococcus aureus*, *Clostridium perfringens*, *Clostridium botulinum*, *Campylobacter jejuni* e *Campylobacter coli*, *Escherichia coli*, *Yersinia enterocolitica* e *Listeria monocytogenes* (BERNARDO, 2006). A Resolução RDC nº 12 (BRASIL, 2001), que aprova o regulamento técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos, informa que precisam ser controlados em produtos cárneos, como salsicha, os micro-organismos do grupo Coliformes a 45 °C, Clostrídios sulfitos redutores a 46 °C, Estafilococos coagulase positiva e *Salmonella* sp.

Outros dois grupos de micro-organismos importantes para investigação e controle em salsicha são os psicrotóxicos e psicrófilos. O primeiro tem a capacidade de se desenvolver entre -2° e 25°C e o segundo grupo multiplica-se entre -8°C e 25°C (CARANOVA, 2008). Esses gêneros de bactérias não constituem um grupo que indica risco de intoxicação alimentar, mas reflete a qualidade do produto durante a estocagem (AUGUSTO, 2011). Caranova (2008) comenta que Warriss em 2003 afirmou que primeiros sinais da decomposição das carnes surgem quando a microbiota atinge teores de ordem dos $10^{7,5}$ UFC/cm² e traduz-se pelo aparecimento de um mau odor causado por bactérias aeróbias psicrotóxicas.

A Tabela 1 apresenta as condições de temperatura, pH, atividade de água e oxigênio que são consideradas limite ou ótimas para o desenvolvimento dos micro-organismos controlados pela RDC nº 12 da ANVISA (BRASIL, 2001) e se esses micro-organismos são esporulados.

Em derivados cárneos como salsicha são utilizadas embalagens a vácuo para aumentar a vida de prateleira do produto e a preocupação com o desenvolvimento do *Clostridium botulinum* é maior, porque, esse micro-organismo é reconhecidamente anaeróbio (SANTOS, 2008). Parrilli (2008) e Caranova (2008) também destacam que entre os micro-organismos patogênicos de importância nos

derivados cárneos está o *Clostridium botulinum*, que durante a intensa proliferação, é capaz de produzir toxinas que são causadoras de intoxicações no homem e podem chegar a serem letais. Existem sete tipos de *Clostridium botulinum* (de A a G) distinguidos entre si pelas características da neurotoxina que produzem, porém apenas os tipos A, B, E, e, raramente o F, produzem toxina que causam doenças em humanos.

Tabela 1. Condições limite ou ótimas para o desenvolvimento e formação de esporo para os micro-organismos que comprometem a conservação de salsicha.

Micro-organismo	Temperatura (°C)			Esporulado	pH			Aa	Anaeróbio	
	Mín.	Ótima	Máx.		Mín.	Ótima	Máx.		Mín.	facult.
<i>Clostridium botulinum A e B</i>	10	37	50	sim	4,8	7,0	9,0	0,95	não	sim
<i>Clostridium botulinum E</i>	3	30	45	sim	5,0	7,0	8,5	0,97	não	sim
<i>Clostridium perfringens</i>	15	46	50	sim	5,0	7,0	8,9	0,96	não	sim
<i>Salmonella sp.</i>	6	43	46	não	3,8	7,0	9,0	0,95	sim	não
<i>Staphylococcus aureus</i>	7	37	48	não	4,3	7,0	9,0	0,91	sim	não
<i>Staphylococcus aureus</i> sem produção de enterotoxina	7	37	48	não	4,3	7,0	9,0	0,83	não	não
Coliformes - <i>E. Coli</i>	25	*	50	não	4,4	*	8,7	0,94	sim	não
Psicrófilos	0	10	20	*	*	*	*	*	*	*
Psicrotróficos	0	*	7	*	*	*	*	*	*	*

Aa: Atividade de água; Mín: mínimo; Máx: máximo; Facul. : facultativo

*: sem referência

Fonte: CARANOVA, 2008; SILVA et al., 1997; SILVA JÚNIOR, 1995

O botulismo de origem alimentar tem um período de incubação que, em geral, varia de 12 a 36 horas, dependendo da quantidade de toxina ingerida. A neurotoxina botulínica provoca fadiga, fraqueza muscular, paralisia facial bilateral, redução dos movimentos da língua, dificuldade para sustentar o pescoço e a musculatura que controla a respiração é progressivamente paralisada, podendo provocar a morte em três a cinco dias por parada respiratória (PARRILLI, 2008). E, apesar da dose letal da toxina botulínica para o ser humano não ser conhecida, estima-se, através dos resultados encontrados em primatas, que uma dose letal da toxina tipo A em um homem de 70 kg é igual a 0,09-0,15 µg por via intravenosa ou intramuscular, de 0,70-0,90 µg por inalação, ou ainda de 70 µg por via oral (STEPHEN, 2001).

2.4 MÉTODOS DE CONSERVAÇÃO DA CARNE E DERIVADOS CÁRNEOS

Embora a deterioração da carne possa ocorrer na ausência de micro-organismos devido à ação de enzimas que causam proteólise, lipólise e oxidação, Zhou et al. (2010) destacam que o crescimento microbiano é de longe o fator mais importante em relação à qualidade de conservação de carnes. Afinal, a principal preocupação na produção dos alimentos está relacionada ao controle do desenvolvimento microbiano, visando eliminar riscos à saúde do consumidor, prevenindo ou retardando o aparecimento de alterações indesejáveis nos alimentos (SARMENTO, 2006).

Na indústria de carne, grande parte da contaminação é introduzida por meio dos animais de abate e o controle de patógenos precisa começar no campo via programas sanitários, porém somente a fiscalização nos animais não é suficiente (GONÇALVES, 2010), é essencial que tecnologias de preservação adequadas sejam aplicadas para manter a segurança e qualidade dos produtos (AYMERICH et al., 2008).

O controle microbiológico por processos químicos tem restrições em termos de resíduos e poluição ambiental, porque, atualmente, os resíduos químicos fazem parte da lista de preocupações dos consumidores e das questões de segurança alimentar (GONÇALVES, 2010). Para reduzir a aplicação de processos químicos na conservação de alimentos, Zhou et al. (2010) comentam que existem uma série de fatores, como o aumento da temperatura, o teor de oxigênio atmosférico, as enzimas endógenas, o teor de umidade e a luz que podem ser adotados para o controle do desenvolvimento de micro-organismos.

A maioria das novas tecnologias de conservação, que são consideradas promissoras em nível industrial, são processos não térmicos, tais como novos sistemas de embalagem com atmosfera modificada e/ou de embalagens ativas, alta pressão hidrostática e utilização de compostos antimicrobianos naturais. Todas estas alternativas tecnológicas têm como objetivo minimizar o impacto no meio ambiente, economizar energia e, principalmente, garantir a aparência natural dos produtos ao eliminar os micro-organismos patogênicos e deteriorantes (AYMERICH et al., 2008; ZHOU et al., 2010).

Entretanto, Jensen e Hansen (2005) afirmam que os aditivos químicos são importantes para a indústria, porque, além de utilizados para conservar são

aplicados aos alimentos para desenvolver sabor, cor, textura ou para tornar os alimentos mais nutritivos. O número de compostos químicos utilizados como conservadores é relativamente pequeno e suas quantidades adicionadas nos alimentos são regulamentadas através de uma legislação específica em cada país (SARMENTO, 2006). Raymundo (2007) também destaca que os principais aditivos utilizados na conservação de derivados cárneos, como salsicha, juntamente com o cloreto de sódio são os nitratos e nitritos, também denominados como sais de cura.

2.5 APLICAÇÃO DE NITRITO E NITRATO EM PRODUTOS CÁRNEOS CURADOS COMO SALSICHA

Nitratos (NO_3^-) e nitritos (NO_2^-) estão presentes nos alimentos de origem vegetal e na água principalmente como consequência da aplicação de fertilizantes na agricultura e para os produtos de origem animal são contaminantes ou adicionados de forma intencional (RAYMUNDO, 2007).

No Brasil, os limites máximos de uso e a atribuição de suas funções em produtos cárneos estão determinados pelo Ministério da Saúde pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA, por meio da Portaria n° 1.004 de 11/12/1998 (BRASIL, 1998) e pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento – MAPA pela Instrução Normativa n° 51 de 29/12/2006 (BRASIL, 2006). Tanto para a ANVISA quanto para o MAPA, nitrito de sódio ou potássio e nitrato de sódio ou potássio são os principais aditivos utilizados para a produção de salsicha (JAFARI, DJOMEH, 2007; THOMAS et al., 2008). Segundo a ANVISA e o MAPA, os limites máximos permitidos desses aditivos em alimentos são determinados pela quantidade residual máxima expressa como nitrito de sódio, representados em g/100g. A Tabela 2 apresenta as concentrações máximas admitidas de nitrito e nitrato pela ANVISA (BRASIL, 1998) e pelo MAPA (BRASIL, 2006).

Tabela 2. Concentrações máximas, permitidas pela legislação brasileira, para a ação conservante do nitrito e nitrato em produtos cárneos.

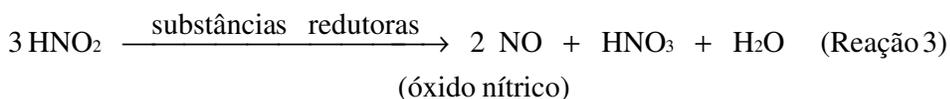
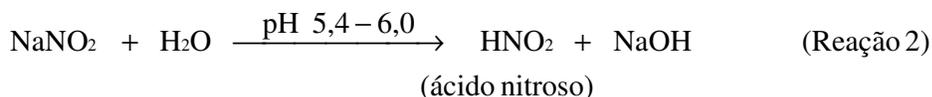
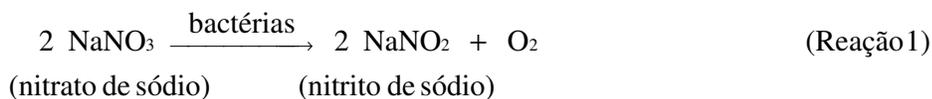
Nome do aditivo	Concentração* máxima (g/100g)
Nitrito de potássio	0,015
Nitrito de sódio	0,015
Nitrato de sódio	0,030
Nitrato de potássio	0,030

* Quantidade residual máxima expressa como nitrito de sódio

Fonte: ANVISA, Portaria n° 1.004 de 11 de dezembro de 1998 (BRASIL, 1998) e MAPA, Instrução Normativa n° 51 de 29 de dezembro de 2006 (BRASIL, 2006).

Honikel (2008) relata que Polenski em 1981 demonstrou que o nitrato atua como reservatório de nitrito na cura dos produtos cárneos, pois, é reduzido a nitrito por ação de enzimas produzidas por bactérias (*Micrococcus*), cuja proliferação ocorre pelo manuseio e processamento inadequado dos alimentos (MELO FILHO et al., 2004; RAYMUNDO, 2007).

As três reações químicas abaixo (Reação 1, 2 e 3) apresentam a redução do nitrato de sódio a nitrito de sódio, a formação do ácido nitroso em meio aquoso com pH 5,4 – 6,0 e a formação de óxido nítrico.



Fonte: ROÇA, 2005

Conforme descrevem Honikel (2008) e Raymundo (2007), nitritos e nitratos são adicionados em produtos cárneos, como salsicha, de forma intencional. Essa prática é comumente conhecida como etapa de cura, que originalmente determinava a salga da carne como um processo que corrigia e tratava o produto para prolongar sua vida útil.

O nitrito é um ingrediente-chave da cura e é adicionado aos produtos cárneos, principalmente, para fornecer o efeito conservante contra micro-organismos,

especialmente o *Clostridium botulinum*. Vários autores concordam que o nitrito de sódio tem a capacidade de inibir o crescimento e a produção de toxina das várias espécies de *Clostridium botulinum*, pela inibição do crescimento da célula vegetativa, durante o armazenamento, e prevenção da germinação dos esporos que sobreviveram ao processamento térmico (SARMENTO, 2006; AMIN, OLIVEIRA, 2006; JAFARI, DJOMEH, 2007; RAYMUNDO, 2007; SANTOS, 2008; RIGA, RUIZ, 2010).

Amim e Oliveira (2006) comentam que a ação conservadora do nitrito é devida a sua combinação com as enzimas respiratórias das bactérias anaeróbicas, inativando-as e reafirmaram que o nitrito inibiu a presença de Clostrídios ao interferir com enzimas que apresentaram ferro e enxofre em sua estrutura, impedindo desse modo a síntese de ATP a partir do piruvato.

Amin e Oliveira (2006) relataram que Linder, Fehlhaber e Jantschke em 1995 admitiram que concentrações superiores a 200 ppm de nitrito de sódio exerceram ação bacteriostática, especialmente sobre os anaeróbios. Porém, esses autores confirmaram o efeito inibitório sobre o *Clostridium perfringens* tipo A em concentração abaixo de 200 ppm de nitrito de sódio em lingüiças bovinas curadas. Entretanto, ainda para esses autores, a inibição que ocorre sobre os micro-organismos patogênicos em produtos curados não pode ser explicada somente pela atuação do nitrito, afinal o controle do crescimento do *Clostridium* sp. pode ser obtido por muitas combinações diferentes de pH, atividade de água, sal e nitrito, aplicados em diferentes processos e condições de estocagem. A adição entre 50 e 150 miligramas de nitrito por quilograma de produto é suficiente para inibir o desenvolvimento de *Clostridium botulinum* em produtos que contém baixo teor de sal e validade prolongada (RAYMUNDO, 2007).

Os sais de cura (nitrito/nitrato), além de inibirem alguns micro-organismos patogênicos, preservam a cor rosa-cozido dos produtos embutidos, impedem a formação de sabor de requentado e contribui para o sabor típico associado com carnes curadas, que são características que indicam a qualidade dos produtos curados (JAFARI; DJOMEH, 2007; RIGA, RUIZ, 2010). Raymundo (2007) descreve que em 1940 Brooks mostrou pela primeira vez a existência que o sabor característico dos produtos salgados está associado ao nitrito.

A Figura 1 apresenta o esquema de reações para o desenvolvimento de cor rósea, característica dos produtos cárneos que são curados e cozidos (ROÇA,

2005). Segundo Zanardi et al. (2002), o óxido nítrico (NO), que é derivado do ácido nitroso, reage com a mioglobina, principal pigmento da carne responsável pela coloração vermelho púrpura, formando o nitrosomioglobina, pigmento que produz uma cor mais avermelhada. Quando o produto cárneo curado é aquecido ocorre a desnaturação da parte protéica da mioglobina no pigmento nitrosomioglobina resultando na formação de um composto denominado de nitrosohemocromo. O nitrosohemocromo é o pigmento final, róseo, característico dos produtos curados como salsicha. Esse pigmento, apesar de termoestável, é susceptível às reações de oxidação, que resultam na formação de porfirinas verdes, amarelas ou sem cor (MATHIAS, 2008).

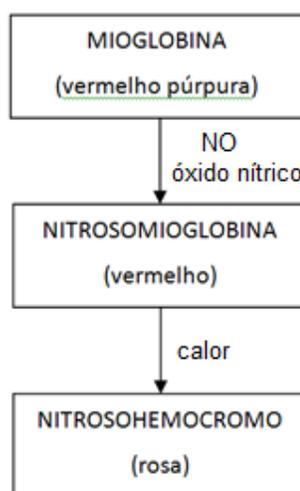


Figura 1. Reações químicas da mioglobina durante o processo de cura.

2.6 TOXICIDADE DO NITRITO E NITRATO

A adição de nitrito e nitrato em alimentos é oficialmente regulamentada no Brasil (BRASIL, 1998; BRASIL, 2006) e na maioria dos países. Porém, apesar da importante função tecnológica do nitrato e nitrito na salsicha, existe a preocupação decorrente da presença desses sais de cura nos alimentos, principalmente por causa dos efeitos tóxicos produzidos pelo excesso de nitratos e nitritos na dieta (MELO FILHO et al., 2004). Estudos mostram que a adição de apenas 50 ppm de nitrito é suficiente para desenvolver os atributos cor e sabor e reduzir a oxidação lipídica, mas são necessárias quantidades maiores de nitrito para garantir a estabilidade microbiológica dos produtos cárneos (JAFARI; DJOMEH, 2007).

MELO FILHO et al. (2004) investigaram os níveis de nitrito e nitrato em salsichas comercializadas na região metropolitana do Recife, região nordeste do Brasil. Os resultados indicaram que os teores encontrados em salsichas representaram um risco potencial à saúde do consumidor devido ao não cumprimento da legislação vigente do Ministério da Saúde (BRASIL, 1998) e do MAPA (BRASIL, 2006).

As condições ácidas do estômago também promovem a redução do nitrato a nitrito (MELO FILHO et al., 2004; DUTRA, 2006). O nitrito ingerido em excesso pode agir sobre a hemoglobina e originar a metahemoglobinemia, impedindo que ela exerça a função normal de transportar oxigênio (RAYMUNDO, 2007). A reação do íon nitrito com aminas e amidas presentes no meio pode dar origem às nitrosaminas e nitrosamidas (DUTRA, 2006), substâncias consideradas carcinogênicas, mutagênicas e teratogênicas (MELO FILHO et al., 2004; DUTRA, 2006; RIGA, RUIZ, 2010). Alguns relatos também mostraram preocupações de saúde relacionadas com a associação positiva entre os tumores cerebrais, leucemia na infância e consumo de alguns tipos de produtos curados, tais como: bacon, presunto e cachorros-quentes (JAFARI; DJOMEH, 2007). Por isso, as N-nitrosaminas, compostos orgânicos conhecidos desde longa data, tornaram-se objeto de intensivos estudos toxicológicos a partir de 1956, quando Magee e Barnes relataram pela primeira vez a indução de tumores no fígado de ratos alimentados com ração contaminada com N-nitrosodimetilamina (NDMA). Desde então, muitas pesquisas têm sido realizadas com animais experimentais objetivando avaliar os efeitos toxicológicos causados por N-nitrosaminas, sendo que, a maioria destes compostos mostrou-se carcinogênico em todas as espécies testadas (DUTRA, 2006).

Por conta da preocupação das indústrias em oferecer produtos de qualidade que garantam competitividade no mercado de carnes curadas, bem como segurança e satisfação ao consumidor, é de grande importância manter o controle sobre a quantidade dos nitratos e nitritos presentes no alimento após a etapa final de cura (RIGA, RUIZ, 2010). Entretanto, Leistner (1995) e Santos (2008) destacam que a conservação de um alimento não está baseada apenas na adição de conservantes químicos, como nitrito/nitrato, é necessário aplicar os métodos combinados, que apesar de tratamento brando, asseguram estabilidade, segurança e produtos com melhores propriedades sensoriais e nutricionais, como reduzir os teores de conservantes químicos.

2.7 BARREIRAS TECNOLÓGICAS - TEORIA DOS OBSTÁCULOS

Segundo Leistner e Gould (2002) o estudo das interações entre os vários fatores intrínsecos e extrínsecos que afetam a capacidade de sobrevivência e de multiplicação dos micro-organismos nos alimentos deu origem à Teoria dos Obstáculos de Leistner (*Hurdle Theory*). As vantagens da utilização da Teoria dos Obstáculos, também conhecida como barreira tecnológica, são a economia de energia, a redução da quantidade de aditivos químicos empregados e menores perdas de alimentos (LEISTNER, GORRIS, 1995; LEISTNER, GOULD, 2002; THOMAS et al., 2008).

A estabilidade microbiológica e a segurança da maioria dos alimentos são obtidas devido à ação combinada de vários fatores de conservação onde o objetivo é, principalmente, evitar a contaminação microbiológica, bem como a economia de energia e dinheiro e, também reduzir os impactos ambientais nas indústrias de alimentos (THOMAS et al., 2008) onde o objetivo principal é evitar a contaminação microbiológica e principalmente a intoxicação alimentar.

Leistner e Gorris (1995) determinaram que cada alimento seguro e estável necessita certo tipo de obstáculo (físico, físico-químico, microbiológico e variados) que diferem em qualidade e intensidade de acordo com cada produto em particular, de modo a manter a população natural de micro-organismos sob controle. Os autores também classificam e exemplificam alguns obstáculos como.

- Obstáculos físicos: alta temperatura (esterilização e pasteurização), baixa temperatura (resfriamento e congelamento), radiação ionizante e altas pressões.
- Obstáculos físico-químicos: baixa atividade de água, baixo pH, baixo potencial redox, sais, nitritos e nitratos.
- Obstáculos microbiológicos: microbiota competitiva e antibióticos.
- Obstáculos variados: ácidos graxos livres e cloro.

Na Figura 2, Leistner e Gorris (1995) ilustram três modelos da aplicação da Teoria dos Obstáculos no controle dos micro-organismos. O exemplo 'a' simula um caso teórico em que as seis barreiras no controle dos micro-organismos têm a mesma intensidade: alta temperatura durante o processamento (F), baixa temperatura durante a estocagem (t), baixa atividade de água (Aa), acidez (pH), baixo potencial redox (Eh) e conservantes (pres.). Ainda no exemplo 'a', o produto torna-se estável e seguro porque os micro-organismos não podem ultrapassar todos

os obstáculos gerados durante o processo. O exemplo 'b' simula melhor a produção de alimentos, afinal as barreiras têm intensidades diferentes e os principais fatores, que controlam o crescimento microbiano, são a atividade de água (A_a) e os conservantes (pres.). Já no exemplo 'c', o alto teor de nutrientes e vitaminas no alimento favorece o desenvolvimento dos micro-organismos, obrigando os obstáculos a agirem mais intensamente.

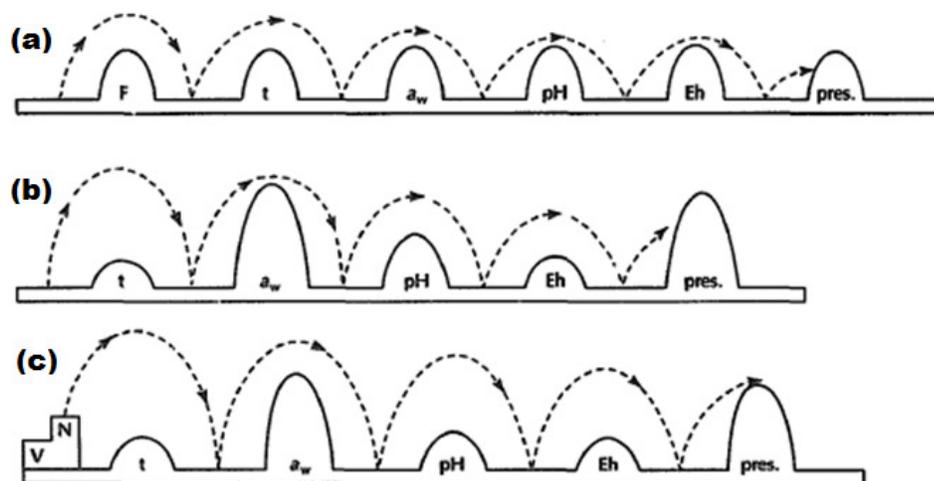


Figura 2. Exemplos da aplicação da Teoria dos Obstáculos.

As barreiras mais importantes utilizadas na conservação de alimentos são a temperatura (alta ou baixa), atividade de água (a_a), acidez (pH), redox potencial (Eh), conservantes e microbiota competitiva de micro-organismos. No entanto, existem mais de sessenta potenciais barreiras que podem ser aplicadas na conservação dos alimentos que melhoram a estabilidade e/ou a qualidade dos produtos (LEISTNER, GOULD, 2002).

2.8 PRINCIPAIS BARREIRAS TECNOLÓGICAS UTILIZADAS PARA A CONSERVAÇÃO DE EMBUTIDOS CÁRNEOS

Apesar da utilização de sais de cura em embutidos cárneos, a estabilidade microbiológica e a segurança desses produtos são resultado da ação combinada de vários fatores de conservação (LEISTNER, GOULD, 2002). Os principais fatores, que atuam de forma sinérgica e controlam o desenvolvimento microbiológico nos embutidos, são a concentração da salmoura; o pH do produto; o nitrito adicionado ou residual; a severidade do tratamento pelo calor; a temperatura de estocagem; a natureza da microbiota competitiva e outros aditivos (SANTOS, 2008).

Entretanto, Leistner (2000) destaca que as principais barreiras tecnológicas atualmente aplicadas aos produtos cárneos são: tratamento térmico, ajuste de pH, ajuste da atividade de água, conservantes e/ou irradiação.

2.8.1 Ajuste do pH

A conservação pela redução do pH tem como objetivo reduzir o pH do produto para valor igual ou inferior 4,5. Esse valor de pH é de grande importância porque é considerado o menor pH limite para o desenvolvimento e produção de toxina do *Clostridium botulinum*.

Conservas de frutas e vegetais com pH menor que 4,5 são microbiologicamente seguras (LEISTNER; GORRIS, 1995) e os embutidos com pH abaixo de 5,4 podem ser seguros e estáveis se outros obstáculos, como processamento térmico, forem utilizados (LEISTNER et al., 1980 in JAFARI; DJOMEH, 2007). Entretanto, a conservação pelo abaixamento do pH em carnes é limitada pela avaliação sensorial, afinal, derivados cárneos com pH abaixo de 4,5 não têm boa aceitação pelos consumidores (LEISTNER; GORRIS, 1995).

Para desenvolver salsicha estável à temperatura de $37\text{ °C} \pm 1\text{ °C}$, Thomas et al. (2008) aplicaram o abaixamento do pH como uma barreira tecnológica. O pH da salsicha foi reduzido para aproximadamente 5,9 usando ácido láctico e glucona-delta-lactona. Além da redução do pH, outras barreiras como tratamento térmico e redução da atividade de água, também foram avaliadas. O produto foi estável por seis dias à temperatura de $37 \pm 1\text{ °C}$, mas a redução do pH diminuiu significativamente ($p < 0,05$) em 2,11% a estabilidade da emulsão e com isso o rendimento do produto desenvolvido foi, em nível de 5% de significância, menor em 2,21% que o produto controle com pH igual a 6,27.

Jafari e Djomeh (2007), que tinham como objetivo diminuir o teor de nitrito em salsichas utilizando barreiras tecnológicas, reduziram o pH do produto de $5,8 \pm 0,01$ a $5,4 \pm 0,01$ utilizando 0,3% glucona-delta-lactona (GDL). Embora tenham aplicado outras barreiras como redução de atividade de água e pasteurização, a redução do pH reduziu ($p < 0,05$) a aceitação sensorial devido ao sabor amargo residual que o produto apresentou.

2.8.2 Redução da Atividade de Água (Aa)

A relação entre a estabilidade e o conteúdo de umidade dos alimentos, é estudada desde o começo século XX, mas somente a partir do trabalho de Walter em 1927 começou a se compreender a relação entre a atividade de água e o crescimento microbiano (CIFUENTES DE LA TORRE, 1987). Labuza em 1977 identificou a atividade de água (Aa) como uma das propriedades mais importantes para o processamento, conservação e armazenamento de alimentos, destacando-a devido à possibilidade de quantificar o grau de ligações de água contida no produto e, conseqüentemente, sua disponibilidade para agir como um solvente e participar de transformações químicas, bioquímicas e microbiológicas (TORREZAN et al., 1997).

A combinação dos obstáculos permite o controle microbiológico em valores altos de Aa, com o uso de pequenas quantidades de depressoires. A Tabela 3 apresentada por Torrezan et al. (1997) e desenvolvida por Chirife e Faveto, mostra que a redução da Aa até o valor de 0,91 inibe a grande maioria dos patógenos com exceção do *Staphylococcus aureus*, que sobrevive até o limite de 0,860 de atividade de água, porém, em meio com atividade de água menor que 0,92 esse micro-organismo não produz enterotoxina.

Thomas et al. (2008) desenvolveram salsichas com a aplicação da Teoria dos Obstáculos de Leistner e utilizaram como barreira no processo a redução de pH para 5,9, o tratamento térmico até que a temperatura interna do produto atingisse 75 °C, e a redução da atividade de água para 0,93 com a aplicação da proteína texturizada de soja (3%). As salsichas desenvolvidas apresentaram boa aceitação e vida de prateleira menor de três dias, quando armazenados à temperatura de 37 ± 1 °C.

Jafari e Djomeh (2007) desenvolveram salsichas com menor teor de nitrito e também utilizaram a redução da atividade de água como uma barreira tecnológica. Para o produto, que apresentou estabilidade microbiológica, a atividade de água foi ajustada para $0,950 \pm 0,002$ usando 2% de NaCl, 1% KCl e 0,19% de goma comercial, não identificada pelo autores. Os autores comentam que Leistner et al (1980) afirmaram, com estudos preliminares, que o ajuste da atividade de água para valores iguais ou menores do que 0,95 o nitrito é necessário apenas para as propriedades sensoriais dos produtos curados e não mais como conservante (JAFARI; DJOMEH, 2007).

Tabela 3. Valores mínimos de Aa para o desenvolvimento de alguns micro-organismos patogênicos (nas condições ideais de pH e temperatura).

Patógenos	Aa
<i>Campylobacter jejuni</i>	0,990
<i>Aeromonas hydrophila</i>	0,970
<i>Clostridium botulinum</i> tipo E	0,970
<i>Clostridium botulinum</i> tipo G	0,965
<i>Shigella</i> sp.	0,960
<i>Yersinia enterocolítica</i>	0,960
<i>Clostridium perfringens</i>	0,950
<i>Clostridium botulinum</i> tipo A,B	0,950
<i>Vibrio parahemolyticus</i>	0,940
<i>Salmonella</i> sp.	0,940
<i>Escherichia</i> sp.	0,935
<i>Listaria monocytogenes</i>	0,930
<i>Bacillus cereus</i>	0,930
<i>Bacillus subtilis</i>	0,910
<i>Staphylococcus aureus</i>	0,910
<i>Staphylococcus aureus</i> (sem produção de enterotoxina)	0,860

Cifuentes de La Torre (1987) utilizou soluções osmóticas com concentrações variáveis de glicerol, propileno glicol, cloreto de sódio e água para imersão da salsicha e reduzir a atividade de água para valores menores que 0,84. O produto que apresentou as melhores características sensoriais foi obtido quando imerso na solução aquosa que continha: glicerol (50%), cloreto de sódio (10%) e sorbato de potássio (0,5%). Esse produto foi armazenado à temperatura ambiente por 105 dias e apresentou estabilidade química e microbiológica durante o armazenamento, porém necessitava de reidratação em água pura por 10 horas antes do consumo.

Dominguez (1977) reduziu a atividade de água da salsicha para 0,84 utilizando imersão em salmoura (25% de solução saturada de NaCl) e manteve este produto estocado 111 dias à temperatura ambiente em embalagem a vácuo. Apesar do produto reidratado apresentar características sensoriais próximas a dos produtos tradicionais, eram necessárias 4 horas de reidratação.

2.8.3 Pasteurização como tratamento térmico em produtos cárneos

O emprego de altas temperaturas na conservação de alimentos é denominado tratamento térmico porque causa a desnaturação de proteínas e a inativação de enzimas necessárias ao metabolismo microbiano. A pasteurização elimina todos os micro-organismos patogênicos, elimina ou reduz o número de micro-organismos deteriorantes e é aplicada aos alimentos ácido ou muito ácidos ($\text{pH} < 4,5$), aos alimentos que serão conservados sob refrigeração ou congelamento, e ainda aos alimentos submetidos à concentração e desidratação. Conseqüentemente, não haverá condições para a multiplicação das formas microbianas que resistem à pasteurização (FRANCO; LANDGRAF, 2008).

O processo de pasteurização a vapor, aplicado em carnes e derivados cárneos, é realizado em uma câmara a pressão atmosférica e temperatura de 82 a 97°C onde os produtos são mantidos até que a temperatura interna dos mesmos alcance a temperatura de 72 a 75 °C. Normalmente, o tratamento térmico também inclui o resfriamento rápido (AYMERICH et al., 2008).

Para garantir a segurança microbiológica e estabilidade de salsicha com teor de nitrito reduzido, Jafari e Djomeh (2007) utilizaram o conceito de Leistner et al. (1980), afirmando que o tratamento térmico, em que o produto é aquecido em vapor a 80 ± 1 °C até a temperatura interna da salsicha atingir 75 °C e então é transferido para um tanque com gelo até atingir a temperatura de 5-6 °C em 40-45 min, foi suficiente para inativar os micro-organismos que não formam esporos. Além disso, o tratamento térmico brando melhorou as propriedades sensoriais dos produtos e economizou energia.

Thomas et al. (2008), aplicaram a redução do pH para 5,9 e o ajuste da atividade de água para 0,93 e desenvolveram salsicha estável por 3 dias à temperatura de 37 ± 1 °C, também consideraram como barreira tecnológica tratamento térmico o processo de cozimento, realizado em um forno a vapor sem pressão até que a temperatura interna do produto atingisse 75 °C.

2.8.4 Aplicação de refrigeração durante a estocagem dos produtos cárneos

Algumas bactérias, como o *Clostridium perfringens*, desenvolvem formas esporuladas que são resistentes a altas temperaturas, mas são inativadas pelo frio

(BRASIL, 2010). *Escherichia coli* não se desenvolve a temperatura de 5 °C ou temperaturas inferiores e a 10 °C cresce lentamente. Além disso, muitas *Pseudomonas*, capazes de crescer em temperaturas até próximas de 30 °C, desenvolvem-se lentamente nas temperaturas de refrigeração. Por estes motivos a conservação da carne a baixas temperaturas pode reduzir consideravelmente a sua velocidade de decomposição bem como o desenvolvimento de bactérias patogênicas (CARANOVA, 2008).

Thomas et al. (2008), que estudaram a refrigeração durante a estocagem como uma barreira tecnológica para a conservação de salsichas cozidas com pH igual a 5,9 e atividade de água de 0,93, concluíram que o produto desenvolvido quando armazenado à temperatura de 37±1 °C possui a vida de prateleira menor que 3 dias e o produto mantido sob refrigeração apresentava o dobro de vida útil. Devido à maior taxa de oxidação lipídica os valores de TBARS (ácido tiobarbitúrico) aumentaram significativamente ($p < 0,01$) nas salsichas armazenadas a 37 °C em comparação com os seus homólogos refrigerados durante os 6 dias de armazenamento. A avaliação sensorial da salsicha desenvolvida com a aplicação dos Obstáculos de Leistner revelou que a refrigeração é uma barreira importante no processo de conservação desse derivado cárneo, porque, o produto armazenado sob refrigeração obteve melhor aceitação para os atributos sensoriais suculência, aceitação global, aparência, sabor e textura, quando comparado com o produto estocado à temperatura de 37 °C (THOMAS et al., 2008).

Pexara et al. (2002) relataram um aumento significativo na contagem de lactobacilos em salsichas armazenadas a 10 °C em comparação com os produtos armazenadas a 4 °C. A contagem de *Staphylococcus aureus* foi de 10² UFC/g no 6° dias de estocagem em salsichas armazenadas em temperatura ambiente, enquanto esses estavam ausentes nas amostras sob refrigeração. A refrigeração também inibiu o crescimento de bolores e leveduras em salsichas.

Para desenvolver salsicha com redução do teor de nitrito, Jafari e Djomeh (2007) aplicaram o armazenamento refrigerado como umas das barreiras tecnológicas para conservação. Durante toda a vida útil, o produto foi mantido a temperatura de refrigeração menor que 3°C. No entanto, em boas condições de controle de temperatura (<10 °C), os autores destacaram que o risco em relação a este grupo de produtos é o desenvolvimento das cepas não proteolíticas de *C. botulinum*, que são capazes de se desenvolver, sob condições de refrigeração. Por

isso, foi realizado o ajuste da atividade de água para 0,95, e foi considerado pelos autores como a principal barreira para evitar o desenvolvimento desse micro-organismo.

2.8.5 Embalagem a vácuo

A embalagem influencia a qualidade e a durabilidade de carnes frescas e processadas, pois altera o ambiente ao redor do produto, criando condições que retardam as reações de deterioração. A embalagem previne a evaporação da umidade do produto, evitando perdas de peso e alterações de aparência, textura e aroma. Contudo, a maior alteração no ambiente que circunda o produto, provocada pela embalagem, é quanto à composição gasosa. Esta atmosfera irá determinar a cor do produto, o tipo e a extensão da deterioração microbiológica e a taxa de oxidação dos seus componentes (OLIVEIRA et al., 2006)

Thomas et al. (2008) desenvolveram salsicha estável à temperatura de 37 ± 1 °C por seis dias utilizando como barreiras tecnológicas a redução do pH do produto para 5,9, ajuste da atividade de água do produto para 0,93 com a aplicação de proteína texturizada de soja (3%), cozimento como tratamento térmico, embalagem a vácuo e reaquecimento da embalagem até a temperatura interna de 90°C. Porém, o pH da salsicha no 6º dia apresentava uma tendência decrescente em relação ao 3º dia de armazenamento e os autores justificaram essa redução pela adição de açúcar e da proteína texturizada de soja, que combinados com a embalagem a vácuo, podem ter favorecido o crescimento de bactérias produtoras de ácido láctico.

Zhou et al. (2010) destacam que em derivados cárneos refrigerados, como salsicha, a aplicação da embalagem a vácuo retarda o desenvolvimento dos micro-organismos psicrotóxicos, afinal essas bactérias são, principalmente, aeróbias. Porém, Incze em 1992, citado por Thomas et al. (2008), relatou que os ácidos orgânicos, principalmente ácido láctico, são formados em salsichas embaladas a vácuo durante o armazenamento, como resultado da fermentação de carboidratos, o que reduz o pH do produto. Resultados semelhantes já foram encontrados em presuntos fatiados, também embalados a vácuo (THOMAS et al., 2008).

Atualmente, para acondicionamento a vácuo de salsichas, em porções de até 500 g, são utilizadas bandejas flexíveis termoformadas, compostas por tampa e fundo termoformado. As tampas, em que a barreira ao oxigênio é proporcionada

pelo revestimento de PVDC (copolímero de cloreto de vinila e cloreto de vinilideno) no filme de PET (politereftalato de etileno), PA (poliamida) ou EVOH (copolímero de etileno e álcool vinílico), são pigmentadas de branco, um recurso para barrar a luz ultravioleta e visível, catalisadoras da reação de oxidação de pigmentos e gordura, que resulta na degradação da cor e no desenvolvimento de odor e sabor indesejáveis no produto. As tampas apresentam como camada externa o filme de poliéster, que alia propriedades mecânicas, como resistência à abrasão e à perfuração, com propriedades óticas, como brilho e transparência, que realçam a impressão. O fundo das embalagens termoformadas de salsicha são basicamente compostos por materiais coextrusados sendo os polímeros mais usuais as poliamidas e o polietileno. A poliamida, além de conferir à estrutura características de barreira ao oxigênio e resistência mecânica, permite a termoformação. O polietileno permite o fechamento por calor e confere barreira ao vapor d'água suficiente para garantir a qualidade sensorial do produto (OLIVEIRA et al., 2006).

CONSIDERAÇÕES FINAIS

As barreiras tecnológicas são uma combinação efetiva de vários fatores de conservação e são importantes ao processo de produção de alimentos porque garantem qualidade sensorial, segurança e estabilidade microbiológica ao produto, bem como a economia de energia nos processos produtivos e menores impactos ambientais causados pela indústria alimentícia.

A barreira tecnológica redução do pH tem aplicação restrita em produtos cárneos emulsionado, como salsicha, principalmente, porque compromete a formação de emulsão e as características sensoriais do produto. A redução da atividade de água em salsicha para valores inferiores a 0,95 é uma importante barreira tecnológica, porque, não há necessidade da aplicação do nitrito como agente conservante. O cozimento da salsicha é realizado até que a temperatura interna do produto atinja 75 °C, tornando-se a barreira tecnológica tratamento térmico. A utilização das barreiras tecnológicas refrigeração e embalagem a vácuo durante a estocagem contribuem para o aumento da vida de prateleira da salsicha.

O desenvolvimento da pesquisa e a aplicação, de forma sensata, das diversas barreiras tecnológicas na produção de salsicha são essenciais para garantir tratamentos de conservação mais brandos e, principalmente, reduzir ou até suprimir

a necessidade da aplicação dos conservantes químicos nitrato e nitrito na formulação desse derivado cárneo.

REFERÊNCIAS

AMIM, M.; OLIVEIRA, J. V. Efeito do uso do nitrato e nitrito na inibição de *Clostridium Perfringens* tipo A em lingüiça bovina curada. **Boletim Ceppa**, 24, 2006.

AMSON, G. V.; HARACEMIV, S. M. C. MASSON, L. M. Levantamento de dados epidemiológicos relativos à ocorrências surtos de doenças transmitidas por alimentos (DTAs) no estado do Paraná – Brasil, no período de 1978 a 2000. **Ciência e Agrotecnologia**, 30, 2006

AUGUSTO, T. R.; JORGE, P. S.; MENDONÇA, C. C. T. Benefícios dos uso da embalagem a vácuo em carnes e produto cárneos. **Revista Nacional da Carne**, 409, 2011.

AYMERICH, T.; PICOUET, P. A.; MONFORT, J. M. Decontamination technologies for meat products. **Meat Science**, 78, 2008.

BERNARDO, F. Perigos sanitários nos alimentos. **Segurança e Qualidade Alimentar**, 1, 2006.

BRASIL. MAPA - Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instrução Normativa nº 04**: Aprova os Regulamentos Técnicos de Identidade e Qualidade de Carne Mecanicamente Separada, de Mortadela, de Lingüiça e de Salsicha. Diário Oficial da União; Poder Executivo, de 31 de março de 2000.

BRASIL. MAPA - Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instrução Normativa nº 51**: Regulamento Técnico de Atribuição de Aditivos, e seus Limites das seguintes Categorias de Alimentos 8: Carne e Produtos Cárneos. Diário Oficial da União; Poder Executivo, de 29 de dezembro de 2006.

BRASIL. Ministério da Saúde - Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução RDC nº 12**: Regulamento técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos. Diário Oficial da União; Poder Executivo, de 26 de dezembro de 2001.

BRASIL. Ministério da Saúde. ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Portaria nº 1002**: Lista os produtos, comercializados no país, enquadrando-os nas Subcategorias que fazem parte da Categoria 8 - Carnes e Produtos Cárneos. Diário Oficial da União; Poder Executivo, 14 de dezembro de 1998.

BRASIL. Ministério da Saúde. ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Portaria nº 1004**: Aprova o regulamento técnico: 'Atribuição de função de aditivos e seus limites máximos de uso para a Categoria 8 - Carne e Produtos Cárneos'. Diário Oficial da União; Poder Executivo, 14 de dezembro de 1998.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde- SVS. **Manual Integrado de Prevenção e Controle de Doenças Transmitidas Por Alimentos**. 2010. Disponível em: <http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/manual_dta.pdf> Acesso em: 13 de junho de 2010.

BRASIL, Ministério da Saúde. SVS - Secretaria de Vigilância em Saúde. **Análise**

Epidemiológica dos Surtos de Doenças Transmitidas por Alimentos no Brasil. 2008. Disponível em: <http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/surtos_dta_15.pdf>. Acesso em: 13 de junho de 2011.

CARANOVA, A. R. P. **Implementação de um sistema de segurança alimentar num talho baseado na metodologia haccp.** Universidade Técnica de Lisboa. Dissertação de Mestrado Integrado em Medicina Veterinária, 2008

CESAR, A. P. R. **Listeria sp. e Listeria monocytogenes na produção de salsichas tipo Hot Dog e hábitos de consumidores.** Dissertação de Mestrado, Universidade Federal de Goiás, 2008.

CIFUENTES DE LA TORRE, A.F. J. **Desenvolvimento, avaliação física, química e microbiológica, e testes de aceitação de salsicha com Aw reduzida por Glicerol e cloreto de sódio.** Dissertação de Mestrado, UNICAMP, 1987.

CONTINI, J.; GASQUES, J. G.; ALVES, E.; BASTOS, E. T. Dinamismo da agricultura brasileira. **Revista de política agrícola.** Ano XIX, 2010.

DOMINGUEZ, J. A. **Salsicha de umidade intermediária para climas tropicais.** Dissertação de Mestrado, UNICAMP, 1977

DUTRA, C. B. **Determinação de nitrosaminas voláteis em salsichas “hot-dog”.** Dissertação de Mestrado, UNICAMP, 2006.

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

GIROTTI, A. F. **Análise e Perspectivas da Suinocultura Brasileira.** Embrapa Suínos e Aves, 2005. Disponível em: < <http://www.cnpqg.embrapa.br/publicacoes/>>, acessado em 20 de fevereiro de 2009.

GONÇALVES, J. R. Introdução de procedimentos não químicos na descontaminação microbiológica de carnes. **Revista Nacional da Carne**, 404, 2010.

GREIG JD, R. A. Analysis of foodborne outbreak data reported internationally for source attribution. **International Journal of Food Microbiology**, 130, 2009.

JAFARI, M.; DJOMEH, Z. E. Reducing nitrite content in hot dogs by hurdle technology. **Food Control**, 18, 2007.

JENSEN, J. S.; HANSEN, F. New Chemical and Biochemical hurdles. **Danish Meat Research Institute.** 2005.

KALSCHNE, D. L.; SANTOS, M. C.; SARMENTO, C. M. P.; CORSO, M. P. Desenvolvimento de lombo suíno maturado. **Revista Nacional da Carne**, 403, 2010.

LEISTNER, L. Basic aspects of food preservation by hurdle technology. **International Journal of Food Microbiology**, 55, 2000.

LEISTNER, L.; GORRIS, L. G. M. Food preservation by hurdle technology. **Trends in Food Science & Technology**, v 6, 1995.

LEISTNER, L.; GOULD, G. W. **Hurdle technologies: combination treatments for food stability, safety and quality**. London: Kluwer Academic/Plenum Publishers. 2002.

LEISTNER, L., VUKOVIC´, I.; DRESEL, J. (1980). SSP: **Meat products with minimal nitrite addition, storable without refrigeration**. In: JAFARI, M.; DJOMEH, Z. E. Reducing nitrite content in hot dogs by hurdle technology. *Food Control*, 18, 2007.

MATHIAS, S. P. **Avaliação físico-química, microbiológica e sensorial do presunto de peru submetido à tecnologia de alta pressão hidrostática**. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal de Santa Catarina, 2008.

MELO FILHO, A. B de; BISCONTINI, T. M. B.; ANDRADE, S. A. C. Níveis de nitrito e nitrato em salsichas comercializadas na região metropolitana do Recife. **Ciência Tecnologia de Alimentos**, vol.24, n.3, 2004.

MERCADANTE, A. Z.; CAPITANI, C. D.; DECKER, E. A.; CASTRO, I. A. Effect of natural pigments on the oxidative stability of sausages stored under refrigeration. **Meat Science**, 84, 2010.

OLIVEIRA, R. Consumo de carne suína cresce cerca de 63% e anima produtores. **O Estado do Paraná**, Curitiba, 27 jul. 2008. Disponível em: < <http://www.parana-online.com.br/editoria/economia/news/314674/>>. Acesso em: 07 jun. 2009.

OLIVEIRA, L. M.; SARANTÓPOULOS, C. I. G. L.; CUNHA, D. G.; LEMOS, A.B. Embalagens Termoformadas e Termoprocessáveis para Produtos Cárneos Processados. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, 16, 2006

PARRILLI, C.C. **Clostridium botulinum em alimentos**. Trabalho de conclusão de curso de Medicina Veterinária. Faculdades Metropolitanas Unidas Medicina Veterinária, 2008.

PEXARA, E. S., METAXOPOULOS, J., DROSINOS, E. H. Evaluation of shelf life of cured, cooked, sliced turkey fillets and cooked pork sausages-piroski-stored under vacuum and modified atmospheres at 4 and 10 °C. **Meat Science**, 62, 2002.

RAHMAN, M. S. **Handbook of food preservation**. Ed. CSR Press. 2007.

RAYMUNDO, M. S. **Avaliação da quantificação de nitritos e antioxidantes em alimentos por técnicas voltamétricas**. Tese de Doutorado, Universidade Federal de Santa Catarina, 2007.

RIGA, B. A.; RUIZ, M. R. Fita indicadora e tabela de cores para determinar concentração de nitratos e nitritos em carnes curadas. **Revista Nacional da Carne**, 403, 2010.

ROÇA, R.O. **Cura de Carnes**. UNESP - Faculdade de Ciências Agrônômicas, Laboratório de Tecnologia dos Produtos de Origem Animal. Disponível em: <<http://puhrs.campus2.br/~thompson/Roca111.pdf>>. Acessado em 02 de novembro de 2010.

SANTOS, T.M. Resistência de micro-organismos patógenos (Clostridium, Salmonella, e Listeria) em embutidos crus e cozidos e carnes armazenadas em embalagem com atmosfera modificada. **Publicações em Medicina Veterinária e Zootecnia**, 2, 2008.

SARMENTO, C. M. P. **Modelagem do crescimento microbiano e avaliação sensorial no estudo da vida de prateleira da mortadela e da lingüiça defumada em armazenamento isotérmico e não isotérmico**. Tese Doutorado, Universidade Federal de Santa Catarina, 2006.

SILVEIRA, H. C. A união faz a força? **Revista Nacional da Carne**, 404, 2010.

THOMAS, R.; ANJANEYULU, A. S. R.; KONDAIAH, N. Development of shelf stable pork sausages using hurdle technology and their quality at ambient temperature (37 ± 1 oC) storage. **Meat Science**, 79, 2008.

TORREZAN, R.; JARDINE, J. G.; VITALI, A. A. Preservação de alimentos com o uso de métodos combinados: uma revisão. **Boletim da Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, São Paulo, v. 31, n. 2, 1997.

VALOR ECONÔMICO. Análise setorial - Carnes: Negócios e Tendências. Disponível em: <<http://setorial.valor.com.br>>. Acessado em: 28 de maio de 2009.

ZHOU, G. H.; XU, X. L.; LIU, Y. Preservation technologies for fresh meat – A review. **Meat Science**, 86, 2010.

CAPÍTULO 2

DESENVOLVIMENTO DE SALSICHA ISENTA DE NITRATO E NITRITO COM ATIVIDADE DE ÁGUA REDUZIDA

(Development of sausage free of nitrate and nitrite and with water activity reduced)

DESENVOLVIMENTO DE SALSICHA ISENTA DE NITRATO E NITRITO COM ATIVIDADE DE ÁGUA REDUZIDA

(Development of sausage free of nitrate and nitrite and with water activity reduced)

Tallita Karolline Nunes¹; Nery Nishimura de Lima²; Laura Beatriz Karam³

¹ Mestranda do programa em Ciência Animal, Pontifícia Universidade Católica do Paraná

² Professora Doutora, curso de Engenharia de Alimentos, Pontifícia Universidade Católica do Paraná,

³ Professora Doutora, Programa de Mestrado em Ciência Animal, Pontifícia Universidade Católica do Paraná,

RESUMO – Na produção de salsicha, derivado cárneo de grande consumo mundial, os nitratos e nitritos apresentam importantes funções tecnológicas, como desenvolvimento de cor e sabor característico dos produtos curados, e agem, principalmente, como conservantes. Porém, a ingestão em excesso desses conservantes químicos preocupa a saúde pública, pois, o nitrito ingerido em excesso pode dar origem a substâncias consideradas carcinogênicas. O objetivo desse trabalho foi desenvolver uma formulação de salsicha isenta de nitrito e nitrato com atividade de água reduzida para valores inferiores a 0,95 (Tratamento A). Para definir a formulação do novo produto (Tratamento A), foi utilizada a Metodologia de Superfície de Resposta a fim de determinar a proporção ideal de dextrose e cloreto de sódio na formulação. A salsicha de formulação comercial (Controle), na qual nitrato e nitrito são utilizados como agentes conservantes, apresentou atividade de água igual a $0,983 \pm 0,001$ e a salsicha correspondente ao Tratamento A apresentou atividade de água igual a $0,946 \pm 0,003$, representando uma redução de $0,037 \pm 0,001$ na atividade de água da salsicha desenvolvida. O teor de sódio, na porção de 50g do produto desenvolvido (Tratamento A), ficou em 17%, referente ao percentual de valor diário recomendado para uma dieta de 2000 kcal. Esse teor foi considerado abaixo do encontrado em salsichas comerciais, cujo valor varia entre 20 e 24%. Na avaliação sensorial *in home*, realizada no 20º dia de estocagem do produto, os atributos de sabor, aroma, textura e aparência geral do produto foram avaliados em uma Escala Hedônica de 7 pontos, que variou de 7 = “gostou muito” e 1 = “desgostou muito”, e a salsicha referente ao Tratamento A foi considerada aceita porque obteve boa aceitação com 73% de aprovação pelos provadores. Utilizando a Metodologia de Superfície de Resposta foi possível otimizar o processo de definição da formulação. Com a formulação desenvolvida foi obtido salsicha isenta de nitrato e nitrito com atividade de água reduzida, que embalada a vácuo e mantida sob refrigeração (4°C), atendeu a legislação brasileira quanto aos padrões físico-químicos e as características exigidas pelos consumidores para os atributos sensoriais desse produto. No entanto, com a formulação desenvolvida, é necessário realizar o teste de estabilidade para determinar o shelf-life do produto e mostrar a eficiência da redução da atividade de água avaliada nesse trabalho.

Palavras-chaves: métodos de conservação. Conservantes químicos. Desenvolvimento de produto. Derivados cárneos.

ABSTRACT – Nitrates and nitrites have important technological functions in the preservation of sausage, which is a meat product with large worldwide consumption. However, the ingestion in excess of these chemical preservatives concerns the public health, after all, the nitrite may give origin for substances considered carcinogenic. The objective this study was to development of a formulation of sausage free of nitrite and nitrate and with water activity reduced to values below 0.95. The reduction of water activity of the product was performed using the Response Surface Methodology to define the relation of dextrose and sodium chloride utilized in formulation. The product developed, free of nitrate/nitrite, had water activity equal to $0.946 \pm 0,003$. The sodium level, in 50g of the product developed, was 17%, referring to the percentage of recommended daily value for a diet with 2000 kcal. This sodium level is lower than the sodium level of commercial sausages, where this value is between 20 – 24%. The sensory analysis in home was realized when the sausage was in the 20th day of storage. In this test, the panelists answered the range of 7 point between 'like a lot' and 'don't like a lot' and they evaluated the attributes taste, texture and general appearance that they were considered acceptable and the sausage with reduced water activity had 73% of approval by the panelists. Using Response Surface Methodology was possible to optimize the process of defining the formulation. With the formulation developed was obtained sausage free of nitrate and nitrite with reduced water activity, when vacuum packaged and kept refrigerated (4 ° C), the new product attended the standards physico-chemical based in Brazilian laws and it had accepted the sensory attributes by panelists. However, for the new formulation is necessary to test the stability of the sausage developed to determine the shelf life of the new product and show the efficiency of reduction of water activity evaluated in this study.

Keywords: methods of conservation. Chemical preservative. Developed of product. Meat products.

1. INTRODUÇÃO

No Brasil, cada habitante consome em média 14 quilos de carne por ano (KALSCHNE et al., 2010), dos quais 79% é consumido na forma de derivados cárneos industrializados, como embutidos (OLIVEIRA, 2008). O grande consumo dos produtos cárneos industrializados é motivado pelo fato que esses produtos atendem às necessidades do consumidor por alimentos de rápido preparo (THOMAS et al., 2008), e, também, pelo grande interesse das empresas de alimentos em agregar valor às porções de carne que não são comercializadas *in natura* (SARMENTO, 2006; CESAR, 2008). Entre os derivados cárneos embutidos, a salsicha é um produto popular com amplo consumo mundial (THOMAS et al., 2008; MERCADANTE et al., 2010).

A composição diversificada da salsicha proporciona condições ideais para o desenvolvimento de algumas bactérias potencialmente patogênicas (BERNARDO, 2006; SARMENTO, 2006). Segundo Zhou et al. (2010), o desenvolvimento de micro-organismos é o fator mais importante em relação à qualidade de conservação de carnes e derivados e as indústrias de alimentos devem garantir a segurança alimentar os produtos (SARMENTO, 2006). Parrilli (2008) e Caranova (2008) destacam que entre os micro-organismos patogênicos de maior importância nos derivados cárneos está o *Clostridium botulinum*, que durante a intensa proliferação, é capaz de produzir toxina que pode provocar a morte por parada respiratória. Em derivados cárneos, como salsicha, são utilizadas embalagens a vácuo para aumentar a vida de prateleira do produto e a preocupação com o desenvolvimento do *Clostridium botulinum* é maior, afinal, esse micro-organismo é reconhecidamente anaeróbio (SANTOS, 2008).

O nitrito de sódio ou potássio e o nitrato de sódio ou potássio, conhecidos também como sais de cura, são os principais aditivos químicos utilizados na produção de salsicha, porque, durante o período de estocagem, o nitrato atua como reserva de nitrito e o nitrito apresenta o efeito conservante contra micro-organismos, especialmente o *Clostridium botulinum* (SARMENTO, 2006; AMIN, OLIVEIRA, 2006; JAFARI, DJOMEH, 2007; RAYMUNDO, 2007; SANTOS, 2008; THOMAS et al., 2008; RIGA, RUIZ, 2010). Além da ação conservante, o nitrito preserva a cor rosa-cozido da salsicha, impede a formação de sabor de requeijado no produto e contribui para desenvolver o sabor típico associado com carnes curadas, que são características que indicam a qualidade do produto (JAFARI; DJOMEH, 2007; RIGA, RUIZ, 2010).

Embora os sais de cura apresentem importantes funções tecnológicas em produtos como salsicha, atualmente, há a preocupação decorrente da presença desses aditivos químicos nos alimentos principalmente por causa dos efeitos tóxicos produzidos pelo excesso de nitratos na dieta. O nitrito ingerido em excesso pode dar origem a substâncias consideradas carcinogênicas, mutagênicas e teratogênicas (RYWOTYCKI, 2002; MELO FILHO et al., 2004; DUTRA, 2006; RAYMUNDO, 2007; RIGA, RUIZ, 2010). No Brasil, esses aditivos são considerados agentes conservantes e seus limites máximos, representados em g/100g, são determinados pela quantidade residual máxima expressa como nitrito de sódio. As concentrações máximas admitidas são de 0,015 g de Nitrito de potássio ou de sódio para cada

100g de nitrito de sódio residual e de 0,030 g de Nitrato de potássio ou sódio para cada 100g de nitrito de sódio residual (BRASIL, 1998; BRASIL, 2006).

É importante destacar que a estabilidade microbiológica e a segurança dos alimentos são resultados da ação combinada de vários fatores de conservação e não somente da atuação dos aditivos químicos, como os sais de cura utilizados em salsicha (LEISTNER, 2000; LEISTNER, GOULD, 2002). A pasteurização a vapor, o ajuste de pH e da atividade de água do produto, o uso de conservantes e a estocagem a vácuo sob refrigeração são os fatores de conservação utilizados em produtos cárneos (CIFUENTES DE LA TORRE, 1987; TORREZAN et al., 1997; LEISTNER, 2000; AYMERICH et al., 2008; CARANOVA, 2008; SANTOS, 2008).

Para o *Clostridium botulinum* produzir a toxina botulínica são necessárias condições ótimas de pH, atividade de água, sal, nitrito, quantidade de células viáveis do micro-organismo e temperatura (RHODEHAMEL et al., 1992). Entre os fatores de conservação utilizados em salsicha, a redução da atividade do produto para valores abaixo de 0,95 é uma condição que limita para proliferação do *Clostridium botulinum* e, conseqüentemente, formação da toxina botulínica (JAFARI; DJOMEH, 2007).

Para reduzir o teor nitrito e avaliar o efeito da redução da atividade de água na conservação de salsichas, Cifuentes de La Torre (1987) utilizou soluções osmóticas com concentrações variáveis de glicerol, propileno glicol, cloreto de sódio e água para imersão da salsicha e redução da atividade de água do produto para valores menores que 0,84. O produto que apresentou as melhores características sensoriais foi obtido quando imerso na solução aquosa que continha glicerol (50%), cloreto de sódio (10%) e sorbato de potássio (0,5%). Esse produto foi armazenado à temperatura ambiente por 105 dias e apresentou estabilidade química e microbiológica durante o armazenamento, porém, antes do consumo necessitava de reidratação em água pura por 10 horas.

Jafari e Djomeh (2007) garantiram a segurança e a qualidade da salsicha reduzindo o teor de nitrito de 120 para 50 ppm. A atividade de água do produto foi adaptada para $0,95 \pm 0,002$ pela adição 2% de NaCl, 1% KCl e 0,19% de goma comercial e o pH foi ajustado para 5,4 com glucono-delta-lactona. Foi aplicado o tratamento térmico à temperatura de 80°C/1h para que produto atingisse a temperatura interna de 75°C, resfriamento a temperatura cerca de 5 - 6°C por 40-45 min, e estocagem sob refrigeração (temperatura ente 3°C e 10°C). Houve uma diminuição na contagem total de aeróbios na amostra produzida com as barreiras

tecnológicas em comparação com o controle (com 120 ppm de nitrito), enquanto que as contagens de *Clostridium perfringens* e detecção de *Clostridium botulinum* foi o mesmo em ambos os tratamentos. Jafari e Djomeh (2007) comentam que Leistner et al (1980) afirmaram que valores de atividade de água iguais ou menores do que 0,95 o nitrito é necessário apenas para as propriedades sensoriais dos produtos curados e não mais como conservante contra o *Clostridium botulinum*.

Para desenvolver salsicha com teor reduzido de nitrito e estável à temperatura de 37 ± 1 °C, Thomas et al. (2008) diminuíram o pH do produto de 6,27 para 5,9 usando ácido láctico e glucona-delta-lactona, reduziram da atividade de água do produto para 0,93 utilizando proteína texturizada de soja (3%), aplicaram cozimento em um forno a vapor sem pressão até que a temperatura interna do produto atingisse 75 ° C, embalaram o produto à vácuo e reaqueceram as embalagem até a temperatura interna de 90 °C. O produto desenvolvido apresentou menor contagem de coliformes, bactérias anaeróbias, lactobacilos e *Staphylococcus aureus* e obteve uma aceitação global na faixa de 'muito bom' a 'bom' até o 6º dia de armazenamento em temperatura ambiente.

Diante da necessidade de reduzir o teor dos aditivos químicos em salsicha e garantir a segurança alimentar do produto, o objetivo desse trabalho foi desenvolver uma formulação de salsicha isenta de nitrito e nitrato com atividade de água reduzida para valores inferiores a 0,95 (Tratamento A).

2 MATERIAIS E MÉTODO

2.1 DEFINIÇÃO DA FORMULAÇÃO DA SALSICHA

2.1.1 Planejamento experimental para redução da atividade de água

Foi utilizada a Metodologia de Superfície de Resposta (MRS) para avaliar quais combinações de insumos na formulação reduziriam a atividade de água com o menor impacto nas características sensoriais e físicas do produto. Para definir quais seriam as variáveis independentes do processo, onde a atividade de água seria a variável dependente, foram realizados ensaios preliminares utilizando insumos naturais como: sal, amidos e açúcares (monossacarídeos, dissacarídeos e dextrose).

2.1.2 Formulação controle

Com objetivo de avaliar a redução da atividade de água na salsicha isenta de nitrito e nitrato (Tratamento A), desenvolvida nesse trabalho, essa foi comparada com uma salsicha de formulação comercial, com adição de nitrito e nitrato, também denominada como 'Controle'. Na formulação comercial (Controle) foram utilizados 28,30% de retalho magro de suíno, 28,30% de carne de traseiro bovino, 21,23% de toucinho, 17,69% de gelo, 1,56% de fécula de mandioca, 1,56% de cloreto de sódio, 0,35% de polifosfato de sódio, 0,32% de nitrato/nitrito (Duas Rodas®), 0,25% de eritorbato de sódio; 0,21% de condimento para salsicha (Duas Rodas®), 0,14% de alho em pó, 0,07% de pimenta branca moída e 0,03% de corante carmim.

2.1.3 Processo de produção

A Figura 1 apresenta as etapas do processo de produção para a salsicha desenvolvida, isenta de nitrato/nitrito com atividade de água reduzida (Tratamento A).

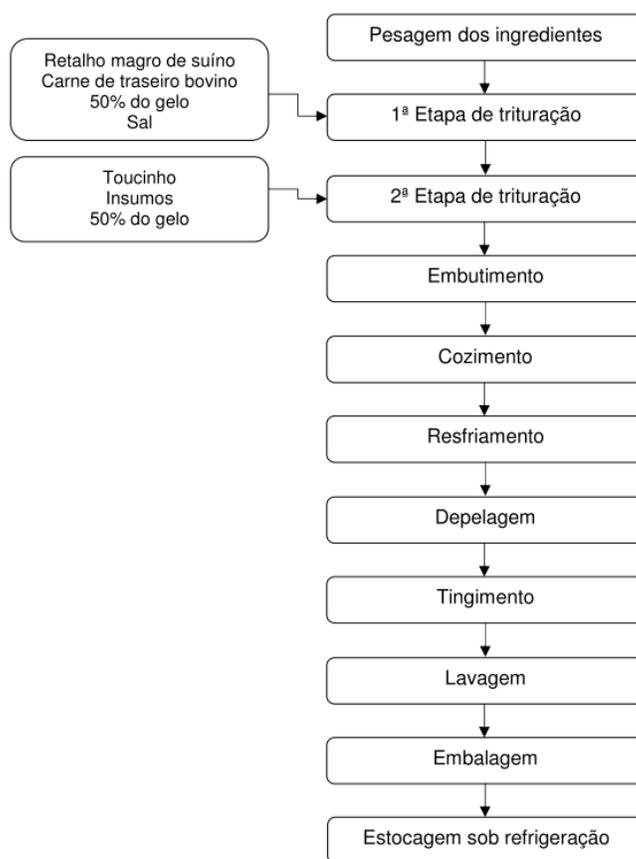


Figura 1. Fluxograma do processo de produção da salsicha

Todas as fases de trituração foram realizadas em um mini-cutter (Metvisa, modelo de corte de 2,5) por 4-5 minutos. Na primeira etapa de trituração foi adicionado o retalho magro de suíno, a carne de traseiro bovino, o cloreto de sódio e 50% da quantidade total de gelo. O objetivo de adicionar apenas o insumo cloreto de sódio na carne foi solubilizar ao máximo as proteínas da carne, principal agente emulsificante em salsicha. Na segunda etapa de trituração, o toucinho, os demais ingredientes e o restante do gelo foram misturados. O gelo serviu, principalmente, com fonte de água para o produto, porém foi adicionado em duas etapas para manter a temperatura da massa menor que 12 °C durante a trituração e garantir a estabilidade de emulsão formada. A emulsão cárnea foi manualmente embutida em tripa de celofane (23 mm de diâmetro). A tripa com a massa era torcida a cada 10 cm para formar as unidades de salsichas.

As salsichas foram cozidas em forno estático industrial a vapor em temperatura de 70 °C durante 30 minutos e a 85 °C durante 40 minutos. A temperatura interna dos produtos foi de aproximadamente 75 °C. Após o cozimento,

as salsichas foram imediatamente resfriadas a 24 °C em um chuveiro com água fria, descascadas e tingidas em solução urucum 8% (11-12 pH, 80°C por 2-3 min). A etapa de lavagem foi realizada em solução de ácido cítrico com pH 3,5 por 2 minutos.

As amostras da salsicha desenvolvida, sem nitrato/nitrito com atividade de água reduzida (Tratamento A), e as amostras da salsicha de formulação comercial (Controle) foram embaladas a vácuo em sacos de polietileno com camada de barreira EVOH, alta barreira a gases, utilizando embaladora Selovac 200B. As embalagens foram fornecidas pela empresa Parnaplast, localizada em Araucária/PR. Ambos os produtos, salsicha desenvolvida e salsicha comercial, foram armazenadas sob refrigeração (4°C).

As etapas de cozimento, resfriamento, depelagem, tingimento e embalagem foram realizadas no Frigorífico Juliatto, localizado em São José dos Pinhais/PR, que gentilmente cedeu os equipamentos, e por isso foi possível realizar o processo industrial de produção de salsicha.

2.2 CARACTERIZAÇÃO DO PRODUTO

As análises de pH, atividade de água e a composição centesimal foram realizados nos laboratórios da Usina Piloto de Alimentos da Pontifícia Universidade Católica do Paraná. Para realizar a avaliação sensorial *in home* em Curitiba foi necessário distribuir as amostras entre os alunos e funcionários da Pontifícia Universidade Católica do Paraná e em São Paulo, capital, as amostras foram distribuídas, gentilmente pela empresa Anew, localizada na capital paulista, entre funcionários, fornecedores e clientes.

2.2.1 Determinação do pH e atividade de água (Aa)

O pH foi determinado utilizando um pHmetro com um eletrodo de sonda de penetração (Hanna®, modelo pH 21). A atividade de água foi determinada utilizando o Aqua Lab (Decágono Devices Inc®, modelo CX-2, Washington, EUA), de acordo com as instruções do fabricante, em temperatura de 20 °C. Tanto a análise de pH como da atividade de água, para as formulações Tratamento A e Controle, foram realizadas em triplicata com três repetições genuínas, para o dia 1 de estocagem.

2.2.2 Composição química

Os teores de umidade, proteína, lipídeos e cinzas foram determinados no primeiro dia de estocagem do produto. Umidade em estufa a 105°C até peso constante. Proteína bruta pelo método Kjeldahl (6,25 x N). Lipídeos por um sistema automatizado de Soxhlet. Cinzas por incineração em mufla a 550°C por 6h e o íon sódio por absorção atômica. O teor de carboidratos foi determinado por diferença. Todas as análises foram realizadas em triplicata com três repetições genuínas, segundo o método descrito pela AOAC (2000).

2.2.3 Avaliação Sensorial *in home*

A análise sensorial da salsicha sem nitrato/nitrito com atividade de água reduzida (Tratamento A) foi realizada com a metodologia *in home*, em que o provador prepara o produto na forma orientada (Anexo A) ou de acordo com a sua preferência (DUTCOSKY, 2007).

Para realizar essa análise, foram selecionadas 57 famílias (182 pessoas), localizadas em Curitiba e região metropolitana e São Paulo capital, compostas por indivíduos de ambos os sexos, de todas as faixas etárias, que consomem salsicha desde uma vez por semana a esporadicamente, e pertencem às classes A, com renda familiar mensal superior à R\$ 15.000,00 por mês; B, com renda familiar de R\$ 7.501,00 a R\$15.000,00; C, que apresentam renda familiar entre R\$3.001,00 e R\$ 7.500,00 e D, com renda familiar entre R\$1.001,00 e R\$3.000,00.

Todos os lotes destinados à análise sensorial foram previamente submetidos a análises microbiológicas de salmonela, contagem de psicrófilos, estafilococos coagulase positiva, coliformes e clostrídio sulfito redutor e as famílias avaliaram o produto com 20 dias de estocagem.

Na análise sensorial *in home*, cada integrante da família recebeu duas amostras da salsicha do Tratamento A, a apresentação do estudo e o modo de preparo, conforme anexo A. A família respondeu às perguntas contidas na ficha de caracterização da família (anexo B), analisando o produto de acordo com a avaliação geral da família. Então, cada provador avaliou, individualmente, o produto, e respondeu a análise sensorial utilizando a Escala Hedônica de 7 pontos (7 –

gostou muito, 5 – não gostou, nem desgostou, 1 – desgostou muito) contidas na ficha de avaliação da salsicha, conforme anexo C.

2.3 ANÁLISE ESTATÍSTICA DOS DADOS

Para visualizar os efeitos das variáveis independentes na redução da atividade de água no produto desenvolvido, os resultados das interações foram analisados utilizando o programa *Statistica for Windows*®, versão 5.0 (STATSOFT, 1995) e um modelo de regressão, para prever o efeito do sal e da dextrose sobre a atividade de água, foi obtido. Foram avaliados a significância desse modelo de regressão em nível de 5% (teste F), o coeficiente de variação (CV) e o coeficiente de determinação (R^2) (BARROS NETO et al., 1995).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 DEFINIÇÃO DA FORMULAÇÃO DA SALSICHA

A partir de testes preliminares (dados não apresentados) foi possível constatar que as possíveis variáveis independentes significativas no processo de redução de atividade de água na salsicha ($Aa < 0,95$) eram a presença de sal e dextrose na formulação, porque a combinação desses insumos forneceram produtos mais similares às salsichas atualmente comercializadas e apresentavam melhor efeito na redução da atividade de água. Então, foi definido um planejamento fatorial completo 2^2 e com 3 repetições no ponto central totalizando 7 ensaios estudados onde as variáveis independentes foram o teor de sal e o teor de dextrose na formulação e a variável resposta foi a atividade de água da salsicha desenvolvida. A Tabela 1 apresenta, para todas as sete formulações de salsicha testadas, o valor codificado da quantidade de sal e dextrose utilizados e o valor da atividade de água do produto obtido.

Nos pontos centrais - codificação 0 (zero), as quantidades de sal e dextrose estavam no nível intermediário entre os limites máximos e mínimos, os quais foram determinados nos testes preliminares. Foi necessário realizar três repetições no ponto central do modelo para realizar o cálculo de falta de ajuste da modelagem estatística.

Tabela 1. Valores codificados de sal e dextrose utilizados no planejamento fatorial completo 2^2 com 3 repetições no ponto central e a variável resposta atividade de água.

Formulação	Sal	Dextrose	Atividade de água (Aa)
1	-1	-1	0,961
2	-1	+1	0,955
3	+1	-1	0,945
4	+1	+1	0,942
5	0	0	0,954
6	0	0	0,951
7	0	0	0,952

A Metodologia de Superfície de Resposta (MSR) é uma ferramenta estatística amplamente utilizada no desenvolvimento de produtos que apresenta as vantagens

de otimização das condições de reação e do estudo das interações entre as variáveis experimentais, permitindo uma melhor compreensão do processo e, principalmente, reduzindo o tempo experimental (HAMEED; LAI; CHIN, 2009; GRANATO; FAVALLI-BRANCO; DE ARAÚJO-CALADO, 2011). Jin et al. (2011) destacam que as superfícies de resposta geradas por essa metodologia podem indicar se as interações mútuas entre as variáveis independentes são significativas ou não.

Através da aplicação dos dados obtidos com nos 7 ensaios realizados (Tabela 1) na Metodologia de Superfície de Resposta, foi obtido o modelo apresentado pela Equação 1, que explicou 95,86% das respostas ($R^2 = 0,9586$). A análise de variância (ANOVA) para a atividade de água mostrou que o modelo gerado (Equação 1) foi significativo, com falta de ajuste não significativo ($p < 0,05$), e a equação foi considerada apropriada para fins preditivos.

$$Aa = 0,95133 - 0,00741 \text{ Sal}_{\text{CODIFICADO}} - 0,00225 \text{ Dextrose}_{\text{CODIFICADO}} \text{ (Eq.1)}$$

$$R^2 = 0,9586$$

A interpretação do sinal negativo, para o teor de sódio e de dextrose, da Equação 1 mostra que esses insumos foram eficientes na redução da atividade de água do produto, sendo que o sal apresentou-se, aproximadamente, 3,29 vezes mais eficiente quando comparado com a dextrose, para mesma redução da atividade de água.

Como o modelo matemático foi significativo em nível de 5% foi construído um gráfico de superfície de resposta, representado na Figura 2, para predizer (na forma codificada) os efeitos das variáveis independentes, teor de dextrose e teor de sal da formulação, e de suas interações sobre a atividade de água da salsicha.

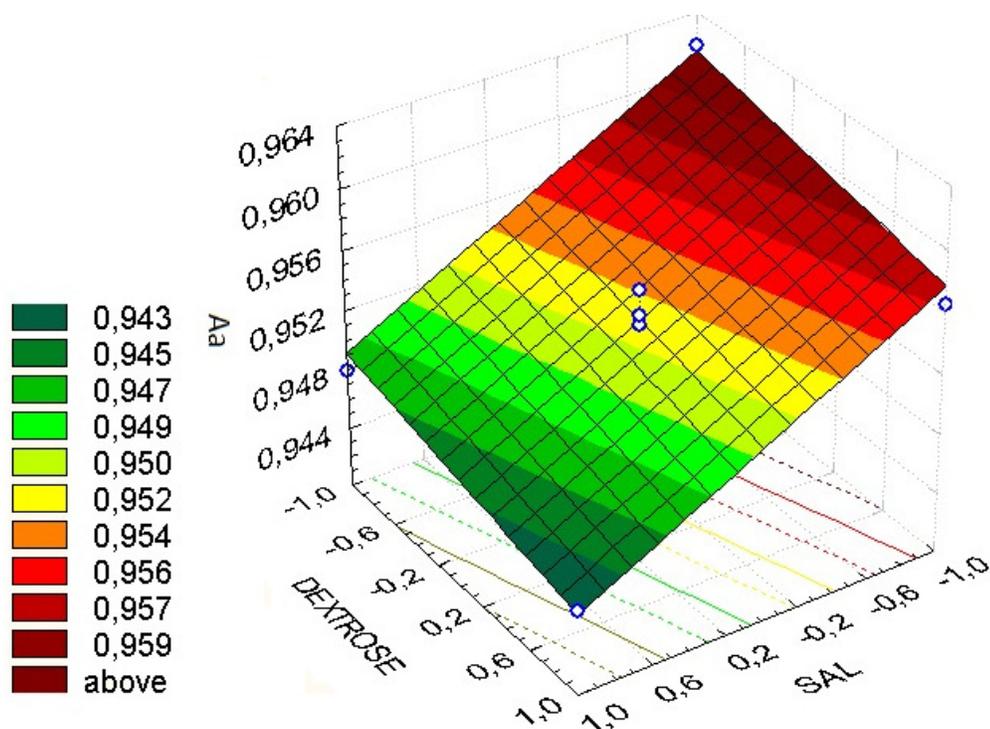


Figura 2. Gráfico de Superfície de Metodologia de Resposta gerado para o desenvolvimento de salsicha sem nitrato/nitrito com atividade de água reduzida.

Utilizando a superfície de resposta (Figura 2) e o modelo obtido (Equação 1) foram produzidas quatro formulações de salsicha com atividade de água abaixo de 0,95 e isenta de nitrato/nitrito. Entre essas quatro formulações, a formulação que apresentou melhor palatabilidade sensorial foi denominada de 'Tratamento A' e definida como a nova formulação de salsicha isenta de nitrato e nitrito e com atividade de água reduzida. A Tabela 2 apresenta a formulação escolhida que foi utilizada na caracterização do produto, conforme descritos em materiais e métodos.

Tabela 2. Quantidade de cada matéria-prima e insumos utilizados na formulação da salsicha isenta de nitrato e nitrito com atividade de água reduzida (Tratamento A)

Matéria-prima	Quantidade
Retalho magro de suíno	26,63%
Carne de traseiro bovino	26,63%
Toucinho	19,97%
Gelo	16,64%
Outros insumos (dextrose Corn Products®, Kooso® Anew, cloreto de sódio, corante natural de beterraba, leite em pó desnatado, polifosfato de sódio, condimento para salsicha Duas Rodas®, alho em pó e pimenta branca em pó)	10,13%

3.2 CARACTERIZAÇÃO DO PRODUTO

3.2.1 Determinação do pH e atividade de água (Aa)

A Tabela 3 apresenta os valores de pH e atividade de água da salsicha referente ao Tratamento A e da salsicha Controle.

Tabela 3. Valor de pH e atividade de água para Tratamento A e Controle.

Propriedade	Tratamento A	Controle
pH	5,9	6,1
Atividade de água	0,946 ± 0,003	0,983 ± 0,001

Tratamento A: salsicha isenta de nitrito/nitrato com atividade de água reduzida
 Controle: salsicha de formulação comercial, com adição de nitrato/nitrito

Através da aplicação da Metodologia de Superfície de Resposta para o desenvolvimento da nova formulação foi possível reduzir a atividade de água da salsicha de $0,983 \pm 0,001$, correspondente ao Controle, para $0,946 \pm 0,003$, valor da atividade de água do Tratamento A, resultando em uma diferença de $0,037 \pm 0,001$ na atividade de água.

Jafari e Djomeh (2007) desenvolveram salsichas com menor teor de nitrito através da redução da atividade de água para $0,950 \pm 0,002$ usando 2% de NaCl, 1% KCl e 0,19% de goma comercial. A principal afirmação realizada pelos autores, assim como Leistner et al. (1980), é que através do ajuste da atividade de água para valores iguais ou menores do que 0,95, o nitrito é necessário apenas para as propriedades sensoriais dos produtos curados e não mais como conservante. A salsicha correspondente ao Tratamento A, desenvolvida nesse trabalho, apresentou atividade de água igual a $0,946 \pm 0,003$ (Tabela 3) e, segundo Leistner et al. (1980) e Jafari e Djomeh (2007), não seria necessário utilizar o nitrito como conservante.

Em produtos cárneos emulsionados, como salsicha, a aplicação da redução do pH como método de conservação é limitada, principalmente, pela estabilidade de emulsão e avaliação sensorial do produto. A aplicação da redução do pH é restringida na avaliação sensorial do produto, porque derivados cárneos com pH abaixo de 4,5 não têm boa aceitação pelos consumidores (LEISTNER; GORRIS, 1995). Além disso, segundo Thomas et al. (2008), a salsicha com pH igual a 5,95 apresenta menor estabilidade de emulsão, quando comparada a salsicha com pH igual a 6,27, resultando em um produto com menor rendimento.

Jafari e Djomeh (2007) reduziram o pH da salsicha de $5,8 \pm 0,01$ para $5,4 \pm 0,01$, usando 0,3% de Glucona-delta-lactona (GDL), com o objetivo de melhorar a segurança microbiológica do produto. Para esse autores, a redução do pH influenciou negativamente o sabor do produto, que apresentou um sabor amargo. A salsicha do Tratamento A, com pH igual à 5,9 (Tabela 3), também desenvolveu um sabor levemente amargo, porém esse sabor não foi percebido na salsicha Controle, com pH igual à 6,1(Tabela 3). Esses resultados concordam com Jafari e Djomeh (2007) e confirmam que a redução do pH desenvolve o sabor amargo na salsicha.

Thomas et al. (2008) desenvolveram salsicha estável à temperatura de 37 ± 1 °C, por três dias, utilizando como barreiras tecnológicas a redução do pH do produto para 5,9, ajuste da atividade de água do produto para 0,93 com a aplicação de proteína texturizada de soja (3%), tratamento térmico, embalagem à vácuo e reaquecimento da embalagem até a temperatura interna de 90 °C. Para os autores, a redução do pH para 5,9 pode resultar em redução no teor de gordura do produto, porque com o abaixamento do pH a emulsão desestabiliza, a gordura fica livre na matriz do alimentos e liquefaz durante o cozimento. No Tratamento A (Tabela 3), a salsicha obteve atividade de água igual a $0,946 \pm 0,003$ e pH igual a 5,9, porém não ocorreu a liquefação da gordura durante o cozimento e a estabilidade da emulsão não foi afetada, diferindo do resultado descrito por Thomas et al. (2008).

3.2.2 Composição química

Conforme apresentado, para redução da atividade de água do novo produto desenvolvido foi adicionado dextrose na formulação. Avaliando a Figura 2, é possível verificar que quanto o teor codificado de dextrose era igual a +1, maior era a redução da atividade de água do produto. Entretanto, a salsicha obtida nesse caso apresentava quantidade de carboidratos acima do permitido no Padrão de Identidade e Qualidade de Salsicha (BRASIL, 2000). Por isso, o teor de dextrose, na forma codificada, utilizado na formulação do Tratamento A foi próximo de -1, que corresponde ao teor mínimo com efeito na redução da atividade de água e que o valor foi obtido nos testes preliminares.

Avaliando a Tabela 4, que apresenta a composição centesimal e de sódio para a salsicha do Tratamento A, foi comprovado que o produto desenvolvido está de acordo com a legislação brasileira de produtos cárneos, permanecendo o teor de

proteína maior que 12% e os teores de carboidratos totais, umidade e lipídeos inferiores a 7%, 65% e 30%, respectivamente (BRASIL, 2000)..

Tabela 4. Composição centesimal da formulação de salsicha referente ao Tratamento A e os limites máximos, estabelecidos pela legislação brasileira.

Composição química	Tratamento A	Limites* (%)
Umidade (%)	53,9 ± 0,8	máx. 65,0
Carboidratos (%)	6,6 ± 0,5	máx. 7,0
Proteína (%)	14,0 ± 0,2	mín.12,0
Lipídeos (%)	21,0 ± 0,9	máx. 30,0
Cinzas (%)	4,5 ± 0,1	**
Sódio (mg/50g)	829,1	**

Tratamento A: salsicha isenta de nitrito/nitrato com atividade de água reduzida para 0,946 ± 0,003

* Limites estabelecidos (BRASIL, 2000)

** Limites não estabelecidos pela legislação brasileira

Pérzez-Palacios et al. (2008) compararam diferentes metodologias para quantificar o teor total de gordura em carnes e em derivados cárneos e afirmaram que o método de Soxhlet, utilizado também nesse trabalho, é o mais eficiente para a extração de gordura em salsicha. Os mesmos autores definiram que, em geral, o teor de gordura em salsichas comerciais é de 20,16%. O teor de gordura da salsicha referente ao Tratamento A foi de 21% (Tabela 4), esse valor é igual, em nível de 5% de significância, ao declarado pelos Pérez-Palacios et al (2008). A comparação desses resultados, confirma que apesar da redução de pH para 5,9, apresentado na Tabela 3, a salsicha do Tratamento A não apresentou liquefação da gordura e a emulsão manteve-se estável durante o cozimento, e contraria Thomas et al. (2008) que afirmaram que salsicha com pH próximo de 5,9 há desestabilidade da emulsão.

Utilizando as barreiras tecnológicas redução do pH do produto para 5,9, ajuste da atividade de água do produto para 0,93 com a aplicação de proteína texturizada de soja (3%), tratamento térmico, embalagem à vácuo e reaquecimento da embalagem até a temperatura interna de 90 °C, Thomas et al. (2008) desenvolveram salsicha, estável à temperatura de 37 ± 1 °C por três dias, com 52,73% de umidade, 20,54% de proteína e 18,61% de lipídeos. Comparando, esses dados com a composição centesimal do Tratamento A, conforme Tabela 4, é possível verificar que o teor de umidade e lipídeos são semelhantes, porém, o teor de proteína no Tratamento A atende ao limite máximo determinado pela legislação

brasileira e Thomas et al. (2008) desenvolveram salsicha com maior teor de proteína do que o permitido no Brasil (BRASIL, 2000).

O teor de sódio, apresentado na Tabela 4, igual a 1658,2 miligramas por 100 gramas de produto, corresponde a 829,1 miligramas de sódio para cada unidade de produto. Em relação ao Percentual de Valores Diários (%VD) (BRASIL, 2005), que é um número em percentual que indica o quanto o produto apresenta de energia e nutrientes em relação a uma dieta de 2000 calorias, o teor de sódio do Tratamento A corresponde a 17% VD, teor abaixo do encontrado em salsichas comerciais, cujo valor varia entre 20 e 24%, VD para 50 gramas de produto. Esse resultado indica que apesar do cloreto de sódio ter sido um dos ingredientes utilizados para reduzir a atividade de água da salsicha e quanto maior a adição desse ingrediente, maior era a redução na atividade de água (Equação 1), o produto final apresentou teor de sódio menor que os produtos comercializados atualmente no Brasil, o que é muito importante frente as atuais tendências para reduzir o teor de sódio dos alimentos (JIMÉNEZ COLMENERO, CARBALLO, 2005; NASCIMENTO et al., 2007).

3.2.3 Avaliação Sensorial *in home*

Avaliando as fichas de caracterização da família, aplicadas na análise sensorial *in home*, foi possível caracterizar as famílias que participaram da análise sensorial. Aproximadamente 76% das famílias possuem renda familiar entre R\$1001,00 e R\$7500,00, mostrando que famílias das classes C e D foram maioria na avaliação.

A distribuição etária dos provadores mostrou que o teste foi realizado com provadores de todas as faixas etárias, mas a faixa etária com poder de compra, idade entre 17 e 40 anos, e responsável pela escolha dos produtos que serão consumidos pela família, correspondeu a 46% dos provadores.

Após analisar estatisticamente as fichas de avaliação do produto, pode-se concluir que as famílias que degustaram a salsicha correspondente ao Tratamento A, apresentaram, em média, o nível de aceitação sensorial do produto como bom, numa escala de ótimo, bom, médio, regular e ruim. A Figura 3 mostra a distribuição dos provadores dentro desta escala.

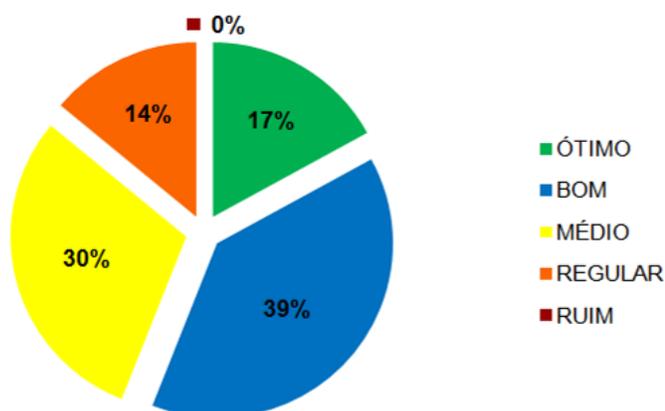


Figura 3. Aceitação geral da família que participaram da análise sensorial *in home* ao avaliar a salsicha isenta de nitrato e nitrito com atividade de água reduzida, correspondente ao Tratamento A.

A ficha de avaliação sensorial da salsicha questionou sobre o sabor, o aroma, a textura e a avaliação geral do produto em uma escala de 7 pontos, que variou de “gostou muito” (7 ponto) a “desgostou muito” (1 pontos), com ponto central em “não gostou nem desgostou” (4 pontos), conforme anexo C. Esse ficha foi respondida, individualmente, por cada provador da família e a Tabela 5 apresenta a média e o desvio padrão na avaliação de cada atributo da salsicha, produzida de acordo com a formulação do Tratamento A, com 20 dias de estocagem.

Tabela 5. Avaliação sensorial de aceitação, realizado in home, da salsicha do Tratamento A, média por provador.

Atributo	Média	Desvio Padrão
Sabor	5,22	± 1,74
Aroma	5,28	± 1,57
Textura	5,34	± 1,64
Aparência Geral	5,26	± 1,69

Analisando a Tabela 5 foi possível perceber que todos os atributos apresentaram pontos entre 6 e 5, que representam, na escala sensorial, a avaliação de “gostou ligeiramente” a “gostou moderadamente”.

A Figura 4 mostra a distribuição dos provadores de acordo com a avaliação sensorial geral da salsicha desenvolvida de acordo com o Tratamento A.

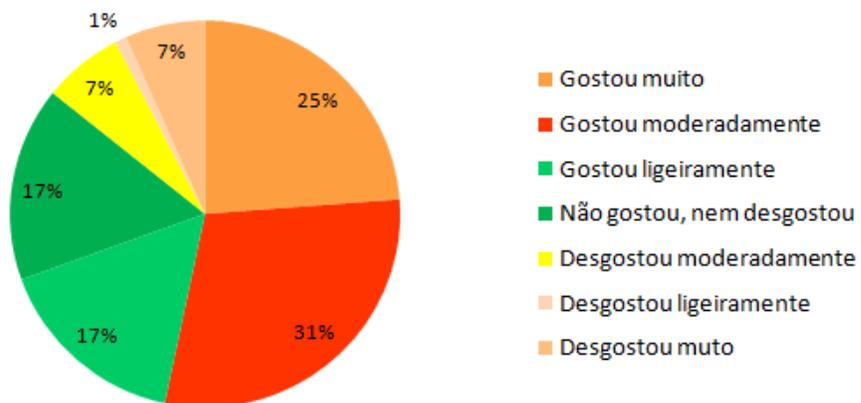


Figura 4. Avaliação sensorial geral da salsicha do Tratamento A, por provador.

Como demonstrado no gráfico da Figura 4, 73% dos provadores avaliaram o produto com pontuação acima do ponto neutro (não gostou, nem desgostou), o que permitiu considerá-lo aceito.

4 CONCLUSÃO

Tomando-se como base o estudo da redução da atividade de água, pode-se confirmar que cloreto de sódio e dextrose são insumos eficientes para reduzir a atividade de água em salsicha, principalmente, porque exercem pouco impacto nas características físicas, físico-químicas e sensoriais do produto.

Com a Metodologia de Superfície de Resposta foi possível desenvolver uma formulação de salsicha isenta de nitrato e nitrito com atividade de água reduzida para $0,946 \pm 0,003$, sendo que o planejamento experimental foi essencial para otimizar o processo de definição da formulação.

Através desse trabalho, foi possível desenvolver uma formulação de salsicha isenta de nitrato e nitrito com atividade de água reduzida, que embalada a vácuo e mantida sob refrigeração (4°C), atendeu a legislação brasileira quanto as características físico-químicas e foi aprovada sensorialmente pelo consumidor. No entanto, é necessário realizar com o produto desenvolvido o teste de estabilidade para determinar o shelf-life do produto desenvolvido e mostrar a eficiência da redução da atividade de água obtida nesse trabalho.

REFERÊNCIAS

AMIM, M.; OLIVEIRA, J. V. Efeito do uso do nitrato e nitrito na inibição de *Clostridium Perfringens* tipo A em lingüiça bovina curada. **Boletim Ceppa**, 24, 2006.

AOAC – **Official methods of anylisis of the Association of Analytical Chemists**. 17 ed. Gaithersburg, v. 1, 2000.

BARROS NETO, B.; SCARMINIO, I. S.; BRUNS, R. E. **Planejamento e otimização de experimentos**. 2 ed. Campinas: Ed. UNICAMP, 1995

BERNARDO, F. Perigos sanitários nos alimentos. **Segurança e Qualidade Alimentar**, 1, 2006.

BRASIL. ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução – **RDC n° 360**: Aprova o Regulamentos Técnico sobre Rotulagem Nutricional de Alimentos Embalados. Diário Oficial da União; Poder Executivo, de 26 de dezembro de 2003.

BRASIL. MAPA - Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instrução Normativa n° 04**: Aprova os Regulamentos Técnicos de Identidade e Qualidade de Carne Mecanicamente Separada, de Mortadela, de Lingüiça e de Salsicha. Diário Oficial da União; Poder Executivo, de 31 de março de 2000.

BRASIL. MAPA - Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instrução Normativa n° 51**: Regulamento Técnico de Atribuição de Aditivos, e seus Limites das seguintes Categorias de Alimentos 8: Carne e Produtos Cárneos. Diário Oficial da União; Poder Executivo, de 29 de dezembro de 2006.

BRASIL. Ministério da Saúde. ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Portaria n° 1002**: Lista os produtos, comercializados no país, enquadrando-os nas Subcategorias que fazem parte da Categoria 8 - Carnes e Produtos Cárneos. Diário Oficial da União; Poder Executivo, 14 de dezembro de 1998.

BRASIL. Ministério da Saúde. ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Portaria n° 1004**: Aprova o regulamento técnico: 'Atribuição de função de aditivos e seus limites máximos de uso para a Categoria 8 - Carne e Produtos Cárneos'. Diário Oficial da União; Poder Executivo, 14 de dezembro de 1998.

CARANOVA, A. R. P. **Implementação de um sistema de segurança alimentar num talho baseado na metodologia haccp**. Universidade Técnica de Lisboa. Dissertação de Mestrado Integrado em Medicina Veterinária, 2008

CESAR, A. P. R. **Listeria sp. e Listeria monocytogenes na produção de salsichas tipo Hot Dog e hábitos de consumidores**. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal de Goiás, 2008.

CIFUENTES DE LA TORRE, A.F. J. **Desenvolvimento, avaliação física, química e microbiológica, e testes de aceitação de salsicha com Aw reduzida por Glicerol e cloreto de sódio**. Dissertação de Mestrado, 1987.

DUTCOSKY, S. D. **Análise sensorial de alimentos**. 2. ed., rev. e ampl. Curitiba: Champagnat, 2007.

DUTRA, C. B. **Determinação de nitrosaminas voláteis em salsichas “hot-dog”**. Dissertação de Mestrado, UNICAMP, 2006.

ESTÉVEZ, M.; CAVA, R. Effectiveness of rosemary essential oil as an inhibitor of lipid and protein oxidation: Contradictory effects in different types of frankfurters. **Meat Science**, 72, 2006.

GRANATO, D.; FAVALLI-BRANCO, G.; DE ARAÚJO-CALADO, V. M. Experimental design and application of response surface methodology for process modelling and optimization: A review. **Food Research International**, 2011

HAMEED, B.H.; LAI, L.F.; CHIN, L.H. Production of biodiesel from palm oil (*Elaeis guineensis*) using heterogeneous catalyst: an optimized process. **Fuel Process Technol**, 2009.

JAFARI, M.; DJOMEH, Z. E. Reducing nitrite content in hot dogs by hurdle technology. **Food Control**, 18, 2007.

JIMÉNEZ COLMENERO, F.; CARBALLO, M.J. Ayo, J. Physicochemical properties of low sodium frankfurter with added walnut: effect of transglutaminase combined with caseinate, KCl and dietary fibre as salt replacers. **Meat Science**, 69, 2005.

JIN, G.; ZHANG, J.; YU, X.; LEI, Y.; WANG, J. Crude lipoxygenase from pig muscle: Partial characterization and interactions of temperature, NaCl and pH on its activity. **Meat Science**, 87, 2011.

KALSCHNE, D. L.; SANTOS, M. C.; SARMENTO, C. M. P.; CORSO, M. P. Desenvolvimento de lombo suíno maturado. **Revista Nacional da Carne**, 403, 2010.

LEISTNER, L. Basic aspects of food preservation by hurdle technology. **International Journal of Food Microbiology**, 55, 2000.

LEISTNER, L.; GOULD, G. W. **Hurdle technologies: combination treatments for food stability, safety and quality**. London: Kluwer Academic/Plenum Publishers. 2002.

LEISTNER, L., VUKOVIĆ, I.; DRESEL, J. (1980). SSP: **Meat products with minimal nitrite addition, storable without refrigeration**. In: JAFARI, M.; DJOMEH, Z. E. Reducing nitrite content in hot dogs by hurdle technology. *Food Control*, 18, 2007.

MELO FILHO, A. B de; BISCANTINI, T. M. B.; ANDRADE, S. A. C. Níveis de nitrito e nitrato em salsichas comercializadas na região metropolitana do Recife. **Ciência Tecnologia de Alimentos**, vol.24, n.3, 2004.

MERCADANTE, A. Z.; CAPITANI, C. D.; DECKER, E. A.; CASTRO, I. A. Effect of natural pigments on the oxidative stability of sausages stored under refrigeration.

Meat Science, 84, 2010.

NASCIMENTO, R.; CAMPAGNOL, P. C. B; MONTEIRO, E. S.; POLLONIO, M. A. R. Replacement of sodium chloride by potassium chloride influence on sausage's physical-chemical and sensorial characteristics. **Alim. Nutr.**, 18, 2007.

OLIVEIRA, R. Consumo de carne suína cresce cerca de 63% e anima produtores. **O Estado do Paraná**, Curitiba, 27 jul. 2008. Disponível em: < <http://www.parana-online.com.br/editoria/economia/news/314674/>>. Acesso em: 07 jun. 2009.

PARRILLI, C.C. **Clostridium botulinum em alimentos**. Trabalho de conclusão de curso de Medicina Veterinária. Faculdades Metropolitanas Unidas Medicina Veterinária, 2008.

PÉREZ-PALACIOS, T.; RUIZ, J.; MARTÍN, D.; MURIEL, E.; ANTEQUERA, T. Comparison of different methods for total lipid quantification in meat and meat products. **Food Chemistry**, 110, 2008.

RAYMUNDO, M. S. **Avaliação da quantificação de nitritos e antioxidantes em alimentos por técnicas voltamétricas**. Tese de Doutorado, Universidade Federal de Santa Catarina, 2007.

RHODEHAMEL, E. J., REDDY, N. R. AND PIERSON, M. D. Botulism: the causative agent and its control in foods. **Food Control**, 3, 1992

RIGA, B. A.; RUIZ, M. R. Fita indicadora e tabela de cores para determinar concentração de nitratos e nitritos em carnes curadas. **Revista Nacional da Carne**, 403, 2010.

RYWOTYCKI, R. The effect of selected functional additives and heat treatment on nitrosamine content in pasteurized pork ham. **Meat science**, 60, 2002.

SANTOS, T.M. Resistência de micro-organismos patógenos (Clostridium, Salmonella, e Listeria) em embutidos crus e cozidos e carnes armazenadas em embalagem com atmosfera modificada. **Publicações em Medicina Veterinária e Zootecnia**, 2, 2008.

SARMENTO, C. M. P. **Modelagem do crescimento microbiano e avaliação sensorial no estudo da vida de prateleira da mortadela e da lingüiça defumada em armazenamento isotérmico e não isotérmico**. Tese Doutorado, Universidade Federal de Santa Catarina, 2006.

STATISTICA for windows 5.0. **Computer program manual**. Tulsa, OK: StatSoft, Inc., 1995.

THOMAS, R.; ANJANEYULU, A. S. R.; KONDAIAH, N. Development of shelf stable pork sausages using hurdle technology and their quality at ambient temperature (37 ± 1 oC) storage. **Meat Science**, 79, 2008.

ZHOU, G. H.; XU, X. L.; LIU, Y. Preservation technologies for fresh meat – A review. **Meat Science**, 86, 2010.

CAPÍTULO 3

ESTUDO DA ESTABILIDADE DURANTE A ESTOCAGEM DE SALSICHA ISENTA DE NITRATO E NITRITO COM ATIVIDADE DE ÁGUA REDUZIDA

*(Study of stability during storage of sausage free of nitrate and nitrite and with
water activity reduced)*

ESTUDO DA ESTABILIDADE DURANTE A ESTOCAGEM DE SALSICHA ISENTA DE NITRATO E NITRITO COM ATIVIDADE DE ÁGUA REDUZIDA

*(Study of stability during storage of sausage free of nitrate and nitrite and with
water activity reduced)*

Tallita Karolline Nunes¹; Nery Nishimura de Lima²; Laura Beatriz Karam³

¹ Mestranda do programa em Ciência Animal, Pontifícia Universidade
Católica do Paraná

² Professora Doutora, curso de Engenharia de Alimentos, Pontifícia
Universidade Católica do Paraná,

³ Professora Doutora, Programa de Mestrado em Ciência Animal,
Pontifícia Universidade Católica do Paraná,

RESUMO – Salsicha é um derivado cárneo de grande consumo mundial que utiliza nitratos e nitritos para conservação e para desenvolvimento de cor e sabor do produto. Porém, a ingestão em excesso desses conservantes químicos preocupa a saúde pública, afinal, o nitrito pode dar origem a substâncias consideradas carcinogênicas. O objetivo desse trabalho foi avaliar a estabilidade durante a estocagem da salsicha com formulação isenta de nitrito e nitrato com atividade de água reduzida para valores inferiores a 0,95 (Tratamento A). Para avaliar a estabilidade de cor, oxidação lipídica e perfil de textura, no 1º e 45º dia de estocagem, o Tratamento A foi comparado com uma formulação de salsicha comercial (Controle), na qual nitrato e nitrito são adicionados. O Tratamento A apresentou uma coloração levemente marrom e o Controle apresentou a coloração rósea, característica em produtos cárneos curados. Durante a estocagem, em embalagem a vácuo e sob refrigeração (4 °C), as duas formulações de salsicha apresentaram oxidação lipídica. No entanto, o Tratamento A apresentou acréscimo de 0,85 vezes do nível de TBARS e no Controle aumentou em 1,45 vezes o TBARS, o que representou maior oxidação lipídica durante a estocagem na formulação comercial. Avaliando o perfil de textura dos dois tratamentos, foi observado que houve redução significativa, em nível de 5%, dos atributos de dureza, gomosidade, mastigabilidade e a elasticidade manteve-se constante para ambas as formulações, durante os 45 dias de estocagem. A coesividade, durante a estocagem, aumentou significativamente ($p < 0,05$) no Tratamento A. No teste de aceitação sensorial do produto, realizado em cabine, os atributos de sabor, textura e aparência geral foram avaliados em uma Escala Hedônica de 9 pontos entre 'gostei extremamente' e 'desgostei extremamente' e o produto também foi considerado aceito. Durante 45 dias de estocagem, o produto correspondente ao Tratamento A apresentou contagem de psicrófilos menor que 1×10^6 UFC/g, NMP/g menor do que 3 para Coliformes a 45 °C, ausência de *Salmonella* sp. e a contagem de Clostrídio sulfito redutor a 45 °C e de

Estafilococos coagulase positiva menores que 10 UFC/g, atendendo aos limites máximos exigidos pela legislação brasileira. A salsicha com atividade de água reduzida apresentou estabilidade em relação às características físicas, físico-químicas, sensoriais e microbiológicas, durante 45 dias de estocagem, embalada a vácuo e mantida sob refrigeração (4 °C). No entanto, é necessário investigar o desenvolvimento do esporo de *Clostridium botulinum* de vários tipos no produto desenvolvido, para comprovar a eficiência da redução da atividade de água como barreira tecnológica na produção de salsicha.

Palavras-chaves: métodos de conservação. Conservantes químicos. Desenvolvimento de produto. Derivados cárneos.

ABSTRACT – Sausage is a meat product with large worldwide consumption that it uses nitrates and nitrites like principal chemical additives for conservation. However, the ingestion in excess of these chemical preservatives concerns the public health, after all, the nitrite may give origin for substances considered carcinogenic. The objective this study was to development of a formulation of sausage free of nitrite and nitrate and with water activity reduced to values below 0.95 (Treatment A). To evaluate the color stability, lipid oxidation and texture profile in the 1st and in the 45th day of storage, the product developed was compared to a formulation of commercial sausage (Control), in which nitrate and nitrite were added. Sausage with low water activity had a slightly brown color and commercial sausage had the pink color, characteristic of cured meat products. During storage, in vacuum packing and under refrigeration (4 ° C), the two formulations of sausage had lipid oxidation. However, the sausage developed, which is nitrate/nitrite free with reduced water activity, had an increase of 0.85 time the level of TBA and the commercial sausage had an increase of 1.45 times the TBA, then, the lipid oxidation during storage was bigger on commercial formulation. Evaluating the texture profile of the two treatments, it is possible to verify that hardness, gumminess and chewiness decreased significantly, in level of 5%, however, the springiness of the products remained constant and the cohesiveness increased significantly ($p < 0.05$), during storage. In the test of acceptability sensory of product realized in cabin, the attributes taste, texture and general appearance were evaluated with the range of 9 point between 'like extremely' and 'don't like extremely' and the product was also considered accepted. During 45 days of storage, the product had count of psychrophilos less than 1×10^6 UFC/g, the NMP/g was less than 3 to Coliforms in 45 oC, Salmonella sp. were absent and the counts of *Clostridium* reducer sulphite and of *Staphylococcus* were less than 10 UFC/g, then, the counts of micro-organismos were below the allowed limits for consumption, based in Brazilians laws. The sausage with reduced water activity has stability in relation to the physical, physical-chemical, sensory and microbiologic characteristics, during storage, when vacuum packed and stored under refrigeration (4 °C). However, it is necessary to investigate the development of various types of spores of *Clostridium botulinum* in the product developed to prove the efficiency of the reduction of water activity like a hurdle technologic in the production of sausage.

Keywords: methods of conservation. Chemical preservative. Developed of product. Meat products

1. INTRODUÇÃO

Frente ao grande consumo mundial de produtos industrializados, principalmente, os produtos de preparo rápido, as indústrias de carnes têm a oportunidade de utilizar diferentes matérias primas cárneas, condimentos e aditivos para produzir derivados cárneos, como embutidos, e aproveitar as porções de carne que não seriam comercializadas *in natura*. Entre os diversos tipos de derivados cárneos embutidos, a salsicha é um produto popular com amplo consumo mundial (SARMENTO, 2006, CESAR, 2008; THOMAS et al., 2008; MERCADANTE et al., 2010).

No Brasil, o regulamento técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos informa que precisam ser controlados em salsicha, durante a estocagem, os micro-organismos do grupo Coliformes, Clostrídios sulfitos redutores, Estafilococos coagulase positiva e *Salmonella* sp. (BRASIL, 2001). Como a salsicha é embalada a vácuo para aumentar estabilidade do produto durante a estocagem, a preocupação com o desenvolvimento do *Clostridium botulinum* é maior, porque esse micro-organismo é reconhecidamente anaeróbio (SANTOS, 2008) e, durante a intensa proliferação, é capaz de produzir a toxina botulínica que pode provocar a morte por parada respiratória (CARANOVA, 2008; PARRILLI, 2008). Caranova (2008), também comenta que outros dois grupos de micro-organismos importantes para controle do shelf-life da salsicha são os psicotróficos, que apresenta capacidade de se desenvolver entre -2° e 25 °C, e psicrófilos, multiplicam-se entre -8 °C e 25 °C.

Segundo Jafari; Djomeh (2007) e Thomas et al. (2008), na produção de salsicha, os aditivos químico nitrito de sódio ou potássio e nitrato de sódio ou potássio são utilizados (JAFARI, DJOMEH, 2007; THOMAS et al., 2008), porque apresentam funções tecnológicas como o desenvolvimento de sabor e cor característicos salsicha e, também, porque possuem efeito conservante contra microorganismos, especialmente o *Clostridium botulinum* (SARMENTO, 2006; AMIN, OLIVEIRA, 2006; JAFARI, DJOMEH, 2007; RAYMUNDO, 2007; SANTOS, 2008; RIGA, RUIZ, 2010). No Brasil, esses aditivos são considerados agentes conservantes e as concentrações máximas admitidas são de 0,015 g de Nitrito de potássio ou de sódio para cada 100g de nitrito de

sódio residual e de 0,030 g de Nitrato de potássio ou sódio para cada 100g de nitrito de sódio residual (BRASIL, 1998; BRASIL, 2006).

Ainda que exista a legislação para limitar a utilização do nitrato e nitrito nos produtos curados, a preocupação decorrente da presença de sais de cura nos alimentos aumenta a cada ano porque o excesso de nitrito no organismo pode originar substâncias consideradas carcinogênicas, mutagênicas e teratogênicas (MELO FILHO et al., 2004; DUTRA, 2006; RIGA; RUIZ, 2010). Vários estudos mostram que essa preocupação reflete atualmente na preferência dos consumidores por alimentos com menor teor de aditivos (WINTER; DAVIS, 2006). Segundo Bacus (2006), os consumidores chegam a pagar prêmios de até 200% quando compram carne ou derivados de carnes naturais ou orgânicos. Diante desses grandes prêmios, surge o interesse das indústrias e dos institutos de pesquisa para o desenvolvimento de alimentos naturais ou orgânicos, ou seja, com menor teor de aditivos químicos (PETRAK, 2005).

Para diminuir o teor de nitrito em salsicha, Jafari e Djomeh (2007) reduziram a atividade de água do produto para $0,95 \pm 0,002$ pela adição 2% de NaCl, 1% KCl e 0,19% de goma comercial e comentam que Leistner em 1985 comenta que para valores de atividade de água iguais ou menos do que 0,95 o nitrito é necessário apenas para as propriedades sensoriais dos produtos curados e não mais como agente de conservação contra o *Clostridium botulinum*. Para determinar o shelf-life do produto desenvolvido os autores analisaram a cor instrumental no 1º e 30º dia de estocagem, determinaram a contagem microbiológica de *Clostridium perfringens*, identificaram a toxina botulínica para avaliar a presença de *Clostridium botulinum* e realizaram análise sensorial do produto com 60 provadores.

Dentro dessa perspectiva, o objetivo desse trabalho foi avaliar a estabilidade durante a estocagem da salsicha com formulação isenta de nitrito e nitrato e com atividade de água menor que 0,95 avaliando a estabilidade de cor, oxidação lipídica e perfil de textura, no 1º e 45º dia de estocagem, e comparando com uma formulação da salsicha controle, com nitrato/nitrito, ambas embaladas a vácuo e conservadas sob refrigeração (4 °C).

2 MATERIAIS E MÉTODO

2.1 MATERIAL

A salsicha isenta de nitrito e nitrato e com atividade de água reduzida para $0,946 \pm 0,003$ apresentava na formulação: 26,63% de retalho magro de suíno, 26,63% de carne de traseiro bovino, 19,97% de toucinho, 16,64% de gelo e 10,13% de outros insumos (dextrose Corn Products®, Kooso® Anew, cloreto de sódio, corante natural de beterraba, leite em pó desnatado, polifosfato de sódio, condimento para salsicha Duas Rodas®, alho em pó e pimenta branca em pó). Essa formulação foi denominada como 'Tratamento A'.

Com objetivo de avaliar a estabilidade durante a estocagem da salsicha isenta de nitrito e nitrato com atividade de água reduzida (Tratamento A), desenvolvida nesse trabalho, essa foi comparada com uma salsicha de formulação comercial, com adição de nitrito e nitrato e atividade de água igual a $0,983 \pm 0,001$, também denominada como 'Controle'. Na formulação comercial (Controle) foram utilizados 28,30% de retalho magro de suíno, 28,30% de carne de traseiro bovino, 21,23% de toucinho, 17,69% de gelo, 1,56% de fécula de mandioca, 1,56% de cloreto de sódio, 0,35% de polifosfato de sódio, 0,32% de nitrato/nitrito (Duas Rodas®), 0,25% de eritorbato de sódio; 0,21% de condimento para salsicha (Duas Rodas®), 0,14% de alho em pó, 0,07% de pimenta branca moída e 0,03% de corante carmim.

2.2 DETERMINAÇÃO DA ESTABILIDADE DURANTE A ESTOCAGEM

2.2.1 Cor instrumental

Para determinação da cor instrumental, das amostras de salsicha do Tratamento A e do Controle, nos dias 1 e 45 de estocagem, foi utilizado um colorímetro portátil (CHROMA METER CR-410, KONICA MINOLTA®) conforme descrito por Konica Minolta (1998). A amostra do produto foi espalhado em placas de petri de 90 mm de diâmetro, para evitar qualquer ponto sem produto na placa, e o colorímetro, com uma área de leitura de 8 mm, iluminação CIE D65 e observador padrão CIE 10°, foi ativado. Os parâmetros

meditados foram L^* , que representam luminosidade, quanto mais próximo de 100 mais clara, a^* e b^* , componente vermelho-verde e componente amarelo-azul, respectivamente. O colorímetro foi calibrado utilizando uma pedra padrão ($L= 93,2$, $a= -1,07$, $b= 0,35$). A análise foi realizada em temperatura ambiente e em triplicata com três repetições genuínas para cada formulação avaliada.

2.2.2 Perfil de textura instrumental

A análise do perfil de textura instrumental foi realizada nos dias 1 e 45 de estocagem para os dois produtos avaliados, Tratamento A e Controle, com dois ciclos de compressão realizados em um texturômetro (TA-XT2i, Stable Micro System) previamente calibrado com peso padrão de 5 kg.

As amostras de salsicha, diâmetro aproximado de 22 mm, foram previamente cortadas em fatias 20 mm e foram comprimidas utilizando um probe cilíndrico de alumínio (P/36 R). As curvas da deformação força-tempo foram obtidas aplicando-se a carga de 25 kg, com velocidade do pré-teste de 2,0 mm/s, teste 1,0 mm/s e pós-teste de 2,0 mm/s e a tensão de compressão de 65%, em dez amostras de cada formulação avaliada, Tratamento A e Controle, a temperatura de 25° C de acordo com Bourne (2002). Dureza (N), coesividade (adimensional), elasticidade (adimensional) e adesividade (Ns) foram determinados pelo perfil de textura instrumental. A gomosidade (N) foi obtida pela multiplicação da dureza e coesão. A mastigabilidade (g) foi obtida multiplicando-se dureza, coesividade e elasticidade. Define-se que: a dureza é a força máxima requerida para comprimir a amostra, coesividade é a medida em que a amostra pode ser deformado antes da ruptura e elasticidade é a capacidade da amostra recuperar sua forma original depois que a força de deformação foi removida.

2.2.3 Oxidação lipídica

Para determinar a oxidação lipídica da salsicha do Tratamento A e do Controle foi realizado o teste de TBARS que quantifica o malonaldeído, um dos principais produtos de decomposição dos hidroperóxidos de ácidos graxos poliinsaturados, formado durante o processo oxidativo (OSAWA et al., 2005).

O valor do ácido tiobarbitúrico (TBARS) nas amostras de salsichas do Tratamento A e do Controle foi determinado de acordo com os métodos descritos pelo Vyncke (1970) e as análises das duas formulações foram realizadas em triplicata com três repetições genuínas, dos dias 1 e 45 de estocagem.

2.2.4 Análise microbiológica

Todas as técnicas de contagem aplicadas na análise microbiológica da salsicha desenvolvida, sem adição de nitrato/nitrito com atividade de água reduzida (Tratamento A), foram realizadas com cinco repetições genuínas de acordo como exige a legislação (BRASIL, 2001), e em triplicata para cada diluição estudada.

Para a contagem de Coliformes Totais foi utilizado o método do Número Mais Provável, composto pelas etapas de preparação das amostras e diluições seriadas, inoculação (teste presuntivo), incubação e contagem de conforme totais, de acordo com a metodologia MB3463 - Bactérias coliformes totais, coliformes fecais e *Escherichia coli* em alimentos - Determinação do número mais provável (NMP), descrita pela Associação Brasileira de Normas Técnicas (1991).

A detecção de *Salmonella* sp. utilizada apresentava as fases de pré-enriquecimento em caldo lactosado (não seletivo), enriquecimento em caldo seletivo, plaqueamento seletivo diferencial e confirmação, e foi realizada conforme metodologia da MB3465 (ABNT, 1991).

Na contagem do *Staphylococcus aureus* foi utilizado a contagem direta em placa com ágar BP, método realizado de acordo com as etapas de preparação da amostra e diluição, inoculação, incubação, confirmação das colônias típicas e cálculo dos resultados, e descrito pela Associação Brasileira de Normas Técnicas (1991).

Para a contagem de Clostrídios sulfito redutores foi utilizada metodologia apresentada na norma técnicas MB 12893, composta pelas etapas de preparação das amostras e diluições, inoculação, incubação, contagem de colônias presuntivas de clostrídios sulfitos redutores, confirmação das colônias típicas e cálculo dos resultados (ABNT, 1993).

Como o produto desenvolvido (Tratamento A) foi armazenado sobre refrigeração fez-se necessário acompanhar o desenvolvimento dos micro-organismos psicrófilos, que tem a capacidade de desenvolver-se entre 0°C e 20°C. A análise de micro-organismos psicrófilos fundamental para definir a estabilidade dos produtos. A metodologia utilizada foi a descrita para norma técnica MB 3462 (ABNT, 1987)

2.2.5 Teste de aceitabilidade em cabine

O teste de aceitabilidade em cabine foi realizado com 58 provadores não treinados (24 homens / 34 mulheres, entre 15 e 55 anos), estudantes, professores e colaboradores da Pontifícia Universidade Católica do Paraná, Brasil.

As amostras da salsicha do Tratamento A, com 43 dias de estocagem, foram imersas em água fria e aquecidas em fogão convencional, por 5 minutos. Após o aquecimento, o produto foi cortado em pedaços, com 10 mm de comprimento, e os pedaços foram embalados em papel alumínio e mantidos em temperatura de 40 °C em vapor d'água até o momento da análise pelos provadores. Três pedaços de salsicha foram identificadas com um número de 3 dígitos aleatórios, servidas em prato plástico, sub luz branca, juntamente com água, para limpeza do palato, e a ficha de avaliação do produto, conforme anexo D. Os provadores degustaram o produto e responderam a análise sensorial utilizando a Escala Hedônica de 9 pontos (9 – Gostei extremamente, 5 – Nem gostei / nem desgostei, 1 – desgostei extremamente). Os atributos avaliados foram sabor, textura e aparência geral. (DUTCOSKY, 2007).

2.3 ANÁLISE ESTATÍSTICA DOS DADOS

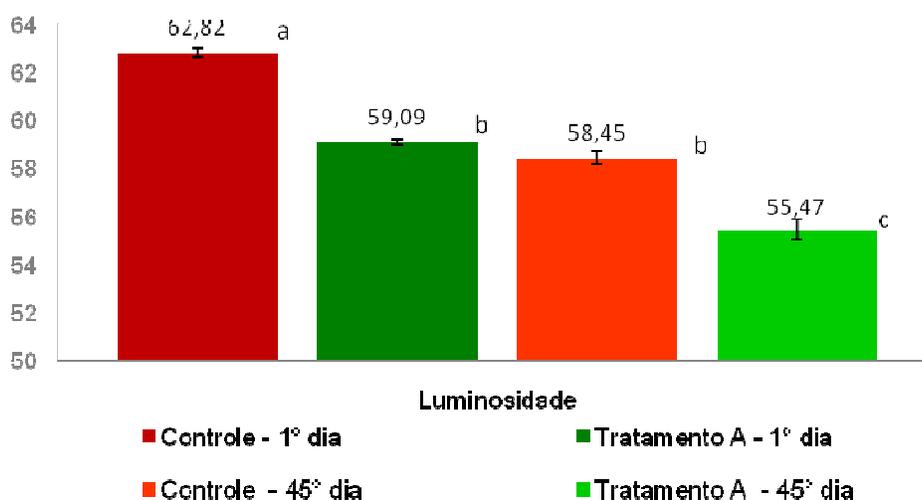
Os dados obtidos das análises realizadas na salsicha desenvolvida, sem nitrito/nitrato, e na salsicha comercial, com adição de nitrato/nitrito, foram submetidos ao cálculo de média e desvio padrão através da ANOVA, e as médias dos dois tratamentos estudados foram comparadas pelo teste de *Tukey*, em nível de 5% de probabilidade, utilizando as funções específicas do programa GraphPad Prism® versão 3.0 (GraphPad Software, 1999).

3. RESULTADOS

3.1 ESTABILIDADE DURANTE A ESTOCAGEM

3.3.1 Cor

A luminosidade dos produtos estudados, Tratamento A e Controle, realizada nos dias 1 e 45 de estocagem, está representada no gráfico da Figura 1.



^{a,b,c} - Letras iguais nas colunas não apresentam diferenças entre si em nível de 5% ($p \leq 0,05$)

Tratamento A: salsicha isenta de nitrato/nitrato com atividade de água reduzida para $0,946 \pm 0,003$

Controle: salsicha de formulação comercial, com adição de nitrato/nitrato

Figura 1. Luminosidade determinada nas amostras de salsicha do Controle e nas amostras de salsicha do Tratamento A, no 1º e 45º dia de estocagem.

A Figura 1 demonstra que foi mantida uma tendência de diminuição da luminosidade (L^*), durante o período de estocagem, para as formulações do Controle e do Tratamento A. Após 45 dias de estocagem, a taxa de redução da luminosidade (L^*) no Controle e no Tratamento A foi de 6,9% e 6,1%, respectivamente. Essa redução da luminosidade é justificada pelo escurecimento enzimático, devido à reação entre os produtos da oxidação lipídica e aminoácidos (THOMAS et al., 2008).

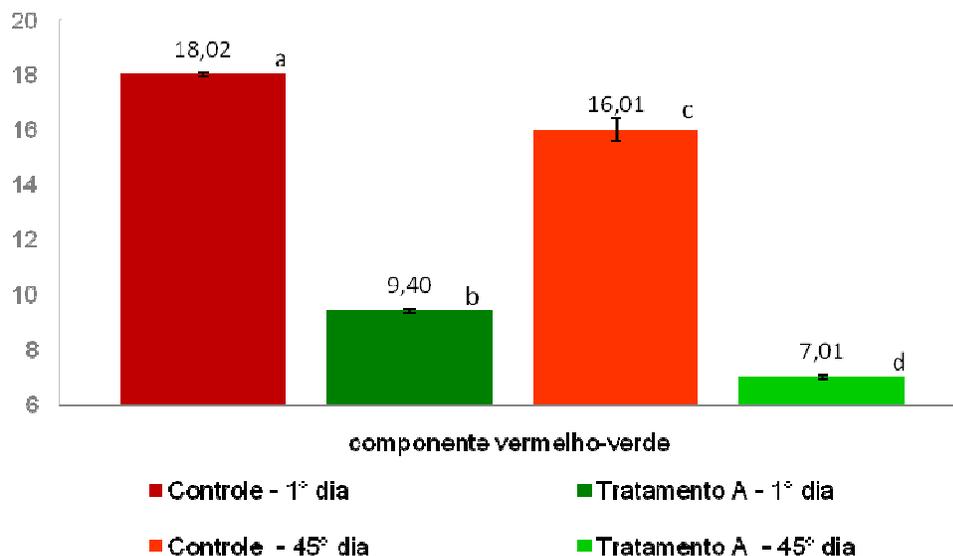
Através da Figura 1 e da análise de variância (ANOVA), foi possível comprovar que, no primeiro e no último dia de estocagem, a luminosidade no

Tratamento A é significativamente ($p < 0,05$) menor se comparada com o Controle, então, segundo Konica Minolta (1998), a salsicha Controle é mais clara que a salsicha correspondente ao Tratamento A. Também foi determinado que no primeiro dia de estocagem o Tratamento A apresentava a mesma luminosidade, em nível de 5% de significância, do que o Controle, após 45 dias de estocagem, mostrando que a ausência de nitrito prejudicou a luminosidade do Tratamento A desde o primeiro dia de estocagem.

Crehan et al. (2000) comentaram que o aumento no teor de lipídeos dos produtos, aumenta o valor da luminosidade dos mesmos. Özvural e Vural (2008) produziram salsicha com teor de lipídeo igual ($p \leq 0,05$) aos 21% da salsicha correspondente ao Tratamento A. Porém, no 1º dia de estocagem, a luminosidade do produto desenvolvido por Özvural e Vura (2008) foi de 46,89 e do Tratamento A foi de 62,82, valores que são diferentes significativamente, em nível de 5%. Portanto, esse trabalho contraria a relação luminosidade x teor de gordura indicada por Crehan et al. (2000), porque para um mesmo teor de lipídeos deveria apresentar mesma luminosidade.

Jafari e Djomeh (2007) reduziam o teor de nitrito de 120 para 50 ppm em salsicha, adaptando a atividade de água do produto para $0,95 \pm 0,002$ pela adição 2% de NaCl, 1% KCl e 0,19% de goma comercial, e verificaram que com 120 ou 50 ppm de nitrito a luminosidade dos produtos são iguais ($p \leq 0,05$) e, 1º dia de estocagem, o valor da luminosidade foi de 57,1. Comparando o valor obtido por Jafari e Djomeh (2007) no dia 1 com valor da luminosidade do Tratamento A, Figura 1, também no 1º dia de estocagem, verifica-se que luminosidade no Tratamento A é maior e, segundo Konica Minolta (1998), é mais clara que a salsicha desenvolvida por Jafari e Djomeh (2007).

O componente vermelho-verde e o componente amarelo-azul estão representados nas Figuras 2 e 3, respectivamente.



^{a,b,c,d} - Letras iguais nas colunas não apresentam diferenças entre si em nível de 5% ($p \leq 0,05$)

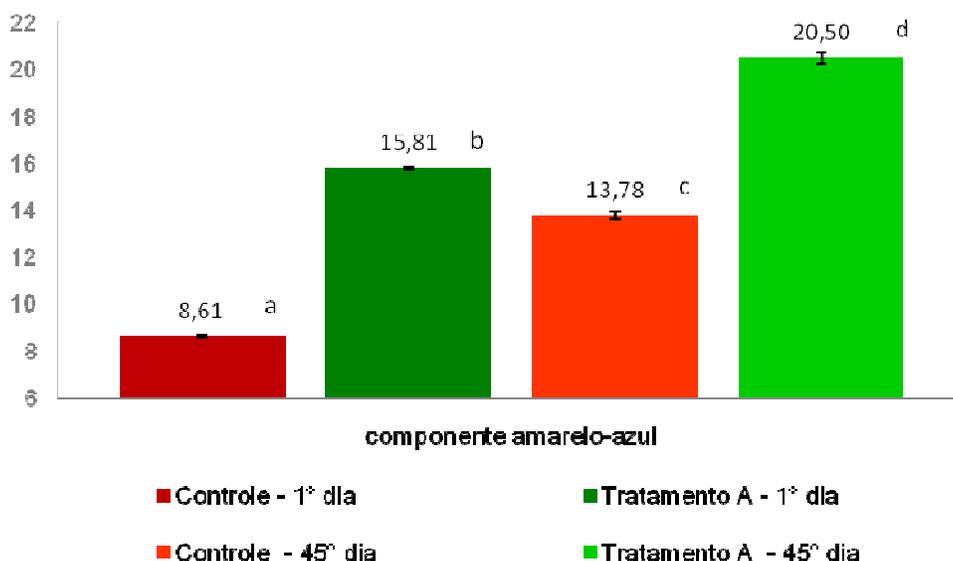
Tratamento A: salsicha isenta de nitrato/nitrito com atividade de água reduzida para $0,946 \pm 0,003$

Controle: salsicha de formulação comercial, com adição de nitrato/nitrito

Figura 2. Componente vermelho-verde determinado nas amostras de salsicha do Controle e nas amostras de salsicha do Tratamento A, no 1º e 45º dia de estocagem.

As Figuras 2 e 3 mostram que, durante todo o período de estocagem, o Tratamento A apresentou menor intensidade do componente vermelho-verde (a*) e maior intensidade do componente amarelo-azul (b*), em nível de 5% de significância, justificando a coloração levemente marrom das amostras desse tratamento e diferindo da coloração rósea presente nas amostras com nitrato/nitrito, referente ao Controle. Após essa avaliação, é possível afirmar que esse trabalho está de acordo com Jafari e Djomeh (2007) e, também, possui claramente estabelecido que o nitrito é essencial para desenvolver a coloração rósea dos produtos curados.

Afinal, segundo Jafari e Djomeh (2007) e Riga e Ruiz (2010), o óxido nítrico (NO), derivado do nitrito, reage com a mioglobina, principal pigmento da carne, e após o cozimento forma o componente nitrosohemocromo, pigmento que produz a coloração rósea. Por isso, o componente vermelho-verde está presente, significativamente ($p < 0,05$), em maior quantidade na salsicha Controle, conforme mostra a Figura 2.



^{a,b,c} - Letras iguais nas colunas não apresentam diferenças entre si em nível de 5% ($p \leq 0,05$)

Tratamento A: salsicha isenta de nitrito/nitrato com atividade de água reduzida para $0,946 \pm 0,003$

Controle: salsicha de formulação comercial com adição de nitrato/nitrito

Figura 3. Componente amarelo-azul determinado nas amostras de salsicha do Controle e nas amostras de salsicha do Tratamento A, no 1º e 45º dia de estocagem.

A formulação comercial de salsicha, analisada por Özvural e Vural (2008), apresentou os componentes vermelho-azul e amarelo-verde iguais a 12,43 e 10,30, respectivamente, no dia 1 de estocagem. Comparando esses valores com os obtidos para as salsichas no Controle e no Tratamento A (Figura 2 e 3), verifica-se que os valores não são semelhantes aos obtidos nesse trabalho. A salsicha comercial avaliada por Özvural e Vural (2008) apresentou maior valor a* e menor de b* quando comparados com o Tratamento A, mostrando que salsicha desse tratamento também apresentaria tonalidade levemente marrom se comparada com a formulação comercial de Özvural e Vural (2008).

Jafari e Djomeh (2007) diminuíram a atividade de água da salsicha para $0,95 \pm 0,002$, porém utilizaram 50 ppm de nitrito para desenvolver cor. No primeiro dia de estocagem, os mesmos autores determinaram que os valores de a* e b* foram 8,4 e 12,2, respectivamente. Comparando com o Tratamento A, onde os valores de a* e b*, no primeiro dia de estocagem, foram 9,40 e 15,81, respectivamente, pode-se afirmar que a tonalidade vermelha foi semelhante e a tonalidade amarela foi mais intensa no Tratamento A,

justificando a coloração levemente marrom do produto correspondente ao Tratamento A e confirmado a necessidade de nitrito para desenvolvimento da tonalidade vermelha.

A Figura 4 apresenta o Diagrama de cromaticidade, proposto do Konica Minolta (1998). Nesse diagrama os componentes a^* e b^* , medidos instrumentalmente, são correlacionados e indicam as direções das cores, sendo $+a^*$ a direção do vermelho, $-a^*$ a direção do verde, $+b^*$ a direção do amarelo, $-b^*$ a direção do azul e 0 (zero) o centro acromático.

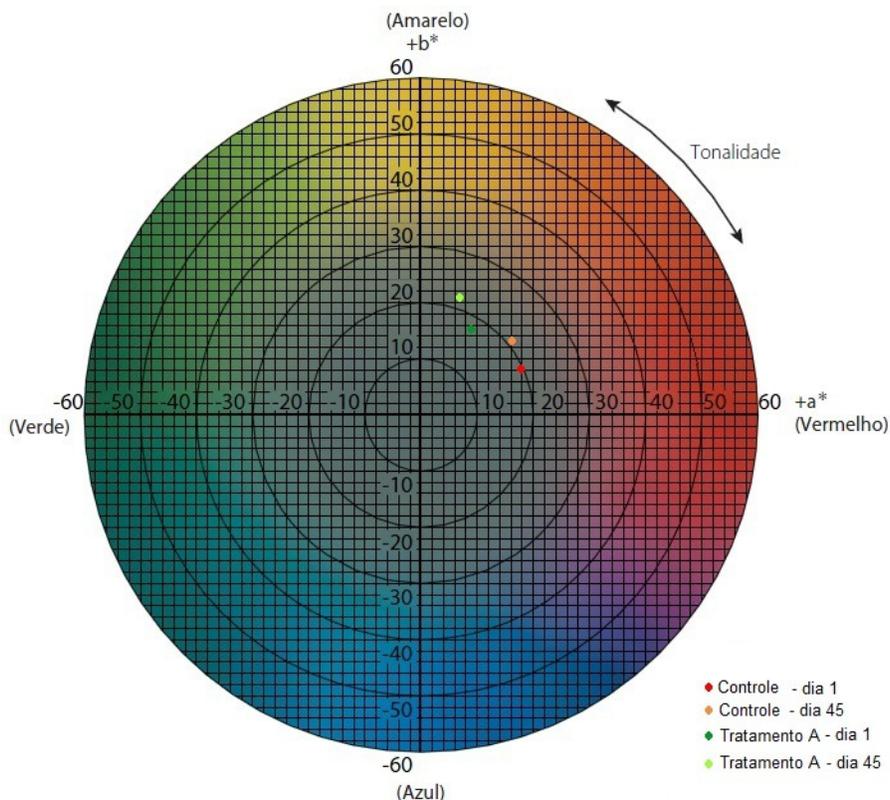


Figura 4. Diagrama de cromaticidade determinado para as amostras de salsicha do Controle e para as amostras de salsichas do Tratamento A, no 1º e 45º dia de estocagem.

A partir do diagrama de cromaticidade (Figura 4) e da correlação entre os componentes vermelho-verde e amarelo-azul, é possível confirmar que no componente amarelo-azul a tonalidade amarela é maior no Tratamento A quando comparo com o Controle. Já no componente vermelho-verde, a tonalidade vermelha é mais saturada no Controle, quando comparada com o Tratamento A. De acordo com a análise realidade por Konica Minolta (1998), essas relações ocorrem no 1º e 45º dia de estocagem e, também, justificam a cor levemente marrom para a salsicha isenta de nitrito.

3.3.2 Perfil de textura

O Perfil de Textura determina as características de dureza, coesividade, elasticidade, adesividade, gumosidade e mastigabilidade do produto, e foi realizado para as salsichas do Tratamento A e do Controle, nos dias 1 e 45 de estocagem. A Tabela 1 mostra os resultados de cada atributo do perfil de textura com relação à formulação analisada.

Tabela 1. Atributos determinados no perfil de textura para as amostras de salsicha Controle e para as amostras de salsicha do Tratamento A, durante a estocagem de 1 e 45 dias.

	Controle 1º dia	Tratamento A 1º dia	Controle 45º dia	Tratamento A 45º dia
Dureza (N)	76,541 (±) 2,67 ^a	90,974 (±) 11,9 ^b	11,704 (±) 1,6 ^c	15,470 (±) 3,1 ^c
Coesividade	0,443 (±) 0,01 ^a	0,390 (±) 0,07 ^a	0,698 (±) 0,01 ^b	0,686 (±) 0,13 ^b
Elasticidade	0,846 (±) 0,04 ^a	0,880 (±) 0,00 ^{a,b}	0,880 (±) 0,04 ^{a,b}	0,960 (±) 0,19 ^b
Adesividade (Ns)	-0,334 (±) 0,27 ^a	-0,565 (±) 0,72 ^a	-7,481 (±) 4,58 ^b	-6,293 (±) -1,2 ^{a,b}
Gomosidade (N)	33,92 (±) 1,77 ^a	35,09 (±) 6,33 ^a	8,16 (±) 0,95 ^b	10,60 (±) 2,12 ^b
Mastigabilidade (g)	28,71 (±) 2,44 ^a	30,90 (±) 5,76 ^a	7,16 (±) 0,69 ^b	10,14 (±) 2,02 ^b

Média ± Desvio Padrão

Tratamento A: salsicha isenta de nitrito/nitrato com atividade de água reduzida para $0,946 \pm 0,003$.

Controle: salsicha de formulação comercial, com adição de nitrito/nitrito.

^{a,b,c} - Letras iguais nas linhas não apresentam diferenças entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Avaliando o perfil de textura dos dois tratamentos, Controle e A, foi observado que houve redução significativa, em nível de 5%, entre o 1º e 45º dia de estocagem para ambos os testes com relação aos atributos de dureza, gomosidade, mastigabilidade. A diminuição dessas propriedades, durante a estocagem, em embutidos cárneos foi justificada por Gou et al. (1996) como o efeito da redução do pH durante o armazenamento.

Segundo Svenstrup et al. (2005), a etapa de refrigeração é essencial para o desenvolvimento da textura do produto. Os mesmos autores afirmaram que o patê de fígado produzido com resfriamento lento teve ponto de fusão maior que o patê de fígado onde o resfriamento foi rápido. Analisando o perfil de textura (Tabela 1) do Controle e Tratamento A é possível perceber que, no 1º e 45º de estocagem, a coesividade, elasticidade, adesividade, gomosidade e mastigabilidade são iguais ($p < 0,05$) para os dois tratamentos, assim como a dureza, após 45 dias, também é significativamente igual, em nível de 5%, para os dois tratamentos. De acordo com Svenstrup et al (2005), esses resultados

indicam que a etapa resfriamento, após o cozimento, e a estocagem refrigerada foram iguais para os dois produtos, Controle e Tratamento A.

Cheong et al. (2010) produziram salsicha com *blends* de óleo e gordura e verificaram que em temperaturas de processamento mais alta a dureza do produto aumentava durante a estocagem. Verificado a Tabela 1 é possível perceber que, no primeiro dia de estocagem, a dureza do Tratamento A é maior que a dureza do Controle, entretanto, a dureza, após 45 dias de estocagem, torna-se igual ($p < 0,05$) nos dois tratamentos. Essa análise indica que as etapas de produção dos dois tratamentos, Controle e A, foram realizadas em temperaturas semelhantes, que contribuem para o desenvolvimento da maciez dos produtos durante o armazenamento.

Para desenvolver salsicha estável à temperatura $37\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$, Thomas et al. (2008) aplicaram a diminuição do pH como barreira tecnológica. O pH da salsicha foi reduzido para aproximadamente 5,9 usando ácido láctico e glucona-delta-lactona (GDL-0.1%) e essa redução do pH explicou a diminuição da coesividade durante o armazenamento. A salsicha do Tratamento A apresentou pH igual à 5,9 (Tabela 5) e, durante a estocagem, ocorreu o aumento significativo ($p < 0,05$) da coesividade (Tabela 1), resultado que difere do obtido por Thomas et al. (2008).

3.3.3 Oxidação lipídica

O teste de TBARS (ácido 2-tiobarbitúrico) fornece informações valiosas e essenciais a respeito do estado oxidativo do alimento analisado e é o método mais usual na avaliação da oxidação de lipídios em carnes e derivados devido à sua simplicidade e rapidez. Esse teste quantifica o malonaldeído, um dos principais produtos de decomposição dos hidroperóxidos de ácidos graxos poliinsaturados, formado durante o processo oxidativo (OSAWA et al., 2005).

A informação do número de TBARS é bastante relevante em produtos cárneos, porque as etapas como moagem e cozimento favorecem a oxidação do produto e a formação do malonaldeído. Entretanto, em sistemas mais complexos, como salsicha, estão presentes misturas de constituintes e a medida de TBARS deve ser utilizada apenas na comparação de um único

material em diferentes estágios de oxidação (OSAWA et al., 2005). Por isso, ao verificar os valores obtidos de TBARS no Tratamento A e no Controle não foi possível comparar, entre os dois tratamentos, os valores de TBARS como oxidação lipídica.

A realização do teste de TBARS mostrou que a variação no teor de malonaldeído por quilograma de produto, para o mesmo tratamento, durante os 45 dias de estocagem, representou diferença significativa de oxidação lipídica, em nível de 5%. A Tabela 2, que apresenta os dados de TBARS para as duas formulações, Tratamentos A e Controle, confirmou o acréscimo de 0,85 vezes do nível de TBARS o que representa oxidação lipídica, durante a estocagem, no Tratamento A. Porém, a oxidação também ocorreu com o Controle, onde o aumento de 1,45 vezes no TBA representou maior oxidação lipídica durante a estocagem.

Tabela 2. Dados de TBARS, em gramas de malonaldeído por quilograma de produto, para o Controle e para o Tratamento A, no primeiro e último dia de estocagem.

Formulação	TBARS (g malonaldeído/kg amostra)
Controle - 1° dia	0,578 ± 0,08 ^a
Controle - 45° dia	1,415 ± 0,07 ^b
Tratamento A - 1° dia	1,103 ± 0,13 ^A
Tratamento A - 45° dia	2,037 ± 0,48 ^B

Média ± Desvio Padrão

Tratamento A: salsicha isenta de nitrito/nitrato com atividade de água reduzida para 0,946 ± 0,003.

Controle: salsicha de formulação comercial, com adição de nitrito/nitrito.

Letras maiúsculas e minúsculas não podem ser com paradas

^{a, b} - Letras minúsculas iguais nas colunas não apresentam diferenças entre si pelo teste de Tukey (p < 0,05)

^{A, B} - Letras maiúsculas iguais nas colunas não apresentam diferenças entre si pelo teste de Tukey (p < 0,05)

Jafari e Djomeh (2007) avaliaram o efeito de 50 e 120 ppm de nitrito em salsicha e utilizaram as barreiras tecnológicas para obter um produto seguro com o mínimo de nitrito (50 ppm). Os mesmos autores mostraram que a refrigeração durante a estocagem age como uma barreira tecnológica para a oxidação lipídica. Thomas et al. (2008) também confirmaram que a oxidação lipídica aumentou significativamente (p < 0,01) em salsichas armazenadas a 37 °C em comparação com os seus homólogos refrigerados, durante 6 dias de armazenamento.

Marco et al. (2006) avaliaram o impacto da aplicação do nitrito e do nitrato, separadamente, na oxidação lipídica de salames e afirmaram que o

nitrito é mais eficaz para retardar a oxidação lipídica que o nitrito. Para Marco et al. (2006), no tempo 1 de estocagem, o valor, aproximado, de TBARS para o salame produzido apenas com nitrito foi de 1,0 g de malonaldeído/kg amostra, e para o produto com nitrato o valor, aproximado, de TBARS foi de 0,5 g de malonaldeído/kg amostra. Esse resultado indica que na salsicha Controle, no primeiro dia de estocagem, havia mais nitrato do que nitrito e, após 45 dias de estocagem, a salsicha Controle apresentava mais nitrito do que nitrato.

3.3.4 Análise microbiológica

A Tabela 3 apresenta as contagens dos micro-organismos da salsicha correspondente ao Tratamento A, nos dias 1 e 45 de estocagem, e os limites máximos determinados pela legislação brasileira para esse embutido cárneo.

Tabela 3. Resultado das análises microbiológicas para as amostras de salsicha do Tratamento A, nos dias 1 e 45 de estocagem e os limites máximos, estabelecidos pela legislação brasileira

Micro-organismo	Tratamento A 1º dia de estocagem	Tratamento A 45º dia de estocagem	Limites máximos
Coliformes à 45°C	NMP < 3,0g	NMP < 3,0g	10 ³ UFC/g*
<i>Clostridium</i> sulfito redutor à 46°C	< 10 UFC/g	< 10 UFC/g	5x10 ² UFC/g*
Estafilococos coagulase positiva	< 10 UFC/g	< 10 UFC/g	3x10 ³ UFC/g*
<i>Salmonella</i> sp. em 25 g de amostra	Ausência	Ausência	Ausência*
Psicrófilos	7 x 10 ² UFC/g	1 x 10 ⁶ UFC/g	1 x 10 ⁶ UFC/g**

* Limites estabelecidos pela RDC n° 12 (BRASIL, 2001)

Tratamento A: salsicha isenta de nitrito/nitrato com atividade de água reduzida para 0,946 ± 0,003.

** Limite pré-estabelecido pelos autores desse trabalho

O resultado da análise de micro-organismos psicrófilos foi utilizado para determinar o shelf life do produto correspondente ao Tratamento A. Thomas et al. (2008) comentam que a deterioração dos produtos cárneos não é notada sensorialmente até o limite de 10⁸ células/cm². Porém, o limite máximo, pré-estabelecido pelos autores nesse trabalho, para definir a vida de prateleira foi de 10⁶ UFC/g, valor alcançado com 45 dias de estocagem. Por isso, pode-se confirmar que o produto do Tratamento A resultou em uma salsicha com 45

dias de vida de prateleira, quando embalada a vácuo e mantida sob refrigeração (4 °C).

Jafari e Djomeh (2007) avaliaram uma formulação controle de salsicha, sem nitrato/nitrito e sem redução da atividade de água para valores inferiores a 0,95. O resultado da análise microbiológica desse controle, no tempo zero, foi igual a $4 \times 10^5 \pm 0,051$ UFC de aeróbio/g do produto, 70 ± 2 UFC de *Clostridium perfringens*/g de produto e detecção de *Clostridium botulinum* positiva para os tipos B e E. Comparando esses resultados com os dados obtidos para a salsicha desenvolvida nesse trabalho, Tratamento A, verifica-se que os resultados da Tabela 3 são mais otimistas em relação à segurança microbiológica do produto. Mostrando que o processo de produção realizado e a formulação desenvolvida, nesse trabalho, apresentam maior estabilidade microbiológica se comparada com a formulação controle desenvolvida por Jafari e Djomeh (2007).

De acordo com a Resolução RDC nº 12 (BRASIL, 2001), que aprova o regulamento técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos, a tolerância dos micro-organismos, que precisam ser controlados em produtos cárneos como salsicha, são: 10^3 UFC/g de Coliformes à 45°C, 5×10^2 UFC/g de *Clostridium* sulfito redutor à 46°C, 3×10^3 UFC/g de Estafilococos coagulase positiva e ausência de *Salmonella* sp. em 25 g de amostra, apresentados na Tabela 3, pode-se verificar que a salsicha desenvolvida no Tratamento A apresentou-se estável microbiologicamente e respeito os limites exigidos pela legislação brasileira, durante o período de estocagem de 45 dias, embalada a vácuo e mantida sob refrigeração (4°C).

3.3.5 Teste de aceitabilidade em cabine.

A Tabela 4 apresenta as médias dos atributos avaliados no teste de aceitabilidade realizado em cabine, utilizando o a Escala Hedônica de 9 pontos (Anexo D), para a salsicha desenvolvida conforme Tratamento A.

Estévez e Cava (2006) comentam que o sabor de ranço é perceptível quando o valor de TBARS está entre 0,5 e 2,0 e que o sabor de requeijado pode ser percebido em produtos cárneos cozidos quando o valor de TBARS

está acima de 1,0. Nesse trabalho, a salsicha obtida do Tratamento A apresentou valor de TBARS (Tabela 2), no 1º dia de estocagem, igual a $1,103 \pm 0,13$ g malonaldeído/kg amostra e no 45º dia de estocagem o valor de TBARS foi de $2,037 \pm 0,48$ g malonaldeído/kg amostra. Apesar dos valores de TBARS estarem na faixa de percepção dos sabores de ranço e requentado, relatados por Estévez e Cava (2006), o atributo 'sabor' da salsicha de Tratamento A foi aprovado pelos provadores na avaliação sensorias realizada. Isso porque, conforme a Tabela 4, a média do atributo 'sabor' foi avaliada entre 'gostei moderadamente' e 'gostei ligeiramente' na análise sensorial *in home*, realizada com 20 dias de estocagem, e como 'gostei muito' e 'gostei ligeiramente' no teste de aceitabilidade em cabine, realizado com 43 dias de vida de prateleira do produto.

Tabela 4. Avaliação sensorial de aceitação, realizado em cabine, da salsicha correspondente ao Tratamento A, média por provador.

Atributo	Média	Desvio Padrão
Sabor	7,84	$\pm 0,67$
Textura	7,29	$\pm 1,01$
Aparência Geral	6,64	$\pm 1,78$

O método qualitativo, tradicional e mais barato para avaliar a textura dos alimentos, segundo Xu e Bronlund (2010), é a aplicação de análise sensorial. O perfil de textura instrumental, apresentado na Tabela 1, é um método quantitativo para mensurar a textura. Entretanto, esse trabalho concorda com Xu e Bronlund (2010) e afirma que a avaliação instrumental da textura não é facilmente correlacionada com a percepção sensorial de textura. Afinal, o método quantitativo define, separadamente, um valor para cada propriedade de textura e na análise sensorial o provador, na maioria das vezes, não avalia as propriedades separadamente. A redução significativa ($p < 0,05$) das propriedades dureza, gomosidade e mastigabilidade (Tabela 1), durante a estocagem, significam que a textura do produto melhorou quanto à maciez e a facilidade na mastigação, justificando a boa avaliação do produto no teste de aceitabilidade com shelf life de 43 dias de estocagem (Tabela 4).

Durante o armazenamento, os valores de luminosidade, componente vermelho-verde e amarelo-azul para o Tratamento A, apresentados nas Figuras 1, 2 e 3, foram semelhantes ao obtidos para a salsicha com 50 ppm de nitrito

desenvolvidas por Jafari e Djomeh (2007), que consideraram essa concentração de nitrito suficiente para desenvolver a cor rósea característica da salsicha. Entretanto, a formulação comercial de salsicha, desenvolvida por Özvural e Vural (2008) e aprovada sensorialmente, não apresentou valores semelhantes de L^* , a^* e b^* , no tempo 1 de estocagem, quando comparados com os valores de L^* , a^* e b^* para o Tratamento A, conforme apresentados nas Figuras 1, 2 e 3. Essas divergências, na cor da salsicha do Tratamento A, foram observadas, também, nas análises sensoriais realizadas com o produto. O atributo 'aparência geral' foi considerado aceito no teste de aceitabilidade em cabine com a avaliação entre 'gostei muito' e 'gostei ligeiramente', porém, o desvio padrão, apresentado na Tabela 4, foi 1,78 e foi considerado alto. Esse alto desvio representa a divergência de opinião entre os provadores quanto à cor do produto, afinal essa característica foi o principal item com reclamação dos provadores.

Avaliando as médias dos atributos sabor, textura e aparência geral, no teste de aceitabilidade (Tabela 4), percebeu-se que a avaliação geral ficou entre 'gostei muito' e 'gostei ligeiramente'. Com a realização desse teste de aceitação em cabine, também é possível considerar o produto aceito.

4. CONCLUSÃO

A análise de cor instrumental realizada na salsicha isenta de nitrato e nitrito e com atividade de água reduzida para $0,946 \pm 0,003$ mostrou que esse produto não apresentava a coloração rósea característica dos produtos curados e a análise sensorial comprovou que essa alteração de cor do produto não prejudicou a avaliação pelo provador. Entretanto, o estudo de outros corantes naturais, resistentes ao processo de cozimento da salsicha, é essencial para melhorar esse atributo nas salsichas desenvolvidas com formulação isenta de nitrito e nitrato.

Em relação à oxidação de lipídica, o aumento que ocorreu na salsicha, isenta de aditivos químicos e com atividade de água reduzida, durante os 45 dias de estocagem, não desenvolveu sabor de ranço perceptível sensorialmente.

A salsicha com atividade de água reduzida e isenta de nitrato/nitrito manteve as características de textura do produto semelhantes às características da salsicha de formulação comercial, por isso o produto desenvolvido obteve boa aceitação em relação ao atributo textura, na análise sensorial realizada.

Através desse trabalho, foi avaliar a estabilidade durante a estocagem da salsicha isenta de nitrato e nitrito com atividade de água reduzida para $0,946 \pm 0,003$ e definir que o shelf-life do produto, quando embalado a vácuo e refrigerado ($4\text{ }^{\circ}\text{C}$), foi de 45 dias, período em que o produto atendeu aos padrões microbiológicos para alimentos da legislação brasileira e apresentou estabilidade em relação as características físicas, físico-químicas e sensoriais.

REFERÊNCIAS

ABNT - ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **Alimentos - Contagem de *Staphylococcus aureus* em placas**. MB3463, 1991.

ABNT - ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **Bactérias coliformes totais, coliformes fecais e *Escherichia coli* em alimentos - Determinação do número mais provável (NMP)**. MB3464, 1991.

ABNT - ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **Clostrídios sulfito redutores e *Clostridium perfringens* em alimentos - Determinação da contagem em placas**. MB 12893, 1993.

ABNT - ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **Microorganismos viáveis aeróbios e anaeróbios em alimentos: contagem padrão**. MB 12893, 1991.

ABNT - ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **Salmonela - Determinação em alimentos**. MB3465, 1991.

AMIM, M.; OLIVEIRA, J. V. Efeito do uso do nitrato e nitrito na inibição de *Clostridium Perfringens* tipo A em lingüiça bovina curada. **Boletim Ceppa**, 24, 2006.

BOURNE, M. **Food Texture and Viscosity: Concept and Measurement**, 2ª. edição. New York. Academic Press, 2002.

BRASIL. MAPA - Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instrução Normativa nº 51**: Regulamento Técnico de Atribuição de Aditivos, e seus Limites das seguintes Categorias de Alimentos 8: Carne e Produtos Cárneos. Diário Oficial da União; Poder Executivo, de 29 de dezembro de 2006.

BRASIL. Ministério da Saúde - Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução RDC nº 12**: Regulamento técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos. Diário Oficial da União; Poder Executivo, de 26 de dezembro de 2001.

BRASIL. Ministério da Saúde. ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Portaria nº 1004**: Aprova o regulamento técnico: 'Atribuição de função de aditivos e seus limites máximos de uso para a Categoria 8 - Carne e Produtos Cárneos'. Diário Oficial da União; Poder Executivo, 14 de dezembro de 1998.

CARANOVA, A. R. P. **Implementação de um sistema de segurança alimentar num talho baseado na metodologia haccp**. Universidade Técnica de Lisboa. Dissertação de Mestrado Integrado em Medicina Veterinária, 2008

CESAR, A. P. R. **Listeria sp. e Listeria monocytogenes na produção de**

salsichas tipo Hot Dog e hábitos de consumidores. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal de Goiás, 2008.

CHEONG, L. Z.; ZHANG, H.; NERSTING, L.; JENSEN, K.; HAAGENSEN, J. A. J.; XU, X. Physical and sensory characteristics of pork sausages from enzymatically modified blends of lard and rapeseed oil during storage. **Meat Science**, 85, 2010

CREHAN, C. M., HUGHES, E., TROY, D. J., BUCKLEY, D. J. Effects of fat level and maltodextrin on the functional properties of frankfurters formulated with 5, 12 and 30% fat. **Meat Science**, 55, 2000.

DUTCOSKY, S. D. **Análise sensorial de alimentos.** 2. ed., rev. e ampl. Curitiba: Champagnat, 2007.

DUTRA, C. B. **Determinação de nitrosaminas voláteis em salsichas “hot-dog”.** Dissertação de Mestrado, UNICAMP, 2006.

ESTÉVEZ, M.; CAVA, R. Effectiveness of rosemary essential oil as an inhibitor of lipid and protein oxidation: Contradictory effects in different types of frankfurters. **Meat Science**, 72, 2006.

GOU, P.; GUERRERO, L.; GELABERT, J.; ARNAU, J. Potassium chloride, potassium lactate and glycine as sodium chloride substitutes in fermented sausages and in dry cured pork loin. **Meat Science**, 42, 1996

GRAPHPAD SOFTWARE. **GraphPad Prism® 3.0.** GraphPad, Inc., 1999.

JAFARI, M.; DJOMEH, Z. E. Reducing nitrite content in hot dogs by hurdle technology. **Food Control**, 18, 2007.

KONICA MINOLTA. **Comunicação precisa da cor: controle de qualidade da percepção à instrumentação.** 1998. Disponível em: <http://www.konicaminolta.com/content/download/.../pcc_portuguese.pdf>. Acessado em 18 de julho de 2010.

MARCO, A.; NAVARRO, J. L.; FLORES, M. The influence of nitrite and nitrate on microbial, chemical and sensory parameters of slow dry fermented sausage. **Meat Science**, 73, 2006.

MELO FILHO, A. B de; BISCONTINI, T. M. B.; ANDRADE, S. A. C. Níveis de nitrito e nitrato em salsichas comercializadas na região metropolitana do Recife. **Ciência Tecnologia de Alimentos**, vol.24, n.3, 2004.

MERCADANTE, A. Z.; CAPITANI, C. D.; DECKER, E. A.; CASTRO, I. A. Effect of natural pigments on the oxidative stability of sausages stored under refrigeration. **Meat Science**, 84, 2010.

OLIVEIRA, R. Consumo de carne suína cresce cerca de 63% e anima produtores. **O Estado do Paraná**, Curitiba, 27 jul. 2008. Disponível em: <

<http://www.parana-online.com.br/editoria/economia/news/314674/>>. Acesso em: 07 jun. 2009.

OSAWA, C. C.; FELÍCIO, P. E. GONÇALVES, L. A. G. Teste de TBA aplicado a carnes e derivados: métodos tradicionais, modificados e alternativos. **Química Nova**, 28, 2005.

ÖZVURAL, E.B.; VURAL, H. Utilization of interesterified oil blends in the production of frankfurters. **Meat Science**, 78, 2008

PARRILLI, C.C. **Clostridium botulinum em alimentos**. Trabalho de conclusão de curso de Medicina Veterinária. Faculdades Metropolitanas Unidas Medicina Veterinária, 2008.

PETRAK, L. Retailers go natural. **Meat and Deli Retailer**, 2005. Disponível em <http://goliath.ecnext.com/coms2/gi_0199-5221475/Retailers-go-natural-consumer-demand.html>. Acessado em 29 de fevereiro de 2012.

RAYMUNDO, M. S. **Avaliação da quantificação de nitritos e antioxidantes em alimentos por técnicas voltamétricas**. Tese de Doutorado, Universidade Federal de Santa Catarina, 2007.

RIGA, B. A.; RUIZ, M. R. Fita indicadora e tabela de cores para determinar concentração de nitratos e nitritos em carnes curadas. **Revista Nacional da Carne**, 403, 2010.

SANTOS, T.M. Resistência de micro-organismos patógenos (Clostridium, Salmonela, e Listeria) em embutidos crus e cozidos e carnes armazenadas em embalagem com atmosfera modificada. **Publicações em Medicina Veterinária e Zootecnia**, 2, 2008.

SARMENTO, C. M. P. **Modelagem do crescimento microbiano e avaliação sensorial no estudo da vida de prateleira da mortadela e da lingüiça defumada em armazenamento isotérmico e não isotérmico**. Tese Doutorado, Universidade Federal de Santa Catarina, 2006.

SVENSTRUP, G., BRUGGEMANN, D., KRISTENSEN, L., RISBO, J., & SKIBSTED, L. H. The influence of pretreatment on pork fat crystallization. **European Journal of Lipid Science and Technology**, 107, 2005.

THOMAS, R.; ANJANEYULU, A. S. R.; KONDAIAH, N. Development of shelf stable pork sausages using hurdle technology and their quality at ambient temperature (37 ± 1 oC) storage. **Meat Science**, 79, 2008.

VYNCKE, W. Direct determination of the thiobarbituric acid value in trichloroacetic extracts of fish as a measure of oxidative rencidity. **Fette-Seifen Anstrichmittel**, 72, 1970.

WINTER, C. K., & DAVIS, S. F. Organic foods. *Journal of Food Science*, 9, 2006

XU, W.; BRONLUND, J. E. Understanding Food Texture Using Masticatory Robots. ***Studies in Computational Intelligence***, 290, 2010

ZHOU, G. H.; XU, X. L.; LIU, Y. Preservation technologies for fresh meat – A review. ***Meat Science***, 86, 2010

ANEXO A – Apresentação da análise sensorial “in home”



PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DO PARANÁ CURSO DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS

APRESENTAÇÃO DO ESTUDO

A sua família está participando de uma pesquisa de desenvolvimento de salsicha e hambúrguer, livres de conservantes químicos. Essa etapa é denominada de Análise Sensorial “in home”, onde os provadores (sua família) preparam os produtos como de costume, provam e avaliam respondendo as perguntas a seguir.

A primeira folha – IDENTIFICAÇÃO DA FAMÍLIA – é respondida com as informações gerais e utilizada para caracterizar a família que está participando do teste. Já, nas páginas, seguintes, vocês encontrarão uma ficha para cada integrante da família, por produto analisado - AVALIAÇÃO DA SALSICHA.

Pedimos que preparem os produtos conforme orientado abaixo e consumam como habitual, por exemplo, com molho, com pão, com salada ou com outro alimento. Avaliem com franqueza, respondendo todas as perguntas apresentadas.

É importante que avaliem primeiro individualmente, respondendo as fichas de avaliação de salsicha e hambúrguer e, então, façam uma avaliação em família.

Contamos com a participação de todos. Afinal, a opinião de sua família é muito importante para nós!

Obrigado pela colaboração.

Equipe de Engenharia de Alimentos da PUCPR.

ORIENTAÇÕES PARA PREPARO DA SALSICHA

Fogão convencional:

1. Em uma panela, coloque as salsichas e cubra com água.
2. Tampe e deixe aquecer por 4 a 5 minutos, não precisa deixar ferver.
3. Após aberta, conservar a embalagem em geladeira por no máximo 5 dias.

ANEXO B – Ficha de caracterização da família de provadores**IDENTIFICAÇÃO DA FAMÍLIA**

Nome do responsável pela pesquisa: _____

Nome do responsável da família: _____

E-mail: _____ Data: ____/____/____

CARACTERIZAÇÃO DA FAMÍLIA**1. Qual é a faixa de renda da família?**

- Até R\$ 1.000,00
- R\$ 1.001,00 a R\$ 3.000,00
- R\$ 3.001,00 a R\$ 7.500,00
- R\$ 7.501,00 a R\$ 15.000,00
- Acima de R\$ 15.000,00

2. Qual a frequência de consumo de salsicha em sua casa?

- Uma vez por semana
- Uma vez a cada 15 dias
- Uma por mês
- Quase nunca

3. Qual a frequência de consumo de salsicha fora de casa?

- Uma vez por semana
- Uma vez a cada 15 dias
- Uma por mês
- Quase nunca

4. Após a sua família degustar a salsicha livre de conservantes químicos, qual foi o nível de aceitação, de uma forma geral?

- Ótimo
- Bom
- Médio
- Regular
- Ruim

5. O quanto você estaria disposto a pagar por uma embalagem de 500g de salsicha livre de conservantes?

Comentários: _____

ANEXO C – Ficha de avaliação do produto**AVALIAÇÃO DA SALSICHA**

1. Das amostras recebidas, quantas salsichas você consumiu? _____

2. Como você consumiu a salsicha? (por exemplo: com molho, pão e batata palha)

3. Em relação ao **SABOR** da salsicha, você:

- 7 - gostou muito
- 6 - gostou moderadamente
- 5 - gostou ligeiramente
- 4 - não gostou, nem desgostou
- 3 - desgostou moderadamente
- 2 - desgostou ligeiramente
- 1 - desgostou muito

4. Em relação ao **AROMA** da salsicha, você:

- 7 - gostou muito
- 6 - gostou moderadamente
- 5 - gostou ligeiramente
- 4 - não gostou, nem desgostou
- 3 - desgostou moderadamente
- 2 - desgostou ligeiramente
- 1 - desgostou muito

5. Em relação a **TEXTURA** da salsicha, você:

- 7 - gostou muito
- 6 - gostou moderadamente
- 5 - gostou ligeiramente
- 4 - não gostou, nem desgostou
- 3 - desgostou moderadamente
- 2 - desgostou ligeiramente
- 1 - desgostou muito

6. De forma geral, qual é a sua avaliação sobre a salsicha

- 7 - gostou muito
- 6 - gostou moderadamente
- 5 - gostou ligeiramente
- 4 - não gostou, nem desgostou
- 3 - desgostou moderadamente
- 2 - desgostou ligeiramente
- 1 - desgostou muito

Sugestões para esses produtos livres de conservantes químicos

ANEXO D – Ficha de avaliação do produto

	SALSICHA – AVALIAÇÃO	
Nome: _____	Data: ____/____/____	
Idade: _____	Sexo (<input type="checkbox"/>) Feminino (<input type="checkbox"/>) Masculino	
Prove a amostra de salsicha e use a escala abaixo para indicar o quanto você gostou ou desgostou da amostra em relação ao SABOR, TEXTURA e APARÊNCIA GERAL		
9 - Gostei extremamente		
8 - Gostei muito		
7 - Gostei moderadamente		
6 - Gostei ligeiramente		
5 - Nem gostei / nem desgostei		
4 - Desgostei ligeiramente		
3 - Desgostei moderadamente		
2 - Desgostei muito		
1 - Desgostei extremamente		
SABOR _____	TEXTURA _____	APARÊNCIA GERAL _____