



UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ  
CAMPUS CAMPO MOURÃO  
CURSO SUPERIOR DE TECNOLOGIA EM ALIMENTOS

CAROLINA MAGALHÃES BENEDICTI

**PRODUÇÃO DE LINGUIÇA FRESCAL (TOSCANA) ATRAVÉS DE CURA  
NATURAL COM EXTRATO DE AIPO (*APIUM GRAVEOLENS*)**

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

CAMPO MOURÃO  
2014

CAROLINA MAGALHÃES BENEDICTI

**PRODUÇÃO DE LINGUIÇA FRESCAL (TOSCANA) ATRAVÉS DE CURA  
NATURAL COM EXTRATO DE AIPO (*APIUM GRAVEOLENS*)**

Trabalho de Conclusão de Curso de  
Graduação apresentado a UTFPR –  
Campus Campo Mourão, como parte dos  
requisitos para a conclusão do Curso  
Superior de Tecnologia em Alimentos.

Orientadora: Prof.<sup>a</sup> Adriana Aparecida Droval

Campo Mourão  
2014



Ministério da Educação  
Universidade Tecnológica Federal do Paraná  
Câmpus Campo Mourão

Coordenação dos Cursos de Tecnologia e Engenharia de Alimentos  
Tecnologia de Alimentos



---

### TERMO DE APROVAÇÃO

PRODUÇÃO DE LINGUIÇA FRESCAL (TOSCANA) ATRAVÉS DE CURA  
NATURAL COM EXTRATO DE AIPO (*APIUMGRAVEOLENS*)

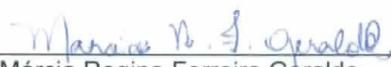
por

CAROLINA MAGALHÃES BENEDICTI

Este Trabalho de Conclusão de Curso (TCC) foi apresentado em 27 de Fevereiro de 2014, às 16h30min, como requisito parcial para obtenção do título de Tecnólogo em Alimentos. A candidata foi arguida pela Banca Examinadora composta pelos professores abaixo assinados. Após deliberação, a Banca Examinadora considerou o trabalho aprovado.

  
\_\_\_\_\_  
Profa. Dra. Adriana Aparecida Droval

  
\_\_\_\_\_  
Renata Hernandez Barros Fuchs

  
\_\_\_\_\_  
Márcia Regina Ferreira Geraldo

---

**Nota:** O documento original e assinado pela Banca Examinadora encontra-se na coordenação de Engenharia de Alimentos da UTFPR campus Campo Mourão.

## RESUMO

BENEDICTI, Magalhães Carolina. Produção de Linguiça Frescal (toscana) através de cura natural com extrato de aipo (*Apium graveolens*). 2014, p. 61. TCC (Trabalho de Conclusão de Curso) – Tecnologia em Alimentos, Universidade Federal do Paraná – UTFPR Campus Campo Mourão, 2014.

O sal de cura, nitrato e nitrito de sódio e/ou potássio, são componentes essenciais na conservação de produtos cárneos, pois além de impedir a deterioração bacteriana, são fixadores de cor e desenvolvem aroma e sabor característicos aos produtos curados. Entretanto, seu uso é discutível devido ao seu efeito adverso cumulativo. A principal preocupação do uso de sais de cura é pela formação endógena de compostos n-nitrosos como a nitrosamina, que apresenta efeito cancerígeno. Objetivou-se neste trabalho substituir o sal de cura (nitrito de sódio) por extrato de aipo (*Apium graveolens*). Foram desenvolvidas, seis formulações, segundo um Delineamento de mistura de dois fatores. As linguixas frescas com as diversas concentrações de sal de cura e extrato de aipo foram submetidos à Análise sensorial mediante teste de aceitação (Aceitação Global, sabor e cor) e análises dos parâmetros físicos de qualidade (pH e cor objetiva), para verificar a influência do sal de cura e extrato de aipo sobre as características físicas e sensoriais da linguixa. Foi observado que, apenas a variável cor sofreu influência estatística ( $p < 0,05$ ). Observou-se que os provadores preferiram as amostras que estavam acima de 25% de concentração de sal de cura da mistura, tendo uma maior aceitação pelos ensaios contendo maior concentração de sal de cura. Como o objetivo do trabalho era substituir o sal de cura, optou-se por otimizar e submeter a avaliação de vida de prateleira por 11 dias, o ensaio 3 (50% de sal de cura e 50% de Extrato de Aipo), e também o ensaio 2 (100% de extrato de aipo). Os dois ensaios foram novamente submetidos à análise sensorial mediante teste de aceitação (Aceitação Global, sabor e cor) análises físico-químicas (pH, cor objetiva e oxidação lipídica) e análises microbiológicas. Os resultados físico-químicos e microbiológicos atenderam aos padrões da legislação Brasileira. Sensorialmente o ensaio 2 foi considerado inferior ao ensaio 3, onde o atributo mais prejudicado foi a cor (5,77). Entretanto, durante o final do armazenamento, o ensaio 2 apresentou menor valor (mg MDA/Kg 0,493), comparado com o ensaio 3 (mg MDA/Kg 0,695), mostrando a eficiência do extrato de aipo como antioxidante em relação a oxidação lipídica.

**Palavras chave:** Sal de cura, Extrato de aipo, Nitrosaminas, Antioxidante.

## ABSTRACT

BENEDICTI, Magalhães Carolina. Production of Sausage Frescal (Tuscan) through natural healing with celery extract (*Apium graveolens*). 2014, p. 61. TCC (Work Completion of course) - Food Technology, Federal University of Paraná – Campus - UTFPR Campo Mourão, 2014.

The curing salt, nitrate and nitrite, sodium and / or potassium, are essential components in the preservation of meat products, as well as prevent bacterial spoilage, are fixers develop color and characteristic aroma and flavor to the cured products. However, its use is controversial due to its adverse cumulative effect. The main concern of the use of curing salts is the endogenous formation of N -nitroso compounds such as nitrosamines, which presents a carcinogenic effect. The objective of this work to replace the curing salt (sodium nitrite) by celery extracts (*Apium graveolens*). Six formulations were developed under a mixture of two delineation of factors. The fresh pork sausages with various concentrations of curing salt and celery extract were subjected to sensory analysis by acceptance testing (Global Acceptance , flavor and color) and analysis of physical quality parameters (pH and objective color) , to verify the influence the curing salt and celery extract on physical and sensory characteristics of sausage . It was observed that only the color variable effect experienced statistically ( $p < 0.05$ ). It was observed that the tasters preferred the sample that was above the 25% curing salt concentration of the mixture having a greater acceptance by the tests containing higher concentration of salt healing. As the objective of this work was to replace the salt cure, we chose to optimize and submit the rating of shelf life for 11 days, the test 3 (50% curing salt and 50% Celery Extract), and also test 2 (100% celery extract). The two trials were again submitted to sensory analysis by acceptance testing (Global Acceptance, flavor and color) physico-chemical analysis (pH, objective color and lipid oxidation) and microbiological analysis. The physicochemical and microbiological results met the standards of the Brazilian legislation. Sensory test 2 was considered inferior to the test 3, where the most affected was the color attribute (5.77). However, during the last of storage, the test 2 present lower value (mg MDA/Kg 0.493), compared with test 3 (mg MDA / Kg 0.695), demonstrating the efficiency of the antioxidant extract of celery as compared to lipid oxidation.

**Keywords:** Curing salt, celery extract, Nitrosamines, Antioxidant.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Reações redox envolvendo o nitrito FONTE: PRICE; SCHWEIGERT (1994). .....	16
Figura 2 - Mudanças químicas da mioglobina durante a reação de cura FONTE: PRICE; SCHWEIGERT (1994).....	22
Figura 3 - Esquema geral do mecanismo da oxidação lipídica FONTE: RAMALHO; JORGE (2006)	24
Figura 4: Fluxograma de preparo de Linguiça Frescal.....	35
Figura 5: Modelo da ficha de sensorial para o teste de aceitação da linguiça. ....	39
Figura 6: Diagrama para a avaliação sensorial da Cor em função da variável Nitrito de Sódio.....	42

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Matriz de planejamento do delineamento em mistura para dois fatores (Nitrito de Sódio e Extrato de Aipo).....	33
Tabela 2: Formulação padrão das linguiças frescal com a substituição parcial e/ou total do nitrito de sódio por Extrato de Aipo.....	34
Tabela 3: Resultados das análises físico-química e avaliação sensorial dos seis ensaios .....	40
Tabela 4: Análise de Variância (ANOVA) do delineamento de mistura de dois fatores (Nitrito de Sódio e Extrato de Aipo).....	42
Tabela 5: Valores médios de pH dos Ensaios 2 e 3 avaliados nos intervalos de tempo de 1 e 11 dias de armazenamento.....	43
Tabela 6: Valores médios de cor objetiva dos Ensaios 2 e 3 avaliados nos intervalos de tempo de 1 e 11 dias de armazenamento).....	44
Tabela 7: Valores médios de TBARS (mg MA/Kg amostra) dos Ensaios 2 e 3 avaliados nos intervalos de tempo de 1 e 11 dias de armazenamento.....	45
Tabela 8: Coliformes a 45°C, S. coagulase positiva, Salmonella sp. Clostrídios sulfito redutores de linguiças tratadas com extrato de aipo e sal de cura.....	47
Tabela 9: Média das notas da análise sensorial para os atributos avaliação global, sabor e cor.....	48

## LISTA DE SIGLAS

ANOVA – Análise de variância univariada

EMBRAPA – Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária

IBRAC – Instituto Brasileiro de Estudos de Concorrência, Consumo e Comércio Internacional

MDA – Malonaldeído

MeTHb – Metahemoglobina

NDMA – Nitrosodimetilamina

NO – Óxido Nítrico

$\text{NO}_2^-$  – Nitrito

$\text{NO}_3^-$  – Nitrato

$\text{NO}^2$  – Dióxido de Nitrogênio

NOMb – Nitrosomioglobina

$\text{O}^2$  – Oxigênio singlete

RH – Ácido graxo insaturado

$\text{ROO}^\cdot$  – Radical peróxido

ROOH – Hidroperóxido

## Sumário

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b>	<b>11</b>
<b>2</b>	<b>REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b>	<b>13</b>
2.1	Produtos Cárneos	13
2.2	Linguiça	13
2.3	Linguiça Toscana	14
2.4	Cura	15
2.5	Sais de cura: nitrato e nitrito	17
2.6	Efeito dos sais de cura sobre a microbiota dos produtos cárneos curados	18
2.7	Efeito dos sais de cura no sabor dos produtos cárneos curados	20
2.8	Efeito dos sais de cura na cor dos produtos cárneos curados	20
2.9	Efeito antioxidante dos sais de cura	23
2.10	Nitrosaminas e os riscos para saúde humana	25
2.11	Cura natural	28
<b>3</b>	<b>OBJETIVOS</b>	<b>31</b>
3.1	Objetivo Geral	31
3.2	Objetivos Específicos:	31
<b>4</b>	<b>MATERIAL E MÉTODOS</b>	<b>32</b>
4.1	Matéria-Prima	32
4.2	Metodologias	32
4.2.1	Planejamento Estatístico	32
4.2.2	Elaboração da linguiça frescal	33
4.2.3	Avaliações físico-químicas	36
4.2.3.1	Determinação do pH	36
4.2.3.2	Determinação da cor objetiva (L*, a* e b*)	36
4.2.3.3	Avaliação das linguiças em relação à estabilidade à oxidação lipídica	37
4.2.4	Avaliação da qualidade microbiológica	37
4.2.5	Avaliação sensorial	37
4.3	Análise Estatística	39
<b>5</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÕES</b>	<b>40</b>

5.1	Planejamento Experimental .....	40
5.2	Avaliação da vida de prateleira dos ensaios 2 e 3.....	43
5.2.1	Testes Físico – químicos: pH, cor objetiva e oxidação lipídica .....	43
5.2.2	Análises microbiológicas .....	46
5.2.3	Análise sensorial .....	48
6	CONCLUSÃO .....	50
7	REFERÊNCIAS.....	51

## 1 INTRODUÇÃO

As carnes são alimentos perecíveis e apresentam vida de prateleira variável em função das condições de armazenamento. Desde a Antiguidade, o homem sempre buscou preservar suas características de qualidade para manter a provisão de alimentos, o desenvolvimento e a conservação da espécie, originando-se, assim, processos e tecnologias de transformação, inicialmente rudimentares e atualmente controláveis por padrões tecnológicos para manter a qualidade dos produtos (OLIVEIRA et al., 2005).

A fabricação de embutidos propicia o aumento da vida de prateleira das carnes e diversifica a oferta de derivados (VIEIRA, 1999). A linguiça do tipo frescal destaca-se dentre os produtos cárneos embutidos por sua aceitação e comercialização. O processo de produção utiliza carnes de animais de açougue, adicionadas ou não de tecidos adiposos, e o processamento pode ocorrer em estabelecimentos de micro, pequeno, médio e grande porte (OLIVEIRA et al., 2005).

O processo para fabricação de linguiça requer adição de sais de cura, recurso que permitirá ao alimento atingir os parâmetros característicos de qualidade sensorial e a preservação do produto (TAKAHASHI, 1993).

Os sais de cura utilizados para o processamento dos produtos curados são o nitrato e nitrito de sódio e/ou potássio. Estes sais além de conservarem a carne contra a deterioração bacteriana são fixadores de cor, desenvolvem aroma e sabor característicos dos produtos curados. Porém seu uso é discutível devido ao seu efeito adverso cumulativo. A principal preocupação do uso de nitrito como aditivo alimentar é decorrente de efeitos tóxicos por excesso na dieta, e pela formação endógena de compostos n-nitrosos como a N-nitrosodimetilamina e a monometilnitrosamina, que apresentam efeitos cancerígenos, teratogênicos e mutagênicos (MARTINS; MIDIO, 2000).

Por esta razão, o recente interesse pelo consumo de produtos naturais, orgânicos e mais saudáveis tem instigado a demanda por produtos não curados, sem adição direta de nitrito e nitrato (SINDELAR, 2007). Os produtos cárneos curados sem adição direta de nitrito e nitrato podem receber a adição de extratos vegetais, ricos naturalmente em nitrato. São várias as fontes vegetais de nitrato,

entretanto, o extrato de aipo (*Apium graveolens*) é bastante utilizado devido à sua baixa pigmentação e sabor suave (BIASI, 2010).

O aipo é originário da Europa, possui ação antioxidante, carminativa, digestiva, estomáquica, refrescante, tônica e atividade antiinflamatória. Em sua composição, encontram-se aliina, alicina, derivados do tiofeno, sulfurados voláteis, vitaminas (A, B1, B2, B5, C, E), magnésio, ferro e cloreto de sódio (MARTINS, 2000).

Produtos cárneos feitos com a substituição de nitrato e nitrito frequentemente possibilitam atributos de qualidade sensorial similares àqueles que são submetidos à cura com nitrito. Entretanto, pouca informação está disponível para os atributos qualitativos ou sensoriais destes tipos de produtos comparados aos produtos convencionais com nitrito adicionado (SINDELAR, 2007).

Desta forma, diante do que foi apresentado pode-se concluir que a crescente busca de alimentos com características mais saudáveis tem aumentado consideravelmente, onde a preocupação com o nitrato e nitrito de sódio está cada vez mais evidente, devido aos riscos que podem ser atribuídos à ingestão de quantidades elevadas destes aditivos.

Neste sentido, o presente trabalho teve por objetivo estudar o processamento de linguiça frescal por cura natural, onde utilizou-se o extrato de aipo como fonte natural de nitrato.

## **2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**

### **2.1 Produtos Cárneos**

Os produtos e derivados cárneos são aqueles preparados total ou parcialmente com carnes, miúdos ou gorduras e, eventualmente, ingredientes de origem vegetal ou animal, como também condimentos, especiarias e aditivos autorizados (ORDOÑEZ et al., 2005). Esses ingredientes, em conjunto com a aplicação de tratamentos físicos e térmicos envolvem grandes modificações físico-químicas na carne fresca, proporcionando o aumento da sua vida útil, desenvolvimento de diferentes sabores e a agregação de valor (TERRA, 1998).

A necessidade de cada zona geográfica, com condições climáticas e costumes culturais diferentes, levou a diversificação de produtos, com sabores e texturas característicos. Hoje, estes produtos são extensamente fabricados e alvos de pesquisas do setor cárneo (ORDOÑEZ et al., 2005).

### **2.2Linguiça**

Segundo a Instrução Normativa nº 4, de 31 de Março de 2000, do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, que aprova o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Lingüiça, entende-se por linguiça o produto cárneo obtido de carnes de diferentes espécies animais, submetida aos mais diversos e adequados processos tecnológicos, adicionado ou não de tecidos adiposos, ingredientes e embutidos em envoltórios naturais ou artificiais. Apresentando textura, cor, sabor e odor característicos e são classificadas de acordo com a tecnologia de fabricação em: produto fresco, produto seco curado e/ou maturado, produto cozido e outros.

As linguiças são um dos derivados cárneos mais fabricados no Brasil, fato que talvez se deva a uma elaboração não muito difícil e uma tecnologia simples que utiliza poucos equipamentos, sendo estes relativamente baratos. No entanto, apesar

de a tecnologia ser relativa e simples exige certos conhecimentos básicos que, se não aplicados corretamente, levam ao aparecimento de defeitos (TERRA, 2003).

O preparo da linguiça é feito com carnes suínas e/ ou bovinas. Essas carnes são desossadas e trituradas em discos apropriados, depois são levados para a misturadeira adicionando sais de cura, temperos, toucinhos e demais ingredientes, dependendo da formulação de cada tipo de linguiça. Em seguida a massa é levada para a embutideira, onde é colocada em tripas naturais ou artificiais comestíveis (SARCINELLI et al., 2007).

Para fabricação de linguiças frescas, estas são levadas para câmara de produtos frescos onde permanece por tempo suficiente para que ocorra o desenvolvimento das características desejáveis a este tipo de linguiça (SARCINELLI et al., 2007). As linguiças frescas não são maturadas nem dessecadas, sendo lançadas no mercado na mesma forma em que são produzidas ou com os gomos acondicionados em embalagens plásticas, sob vácuo (BRASIL, 2000).

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

### **2.3 Linguiça Toscana**

Linguiça Toscana é o produto cru e curado obtido exclusivamente de carnes suína, adicionada de gordura suína e ingredientes de acordo com a INSTRUÇÃO NORMATIVA Nº 4, 31 de Março de 2000, descrito no Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Linguiça do Ministério da Agricultura, Pecuária e do Abastecimento (MAPA), Secretaria de Defesa Agropecuária.

Deve atender aos requisitos mínimos de higiene tanto na obtenção da matéria-prima, manipulação, fabricação e acondicionamento uma vez que a linguiça toscana não sofre tratamento térmico que ajude na redução da flora microbiana inicial (BRASIL, 2000). Devido suas características de obtenção e produção, a linguiça toscana deve ser produzida e manipulada em ambientes que possuam climatização adequada a fim de evitar a proliferação de microorganismos com

potencial causador de doenças como no caso a *Salmonella* spp. O prazo para comercialização dos produtos crus, como é o caso da linguiça toscana pode variar de 7 a 45 dias sendo que em 15 dias a linguiça começa a perder qualidade comercial, ou seja, quanto à forma, cor, sabor e textura. (PARDI, 1996).

## 2.4 Cura

A cura de carnes tem sido tradicionalmente associada com o processamento de carnes com o propósito de alterar a cor, sabor, segurança e características de vida de prateleira, as quais fazem estes produtos únicos, comparados com outros produtos cárneos (SEBRANEK; FOX, 1985).

Os ingredientes clássicos usados na cura são sal (NaCl), açúcar (sacarose ou glicose) e nitrito ou nitrato, sendo o NaCl o ingrediente mais importante. Além desses, alguns produtos podem conter coadjuvantes, tais como fosfatos, ascorbato ou eritorbato de sódio, sorbato de potássio, glutamato monossódico, proteínas vegetais hidrolisadas, lactases e temperos (JAY, 2005).

O sal é o ingrediente mais importante do processo de cura, pois é ele quem promove um dos principais sabores do produto e ainda é essencial para solubilizar as proteínas miofibrilares, além de aumentar e influenciar positivamente na textura final do produto e também serve para prevenir o crescimento microbiano antes e depois da cura. Porém, devido ao seu sabor picante, o sal é usualmente utilizado em combinação com açúcares, de forma a promover um sabor mais suave (HUI, 2001).

O açúcar é utilizado na cura de produtos cárneos, pois evita o salgamento excessivo, ao mesmo tempo diminuindo a umidade e moderando o sabor. Serve também como fonte energética para alguns microrganismos desejáveis, como os lactobacilos, que produzem ácido, obtendo-se um pH que acompanha as condições redutoras, as quais tem papel importante na redução de nitratos e nitritos (ORDÓÑEZ, 2005).

O nitrito ou o nitrato estabilizam a cor vermelha da carne, contribuem para o sabor da carne curada, retardam a oxidação lipídica, é um ótimo agente bactericida, pois previnem a germinação de esporos de *Clostridium* (JAY, 2005). Nenhum outro

aditivo reagrupa tais funções de preservação dos produtos cárneos como o nitrito ou o nitrato, o que o torna essencial nesse processo (HUI, 2001).

Nitrito é o agente ativo na cura e todas as reações têm algum tipo de relação com a química do nitrito. Entretanto, para produtos cárneos, nitrato é requerido no longo processo de secagem para a lenta geração de nitrito pelas bactérias nitrato redutoras (PEGG; SHAHIDI, 2004).

Adicionados os sais de cura à massa cárnea, ocorrerá uma série de reações, resultando a formação de NO, de acordo com o que mostra a Figura 1.

O nitrato ( $\text{NO}_3^-$ ) deve ser inicialmente reduzido a nitrito ( $\text{NO}_2^-$ ) pela ação de bactérias (*Achromobacter*, *Micrococcus*, *Lactobacillus* ou *Staphylococcus*), em meio ácido, para participar dos processos de cura de carnes (CASSENS et al., 1979).

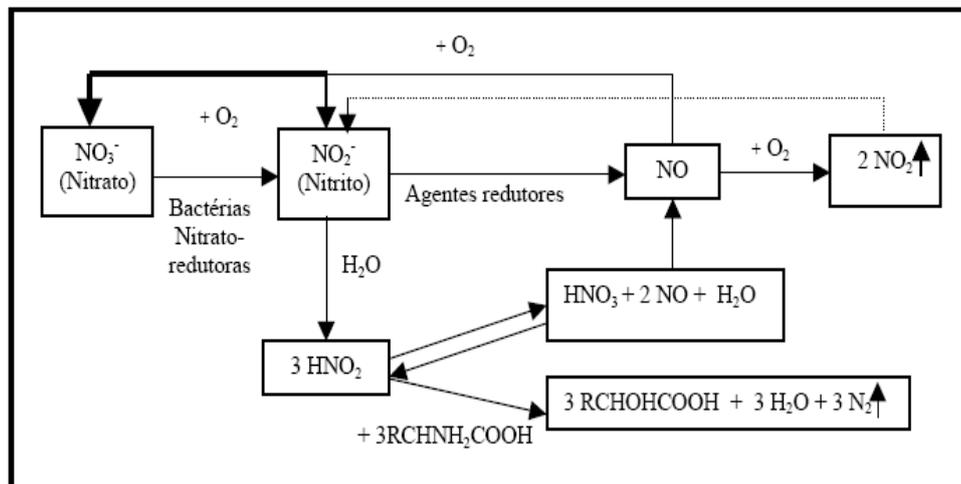


Figura 1 - Reações redox envolvendo o nitrito  
 FONTE: PRICE; SCHWEIGERT (1994).

O nitrito em meio ácido dá origem ao ácido nitroso ( $\text{HNO}_2$ ), que pode formar seu anidrido ( $\text{N}_2\text{O}_3$ ) o qual se desdobra em dois óxidos, o dióxido de nitrogênio ( $\text{NO}_2$ ) e óxido nítrico ( $\text{NO}$ ). O  $\text{NO}$  reage com a mioglobina e/ou com grupos SH de aminoácidos, enquanto o  $\text{NO}_2$  reage com a água formando novamente uma molécula de ácido nitroso ( $\text{HNO}_2$ ) e uma molécula de ácido nítrico ( $\text{HNO}_3$ ) (HONIKEL, 2008).

Então a cura é uma técnica de conservação largamente utilizada desde a antiguidade para prolongar o shelf life de produtos alimentares (MARCO et al., 2006). Porém, deve-se ter muito cuidado na quantidade de sais de cura utilizada na mistura com a carne, pois tanto a falta como o excesso podem ser nocivos ao

consumidor. A cura, além de responder pela formação da cor e do aroma, protege contra vários microorganismos e contra oxidação da gordura. O uso abusivo, além de escurecer o produto, poderá intoxicar o consumidor ocasionando-lhes sérios riscos de vida (TERRA, 1998).

#### **2.4.1 Sais de cura: nitrato e nitrito**

Os nitratos e nitritos são sais de cura, largamente utilizados como aditivos alimentares na indústria da carne. São classificados como conservadores, ou seja, substâncias que são adicionadas aos alimentos com vistas a impedir ou retardar a ação microbiana ou enzimática. Os nitratos e nitritos mais utilizados pela indústria para conservação de produtos cárneos são o nitrato e nitrito de sódio e de potássio (PARDI, 1996).

O nitrato não possui atividade antioxidante, mas torna-se funcional na redução para nitrito. Certa quantidade de nitrato é convertida a nitrito pela ação de bactérias durante processos longos de cura, porém com os processos rápidos atuais, o nitrito é adicionado diretamente à massa (ROMANS et al., 1994). As funções importantes do nitrito incluem a estabilização da cor, melhoramento da textura, desenvolvimento do sabor e aroma característicos dos produtos curados, eliminação do flavor de requentado e atividade antimicrobiana e antioxidante, sendo a principal delas a inibir o crescimento e a produção de toxina das várias espécies de *Clostridium* (TERRA et al., 2004).

O nitrato está enormemente presente no meio ambiente. É parte do ciclo do nitrogênio que é essencial para a vida. As plantas necessitam da presença de nitrato para produzir aminoácidos e então proteína, um processo que envolve a redução de nitrato, o qual utiliza energia proveniente da fotossíntese. As plantas verdes e folhosas tendem a ter altas concentrações de nitrato em suas folhas, e as plantas que crescem em condições de pouca luminosidade tendem a ter altas concentrações de nitrato, uma vez que o nitrato é estocado e não é reduzido para formar aminoácidos (GILCHRIST et al., 2010). Porém, essas concentrações podem ser alteradas devido ao uso intensivo de fertilizantes na agricultura e a coleta e disponibilização inadequada dos esgotos domésticos (ROSSI et al., 2007)

O nitrito é encontrado no meio ambiente somente em nível de traços. Porém, aproximadamente 25% do nitrato, oriundo da dieta é recirculado na cavidade oral, e 20% deste, se reduz em nitrito na superfície da língua, através da ação de bactérias anaeróbias facultativas (DUNCAN et al., 1995).

A exposição diária da população em geral ao nitrato e nitrito é influenciada tanto pelos hábitos culturais, como pelo estilo de vida e localização geográfica (ANDRADE, 2004). A dieta ocidental é rica em peixes salgados e queijos que contribuem com valores altos de nitritos (WALKER, 1990). Já os vegetarianos consomem, de 50% a 100% mais vegetais do que outros consumidores, conseqüentemente ingerindo alto teor de nitrato (ANDRADE, 2004).

De acordo com a literatura, fontes primárias de nitrato e nitrito incluem vegetais, carnes curadas e processadas, pescados e frangos (nos quais nitrito é adicionado). As plantas são as fontes primárias de nitrato (80 a 95%), enquanto que as carnes curadas e processadas são as fontes primárias de nitrito (CORREIA, 2010)

O nitrito, por ele mesmo, é certamente mais tóxico em comparação com o nitrato. A dose letal oral para humanos está estabelecida entre 80 a 800mg de nitrato por Kg corporal e 33 a 250mg de nitrito por Kg corporal (HONIKEL, 2008).

O nitrato inorgânico é sintetizado por humanos e é ingerido em grandes quantidades em dietas saudáveis ricas em vegetais (GILCHRIST et al., 2010). No entanto Palmer (1985) evidencia indiretamente, que dietas ricas em vegetais, embora importantes fontes de nitrato são associadas com a diminuição do risco do câncer. Mirvish (1994) relata que fatores protetores, tais como ácido ascórbico e alfa-tocoferol, presentes nestes alimentos são conhecidos como inibidores da formação de compostos N-nitrosos.

#### **2.4.2 Efeito dos sais de cura sobre a microbiota dos produtos cárneos curados**

Nas concentrações e condições normalmente utilizadas, os sais de cura não causam uma destruição bacteriana rápida, mas reduzem ou previnem o crescimento dos microrganismos prejudiciais em produtos que não são tratados pelo calor, e dos

termotolerantes não esporulados dos produtos pasteurizados, e evitam o desenvolvimento dos esporos que sobrevivem ao tratamento térmico aplicado a certos produtos curados (ICMSF, 1985).

Segundo Ordóñez (2005), não se pode esperar uma ação direta inibidora do crescimento bacteriano, a ação antimicrobiana deve-se em maior parte aos nitritos resultantes e, concretamente, ao ácido nitroso gerado e aos ácidos que se formam a partir dele. O nitrito atua apenas sobre as bactérias e não afeta o crescimento de fungos nem de leveduras.

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

As propriedades antimicrobianas do nitrito já foram avaliadas em relação a alguns microrganismos, e alguns autores demonstraram sua ação sobre microrganismos do grupo *Clostridium*, *Staphylococcus aureus* (dependente do pH), *Salmonella* sp. *E. coli* O157 (JAY, 2005; ARCHER, 2002)

Segundo Branen e Davidson (1983), citado por Terra (2004), o mecanismo de inibição microbiana do nitrito para *Clostridium perfringens* e *Staphylococcus coagulase positiva* envolve o bloqueio de sítios sulfidrílicos dentro da célula bacteriana. O nitrito inibe o transporte ativo, o recebimento do oxigênio e a fosforilação oxidativa.

De acordo com a Resolução RDC 12/2001, para que a linguiça frescal seja considerada própria para consumo não devem ser ultrapassados os seguintes padrões microbiológicos: 5x10<sup>3</sup> UFC/g de coliformes a 45°C, 5x10<sup>3</sup> UFC/g de Estafilococos coagulase positiva, 3x10<sup>3</sup> UFC/g de *Clostridium* sulfito redutor a 46°C, e ausência de *Salmonella* em 25 g (BRASIL, 2001).

### **2.4.3 Efeito dos sais de cura no sabor dos produtos cárneos curados**

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

### **2.4.4 Efeito dos sais de cura na cor dos produtos cárneos curados**

A cor e a aparência são os maiores, se não os mais importantes atributos de qualidade de alimentos, sendo critérios muito utilizados para estabelecer limites que sugerem parâmetros para avaliar a qualidade da carne. A cor constitui o primeiro impacto sobre o consumidor, despertando neste o desejo de consumir ou de rejeitar o produto, além de fornecer uma indicação, embora nem sempre correta, sobre o grau de conservação do alimento (RAMOS; GOMIDE, 2007).

A cor dos produtos curados depende das modificações químicas que ocorrem entre os pigmentos naturais da carne e suas reações com o cloreto de sódio e sais de cura (nitritos e/ou nitratos). Nitrosomioglobina (NOMb) é formada durante este processo, dando ao produto sua coloração característica, quando a carne é tratada com nitrato, nitrito ou óxidos de nitrogênio, sendo o óxido nítrico (NO) o componente ativo da reação (CHASCO et al., 1996).

Quando se usa nitrato de sódio ou de potássio, é ele inicialmente reduzido a nitrito por enzimas bacterianas (nitrato redutases). As bactérias necessárias para que essa redução se processe estão comumente presentes na carne (TERRA, 2004). Esta passagem de nitrato a nitrito pode ser eliminada pelo uso de nitrito, ao invés do nitrato na fórmula de cura. Na presença de condições redutoras apropriadas (ácido comumente presente na carne), o nitrito é convertido em ácido nitroso, o qual é reduzido a óxido nítrico (ORDÓÑEZ et al., 2005). No entanto se o

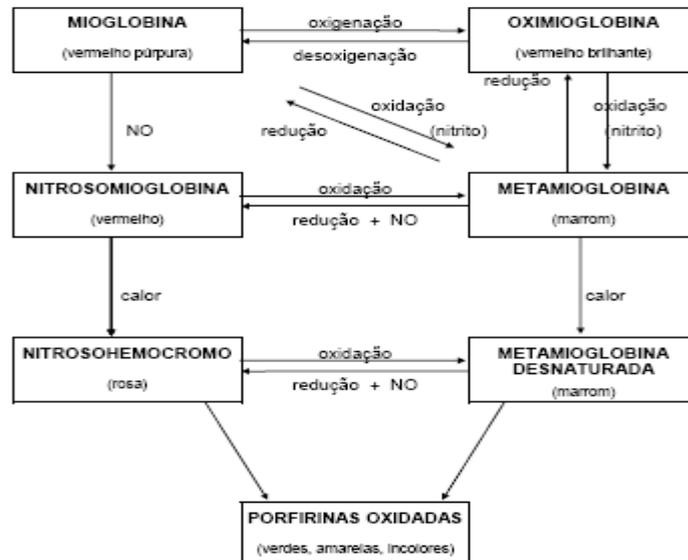
nitrito é adicionado diretamente à cor se desenvolve mais rapidamente, o que é vantajoso nos processos comerciais de cura rápida (FORREST, 1979). Porém, a composição da cura tem um efeito pronunciado sobre os compostos voláteis na linguiça, e um melhor desenvolvimento da cor tem sido atribuído ao uso do nitrato em comparação ao nitrito. Quase todos os compostos originários da degradação das cadeias ramificadas de aminoácidos (leucina, isoleucina e valina) têm concentração mais alta na linguiça formulada com nitrato comparada àquela onde foi utilizado o nitrito (OLESEN et al., 2004).

No músculo da carne existe grande número de pigmentos, contudo a mioglobina é o mais abundante e seu estado é, em grande parte, responsável pela cor da carne (ORDÓÑEZ, 2005). O óxido nítrico, reagindo com o pigmento ferroso ou com o férrico, sobretudo da mioglobina, forma tanto a nitrosomioglobina, pigmento vermelho brilhante, como metamioglobina, de cor marrom. Durante o aquecimento, a nitrosomioglobina forma um pigmento estável, o nitrosohemocromo (TERRA, 2004).

A nitrosomioglobina possui coloração vermelha muito atrativa, representando o pigmento encontrado nas carnes não tratadas pelo calor, como linguiças frescas e presuntos crus. Frente ao tratamento pelo calor, a cor é estabilizada pela desnaturação da porção protéica da mioglobina, resultando a formação do pigmento nitrosohemocromo de cor rosada (ORDÓÑEZ, 2005).

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

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



Conforme esquematizado na Figura 2, o primeiro passo da formação do pigmento que dá a coloração à carne curada é a oxidação da mioglobina a oximíoglobina pela ação dos nitritos levando à formação de metamioglobina, com a simultânea redução de nitrito a óxido nítrico (NO). Posteriormente o óxido nítrico une-se à metamioglobina formando uma substância intermediária (nitrosometamioglobina), que sofre oxidação muito rápida originando o cátion nitrosomíoglobina (NOMb), pigmento de cor avermelhada presente na carne curada sem ação do calor. Este pigmento é instável em presença do oxigênio e pode oxidar formando nitrosometamioglobina, porém quando em contato com o calor transformase em nitrosohemocromo, responsável pela coloração rosa característica dos produtos curados após cocção, estável ao calor, porém instável à luz e oxidações (ORDÓÑEZ et al., 2005).

A cor final do produto curado depende da mistura de quantidades convenientes dos sais de cura com a mioglobina existente na carne, portanto a diminuição na quantidade de carne utilizada na fabricação de embutido buscando reduzir custos de fabricação significa falta de mioglobina necessitando de uma suplementação através do uso de sangue estabilizado (hemoglobina) ou corante natural (biored, carmim de cochonilha) (TERRA, 1998).

A cor da carne pode ser influenciada pelo processamento a que esta é submetida, uma vez que diferentes condições podem modificar o estado químico

dos pigmentos. Dos processamentos que interferem, direta ou indiretamente, na cor final da carne e derivados, podem-se citar: cozimento, refrigeração, forma de embalagem (vácuo, atmosfera modificada), presença e tipo de luz durante o armazenamento e adição de substâncias como sal e nitrito ou nitrato (RAMOS; GOMIDE, 2007). E também fatores como microrganismos, enzimas e processos químicos que depende de parâmetros como pH, concentração de pigmentos na carne, potencial de oxi redução, distribuição do agente de cura, temperatura, umidade, entre outros influencia no processo para coloração (CHASCO et al., 1996).

#### **2.4.5 Efeito antioxidante dos sais de cura**

Os alimentos cárneos, devido a sua riqueza na composição, com elevada umidade, proteínas, gorduras e outros nutrientes, são produtos bastante suscetíveis a alterações de ordem físico-química e microbiológica, entre elas, a rancificação, produção de odores desagradáveis (OLIVO, 2006).

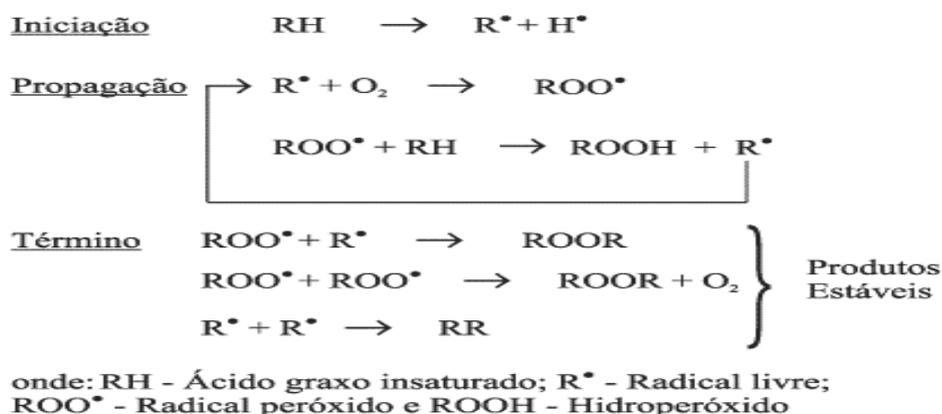
Nos alimentos a oxidação lipídica é um sério problema para a indústria alimentícia, pois os produtos originados são indesejáveis tanto pela decomposição dos lipídios como pela produção de compostos voláteis. Estes promovem alterações sensoriais, como também destruição de constituintes essenciais, ocasionando o decréscimo do valor nutricional e a formação de compostos tóxicos durante o processamento e o armazenamento do alimento (MELO; GUERRA, 2002; KARPINSKA et al., 2001).

O surgimento de compostos indesejáveis provenientes da oxidação lipídica é um importante problema a ser resolvido a fim de obter-se o aumento da vida útil dos alimentos. Os lipídios podem ser oxidados através de diferentes mecanismos: (1) Reações hidrolíticas, catalisadas pela enzima lipase ou pela ação de altas temperaturas e umidade, formando ácidos graxos livres; (2) Oxidação enzimática, em que as enzimas lipoxigenases levam à formação de peróxidos e hidroperóxidos; (3) Foto-oxidação, promovida pela radiação ultravioleta na presença de fotossensibilizadores e (4) Auto-oxidação, reação com o oxigênio molecular via um mecanismo autocatalítico (RAMALHO; JORGE, 2006).

A rancidez de carnes e produtos cárneos costuma ser resultado do processo de auto-oxidação dos ácidos graxos insaturados, sendo os fosfolípidios da gordura da carne os constituintes mais instáveis. Este processo pode ocorrer mesmo em temperaturas baixas, durante o armazenamento prolongado (LAWRIE, 2005). Almeida (2005) ainda relata que alguns fatores extrínsecos também contribuem para o desenvolvimento da oxidação lipídica em carnes, dentro esses fatores estão: às condições de processamento, como a moagem, o tratamento térmico, a aplicação de alta pressão, a adição de outros ingredientes na formulação do produto, a temperatura de armazenamento, o tipo de embalagem e a exposição à luz.

Na auto-oxidação, a sequência de reações é tradicionalmente apresentada em três etapas: iniciação, propagação e terminação (Figura 3). As reações de iniciação dão origem aos primeiros radicais livres, ácidos graxos muito reativos que possuem elétrons não pareados. Esta reação envolve uma forma de oxigênio de alta energia, de vida curta, mas muito reativo, conhecido como oxigênio singlete ( $^1O_2$ ). Nas reações de propagação, o oxigênio atmosférico reage com os radicais livres, gerando radicais peróxido. Estes, que também são bastante reativos, seguem reagindo com outros ácidos graxos insaturados, produzindo hidroperóxidos e outros radicais livres. Na etapa final, a terminação, os radicais livres começam a reagir entre si, formando produtos estáveis (COULTATE, 2004). Outras substâncias que podem ser geradas durante o processo de auto-oxidação são álcoois, ácidos, hidrocarbonetos e cetonas (ARAÚJO, 1999).

Figura 3 - Esquema geral do mecanismo da oxidação lipídica  
 FONTE: RAMALHO; JORGE (2006)



Para Luzia et al., (2003) um dos métodos mais utilizados em produtos cárneos para se avaliar a extensão da estabilidade lipídica é o teste de TBA (ácido

2-tiobarbitúrico) ou TBARS (substâncias reativas ao ácido 2-tiobarbitúrico). Esse teste quantifica o malonaldeído (MA), um dialdeído de três carbonos, com grupos carbonilas nos carbonos C-1 e C-3. Esse composto é um dos principais produtos de decomposição dos hidroperóxidos de ácidos graxos poli-insaturados, formado durante o processo oxidativo.

A reação de TBARS envolve o ácido 2-tiobarbitúrico com o malonaldeído, produzindo um composto cromogênio de cor vermelha, medido espectrofotometricamente a 532 nm de comprimento de onda (de acordo com a metodologia, esse comprimento de onda pode variar, situando-se ao redor de 500 a 550 nm). Os resultados são expressos em unidades de absorvância por unidade de massa de amostra ou em “valor de TBARS” ou “número de TBARS”, definidos como a massa, em mg, de malonaldeído por kg de amostra. Particularmente para produtos cárneos, a informação do número de TBARS é bastante relevante, pois processos envolvidos na elaboração de produtos cárneos que incluam moagem, mistura e cozimento favorecem a formação do malonaldeído, sendo fundamental o emprego do teste na avaliação da qualidade do produto final (OSAWA, 2005).

A fim de evitar a auto-oxidação, é necessário reduzir a incidência de fatores que a favorecem, mantendo ao mínimo os níveis de energia (luz e temperatura), evitando a presença de traços de metais e o contato com o oxigênio e bloqueando a formação de radicais livres através do emprego de antioxidantes (JORGE; GONÇALVES, 1998).

Vários antioxidantes sintéticos têm sido utilizados para retardar o desenvolvimento da rancidez nestes produtos, e desta forma, aumentar seu prazo comercial, entre eles, os nitritos (AGUIRREZÁBAL et al., 2000). A molécula de óxido nítrico (NO), formada pela dissociação do ácido nitroso (HNO<sub>2</sub>) pode ser facilmente oxidada a NO<sub>2</sub> em presença de oxigênio agindo como sequestrante, o que explica a ação antioxidante do nitrito. Desta forma, com a deficiência de oxigênio livre no meio, também é retardada a reação de desenvolvimento da rancidez (HONIKEL, 2008).

## **2.5 Nitrosaminas e os riscos para saúde humana**

As N-nitrosaminas, compostos orgânicos conhecidos desde longa data, tornaram-se objeto de intensivos estudos toxicológicos a partir de 1956, quando Magee e Barnes (1956) relataram pela primeira vez a indução de tumores no fígado de ratos alimentados com ração contaminada com nitrosodimetilamina (NDMA). Desde então, muitas pesquisas têm sido realizadas com animais de experimentação, objetivando avaliar os efeitos toxicológicos causados por N-nitrosaminas. Segundo Bartsch e Montesano no ano de 1984, os efeitos carcinogênicos de N-nitrosaminas já foram observados em mais de 40 espécies animais, inclusive no macaco.

As nitrosaminas podem estar presentes em alimentos conservados por adição de nitrato e/ou nitrito (DUTRA et al., 2007). Os produtos cárneos têm sido estudados e nitrosaminas foram detectadas em linguiças, carne de ovelha, carne curada, presuntos e bacons (YURCHENKO; MÖLDER, 2007). Em certas situações, o nitrito residual poderá, junto às aminas secundárias, naturalmente existentes na carne, originar as nitrosaminas, como citado a cima, são compostos potencialmente cancerígenos, visto que geram o cátion nitrogênio, que ao reagir com o DNA, provoca mutações (TERRA, 1998).

A formação de nitrosaminas na carne é um processo complexo e uma grande diversidade de substâncias pode influenciar na reação de nitrosação. Vários compostos induzem à formação de nitrosaminas na carne, que são: nitrato, nitrito, aminas primárias, secundárias, terciárias e quaternárias, amidas, proteínas, peptídeos e aminoácidos. Os microorganismos também podem fazer parte na formação das nitrosaminas pela redução de nitratos a nitritos, na degradação de proteínas a aminas e aminoácidos (YURCHENKO; MÖLDER, 2007).

A concentração de nitrosaminas, em alimentos, também é dependente de fatores como: método de cozimento, temperatura e tempo de fritura e de defumação, concentração de nitrito residual ou adicionado, concentração de precursores das nitrosaminas, condições e métodos de pré processamento, conteúdo de umidade, presença de catalisadores e inibidores da nitrosação (MILLER et al., 1989).

Em função do potencial mutagênico e carcinogênico destes compostos em animais, estima-se que o nível de exposição tolerável pelo homem para as nitrosaminas mais voláteis encontra-se na faixa de 5 a 10  $\mu\text{g.Kg}^{-1}$ , por esta razão o

limite de detecção mínimo de 10  $\mu\text{g.Kg}^{-1}$  é geralmente aceito (SANCHES et al., 2003).

Como é difícil controlar o nível de fatores endógenos, tais como aminoácidos e aminas, uma redução no nível de nitrito adicionado aos produtos e condições no processo parece ser necessária. Deste modo, o nível aceitável de nitrito adicionado em produtos cárneos tem sido reduzido para o máximo de 150 a 200 ppm na maioria dos produtos (PEGG; SHAHIDI, 2006).

A nitrosação é favorecida em pH ácido, geralmente com o pH ótimo entre 2 e 4, dependendo do substrato. Isto significa que as condições que favorecem a reação existem no estômago. Nas condições ácidas do estômago, o nitrito dá origem aos agentes nitrosantes, através da sua decomposição em ácido nitroso e este em vários óxidos de nitrogênio espontaneamente (LUZ, 2008).

Segundo Cortas e Wakid (1991), em adultos saudáveis, os nitratos e nitritos são absorvidos pelo trato gastrointestinal, sendo o nitrato rapidamente excretado por via renal. Os nitritos, por sua vez, combinam-se com a hemoglobina, transformando-a em metahemoglobina, por processo de oxidação do íon ferroso a íon férrico no complexo porfirínico. A metahemoglobina (MetHb) é incapaz de transportar oxigênio, mas a enzima NADH-Metahemoglobina-redutase (NADH-diaforase) presente nos eritrócitos converte-a novamente em hemoglobina. Desta forma, quando os níveis de exposição ao nitrito são baixos, a formação de MetHb é reversível, sendo catalisada pela enzima NADH-Metahemoglobina-redutase. Entretanto, quando o nível de exposição é elevado, o sistema de redução é saturado, resultando em aumento da concentração de MetHb no sangue e concentrações em níveis superiores a 50% podem ser fatais.

A formação de nitrosaminas nos alimentos pode ser evitada através do uso de benzoatos ou do uso de sal sem impurezas. Alguns estudos comprovaram que o emprego de antioxidantes inibiu a formação de nitrosamina durante a formação a cocção de bacon de maneira significativa (BARUFFALDI; OLIVEIRA, 1998).

Também pode fazer com que ocorram modificações nos processos de conservação e armazenamento para eliminar ou reduzir significativamente os níveis de N-nitrosaminas, como a incorporação de inibidores da reação de nitrosação (ácido ascórbico ou - tocoferol) no processo. O inibidor mais efetivo da nitrosação é o ácido ascórbico, o qual reage rapidamente com nitrito formando ácido

deidroascórbico e óxido nítrico, o qual não é um agente nitrosante (LUZ, 2008). A formação de N-nitrosaminas em alimentos também pode ser controlada através do controle da adição de nitrito, visto que a velocidade de formação das Nnitrosaminas é diretamente proporcional ao quadrado da concentração desse íon (SHUKER, 1988).

## **2.6 Cura natural**

Muitos estudos têm documentado que a preferência dos consumidores por alimentos orgânicos e naturais é baseada nas preocupações relacionadas a antibióticos, pesticidas, hormônios, modificações genéticas em plantas e animais, e aditivos químicos que os consumidores associam com alimentos produzidos convencionalmente (SEBRANEK; BACUS, 2007b).

Por isso o interesse por produtos com um apelo natural vindo sendo cada vez mais objeto de desejo da população e objeto de estudo por parte da comunidade científica e das indústrias produtoras de alimentos. Produtores e processadores têm respondido à demanda do consumidor por alimentos mais saudáveis e benéficos do que os convencionalmente produzidos. Na maioria dos casos, alimentos naturais e orgânicos assemelham-se muito aos produtos convencionais e não diferem nas características típicas esperadas pelos consumidores (BACUS et al., 2010).

Na elaboração de produtos cárneos, a adição direta de conservantes químicos, como o nitrato e o nitrito, é tratada com especial atenção, devido aos riscos que podem ser atribuídos à ingestão de quantidades elevadas destes aditivos. Então, devido às percepções negativas da cura por nitrito em carnes por parte de alguns consumidores, as versões de cura natural e orgânica estão tendo uma larga propagação e aceitação no mercado (SEBRANEK e BACUS, 2007a).

Por causa da função que o nitrito tem em produtos curados, de garantir a qualidade e a segurança alimentar, esses atributos necessitam ser cuidadosamente examinados nas mudanças dos processos que estão sendo introduzidos para a fabricação de produtos cárneos naturais e orgânicos (BACUS et al., 2010).

Os produtos cárneos curados sem adição direta de nitrito e nitrato podem receber a adição de extratos vegetais, ricos naturalmente em nitrato. Os extratos

vegetais têm grandes influencia na oxidação lipídica dos produtos cárneos, pois possuem efeito antioxidante, e atualmente vem sendo usado pelas indústrias em substituição aos antioxidantes sintéticos, pois os extratos possuem a capacidade de melhorar a estabilidade oxidativa dos produtos alimentícios e, em muitos casos, aumentar a vida útil dos mesmos.

Os extratos vegetais são denominados como substância bioativa, incluindo os organosulfurados, os fenólicos (tocoferóis, flavonoides e ácidos fenólicos), os terpenos, carotenoides e o ácido ascórbico. Sendo que evidências científica permitem afirmar que a propriedade antioxidante dos vegetais se deve, principalmente, a seus compostos fenólicos (EXTRATO VEGETAL, 2010).

Os compostos fenólicos tem demonstrado serem potentes antioxidantes, interferindo no potencial oxidativo/antioxidativo da célula ou atuando como sequestradores de radicais livres, como quelantes ou sequestrantes do oxigênio singlete e como desativadores de metais pró-oxidantes (KAHKONEN et al., 1999; LODOVICI et al., 2001).

O ácido ascórbico, presente no extrato do vegetal, funciona como um agente redutor, um antioxidante e como agente sequestrador em determinados alimentos. Além das propriedades de acelerar a formação da coloração vermelha típica e redução do nitrito residual, ascorbatos, como são denominados comercialmente, possuem a indicação formal por inibirem a síntese da nitrosaminas (PARDI, 1996).

São várias as fontes vegetais de nitrato, entretanto, o extrato de aipo (*Apiumgraveolens*) é bastante utilizado devido à sua baixa pigmentação e sabor suave que não deprecia o sabor do produto final (BIASI, 2010).

O aipo é originário do sul da Europa (região mediterrânea) e cultivado no sul e sudeste do Brasil, o aipo, *Apiumgraveolens* L. (UMBELLIFERAE), é uma das espécies contempladas pelo projeto “Produção, processamento e comercialização de ervas medicinais, condimentares e aromáticas” coordenado pela Embrapa Transferência de Tecnologia – Escritório de Negócios de Campinas, SP, em parceria com a Embrapa Pantanal (Corumbá, MS), Embrapa Semi-Árido (Petrolina, PE) e nos Escritórios de negócios de Dourados (MS), Canoinhas (SC), e Petrolina (PE) da Embrapa Transferência de Tecnologia, o qual tem por objetivo treinar técnicos e qualificar pequenos agricultores e seus familiares em produção e manipulação de ervas com boas práticas agrícolas e de higiene que atendam às demandas dos

segmentos de fármacos e condimentos. É uma planta que pode atingir de 60 a 90 cm de altura; caule (talos) verde claro, estriado e duro; folhas compostas verde escuras, bem segmentadas e com folíolos serrilhados; as raízes são fibrosas e fortes; flores brancas dispostas em cachos achatados e frutos secos e arredondados de cor acinzentada com uma semente de cor escura (JORGE; VAZ, 2007).

Possui ação antioxidante, carminativa, digestiva, estomáquica, refrescante, tônica e atividade antiinflamatória. Em sua composição, encontram-se aliina, alicina, derivados do tiofeno, sulfurados voláteis, vitaminas (A, B1, B2, B5, C, E), magnésio, ferro e cloreto de sódio (MARTINS, 2000).

### **3 OBJETIVOS**

#### **3.1 Objetivo Geral**

Desenvolver e avaliar o processamento de linguiça frescal (toscana) produzida a partir de cura natural, utilizando extrato de aipo como fonte de nitrato em substituição ao sais de nitrito de sódio.

#### **3.2 Objetivos Específicos:**

- Avaliar os níveis de substituição do Nitrito de sódio (sal de cura) por Extrato de Aipo para definir formulações a serem utilizadas na elaboração de linguiça frescal produzida por cura natural
- Realizar análises microbiológicas nas linguiças, de acordo com às exigências da lei vigente no Brasil;
- Realizar testes físico-químico nas formulações de linguiça em relação ao pH e cor objetiva ( $L^*$ ,  $a^*$  e  $b^*$ );
- Avaliar a aceitação sensorial em uma amostra representativa de consumidores de linguiças;
- Otimizar a formulação da linguiça com substituição total e/ou parcial do Sal de cura (Nitrito de sódio) por Extrato de Aipo, a partir dos aspectos físico-químicos, microbiológicos e sensoriais.

## **4 MATERIAL E MÉTODOS**

### **4.1 Matéria-Prima**

Para a elaboração das formulações de linguiça frescal foi utilizado carne suína (paleta e pernil) moída refrigerada (5°C), adquirida no comércio local da cidade de Campo Mourão.

O sal de cura utilizado foi da marca comercial, Cura- LF marca IBRAC, doado pela empresa IBRAC, Instituto Brasileiro de Estudos de Concorrência, Consumo e Comércio Internacional.

O extrato de aipo foi adquirido via internet, pela empresa Biovea, sendo este um produto natural e liofilizado.

Os demais ingredientes e aditivos foram adquiridos no comércio local da cidade de Campo Mourão, PR.

### **4.2 Metodologias**

#### **4.2.1 Planejamento Estatístico**

Para substituir o nitrito de sódio (sal de cura) nas linguiças, foi utilizado o extrato de aipo (natural e liofilizado), totalizando dois fatores. As proporções de cada fator a serem introduzidas nas formulações foram obtidas a partir de um delineamento em mistura, para dois fatores, com repetição do ponto central, totalizando 6 ensaios (BARROS NETO *et al.*, 2010), conforme apresentado na Tabela 1.

Tabela 1 – Matriz de planejamento do delineamento em mistura para dois fatores (Nitrito de Sódio e Extrato de Aipo):

Ensaio	Variáveis	
	Cura Ibrac – $x_1$	Extrato de aipo – $x_2$
1	1	0
2	0	1
3	0,5	0,5
4	0,75	0,25
5	0,25	0,75
6	0,5	0,5

As variáveis respostas foram os parâmetros sensoriais de aceitação global, sabor, e cor; e os parâmetros físicos de qualidade da carne e de produtos cárneos: cor objetiva ( $L^*$ ,  $a^*$  e  $b^*$ ) e pH.

Para cada resposta obtida foi realizada uma Análise de Variância, para verificar a influência dos fatores sobre os valores obtidos, além de verificar se houve diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) entre os tratamentos. Nos casos em que houve diferença estatisticamente significativa, foram gerados os diagramas do delineamento, a fim de melhor visualizar a faixa otimizada de mistura das variáveis. Os cálculos da ANOVA e os gráficos foram obtidos através do programa STATISTICA® versão 7.0 (STATSOFT, 2006), licenciada para a Universidade Tecnológica Federal do Paraná.

#### 4.2.2 Elaboração da linguiça frescal

A elaboração das formulações de linguiça foi realizada no laboratório da Universidade Tecnológica Federal do Paraná – *campus* Campo Mourão. A matéria-prima e os demais insumos utilizados com suas respectivas quantidades estão apresentados na Tabela 2. O processamento das linguiças ocorreu de acordo com o fluxograma de elaboração apresentado na Figura 4.

Tabela 2 - Formulação padrão das linguiças frescal com a substituição parcial e/ou total do nitrito de sódio por Extrato de Aipo

<b>Ingrediente</b>	<b>Quantidade</b>
Carne Suína (paleta e pernil)	81,33 %
Toucinho	9,00 %
Gelo Moído	6,00 %
Sal	2,00 %
Antioxidante (IBRACOR 501)	0,25 %
Mistura de Fatores *	**
Condimento para Linguiça Frescal	0,50 %
Alho em pó	0,10 %
Pimenta Branca	0,02 %
Glutamato monossódico	0,10 %
Orégano	0,10 %
Tempero Verde	0,10 %

\*Corresponde à mistura dos dois fatores envolvidos no delineamento estatístico (Nitrito de Sódio e Extrato de Aipo). \*\*A quantidade dos componentes desta mistura foi determinada para cada tratamento segundo o delineamento em mistura (Tabela 1).

Inicialmente foi proposto o delineamento experimental de mistura, usando uma técnica de otimização, sendo possível determinar qual seria o melhor tratamento. O delineamento experimental de mistura propôs o desenvolvimento de 6 formulações (Ensaio) com diferentes quantidades pré-estabelecidas de sal de cura e extrato de aipo em pó, como é demonstrado na Tabela 1. A concentração máxima do ingrediente Cura IBRAC (sal de cura) utilizado nos ensaios foi de 0,5 %, ou seja, respeitando o limite máximo permitido de nitrito de sódio em produtos cárneos, que é de 150 ppm.

Para fabricação das linguiças é apresentado um fluxograma de acordo com o processamento que foi realizado (Figura 4).

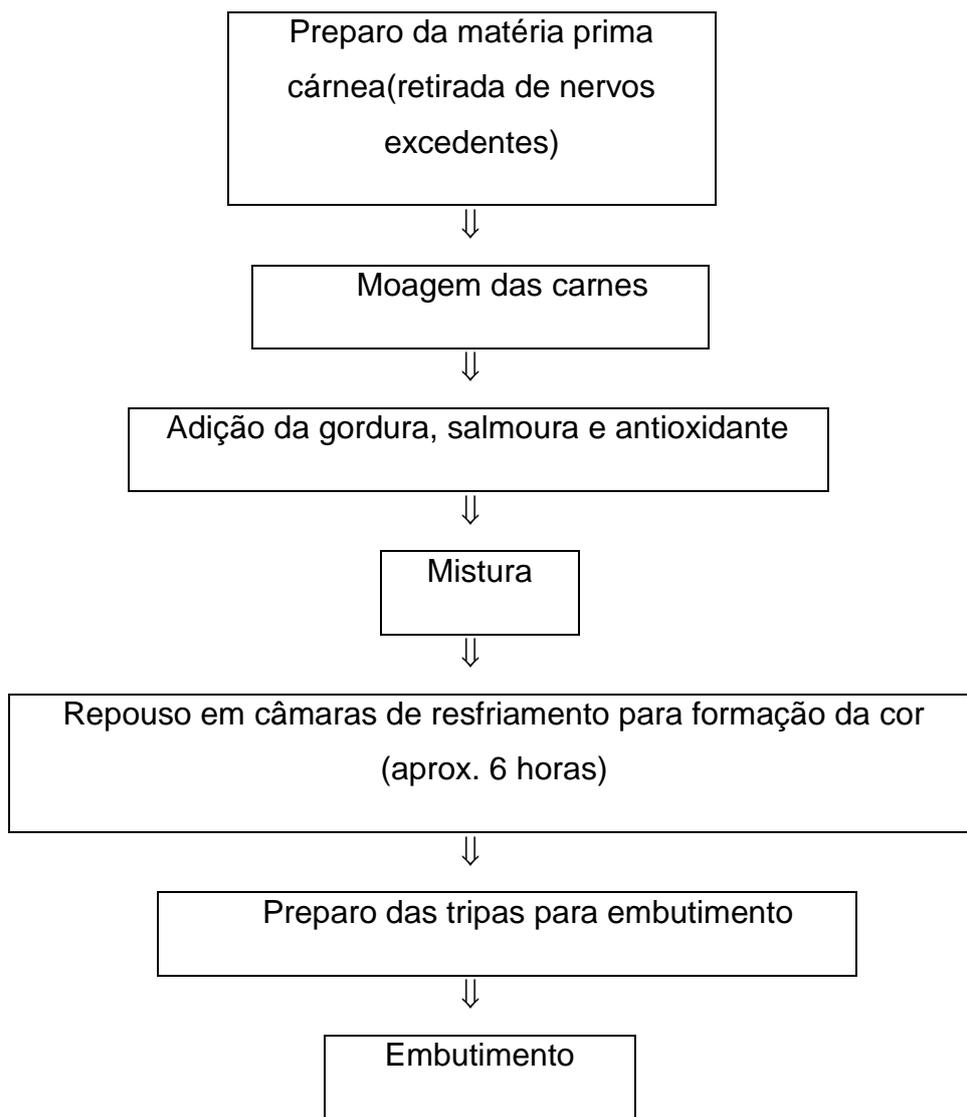


Figura 4 – Fluxograma de preparo de Linguiça Frescal

Após processamento, as linguiças foram armazenadas em temperatura de refrigeração de 5°C, para posteriores análises físico-químicas (pH e cor objetiva), microbiológica e sensorial (aceitação), sendo esta designada como a primeira etapa do trabalho.

A segunda etapa do trabalho consistiu em submeter o melhor tratamento (ensaio) à avaliação da vida de prateleira da linguiça fresca por 11 dias, e foram realizados os testes físico-químico (pH, cor objetiva e oxidação lipídica), microbiológicos e sensoriais (aceitação).

### 4.2.3 Avaliações físico-químicas

Todas as análises físico-químicas descritas a seguir foram realizadas em triplicatas.

#### 4.2.3.1 Determinação do pH

As medidas de pH foram realizadas em triplicatas com auxílio do potenciômetro de contato, marca Testo, de acordo com a metodologia sugerida por Olivo *et al.* (2001) com modificações. O ponto de incisão do eletrodo foi a parte central da linguiça.

#### 4.2.3.2 Determinação da cor objetiva ( $L^*$ , $a^*$ e $b^*$ )

A avaliação dos parâmetros de cor objetiva foram realizada pelo aparelho Mini Scan EZ User'sGuide.

A massa foi retirada da tripa e em seguida distribuiu-se em placas de petri e realizou-se a leitura no aparelho. Os resultados foram expressos como  $L^*$  (que representa a porcentagem de luminosidade, 0= escuro e 100=claro),  $a^*$  (onde  $-a^*$  representa direção ao verde e  $+a^*$  direção ao vermelho) e  $b^*$  (onde  $-b^*$  representa direção ao azul e  $+b^*$  direção ao amarelo). Para cada tratamento, obteve o valor médio de três leituras em diferentes pontos da massa. (HUNT, 1991).

#### **4.2.3.3 Avaliação das linguiças em relação à estabilidade à oxidação lipídica**

A avaliação da oxidação lipídica das linguiça foi determinada pelo índice de TBARS, segundo a metodologia descrita por Tarladgis *et al.* (1960) e adaptado por Maia (1980).

Pesou-se 10 gramas de amostra, adicionou-se 50 mL de TCA 7,5%, homogeneizou-se por 1 minuto e filtrou-se em papel filtro. Em seguida, retirou-se uma alíquota de 5mL do extrato, colocou-se dentro de tubo de ensaio com tampa, adicionou-se ao tubo 5 mL da solução de TBA 0,02M, fechou-se a tampa e aqueceu-se em banho-maria fervente por 40 minutos. Posteriormente, realizou-se a leitura em espectrofotômetro a 538 nm. Os resultados em triplicata foram expressos em mg de malonaldeído por quilograma de amostra.

#### **4.2.4 Avaliação da qualidade microbiológica**

Para realização das análises microbiológicas foram coletadas amostras dos tratamentos no dia 1º após a fabricação, sendo que as análises que foram realizadas são de acordo com o que a Resolução nº12, de 10/01/2001 estabelece para linguiça frescal, que é: contagem de Coliformes a 35°C, contagem de Coliformes a 45°C, contagem de *Staphylococcus* coagulase positiva, *Salmonella* sp e *Clostridio* sulfito redutor a 46°C. As metodologias utilizadas para realização das análises microbiológicas foram de acordo com a Instrução Normativa nº 62, de 26/08/2003.

#### **4.2.5 Avaliação sensorial**

As linguiças elaboradas foram submetidas a testes sensoriais de aceitação com painel não treinado formado por consumidores de linguiça, constituído de alunos e servidores (professores e técnicos administrativos da UTFPR – Campus

Campo Mourão, totalizando 50 provadores na primeira etapa do trabalho (avaliação dos ensaios desenvolvidos para o planejamento estatístico) e 100 provadores para a segunda etapa do trabalho (análise da melhor formulação após avaliação do delineamento estatístico (MEILGAARD *et al.*, 1991). Foram avaliados os atributos sabor, cor e aceitação global, através de uma escala hedônica de categoria verbal de nove pontos (9 = gostei muitíssimo; 1 = desgostei muitíssimo), conforme ficha apresentada na Figura 5.

As amostras foram grelhadas em chapa elétrica a 140°C, receberam aproximadamente 2,0 mL de óleo de soja para cada 100 g de linguiça para auxiliar no aquecimento. As amostras permaneceram aproximadamente um intervalo de 5 minutos de aquecimento de cada lado da linguiça, podendo se repetir por 2 vezes até a temperatura interna atingir 72°C, para assegurar o cozimento completo e garantir a sua segurança e sanidade na eliminação de possíveis microorganismos causadores de intoxicação de origem alimentar. Após cocção cortou-se as amostras em cubos de 1,5x1,5x1,0 cm<sup>3</sup> (altura, comprimento e largura) e servidas aos provadores um cubo de aproximadamente 5g (~5g) de cada amostra a temperatura de 40°C. Ofereceu-se água potável à temperatura ambiente para lavar a boca antes e entre as avaliações. Os voluntários receberam esclarecimentos e, uma vez cientes dos objetivos da pesquisa, emitiram aval de concordância com o projeto, segundo o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (ANEXO 1).

Serviu-se as amostras de forma monádica, identificadas com códigos de três dígitos aleatórios. Os resultados foram analisados quanto à análise de variância univariada (ANOVA) e as medias comparadas pelo teste de *Tukey* a 5% de probabilidade.

Teste de aceitação	
NOME:	DATA:
1. Você está recebendo quatro amostras codificadas de linguiça frescal toscana. Avalie as amostras utilizando a escala abaixo para indicar o quanto você gostou ou desgostou das amostras.	
(9) gostei muitíssimo	
(8) gostei muito	
(7) gostei moderadamente	
(6) gostei ligeiramente	
(5) não gostei e nem desgostei	
(4) desgostei ligeiramente	
(3) desgostei moderadamente	
(2) desgostei muito	
(1) desgostei muitíssimo	
<b>Código da amostra</b> _____	
Notas: Avaliação global _____ Sabor _____ Cor _____	
Comentários: _____	

Figura 5 – Modelo da ficha de sensorial para o teste de aceitação da linguiça toscana.

#### 4.3 Análise Estatística

Todas as determinações foram realizadas em triplicata, os dados foram avaliados através de análise de variância (ANOVA). As médias foram comparadas pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade, utilizando o programa STATISTICA® versão 7.0 (STATSOFT, 2006), licenciada para a Universidade Tecnológica Federal do Paraná.

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

### 5.1 Planejamento Experimental

As médias dos resultados das análises físico-químicas realizadas (pH e cor objetiva) e análises sensoriais (aceitação global, sabor e cor) para cada um dos ensaios (Tratamentos) estão apresentados na Tabela 3.

Tabela 3 – Resultados das análises físico-química e avaliação sensorial dos seis ensaios:

Ensaio	Análises Físico-Químicas				Avaliação Sensorial		
	pH	L*	a*	b*	Aceitação Global	Sabor	Cor
1	5,26±0,02 <sup>a</sup>	59,73±3,71 <sup>a</sup>	8,61±1,56 <sup>a</sup>	13,13±1,93 <sup>a</sup>	7,84±0,89 <sup>a</sup>	7,84±1,30 <sup>a</sup>	6,98±1,76 <sup>a</sup>
2	5,30±0,04 <sup>a</sup>	56,47±4,47 <sup>a</sup>	8,79±0,36 <sup>a</sup>	15,24±1,56 <sup>a</sup>	7,06±1,81 <sup>a</sup>	6,88±1,88 <sup>a</sup>	5,76±2,34 <sup>e</sup>
3	5,37±0,02 <sup>a</sup>	54,57±2,93 <sup>a</sup>	9,37±1,00 <sup>a</sup>	15,30±1,64 <sup>a</sup>	7,70±1,44 <sup>a</sup>	7,76±1,20 <sup>a</sup>	6,78±1,67 <sup>b</sup>
4	5,30±0,01 <sup>a</sup>	52,76±7,51 <sup>a</sup>	7,48±1,63 <sup>a</sup>	13,08±2,02 <sup>a</sup>	7,62±1,21 <sup>a</sup>	7,52±1,37 <sup>a</sup>	6,94±1,66 <sup>a</sup>
5	5,17±0,02 <sup>a</sup>	52,34±5,46 <sup>a</sup>	8,16±0,80 <sup>a</sup>	12,92±2,96 <sup>a</sup>	7,32±1,40 <sup>a</sup>	7,28±1,18 <sup>a</sup>	6,36±1,77 <sup>d</sup>
6	5,23±0,02 <sup>a</sup>	52,65±7,25 <sup>a</sup>	9,35±1,06 <sup>a</sup>	14,02±3,08 <sup>a</sup>	7,88±0,80 <sup>a</sup>	7,72±0,88 <sup>a</sup>	6,56±1,80 <sup>c</sup>

Médias seguidas de letras iguais na mesma coluna diferem entre si pelo teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ )

Foi observado que as variáveis Nitrito de sódio (sal de cura) e Extrato de aipo não influenciaram estatisticamente ao nível de 5% em relação aos valores médios de pH e cor objetiva (L\*, a\* e b\*). Quanto ao teste de Tukey realizado com as médias dos tratamentos, também não houve diferenças significativas entre os tratamentos para as análises físico-químicas. As médias de pH dos ensaios variaram entre 5,17 e 5,37 (Tabela 1). O intervalo de resultados, exceto o ensaio 5, está de acordo com Almeida (2005) que estabelece que os valores considerados como normais de pH para produtos cárneos, oscilam entre 5,2 e 6,8.

Em relação a cor objetiva o valor de L\* (luminosidade) variou de 52,34 e 59,73; o valor de a, componente vermelho-verde variou de 8,16 e 9,37; e o valor de b, componente amarelo-azul, variou de 12,92 e 15,30. O intervalo de resultados do valor de L\* está de acordo com Chiavaro *et al* (2008), que encontrou valores para L\* de 62,8 para 52,9, no final dos 15 dias de armazenamento de linguiça frescal toscana.

Com relação a análise sensorial quanto à aceitação global, foi observado que não houve influência estatisticamente significativa em nível de 5%. A maior média observada, o ensaio 6 (7,88), situou-se entre “Gostei moderadamente” e “Gostei muito”. As médias obtidas para a Aceitação global das linguiças foram similares aos valores encontrados por Bernardi e Roman (2011), que encontraram valores médios entre 6,3 e 7,9 em amostras de linguiças toscanas com baixo teor de sódio. Quanto ao Sabor das linguiças, foi observado que as médias variaram entre 6,88 (Ensaio 2), que corresponde à nota “Gostei ligeiramente” e 7,84 (Ensaio 1), mais próximo da nota “Gostei muito”. Não houve diferença significativa ( $p < 0,05$ ). Ou seja, não houve influência da mistura dos fatores para as variáveis de respostas aceitação global e sabor.

Quanto à avaliação sensorial da cor das linguiças, houve influência estatística das variáveis independentes na variável resposta cor, ao nível de 5 %. A equação 1 descreve a cor das linguiças em função das variáveis codificadas:

$$Cor = 6,98x_1 + 5,77x_2 + 1,28x_1x_2 \quad \text{Eq.1}$$

Com as médias da Cor de todas as amostras, foi gerado um diagrama (Figura 6) que melhor apresenta o efeito de mistura dos fatores. Através desse diagrama e da Análise de Variância (Tabela 4), observa-se que os provadores preferiram as amostras que estavam acima de 25% de concentração de Nitrito de Sódio da mistura, tendo uma maior aceitação os ensaios contendo maior concentração de nitrito, 75% (notas de 6,94 e 6,98). A região otimizada apresenta a média de 6,78 que está entre as notas “Gostei ligeiramente” e “Gostei moderadamente”. O valor do  $R^2$  ajustado foi de 0,955. Como o objetivo do trabalho era substituir o Nitrito de sódio optou-se por otimizar e submeter a avaliação de vida de prateleira o ensaio 3 (50% de Nitrito de sódio e 50% de Extrato de Aipo), que apresentou média de aceitação para cor acima de 6,0 que corresponde a nota “Gostei Ligeiramente”. Também optou-se por submeter a avaliação da vida de prateleira o ensaio 2, que continha 100% de extrato de aipo, mesmo a avaliação sensorial da cor ter apresentado a média mais baixa de aceitação pelos julgadores, 5,76.

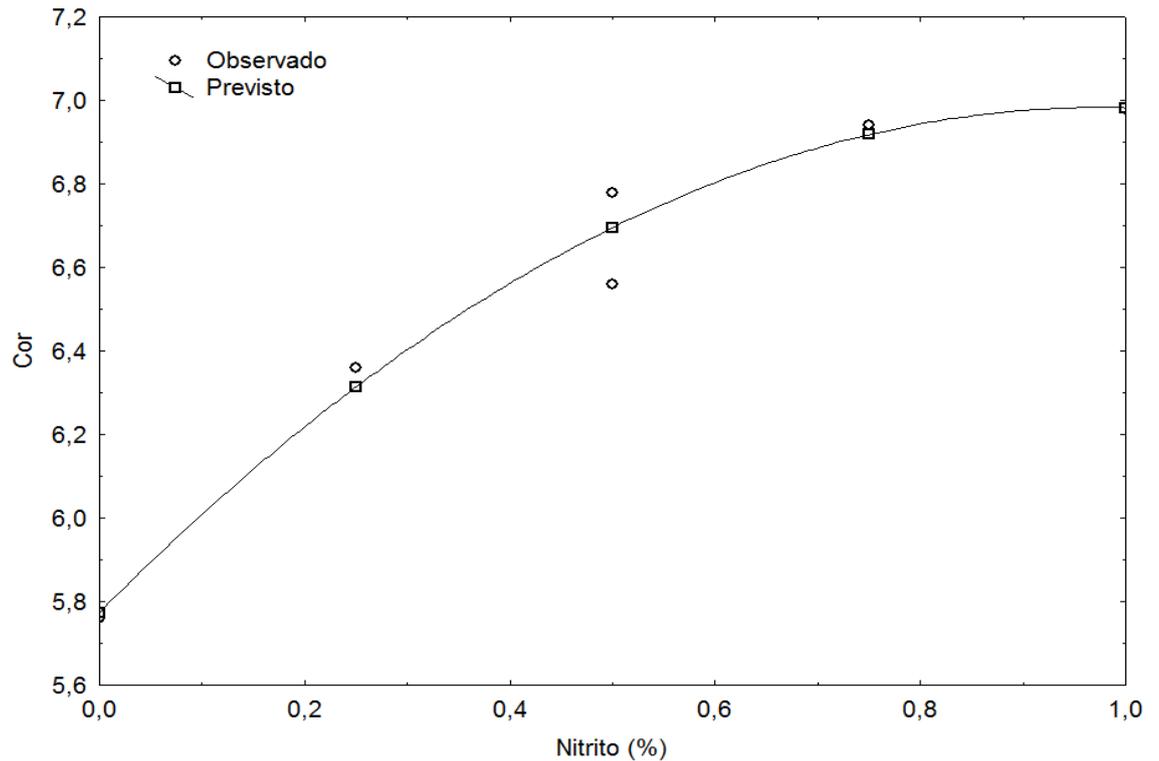


Figura 6 – Diagrama para a avaliação sensorial da Cor em função da variável Nitrito de Sódio

Tabela 4- Análise de Variância (ANOVA) do delineamento de mistura de dois fatores (Nitrito de Sódio e Extrato de Aipo)

	<b>SQ</b>	<b>GL</b>	<b>QM</b>	<b>F</b>	<b>P</b>
<b>Modelo</b>	1,020850	2	0,510425	54,14105	0,004426
<b>Resíduo</b>	0,028283	3	0,009428		
<b>Falta de ajuste</b>	0,004083	2	0,002042	0,08436	0,925006
<b>Erro Puro</b>	0,024200	1	0,024200		
<b>Total</b>	1,049133	5	0,209827		

$R^2_{\text{ajustado}} = 0,955$

## 5.2 Avaliação da vida de prateleira dos ensaios 2 e 3

### 5.2.1 Testes Físico – químicos: pH, cor objetiva e oxidação lipídica

Na Tabela 5 estão apresentados os resultados das análises físico-químicas dos valores médios pH realizadas nos Ensaios 2 e 3 nos intervalos de tempo de 1 e 11 dia armazenamento.

Tabela 5 – Valores médios de pH dos Ensaios 2 e 3 avaliados nos intervalos de tempo de 1 e 11 dias de armazenamento

Ensaio	pH	
	1 dia	11 dias
2	6,06±0,02 <sup>a</sup>	5,36±0,01 <sup>a</sup>
3	6,02±0,01 <sup>b</sup>	5,35±0,01 <sup>a</sup>

Médias seguidas de letras iguais na mesma coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ )

Observou-se que os valores de pH das linguiça no tempo 1 dia, apresentaram diferença significativa ( $p \leq 0,05$ ) em relação uma a outra. Essa diferença é explicada pelo fato de no tratamento (2) ter adicionado na formulação apenas extrato vegetal que é rico naturalmente em nitrato. Visto que no processo de cura o nitrato ( $\text{NO}_3^-$ ) deve ser inicialmente reduzido a nitrito ( $\text{NO}_2^-$ ) pela ação das próprias bactérias presentes na carne (*Achromobacter*, *Micrococcus*, *Lactobacillus* ou *Staphylococcus*), em meio ácido, para participar dos processos de cura da carne. Então no tempo 1 dia, essa redução inicial de nitrato a nitrito ainda não havia ocorrido, explicando o motivo pelo qual o pH do (2) estar mais elevado comparado ao pH do (3), o qual teve adição direta de nitrito na sua formulação.

O pH dos produtos cárneos tem uma grande importância, pois influencia em muitos aspectos do produto. Almeida (2005), relata que o pH influencia na microbiota do produto, ajuda a classificar seu estado de conservação e é um importante fator para determinação da cor. Milani (2003) sugere que quanto mais elevado o pH, maior é a probabilidade de desenvolver microrganismos.

Observou-se que durante o tempo de armazenamento avaliado, o pH apresentou redução, diagnosticando então, que no tempo 11 dias após fabricação,

os tratamentos não apresentaram diferença significativa ( $p \leq 0,05$ ) em relação um ao outro. Este é um ponto muito positivo, visto que mesmo adicionando apenas extrato vegetal, o qual é rico em nitrato, significa que ocorreu redução do pH, fazendo com que o produto ficasse com menor probabilidade de desenvolvimento de microrganismos e conseqüentemente maior estado de conservação.

Almeida (2005) estabelece que os valores considerados como normais de pH para produtos cárneos, oscilam entre 5,2 e 6,8, sendo assim, os valores de pH das linguiças elaboradas, encontraram-se dentro da normalidade.

Na Tabela 6 estão apresentados os resultados das análises físico-químicas dos valores médios da cor objetiva ( $L^*$ ,  $a^*$  e  $b^*$ ) realizadas nos Ensaio 2 e 3 nos intervalos de tempo de 1 e 11 dias de armazenamento.

Tabela 6 – Valores médios de cor objetiva dos Ensaio 2 e 3 avaliados nos intervalos de tempo de 1 e 11 dias de armazenamento

Ensaio	Cor					
	1 dia			11 dias		
	$L^*$	$a^*$	$b^*$	$L^*$	$a^*$	$b^*$
2	45,48±3,41 <sup>b</sup>	10,37±0,71 <sup>a</sup>	20,03±0,92 <sup>a</sup>	52,55±0,31 <sup>a</sup>	9,60±0,52 <sup>b</sup>	15,70±0,58 <sup>a</sup>
3	55,20±3,41 <sup>a</sup>	9,70±2,22 <sup>a</sup>	19,28±1,18 <sup>a</sup>	53,89±1,26 <sup>a</sup>	12,19±1,38 <sup>a</sup>	16,68±0,98 <sup>a</sup>

Médias seguidas de letras iguais na mesma coluna diferem entre si pelo teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ )

Durante o armazenamento, observou-se que o ensaio 2 apresentou aumento no valor médio de  $L^*$ , apresentando valores de 45,48 no tempo 1 e 52,55 no tempo 11, indicando que não ocorreu escurecimento na amostra, ou seja, a amostra apresentou-se mais clara ao longo do período de acondicionamento. Entretanto os valores de  $a^*$  e  $b^*$  evidenciaram decréscimo nos seus valores, indicado direção ao verde e azul, respectivamente, e assim, explicando o fato do Ensaio 2 ter apresentado uma coloração mais esverdeada, característico da quantidade de extrato vegetal utilizado na sua formulação.

O Ensaio 3 evidenciou um decréscimo no valor de  $L^*$ , apresentando valor de 55,20 no tempo 1 dia e 53,89 no tempo 11 dias, indicando escurecimento da amostra. O valor de  $b^*$  também apresentou redução, verificando no final de 11 dias de armazenamento valor igual a 16,68, indicando direção a cor azul. Já o valor de  $a^*$ , houve aumento no final de 11 dias, o que indica direção ao vermelho,

evidenciando o fato do Ensaio 3 ter apresentado uma coloração mais avermelhada e mais escura, devido a adição do Nitrito de sódio (Sal de cura).

Quando comparado os valores de uma amostra com a outra, verificou-se que no tempo 1 dia apenas o valor de  $L^*$  influenciou de forma significativa ( $p < 0,05$ ), e no tempo 11 dias verificou-se diferença significativa ( $p < 0,05$ ) apenas no valor de  $a^*$ .

Os resultados da cor objetiva corroboraram com o estudo realizado por Figueiró (2013), onde foi verificada a influência da redução do teor de nitrito de sódio na estabilidade oxidativa e avaliação microbiológica de linguiça suína fresca, observou aumento do valor médio de  $L^*$  com o tempo de armazenamento, apresentando valores de 57,77 no tempo 1 dia e 59,20 no tempo 15 dias, indicando que as amostras de linguiça fresca toscana tenderam a se apresentar mais claras ao longo do período de acondicionamento.

Já um experimento realizado por Chiavaro et al (2008) na avaliação da eficácia de diferentes formas de armazenamento nas propriedades da linguiça fresca toscana, observaram redução do valor de  $L^*$  de 62,80 para 52,90, no final dos 15 dias de armazenamento.

Quando comparado estes estudos com o experimento realizado no presente trabalho observou-se que a redução parcial e total de nitrito de sódio na formulação das linguiças, fizeram com que houvesse aumento de luminosidade ao longo do período de armazenamento, apresentando as amostras mais claras, pois mesmo o Ensaio 3 ter apresentado aumento no valor de  $L^*$ , indicando direção ao escurecimento da amostra, ainda assim esse valor não é considerado um valor elevado, quando comparado com os experimentos realizados pelos autores citados.

Na Tabela 7 estão apresentados os resultados das análises físico-químicas dos valores médios de TBARS (mg MDA/Kg amostra) realizadas nos Ensaios 2 e 3 nos intervalos de tempo de 1 e 11 dias de armazenamento.

Tabela 7 – Valores médios de TBARS (mg MDA/Kg amostra) dos Ensaios 2 e 3 avaliados nos intervalos de tempo de 1 e 11 dias de armazenamento

Ensaio	1 dia	11 dias
2	0,44±0,236 <sup>a</sup>	0,49±0,072 <sup>a</sup>
3	0,49±0,114 <sup>a</sup>	0,69±0,176 <sup>a</sup>

Médias seguidas de letras iguais na mesma coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ )

Pelo fato da oxidação lipídica ser uma das principais perdas de qualidade dos produtos cárneos, este parâmetro é fundamental para prolongar a vida de prateleira dos produtos. Segundo Luzia *et al.*, (2003) um dos métodos mais utilizados em produtos cárneos para se avaliar a extensão da estabilidade lipídica é o teste de TBARS (substância reativas ao ácido 2-tiobarbitúrico). Esse teste quantifica o malonaldeído (MDA), um dos principais produtos de decomposição dos hidroperóxidos de ácidos graxos poli-insaturados, formado durante o processo oxidativo.

Quando analisado a quantidade de malonaldeído das amostras, observou-se o aumento nos valores dos dois ensaios durante o período de armazenamento, porém não apresentaram diferença estatística.

O ensaio 2 apresentou menor valor de melonaldeído (0,446 – 0,493 mg MAD/Kg) no início e final de armazenamento, enquanto o ensaio 3 apresentou um valor maior (0,493 – 0,695 mg MAD/Kg), indicando que ocorreu oxidação lipídica nos ensaios durante o tempo de armazenamento, porém apenas o valor do ensaio 3 (0,695 mg MAD/Kg) no tempo de 11 dias de armazenamento poderia ter apresentado um possível odor de ranço, pois Trindade *et al.*, (2008) relatam que provadores treinados e não treinados conseguem detectar odores de ranço com TBARS na faixa de 0,5 – 1,0 e 0,6 – 2,0 mg MA /Kg amostra, respectivamente.

Então, pode-se afirmar que o extrato de aipo foi eficiente no controle de oxidação lipídica, apresentando o ensaio que continha apenas extrato vegetal com valores menores de malonaldeído.

### 5.2.2 Análises microbiológicas

Os resultados das análises microbiológicas estão apresentados na Tabela 8. Os padrões microbiológicos propostos pela RDC nº12 (BRASIL, 2001), para embutidos frescos, são:

- Estafilococos coagulase positiva:  $5 \times 10^3$  UFC/g;
- Clostrídios sulfito redutores a 46°C:  $3 \times 10^3$  UFC/g;
- *Salmonella*: Ausente;
- Coliformes a 45°C:  $5 \times 10^3$  NMP/g.

Foi observado que todas as amostras se encontram dentro dos padrões exigidos para todos os microrganismos envolvidos (Coliformes a 45°C, Clostrídios sulfito redutores a 46° C, *Staphylococcus coagulase positiva* e *Salmonella* sp.) pela RDC nº12 (BRASIL, 2001), não representando riscos principalmente para os provadores envolvidos nas análises sensoriais.

Os parâmetros microbiológicos são fundamentais para inocuidade de qualquer produto e as linguiças frescas tem uma alta probabilidade de contaminação por microrganismos patogênicos, pois são produtos que possuem alta atividade de água; a matéria prima é moída o que aumenta a superfície de contato; existe intensa manipulação durante a fabricação e não existe tratamento térmico após o processamento (CAPELETTO et al., 2011).

No entanto, considera-se, que o Ensaio 2, o qual utilizou apenas extrato vegetal, ficou com valores um pouco maiores do que o Ensaio 3, o qual além do extrato vegetal também utilizou sal de cura na sua formulação. Porém mesmo com valores um pouco acima, o Ensaio 2 mostra que seus valores estão de acordo com o que a legislação estabelece, garantindo então a inocuidade do produto, constatando que a não adição direta de nitrato e/ou nitrito de sódio é viável na fabricação de linguiça frescal tipo toscana.

O fato do Ensaio 3 ter apresentado menor contagem de Coliformes 45°, *Staphylococcus coagulase positiva* e Clostrídio por ter sido devido ao seu pH. Pois, o pH inicial apresentou um valor menor (6,02) comparado com o ensaio 2 (6,06) e, segundo a *International Commission on Microbiological Specifications for Foods* (1985), o efeito bacteriostático do nitrito aumenta dez vezes quando ocorre baixa de uma unidade de pH. Então este pode ter sido um fator determinante na baixa contaminação microbiana no produto.

Tabela 8 - Coliformes a 45°C, *S. coagulase positiva*, *Salmonella* sp. Clostrídios sulfito redutores de linguiças tratadas com extrato de aipo e sal de cura:

Ensaio	Coliformes 45°	Salmonella spp	S. aureus	Clostrídio
2	4,9X10 <sup>3</sup> NMP	Ausência	5,5X10 <sup>2</sup> UFC	4,5X10 <sup>1</sup> UFC
3	4,5X10 <sup>3</sup> NMP	Ausência	2,3X10 <sup>2</sup> UFC	1,5X10 <sup>1</sup> UFC

### 5.2.3 Análise sensorial

As médias das notas da análise sensorial, sendo a análise sensorial realizada no 7º dia após fabricação da linguiça, para os atributos avaliação global, sabor e cor estão expressos na Tabela 9.

Tabela 9 – Média das notas da análise sensorial para os atributos avaliação global, sabor e cor.

Ensaio	Aceitação Global	Sabor	Cor
2	7,13±1,15 <sup>b</sup>	7,31±1,30 <sup>b</sup>	5,77±2,15 <sup>b</sup>
3	7,70±1,42 <sup>a</sup>	7,72±1,46 <sup>a</sup>	7,36±1,43 <sup>a</sup>

Médias seguidas de letras iguais na mesma coluna diferem entre si pelo teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ )

Em todos os atributos verificou-se, estatisticamente, diferença significativa entre as amostras ( $p \leq 0,05$ ) pelo teste de Tukey.

Com relação à Aceitação Global, a maior média observada, o ensaio 3 (7,70), situou-se entre “Gostei moderadamente” e “Gostei muito”, e a menor média observada, o ensaio 2 (7,13), situou-se entre “Gostei moderadamente” e “Gostei ligeiramente”. As médias obtidas para a Aceitação global das linguiças foram similares aos valores encontrados por Bernardi e Roman (2011), que encontraram valores médios entre 6,3 e 7,9 em amostras de linguiças toscanas com baixo teor de sódio. Quanto ao sabor das linguiças, foi observado que as médias variaram entre (7,72), ensaio 3, que corresponde à nota “Gostei moderadamente” e (7,31), ensaio 2, mais próximo da nota “Gostei ligeiramente”. Quanto a cor das linguiças, foi observado que as médias variaram entre (5,77), ensaio 2, que corresponde à nota “não gostei e nem desgostei” e (7,36), ensaio 3, próximo da nota “Gostei moderadamente”.

Os provadores relataram que no ensaio 2 era percebido um sabor mais acentuado, como um forte sabor de condimento que lembrava pimenta e também um sabor mais acentuado de salgado. Este sabor mais acentuado está relacionado com o extrato vegetal, visto que por ser um vegetal da família, *Apium graveolens*, sendo considerada uma planta aromática, acaba deixando este sabor mais intenso ao produto (JORGE; VAZ, 2007). Em um estudo realizado por Bacus et al. (2010) relatam que a adição de 0,4% de ingredientes a base de extrato de aipo, talvez seja

o limite máximo em linguiças sem que seja percebido o desenvolvimento do sabor e aroma característicos.

O atributo de cor foi o que apresentou menor nota para o Ensaio 2 (5,77), e houve diferença estatística entre os tratamentos pelo teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ). De acordo com os relatos descritos pelos provadores o Ensaio 2 apresentou uma cor não tão característica de linguiça frescal. Quando comparado o atributo de cor da análise sensorial com o parâmetro  $a^*$  da análise de colorimetria, observou-se que as amostras também diferenciaram estatisticamente, evidenciando um valor menor para o parâmetro  $a^*$  (9,60) no Ensaio 2, indicando direção ao verde, correlacionando então esta cor esverdeada da qual os provadores citaram na análise sensorial.

Mesmo todos os atributos terem apresentado diferença estatisticamente, observou-se que exceto a média do parâmetro cor do ensaio 2, o parâmetro de avaliação global e sabor apresentou médias acima de 7,0 que corresponde a nota “Gostei moderadamente” para ambas amostras.

## 6 CONCLUSÃO

Dos resultados obtidos conclui-se que:

- Todos os ensaios ficaram dentro dos parâmetros microbiológicos e físico-químicos exigidos pela Legislação;
- A não adição de nitrito/nitrato de sódio nas linguiças não alterou a queda de pH e a segurança microbiológica foi garantida;
- Em relação à análise sensorial todos os tratamentos foram considerados aceitos pelos consumidores. O atributo sensorial mais prejudicado pela substituição de nitrato/nitrito foi a cor, porém uma alternativa que pode ser testada para melhoria é a adição de alguns ingredientes naturais, como páprica doce ou urucum.
- Em relação a cor objetiva, a cura natural com extrato de aipo é eficaz no parâmetro de luminosidade, pois afeta positivamente na claridade da amostra, porém não é tão eficiente na formação da cor típica de linguiça, pois o parâmetro  $a^*$  apresentou-se baixo, indicando coloração esverdeada na amostra, mas como citado a cima, este defeito pode ser corrigido com a adição de ingredientes naturais.
- A atividade antioxidante do extrato de aipo mostrou-se eficiente, visto que o ensaio contendo apenas extrato de aipo apresentou valores menores de malonaldeído, mostrando eficiência no controle de oxidação lipídica durante o armazenamento.
- A adição de extrato de aipo é eficaz na conservação de linguiça frescal (toscana), mesmo tendo apresentado o parâmetro de cor prejudicado, este pode ser melhorado com a ajuda de outros ingredientes naturais.

## 7 REFERÊNCIAS

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

ALMEIDA, C de O. **Avaliação físico-química e microbiológica de lingüiça toscana porcionada e armazenada em diferentes embalagens, sob condições de estocagem similares às praticas em supermercado**. 2005. 150 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) – Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2005.

ANDRADE, R. **Desenvolvimento de métodos analíticos para determinação de nitrato e nitrito e N-nitrosaminas em produtos cárneos**. 2004. 201f. Tese (Doutorado em Ciências). Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2004.

ARAÚJO, J. M. A. **Química de alimentos: teoria e prática**. 2 ed. Viçosa: UFV, 1999.

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

BACUS, J. N.; SINDELAR J. J.; SEBRANEK, J. G. Uncured, Natural, and Organic Processed Meat Products (Natural Curing). **Technical ingredient solutions**, LLC, 2010.

BARUFFALDI, R.; OLIVEIRA, M. N. **Fundamentos de tecnologia de alimentos**. São Paulo: Atheneu, p. 317. 1998.

BARTSCH, H.; MONTESANO, R. Relevance of nitrosamines to human cancer. **Carcinogenesis**, v.5, p.1381-1393, 1984.

BARROS NETO, B.; SCARMINIO, I. S.; BRUNS, R. E. Como fazer experimentos: pesquisa e desenvolvimento na ciência e na indústria. 4. ed., Campinas: Unicamp, 2010.

BRASIL. **Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Linguiça.** Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. INSTRUÇÃO NORMATIVA Nº 4, 31 de Março de 2000.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional da Vigilância Sanitária – ANVISA. Resolução de Diretoria Colegiada (RDC) nº 12/2001. Aprova o Regulamento Técnico sobre os padrões microbiológicos para alimentos. Diário Oficial da União. Brasília, 10/01/2001.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, Secretaria de Defesa Agropecuária. Métodos analíticos oficiais para análises microbiológicas para controle de produtos de origem animal e água. Instrução Normativa nº 62, de 26/08/2003. Diário Oficial da União, Brasília, 18 set. 2003.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 51/2006. Regulamento técnico de atribuição de aditivos e seus limites das seguintes categorias de alimentos: grupo 8 – carnes e produtos cárneos. Diário Oficial da União (seção 1), Brasília, 04/01/2007.

BERNARDI, D. M; ROMAN, J. A. **Linguixa toscana com redução do teor de sódio: caracterização nutricional, físico-química e microbiológica.** 2007. 31 f. TCC (Trabalho de Conclusão de Curso) Nutrição – Faculdade Assis Gurgacz,, 2007. Disponível em: <<http://www.fag.edu.br/graduacao/nutricao/resumos2007/Daniela%20Miotto.pdf>>. Acesso em: 13 fev. 2014.

BIASI, V. **Produção de salame tipo Italiano através de cura natural com extrato de aipo e acelga.** 2010. 141 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia dos Alimentos) – Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia dos Alimentos, Universidade Federal de Santa Maria, 2010. Disponível em:

<[http://cascavel.cpd.ufsm.br/tede/tede\\_busca/arquivo.php?codArquivo=3621](http://cascavel.cpd.ufsm.br/tede/tede_busca/arquivo.php?codArquivo=3621)> Acesso em: 15 jul. 2013.

BUSSATA, C. **Caracterização química e atividade antimicrobiana in vitro em alimentos dos extratos de orégano e manjerona**. 2006. 120 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos). Universidade Regional Integrado do Alto Uruguai e das Missões, Erechim, 2006. Disponível em: <[http://uricer.edu.br/eal\\_hp/DissertPDF/Turma2004/DissertCassianoBusata2006.pdf](http://uricer.edu.br/eal_hp/DissertPDF/Turma2004/DissertCassianoBusata2006.pdf)> Acesso em: 16 fev. 2014.

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

CAPELETTO, E.; DAMO, J. C.; BINKO, K. T. C. **Desenvolvimento de linguiça toscana com queijo**. 2011. 56 f. Trabalho de Diplomação (Graduação em Tecnologia Em Alimentos) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Medianeira, 2011.

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

CHIAVARO, E.; ZANARDI, E.; BOTTARI, B.; ANIERI, A. Efficacy of different storage practices in maintaining the physicochemical and microbiological properties of fresh pork sausage. **Journal of Muscle Foods**, v. 19, p. 157–174, 2008.

CORREIA, M. Contribution of different vegetable types to exogenous nitrate and nitrite exposure. **Food Chemistry**, v. 120, p. 960-966, 2010.

CORTAS, N. K.; WAKID, N. W. Pharmacokinetics aspects of inorganic nitrate ingestion in man. **Pharmacology and Toxicology**, v. 68, p. 192- 193, 1991.

COULTATE, T. P. **Alimentos – A química dos seus componentes**. 3ª ed. Porto Alegre: Artmed, p. 368, 2004.

DUTRA, C. B.; RATH, S.; REYES, F. G. Nitrosaminas voláteis em alimentos. **AlimentosNutrição**, v. 18, n. 1, p. 111-120, jan./mar. 2007.

DUNCAN , C. ; DOUGALL, H.; JOHNSTON, P.; GREEN,S.; BROGAN,R.; LEIFERT, C.; SMITH,L.M.; GOLDEN, M.; BENJAMIN, N. Chemical generation of nitric oxide in the mouth from the enterosalivary circulation of dietary nitrate. **Nature Medicine**, n. 1, p. 546-551, 1995.

EXTRATO VEGETAL. Food Ingredientes Brasil. **Revista-fi**, nº11, 2010.

FIGUEIRÓ, L. S. **Influência da redução do teor de nitrito de sódio na estabilidade oxidativa e avaliação microbiológica de linguiça suína frescal**. 2013. 69 f. Dissertação (Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos do Centro de Ciências Agrárias) - Universidade Federal do Espírito Santo, Alegre, 2013.

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

GILCHRIST, M.; WINYARD, P. G.; BENJAMIN, N. Dietary nitrate – good or bad?**Nitric Oxide**, v. 22, p. 104-109, 2010.

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

HUI, Y.H. Meat Curing Technolog.in: **Meat Science and Applications**. New York: Marcel Dekker, 2001.

HUNT, M. C. Guidelines for Meat Color Evaluation. In: 44TH ANNUAL RECIPROCAL MEAT CONFERENCE, (pp.3-17), 9-12 July 1991. **Proceedings Manhattan**, KS: Kansas State University, 1991.

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

JAY, J. M. **Microbiologia de alimentos**. 6.ed. Tradução: Eduardo César Tondo. Porto Alegre: Artmed, p. 712, 2005.

JORGE, M. H. A; VAZ, A. P. A. **Série Plantas Mediciniais, Condimentos e Aromáticos**. Emprapa: Corumbá/MS, 2007.

KAHKONEN, M. P.; HOPIA, A. I.; VUORELA, H. J.; RAUHA, J. P.; PIHLAJA, K.; KUJALA, T. S.; HEINONEM, M. Antioxidant activity of plant extracts containing phenolic compounds. **J. Agric. Food Chem**, v. 47, p. 3954-3962, 1999.

KARPINSKA, M.; BOROWSKI, J.; DANOWSKA-OZIEWICZ, M. The use of natural antioxidants in ready-to-serve food. **Food Chemistry**, Washington, v. 72, n. 1, p. 5-9, 2001.

LAWRIE, R. A. **Ciência da Carne**, 6ª ed. Tradução de Jane Maria Rubensam. Porto Alegre :Artmed, p. 384, 2005.

LODOVICI, M.; GUGLIELMI, F.; CASALINI, C.; MEONI, C. Antioxidant and radical scavenging properties in vitro of polyphenolic extracts from red wine. **European Journal of Nutrition**, v. 40, p. 74-77, 2001.

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

LUZ, G. L. A questão do nitrato em alface hidropônica e a saúde humana. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 38, n. 8, p. 2388-2394, 2008.

LUZIA, L. A.; SAMPAIO, G. R.; CASTELLUCCI, C. M. N.; TORRES, E.A.F.S. The influence of season on the lipid profiles of five commercially important species of Brazilian fish. **Food Chemistry**, v. 83, n. 1, p. 93-97, 2003.

MAGEE, P. N.; BARNES, J. M. The production of malignant primary hepatic tumors in the rat by feeding dimethylnitrosamine. **Br. J. Cancer**, London, v.10, p.114, 1956.

MAIA, E. L. **Composição, conservação e utilização do curimatá, Prochilodus scrofa, Steindachner, 1881**. Tese de Mestrado em Tecnologia de alimentos, Campinas: FEA – UNICAMP, 129 p. 1980.

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**, v. 73, p. 660-673, 2006.

MARTINS, D. I.; MIDIO, A. F. **Toxicologia dos alimentos**. 2 Ed. São Paulo: Varela, 2000.

MARTINS, E. R. **Plantas medicinais**. Viçosa: UFV, p. 200, 2000.

MELO, E. A.; GUERRA, N. B. Ação antioxidante de compostos fenólicos naturalmente presentes em alimentos. **Boletim da Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 36, n. 1, p. 1-11, 2002.

MEILGAARD, M.; CIVILLE, G.V.; CARR, B.T. Sensory evaluation techniques. 3° ed., Flórida – USA: CRC Press, p. 281, 1999.

MILANI, L. I. G.; FRIES, L. L. M.; PAZ, P. B.; BELLÉ, M.; TERRA, N. N. Bioproteção de linguiça de frango. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 23, n. 2, p. 161-166, 2003.

MILLER, B. J.; BILLDEAU, S. M.; MILLER, D. W. Formation of N-nitrosamines in microwaved versus skillet-fried bacon containing nitrite. **Food Chem. Toxicol.**, Oxford, v. 27, p.295-299, 1989.

MIRVISH, S. S. The diet cancer story. Oxford. **Health News**, v. 12, n. 2, p. 6, 1994.

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

OLIVEIRA, M. J.; ARAÚJO, W. M. C.; BORGIO, L. A. Quantificação de Nitrato e Nitrito em Linguiças do Tipo Frescal. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v. 25, n. 4, p. 736-742, 2005.

OLIVO, R.; SOARES, A.L.; IDA, E.I.; SHIMOKOMAKI, M. Dietary vitamin E inhibits poultry PSE and improves meat functional properties. **Journal of Food Biochemistry**, v.25, n. 4, 271-283, 2001.

OLIVO, R. Alterações oxidativas em produtos cárneos. In: SHIMOKOMAKI, M. et al. **Atualidades em Ciência e Tecnologia dos Alimentos**. São Paulo: Livraria Varela, p. 155-163, 2006.

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

OSAWA, C. C. Teste de TBA aplicado a Carnes e Derivados: Métodos Tradicionais, Modificados e Alternativos. **Química Nova**, v. 28, n.4, p. 655-663, 2005.

PALMER, S. Diet, nutrition, and cancer. **Program Food Nutrition Science**, v. 9, n. 3-4, p. 283-341, 1985.

PARDI, M. C. **Ciência, Higiene e Tecnologia da Carne**. Goiânia: Editora da UFG, v.2, 1996.

PEGG, R. B.; SHAHIDI, F. **Nitrite curing of meat: the N-nitrosamine problem and nitrite alternatives**. Trumbul: Food and nutrition press, p. 281, 2004.

PEGG, R. B.; SHAHIDI, F. **Processing of Nitrite-Free Cured Meats**. In: NOLLET, L. M. L.; TOLDRÁ, F. **Advanced technologies for meat processing**. Florida: CRC, p. 483, 2006.

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

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

RAMOS, E. M.; GOMIDE, L. A. de M. **Avaliação da qualidade de carnes: 9 fundamentos e metodologias**. Viçosa: Ed. da UFV, p. 599, 2007.

ROMANS, J.; COSTELLO, W.; CARLSON, C.; GREASER, M. **The meat we eat**. 13 ed. Danville: InterstatePrintersandPublishersInc, p. 780, 1994.

ROSSI, P.; MIRANDA, J. H.; DUARTE, S.N. **Curvas de distribuição de efluentes do íon nitrato em amostras de solo deformadas e indeformadas**. 2007. Artigo (graduação) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz" ESALQ/USP, Piracicaba. 2007.

SANCHES, P. J. F. et al. Pré-concentração de nitrosaminas a partir de amostras aquosas por extração em fase sólida e cromatografia capilar eletrocínéticamicelar. **Química Nova**, v. 26, n. 2, p. 193-196, 2003.

SARCINELLI, F. M; VENTURINI, S. K; SILVA, C. L. **Processamento da carne suína**, 2007. Disponível em: <<http://www.agais.com/telomc/b01907processamento-suinos.pdf>>. Acesso em 06 de agosto de 2013.

SEBRANEK, J. G.; FOX, J. B. A review of nitrite and chloride chemistry: interactions and implications for cured meats. **Journal of the Science of Food and Agriculture**. v. 36, p. 1169-1182, 1985.

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

SEBRANEK, J. G.; BACUS, J. Natural and organic cured meat products: regulatory, manufacturing, marketing, quality and safety issues. **American Meat Science Association**, n. 1, 2007(b).

SINDELAR, J. J. Investigating quality attributes and consumer acceptance of uncured, no-nitrate/nitrite-added commercial hams, bacons, and frankfurters. **Journal of Food Science**, v. 72, p. 551-559, 2007.

SHUKER, D. E. G. The chemistry of N-nitrosation. In: HILL, M.J. **Nitrosamines: toxicology and microbiology**. Chichester: Ellis Horwood, p. 69. 1988.

STATSOFT. **STATISTICA for Windows**: computer program manual. Versão 7.1. Tulsa: Software Inc., 2006.

TAKAHASHI, G. Ingredientes e suas funções na fabricação de produtos cárneos. **Revista Nacional da Carne**. n. 199, ano XVII, p. 14-18. São Paulo, 1993.

TARLADGIS, B. G.; WATTS, B. M.; YOUNATHAN, M. T. A distillation method for the quantitative determination of malonaldehyde in rancid foods. **Journal of American Oil Chemist' s Society**, v. 37, p. 44-48, 1960.

TERRA, N. N. **Apontamentos de Tecnologia de Carnes**. São Leopoldo: Editora UNISINOS, p. 216, 1998.

TERRA, N. N. **Apontamentos de Tecnologia de Carnes**. Editora Unisinos, São Leopoldo-RS, 2003.

TERRA, A. B.; FRIES, L. L. M.; TERRA, N. N. **Particularidades na fabricação de salame**. São Paulo: Livraria Varela, 2004.

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

VIEIRA, P. Pesquisa e desenvolvimento driblam os defeitos mais comuns em embutidos, Rev. **Nacional da Carne**, São Paulo, n. 273, ano 35, p. 80-84, 1999.

YURCHENKO, S.; MÖLDER, U. The occurrence of volatile N-nitrosamines in Estonian meat products. **Food Chemistry**, v. 100, p. 1713-1721, 2007.

WALKER, R. Nitrate, nitrites and N-nitrosocompounds: a review of the occurrence in food and diet and the toxicological implication. **Food Additive Contaminants**, v. 7, n. 6, p. 717-768 Nov.- Dec. 1990.

