

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ

GISELY DE MATTOS

**SUSCEPTIBILIDADE MICROBIANA *in vitro* AO EXTRATO ACÉTICO
DE AIPO EM PÓ E O IMPACTO SENSORIAL QUANDO
APLICADO EM LINGUIÇA FRESCAL DE FRANGO**

CAMPO MOURÃO

2022

GISELY DE MATTOS

**SUSCEPTIBILIDADE MICROBIANA *in vitro* AO EXTRATO ACÉTICO DE AIPO
EM PÓ E O IMPACTO SENSORIAL QUANDO APLICADO EM
LINGUIÇA FRESCAL DE FRANGO**

***In vitro* microbial susceptibility to acetic extract of celery powder and
sensory effect in fresh chicken sausage**

Dissertação apresentada como requisito para
obtenção do título de Mestre em Inovações
Tecnológicas da Universidade Tecnológica Federal do
Paraná (UTFPR).

Orientador: Prof.^a Dr.^a Flávia Aparecida Reitz Cardoso.
Coorientador: Prof. Dr. André Fioravante Guerra.

CAMPO MOURÃO

2022



4.0 Internacional

Esta licença permite remixe, adaptação e criação a partir do trabalho, para fins não comerciais, desde que sejam atribuídos créditos ao(s) autor(es) e que licenciem as novas criações sob termos idênticos.

Conteúdos elaborados por terceiros, citados e referenciados nesta obra não são cobertos pela licença.



**Ministério da Educação
Universidade Tecnológica Federal do Paraná
Campus Campo Mourão**



GISELY DE MATTOS

SUSCEPTIBILIDADE MICROBIANA IN VITRO AO EXTRATO ACÉTICO DE AIPO EM PÓ E O IMPACTO SENSORIAL QUANDO APLICADO EM LINGUIÇA FRESCAL DE FRANGO

Trabalho de pesquisa de mestrado apresentado como requisito para obtenção do título de Mestre em Inovações Tecnológicas da Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR). Área de concentração: Inovações Tecnológicas.

Data de aprovação: 19 de Dezembro de 2022

Dra. Flavia Aparecida Reitz Cardoso, Doutorado - Universidade Tecnológica Federal do Paraná

Dra. Ana Paula Peron, Doutorado - Universidade Tecnológica Federal do Paraná

Dr. Andre Fioravante Guerra, Doutorado - Centro Federal de Educação Tecnológica Celso Suckow da Fonseca (Cefet/Rj)

Dr. Breno Pereira De Paula, Doutorado - Centro Federal de Educação Tecnológica Celso Suckow da Fonseca (Cefet/Rj)

Documento gerado pelo Sistema Acadêmico da UTFPR a partir dos dados da Ata de Defesa em 10/01/2023.

*Dedico este trabalho a minha família,
pelos momentos de ausência e a todos os
que me ajudaram ao longo desta
caminhada.*

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiro a Deus pela minha vida, por me ajudar a passar por todos os obstáculos, me dando saúde e força para chegar até o final.

Agradeço ao meu esposo, Igor, pelo incentivo, força, carinho e paciência durante este processo.

Agradeço a minha família, pela força, confiança, apoio e incentivo em mim depositados para a conclusão de mais uma etapa e por estarem sempre presentes.

Agradeço a minha orientadora, professora Flávia e ao meu coorientador professor André pela confiança, pela disponibilidade, pela paciência, pelos incentivos, pelos questionamentos e orientações. A contribuição de vocês foi essencial para a execução e finalização deste trabalho. Muito obrigada!

Agradeço aos que tornaram possível a realização das análises laboratoriais deste trabalho: Adriele, Juliana, Karoline, Lucas, Marieli e Patrick.

Agradeço a minha amiga Cecília, por todo o companheirismo durante esses anos de mestrado e por sua amizade.

Agradeço as minhas amigas do trabalho, pelo incentivo e colaboração.

Agradeço ao Sebastião pelo fornecimento do ingrediente estudado.

Enfim, a todos os que por algum motivo contribuíram para a realização desta pesquisa.

RESUMO

Em decorrência dos aspectos negativos correlatos ao consumo de aditivos alimentares quimicamente sintetizados, os consumidores têm demonstrado forte inclinação por consumir preparações com ingredientes naturais. Isto têm impulsionado a busca por alternativas tecnológicas naturais para substituir parcial ou totalmente os conservadores quimicamente sintetizados. O objetivo deste trabalho foi avaliar *i)* a susceptibilidade microbiana *in vitro* do extrato acético de aipo em pó (EAAP) sobre microrganismos autóctone e alóctone em linguiça frescal de frango: *Salmonella* Typhimurium (ATCC 14028), *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Listeria innocua* (ATCC 33090), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853), *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) e *Clostridium perfringens* (ATCC 13124); *ii)* produzir linguiça frescal de frango em escala piloto-industrial e avaliar o impacto sensorial da adição do EAAP; *iii)* caracterizar os parâmetros físico-químicos e microbiológicos. A susceptibilidade microbiana *in vitro* foi avaliada pelo método turbidimétrico. Para isso, EAAP foi diluído em caldo infusão cérebro coração (BHI) para obter concentração de 0,5 até 5,0%, com incrementos de 0,5% de tubo para tubo. Tubo ausente de EAAP e tubo ausente de inóculo foram incluídos como controle e branco do ensaio, respectivamente. A dose potencial para atingir efeito inibitório sobre cada cepa foi expressa considerando três categorias: *i)* susceptível; *ii)* parcialmente susceptível; *iii)* resistente. No ensaio *in situ*, foram realizadas cinco formulações de linguiça frescal de frango: branco (B): sem adição de sal de cura, lactato de sódio e extrato; Controle (C): com adição de 0,15% de sal de cura e 2% de lactato de sódio; Tratamento 1 (T1): com adição de 0,15% de sal de cura e 2,5% de EAAP; Tratamento 2 (T2): com adição de 0,15% de sal de cura e 3,5% de EAAP; Tratamento 3 (T3): com adição de 4,5% de EAAP. O ensaio *in vitro* revelou que a *S. aureus* e *C. perfringens* foram resistentes até 5,0 % de EAAP. Susceptibilidade parcial foi detectada nas concentrações de 2,5 a 5,0 % de EAAP para *P. aeruginosa*, *S. Typhimurium*, *L. innocua* e *E. coli*. Nenhum dos microrganismos testados foram susceptíveis ao EAAP. Todas as linguiças apresentaram conformidade com os padrões microbiológicos e físico-químicos, estabelecidos pela legislação Brasileira, porém os valores de nitrito residual, em T1, T2 e T3, extrapolaram o limite superior prescrito. A adição de 2,5% e 3,5% do EAAP, não influenciou negativamente os atributos sensoriais da linguiça, em contrapartida, o EAAP reduziu o percentual de perda de peso por cozimento. Conclui-se que o EAAP é capaz de inibir parcialmente alguns microrganismos de comum ocorrência em linguiça frescal de frango sem interferir negativamente nos atributos sensoriais da matriz, contribuindo para a segurança microbiológica da matriz.

Palavras-chave: nitrito de sódio; antimicrobiano natural; embutido; método turbidimétrico.

ABSTRACT

Eating habits have changed over the decades in pursuit of a healthier diet. Based on the consumer's appraisal, food operators have move efforts to replace total or partially chemically synthesized preservatives with natural technology alternatives. Under this scope, this work aimed to evaluate *i) in vitro* microbial susceptibility to powder celery acetic extract (PCAE) on foodborne chicken's related microorganisms: *Salmonella* Typhimurium (ATCC 14028), *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Listeria innocua* (ATCC 33090), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853), *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) and *Clostridium perfringens* (ATCC 13124); *ii*) produce fresh chicken sausage with PCAE and evaluate the effect on its sensorial attributes; *iii*) evaluate the physical-chemical and microbiological parameters of sausages. The turbidity method was used to evaluate the microbial susceptibility to PCAE. For that, PCAE was outlined ranging concentrations from 0.5 to 3.5% in brain-heart-infusion-broth (BHI), raising up 0.5% from tube to tube. Tubes absent of PCAE and absent of inoculum were included as control and blank, respectively. Potentially dosage to achieve microbial control was expressed considering three categories: *i*) susceptible; *ii*) partially susceptible; *iii*) resistant. In an *in-situ* trial, five formulations of fresh chicken sausage were developed: blank (B): absent of curing salt, sodium lactate and PCAE; Control (C): with 0.15 % of curing salt and 2.0 % of sodium lactate; Treatment 1 (T1): with 0.15 % of curing salt and 2.5 % of PCAE; Treatment 2 (T2): with 0.15% curing salt and 3.5 % of PCAE; Treatment 3 (T3): with 4.5 % of PCAE. The *in vitro* trial revealed that *S. aureus* and *C. perfringens* showed resistance up to 5.0 % of PCAE. *P. aeruginosa*, *S. Typhimurium*, *L. innocua* and *E. coli* showed partial susceptibility at 2.5to 5.0 % of PCAE. None of the microorganisms tested were susceptible to PCAE. All produced sausages complied to the microbiological and physical-chemical standards, prescribed by Brazilian legislation; however, the nitrite concentration in T1, T2 and T3, overtook the prescribed upper limit. The addition of 2.5% and 3.5% of PCAE did not negatively influence the sensory attributes of the sausage and reduced its weight loss during cooking. Thus, PCAE can partially control the growth of foodborne chicken's related microorganisms without interfering on its sensory attributes, contributing to the microbiological safety.

Keywords: sodium nitrite; natural antimicrobial; sausages; turbidimetric method.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Destino da produção brasileira de carne de frango em 2021	14
Figura 2 - Consumo <i>per capita</i> de carne de frango (kg/hab.) no Brasil	14
Figura 3 - Reação de formação de óxido nítrico	19
Figura 4 - Aipo <i>in natura</i>	20
Figura 5 - Regressão linear (—), intervalo de confiança para a média (....), e intervalo de predição para a amostra (---) do período com crescimento microbiano de <i>Salmonella</i> Typhimurium (de 0 a 22 h de incubação a 36 °C) em diferentes concentrações de EAAP	29
Figura 6 - Regressão linear (—), intervalo de confiança para a média (....), e intervalo de predição para a amostra (---) do período com crescimento microbiano de <i>Escherichia coli</i> (de 0 a 22 h de incubação a 36 °C) em diferentes concentrações de EAAP	30
Figura 7 - Regressão linear (—), intervalo de confiança para a média (....), e intervalo de predição para a amostra (---) do período com crescimento microbiano de <i>Listeria innocua</i> (de 0 a 22 h de incubação a 36 °C) em diferentes concentrações de EAAP	31
Figura 8 - Regressão linear (—), intervalo de confiança para a média (....), e intervalo de predição para a amostra (---) do período com crescimento microbiano de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (de 0 a 22 h de incubação a 36 °C) em diferentes concentrações de EAAP	32
Figura 9 - Regressão linear (—), intervalo de confiança para a média (....), e intervalo de predição para a amostra (---) do período com crescimento microbiano de <i>Staphylococcus aureus</i> (de 0 a 22 h de incubação a 36 °C) em diferentes concentrações de EAAP	33
Figura 10 - Regressão linear (—), intervalo de confiança para a média (....), e intervalo de predição para a amostra (---) do período com crescimento microbiano de <i>Clostridium perfringens</i> (de 0 a 22 h de incubação a 36 °C) em diferentes concentrações de EAAP	34
Figura 11 - Gráfico Biplot da ACP para as variáveis umidade e pH	39
Figura 12 - Gráfico Biplot da ACP para as variáveis nitrito, nitrato e pH	40
Figura 13 - Gráfico Biplot da ACP para as variáveis nitrito e nitrato	41
Figura 14 - Número de avaliadores que identificaram diferença entre a amostra T1 (A) e T2 (B) e o padrão no teste duo trio	43
Figura 15 - Notas médias \pm desvio padrão do teste de aceitação	44
Figura 16 - Notas teste de aceitação para T1 (A) e T2 (B)	44
Figura 17 - Número de avaliadores que preferem T1 (A) e T2 (B)	44

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Formulações de linguiça frescal de frango com ou sem EAAP	24
Tabela 2 - Parâmetros de regressão linear do crescimento microbiano.....	35
Tabela 3 - Análises físico-químicas para as amostras de linguiça frescal (média ± desvio padrão).....	37
Tabela 4 - Análises microbiológicas para as amostras de linguiça frescal	42

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	10
2	OBJETIVOS	12
2.1	Geral	12
2.2	Específico	12
3	REVISÃO BIBIOGRÁFICA	13
3.1	Carne de frango	13
3.2	Embutidos de frango	15
3.3	Microbiota autóctone e alóctone de linguiça frescal de frango	15
3.4	Aditivos em alimentos	17
3.4.1	Lactato de sódio	17
3.4.2	Nitrato e nitrito	18
3.4.3	Vinagre e aipo	19
3.5	Susceptibilidade microbiana	21
4	METODOLOGIA	22
4.1	Susceptibilidade microbiana <i>in vitro</i>	22
4.2	Produção de linguiça frescal de frango	23
4.3	Parâmetros microbiológicos legais	25
4.4	Avaliação físico-química	25
4.4.1	Determinação de perda de peso por cozimento (PPC)	25
4.5	Avaliação sensorial	26
4.6	Análise estatística dos dados	26
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	28
5.1	Susceptibilidade microbiana <i>in vitro</i>	28
5.2	Análises físico-químicas	36
5.3	Análises microbiológicas	41
5.4	Análise sensorial	43
6	CONCLUSÃO	46
	REFERÊNCIAS	47

1 INTRODUÇÃO

A carne de frango está entre proteínas de origem animal mais consumidas no mundo. Vários aspectos como a disponibilidade, o preço, o anseio por produtos mais saudáveis destacam entre as principais características que beneficiam o seu consumo. Além disto, não há restrições ao consumo por nenhuma religião ou questões culturais, como ocorre com a carne suína ou bovina (GANECO, 2016).

A produção de derivados cárneos figura como uma forma de conservação e valorização das partes cárneas não nobres. Uma vez que a carne de frango tem maior potencial de deterioração comparado com a carne bovina e suína, esta prática é muito pertinente para conservar e aumentar o seu consumo (LOPES *et al.*, 2015). Dentre os produtos cárneos de frango, a linguiça 'tipo' frescal destaca-se pela aceitação frente aos consumidores (SILVA; COLOMBO; BACHINI, 2016).

Preparações frescas não são submetidas, durante o processo produtivo, ao tratamento térmico como ocorre com produtos cozidos. Por isso, não há redução da carga microbiana autóctone e alóctone pré-estabelecida e por possuir fatores intrínsecos favoráveis ao crescimento microbiano, a validade comercial (*shelf-life*) geralmente é curta. Como forma de mitigar o evento, o gerenciamento da cadeia de frio deve ser considerado ao longo da rota logística de distribuição e exposição para a venda (GODOY, 2021; SOUZA, 2014).

Agentes microbianos deteriorantes e patogênicos podem ser veiculados pela carne de frango e derivados. Uma série de fatores pode contribuir para a contaminação do produto, como: matéria prima, manipuladores, utensílios, higiene do ambiente de processamento, entre outros. Os regulamentos técnicos prescrevem o uso de aditivos, como os conservadores, para conferir segurança microbiológica ao produto. A utilização de sal de cura como nitrito e/ou nitrato de sódio e lactato de sódio são aditivos que controlam o crescimento microbiano em produtos cárneos e podem conferir outros atributos, como o desenvolvimento de cor típica em produtos curados (ADAMI, 2015; HARTMANN; SILVA, 2011).

Ou seja, a utilização de nitrito de sódio em embutidos cárneos é o método mais eficaz para controlar o grupo clostrídio, incluindo *C. botulinum* e *C. perfringens*. No entanto, de frente a atual rejeição ao consumo de aditivos quimicamente sintetizados, os consumidores têm evitado o consumo de alimentos com adição direta de

nitrito/nitrato. No entanto, um eminente risco urge em decorrência da presença de clostrídios toxigênicos. Diante desta prerrogativa, estudos estão sendo realizados para desenvolver alternativas naturais com efeito pareado ao nitrito e ao lactato de sódio (LEE *et al.*, 2019; PIRES, 2020)

Nos últimos anos, houve um aumento no desenvolvimento de produtos cárneos com ingredientes naturais, os chamados *clean label* (ÖZTÜRK; SERDAROĞLU, 2017). No Brasil ainda são escassas as alternativas disponíveis aos consumidores de produtos avícolas considerados *clean label* e frente à demanda crescente e pouca informação disponível referente aos parâmetros qualitativos e sensoriais, se torna imprescindível estudos que avaliem as condições tecnológicas dos ingredientes que surgem no mercado.

Neste contexto, a cura natural da carne é uma opção para substituir a adição direta de nitrito quimicamente sintetizado. Ela ocorre pela adição de fonte natural contendo nitrato, o qual pode ser reduzido a nitrito por culturas iniciadoras (*starters*) com capacidade nitrato-redutora (RITTER, 2016). O extrato de aipo em pó é uma potencial fonte de nitrato natural. O qual pode ser pré-convertido a nitrito pela ação de microrganismos nitrato-redutor. Esta estratégia permite o uso direto do extrato de aipo contendo nitrito, não sendo necessária adição de cultura *starter* na matriz cárnea (SEBRANEK, 2012).

A utilização de ácido acético combinado com fontes naturais de nitrito também vem se mostrando uma opção natural para controlar o crescimento microbiano (SIJTSEMA *et al.*, 2016). O vinagre neutralizado (tamponado) é uma solução natural promissora para substituir os ácidos orgânicos tradicionais e seus sais derivados (lactato de sódio ou potássio e diacetato ou acetato de sódio) devido ao seu teor natural de ácido acético e impacto mínimo nas propriedades físicas e sensoriais do produto (CETIN-KARACA; GLISAN, 2022). A decisão de substituir ou reduzir aditivos sintéticos em um produto cárneo deve ser muito bem avaliada a fim de serem encontradas alternativas que não afetem a segurança e estabilidade do produto (CETIN-KARACA; GLISAN, 2022; NUNES, 2013).

Diante do surgimento de opções naturais comercialmente disponíveis para controlar o crescimento microbiano em produtos cárneos, o objetivo deste trabalho foi avaliar a susceptibilidade microbiana ao EAAP contendo nitrito pré-convertido e o impacto sensorial quando aplicado em linguiça frescal de frango.

2 OBJETIVOS

2.1 Geral

Avaliar a susceptibilidade microbiana ao EAAP contendo nitrito pré-convertido e o impacto sensorial quando aplicado em linguiça frescal de frango.

2.2 Específico

- Avaliar a susceptibilidade *in vitro* sobre as cepas de *Salmonella* Typhimurium (ATCC 14028), *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Listeria innocua* (ATCC 33090), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853), *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) e *Clostridium perfringens* (ATCC 13124) ao EAAP.
- Produzir linguiça frescal de frango incluindo as doses que demonstraram alguma susceptibilidade microbiana *in vitro* para avaliar o impacto sensorial do EAAP sobre a matriz.
- Caracterizar os parâmetros físico-químicos (pH, umidade, proteína, gordura, teor de cálcio (base seca), nitrito e nitrato, perda por cozimento (PPC)) e microbiológicos (*Salmonella* Enteritidis, *Salmonella* Typhimurium, *Escherichia coli* e bactérias mesófilas aeróbias).

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

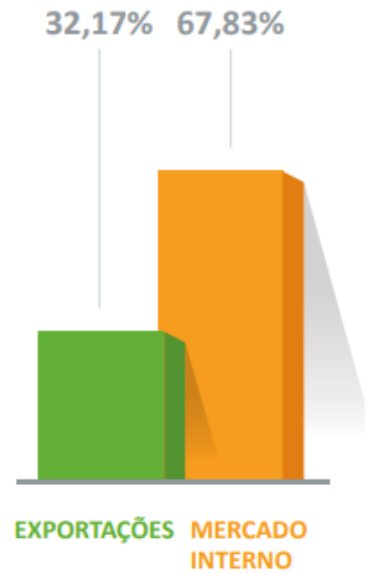
3.1 Carne de frango

A carne de frango possui alto teor de proteína, aminoácidos essenciais, vitaminas do complexo B, minerais como ferro e zinco, menor percentual calórico devido ao menor teor de gorduras totais, gordura saturada e colesterol, altos valores nutritivos e sensoriais, além de ser mais barata, menor custo ao consumidor quando comparada com a carne bovina ou suína (BRITO; COELHO, 2021; PEREIRA *et al.*, 2020). Desta forma, a carne de frango e seus derivados veem ocupando posição de destaque na dieta humana (SAENGPOL; PIRAK, 2018). Logo, a indústria de alimentos tem se empenhado continuamente para desenvolver novos produtos à base de carne de aves, especialmente produtos que atendam às preferências e conveniência do consumidor (PARK *et al.*, 2020).

Em 2021, de acordo com o relatório da Associação Brasileira de Proteína Animal (ABPA), o sistema de produção brasileiro de frango de corte foi de 14.329 toneladas, dessa forma, o Brasil assumiu a posição como terceiro maior produtor de carne de frango. Atualmente, a China e os Estados Unidos da América ocupam a primeira e a segunda colocação, com 14.700 e 20.378 toneladas, respectivamente.

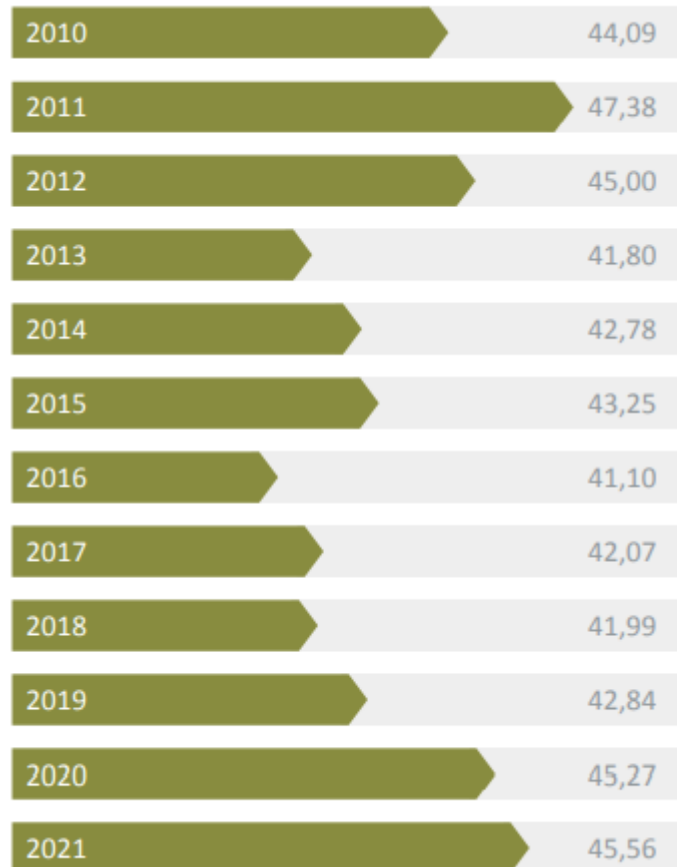
Quanto ao destino, cerca de 67,83% da produção da carne do frango foi destinada ao consumo interno; enquanto 32,17% foram escoados para o sistema agroexportador (Figura 1). A carne de frango é consumida igualmente em todas as classes sociais e 80 % da população brasileira declaram que consomem carne de frango, no mínimo, 2 vezes por semana. No Brasil, em 2021 o consumo *per capita* foi de 45,56 Kg/ano (Figura 2) (ABPA, 2022). O consumo mundial *per capita* de carne de frango foi de 14,2 kg/ano (TSAFRAKIDOU *et al.*, 2021).

Figura 1 - Destino da produção brasileira de carne de frango em 2021



Fonte: Relatório Anual ABPA (2022).

Figura 2 - Consumo *per capita* de carne de frango (kg/hab.) no Brasil



Fonte: Relatório Anual ABPA (2022).

3.2 Embutidos de frango

Segundo o Regulamento de Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal (RIISPOA) (Art. 288), “embutidos são os produtos cárneos elaborados com carne ou com órgãos comestíveis, curados ou não, condimentados, cozidos ou não, defumados e dessecados ou não, tendo como envoltório a tripa, a bexiga ou outra membrana animal”. É permitido o emprego de envoltórios artificiais, desde que previamente aprovados pelo órgão regulador da saúde. (BRASIL, 2017). São considerados embutidos a linguiça, morcela, mortadela, salsicha, salame e pepperoni (BARBOSA, 2019).

A origem dos embutidos provém de técnicas de conservação da carne *in natura*. Inicialmente eram obtidos pela mistura de carnes magras e gorduras embutidas em tripas dos próprios animais. O sal e as técnicas de defumação eram empregados como forma de desidratação e conservação, elevando a durabilidade dos produtos. Ao longo dos séculos esses processos foram sendo aperfeiçoados com a adição de especiarias e aditivos alimentares, os quais também possuem funções de conservação e melhoram os atributos sensoriais (BARBOSA, 2019).

Dentre os embutidos, a linguiça assume papel de destaque no mercado. O processo de produção utiliza carne de animais de açougue, adicionadas ou não de tecidos adiposos, e o processamento pode ocorrer em estabelecimentos de micro, pequeno, médio ou grande porte. Aditivos alimentares são adicionados para melhorar os atributos sensoriais do produto (SILVA; COLOMBO; BACHINI, 2016).

A Instrução Normativa n.º 4, de 31 de março de 2000, do Ministério da Agricultura, Pecuária e do Abastecimento (Mapa) tem como objetivo fixar a identidade e as características mínimas de qualidade que deverá apresentar o produto denominado linguiça. No caso de linguiça fresca, os valores preconizados são: mínimo de 12 % de proteína, gordura no máximo 30 %, umidade máxima de 70 % e cálcio (base seca) máximo de 0,1 % (BRASIL, 2000).

3.3 Microbiota autóctone e alóctone de linguiça fresca de frango

Agente microbianos deteriorantes e/ou patogênicos podem estar naturalmente presentes em embutidos cárneos frescos (SANTOS; TREVIZAM, 2021).

Adicionalmente, há uma série de etapas inerentes a manipulação, as quais aumentam o risco de contaminação por diversos microrganismos, comprometendo potencialmente a qualidade microbiológica do produto final (MUNARI, 2016). Preparações frescas não são submetidas, durante a produção, ao processo de cocção; portanto, não há inativação de células vegetativas como ocorre em produtos cozidos, aumentando ainda mais o risco de agentes microbianos patogênicos (GEORGES *et al.*, 2019).

Com isto, para que os produtos cárneos sejam comercializados, eles devem seguir os padrões estabelecidos pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). A Instrução Normativa nº 161, de 01 de julho de 2022, estabelece que para “produtos cárneos crus à base de carne moída ou picada de aves, temperados ou não, embutidos ou não, refrigerados ou congelados (hamburgueres, almôndegas, empanados crus de rotisseria, linguiças frescas)”, a presença de *Escherichia coli* e aeróbios mesófilos deve ser de, no máximo, 5×10^3 e 10^6 Unidades Formadoras de Colônias (UFC)/g, respectivamente. Não é admitido presença de *Salmonella* Enteritidis e *Salmonella* Typhimurium em 25g da amostra.

Além dos microrganismos estabelecidos pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), a presença de *Clostridium botulinum*, *Clostridium perfringens*, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Bacillus cereus* e *Pseudomonas aeruginosa* em produtos cárneos, podem constituir sérios problemas para a saúde pública, uma vez que são bactérias frequentemente envolvidas em surtos de doenças transmitidas por alimentos (SANTANA, 2019).

A validade comercial e termos sinônimos é definido como o tempo em que o produto se torna impróprio para consumo. Este parâmetro está correlacionado com as propriedades intrínsecas e extrínsecas do produto e, como tal, aparece como um fator diretamente relacionado à microbiota e a conservação de produtos frescos (FRANZEN *et al.*, 2020).

Carne e derivados são alimentos perecíveis com prazo de validade variável, dependendo das condições de armazenamento. Desde a Antiguidade, o homem busca preservar suas características de qualidade para manter o abastecimento alimentar, o desenvolvimento e a preservação das espécies, dando origem a processos e tecnologias de transformação que inicialmente eram primitivos, mas agora são controlados por princípios tecnológicos para manter a qualidade dos produtos (OLIVEIRA; ARAÚJO; BORGIO, 2005).

3.4 Aditivos em alimentos

A Portaria SVS/MS 540, de 27/10/97, define aditivo alimentar como sendo todo ingrediente incorporado aos produtos alimentícios sem a intenção de alimentar, apenas com a finalidade de alterar características sensoriais, físicas, químicas ou microbiológicas durante todo o processamento do alimento. Aditivos alimentares com a função conservante, são substâncias adicionadas aos alimentos com o objetivo de impedir ou retardar o crescimento/desenvolvimento microbiológico ou enzimático (BRASIL, 1997).

Os aditivos alimentares desempenham um papel crucial no avanço tecnológico, especialmente na manutenção da qualidade de alimentos perecíveis, como as linguiças frescas e no prolongamento da validade comercial dos produtos alimentícios (PRETE *et al.*, 2020).

3.4.1 Lactato de sódio

O lactato de sódio é definido com a função de regulador de acidez pela Resolução da Diretoria Colegiada nº 272 de 14 de março de 2019. No Brasil, o residual máximo permitido para produtos cárneos industrializados frescos é de 3,5g/100g (BRASIL, 2019).

O lactato de sódio é muito utilizado como antimicrobiano. Ele acidifica o meio intracelular dos microrganismos, ou seja, atua como ácido não dissociado, transpassando a membrana celular acidificando o citosol, diminuindo assim a sua atividade metabólica. Como resultado, o pH intracelular e o metabolismo celular pode ser afetado substancialmente e causar a desnaturação celular nos casos extremos (BRADLEY, 2010; SILVA *et al.*, 2014).

Algumas das principais vantagens do uso do lactato de sódio, é inerente a extensão do período de *shelf-life* de vários produtos cárneos e redução do risco do desenvolvimento de agentes patogênicos (ALVES, 2018). Além da ação antimicrobiana, o lactato possui propriedades emulsificantes e umectantes, controlador de pH, realçador de sabor e aroma de produtos cárneos, aumento da capacidade de retenção água, garantindo uma maior estabilidade durante a etapa de cozimento (SHAFIT; WILLIAMS, 2010).

3.4.2 Nitrato e nitrito

Nitrato (NO_3^-) e nitrito (NO_2^-) de sódio ou potássio são definidos como conservadores pela Resolução da Diretoria Colegiada nº 272 de 14 de março de 2019, com função de prevenir ou inibir o desenvolvimento microbiológico e de reações químicas indesejáveis em produtos cárneos. No Brasil, o residual máximo permitido para produtos cárneos embutidos são: 0,015 g/100 g para nitritos e 0,03 g/100 g de nitratos (BRASIL, 2019).

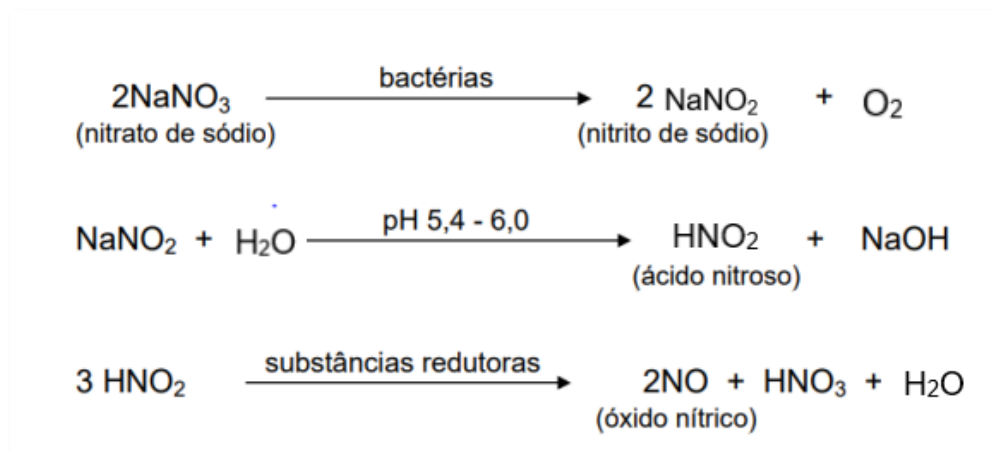
Eles são utilizados durante a produção da maioria dos embutidos para melhorar suas características de cor e sabor, bem como prevenir o crescimento do *Clostridium botulinum*. A adição de sais de nitrato e nitrito são fatores importantes capazes de modificar a Ecofisiologia microbiana, visto que, ao alterarem fatores relacionados ao crescimento microbiano, também constituem obstáculos ao crescimento (GEORGES *et al.*, 2019). Os microrganismos mais susceptíveis ao nitrito são os anaeróbios. Porém, também há efeito na formação da cor rosada típica de produtos curados, afetando significativamente a percepção sensorial (SANTOS; TREVIZAM, 2021).

Para ocorrer a reação de cura, o nitrato necessita ser reduzido a nitrito. Esta reação decorre da ação de microrganismos na presença da enzima nitrato-redutase. Logo, o uso de nitrato como agente de cura somente é relevante em produtos cárneos que sofrem longos processos de fermentação na temperatura ambiente (BIANCO JUNIOR, 2020).

A ação antimicrobiana do nitrito é exercida pelo óxido nítrico e pelo ácido nitroso, formados a partir das reações de redução em que ele está envolvido (DEVÈZE, 2021). O crescimento de *Clostridium botulinum*, *Listeria monocytogenes* e alguns deteriorante são afetados por concentrações na ordem de 120 mg/kg de nitrito (SHAHIDI; SAMARANAYAKA; PEGG, 2014).

As reações químicas mais importantes desde a conversão de nitrato de sódio a nitrito de sódio até a formação de óxido nítrico estão apresentadas na Figura 3.

Figura 3 - Reação de formação de óxido nítrico



Fonte: DEVÈZE (2021).

Apesar das vantagens do uso de nitrato e nitrito, existem questionamentos quanto à segurança dos aditivos sintéticos, com relação a reações gastrointestinais, respiratórias, dermatológicas e neurológicas. Em decorrência dessas contrariedades, os consumidores estão apreensivos ao ingerirem conservadores quimicamente sintetizado (HORSCH *et al.*, 2014; PRETE *et al.*, 2020).

Um dos grandes questionamentos envolvendo o nitrito está na formação das nitrosaminas. Estas são formadas através da reação entre o nitrito ingerido e as aminas secundárias, como os aminoácidos derivados das proteínas. Esta formação ocorre sob pH baixo (como do estômago) e temperaturas superiores a 130°C, como as utilizadas na fritura de alimentos. A maioria das nitrosaminas são carcinogênicas (BEDALE *et al.*, 2016).

3.4.3 Vinagre e aipo

O vinagre é definido como uma solução aquosa contendo de 4 a 10% de ácido acético resultante da fermentação acética de fermentado alcoólico de mosto de frutas, cereais ou vegetais (MARQUES *et al.*, 2010).

O ácido acético na forma de vinagre tem ação como conservador, acidulante, sequestrante e flavorizantes. É um dos compostos mais antigos utilizados no controle microbiano, principalmente por ser eficiente e de baixo custo. Trata-se de um ácido

natural com potencial de inibir microrganismos patogênicos como, os *Bacillus*, *Clostridium*, *Listeria*, *Salmonella*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas*, *E. coli* e *Campylobacter*, impedindo a deterioração e a redução da validade comercial dos produtos. O ácido acético também tem a finalidade de equilibrar a acidez dos alimentos, além de ser utilizado como diluente para certas substâncias, como corantes (FOOD INGREDIENTS BRASIL, 2017).

O aipo (*Apium graveolens*), também conhecido como salsão, é uma hortaliça originária da região Mediterrânea e pertence à família *Apiaceae* (mesma família da salsa, cenoura e mandioquinha-salsa). Possui sabor e odor agradável. É um vegetal comestível que foi primeiramente descrito pelos gregos e popularizado na Idade Média para curar doenças. Também constitui boa fonte de vitamina A e C (DIESEL, 2017; TAVARES; LANA, 2016).

Figura 4 - Aipo *in natura*



Fonte: HORITA (2022, p. 56).

O aipo é naturalmente rico em nitrato e tem sido largamente utilizado como objeto de pesquisas que buscam encontrar produtos naturais que demonstrem efeito antimicrobiano para serem utilizados em embutidos. Outra vantagem é que o aipo tem alta compatibilidade de sabor com os produtos cárneos (SIQUEIRA, 2020).

3.5 Susceptibilidade microbiana

O mecanismo de ação dos antimicrobianos sobre os microrganismos susceptíveis, pode ocorrer de duas formas: bacteriostático e bactericida. O efeito bactericida, consiste na inativação (morte) do agente microbiano. O efeito bacteriostático, paralisa o crescimento e a proliferação microbiana. Esses efeitos podem ocorrer na síntese da parede celular dos microrganismos alterando a permeabilidade da membrana citoplasmática, interferências na replicação cromossômica e na síntese proteica celular (MOTA, 2019).

Diversos extratos vegetais possuem ação antimicrobiana devido ao caráter lipofílico presente nas moléculas constituintes dos extratos, tornando-os capazes de penetrar na célula ou desintegrar a membrana e a parede celular bacteriana (NETO, 2018). Muitos estudos relacionados a produtos naturais estão sendo realizados, objetivando a descoberta de novos agentes antimicrobianos com atividade eficaz contra microrganismos patogênicos, semelhantes aos conservadores quimicamente sintetizados, os quais geralmente estão associados a um certo nível de toxicidade e impacto ambiental (BONA *et al.*, 2014).

Diversos métodos podem ser usados para determinar a susceptibilidade microbiana a um conservador, como: método turbidimétrico, difusão em discos, difusão em poços sobre um meio ágar, entre outros. Para cada método é necessário avaliar as interferências e estabelecer parâmetros a fim de aumentar a reprodutibilidade e comparabilidade. Diluição em ágar estão entre os ensaios mais utilizados para a avaliação da atividade antimicrobiana e determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM) em plantas medicinais. A técnica da microdiluição tem relevância devido ao fornecimento de dados quantitativos a baixo custo, com alta sensibilidade e confiabilidade (BONA *et al.*, 2014; PEREIRA *et al.*, 2022).

4 METODOLOGIA

4.1 Susceptibilidade microbiana *in vitro*

O método turbidimétrico foi usado para avaliar a susceptibilidade de *Salmonella* Typhimurium (ATCC 14028), *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Listeria innocua* (ATCC 33090), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853), *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) e *Clostridium perfringens* (ATCC 13124) ao EAAP. Para tal, as culturas foram ativadas (3x) em caldo infusão cérebro coração – BHI (Merck KGaA, Darmstadt, Alemanha) seguido por incubação a 36 °C. Uma jarra hermeticamente fechada (Permuton, Curitiba, Paraná) com sachê gerador de anaerobiose (Fanem, São Paulo, Brasil) foi utilizado para a ativação do *Clostridium perfringens* sob anaerobiose. A biomassa celular foi obtida por centrifugação a 6000g (Merck KGaA, Darmstadt, Alemanha) por 5 minutos e lavagem dupla do *pellet* com tampão fosfato pH 7,2. A biomassa remanescente após a última separação foi reconstituída em caldo BHI até obter uma suspensão celular equivalente ca. 5,5 log UFC/mL. Curvas de calibração foram previamente plotadas e utilizadas para auxiliar o ajuste do inóculo.

O EAAP, adquirido comercialmente, foi diluído em caldo BHI para obter concentração de 0,5 até 5,0 %, com incrementos de 0,5% de tubo para tubo. Tubos ausente da mistura e ausente de inóculo foram incluídos como controle e branco do ensaio, respectivamente. Os tubos foram incubados a 36°C em banho termostático com agitação (Fanem, São Paulo, Brasil) e a turbidez foi determinada pela mensuração da absorbância a 600λ em um espectrofotômetro (Bel Photonics, Monza, Italia) nos tempos 0, 13, 16, 19, 22 e 37 horas (GODOY, 2021). *C. perfringens* foi incubado sob anaerobiose e incubado em uma incubadora tipo B.O.D. Durante a série analítica, o tubo branco foi utilizado para calibrar o equipamento, a superfície externa dos tubos foi seca com papel toalha e o valor de absorbância mensurado diretamente nos tubos, dispensando o uso de cubeta.

A dose potencial para atingir efeito inibitório sobre cada cepa foi expressa considerando três categorias: *i*) susceptível, categoria que implica ausência de crescimento acima daquela dose (valor de absorbância estatisticamente ($p < 0.05$) igual ao branco); *ii*) parcialmente susceptível, categoria que implica em uma redução no crescimento com aquela dose (valor de absorbância compreendido entre o tubo

branco e controle); *iii*) resistente, categoria que implica um crescimento normal abaixo daquela dose (valor de absorvância estatisticamente ($p < 0.05$) igual ao tubo controle).

4.2 Produção de linguiça frescal de frango

Linguiça frescal de frango ($n = 5$) foram produzidas com as doses de EAAP que demonstraram algum efeito inibitório no ensaio *in vitro*.

- Branco (B): sem adição de sal de cura, lactato de sódio e EAAP.
- Controle (C): com adição de 0,15% de sal de cura e 2,0% de lactato de sódio
- Tratamento 1 (T1): com adição de 0,15% de sal de cura e 2,5% EAAP.
- Tratamento 2 (T2): com adição de 0,15% de sal de cura e 3,5% EAAP.
- Tratamento 3 (T3): com adição de 4,5% de EAAP.

As linguiças foram produzidas na planta piloto do setor de Pesquisa e Desenvolvimento da Cooperativa Agroindustrial Consolata, localizada na cidade de Cafelândia-PR. As matérias-primas e os demais ingredientes foram adquiridos do abatedouro da cooperativa, com exceção do EAAP, obtido comercialmente. As formulações estão descritas detalhadamente na Tabela 1.

Para a produção das linguiças, a matéria-prima, carne de frango, foi pesada em balança (M1100, Marel, Brasil) e os demais ingredientes foram pesados em balança semi-analítica (AD330, Marte, Brasil). A matéria-prima e os ingredientes foram adicionados em um misturador (MJ-35, Jamar, Brasil) por 5 minutos. Após, a massa foi embutida com auxílio da embutideira (Vf 610, Handtamann, Alemanha), em tripa de colágeno com calibre de 26 mm (ND, Viscofan, Brasil). Por fim, as linguiças foram embaladas em embalagens de polietileno de baixa densidade (PEBD) e armazenadas abaixo de $-12\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Tabela 1 - Formulações de linguiça frescal de frango com ou sem EAAP

Ingredientes (%)	Tratamentos				
	B	C	T1	T2	T3
Carne de frango	86,81	86,81	86,81	86,81	86,81
PTS ¹	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5
Água potável	8	8	8	8	8
Sal (cloreto de sódio)	1,2	1,06	1,06	1,06	1,2
Condimento ²	1,04	1,04	1,04	1,04	1,04
Tripolifosfato de sódio	0,35	0,35	0,35	0,35	0,35
Eritorbato de sódio	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
Sal de cura ³	0	0,15	0,15	0,15	0
Lactato de sódio	0	2	0	0	0
EAAP ⁴	0	0	2,5	3,5	4,5

Fonte: Autoria própria (2022).

¹Proteína texturizada de soja, ²cloreto de sódio (sal), açúcar, especiarias e aromatizantes; ³cloreto de sódio (90%) e nitrito de sódio (10%), ⁴ extrato acético de aipo em pó pré-convertido a nitrito de sódio.

4.3 Parâmetros microbiológicos legais

As análises foram realizadas no laboratório Central da Copacol, onde foram avaliados, em triplicata: pesquisa de *Salmonella* Enteritidis, pelo método AOAC Performance Tested Certificate N°081903 (AOAC, 2019) e *Salmonella* Typhimurium, pelo método AOAC Performance Tested Certificate N°081904 (AOAC,2019a), enumeração (UFC/g) de bactérias aeróbias mesófilas totais, pelo método AOAC Aerobic Plate Count In Foods 990.12 (AOAC, 2019b) e enumeração (UFC/g) *Escherichia coli*, pelo método AOAC Confirmed Counts in Poultry 998.08 (AOAC, 2019c).

4.4 Avaliação físico-química

As análises físico-químicas (pH, umidade, proteína, gordura, teor de cálcio (base seca), nitrito e nitrato) também foram realizadas no laboratório Central da Copacol, em triplicata. O pH foi determinado pelo método ISO 2917:1999. Umidade, proteína e gordura, foram determinadas no equipamento FoodScan (78810, FOSS, Dinamarca) pelo método AOAC 2007.04. O teor de cálcio (base seca) foi determinado pelo método AOAC 983.19:2015 e nitrito e nitrato de sódio pelo método ISO 2918 e ISO 3091, respectivamente (BRASIL, 2022a).

4.4.1 Determinação de perda de peso por cozimento (PPC)

As amostras de linguiça de frango foram previamente refrigeradas, pesadas e cozidas em forno elétrico (Gourmet Grill, Fischer, Brasil) a 200 °C por 40 minutos (20 minutos de cada lado). O equipamento foi pré-aquecido na temperatura de cocção por 15 minutos. Após o processo as linguiças foram retiradas do forno, esfriadas até a temperatura de 40°C e pesadas novamente. A PPC foi determinada, em triplicata, pela medida do peso de cada linguiça antes e após o cozimento. A perda, em percentual, foi calculada de acordo com a Equação 1.

$$PPC(\%) = \frac{(\text{peso amostra crua} - \text{peso amostra cozida})}{\text{peso amostra crua}} \times 100 \quad (1)$$

4.5 Avaliação sensorial

Para a realização da avaliação sensorial, o projeto foi submetido ao comitê de ética da Universidade Tecnológica Federal do Paraná para aprovação, número 59917722.1.0000.5547. Um painel com 60 provadores, não treinado, composto por 15 homens e 45 mulheres, entre 22 e 50 anos, declarantes como consumidores de linguiça, foi selecionado aleatoriamente. O convite foi realizado via correio eletrônico em horário comercial (8h30 às 17h30). O tempo médio para a realização da série analítica, por provador, foi de 8 minutos.

As linguiças foram preparadas em churrasqueira elétrica (Grill 4513, Fischer, Brasil) por 30 minutos. Após assadas, foram cortadas em porções de aproximadamente 20 gramas e servidas aos provadores de acordo com cada teste.

Os atributos sensoriais 'identificação da amostra padrão em relação com as amostras tratamento' foram quantificados pelo teste de diferença (duo-trio). Os componentes do painel receberam uma amostra padrão (P) e duas amostras codificadas com números aleatórios (três dígitos), e cada provador foi solicitado a identificar a amostra tratamento com atributos similares ao padrão. Concomitantemente, também foi realizado um teste de aceitação, utilizando escala hedônica com escore de 9 pontos (1 – desgostei extremamente; 2 – desgostei muitíssimo; 3 – desgostei moderadamente; 4 – desgostei levemente; 5 – não gostei nem desgostei; 6 – gostei levemente; 7 – gostei moderadamente; 8 – gostei muitíssimo; 9 – gostei extremamente). Por fim, foi solicitado aos provadores para identificar a amostra preferida entre as amostras adicionadas com EAAP.

4.6 Análise estatística dos dados

Regressão linear foi aplicada nos resultados do método turbidimétrico conforme as Equações 2, 3 e 4. Os coeficientes angulares das regressões (média \pm erro padrão) foram avaliados por análise de variância (ANOVA) seguida pelo teste não paramétrico de Kruskal-Wallis ($p < 0,05$):

$$\hat{Y} \pm \frac{t_{\alpha}}{2} \times SE \times \sqrt{hi}, \quad (2)$$

$$\hat{Y} \pm \frac{t_{\alpha}}{2} \times SE \times \sqrt{1 + hi}, \quad (3)$$

$$Hi = 1/n + (xi - x)^2 / \sum(xi - x)^2, \quad (4)$$

\hat{Y} é o valor estimado, $\frac{t_{\alpha}}{2}$ é o valor da distribuição t de Student, SE é o erro padrão, hi é a hipótese de homoscedasticidade, Hi é o valor da estatística do teste, n é o número de observações, xi é o valor da amostra e x é a média.

As análises físico-químicas e microbiológicas foram realizadas em triplicata. Os resultados foram avaliados pela análise de variância (ANOVA) utilizando o teste de Tukey ao nível de 5% de significância com o auxílio do programa *BioEstat* 5.3. Os dados de composição físico-química também foram avaliados pela Análise de Componentes Principais (ACP) realizado no programa *OriginPro* 2020b.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

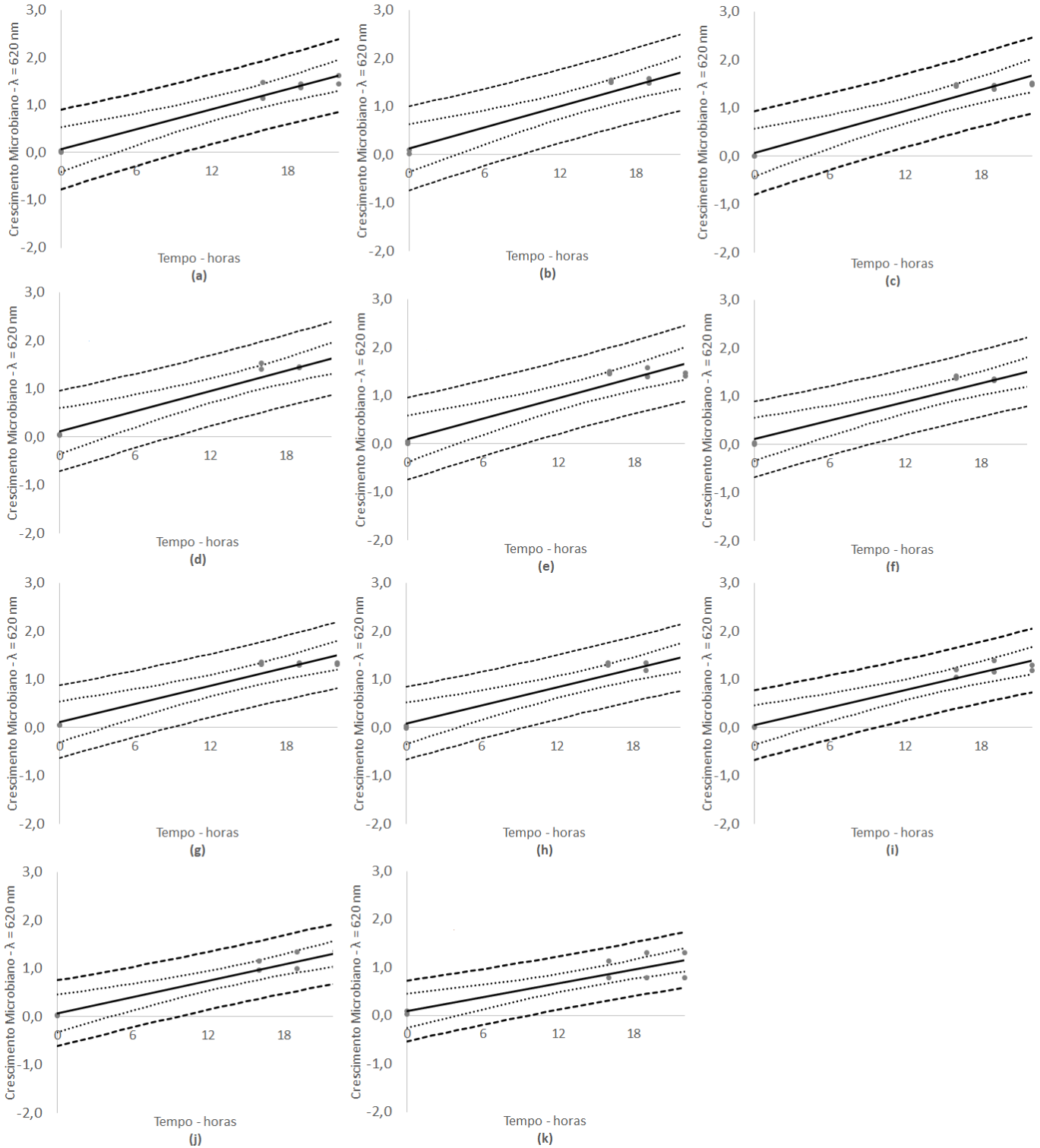
5.1 Susceptibilidade microbiana *in vitro*

Staphylococcus aureus e *Clostridium perfringens* foram resistentes até 5,0 % de EAAP. Susceptibilidade parcial foi detectada nas concentrações entre 2,5 a 5,0 % de EAAP para *Pseudomonas aeruginosa*, entre 3,0 a 5,0 % para *Salmonella* Typhimurium e *Listeria innocua* e entre 4,0 e 5,0 % para *Escherichia coli*. Nenhum dos microrganismos testados demonstrou susceptibilidade total ao EAAP (Tabela 2, Figuras 4, 5, 6, 7, 8 e 9).

Pseudomonas aeruginosa, é um microrganismo comumente relacionado com a deterioração de uma variedade de alimentos, incluindo carnes e produtos cárneos, uma vez que possui atividade em condições aeróbias e sob temperaturas de refrigeração (BENVENUTTI, 2020; SILVA *et al.*, 2022).

Myers *et al.* (2013) reportaram que a adição de extrato de aipo está intrinsicamente relacionada com a elevação do pH da matriz e pode servir como substrato para beneficiar o crescimento de *Listeria monocytogenes*, uma vez que 97,75% do suco de aipo usado no experimento foi composto por constituintes orgânicos e inorgânicos. Além de prejudicar as reações relacionadas com a cura.

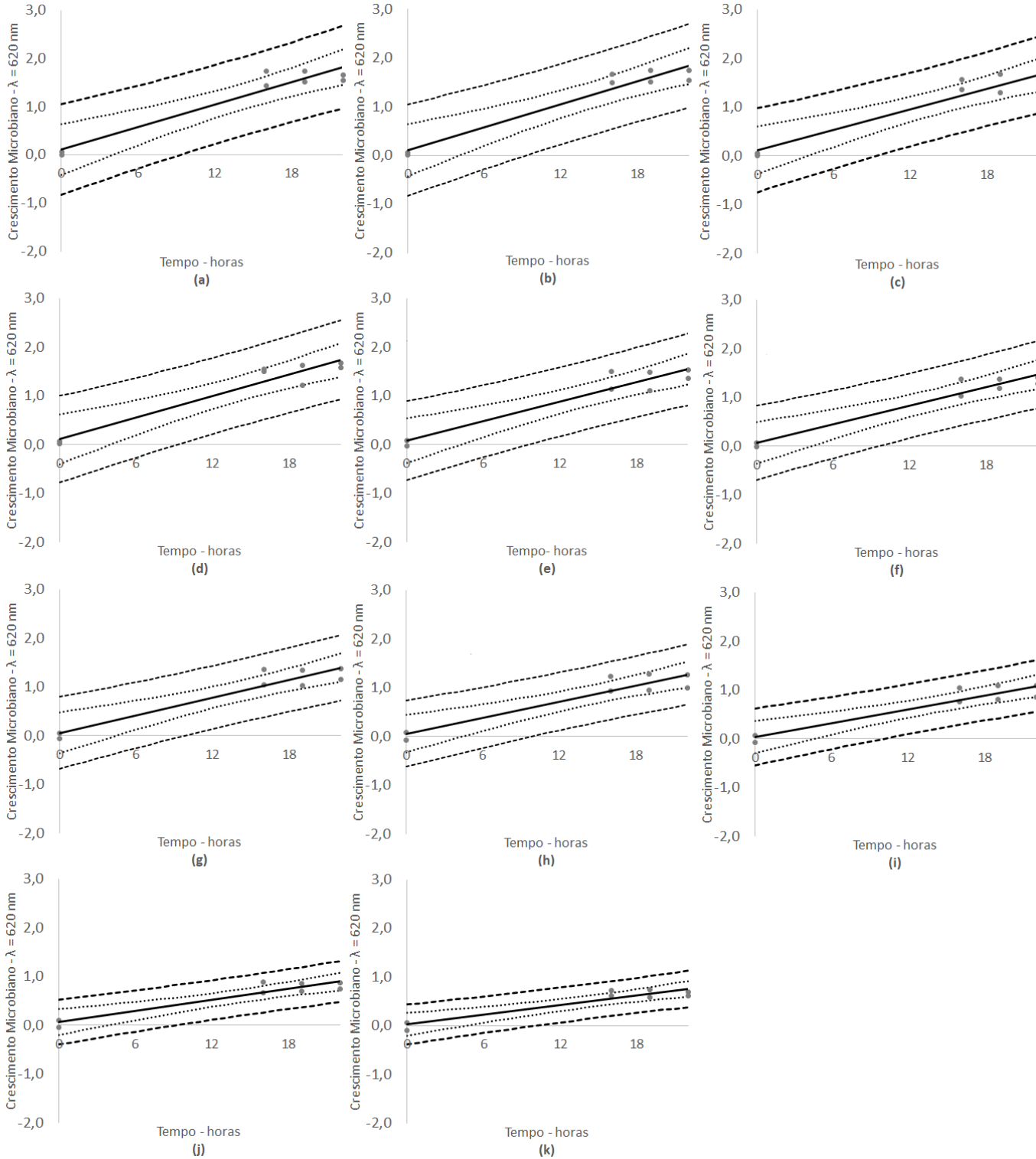
Figura 5 - Regressão linear (—), intervalo de confiança para a média (....), e intervalo de predição para a amostra (---) do período com crescimento microbiano de *Salmonella* Typhimurium (de 0 a 22 h de incubação a 36 °C) em diferentes concentrações de EAAP



Fonte: Autoria própria (2022).

(a) 0,0%; (b) 0,5%; (c) 1,0%; (d) 1,5%; (e) 2,0%; (f) 2,5%; (g) 3,0%; (h) 3,5%; (i) 4,0%; (j) 4,5%; (k) 5,0% de extrato acético de aipo em pó.

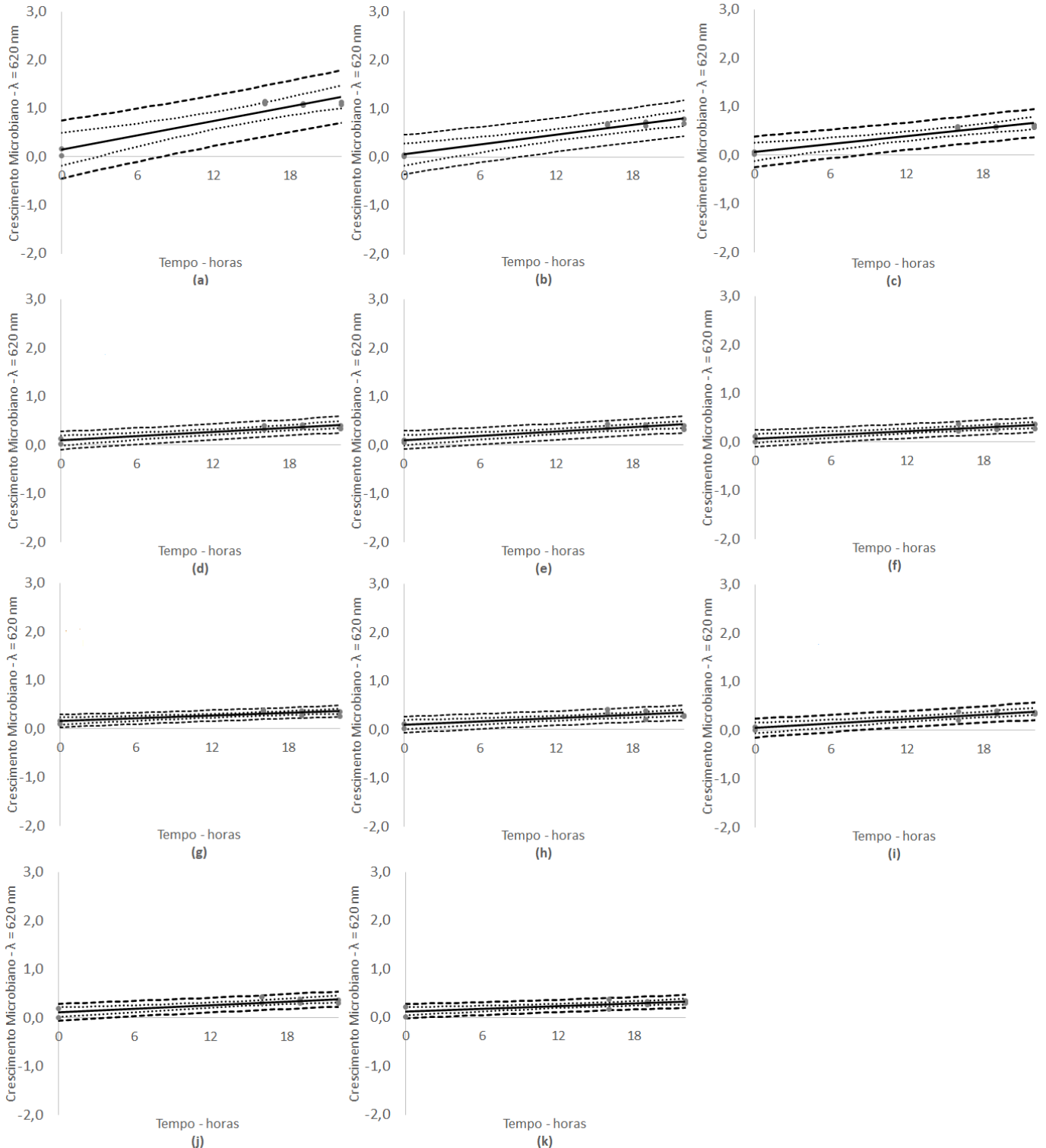
Figura 6 - Regressão linear (—), intervalo de confiança para a média (....), e intervalo de predição para a amostra (---) do período com crescimento microbiano de *Escherichia coli* (de 0 a 22 h de incubação a 36 °C) em diferentes concentrações de EAAP



Fonte: Autoria própria (2022).

(a) 0,0%; (b) 0,5%; (c) 1,0%; (d) 1,5%; (e) 2,0%; (f) 2,5%; (g) 3,0%; (h) 3,5%; (i) 4,0%; (j) 4,5%; (k) 5,0% de extrato acético de aipo em pó.

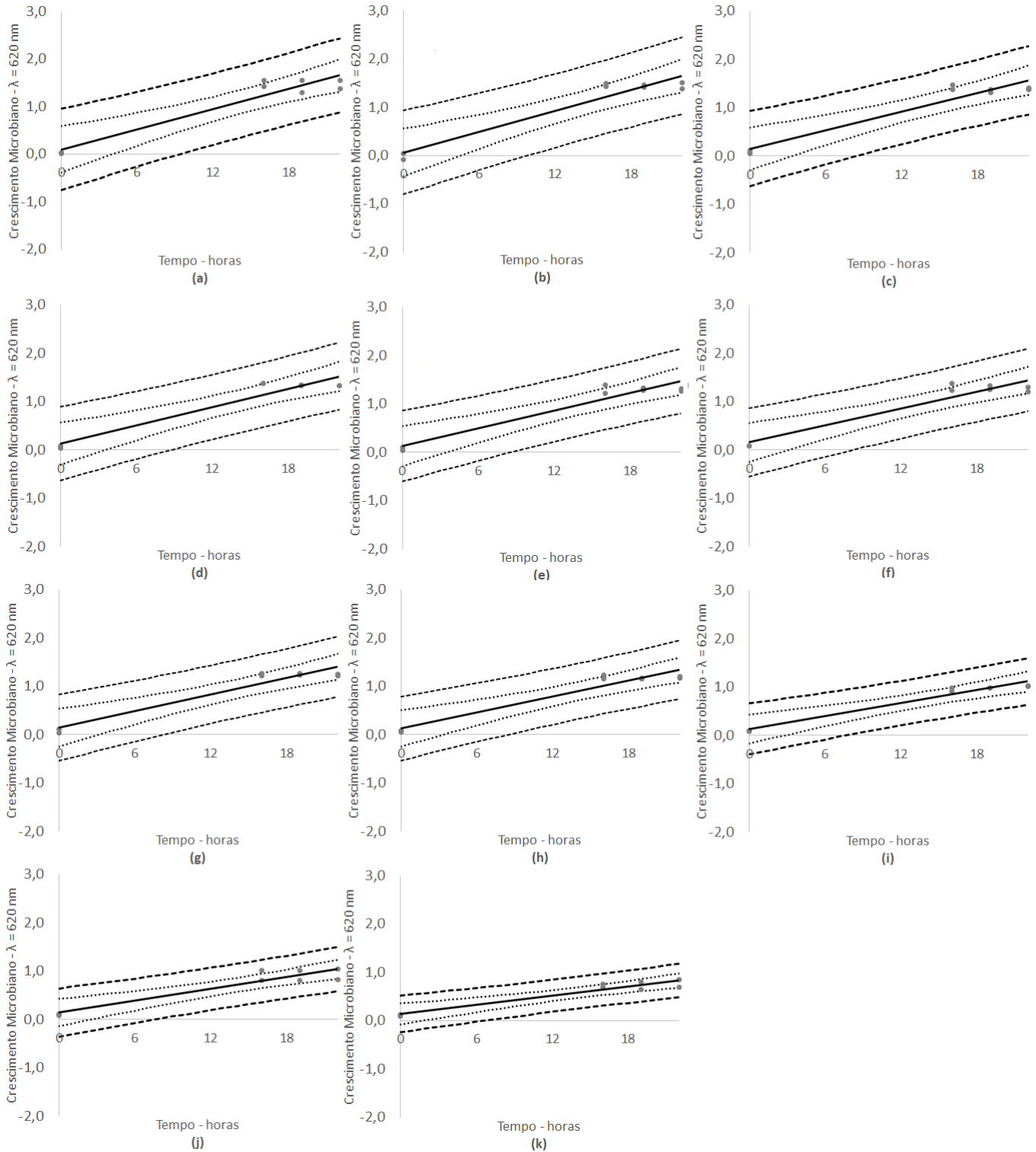
Figura 7 - Regressão linear (—), intervalo de confiança para a média (....), e intervalo de predição para a amostra (---) do período com crescimento microbiano de *Listeria innocua* (de 0 a 22 h de incubação a 36 °C) em diferentes concentrações de EAAP



Fonte: Autoria própria (2022).

(a) 0,0%; (b) 0,5%; (c) 1,0%; (d) 1,5%; (e) 2,0%; (f) 2,5%; (g) 3,0%; (h) 3,5%; (i) 4,0%; (j) 4,5%; (k) 5,0% de extrato acético de aipo em pó.

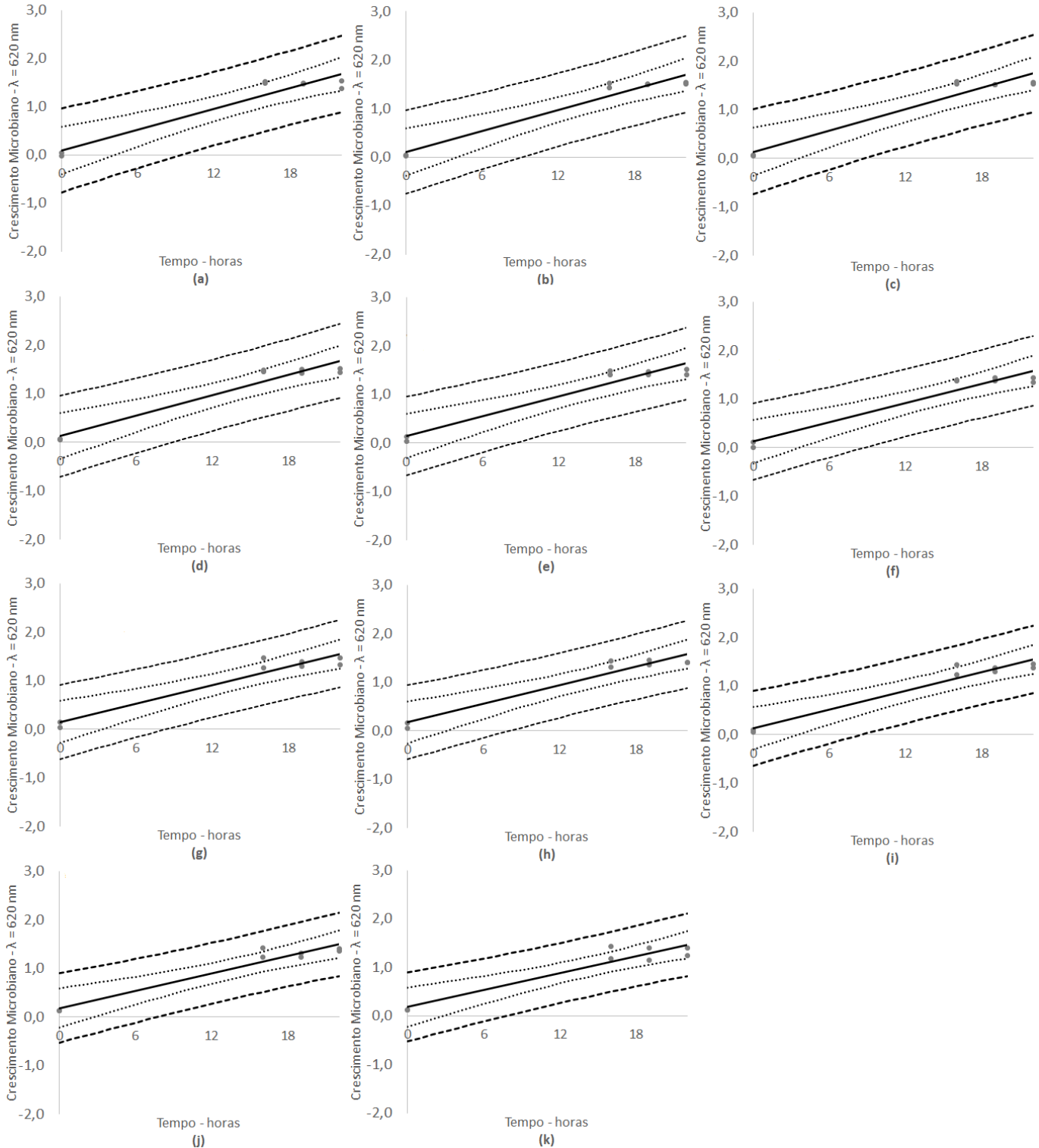
Figura 8 - Regressão linear (—), intervalo de confiança para a média (....), e intervalo de predição para a amostra (---) do período com crescimento microbiano de *Pseudomonas aeruginosa* (de 0 a 22 h de incubação a 36 °C) em diferentes concentrações de EAAP



Fonte: Autoria própria (2022).

(a) 0,0%; (b) 0,5%; (c) 1,0%; (d) 1,5%; (e) 2,0%; (f) 2,5%; (g) 3,0%; (h) 3,5%; (i) 4,0%; (j) 4,5%; (k) 5,0% de extrato acético de aipo em pó.

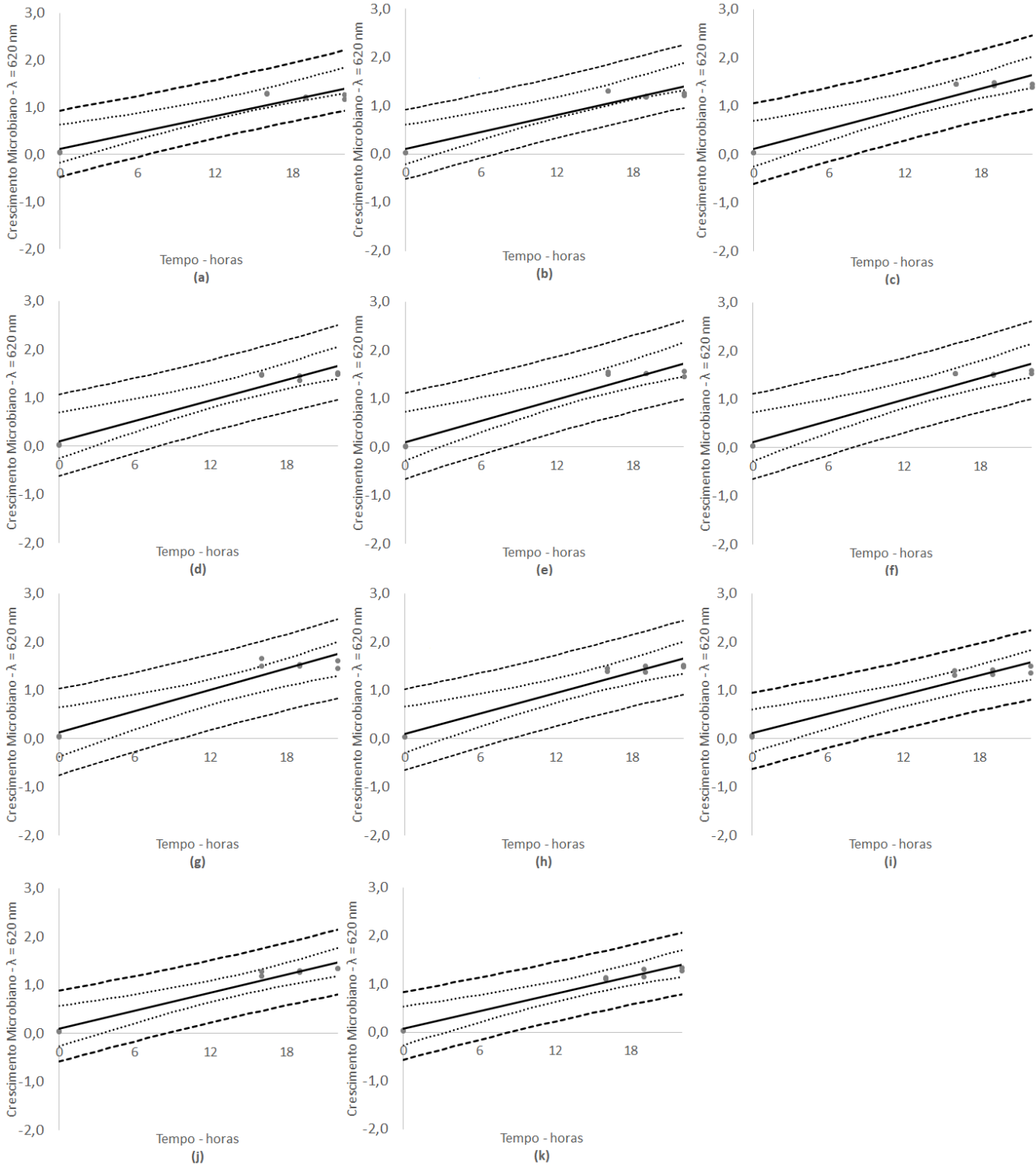
Figura 9 - Regressão linear (—), intervalo de confiança para a média (....), e intervalo de predição para a amostra (---) do período com crescimento microbiano de *Staphylococcus aureus* (de 0 a 22 h de incubação a 36 °C) em diferentes concentrações de EAAP



Fonte: Autoria própria (2022).

(a) 0,0%; (b) 0,5%; (c) 1,0%; (d) 1,5%; (e) 2,0%; (f) 2,5%; (g) 3,0%; (h) 3,5%; (i) 4,0%; (j) 4,5%; (k) 5,0% de extrato acético de aipo em pó.

Figura 10 - Regressão linear (—), intervalo de confiança para a média (....), e intervalo de predição para a amostra (---) do período com crescimento microbiano de *Clostridium perfringens* (de 0 a 22 h de incubação a 36 °C) em diferentes concentrações de EAAP



Fonte: Autoria própria (2022).

(a) 0,0%; (b) 0,5%; (c) 1,0%; (d) 1,5%; (e) 2,0%; (f) 2,5%; (g) 3,0%; (h) 3,5%; (i) 4,0%; (j) 4,5%; (k) 5,0% de extrato acético de aipo em pó.

Tabela 2 - Parâmetros de regressão linear do crescimento microbiano

Microrganismo	Coeficientes	Concentração (%) de C100										
		0	0,5	1	1,5	2	2,5	3	3,5	4	4,5	5
<i>Salmonella</i> <i>Typhimurium</i>	xi	0,0709ab	0,0729a	0,0727a	0,0701abc	0,0710ab	0,0648abc	0,0627bc	0,0626bc	0,0607c	0,0564bc	0,0481c
	yi	0,0638	0,1333	0,0746	0,1196	0,1045	0,1076	0,1205	0,0891	0,0552	0,0678	0,0997
	R ²	0,9613	0,9367	0,9450	0,9371	0,9225	0,9144	0,9352	0,9144	0,9446	0,9099	0,7781
	SE	3,8058	2,5656	3,4599	2,7097	2,8537	2,7876	2,6941	3,0634	4,0205	3,4944	2,4643
<i>Escherichia coli</i>	xi	0,0776a	0,0787a	0,0700ab	0,7410a	0,0666abc	0,0635abc	0,0606abc	0,0550abc	0,0474bc	0,0377bc	0,0331c
	yi	0,1140	0,1047	0,1128	0,1083	0,0730	0,0669	0,0588	0,0593	0,0385	0,0659	0,0283
	R ²	0,9225	0,9372	0,8867	0,9277	0,9136	0,9387	0,9046	0,8818	0,8856	0,8911	0,8804
	SE	2,7322	2,8964	2,6401	2,8190	3,3814	3,6292	3,7305	3,6211	4,5134	3,4712	5,2334
<i>Listeria innocua</i>	xi	0,0496a	0,0340ab	0,0270abc	0,0149abcd	0,0148abcd	0,0126abcd	0,0091d	0,0112bcd	0,0156abcd	0,0122abcd	0,0091cd
	yi	0,1533	0,0503	0,0675	0,0928	0,1000	0,0742	0,1612	0,0997	0,0479	0,1188	0,1326
	R ²	0,9205	0,9583	0,9470	0,8695	0,8288	0,7692	0,6605	0,5860	0,8673	0,6632	0,5197
	SE	2,3510	4,2728	3,6450	2,8543	2,6209	2,8238	1,6451	1,8559	3,9628	1,9241	1,4272
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	xi	0,0708a	0,0721a	0,0643ab	0,0633ab	0,0610ab	0,0584bc	0,0572bc	0,0552bc	0,0447c	0,0409c	0,0314c
	yi	0,1010	0,0602	0,1519	0,1310	0,1287	0,1579	0,1441	0,1259	0,1316	0,1404	0,1404
	R ²	0,9138	0,9246	0,9221	0,9207	0,9262	0,9116	0,9320	0,9339	0,9645	0,8930	0,9163
	SE	2,8753	3,7684	2,3659	2,5438	2,5818	2,2941	2,4552	2,6320	2,6587	2,3832	2,4454
<i>Staphylococcus aureus</i>	xi	0,0721a	0,0726a	0,0731a	0,0700a	0,0676a	0,0662a	0,0637a	0,0638a	0,0644a	0,0598a	0,0582a
	yi	0,0919	0,1043	0,1377	0,1273	0,1479	0,1251	0,1514	0,1721	0,1314	0,1824	0,1857
	R ²	0,9202	0,9491	0,9334	0,9378	0,9362	0,9383	0,9329	0,9405	0,9467	0,9404	0,9088
	SE	3,0355	2,9388	2,5154	2,6284	2,4344	2,6529	2,3976	2,2671	2,6116	2,2019	2,1089
<i>Clostridium perfringens</i>	xi	0,0580a	0,0592a	0,0694a	0,7050a	0,0742a	0,0742a	0,0736a	0,0708a	0,0665a	0,0624a	0,0599a
	yi	0,1203	0,1000	0,1107	0,1052	0,0945	0,1125	0,1269	0,0977	0,1161	0,0927	0,0776
	R ²	0,9100	0,9081	0,9290	0,9385	0,9313	0,9445	0,9146	0,9539	0,9497	0,9642	0,9790
	SE	2,6237	2,8717	2,7922	2,8935	3,0295	2,8160	2,5674	3,0518	2,7872	3,1668	3,5144

Fonte: Autoria própria (2022).

xi—coeficiente angular; yi—coeficiente linear; R²—coeficiente de determinação; SE—Erro padrão; SQ—soma dos quadrados (577,5); n—número de observações (8); GL—graus de liberdade (6); t_{α/2}—valor da distribuição t de Student (2,9687); Nível de confiança (0,95). Letras minúsculas diferentes indicam diferenças significativas pelo teste de Kruskal-Wallis ($p < 0,05$).

5.2 Análises físico-químicas

Os resultados foram apresentados como média \pm desvio padrão, submetidos à análise de variância, entre as formulações B, C, T1, T2 e T3. O teste de Tukey ($p < 0,05$) foi utilizado para testar a hipótese que todas as médias das variáveis resposta (umidade, proteína, gordura, pH, nitrato, nitrito, PPC e teor de cálcio) das amostras seriam iguais ou, ao menos, uma das médias diferente das demais.

Não houve diferença significativa ($p < 0,05$) entre as amostras quanto aos teores de proteína e cálcio. Porém, todas as amostras apresentaram diferenças significativas no conteúdo de gordura. As amostras C e T1 foram as amostras com maior e menor teor de gordura, respectivamente. Já para umidade, apenas as amostras C e T3 não diferiram significativamente entre si. A amostra T1 foi a com maior umidade.

As diferenças nos valores de gordura e umidade são inerentes as formulações, devido variação dos ingredientes, pois foi produzida uma batelada para cada amostra e não uma com a mesma matéria-prima para posterior divisão e adição dos demais ingredientes. Todas as amostras apresentaram valores de umidade, proteína, gordura e teor de cálcio a base seca em conformidade com os padrões estabelecidos pela Instrução Normativa n.º 4, de 31 de março de 2000, do Ministério da Agricultura, Pecuária e do Abastecimento (Mapa) (BRASIL, 2000). Os valores de pH variaram pouco e apenas as amostras B e T3 apresentaram diferenças significativas entre suas médias.

Os resultados das análises físico-químicas estão apresentados na Tabela 3.

Tabela 3 - Análises físico-químicas para as amostras de linguiça frescal (média \pm desvio padrão)

Amostras	Umidade (%)	Proteína (%)	Gordura (%)	pH	Nitrato (ppm)	Nitrito (ppm)	PPC (%)	Teor de cálcio a base seca (%)
B	62,47 ^b \pm 0,07	14,32 ^a \pm 0,04	18,48 ^c \pm 0,02	6,48 ^b \pm 0,00	0,42 ^d \pm 0,36	0,00 ^e \pm 0,00	23,33 ^a \pm 0,88	< 0,1 ^a
C	60,49 ^d \pm 0,03	13,92 ^a \pm 0,05	20,61 ^a \pm 0,03	6,53 ^{ab} \pm 0,02	54,74 ^c \pm 0,35	84,28 ^d \pm 0,60	22,00 ^a \pm 0,58	< 0,1 ^a
T1	62,95 ^a \pm 0,09	15,51 ^a \pm 0,08	16,67 ^e \pm 0,01	6,69 ^{ab} \pm 0,10	134,92 ^b \pm 2,38	261,71 ^c \pm 0,66	17,67 ^b \pm 0,88	< 0,1 ^a
T2	61,68 ^c \pm 0,04	15,41 ^a \pm 0,05	17,83 ^d \pm 0,10	6,61 ^{ab} \pm 0,01	165,06 ^a \pm 0,09	324,85 ^a \pm 5,78	17,67 ^b \pm 0,33	< 0,1 ^a
T3	60,36 ^d \pm 0,01	16,72 ^a \pm 1,50	19,71 ^b \pm 0,02	6,72 ^a \pm 0,01	167,75 ^a \pm 5,81	303,90 ^b \pm 0,26	23,67 ^a \pm 0,67	< 0,1 ^a

Fonte: Autoria própria (2022).

Médias na mesma coluna, seguidas por letras minúsculas sobrescritas distintas diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de significância de 5%. B (branco): linguiça frescal com 0% de sal de cura, 0% de lactato de sódio e 0% de EAAP; C (controle): linguiça frescal com 0,15% de sal de cura e 2% de lactato de sódio; T1: linguiça frescal com 0,15% de sal de cura e 2,5% de EAAP; T2: linguiça frescal com 0,15% de sal de cura e 3,5% de EAAP; e T3: linguiça frescal com 0% de sal de cura e 4,5% de EAAP.

Em estudo realizado por Pietrasik, Gaudette e Johnston (2016) aplicando aipo em pó em comparação com a adição direta de nitrito de sódio em presunto, os autores reportaram que nas amostras no qual foi utilizado aipo em pó, em concentração equivalente a 2 % de nitrito de sódio, o pH foi significativamente maior ($p < 0,05$). Sabe-se, que o pH ácido interfere na reação de cura, deslocando o equilíbrio químico a favor da formação de óxido nítrico. Consequentemente, reduzindo o conteúdo de nitrito residual. O óxido nítrico e outros produtos secundários da reação do nitrito possuem ação antimicrobiana (HORSCH *et al.*, 2014).

Com relação aos valores de nitrato e nitrito, as amostras T2 e T3 diferiram significativamente ($p < 0,05$). Os maiores valores de nitrato e nitrito foram observados na amostra T2 e os menores na amostra B. As amostras T1, T2 e T3 ficaram com valores acima dos 150 ppm de nitrito permitidos pela Resolução da Diretoria Colegiada nº 272 de 14 de março de 2019 (BRASIL, 2019). O nitrito sintético foi mantido na formulação das amostras T1 e T2, pois, o EAAP não demonstrou efeito inibitório sobre o *Clostridium perfringens* no ensaio *in vitro*. No estudo realizado por Myers *et al.* (2013), utilizando nitrito sintético e aipo em pó, foi reportado que os valores de nitrito, quando proveniente de fonte natural, são mais estáveis e decrescem a uma cinética mais lenta comparado ao de nitrito sintético.

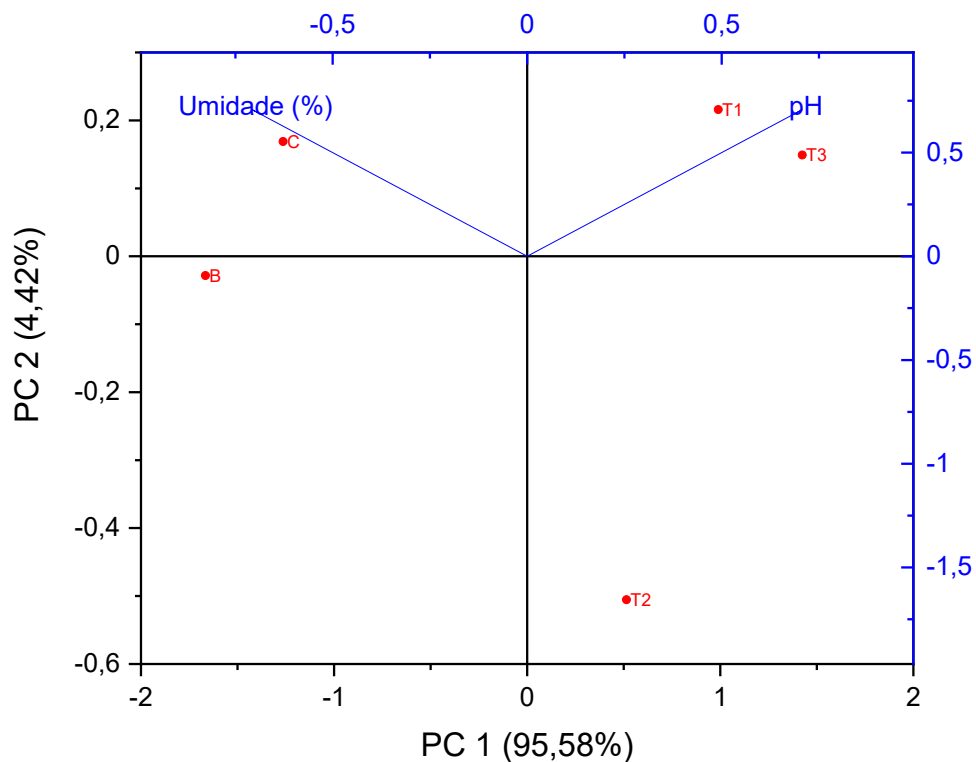
Para os valores do PPC, as amostras com maiores valores (B, C e T3) não diferiram significativamente entre si, enquanto os menores valores foram identificados para as amostras T1 e T2. Em termos de rendimento, as amostras T1 e T2 foram 4 % superior em relação à amostra C.

Sabe-se que carnes e produtos cárneos sofrem perda de água durante o aquecimento, devido à degradação de proteínas. Este processo é influenciado por uma série de fatores, como: características da carne, força iônica, pH e oxidação de proteínas e lipídios. A perda de peso por cozimento é um importante parâmetro de qualidade que representa rendimento da carne ao consumidor, influenciado pela capacidade de retenção de água nas estruturas da carne (KIM *et al.*, 2019). Assim como demais propriedades funcionais da carne, a capacidade de retenção de água é dependente das interações entre proteína e água, sendo influenciada pelo pH da carne (SHIMOKOMAKI *et al.*, 2006).

Na Figura 10 está apresentado o resultado da aplicação da ACP para as análises de pH e umidade em que foi observado que a projeção CP 1 x CP 2

demonstrou 100% da variância. O fator 1 foi responsável por 95,58% da variância, sendo que as amostras T1 e T3 foram projetadas com valores de CP 1 positivos para o pH, enquanto as amostras B e C foram projetadas com valores de CP 1 negativos para a umidade. Desta forma, é possível inferir que pH e umidade são grandezas inversamente proporcionais. Já a amostra T2 está posicionada na parte inferior com base no valor do pH.

Figura 11 - Gráfico Biplot da ACP para as variáveis umidade e pH

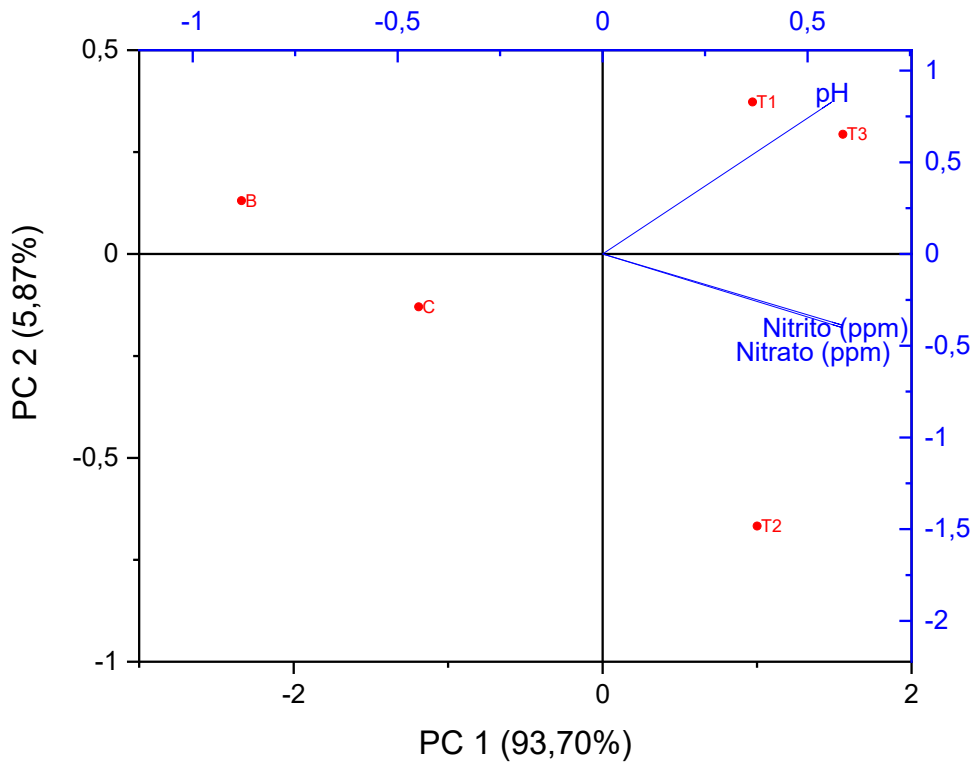


Fonte: Autoria própria (2022).

Correlacionando-se os valores de pH, nitrito e nitrato, na Figura 11 está demonstrado o resultado da aplicação da ACP em que se observa que a projeção CP 1 x CP 2 explicou 99,57% da variância. O fator 1 foi responsável por 93,70% da variância com as amostras T1 e T3 projetadas com valores de CP 1 positivos para nitrito e nitrato e as amostras B e C projetadas com valores negativos. O fator 2 foi responsável por 5,87% da variância e o pH está projetado na CP 2 positiva. Desta forma é possível inferir que pH e nitrito e nitrato são grandezas correlacionadas

positivamente. A amostra T2 está posicionada na parte inferior da CP 2 com base no valor do pH.

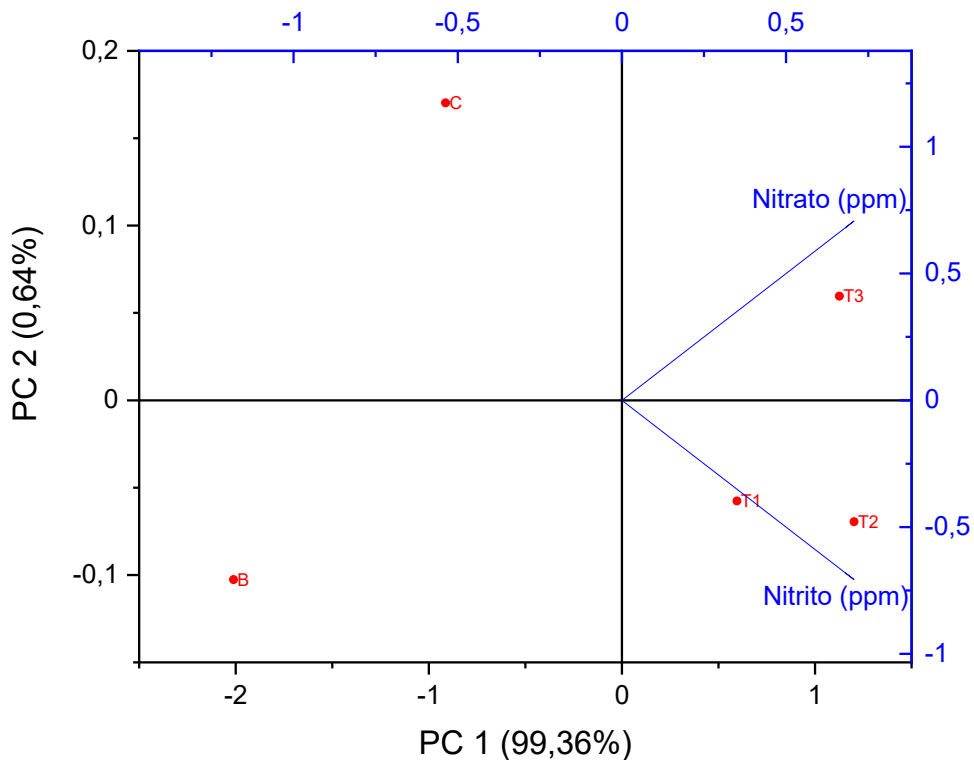
Figura 12 - Gráfico Biplot da ACP para as variáveis nitrito, nitrato e pH



Fonte: Autoria própria (2022).

Por fim, correlacionando-se as variáveis nitrito e nitrato, na Figura 12 está apresentado 100% de variância explicada entre CP 1 e CP 2. Valores de nitrito e nitrato estão localizados no lado positivo do gráfico, tanto para as amostras T1, quanto T2 e T3, correlacionando-se positivamente. Já as amostras B e C, se encontram localizadas na parte negativa do gráfico, permitindo inferir que a adição do sal de cura e do EAAP contribui para o aumento dos valores de nitrito e nitrato.

Figura 13 - Gráfico Biplot da ACP para as variáveis nitrito e nitrato



Fonte: Autoria própria (2022).

5.3 Análises microbiológicas

Para bactérias mesófilas aeróbias totais, os maiores valores foram detectados na amostra C. Os menores foram detectados na amostra B e T1 (Tabela 4). Todas as amostras apresentaram resultados em acórdância com o padrão estabelecido pela Instrução Normativa nº 161, de 1º de Julho de 2022 (BRASIL, 2022b), e pela RDC 724, de 01 de julho de 2022 (BRASIL, 2022c), mostrando-se adequadas para o consumo humano. Nenhuma amostra indicou presença de *Escherichia coli* (< 10 UFC/g), *Salmonella* Enteritidis e *Salmonella* Typhimurium (ausência em 25 g).

Quando o processo tecnológico não é realizado de forma adequada e as recomendações higiênico-sanitárias não são respeitadas, há tendência da contagem microbiana, especialmente com respeito a contagem total de bactérias mesófilas (GALARZ; FONSECA; PRENTICE-HERNÁNDEZ, 2010).

Tabela 4 - Análises microbiológicas para as amostras de linguiça fresca

Amostras	Bactérias Mesófilas Aeróbias (UFC/g)	<i>Escherichia coli</i> (UFC/g)	<i>Salmonella</i> Enteritidis	<i>Salmonella</i> Typhimurium
Valores Referência ⁽¹⁾	10 ⁶	5x10 ³	Ausência em 25g	Ausência em 25g
B	9,73x10 ^{2b} ±7,51x10	< 10	Ausência em 25g	Ausência em 25g
C	7,97x10 ^{3a} ±2,62x10 ³	< 10	Ausência em 25g	Ausência em 25g
T1	8,00x10 ^{2b} ±1,04x10 ²	< 10	Ausência em 25g	Ausência em 25g
T2	4,70x10 ^{3ab} ±1,06x10 ³	< 10	Ausência em 25g	Ausência em 25g
T3	5,93x10 ^{3ab} ±6,44x10 ²	< 10	Ausência em 25g	Ausência em 25g

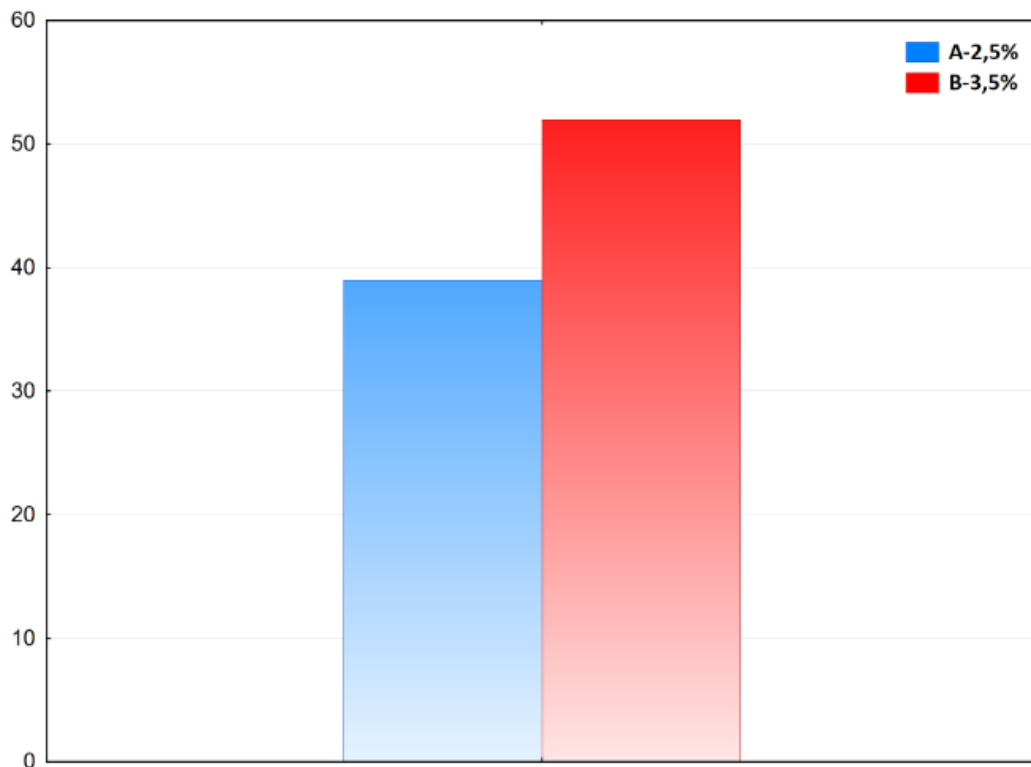
Fonte: Autoria própria (2022).

Médias na mesma coluna, seguidas por letras minúsculas sobrescritas distintas diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de significância de 5%. B (branco): linguiça fresca com 0% de sal de cura, 0% de lactato de sódio e 0% de EAAP; C (controle): linguiça fresca com 0,15% de sal de cura e 2% de lactato de sódio; T1: linguiça fresca com 0,15% de sal de cura e 2,5% de EAAP; T2: linguiça fresca com 0,15% de sal de cura e 3,5% de EAAP; e T3: linguiça fresca com 0% de sal de cura e 4,5% de EAAP.

5.4 Análise sensorial

No teste duo-trio, 65 % dos provadores (n = 39) identificaram a amostra T1 diferente do padrão e 86,67 % dos provadores (n = 52) identificaram diferença entre a amostra T2 e padrão (Figura 13).

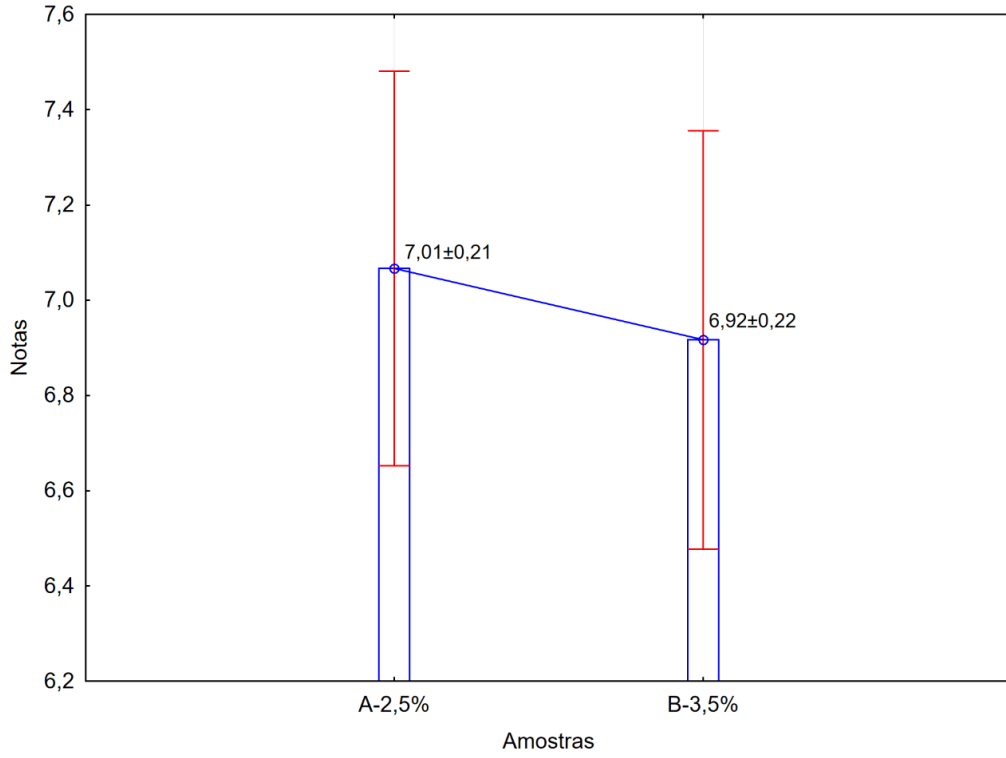
Figura 14 - Número de avaliadores que identificaram diferença entre a amostra T1 (A) e T2 (B) e o padrão no teste duo trio



Fonte: Autoria própria (2022).

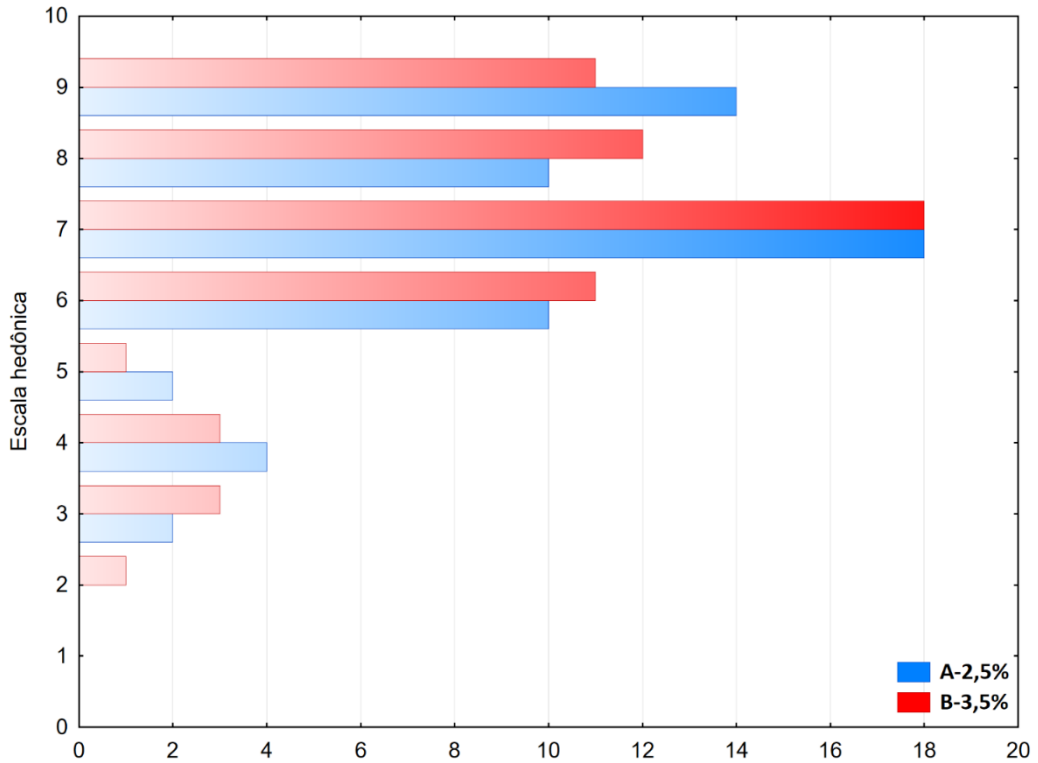
As formulações T1 e T2 não apresentaram diferença significativa com relação as médias das notas no teste de aceitação e na preferência entre elas, Figuras 14, 15 e 16.

Figura 15 - Notas médias \pm desvio padrão do teste de aceitação para T1 (A) e T2 (B)

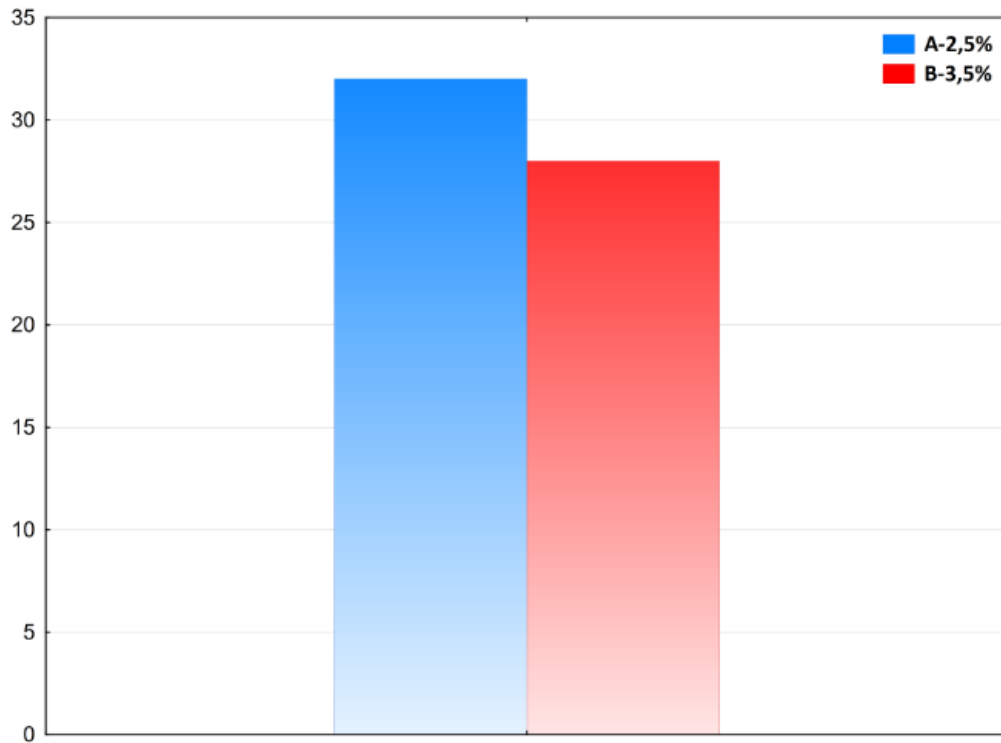


Fonte: Autoria própria (2022).

Figura 16 - Notas teste de aceitação para T1 (A) e T2 (B)



Fonte: Autoria própria (2022).

Figura 17 - Número de avaliadores que preferem T1 (A) e T2 (B)

Fonte: Autoria própria (2022).

Os provadores perceberam diferença significativa entre as amostras sem e com adição de EAAP, no entanto, diante das notas do teste de aceitação, os mesmos não rejeitaram as amostras com 2,5% e 3,5% de EAAP. Este resultado confirma os resultados encontrados em estudos anteriores por Jin *et al.* (2018), Sebranek e Bacus (2007) e Sindelar *et al.* (2007), em que a adição de aipo não gerou nenhum sabor desagradável em produtos cárneos. A presença do vinagre nos percentuais da mistura avaliados também não trouxe atributos sensoriais negativos, pois concentrações de 2% ou 2,5% podem causar alterações nas características sensoriais dos produtos (PONRAJAN *et al.*, 2012).

6 CONCLUSÃO

Conclui-se que o EAAP é capaz de inibir parcialmente alguns microrganismos de comum ocorrência em linguiça frescal de frango, como *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella* sp. e *Escherichia coli*, contribuindo para a segurança microbiológica da matriz. No entanto o uso concomitante de EAAP e adição direta de nitrito de sódio, nas doses praticadas nos tratamentos T1, T2 e T3, extrapola o limite máximo permitido pela Resolução da Diretoria Colegiada nº 272 de 14 de março de 2019 (BRASIL, 2019). No entanto, devido a resistência do *Clostridium perfringens* ao EAAP, a substituição total do nitrito de sódio quimicamente sintetizado pelo nitrito pré-convertido do aipo, deve ser analisado com cautela. Isso destaca a importância do avanço dos estudos com relação ao potencial inibitório de fontes naturais para alcançar o mesmo nível de segurança microbiológica do nitrito sintético, principalmente em relação ao grupo clostrídio.

REFERÊNCIAS

- ABPA. **Relatório Anual 2022**. São Paulo: Associação Brasileira de Proteína Animal, 2022. Disponível em: <https://abpa-br.org/wp-content/uploads/2022/05/Relatorio-Anual-ABPA-2022-1.pdf>. Acesso em: 6 jun. 2022.
- ADAMI, F. S. **Teor de nitrato e nitrito e análise microbiológica em linguiças e queijos**. 2015. Tese (Dourado em Ambiente e Desenvolvimento) - Centro Universitário UNIVATES, Lajeado, 2015. Disponível em: <https://www.univates.br/bduserver/api/core/bitstreams/ce593b3a-b3d0-44ff-9318-9e1154ddf9f2/content>. Acesso em: 12 mar. 2022.
- ALVES, V. C. F. **Conservação do polvo *Octopus insularis* (Mollusca, Cephalopoda) utilizando diferentes aditivos químicos**. 2018. Dissertação (Mestrado em Produção Animal) - Universidade Federal Rural do Semi-Árido, Mossoró, 2018. Disponível em: https://sucupira.capes.gov.br/sucupira/public/consultas/coleta/trabalhoConclusao/viewTrabalhoConclusao.jsf?popup=true&id_trabalho=7454623. Acesso em: 22 jul. 2022.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS (AOAC). Official Methods of Analysis. RI Performance Tested Methods 081903. In: **Official Methods of analysis of AOAC International**. 21th, 2019.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS (AOAC). Official Methods of Analysis. RI Performance Tested Methods 081904. In: **Official Methods of analysis of AOAC International**. 21th, 2019a.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS (AOAC). Official Methods of Analysis Microbiological Methods. 990.12. In: **Official Methods of analysis of AOAC International**. 21th, 2019b.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS (AOAC). Official Methods of Analysis. Microbiological Methods. 998.08. In: **Official Methods of analysis of AOAC International**. 21th. ed., 2019c.
- BARBOSA, J. **O que são embutidos? Origem, evolução e legislação**. Disponível em: <https://foodsafetybrazil.org/o-que-sao-embutidos-origem-evolucao-e-legislacao/>. Acesso em: 12 mar. 2022.
- BEDALE, W. *et al.* Dietary nitrate and nitrite: Benefits, risks, and evolving perceptions. **Meat Science**, v. 120, p. 85-92, 2016. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0309174016300638>. Acesso em: 17 mar. 2022.
- BENVENUTTI, P. DE P. **Estudo de caso: indicadores de frescor em produtos cárneos**. 2020. Trabalho de conclusão de curso (Bacharel em Engenharia Química) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2020. Disponível em: <https://lume.ufrgs.br/handle/10183/235775>. Acesso em: 21 abr. 2022.

BIANCO JUNIOR, A. **Nitrato e nitrito de sódio em carnes em natureza e em produtos cárneos sem suas adições**. 2020. Dissertação (Mestrado em Alimentos de Origem Animal) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2020. Disponível em:

<https://lume.ufrgs.br/handle/10183/225755#:~:text=Nitrato%20e%20nitrito%20de%20s%C3%B3dio%20ou%20pot%C3%A1ssio%20s%C3%A3o%20aditivos%20alimentares,c%C3%A9lulas%20vegetativas%20de%20Clostridium%20botulinum>. Acesso em: 11 ago. 2022.

BONA, E. A. M. DE *et al.* Comparação de métodos para avaliação da atividade antimicrobiana e determinação da concentração inibitória mínima (cim) de extratos vegetais aquosos e etanólicos. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 81, n. 3, p. 218–225, 2014. Disponível em:

<https://www.scielo.br/j/aib/a/mwDLMCbVGPRvH4gdFNJMV4F/abstract/?lang=pt>. Acesso em: 12 mar. 2022.

BRADLEY, E. M. **Effects of sodium lactate and acetic acid derivatives on the quality and sensory characteristics of hot-boned pork sausage patties**. 2010.

Thesis (Master's in Food Science, Nutrition and Health Promotion) - Faculty of Mississippi State University, Mississippi, 2010. Disponível em:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0309174010004456>. Acesso em: 21 abr. 2022.

BRASIL. Portaria nº 540, de 27 de outubro de 1997. Aprova o Regulamento Técnico: Aditivos Alimentares - definições, classificação e emprego. **Diário Oficial da União**, Seção 1, Brasília, DF, 28 out. 1997. Disponível em:

https://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/svs/1/1997/prt0540_27_10_1997.html. Acesso em: 1 mai. 2022.

BRASIL. Instrução Normativa nº 4, DE 31 de março de 2000. Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Linguiça. **Diário Geral da União**, Seção 1, Brasília, DF, ed. 6, p.66, 05 abr. 2000. Disponível em: <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/suasa/regulamentos-tecnicos-de-identidade-e-qualidade-de-produtos-de-origem-animal-1/rtiq-carneos-e-seus-derivados-1>. Acesso em: 1 mai. 2022.

BRASIL. Decreto 9.013 de 29 de março de 2017:Regulamenta a Lei nº 1.283, de 18 de dezembro de 1950, e a Lei nº 7.889, de 23 de novembro de 1989, que dispõem sobre a inspeção industrial e sanitária de produtos de origem animal. **Diário Oficial da União Edição 62**, p. 3–116, 2017. Disponível em:

<https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/aquicultura-e-pesca/legislacao/legislacao-geral-da-pesca/decreto-no-9-013-de-29-03-2017.pdf/view>. Acesso em: 1 mai. 2022.

BRASIL. Resolução RDC nº 272, de 14 de março de 2019. Estabelece os aditivos alimentares autorizados para uso em carnes e produtos cárneos. **Diário Oficial da União**. Seção 1, Brasília, DF, ed. 52, p. 194, 18 mar. 2019. Disponível em:

https://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2019/rdc0272_14_03_2019.pdf. Acesso em: 01 mai. 2022.

BRASIL. **Métodos Oficiais para Análise de Produtos de Origem Animal**. 1. ed. Brasília: Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, 2022a. Disponível em: https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/lfda/legislacao-metodos-da-rede-lfda/poa/metodos_oficiais_para_analise_de_produtos_de_origem_animal-_1a_ed-_2022_assinado.pdf. Acesso em: 12 out. 2021.

BRASIL. Instrução Normativa n° 161, de 1° de Julho de 2022. Estabelece os padrões microbiológicos dos alimentos. **Diário Oficial da União**. Seção 1, Brasília, DF, 126. ed., p. 235, 06 set. 2022b. Disponível em: http://antigo.anvisa.gov.br/documents/10181/2718376/IN_161_2022_.pdf/b08d70cb-add6-47e3-a5d3-fa317c2d54b2. Acesso em: 15 set. 2022.

BRASIL. Resolução RDC n° 724, de 1° de julho de 2022. Dispõe sobre os padrões microbiológicos dos alimentos e sua aplicação. **Diário Oficial da União**. Seção 1, Brasília, DF, 126. ed., p 205, 06 jul. 2022c. Disponível em: http://antigo.anvisa.gov.br/documents/10181/2718376/RDC_724_2022_.pdf/33c61081-4f32-43c2-9105-c318fa6069ce#:~:text=Disp%C3%B5e%20sobre%20os%20padr%C3%B5es%20microbiol%C3%B3gicos%20dos%20alimentos%20e%20sua%20aplica%C3%A7%C3%A3o.&text=DISPOSI%C3%87%C3%95ES%20PRELIMINARES-,Art.,dos%20alimentos%20e%20sua%20aplica%C3%A7%C3%A3o. Acesso em: 15 set. 2022.

BRITO, J. M. DE S.; COELHO, R. M. D. Características microbiológicas da carne de frango: uma revisão narrativa. **Brazilian Journal of Development**, v. 7, n. 6, p. 62781–62795, 2021. Disponível em: <https://ojs.brazilianjournals.com.br/ojs/index.php/BRJD/article/view/31869#:~:text=Microrganismos%20de%20produtos%20de%20origem,Salmonella%20sp.%20Campylobacter%20sp>. Acesso em: 12 out. 2022.

CETIN-KARACA, H.; GLISAN, S. Reformulation Challenges with Functional Ingredients in Packaged Meat Products. **Food Safety Magazine**, 2022. Disponível em: <https://www.food-safety.com/articles/7664-reformulation-challenges-with-functional-ingredients-in-packaged-meat-products>. Acesso em: 12 out. 2022.

DEVÈZE, C. C. **Substituição de nitrito de sódio por extrato vegetal na elaboração de produto cárneo cozido enlatado**. 2021. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) - Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Araçatuba, 2021. Disponível em: <https://repositorio.unesp.br/handle/11449/215138>. Acesso em: 12 mar. 2022.

DIESEL, G. **Desenvolvimento de linguiça frescal clean label em unidade industrial de carnes**. 2017. Trabalho de conclusão de curso (Bacharel em Engenharia Química) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Ponta Grossa, 2017. Disponível em: <https://repositorio.utfpr.edu.br/jspui/handle/1/16553>. Acesso em: 21 abr. 2022.

FOOD INGREDIENTS BRASIL. Dossiê Conservantes. **Food Ingredients Brasil**, p. 30–50, 2017. Disponível em: https://revista-fi.com/upload_arquivos/201711/2017110730727001512043728.pdf. Acesso em: 17

jul. 2022.

FRANZEN, F. DE L. *et al.* Microbiota e conservação de produtos frescos. **Agropecuária Catarinense**, v. 33, n. 3, p. 77–82, 2020. Disponível em: <https://publicacoes.epagri.sc.gov.br/rac/article/view/764>. Acesso em: 7 jun. 2022.

GALARZ, L.; FONSECA, G.; PRENTICE-HERNÁNDEZ, C. Crescimento microbiano em produtos à base de peito de frango durante simulação da cadeia de abastecimento. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 30, n. 4, p. 870–877, 2010. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/cta/a/df8C9rrH3jywKfjWFPgKfKP/abstract/?lang=pt>. Acesso em: 12 mar. 2022.

GANECO, A. G. **Características qualitativas da carne de frango de corte proveniente de diferentes sistemas de produção**. 2016. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Jaboticabal, 2016. Disponível em: https://repositorio.unesp.br/bitstream/handle/11449/134321/giampietroganeco_a_dr_justo_abo_int.pdf?sequence=4&isAllowed=y#:~:text=As%20m%C3%A9dias%20dos%20resultados%20obtidos,do%20peito%20e%20coxa. Acesso em: 9 ago. 2022.

GEORGES, S. O. *et al.* Ecofisiologia microbiana e micro-organismos contaminantes de linguiça sumiã e de frango do tipo frescal. **B.CEPPA**, v. 36, n. 1, p. 1–15, 2019. Disponível em: <https://revistas.ufpr.br/alimentos/article/view/41820>. Acesso em: 15 mar. 2022.

GODOY, C. L. DE A. **Aplicação de bio-conservador potencialmente postbiótico para estender a validade comercial de matrizes temperadas resfriadas de frango**. 2021. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) - Universidade Federal do Paraná, Palotina, 2021.

HARTMANN, A. A.; SILVA, R. R. **Estudo do uso combinado de lactato de sódio e cloreto de cálcio em peito de frango defumado**. 2011. Trabalho de conclusão de curso (Graduação em Tecnologia em Industrialização de Carnes) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Medianeira, 2011. Disponível em: https://repositorio.utfpr.edu.br/jspui/bitstream/1/13313/2/MD_COALM_2011_1_03.pdf. Acesso em: 13 mai. 2022.

HORITA, S. A. **Salsão**. São Paulo, 2022. Disponível em: <https://www.medicofisiatra.com.br/post/sals%C3%A3o>. Acesso em: 03 dez. 2022.

HORSCH, A. M. *et al.* The effect of pH and nitrite concentration on the antimicrobial impact of celery juice concentrate compared with conventional sodium nitrite on *Listeria monocytogenes*. **Meat Science**, v. 96, n. 1, p. 400–407, 2014. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23973624/>. Acesso em: 24 jul. 2022.

JIN, S. *et al.* Natural curing agents as nitrite alternatives and their effects on the physicochemical, microbiological properties and sensory evaluation of sausages

during storage. **Meat Science**, v. 146, p. 34–40, 2018. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0309174018302729>. Acesso em: 23 ago. 2022.

KIM, T. *et al.* Quality characteristics of pork loin cured with green nitrite source and some organic acids. **Meat Science**, v. 152, p. 141–145, 2019. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30827821/>. Acesso em: 12 mar. 2022.

LEE, S. H. *et al.* Combined effect of high pressure and vinegar addition on the control of *Clostridium perfringens* and quality in nitrite-free emulsion-type sausage. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, v. 52, p. 429–437, 2019. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1466856418308154>. Acesso em: 15 jun. 2022.

LOPES, K. S. M. *et al.* Aceitabilidade de embutido de frango com ou sem recheio. **Tecnologia & Ciência Agropecuária**, v. 9, n. 4, p. 1–5, 2015. Disponível em: <https://www.dracena.unesp.br/Home/Eventos/SICUD2012/151.pdf>. Acesso em: 11 abr. 2022.

MARQUES, F. P. P. *et al.* Padrões de identidade e qualidade de fermentados acéticos comerciais de frutas e vegetais. **Ciencia e Tecnologia de Alimentos**, v. 30, n. 1, p. 119–126, 2010. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/cta/a/rkCQxrR4xvPZhsrmHbsKQhL/abstract/?lang=pt>. Acesso em: 18 ago. 2022.

MOTA, L. C. **Atividade antimicrobiana de extratos vegetais em frangos de corte de crescimento lento desafiados com *Salmonella Heidelberg***. 2019. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2019. Disponível em: <https://pesquisa.bvsalud.org/portal/resource/pt/vtt-212504>. Acesso em: 18 ago. 2022.

MUNARI, T. B. Condições higienicossanitárias na produção de embutidos cárneos em um frigorífico localizado na região de Criciúma - SC. **Higiene Alimentar**, v. 30, n. 254–255, p. 70–73, 2016. Disponível em: <https://pesquisa.bvsalud.org/portal/resource/pt/biblio-836640>. Acesso em: 13 mar. 2022.

MYERS, K. *et al.* Effects of high hydrostatic pressure and varying concentrations of sodium nitrite from traditional and vegetable-based sources on the growth of *Listeria monocytogenes* on ready-to-eat (RTE) sliced ham. **Meat Science**, v. 94, n. 1, p. 69–76, 2013. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0309174013000090>. Acesso em: 25 jul. 2022.

NETO, F. C. DAS C. **Desenvolvimento do extrato seco de *Libidibia ferrea* (Jucá) como alimento funcional**: caracterização química e avaliação das atividades antioxidantes e anti-inflamatória em modelo de neuroinflamação. 2018. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2018. Disponível em: <https://repositorio.ufc.br/handle/riufc/30226>. Acesso em: 3 ago.

2022.

NUNES, M. A. DA S. **Estudo de alternativas naturais a aditivos utilizados em produtos cárneos à base de aves na Empresa X**. 2013. Dissertação (Mestrado em Tecnologia e Segurança Alimentar) - Universidade Nova de Lisboa, Lisboa, 2013. Disponível em: <https://run.unl.pt/handle/10362/19634>. Acesso em: 17 abr. 2022.

OLIVEIRA, M. J. DE; ARAÚJO, W. M. C.; BORGIO, L. A. Quantificação de nitrato e nitrito em lingüiças do tipo frescal. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 25, n. 4, p. 736–742, 2005. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/cta/a/3ccLnVh5wvskZVGntNFs6xj/abstract/?lang=pt#:~:text=Os%20resultados%20indicam%20que%20as,ppm%20para%20a%20fra%C3%A7%C3%A3o%20de>. Acesso em: 12 mar. 2022.

ÖZTÜRK, B.; SERDAROĞLU, M. Effects of Inulin and Sodium Carbonate in Phosphate-Free Restructured Poultry Steaks. **IOP Conference Series: Earth and Environmental Science**, v. 85, n. 1, 2017. Disponível em: <https://iopscience.iop.org/article/10.1088/1755-1315/85/1/012026>. Acesso em: 11 jul. 2022.

PARK, C. H. *et al.* Combined effects of sous-vide cooking conditions on meat and sensory quality characteristics of chicken breast meat. **Poultry Science**, v. 99, n. 6, p. 3286–3291, 2020. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/340059777_Combined_effects_of_sous-vide_cooking_conditions_on_meat_and_sensory_quality_characteristics_of_chicken_breast_meat. Acesso em: 16 ago. 2022.

PEREIRA, M. D. *et al.* Análise microbiológica de *Salmonella spp.* e coliformes a 45°C em frango comercializado em um mercado de grande porte de Belo Horizonte - MG. **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 3, p. 14175–14189, 2020. Disponível em: <https://ojs.brazilianjournals.com.br/ojs/index.php/BRJD/article/view/7928>. Acesso em: 11 mai. 2022.

PEREIRA, M. DO S. V. *et al.* Estudo sobre métodos utilizados para a determinação da atividade antimicrobiana de extratos de plantas medicinais: elucidações e limitações das técnicas. **Brazilian Journal of Development**, v. 8, n. 4, p. 26085–26104, 2022. Disponível em: <https://ojs.brazilianjournals.com.br/ojs/index.php/BRJD/article/view/46446>. Acesso em: 23 agot. 2022.

PIETRASIK, Z.; GAUDETTE, N. J.; JOHNSTON, S. P. The use of high pressure processing to enhance the quality and shelf life of reduced sodium naturally cured restructured cooked hams. **Meat Science**, v. 116, p. 102–109, 2016. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26874593/>. Acesso em: 18 jul. 2022.

PIRES, M. I. G. **Redução do teor de sal em fiambre de peru**. 2020. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) - Universidade de Lisboa, Lisboa, 2020. Disponível em: <https://www.repository.utl.pt/bitstream/10400.5/20952/1/Redu%C3%A7%C3%A3o%2>

Odo%20Teor%20de%20Sal%20em%20Fiambre%20de%20Peru.pdf. Acesso em: 13 mar. 2022.

PONRAJAN, A. *et al.* Effect of sodium citrate plus sodium diacetate or buffered vinegar on quality attributes of enhanced beef top sirloins. **Meat Science**, v. 91, n. 1, p. 43–49, 2012. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0309174011004098>. Acesso em: 18 ago. 2022.

PRETE, R. DE O. *et al.* Caracterização e aplicação de óleo de orégano como antioxidante natural em linguiça suína frescal. **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 7, p. 44109–44118, 2020. Disponível em: <https://repositorio.utfpr.edu.br/jspui/handle/1/12464>. Acesso em: 15 ago. 2022.

RITTER, A. R. C. **Produção de salame tipo Italiano adicionado de culturas iniciadoras nativas e extrato de aipo (*Apium graveolens* L.) como fonte de nitrato**. 2016. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2016. Disponível em: <https://repositorio.ufsm.br/bitstream/handle/1/5693/BIASI%2C%20VANESSA.pdf?sequence=1&isAllowed=y>. Acesso em: 12 mar. 2022.

SAENGPOL, E.; PIRAK, T. Hoary basil seed mucilage as fat replacer and its effect on quality characteristics of chicken meat model. **Agriculture and Natural Resources**, v. 52, n. 4, p. 382–387, 2018. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2452316X17304659>. Acesso em: 14 abr. 2022.

SANTANA, F. E. O. *et al.* **Micro-organismos em linguiça frescal de frango comercializadas na forma a aranel: um fator de risco a saúde pública**. In: CONIMAS - I CONGRESSO INTERNACIONAL DE MEIO AMBIENTE E SOCIEDADE E III CONGRESSO INTERNACIONAL DA DIVERSIDADE DO SEMIÁRIDO. I; III, 2013. **Anais** [...]. Campina Grande: 2019. Disponível em: https://editorarealize.com.br/editora/ebooks/conimas/2019/ebook2/PROPOSTA_EV133_MD1_ID1042_22102019205809.pdf. Acesso em: 23 jun. 2022.

SANTOS, D. L.; TREVIZAM, C. J. Estudo sobre o uso de extrato de aipo e bactérias fermentativas em linguiça. **Revista Engenho**, v. 13, n. 1, p. 18–42, 2021. Disponível em: <https://revistas.anchieta.br/index.php/RevistaEngenho/article/view/1852>. Acesso em: 15 mar. 2022.

SEBRANEK, J. Além de aipo e nova cultura: avanços em cura natural e orgânica. **CarneTec Brasil**, 2012. Disponível em: <https://www.carnetec.com.br/Industry/TechnicalArticles/Details/28101>. Acesso em: 10 out. 2021.

SEBRANEK, J. G.; BACUS, J. N. Cured meat products without direct addition of nitrate or nitrite: what are the issues? **Meat Science**, v. 77, n. 1, p. 136–147, 2007. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0309174007001209>. Acesso em: 10 out. 2021.

SHAFIT, H. M.; WILLIAMS, S. K. Sodium diacetate and sodium lactate affect microbiology and sensory and objective characteristics of a restructured turkey breast product formulated with a fibrin cold-set binding system. **Poultry Science**, v. 89, n. 3, p. 594–602, 2010. Disponível em:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0032579119390133>. Acesso em: 17 jul. 2022.

SHAHIDI, F.; SAMARANAYAKA, A. G. P.; PEGG, R. B. Brine Curing of Meat. In: DIKEMAN, M.; DEVINE, C. (Eds.). **Encyclopedia of Meat Sciences**. 2. ed. New Zealand: Elsevier Ltd, 2014. p. 298. Disponível em:

<https://www.sciencedirect.com/referencework/9780123847348/encyclopedia-of-meat-sciences>. Acesso em: 15 ago. 2022.

SIJTSEMA, P. *et al.* Natural curing and *Listeria monocytogenes* control in an RTE pork ham using a blend of vinegar and celery powder. **Meat and Muscle Biology**, p. 1, 2016. Disponível em:

https://www.researchgate.net/publication/340145103_Natural_Curing_and_Listeria_Monocytogenes_Control_in_an_RTE_Pork_Ham_Using_a_Blend_of_Vinegar_and_Celery_Powder. Acesso em: 2 nov. 2021.

SILVA, F. Á. S. *et al.* Impact of different marketing conditions on the bacteriological quality of meat products. **Research, Society and Development**, v. 11, n. 2, p. 1–9, 2022. Disponível em: <https://rsdjournal.org/index.php/rsd/article/view/31988/27226>. Acesso em: 11 ago. 2022.

SILVA, J. M.; COLOMBO, S. G.; BACHINI, T. V. Modelo De Gestão Para Otimização Do Rendimento De Envoltórios Naturais Na Fabricação De Linguiça Suína Tipo Frescal. **Revista Latino-Americana de Inovação e Engenharia de Produção**, v. 4, n. 5, p. 124–136, 2016. Disponível em:

<https://revistas.ufpr.br/relainep/article/view/38383>. Acesso em: 11 mar. 2022.

SILVA, R. X. A. *et al.* Lactato de sódio, nisina e sua combinação na validade comercial da linguiça Toscana embalada a vácuo e estocada a 4°C. **Ciência Rural**, v. 44, n. 4, p. 746–751, 2014. Disponível em:

<https://www.scielo.br/j/cr/a/qMxKcDdTLc6gKxSk3kf4Grn/abstract/?lang=pt>. Acesso em: 15 abr. 2022.

SINDELAR, J. J. *et al.* Effects of Vegetable Juice Powder Concentration and Storage Time on Some Chemical and Sensory Quality Attributes of Uncured, Emulsified Cooked Sausages. **Journal of Food Science**, v. 72, n. 5, p. S324–S332, 2007. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17995750/>. Acesso em: 12 mar. 2022.

SIQUEIRA, F. S. **Produção de linguiça frescal utilizando o pó de aipo em substituição do nitrito e extrato de alecrim como antioxidante**. 2020.

Dissertação (Mestrado em Nutrição e Alimentos) - Universidade do Vale do Rio dos Sinos, São Leopoldo, 2020. Disponível em:

<http://www.repositorio.jesuita.org.br/handle/UNISINOS/9528>. Acesso em: 2 nov. 2021.

SHIMOKOMAKI, M. *et al.* **Atualidades em ciência e tecnologia de carnes**. São Paulo: Varela, 2006.

SOUZA, S. A. DE. **Avaliação dos efeitos de diferentes temperaturas de congelamento e armazenamento sobre as características microbiológicas, físico-químicas e sensoriais de linguiça suína tipo frescal**. 2014. Dissertação (Mestrado em Engenharia de alimentos) - Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai da Missões, Erechim, 2014. Disponível em: https://www.uricer.edu.br/cursos/arq_trabalhos_usuario/2561.pdf. Acesso em: 14 abr. 2022.

TAVARES, A. S.; LANA, M. M. Hortaliza, como comprar, conservar e consumir: Aipo. **EMBRAPA**, n. 61, p. 1–2, 2016. Disponível em: <https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/handle/doc/1125583?locale=es>. Acesso em: 13 mar. 2022.

TSAFRAKIDOU, P. *et al.* Assessment of the spoilage microbiota in minced free-range chicken meat during storage at 4 C in retail modified atmosphere packages. **Food Microbiology**, v. 99, p. 1–10, 2021. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0740002021000873>. Acesso em: 25 jun. 2022.