

**UNIVERSIDADE DO VALE DO RIO DOS SINOS - UNISINOS
UNIDADE ACADÊMICA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM NUTRIÇÃO E ALIMENTOS
NÍVEL MESTRADO**

FELIPE SEGABINAZZI SIQUEIRA

**PRODUÇÃO DE LINGUIÇA FRESVAL UTILIZANDO O PÓ DE AIPO EM
SUBSTITUIÇÃO AO NITRITO E EXTRATO DE ALECRIM COMO ANTIOXIDANTE**

São Leopoldo

2020

FELIPE SEGABINAZZI SIQUEIRA

**PRODUÇÃO DE LINGUIÇAS UTILIZANDO O PÓ DE AIPO EM SUBSTITUIÇÃO
AO NITRITO E EXTRATO DE ALECRIM COMO ANTIOXIDANTE**

Dissertação apresentada como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Nutrição e alimentos, pelo Programa de Pós-Graduação em Nutrição e Alimentos da Universidade do Vale do Rio dos Sinos - UNISINOS

Orientadora: Prof^a Dr^a Daiana de Souza

São Leopoldo

2020

S618p Siqueira, Felipe Segabinazzi.
Produção de linguiça frescal utilizando o pó de aipo em substituição ao nitrito e extrato de alecrim como antioxidante / por Felipe Segabinazzi Siqueira. – 2020.
86 f. : il. ; 30 cm.

Dissertação (mestrado) — Universidade do Vale do Rio dos Sinos, Programa de Pós-Graduação em Nutrição e Alimentos, São Leopoldo, RS, 2020.
“Orientadora: Dra. Daiana de Souza”.

1. Linguiça frescal. 2. Aipo. 3. Extrato de alecrim.
4. Aditivos naturais. I. Título.

CDU: 664.908

FELIPE SEGABINAZZI SIQUEIRA

**PRODUÇÃO DE LINGUIÇAS UTILIZANDO O PÓ DE AIPO EM SUBSTITUIÇÃO
AO NITRITO E EXTRATO DE ALECRIM COMO ANTIOXIDANTE**

Dissertação apresentada como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Nutrição e Alimentos, pelo Programa de Pós-Graduação em Nutrição e Alimentos da Universidade do Vale do Rio dos Sinos - UNISINOS

Aprovado em 24 setembro 2020

BANCA EXAMINADORA

Dra. Jessica Fernanda Hoffmann – UNISINOS

Dr. Valmor Ziegler – UNISINOS

Dra. Poliana Deyse Gurak – UFCSPA

Dedico este trabalho à minha querida
mãe que sempre me incentivou a buscar
o conhecimento através dos estudos.

AGRADECIMENTOS

A Deus, pelo dom da vida, por ter me dado saúde para obter as conquistas e coragem para enfrentar as adversidades, e tornar possível a concretização de mais uma etapa da minha caminhada.

A Universidade do Vale do Rio dos Sinos (UNISINOS) e ao Mestrado Profissional em Nutrição e Alimentos.

A minha orientadora Profa Dra Daiana de Souza, pela força, confiança e por ter me guiado durante a realização deste trabalho sempre de uma forma muito competente.

Aos funcionários dos laboratórios do Nutrifor, que sem as análises realizadas por eles não seria possível a realização deste trabalho.

A minha mãe, que mesmo com todas as dificuldades, sempre soube me dar educação, me apoiou sempre, e fez eu ser a pessoa que sou hoje.

E a todas as pessoas, que de alguma forma contribuíram na realização deste trabalho.

Muito obrigado!

RESUMO

A linguiça frescal é um produto cárneo muito apreciado no Brasil. Os desafios tecnológicos de seu processamento estão relacionados às altas suscetibilidades à oxidação e à proliferação microbiana. Para evitar alterações na qualidade do produto e contaminação microbiológica, são utilizados diferentes aditivos, entre eles os conservantes e os antioxidantes. É conhecido que estes aditivos sintéticos podem causar malefícios à saúde, como alguns tipos de câncer, por isto tem sido estudada a substituição destes compostos por extratos naturais, como o de aipo (*Apium graveolens*) e o de alecrim (*Rosmarinus officinalis*). Este trabalho teve como objetivo desenvolver e avaliar o *shelf life* de uma linguiça tipo frescal com conservantes e antioxidantes naturais, armazenada sob refrigeração, no qual foi utilizado o aipo como substituto do nitrito e o alecrim como adjuvante na prevenção à oxidação. Foram produzidas três amostras, uma utilizando o aipo em pó e o extrato de alecrim (LA), uma amostra utilizando nitrito de sódio e eritorbato de sódio (LN), e outra amostra onde não foi utilizado nenhum tipo de conservante (LC). Durante o estudo de *shelf life* refrigerado (15 dias), as amostras obtiveram resultados parecidos para o valor de pH; a LA obteve maiores valores de nitrito residual em comparação com a LN, indicando que pode possuir uma atividade contra contaminação microbiológica por mais tempo. Houve um aumento na oxidação da amostra LC, enquanto nas amostras LA e LN houve estabilidade, demonstrando que os aditivos presentes em suas formulações foram efetivos em evitar a oxidação. Em relação à contaminação microbiológica observou-se aumento na LC e uma leve redução tanto na LA quanto na LN, resultado que confirma que em ambas os conservantes utilizados são efetivos no combate à proliferação bacteriana. As análises físico-químicas indicaram que as amostras estão dentro dos padrões preconizados pela legislação. As amostras LA e LN apresentaram-se mais avermelhadas, enquanto a amostra LC apresentou coloração tendendo ao marrom, decorrente da formação de metamioglobina. Na análise sensorial a amostra LA obteve as maiores notas para os quesitos textura, sabor e aceitação global, enquanto em aparência, cor e aroma não houve diferenças significativas em relação à LN. A LA obteve a maior nota para a intenção de compra. O estudo demonstrou que o aipo associado ao extrato de alecrim pode ser uma adequada solução tecnológica em substituição aos aditivos artificiais quando utilizados na produção de linguiças frescas.

Palavras-chave: Linguiça Frescal. Aipo. Extrato de Alecrim. Aditivos Naturais.

ABSTRACT

The fresh sausage is a meat product much appreciated in Brazil. The technological challenges of its processing are related to high susceptibilities to oxidation and microbial proliferation. To avoid changes in product quality and microbiological contamination, the use of preservatives and antioxidants is permitted. It is known that these synthetic additives can cause harm to health, as some types of cancer, so the replacement of these compounds with natural extracts, such as celery (*Apium graveolens*) and rosemary (*Rosmarinus officinalis*), has been studied. This work aimed to develop and evaluate the shelf life of a fresh sausage with preservatives and natural antioxidants, stored under refrigeration, in which celery was used as a substitute for nitrite and rosemary as an adjuvant in preventing oxidation. Three samples were produced, one using powdered celery and rosemary extract (LA), a sample using sodium nitrite and sodium erythorbate (LN), and another sample, where no type of preservative (LC). During the study of refrigerated shelf life (15 days), the samples obtained similar results for the pH value; LA obtained higher values of residual nitrite compared to LN, indicating that it may have an activity against microbiological contamination for longer. There was an increase in the oxidation of the LC sample, while in the LA and LN samples there was stability, demonstrating that the additives present in their formulations were effective in preventing oxidation. Regarding microbiological contamination, there was an increase in LC and a slight reduction in both LA and LN, a result that confirms that both preservatives used are effective in combating bacterial proliferation. The physical-chemical analyzes indicated that the samples are within the standards recommended by the legislation. The LA and LN samples were more reddish, while the LC sample had a brownish color, due to the formation of metmyoglobin. In the sensory analysis, the LA sample obtained the highest scores for the items texture, flavor and global acceptance, while in appearance, color and aroma there were no significant differences in relation to LN. LA obtained the highest score for the purchase intention. The study showed that celery associated with rosemary extract can be an adequate technological solution to replace artificial additives when used in the production of fresh sausages.

Key-words: Fresh Sausage. Celery. Rosemary Extract. Natural Additives.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Mecanismo da reação oxidativa em lipídios.....	22
Figura 2 - Mecanismo de ação de antioxidantes primários	23
Figura 3 - Reação de Fenton.....	24
Figura 4 - Estrutura química dos antioxidantes sintéticos, da esquerda para a direita: BHA (butil hidroxianisol), BHT (butil hidroxitolueno) e GP (galato de propila).....	24
Figura 5 - Estrutura química do Ácido Carnósico, Carnosol, Rosmanol e Epirosmanol	30
Figura 6 - Fluxograma das etapas da pesquisa	34
Figura 7 - Fluxograma da produção de linguiça	36
Figura 8 - Equações para as coordenadas cilíndricas C^* e ângulo de tonalidade h°	40
Figura 9 - Fotografias das amostras cruas, assadas, e assadas e abertas ao longo dos dias de armazenamento refrigerado, no estudo de <i>shelf life</i>	47

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 - Teores de nitrito residual das amostras LA e LN produzidas no estudo de <i>shelf life</i>	50
Gráfico 2 - Monitoramento da oxidação lipídica das amostras produzidas para estudo de <i>shelf life</i> em mg de malonadeído/kg, ao longo dos dias de armazenamento	52
Gráfico 3 - Frequência de consumo de linguiças frescas pelos painelistas.....	62
Gráfico 4 - Marcas de linguiças citadas e quantas vezes cada uma foi citada.....	63
Gráfico 5 - Média das notas recebidas pelas amostras LA, LC, e LN para aceitação da aparência, cor, aroma, textura, sabor e global	64
Gráfico 6 - Valor médio da intenção de compra de cada amostra.....	64

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Formulação final deste trabalho, produzida com aditivos naturais (LA), formulação controle positivo, com adição de nitrito e eritorbato de sódio (LN) e formulação controle negativo, isenta de aditivos (LC).....	37
Tabela 2 - Marcas, ingredientes, e países de origens de linguiças sem conservantes artificiais	44
Tabela 3 - Valores de pH obtidos nas amostras produzidas no estudo de <i>shelf life</i> .	48
Tabela 4 - Teores de nitrito residual das amostras produzidas no estudo de <i>shelf life</i>	50
Tabela 5 - Contagem de bactérias psicotróficas das amostras produzidas no estudo de <i>shelf life</i>	54
Tabela 6 - Contagem microbiológicas das amostras produzidas para a caracterização das linguiças	57
Tabela 7 - Valores obtidos na análise de cor das amostras produzidas para caracterização das linguiças	58
Tabela 8 - Valores obtidos nos testes físicos-químicos das amostras produzidas para caracterização das linguiças.	59
Tabela 9 - Valores de pH das amostras produzidas para caracterização das linguiças	60
Tabela 10 - Valores de nitrito residual obtidos nas amostras produzidas para caracterização das linguiças	61
Tabela 11 - Valores de oxidação lipídica presente nas amostras produzidas para caracterização das linguiças	61

LISTA DE SIGLAS

ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
BHA	Butil hidroxianisol
BHT	Butil hidroxitolueno
GP	Galato de propila
LA	Linguiça produzida com aipo e extrato de alecrim
LC	Linguiça controle (produzida sem nenhum tipo de conservante)
LN	Linguiça produzida com nitrito e eritorbato de sódio
MAPA	Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento
TBA	Ácido 2-tiobarbitúrico
TBARS	Substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	14
1.1 TEMA	14
1.2 PROBLEMA	15
1.3 OBJETIVOS	15
1.3.1 Objetivo Geral	15
1.3.2 Objetivos Específicos	15
1.4 JUSTIFICATIVA	15
2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	17
2.1 A LINGUIÇA	17
2.2 INGREDIENTES	18
2.3 CONSERVAÇÃO E DETERIORAÇÃO DA LINGUIÇA.....	20
2.4 OXIDAÇÃO LIPÍDICA.....	21
2.5 ANTIOXIDANTES E CONSERVANTES.....	24
2.5.1 Antioxidantes e Conservantes Sintéticos	24
2.5.1.1 BHA (butil hidroxianisol)	25
2.5.1.2 BHT (butil hidroxitolueno).....	25
2.5.1.3 GP (galato de propila)	25
2.5.1.4 NITRATOS E NITRITOS	25
2.5.2 Antioxidantes e Conservantes Naturais	27
2.5.2.1 Alecrim	29
2.5.2.2 Aipo	30
3 METODOLOGIA	34
3.1 LEGISLAÇÃO.....	34
3.2 PESQUISA DE MERCADO	35
3.3 PRODUÇÃO DAS AMOSTRAS	35
3.4 ESTUDO DE <i>SHELF LIFE</i> REFRIGERADO	37
3.4.1 pH	38
3.4.2 Nitrito residual	38
3.4.3 Oxidação lipídica	39
3.5 CARACTERIZAÇÃO DAS LINGUIÇAS.....	39
3.5.1 Testes Microbiológicos	40
3.5.2 Análise de cor	40

3.5.3 Características Físico-químicas.....	40
3.5.4 pH	41
3.5.5 Nitrito residual	41
3.5.6 Oxidação lipídica	41
3.5.7 Análise sensorial	41
3.5.8 Considerações éticas.....	42
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	44
4.1 PESQUISA DE MERCADO	44
4.2 ESTUDO DE <i>SHELF LIFE</i> REFRIGERADO	47
4.2.1 pH	48
4.2.2 Nitrito residual	49
4.2.3 Oxidação lipídica.....	52
4.2.4 Avaliação microbiológica	54
4.3 CARACTERIZAÇÃO DAS LINGUIÇAS.....	57
4.3.1 Testes Microbiológicos.....	57
4.3.2 Análise de cor.....	57
4.3.3 Características Físico-químicas, pH, Nitrito Residual e Oxidação Lipídica	59
4.3.4 Análise sensorial.....	62
5 CONCLUSÃO	65
REFERÊNCIAS.....	66
APÊNDICE A - ANÁLISE SENSORIAL DE LINGUIÇA SEM CONSERVANTES ARTIFICIAIS.....	80
ANEXO A - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO - TCLE	82
ANEXO B - LEGISLAÇÃO VIGENTE PARA A PRODUÇÃO DE LINGUIÇAS FRESCAIS	84

1 INTRODUÇÃO

Segundo o Brasil (2000), linguiça é o produto cárneo industrializado, obtido de carnes de animais de açougue, adicionado ou não de tecidos adiposos, ingredientes, embutido em envoltório natural ou artificial, e submetido ao processo tecnológico adequado. Há vários tipos de linguiça, como a toscana, calabresa, portuguesa, mista, paio, entre outras.

Como todo produto à base de carnes, a linguiça é um alimento rico em lipídeos, sendo altamente suscetível à oxidação. (DOMÍNGUEZ *et al.*, 2016). Além disso, pode haver a presença de patógenos, como o *Clostridium botulinum*. (ERBGUTH, 2004). Para evitar que hajam alterações na qualidade do produto e contaminação microbiológica, é permitido o uso de aditivos. Dentre os aditivos utilizados, no Brasil, os antioxidantes permitidos são Ácido ascórbico (L-), Ascorbato de sódio, Ascorbato de cálcio, Ascorbato de potássio, Ácido isoascórbico, Isoascorbato de sódio, Butil hidroxianisol (BHA), Butil hidroxitolueno (BHT), e Galato de propila (GP). Já como conservantes, é permitido o uso de Nitrito de potássio, Nitrito de sódio, Nitrato de sódio, Nitrato de potássio. (BRASIL, 2006).

Estudos indicam que o uso destes aditivos sintéticos podem causar malefícios para a saúde, como metemoglobinemia, Bedale; Sindelar; Milkowski (2016), câncer, Barbieri *et al.* (2013); Bedale; Sindelar; Milkowski (2016); Botterweck *et al.* (2000), teratogenia, Brender *et al.* (2013) e mutagenia. (OSAWA; NAMIKI, 1982). A substituição destes aditivos por produtos naturais tem sido estudada por Munekata *et al.* (2017), Lorenzo *et al.* (2018), Luo *et al.* (2017), Papuc *et al.* (2018), entre outros. Tais evidências têm acarretado o desejo cada vez maior do consumidor em buscar alternativas naturais aos atuais aditivos artificiais largamente empregados pela Indústria. Assim, a questão norteadora deste trabalho é estudar se o pó de aipo pode substituir o uso dos nitritos bem como se o extrato de alecrim pode substituir o uso de antioxidantes sintéticos na produção de linguiças comerciais.

1.1 TEMA

Desenvolvimento de uma linguiça frescal sem conservantes artificiais.

1.2 PROBLEMA

É possível desenvolver uma linguiça tipo frescal sem conservantes e antioxidantes artificiais que tenha uma boa aceitabilidade sensorial e que apresente estabilidade oxidativa e microbiológica sob refrigeração?

1.3 OBJETIVOS

1.3.1 Objetivo Geral

Desenvolver e avaliar o *shelf life* de uma linguiça tipo frescal com conservantes e antioxidantes naturais, armazenada sob refrigeração.

1.3.2 Objetivos Específicos

- a) Realizar uma pesquisa de mercado acerca de produtos cárneos existentes no mercado nacional e internacional que utilizam conservantes e antioxidantes naturais;
- b) Testar formulações de linguiça frescal com conservantes naturais, visando ajustar uma formulação sensorialmente adequada;
- c) Avaliar o teor de nitrito residual na formulação desenvolvida, ao longo do seu armazenamento refrigerado;
- d) Verificar as condições microbiológicas da formulação desenvolvida, ao longo do seu *shelf life*;
- e) Avaliar a oxidação lipídica da formulação do longo do seu *shelf life* em armazenamento refrigerado;
- f) Verificar, através de análise sensorial, a aceitabilidade do produto por parte do consumidor.

1.4 JUSTIFICATIVA

Atualmente muito se discute sobre o fato de os aditivos sintéticos adicionados às linguiças possuírem o potencial de causar malefícios à saúde. Os antioxidantes, como BHA, BHT, GP, podem possuir atividade carcinogênica. (BOTTERWECK *et*

al., 2000). Já os nitritos promovem a ocorrência de n-nitrosaminas, as quais são genotóxicas e classificados como prováveis carcinogênicas. (HERRMANN *et al.*, 2015).

Nos últimos anos, tem havido um aumento na conscientização dos consumidores quanto ao uso de aditivos químicos em alimentos e produtos alimentícios. (TIWARI *et al.*, 2009). Estudos indicam que está havendo uma preferência pelo consumo de produtos que possuam aditivos naturais em comparação aos produtos que possuam compostos sintéticos. (POKORNÝ, 2007). Além disso, há uma disposição destes consumidores em pagar valores maiores para produtos mais saudáveis, sendo que esta disposição é maior entre os consumidores mais jovens. (NIELSEN, 2015). Este fato tem resultado em um aumento nas pesquisas sobre o uso de aditivos naturais ou alternativos, como derivados de plantas e animais. (ENNAJAR *et al.*, 2009).

Neste cenário, o desenvolvimento de uma linguiça frescal com aditivos naturais poderá contribuir para a geração de informações acerca da estabilidade e aceitabilidade deste produto, auxiliando o setor produtivo no desenvolvimento de produtos mais alinhados às atuais demandas do consumidor contemporâneo de alimentos.

2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 A LINGUIÇA

Linguanças podem ser definidas como produtos obtidos a partir da carne moída ou picada combinada com sal, temperos e outros ingredientes, que podem ser embutidos em um recipiente ou embalagem de forma e tamanho particulares. (MOHAN, 2014). Grande variedade de linguanças pode ser produzida alterando a fonte de carne e especiarias, ingredientes e/ou o método de preparação. Ao longo das décadas, métodos para a preparação destes produtos foram desenvolvidos e aperfeiçoados para produzir diversos estilos de linguanças influenciados por grupos étnicos, disponibilidade de ingredientes locais, especiarias e tripas. Muitas culturas ao redor do globo tentaram criar seu próprio estilo étnico de fazer linguança. (MOHAN, 2014). Segundo a definição do MAPA, linguança é o produto cárneo industrializado, obtido de carnes de animais de açougue, adicionados ou não de tecidos adiposos, ingredientes, embutido em envoltório natural ou artificial, e submetido ao processo tecnológico adequado. (BRASIL, 2000). Linguança é a forma mais antiga de produtos de carne processada conhecidos através de evidências históricas. (MOHAN, 2014). É considerado um dos produtos à base de carne mais apetitoso, nutritivo, agradável e conveniente. (MOHAN, 2014).

Não se sabe ao certo quando houve a descoberta do processo de cura de carne, mas aceita-se o mesmo estar associado com métodos de preservação utilizando sal que datam de aproximadamente do ano de 3000 a.C., Sindelar; Milkowski (2011), e sabe-se que o sal já era utilizado pelos antigos gregos. (PEGG; SHAHIDI, 2000). Segundo Homero, a linguança era um dos alimentos preferido dos gregos. (MOHAN, 2014). Acredita-se que este método tenha sido descoberto por acidente, e a história do processamento de carne refere-se a vários relatos da contaminação do sal com salitre (nitrato de potássio), resultando em uma cor vermelha estável na carne. (CASSENS, 1990). Não está claro se as características de cura foram consideradas desejáveis antes do Século X, mas durante e após o Século X, os romanos foram intencionalmente adicionando salitre à carne para obter a cor vermelha desejada e sabor característico. No Século XIX, descobriu-se que o sal (cloreto de sódio) em si não produzia uma "cor curada", o que levou a várias

investigações para entender melhor o processo de cura. (SINDELAR; MILKOWSKI, 2012).

A fabricação de linguiça é uma ótima maneira de usar cortes menos macios, de baixo valor e peças em bom estado. Uma boa linguiça começa com uma boa carne. Carne bovina, suína, de cordeiro, carneiro e de aves são adequados para uso em linguiças. A maioria das linguiças são preparadas com carnes suína e bovina. Pode ser utilizada uma grande variedade de tipos de carnes, como corações, línguas, fígados, tripas, sangue ou plasma sanguíneo, cérebros, pulmões, úberes (não lactantes), baços, sebo e bacalhau e gordura do peito, estômagos de carne de suíno, peles gelatinosas, gordura das costas suínas, orelhas, focinhos, lábios de boi, fornecendo ao fabricante uma oportunidade de utilizar diversos tipos de subprodutos de carne. (MOHAN, 2014).

Segundo Carvalho *et al.* (2010) a linguiça frescal é um dos produtos cárneos mais fabricados devido à simples tecnologia utilizada na sua fabricação, além de serem usados poucos equipamentos e possuir um baixo custo. Se destaca entre os embutidos devido a sua alta aceitação e comercialização. (OLIVEIRA; ARAÚJO; BORGO, 2005). Para a elaboração da linguiça frescal não se utiliza nenhum tratamento térmico. (CARVALHO *et al.*, 2010).

2.2 INGREDIENTES

O sal é um ingrediente essencial para o sabor e a funcionalidade da linguiça. Auxilia na capacidade de ligação da água e emulsificação das proteínas da carne. O sal deve ser puro e suficientemente granulado para poder dissolver-se facilmente na carne. O mesmo é necessário para melhorar o sabor, preservar a linguiça da deterioração microbiana e extrair as proteínas solúveis da carne. (MOHAN, 2014). A proteína de carne extraída forma uma película que coagula durante o aquecimento ligando as partículas de carne, proporcionando uma textura mais firme para as linguiças. (MOHAN, 2014).

O açúcar é usado para o desenvolvimento do sabor e para neutralização do sabor amargo do sal de cura. Uma variedade de fontes de açúcar pode ser usada para fornecer dulçor e sabor à linguiça. Estes incluem sacarose, açúcar mascavo, dextrose e xarope de milho. O açúcar também é usado como substrato para a fermentação microbiana e para reduzir o pH da linguiça. O ácido láctico produzido

devido à fermentação reduz o pH da carne e confere à linguiça um sabor característico. (MOHAN, 2014).

Especiarias são encontradas em muitas formas: frescas, secas, inteiras, esmagadas, purê, como pasta e como extrato. As linguiças industrializadas utilizam geralmente extratos de especiarias no lugar de especiarias naturais. O sabor característico de uma linguiça vem das especiarias, ervas e aromas que são usados. (MOHAN, 2014).

O uso de nitrito para preservar e curar carnes é uma das formas mais antigas de preservação de alimentos. Tem como grande benefício, na produção de linguiças, a melhoria da segurança do alimento, uma maior vida útil e excelente estabilidade de armazenamento. Muitos dos produtos de salsicharia curados de hoje contêm nitrito de sódio. A cura transmite cores, texturas e sabores únicos que não podem ser recriados por nenhum outro ingrediente. Estes ingredientes de cura são necessários para obter o sabor característico, cor e estabilidade da carne curada. (MOHAN, 2014).

Agentes redutores reagem com o nitrito para acelerar o processo de cura. O eritorbato de sódio é quimicamente similar ao ascorbato e ambos podem ser usados como aceleradores de cura. Muitos processos requerem um tempo de cura de um dia. Isto é necessário para permitir que as bactérias convertam o nitrito em óxido nítrico. A adição de ácido ascórbico (vitamina C) ou eritrobato de sódio acelera a reação de cura e elimina o tempo de espera. (MOHAN, 2014).

Os antioxidantes são aprovados para uso em linguiças frescas para retardar a rancidez oxidativa e proteger o sabor, e incluem o BHT, BHA, galato de propila, TBHQ, tocoferóis, entre outros. (MOHAN, 2014).

Linguiças podem conter outros ingredientes, como aglutinantes e/ou extensores, para reter líquidos e reduzir o custo da formulação. Estes ingredientes ajudam a melhorar as características de ligação, sabor, rendimento de cozimento, características de corte e reduzem o custo da formulação da linguiça. Os ingredientes mais utilizados deste tipo são o leite em pó desnatado, farinhas de cereais e produtos de proteína de soja. Pode-se usar esses ingredientes na maioria dos produtos de salsicharia, dependendo do seu sabor. (MOHAN, 2014).

A água, às vezes junto com gelo, é adicionada na fabricação de linguiças para ajudar a distribuir os ingredientes não-cárneos e aumentar o rendimento da produção. Juntamente com a adição de água, concentrado de proteína de soja,

concentrado de proteína de soro de leite, caseinato de sódio, entre outros, são usados como extensores de linguiça. (HUI *et al.*, 2001a).

As tripas de embutidos podem ser naturais e sintéticas. Tripas naturais são obtidas a partir do trato digestivo dos animais, tanto de bovinos, quanto de ovinos e suínos. Tripas de colágeno são derivadas de proteína animal, muitas vezes extraídas de couros bovinos, e fabricadas em um invólucro comestível (sendo o colágeno também a principal proteína presente em invólucros naturais). (MOHAN, 2014).

2.3 CONSERVAÇÃO E DETERIORAÇÃO DA LINGUIÇA

A validade dos produtos mantidos em atmosfera normal ou sem a presença de conservantes é limitada. A refrigeração retarda as alterações indesejadas, porém, não aumenta a validade comercial suficientemente para atender às exigências de distribuição e comercialização, quando se necessita de transporte a zonas mais distantes dos centros de produção. (LOPES; MACEDO; DE SOUZA, 2004). Segundo o USDA recomenda que seja consumida em até 2 dias quando refrigerada e em até 2 meses quando congelada. (United States Department of Agriculture (USDA), 2013). Em um estudo realizado no Brasil, no qual a linguiça frescal foi embalada a vácuo e mantida sob refrigeração a 5°C, foi verificado que após 15 dias a amostra ainda estava apta para ser consumida. (FIGUEIRÓ, 2013). São diversos os fatores que podem afetar a estabilidade ou qualidade sanitária do produto final, como exemplo temos o emprego de técnicas higiênicas-sanitárias inadequadas durante sua elaboração, má refrigeração, contaminações cruzadas, e como consequência o desenvolvimento de microrganismo patogênicos ou deteriorantes. (MARQUES *et al.*, 2006).

Diversos os microrganismos patogênicos podem estar presente no produto final, entre eles estão a *Salmonella spp*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, Hoffmann *et al.* (1996), *Clostridium perfringens*, Da Silva *et al.* (2002) *Campylobacter spp.*, Mattick *et al.* (2002), *Clostridium botulinum*, *Listeria monocytogenes*, Tarté (2009), *Bacillus cereus*, *Escherichia coli* O157:H7, Milkowski *et al.* (2010), *Yersinia enterocolitica*. (MOHAN, 2014). Para evitar o crescimento microbiológico, são adicionados nitratos e nitritos. (MILKOWSKI *et al.*, 2010; TARTÉ, 2009).

Por ser um alimento rico em gordura, a linguiça é propensa à oxidação lipídica. (KINGSTON *et al.*, 1998). Esta oxidação traz como consequências alterações no *flavor* original, e aparecimento de odores e sabores característicos de ranço, Cuong; Chin (2016); Silva; Borges; Ferreira (1999), além do aparecimento de compostos tóxicos. (KUBOW, 1993). Para que não ocorram estas reações, podem ser utilizados antioxidantes. (JORGE, 2009).

2.4 OXIDAÇÃO LIPÍDICA

Os lipídios são importantes constituintes dos alimentos, conferindo propriedades desejáveis, como, por exemplo na cor, textura, aroma, coloração, succulência, estabilidade das proteínas, além de conferirem valores nutricionais aos alimentos, Ferrari (1998); Papuc *et al.* (2018); Silva; Borges; Ferreira (1999), sendo uma fonte de energia metabólica, de ácidos graxos essenciais, e vitaminas lipossolúveis. (SILVA; BORGES; FERREIRA, 1999). A oxidação leva à formação de produtos como aldeídos, alcanos e dienos conjugados, Wsowicz *et al.* (2004), sendo que há indicação de que estes aldeídos possam ter associação com aterosclerose e formação de tumores. (DUTHIE *et al.*, 2013).

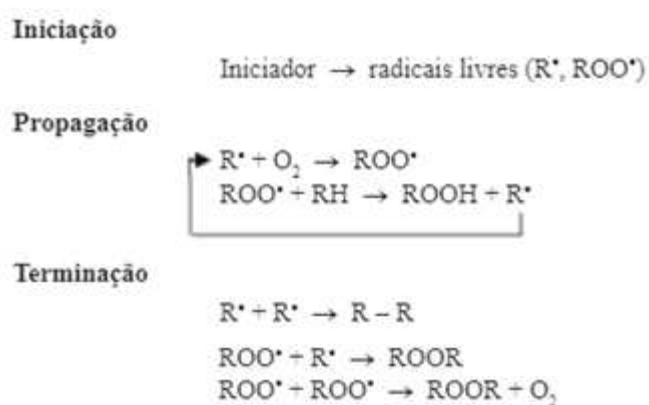
A oxidação lipídica é um processo descrito como uma reação em cadeia constituída por três etapas distintas: iniciação, propagação e terminação, sendo que estas duas últimas etapas ocorrem simultaneamente. As reações que ocorrem em cada etapa estão indicadas na Figura 1. Na fase de iniciação ocorre a formação de radicais livres. Esta reação não ocorre de forma espontânea, sendo necessária a presença de catalisadores, como a luz visível, radiação ultravioleta, metais (cobre, ferro, níquel, cobalto e manganês) ou metaloproteínas (grupo heme). O mecanismo de formação do primeiro radical livre que desencadeia a reação ainda não se encontra totalmente esclarecido. (JORGE, 2009).

Na fase de propagação, o radical livre (R^*) reage com o oxigênio e origina o radical peroxila (ROO^*). Este radical abstrai um átomo de hidrogênio do carbono α -metilênico de outro ácido graxo adjacente, produzindo hidroperóxidos ($ROOH$) e outro radical alila (R^*), que retroalimenta a reação. Com o decorrer da reação, os hidroperóxidos começam a se decompor, obtendo-se hidrocarbonetos, ácidos graxos de cadeias curtas, radicais livres, e compostos voláteis, como carbonilas (aldeídos e cetonas) responsáveis pelo odor de ranço. A duração desta etapa

depende principalmente do grau de insaturação dos ácidos graxos e da concentração de oxigênio. (JORGE, 2009).

Durante a fase de terminação ocorre a redução da quantidade de ácidos graxos insaturados e os radicais livres ligam-se uns aos outros formando compostos estáveis. Há a formação de álcoois, aldeídos, cetonas, ésteres e outros hidrocarbonetos, além de produtos de elevado peso molecular resultantes de reações de dimerização e polimerização. Na fase de terminação, além do aparecimento de odor e sabor desagradáveis, podem ocorrer mudanças na cor e viscosidade do lipídio. (JORGE, 2009).

Figura 1 - Mecanismo da reação oxidativa em lipídios



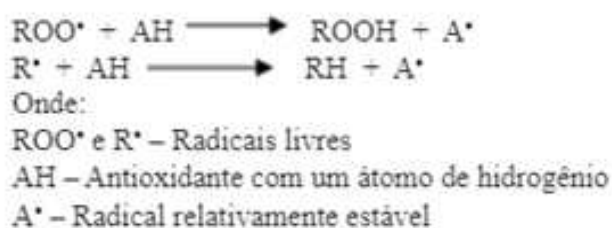
Fonte: Jorge (2009).

Outra importante reação que pode ocorrer em produtos cárneos é a formação de metamioglobina através da oxidação da oximioglobina (forma oxigenada da mioglobina), produzindo uma cor marrom na carne. (BOU *et al.*, 2008). A oxidação lipídica e a oxidação da mioglobina são processos acoplados. A oxidação lipídica produz aldeídos que oxidam a mioglobina promovendo a formação de metamioglobina e de espécies reativas de mioglobina, e além disso, a própria mioglobina induz a uma peroxidação lipídica. (PAPUC *et al.*, 2018). A oxidação das proteínas musculares induz a múltiplas mudanças físico-químicas e nutricionais, incluindo a diminuição da biodisponibilidade de aminoácidos, mudanças na composição de aminoácidos, diminuição da solubilidade proteica devido à polimerização, perda de atividade proteolítica, e digestibilidade proteica deficiente, Levine *et al.* (1990); Lund *et al.* (2011), além de mudanças na cor, aroma, sabor, capacidade de retenção de água e funcionalidade biológica. (ESTÉVEZ *et al.*, 2008).

A linguiça é um alimento sujeito à oxidação lipídica, pois os processos de moagem e cozimento da carne facilitam o contato entre os ácidos graxos e o oxigênio, promovendo a oxidação. (KINGSTON *et al.*, 1998).

Para que estas reações sejam retardadas, podem ser utilizados antioxidantes. Na escolha do antioxidante, são desejáveis as seguintes propriedades: eficácia em baixas concentrações, ausência de efeitos indesejáveis na cor, odor e sabor e em outras características do alimento, compatibilidade com o alimento e fácil aplicação, estabilidade nas condições de processo e armazenamento, e o composto e seus produtos de oxidação não podem ser tóxicos. Os antioxidantes podem ser classificados como primários ou secundários. Os primários são compostos fenólicos que atuam diretamente sobre os radicais livres formados durante a iniciação ou propagação da reação de oxidação. O mecanismo de ação está representado na Figura 2. Nesta categoria está incluído o butil-hidroxianisol (BHA), butil-hidroxitolueno (BHT), e o galato de propila (GP). Já os antioxidantes secundários contribuem para retardar a reação de autooxidação por mecanismos diferentes aos dos antioxidantes primários. Os agentes quelantes, como o ácido cítrico e o ácido etilenodiaminotetracético, complexam os íons metálicos que catalisam a oxidação lipídica. Os removedores de oxigênio, como o próprio nome já diz, atuam removendo o oxigênio presente no meio, sendo os principais representantes o ácido ascórbico e o palmitato de ascorbila. (JORGE, 2009).

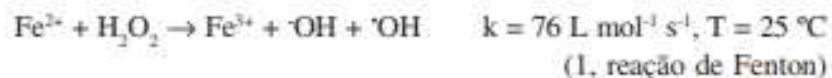
Figura 2 - Mecanismo de ação de antioxidantes primários



Fonte: Jorge (2009).

Os antioxidantes inibem a oxidação da mioglobina por dois mecanismos. Primeiramente diminuindo os níveis de aldeídos insaturados, resultantes da oxidação de ácidos graxos, através da diminuição da peroxidação lipídica. Eles também removem peróxidos de hidrogênio, que pode reagir com Fe²⁺ da mioglobina na reação de Fenton, Papuc *et al.* (2018), representada na Figura 3.

Figura 3 - Reação de Fenton



Fonte: Aguiar *et al.* (2007).

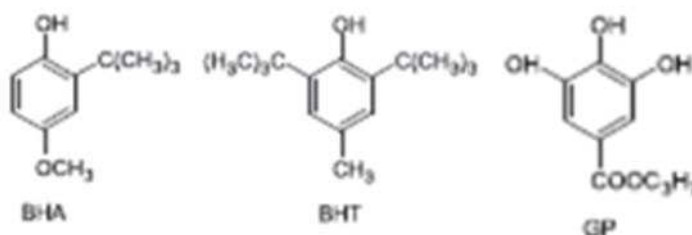
2.5 ANTIOXIDANTES E CONSERVANTES

Segundo a definição da ANVISA, antioxidante é a substância que retarda o aparecimento de alteração oxidativa no alimento. Já o conservador ou conservante é a substância que impede ou retarda a alteração dos alimentos provocada por microrganismos ou enzimas. (AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (ANVISA), 1997). Neste estudo também usaremos a designação antimicrobiano como sinônimo de conservante. Quanto à origem, os antioxidantes e conservantes podem ser classificados como sintéticos ou naturais.

2.5.1 Antioxidantes e Conservantes Sintéticos

Antioxidantes sintéticos, como o butil hidroxianisol (BHA), butil hidroxitolueno (BHT) e galato de propila (GP) podem ser utilizados em produtos cárneos devido aos seus baixos custos e alta eficácia. (CUONG; CHIN, 2016; LUO *et al.*, 2017). O uso destes antioxidantes sintéticos é considerado o método mais efetivo para retardar a oxidação em alimentos em geral. (PAPUC *et al.*, 2018). A estrutura química destes compostos está presente na Figura 4.

Figura 4 - Estrutura química dos antioxidantes sintéticos, da esquerda para a direita: BHA (butil hidroxianisol), BHT (butil hidroxitolueno) e GP (galato de propila)



Fonte: Jorge (2009).

2.5.1.1 BHA (butil hidroxianisol)

O BHA é mais efetivo na inibição da oxidação em gorduras animais que em óleos vegetais, e é pouco estável em temperaturas elevadas. (JORGE, 2009). É efetivo no controle de oxidação de ácidos graxos de cadeias curtas. (BAILEY, 1996). Existe a possibilidade de possuir atividade carcinogênica. (BOTTERWECK *et al.*, 2000).

2.5.1.2 BHT (butil hidroxitolueno)

O BHT tem propriedades similares às do BHA, e ambos antioxidantes possuem boa solubilidade gorduras animais e óleos vegetais, porém, podem conferir odor a alimentos quando expostos a altas temperaturas por longos períodos. (JORGE, 2009). Estudos indicam a possibilidade de possuir atividade carcinogênica. (BOTTERWECK *et al.*, 2000).

2.5.1.3 GP (galato de propila)

O GP é eficiente em gorduras animais e óleos vegetais, mas tem baixa estabilidade térmica, não suportando tratamentos de cocção. (JORGE, 2009). Em altas concentrações, pode agir como pró-oxidante. (BAILEY, 1996). Pode possuir atividade carcinogênica. (BOTTERWECK *et al.*, 2000).

2.5.1.4 NITRATOS E NITRITOS

O salitre é uma das principais fontes de nitrato e é produzido no solo por microrganismo que atuam no esterco, urina e resíduos vegetais, sendo que há uma maior produção onde o clima é seco, como nos desertos chilenos. (BARNUM, 2003). Os nitritos e nitratos, além de possuírem ação antioxidante, Mac Donald; Gray; Gibbins (1980), fornecem uma coloração vermelha aos produtos cárneos, devido à reação do óxido nítrico (derivado dos nitritos) com a mioglobina, principal pigmento da carne. (TOLDRÁ; REIG, 2011; ORGERON *et al.*, 1957). Aproximadamente 25ppm de nitrito ou menos é necessário para o desenvolvimento de cores. (SOFOS; BUSTA; ALLEN, 1979). Adicionalmente, fornecem sabor e odor de carne curada, a partir de sua reação com proteínas e gorduras da carne. (TARTÉ, 2009). Mas a

função principal de seu uso é como antimicrobiano, pois evitam o desenvolvimento de bactérias como *Clostridium botulinum*, *Listeria monocytogenes*, Tarté (2009), *Bacillus cereus* e *Escherichia coli* O157:H7. (MILKOWSKI *et al.*, 2010). O efeito antimicrobiano é devido à reação de formação de óxido nítrico, sendo altamente pH dependente, Tarté (2009), possuindo uma ação mais efetiva com pH baixo. (SINDELAR; MILKOWSKI, 2012). O nitrito possui uma ação bacteriostática em *Staphylococcus aureus*. (BUCHANAN; SOLBERG, 1972). O nitrito é instável quando exposto a condições ácidas, formando ácido nítrico, que então é decomposto para óxido nítrico, sendo que esta decomposição pode ocorrer em líquidos com pH menores que 6. (BRAIDA; ONG, 2000).

Estes conservantes podem promover a formação de n-nitrosaminas, muitas das quais são genotóxicas e classificadas como prováveis carcinogênicas. (HERRMANN *et al.*, 2015). O potencial para a formação de nitrosaminas em carnes curadas foi identificado pela primeira vez em 1971 e sua formação só pode ocorrer sob condições especiais onde aminas secundárias estão presentes, o nitrito está disponível para reagir, próximo ao pH neutro, e as temperaturas do produto atingem mais de 130° C. (SINDELAR; MILKOWSKI, 2012). A carne processada foi recentemente classificada como carcinogênica para humanos (Grupo 1) pela Agência Internacional para Pesquisa sobre o Câncer, portanto, a ingestão de nitrito deve ser reduzida tanto quanto possível. (WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO), 2015).

Aproximadamente 80% da ingestão total de nitrato é atribuída à comida e outros 14% à água. Vegetais constituem a maior parte da ingestão de nitrato. (ARCHER, 2002). Os seres humanos geralmente consomem 1,2-3,0mg de nitrito por dia. (WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO), 2011). A saliva é responsável por aproximadamente 93% da ingestão diária total de nitrito, enquanto os alimentos são responsáveis por uma parcela muito pequena da ingestão diária total de nitrito. Isto é devido à redução química do nitrato ao nitrito por bactérias comensais na cavidade oral. Carnes curadas são responsáveis por 4,8% da ingestão diária de nitrito e vegetais representam apenas 2,2%. (ARCHER, 2002).

Vegetais folhosos como alface e espinafre tendem a ter níveis mais altos de nitrato do que sementes ou tubérculos. (HORD; TANG; BRYAN, 2009). A aplicação de fertilizantes geralmente resulta em uma maior absorção de nitrogênio nos vegetais, resultando em maior teor de nitrato. (BRYAN; HORD, 2010).

Estudos recentes relatam que o óxido nítrico está envolvido no controle do fluxo sanguíneo no músculo cardíaco e, potencialmente, em outros tecidos. Além disso, o nitrito tem um papel importante na respiração mitocondrial e na ativação da forma alfa do receptor de estrogênio, e aplica um efeito anti-apoptótico para evitar a morte celular. (BRYAN; IGNARRO, 2010). Além disso, a produção normal de óxido nítrico e nitrito pode impedir vários tipos de doenças cardiovasculares, incluindo hipertensão, aterosclerose e acidente vascular cerebral. (SINDELAR; MILKOWSKI, 2012).

2.5.2 Antioxidantes e Conservantes Naturais

Como alternativa aos antioxidantes sintéticos, podem ser utilizados os de origem natural. Entre os consumidores, há uma tendência de preferir o antioxidante natural em relação ao sintético, Munekata *et al.* (2017), porém, ainda existe uma necessidade de serem encontrados antioxidantes naturais que possuam uma potência adequada. (LUO *et al.*, 2017). Os antioxidantes naturais são amplamente distribuídos na natureza e também estão presentes em resíduos gerados durante o processamento de alimentos, sendo uma opção interessante para a redução dos resíduos da indústria de alimentos. (MUNEKATA *et al.*, 2017). Algas marinhas, ervas, frutas, cereais, castanhas e temperos são fontes destes componentes. (LUO *et al.*, 2017). Muitas plantas utilizadas como condimentos para carnes possuem atividades antioxidantes e também são benéficas para a saúde, Fernandes *et al.* (2017); Poojary *et al.* (2017); Putnik *et al.* (2017), sendo que os compostos fenólicos são os principais antioxidantes de origem vegetal. (MUNEKATA *et al.*, 2016; SAHIN *et al.*, 2017). Os principais compostos antioxidantes presentes em ervas e seus extratos são os ácidos fenólicos, em frutas, folhas e seus extratos são os flavonoides e vitaminas solúveis em água, e em castanhas, sementes, e seus extratos e óleos essenciais são os tocoferóis, tocotrienóis, polifenóis e terpenóides. (JIANG; XIONG, 2016). Estes compostos são substâncias bioativas largamente distribuídas em plantas que possuem propriedades antioxidantes e benéficas à saúde humana devido aos seus efeitos na melhora da função do coração, proteção contra aterosclerose, remoção de lipoproteínas de baixa densidade (LDL), e oferecem proteção a componentes celulares importantes, como o DNA, proteínas e lipídios

das membranas contra espécies reativas de oxigênio, além de serem considerados uma classe de agentes antitumorais. (PAPUC *et al.*, 2018).

Estes compostos desaceleram a oxidação lipídica através de vários mecanismos, como por exemplo: removendo espécies reativas que iniciam a oxidação; quelando íons de metais de transição, como Fe^{2+} e Cu^{2+} , evitando que eles participem da reação de Fenton; quebrando a reação em cadeia livre através da doação de $H\cdot$ para o radical livre formado durante a oxidação lipídica; e agindo como doadores de elétrons. (PAPUC *et al.*, 2018).

Segundo uma revisão de literatura feita no ano de 2013, ameixa, extrato de semente de uva, *cranberry*, romã, alecrim e orégano são alguns exemplos de produtos que possuem potencial para serem utilizados como antioxidantes naturais em produtos cárneos. (KARRE; LOPEZ; GETTY, 2013). Em revisão realizada por Shah *et al.* (2014) foi identificado que semente de uva, chá verde, alecrim, romã, urtiga e canela exibiram propriedades antioxidantes semelhantes ou melhores em comparação com antioxidantes sintéticos. (BHA, BHT, TBHQ, GA).

Devido ao potencial do nitrito adicionado a carnes formar nitrosaminas, tem sido realizadas pesquisas para que se encontrem substitutos deste aditivo, Krause *et al.* (2011) porém, pesquisas indicam que ainda não existe um substituto único para o nitrito que possa fornecer simultaneamente todas as funções do nitrito. (ALAHAKOON *et al.*, 2015). Estudos demonstram que a formação de n-nitrosaminas é inibida pela presença de alguns compostos, como os polifenóis e vitaminas C e E, compostos estes bastante presentes em vegetais e frutas, como maçã, tomate, aipo e beterraba. (HERNANDEZ-RAMIREZ *et al.*, 2009; LI *et al.*, 2013).

Fontes naturais de nitrato incluem vegetais como aipo, repolho, couve, alface, Correia *et al.* (2009), espinafre e acelga. (RIEL *et al.*, 2017). Aipo, espinafre, rabanete e alface contêm mais de 2500mg de nitrato/kg. (SANTAMARIA, 2006). Para alcançar as propriedades típicas da carne curada sem a adição direta de nitrato ou nitrito, processos de cura natural foram desenvolvidos, no qual o nitrato natural é reduzido a nitrito por microrganismos específicos. (BACUS, 2006). Quando produtos vegetais com uma quantidade suficiente de nitrato são adicionados às carnes processadas em conjunto com uma cultura de bactérias *starters* redutoras de nitrato, nitritos suficiente pode ser produzido para obter as reações de cura. (KRAUSE *et al.*, 2011).

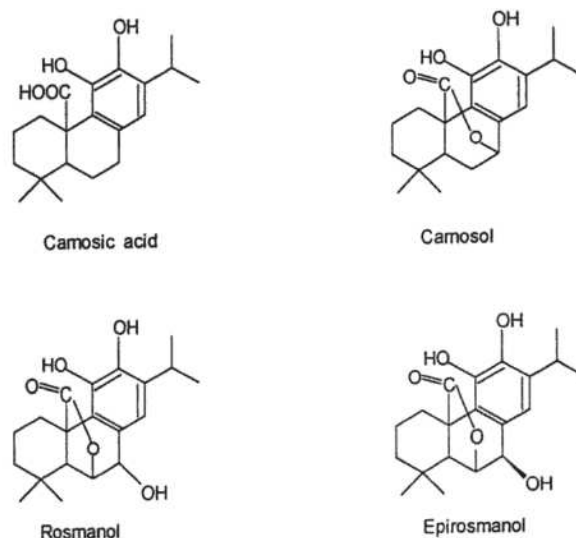
2.5.2.1 Alecrim

O alecrim (*Rosmarinus officinalis*) é uma planta medicinal que pertence à família *Lamiaceae*, sendo utilizada também na culinária devido ao seu aroma característico. (JARDAK *et al.*, 2017). É um arbusto denso, ramificado, sempre verde, e com flores azuis ou brancas, possuindo aproximadamente um metro de altura. (AL-SEREITI; ABU-AMER; SEN, 1999). É caracterizada por possuir folhas de 1 a 4 centímetros de comprimento e de 2 a 4 milímetros de largura, séssil, coriácea, linear a linear-lanceolada, com bordas curvas, lado superior verde-escuro e granulosa, com nervura central proeminente e cheiro muito característico. (BEGUM *et al.*, 2013; COMISSÃO PERMANENTE DA FARMACOPEIA PORTUGUESA, 2002).

Na medicina tradicional, folhas de alecrim são utilizadas devido a sua atividade antibacteriana, Bozin *et al.* (2007), carminativa, e como analgésico para músculos e articulações. (BEGUM *et al.*, 2013). Óleos essenciais e extratos são utilizados para erupções cutâneas, dores de cabeça, ferimentos menores, problemas circulatórios, antiespasmódico em cólicas renais, expectorante, má digestão, diurético. (AL-SEREITI; ABU-AMER; SEN, 1999; BEGUM *et al.*, 2013). Possui também atividade antidiabética, Bakirel *et al.* (2008) anti-inflamatória, Yu *et al.* (2013), antitumoral, Cheung; Tai (2007), antioxidante. (PÉREZ-FONZ; GARZÓN; MICOL, 2010).

O extrato de alecrim possui atividade antioxidante devido aos seus compostos fenólicos, Zhang *et al.* (2010), sendo que já foram identificados os compostos ativos. Os principais são: carnosol, epirosmanol, isorosmanol, ácido rosmarínico, e ácido carnósico. (NASSU *et al.*, 2003). A estrutura de alguns dos compostos presentes neste extrato está representada na Figura 5. O extrato de alecrim é disponível em diferentes formas, como extrato aquoso, oleoso, ou em pó. (NASSU *et al.*, 2003). Possui habilidade para quelar radicais, além de possuir atividade antimicrobiana contra *S. aureus*, *B. subtili*, *M. luteus*, *E. coli*, *P. aueruginosa*, *K. pneumonia*, *C. albicans* e *A. niger*. (QABAHA, 2013). Segundo Santomauro *et al.* (2017), em estudo realizado utilizando o extrato de alecrim com concentrações entre 200 µg/mL e 400 µg/mL para testar seus efeitos antimicrobianos, os melhores resultados para *E. coli* O157:H7 e *L. monocytogenes* foi com valores de 200µg/mL e 270µg/mL respectivamente.

Figura 5 - Estrutura química do Ácido Carnósico, Carnosol, Rosmanol e Epirosmanol



Fonte: Shahidi (1997).

Quando adicionado a linguiças suínas a 2500ppm, o extrato de alecrim foi igual ou mais efetivo que BHA/BHT em impedir o aumento de valores de TBARS em linguiças cruas ou pré-cozidas durante o armazenamento refrigerado ou congelado. Além disso, promoveu uma melhora na cor e no frescor de linguiças suínas. (SEBRANEK *et al.*, 2005). Já em um estudo utilizando linguiças feitas carne de suínos brancos ou ibéricos, o óleo essencial de alecrim inibiu o desenvolvimento de oxidação lipídica e proteica quando utilizado nas linguiças feitas com suínos ibéricos, obtendo um efeito mais intenso com concentrações mais altas. Porém, quando utilizado em linguiças feitas com suínos brancos, o melhor efeito foi obtido quando utilizado 150 ppm, sendo que com concentrações maiores (300 e 600ppm) não houve efeito na oxidação lipídica e houve um aumento na oxidação de proteínas. (ESTÉVEZ; CAVA, 2006). Em carnes moídas após 8 dias de armazenamento, o extrato de alecrim promoveu uma melhor retenção da cor devido a uma menor concentração de metamioglobina e maior concentração de oximioglobina. (FORMANEK *et al.*, 2003).

2.5.2.2 Aipo

O aipo, por ser um vegetal naturalmente rico em nitratos, tem sido bastante utilizado em pesquisas que buscam encontrar um produto que tenha um bom efeito antimicrobiano para ser utilizado em embutidos. (KRAUSE *et al.*, 2011; SEBRANEK

et al., 2012; XI *et al.*, 2012). Suco de aipo e pó de aipo são frequentemente usados como fontes naturais de nitrato, porque não conferem nenhum sabor desagradável devido à sua alta compatibilidade com produtos de carne processada. (SEBRANEK; BACUS, 2007).

Concentrados vegetais derivados do aipo estão comercialmente disponíveis e estão sendo utilizados para a produção de carnes processadas naturais e orgânicas. (KRAUSE *et al.*, 2011). Recentemente, pós de vegetais pré-convertidos também se tornaram comercialmente disponíveis para a produção de produtos naturalmente curados. Esses pós podem ser comprados contendo nitrito em concentrações de 10.000 a 15.000ppm. (KRAUSE *et al.*, 2011). Esse processo de cura foi desenvolvido no final dos anos 1990, sendo que as primeiras empresas a utilizarem este tipo de cura, algumas ainda no ano de 2001 foram Daniele Inc, Applegate Farms, Boars Head, Dabecca, Mary Ann's Oberto, webster city, Wellshire, Tyson, Hormel, e Oscar Mayer. (SEBRANEK *et al.*, 2012).

Para que haja um melhor resultado no processo de cura da carne em que foi utilizado o aipo, é necessário que sejam adicionadas bactérias redutoras de nitrato. (SEBRANEK *et al.*, 2012). Além do efeito antimicrobiano, é relatado que o pó de aipo pode ser utilizado para dar cor de carne fresca para carnes embaladas em baixos teores de oxigênio. (SEBRANEK *et al.*, 2012).

Em um estudo com caldo de carne e presunto utilizando suco de aipo concentrado para substituir o nitrito, foi verificado que no caldo de carne o suco concentrado equivalente a 100ppm de nitrito foi menos efetivo que o nitrito convencional na inibição de crescimento de *L. monocytogenes*, porém quando adicionado a presunto na concentração de 100ppm e 200ppm de nitrito, houve um crescimento de *L. monocytogenes* similar ao que ocorreu quando utilizado o nitrito convencional nestas mesmas concentrações. (HORSCH *et al.*, 2013). Em outro estudo, houve um aumento no escore da cor quando utilizado o pó de aipo pré-convertido em substituição ao nitrito, e não houve diferenças significativas nos valores de TBARS para a oxidação lipídica entre o grupo controle (no qual foi utilizado apenas nitrito), pó de aipo sozinho, e pó de aipo adicionado de vinho a 5%. (FENG *et al.*, 2016).

Em linguiças, o aipo em pó afetou favoravelmente a hidratação das propriedades de texturas, e a aceitação pelo consumidor da suculência e da textura foi maior que quando utilizado nitrito. (PIETRASIK; GAUDETTE; JOHNSTON, 2017).

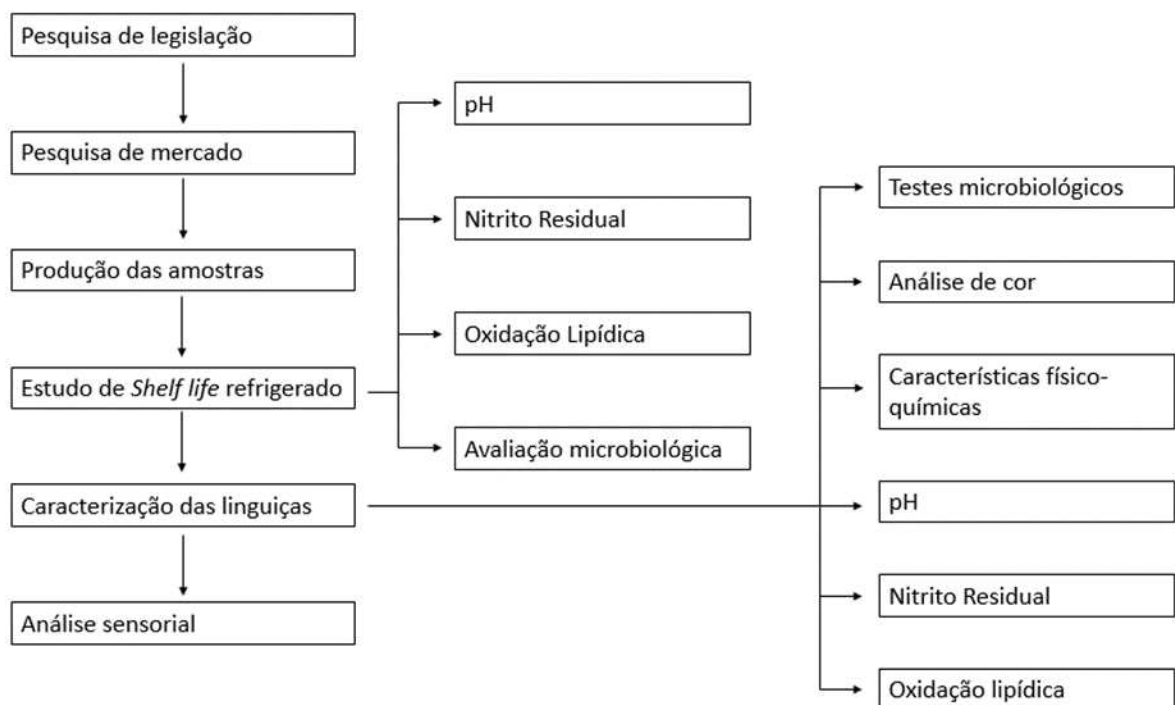
Em estudo realizado por Pietrasik em 2016 utilizando presunto no qual foram utilizados pó de aipo com concentração equivalente a 2% de nitrito de sódio em comparação a presuntos produzidos com sal de cura 6,35% de nitrito de sódio, nos produtos no qual foi utilizado o pó de aipo houve um pH significativamente maior ($P < 0,05$). O pó de aipo também teve efeitos benéficos na retenção de água e de umidade. Os presuntos processados com pó de aipo tinham níveis significativamente mais elevados de nitritos residuais. Não houve diferença significativa sobre a estabilidade oxidativa dos produtos. Os produtos contendo o pó de aipo foram mais escuros, mais amarelos e menos vermelhos que os presuntos no qual foram utilizados o sal de cura. (PIETRASIK; GAUDETTE; JOHNSTON, 2016). Em outro estudo, foi verificado que o pH de linguiças suínas tratadas com extrato de aipo a 3% foi menor em comparação a 150ppm de nitrito de sódio. Quanto as cores, houve semelhanças na claridade, menor intensidade nos tons de vermelho, e maior intensidade nos tons de amarelo. (HWANG *et al.*, 2018). Quando utilizado o suco de aipo com nitrato já convertido em nitrito em peitos de peru em concentrações de 80 a 120ppm, foi verificado que o pH ficou entre 6,39 a 6,49. Já os valores médios de nitrito residual após o cozimento para formulações com 80ppm foram de $52,6 \pm 5,9$ enquanto os valores para formulações com 120ppm foram de $68,3 \pm 5,5$. A adição de 80 ou 120ppm de nitrito derivado do aipo ou da cura convencional inibiu significativamente o crescimento de *L. monocytogenes* ($P < 0,05$) em comparação com o controle não curado (0ppm de nitrito) sem antimicrobianos em 3 a 8 semanas de armazenamento a 4°C. Não houve diferença significativas entre os dois métodos de cura. Em 3 semanas não houve crescimento de *L. monocytogenes* em qualquer um dos tratamentos com nitrito. Em 4 semanas, as populações de *L. monocytogenes* aumentaram $0,97 \pm 0,60$ e $1,32 \pm 1,24$ log UFC/mL para os tratamentos com 80ppm de nitrito derivado do aipo e do nitrito proveniente da cura convencional, respectivamente, e observou-se um aumento médio de $<0,6$ log para os tratamentos com 120ppm de nitrito. Em 6 semanas, as populações de *L. monocytogenes* aumentaram $2,28 \pm 0,75$ e $2,34 \pm 0,53$ log UFC/mL para os tratamentos de 80ppm de nitrito proveniente do aipo e do nitrito proveniente da cura convencional, respectivamente, e $1,24 \pm 0,46$ e $2,20 \pm 0,71$ log CFU / mL para os 120ppm de nitrito dos tratamentos baseado no aipo e na cura convencional, respectivamente. (GOLDEN *et al.*, 2014).

Em estudo no qual foi utilizado o aipo como fonte natural de nitrito, em qualquer concentração esse nitrito teve um efeito significativo sobre a *L. monocytogenes* viável ($P < 0,05$). Enquanto os tratamentos com 0ppm de nitrito tiveram populações de *L. monocytogenes* viáveis significativamente altas ($P < 0,05$) no dia 14, os tratamentos com 50 e 100ppm de nitrito não tiveram populações de *L. monocytogenes* viáveis. As populações de *L. monocytogenes* viáveis encontradas com tratamento com 100ppm de nitrito foram significativamente menores ($P < 0,05$) do que as do tratamento com 0 ppm de nitrito em até 84 dias de armazenamento. (LAVIERI *et al.*, 2014).

3 METODOLOGIA

Neste trabalho foi desenvolvida uma linguiça frescal unicamente com aditivos naturais. Este capítulo descreve a metodologia empregada, apresentada esquematicamente no Fluxograma da Figura 6. Primeiramente foi realizada uma busca da legislação vigente sobre a produção de linguiça frescal. Em seguida foi realizada uma pesquisa de mercado onde se buscou as marcas já existentes, e então foi realizada a produção das amostras, sendo toda ela executada nos laboratórios do iit Nutrifor da UNISINOS. Após a produção das amostras, foi realizado o estudo de *shelf life* refrigerado, e então a caracterização das amostras e análise sensorial.

Figura 6 - Fluxograma das etapas da pesquisa



Fonte: elaborado pelo autor.

3.1 LEGISLAÇÃO

Foi realizada uma busca pelos websites do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) e da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) sobre a legislação vigente para a produção de linguiças, com o objetivo de identificar

os parâmetros a serem utilizados como referência nesta pesquisa, visando o desenvolvimento de um produto que atenda aos requisitos de qualidade exigidos pela Legislação Brasileira.

3.2 PESQUISA DE MERCADO

Ao desenvolver um produto novo no mercado, é importante a prática do benchmarking, que pode ser traduzido como “ponto de referência” e é um minucioso processo de pesquisa que permite aos gestores compararem produtos, práticas empresariais, serviços ou metodologias usadas pelos rivais, absorvendo algumas características. (ENDEAVOR, 2015). Neste trabalho foi realizada uma pesquisa para conhecer as marcas de produtos parecidos que já estão no mercado, verificando os ingredientes utilizados em cada um. A busca por marcas nacionais foi realizada no website do Google utilizando como palavra chave “linguiça sem conservante”. Para o mercado externo, foi utilizada como palavra chave “uncured sausage”.

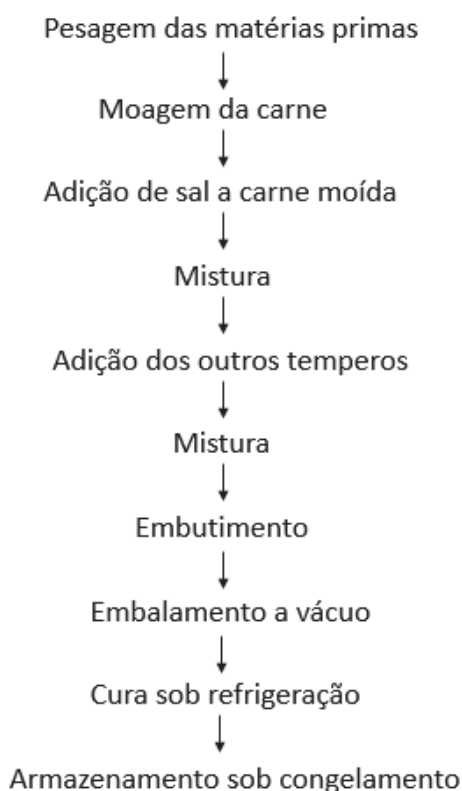
3.3 PRODUÇÃO DAS AMOSTRAS

Foi realizado um teste preliminar em escala de bancada no Instituto Tecnológico em Alimentos para a Saúde (itt Nutrifor), na Universidade do Vale do Rio dos Sinos (UNISINOS), em São Leopoldo/RS, no qual foi produzida uma amostra de linguiça frescal com uma formulação totalizando 1646,25 g, com 32,54% de coxão bovino, 37,95% de paleta suína, 25,26% de toucinho, 1,9% de sal, 0,16% de açúcar, 0,07% alho em pó, 0,05% de noz moscada, 0,23% de pimenta preta, 0,13% de extrato de alecrim da marca Tovani Benzaquen, 0,5% de aipo em pó com nitrato pré-convertido em nitrito Kerry Accel XP30, e 1,27% de água. O coxão bovino, a paleta suína e o toucinho foram adquiridos junto ao frigorífico Ouro do Sul, em Harmonia/RS, já o sal, o açúcar, o alho, a noz moscada e a pimenta preta foram obtidas no comércio local. O extrato de alecrim fora gentilmente cedido pela Tovani Benzaquen e o aipo em pó pré-convertido fora gentilmente cedido pela empresa Kerry Inc.

Para o seu processamento, foram pesados os ingredientes em balança digital, e então foi feita a moagem da carne no moedor. Após este processo, foi adicionado o sal e feita a primeira mistura manualmente, até a extração das proteínas

miofibrilares, quando então adicionados e completamente misturados os outros temperos e aditivos da formulação. Em seguida foi realizado o embutimento em tripa natural suína calibre 26mm, embalada a vácuo, e então a linguiça foi armazenada sob refrigeração entre 0°C e 5°C por 24 horas (para a ocorrência da reação de cura) e então mantida sob congelamento a -18°C. A Figura 7 apresenta o fluxograma do processo realizado em laboratório na elaboração da linguiça.

Figura 7 - Fluxograma da produção de linguiça



Fonte: elaborado pelo autor.

A partir do resultado deste teste preliminar, foram produzidas outras amostras onde, através do método de tentativa e erro, foram avaliadas a quantidade de sal, açúcar, alho, noz moscada, e pimenta preta, sendo que estas amostras passaram pela avaliação sensorial, realizada unicamente pelo pesquisador, e a amostra mais bem avaliada foi utilizada para a continuação do estudo. Também foi estudada a adição de beterraba em pó (marca Sylvestre, gentilmente cedida pelo fabricante) para contribuição na formação da cor característica do produto curado. A formulação final é a apresentada na Tabela 1. Esta formulação, na qual foi utilizado pó de aipo e extrato de alecrim, será doravante denominada de LA.

Adicionalmente, para fins de comparação, foram também produzidas amostras para controle utilizando nitrito e antioxidantes sintéticos (controle positivo) onde foi utilizado nitrito de sódio PA da marca Synth (adquirido no comércio local) e eritorbato de sódio (Qualicura, gentilmente cedido pelo fabricante); e sem nenhum tipo de conservante (controle negativo). O nitrito de sódio foi adicionado numa dosagem de 0,015% (equivalente a 150ppm) e para o eritorbato de sódio foi utilizado uma dosagem de 0,03%, conforme sugerido pelo fabricante. O aipo adicionado foi dosado conforme recomendação do fabricante, em quantidade equivalente a 150ppm de nitrito. A formulação no qual foi utilizado nitrito será doravante denominada de LN, enquanto a formulação controle, na qual não fora utilizado nenhum conservante, será doravante denominada de LC. Tais formulações também podem ser observadas na Tabela 1.

Tabela 1 - Formulação final deste trabalho, produzida com aditivos naturais (LA), formulação controle positivo, com adição de nitrito e eritorbato de sódio (LN) e formulação controle negativo, isenta de aditivos (LC)

Ingredientes	LA (%)	LN (%)	LC (%)
Paleta suína	33,97	34,22	34,24
Coxão bovino	33,67	33,97	33,99
Toucinho	28,18	28,39	28,40
Sal	1,91	1,93	1,93
Água	0,901	0,909	0,908
Pimenta preta em pó	0,239	0,242	0,241
Açúcar refinado	0,163	0,165	0,164
Alho em pó	0,074	0,076	0,076
Noz moscada em pó	0,051	0,051	0,051
Aditivos			
Aipo em pó	0,497	-	-
Beterraba em pó	0,198	-	-
Extrato de Alecrim	0,147	-	-
Nitrito de sódio	-	0,017	-
Eritorbato de sódio	-	0,03	-
Total	100	100	100

Fonte: elaborado pelo autor.

3.4 ESTUDO DE *SHELF LIFE* REFRIGERADO

Após ajuste das formulações com conservante e antioxidante naturais, bem como as amostras controle (positivo e negativo), foi realizado um estudo de *shelf life*

(vida de prateleira) das amostras em armazenamento refrigerado, com todas as amostras embaladas a vácuo.

Para isto, novo lote dos três produtos foi processado conforme descrito na seção 3.3, utilizado o mesmo lote de matérias-primas (de forma a variar apenas o tipo de conservante utilizado – natural, artificial e isento de aditivos). Ao término, as linguiças foram embaladas à vácuo e armazenadas sob refrigeração por 16 dias. Este foi o único lote de amostras não submetidas ao congelamento, conforme indicado na seção 3.3, justamente porque desejava-se entender seu comportamento durante o armazenamento refrigerado.

Um dia após o processamento e com 16 dias de armazenamento, uma amostra de cada produto foi submetida a avaliação microbiológica para contagem total de psicotróficos, conforme metodologia descrita pela Instrução Normativa nº 62, de 26/08/2003. (BRASIL, 2003). Adicionalmente, amostras dos três produtos foram submetidas a avaliação visual e às análises de pH, nitrito residual e oxidação lipídica, seguindo metodologias descritas a seguir. As primeiras análises foram feitas um dia após a produção das amostras, e em seguida com 6, 8, 13 e 15 dias após o processamento.

3.4.1 pH

Foram realizadas medições do pH pelo método potenciométrico, utilizando potenciômetro previamente calibrado, conforme Métodos Físico-Químicos para Análise de Alimentos, do Instituto Adolfo Lutz. (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 2008).

3.4.2 Nitrito residual

O método utilizado para a determinação do nitrito residual foi conforme Métodos Físico-Químicos para Análise de Alimentos, do Instituto Adolfo Lutz. (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 2008). Os resultados obtidos foram analisados utilizando Teste t, para comparação das amostras em um mesmo dia; e ANOVA e teste de Tukey para diferenciação das médias obtidas entre os dias, utilizando o software Past 4.01.

3.4.3 Oxidação lipídica

A oxidação lipídica das amostras foi determinada através do método de TBARs conforme metodologia descrita por Delgado-Pando *et al.* (2011). Primeiramente foi realizada a dissolução do ácido 2-tiobarbitúrico (TBA), onde foi utilizado 0,5766g de TBA, 20mL de água destilada, e 180mL de ácido acético glacial, sendo utilizado um becker onde foi adicionado o TBA, a água destilada, e 2/3 do ácido acético. Foi dissolvido em agitador à temperatura ambiente, e ao obter a dissolução completa, foi utilizado o resto do ácido acético. Após isso, foi pesado em um Becker 10g da amostra da linguiça, acrescentado 50mL de água, e então transferido para o liquidificador e triturada por 2 minutos. Com mais 47,5mL de água, a mistura foi transferida para um balão de destilação do tipo Kjeldahl e então foi adicionado 2,5L de HCl 4N para trazer o pH para 1,5 e duas gotas de antiespumante (silicone). Após isso, começou a destilação e após 10 minutos de ebulição foi recolhido 50mL do destilado. Foi feita duplicata e branco. Retirou-se 5mL do destilado e foi colocado em tubo de ensaio com mais 5mL da solução de TBA. Os tubos foram fechados, agitados e imersos em banho de água fervente por 35 minutos, e então retirados e resfriados em água corrente por 10 minutos. Foi feita a leitura da absorbância da amostra contra o branco em espectrofotômetro a 538nm. O valor encontrado na leitura foi multiplicado por 7,8, sendo este valor o resultado para mg de malonaldeído por 1000g do produto analisado.

3.5 CARACTERIZAÇÃO DAS LINGUIÇAS

Ao término do estudo de *shelf life* refrigerado, novo lote dos três produtos foi processado, de acordo com procedimento descrito na seção 3.3, visando sua caracterização. Tais amostras, embaladas à vácuo, foram armazenadas sob refrigeração por 24h após seu processamento, para a completa reação de cura. Em seguida, foram congeladas a -18 oC e em seguida submetidas aos ensaios descritos nas seções a seguir.

3.5.1 Testes Microbiológicos

Foram realizados testes para a detecção e quantificação dos seguintes microrganismos de importância alimentar: Coliformes, *Escherichia coli*, *Staphylococcus* coagulase positiva, Clostridio sulfito redutor, e *Salmonella sp.*, e contagem total de psicrotóxicos, conforme metodologias descritas pela Instrução Normativa nº 62, de 26/08/2003. (BRASIL, 2003).

3.5.2 Análise de cor

Foi realizada pelo método colorimétrico, através de leitura direta de reflectância no sistema de coordenadas retangulares “L*”, “a*”, e “b*”, empregando a escala de cor CIELAB, com iluminante D65 e ângulo de observação de 10°, utilizando o colorímetro ColorQuest X da Hunterlab. A coordenada “L*” varia de 0 (preto) a 100 (branco), “a*” varia de verde (-a) para vermelho (+a) e “b*” varia de azul (-b) para amarelo (+b). Foram calculadas as coordenadas cilíndricas C* (croma) e h° (ângulo de tonalidade), de acordo com as Equações 1 e 2, respectivamente. (HUNTERLAB, 2008). As leituras foram realizadas em triplicata. Os resultados obtidos foram analisados utilizando ANOVA e teste de Tukey para diferenciação das médias obtidas com cada amostra analisada, com o *software* Past 4.01.

Figura 8 - Equações para as coordenadas cilíndricas C* e ângulo de tonalidade h°

$$C^* = \sqrt{a^{*2} + b^{*2}} \quad (1)$$

$$h^\circ = \arctan (b^*/a^*) \quad (2)$$

Fonte: HUNTERLAB (2008).

3.5.3 Características Físico-químicas

Foram medidos os teores de umidade, gordura, proteína, e cálcio em base seca das amostras, conforme metodologias descritas pela Instrução Normativa nº 20, de 21/07/99. (BRASIL, 1999). Os resultados obtidos foram analisados utilizando ANOVA e teste de Tukey para diferenciação das médias obtidas com cada amostra analisada, com o *software* Past 4.01.

3.5.4 pH

Foram realizadas medições do pH pelo método potenciométrico, utilizando potenciômetro previamente calibrado, conforme Métodos Físico-Químicos para Análise de Alimentos, do Instituto Adolfo Lutz. (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 2008).

3.5.5 Nitrito residual

O método utilizado para a determinação do nitrito residual foi conforme Métodos Físico-Químicos para Análise de Alimentos, do Instituto Adolfo Lutz. (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 2008). Os resultados obtidos foram analisados utilizando Teste t.

3.5.6 Oxidação lipídica

A oxidação lipídica das amostras foi determinada através do método de TBARs conforme metodologia descrita por Delgado-Pando *et al.* (2011). Os resultados obtidos foram analisados utilizando ANOVA e teste de Tukey para diferenciação das médias obtidas com cada amostra analisada, com o *software* Past 4.01.

3.5.7 Análise sensorial

Após completa caracterização físico-química e microbiológica das amostras, garantindo assim sua segurança, os produtos (que estavam armazenados, como já comentado, sob congelamento) foram submetidos à avaliação sensorial.

A análise sensorial foi realizada através de um teste de aceitação das amostras elaboradas. Após a aprovação pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da UNISINOS, as amostras embaladas a vácuo e identificadas com números de 03 algarismos aleatórios foram entregues aos painelistas e foram assadas nas residências dos próprios painelistas em fornos a 200 °C até o completo cozimento e então consumidas ainda quentes. Foram recrutados 34 provadores de ambos os sexos, entre alunos e funcionários da UNISINOS. Foram excluídos do teste os alérgicos a algum dos ingredientes utilizados nas amostras. Inicialmente os participantes do teste leram e assinaram o Termo de Consentimento Livre e

Esclarecido (TCLE), conforme Apêndice A, frente às considerações éticas deste projeto, descritas na seção a seguir. Em seguida foi entregue aos participantes uma ficha (Apêndice B) com questionamentos sobre os hábitos de consumo deste alimento, intenção de compra, e avaliação sensorial por escala hedônica a aparência, a cor, o aroma, a textura, o sabor, e a aceitação global. Os resultados obtidos foram analisados utilizando ANOVA e teste de Tukey para diferenciação das médias obtidas com cada amostra analisada, com o *software* Past 4.01.

3.5.8 Considerações éticas

O presente estudo observou o princípio ético de respeito à pessoa, na sua dignidade, integridade física e autonomia, tendo em vista que os participantes da pesquisa foram informados sobre o seu objetivo, natureza, procedimentos, riscos potenciais, benefícios e a possibilidade de deixar de participar da pesquisa a qualquer momento, a partir da apresentação do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido. Por essa razão, o trabalho se desenvolveu de acordo com as disposições da Resolução CNS nº 466/12. Também foram informados de que será mantida a confidencialidade das informações coletadas.

O resultado da pesquisa tem como benefício o esclarecimento da população a respeito do consumo de linguiças com conservantes e antioxidantes naturais, bem como sobre análise sensorial de alimentos. O resultado da pesquisa pode, portanto, ser mais um elemento de convencimento ao consumo deste tipo de produto e oferecer ainda mais benefícios à saúde.

As linguiças são alimentos comuns na dieta de muitos indivíduos. Os indivíduos selecionados para a pesquisa foram consumidores habituais deste tipo de produto. Desta forma, o único risco possível aos provadores seria o de uma eventual alergia. Contudo, o mesmo é sanado já na primeira etapa de triagem e recrutamento dos provadores, pois os mesmos foram entrevistados e questionados sobre sua saúde. Foi informada a composição qualitativa dos ingredientes aos participantes, dando a oportunidade de não realizar a avaliação sensorial.

A análise sensorial somente foi realizada quando todos os ensaios de caracterização foram favoráveis e próprios para consumo humano. Foi garantida aos voluntários a idoneidade das amostras a partir das análises feitas. O participante pôde desistir ou interromper a sua participação na análise sensorial do projeto em

qualquer momento, sem acarretar penalidades. A participação na avaliação não envolveu qualquer custo ao participante e foi de forma espontânea.

O pesquisador foi responsável pela coleta dos dados junto aos participantes da pesquisa. A coleta das respostas foi realizada mantendo a privacidade e confidencialidade da identidade do participante no momento da análise. Os dados da avaliação sensorial serão armazenados pelo pesquisador sob sigilo, por um período de 5 anos em local reservado de acesso somente ao pesquisador e, após, serão incinerados. Os resultados serão utilizados para fins científicos e poderão ser publicados em forma de artigos.

O participante foi instruído a lavar a boca com água entre as provas, durante a avaliação sensorial. Foram aceitos nesta pesquisa todos os voluntários que concordaram em participar da mesma, assinando o TCLE (Termo de Consentimento Livre e Esclarecido) que tivessem mais de 18 anos de idade, que aceitassem degustar e que sejam consumidores habituais de linguiças. Não foram aceitos voluntários que apresentassem alguma afecção bucal ou algum tipo de deficiência física que impossibilite as avaliações necessárias ou que possuíssem algum tipo de alergia ou intolerância aos ingredientes das formulações.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 PESQUISA DE MERCADO

No mercado nacional foram encontradas duas marcas de linguiças, uma produzida no município de São Gabriel, RS, de nome Casa da Linguiça, no qual não é utilizado nenhum tipo de conservante nesta linguiça. Já a outra marca pertence a Seara, uma das maiores produtoras de produtos cárneos do país, pertencente à JBS S.A. Esta nova linha da Seara leva o nome de Seara Nature, foi lançada no ano de 2019, e utiliza para sua conservação acerola, aipo e extrato de alecrim. Já no mercado externo foram encontradas diversas marcas, como por exemplo Niman Ranch, Schaller & Weber, Hillshire Farm, Oscar Mayer, J's, Milton's Local, Prairie Groove Farms, Pederson's, entre outras, sendo que as primeiras marcas datam do ano de 2001. A Tabela 2 apresenta algumas das marcas que foram encontradas, identificando seus países de origem, com a foto dos produtos, e listando seus ingredientes.

Tabela 2 - Marcas, ingredientes, e países de origens de linguiças sem conservantes artificiais

(continua)

Marca	Fotografia do produto	Ingredientes	País de origem
Casa da linguiça		Carne suína, carne bovina, água, vinho tinto, sal, alho granulado, orégano, pimenta calabresa	Brasil
Seara Nature		Pernil suíno, água, sal, aipo, vinagre, acerola, fibra de colágeno (bovino), açúcar, cebola, alho, salsa, coentro, aroma natural (Alecrim).	Brasil

(continuação)

Produto	Fotografia do produto	Ingredientes	País de origem
Cleavers		Cordeiro orgânico, água, farinhas orgânicas (arroz e tapioca), sal, especiarias orgânicas, extrato natural de algas marinhas, alecrim orgânico, açúcar orgânico, alho orgânico desidratado. Produzido com tripa natural.	Austrália
Ferju		Carne suína, páprica, sal, e especiarias naturais (alho, orégano)	Espanha
Helen Browning's		Carne suína orgânica, sal, ervas e especiarias orgânicas, dextrose orgânica, maltodextrina orgânica, estabilizante citrato de sódio. Produzido com tripa natural	Inglaterra
Hillshire Farm		Carne suína, água, sal, especiarias naturais, dextrose, caldo de porco, açúcar, suco de aipo em pó, sal marinho. Produzida com tripa de colágeno.	Estados Unidos
J.L.Benito		Carne suína, sal marinho e especiarias.	Espanha
Js		Carne suína, pimenta, sal, especiarias, alho em pó.	Estados Unidos

(conclusão)			
Produto	Fotografia do produto	Ingredientes	País de origem
Niman Ranch		Carne suína, água, sal, açúcar mascavo, especiarias, pó de aipo cultivado (pó de aipo, sal), páprica, vinagre, alho	Estados Unidos
Okoland		Carne bovina, água, óleo de girassol, sal, especiarias, dextrose	Alemanha
Oscar Mayer		Carne bovina, água, aromatizantes naturais, sal, suco de aipo cultivado, açúcar, cereja em pó. Feito com tripa bovina	Estados Unidos
Pederson's		Carne bovina, queijo (leite pasteurizado, culturas lácteas, sal, enzimas), água, temperos (sal, especiarias, alho, açúcar mascavo), vinagre, pimenta, pó de aipo,	Estados Unidos
Prairie groove		Carne suína, água, sal, dextrose, pó de aipo, especiarias naturais.	Estados Unidos
Ribera Real		Carne suína, páprica, sal, alho, orégano, tripa natural.	Espanha
Schaller Weber		Carne suína, água, sal, páprica defumada, alho, sálvia, extrato de levedura, aromatizantes naturais	Estados Unidos

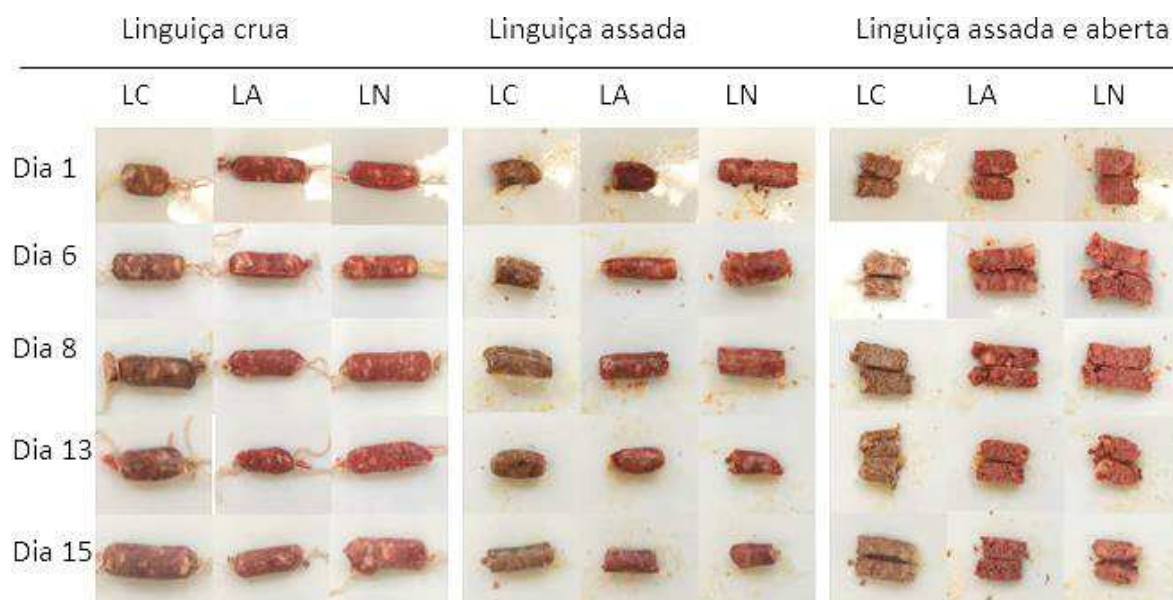
Fonte: elaborado pelo autor.

Foram encontradas diversas marcas, principalmente dos Estados Unidos e Europa, o que demonstra que este já é um mercado bastante consolidado nessas localidades, enquanto no Brasil recém está começando. Algumas marcas não utilizam nenhum conservante, enquanto outras utilizam o aipo, sendo este o único aditivo encontrando nestas marcas como substituto do nitrito. Quanto aos ingredientes, foi verificado que todas as marcas possuem uma fórmula diferente da outra, e isso mostra a grande variedade de tipos de linguiças que podem ser produzidas.

4.2 ESTUDO DE *SHELF LIFE* REFRIGERADO

Para o estudo de *shelf life* refrigerado foi medido o pH, os teores de nitrito residual, a oxidação lipídica e avaliação microbiológica das amostras. Adicionalmente, o aspecto das linguiças foi analisado. A Figura 8 apresenta fotografias dos produtos crus e assados, onde é possível observar seu aspecto e cores.

Figura 9 - Fotografias das amostras cruas, assadas, e assadas e abertas ao longo dos dias de armazenamento refrigerado, no estudo de *shelf life*



*LA = Linguiça produzida com aipo e alecrim. LN = Linguiça produzida com nitrito e eritorbato de sódio. LC = Linguiça controle (produzida sem nenhum tipo de conservante).

Fonte: elaborado pelo autor.

Visualmente, foi verificado que houve diferenças entre as 3 amostras. A amostra LC apresentou uma cor mais parecida com o marrom, tanto crua como assada, enquanto as amostras LA e LN apresentaram tons mais avermelhados, sendo que aparentemente a amostra LA apresentou um tom vermelho mais forte que a amostra LN e em nenhuma amostra houve diferença nas cores entre o primeiro e o último dia. Não houve diferença entre as texturas e suculências de uma amostra para outra, apresentando textura e suculência bastante compatível com as marcas presentes no mercado. Quanto ao odor, todas as amostras apresentaram um odor bastante agradável nos primeiros dias, porém a amostra LC nos dias 13 e 15 começou a apresentar odor desagradável, enquanto as outras amostras continuavam com odor bastante agradável. Não foi verificada nenhuma diferença no aspecto externo das amostras entre o primeiro e o último dia.

4.2.1 pH

O pH foi medido nas amostras contendo aipo, nitrito e na amostra controle (sem nitrito nem aipo) em cinco tempos diferentes, nos dias 1, 6, 8, 13 e 15 dias após o processamento. Os valores são apresentados na Tabela 3.

Tabela 3 - Valores de pH obtidos nas amostras produzidas no estudo de *shelf life*

Amostra	1 dia	6 dias	8 dias	13 dias	15 dias
LC	5,41	5,20	5,08	5,08	4,99
LN	5,85	5,14	5,00	5,15	5,00
LA	5,80	5,17	5,21	5,15	4,95

*LA = Linguiça produzida com aipo e alecrim. LN = Linguiça produzida com nitrito e eritorbato de sódio. LC = Linguiça controle (produzida sem nenhum tipo de conservante).

Fonte: elaborado pelo autor.

O pH possui influência na microbiota desenvolvida no produto, e também está relacionado com a cor e o sabor do produto. (ALMEIDA, 2005). Alguns microrganismos deteriorantes não possuem crescimento em pH ácido, como por exemplo o *Brochothrix thermosphacta* que necessita um pH superior a 5,8 ou o *Altermonas putrefaciens*, que não se desenvolve em pH inferior a 6,0. (GILL, 1983). Em produtos cárneos embalados à vácuo, geralmente a microbiota é dominada por

espécies de *Lactobacillus*, os quais não são afetados pelo pH da carne. (GILL, 1983).

No presente estudo foi verificada uma tendência de redução do pH durante o tempo, e segundo outros estudos, esta redução no pH pode estar ligada ao desenvolvimento de bactérias lácticas, as quais produzem metabólitos com capacidade de diminuir o pH. (CHIAVARO *et al.*, 2008; DELAZARI; LEITÃO; HSU, 1977). Em um estudo realizado utilizando linguiça suína frescal produzida com diversos tipos de plantas com propriedades nutracêuticas embaladas em atmosfera modificada, foi verificado que o pH baixou de 6,4 no dia 0 para 5,0 no dia 21. (HAYES *et al.*, 2011), resultado este parecido com o que foi encontrado no presente estudo. Já Chiavaro *et al.* (2008), em estudo no qual foram utilizadas linguiças frescas embaladas em diferentes tipos de embalagens, verificaram que quando conservadas durante 15 dias em atmosfera modificada houve um decréscimo do pH de 5,70 no primeiro dia para 5,23. Já quando conservada em embalagem permeável a oxigênio, foi detectado um valor de pH de 5,3 após 9 dias. Pesquisando a legislação vigente, não foram encontrados valores máximos e mínimos para pH neste tipo de produto. (BRASIL, 2000).

4.2.2 Nitrito residual

O nitrito residual foi medido nas amostras contendo aipo, nitrito (controle positivo) e na amostra controle negativo (sem nitrito nem aipo) nos dias 1, 6, 8, 13 e 15 dias após o processamento. Cada amostra foi dividida em duas e as leituras foram feitas em duplicata, sendo realizado quatro leituras para cada amostra. As médias dos valores obtidos são apresentadas na Tabela 4. Já no Gráfico 1 estão os valores médios e os desvios padrão, onde é possível observar graficamente o comportamento das amostras ao longo do armazenamento. Ambas as amostras estão dentro do limite máximo preconizado pela legislação brasileira, que é de 150ppm. (BRASIL, 2006).

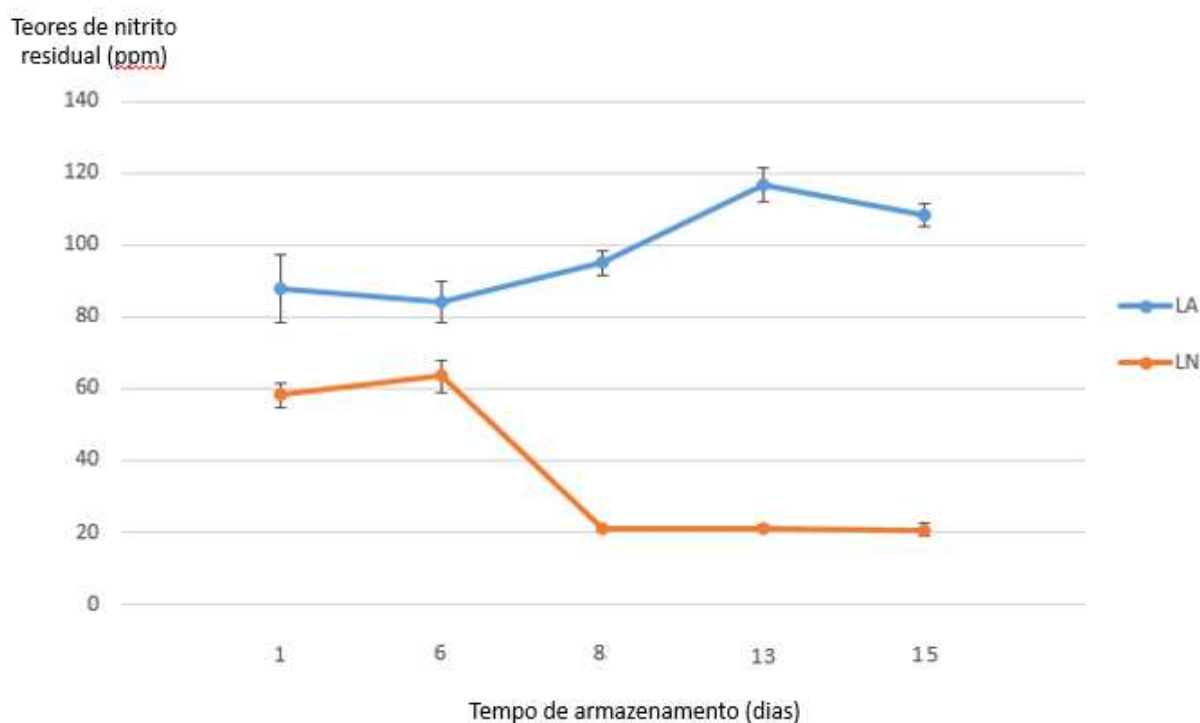
Tabela 4 - Teores de nitrito residual das amostras produzidas no estudo de *shelf life*

Amostra	Resultados (ppm)				
	1 dia	6 dias	8 dias	13 dias	15 dias
LA	87,82 ±	84,07±	95,05±	116,76±	108,19±
	9,32aB*	5,79 aB	3,49 aB	4,84 aA	3,08 aA
LN	58,31±	63,46±	21,14±	21,26±	20,75±
	3,40 bA	4,53 bA	0,52 bB	0,93 bB	1,84 bB
LC	Não detectado	Não detectado	Não detectado	Não detectado	Não detectado

*LA = Linguiça produzida com aipo e alecrim. LN = Linguiça produzida com nitrito e eritorbato de sódio. LC = Linguiça controle (produzida sem nenhum tipo de conservante).

**médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna não diferem entre si pelo teste t ao nível de 5% de significância; e médias seguidas pela mesma letra maiúscula na linha não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de significância.

Fonte: elaborado pelo autor.

Gráfico 1 - Teores de nitrito residual das amostras LA e LN produzidas no estudo de *shelf life*

*LA = Linguiça produzida com aipo e alecrim. LN = Linguiça produzida com nitrito e eritorbato de sódio.

Fonte: elaborado pelo autor.

Durante o processamento dos produtos cárneos, o nitrito reage com as aminas presentes na carne, e com isso há uma redução no nível de nitrito residual. (ALMEIDA, 2005; FERRACCIOLI, 2012). Estudos indicam que mais de 50% do nitrito adicionado é perdido durante o primeiro dia após a produção. (PARDI *et al.*, 2001; PINHO *et al.*, 1998). Em um estudo realizado em amostras de rosbife com concentração de nitrito de 0,006%, 0,012%, 0,018% e 0,026% conservados a 4°C durante 25 dias, foi verificado que quanto maior a concentração de nitrito, menor a oxidação do produto e menor a contaminação microbiológica, portanto uma maior concentração de nitrito fornece um maior *shelf life* para o produto. (MAAYAH *et al.*, 2016). O aipo em pó geralmente possui aproximadamente 3% do seu peso em nitrato. (SINDELAR *et al.*, 2007). No presente estudo foi verificado que houve um aumento no teor de nitrito residual da amostra produzida com aipo. Isto pode ser explicado pelo fato de que o ácido nitroso formado a partir do nitrito, ao dissociar para formar o óxido nítrico forma também dióxido de nitrogênio, que poderá reagir com água e ao final da reação irá ser formado nitrato, o qual poderá ser convertido em nitrito através da ação de bactérias. Na presença do eritorbato não ocorre estas reações, pois o ácido nitroso irá reagir com o eritorbato formando óxido nítrico e água. (TARTÉ, 2009). Outra possível fonte de nitrato pode ser a beterraba em pó utilizada como corante, já que a beterraba é um vegetal no qual há a presença de nitrato. (CHOI *et al.*, 2017). Caso haja nitrato presente no produto, ele pode ser reduzido a nitrito através das bactérias ácido lácticas presentes, já que algumas cepas deste grupo de microrganismos são produtoras de nitrato-redutases. (GOVARI; PEXARA, 2015).

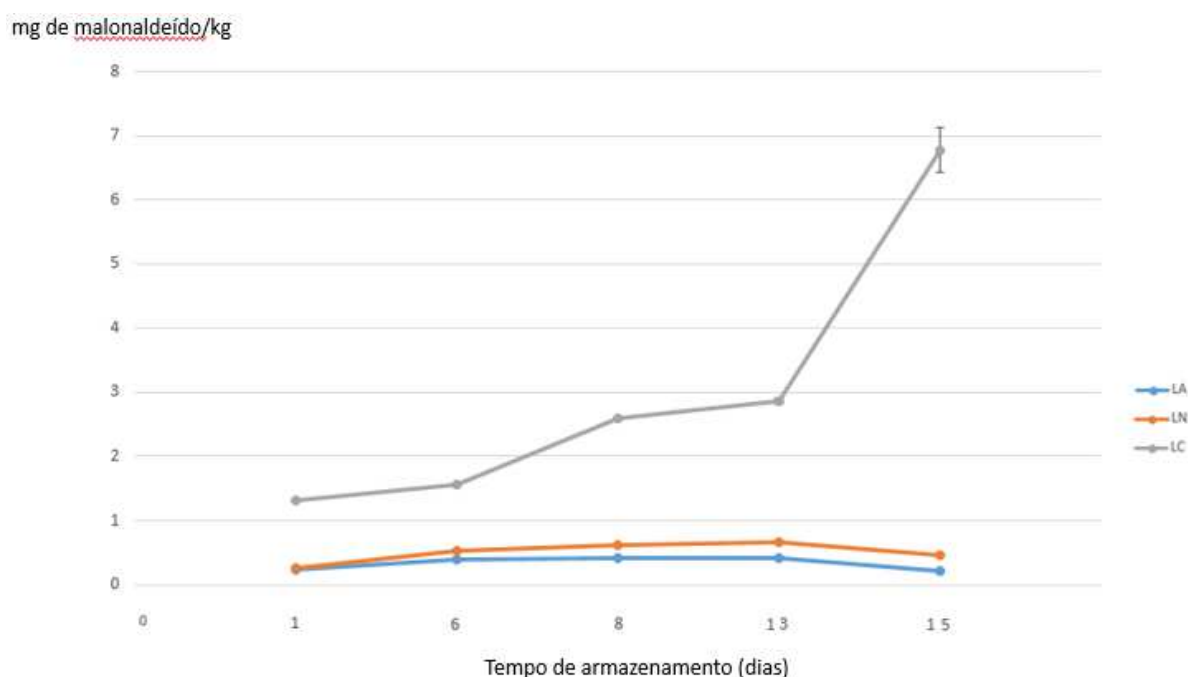
Myers *et al.* (2014), em um estudo no qual foram produzidos presuntos utilizando 100 ou 200ppm de nitrito sintético ou suco em pó de aipo com o equivalente a 50 ou 100ppm de nitrito em até 182 dias de estocagem a 4,4°C, verificaram que os teores de nitrito residual decrescem em velocidade maior na amostra produzida com nitrito sintético, sendo mais estável os valores de nitrito residual nas amostras produzidas com o pó de aipo. Segundo Duffy; Vanderlinde; Grau (1994) quanto maior o teor de nitrito residual, mais inibido é o crescimento de *Listeria monocitogenes*, sendo que em estudo realizado por Horsch *et al.* (2013) com presuntos utilizando nitrito sintético com 0 a 200ppm e suco de aipo equivalente a 100 a 200ppm de nitrito estocados por 35 dias a 4°C, a amostra com menor nitrito residual foi também a que possuía um maior número de *Listeria monocitogenes*, e

no mesmo estudo também foi verificado que as amostras nos quais foi utilizado o suco de aipo possuíam um maior teor de nitrito residual do que as amostras produzidas com o nitrito sintético. Tais resultados corroboram o encontrado no presente estudo.

4.2.3 Oxidação lipídica

A oxidação lipídica foi medida nas amostras contendo aipo, nitrito e na amostra controle (sem nitrito nem aipo) em cinco dias diferentes, nos dias 1, 6, 8, 13 e 15 dias após o processamento. As leituras foram realizadas em duplicata. A média e desvios padrão dos valores estão no Gráfico 2.

Gráfico 2 - Monitoramento da oxidação lipídica das amostras produzidas para estudo de *shelf life* em mg de malonaldeído/kg, ao longo dos dias de armazenamento



*LA = Linguiça produzida com aipo e alecrim. LN = Linguiça produzida com nitrito e eritorbato de sódio. LC = Linguiça controle (produzida sem nenhum tipo de conservante).

Fonte: elaborado pelo autor.

A oxidação lipídica pode influenciar no sabor do produto, sendo que até um valor de de 1mg de malonaldeído/kg é considerado aceitável. (TARLADGIS *et al.*, 1960). Das amostras testadas, apenas as produzidas sem nenhum tipo de conservantes (linguiça controle) atingiu estes valores, sendo que este valor já foi

atingido desde o primeiro dia. Em um estudo no qual foi verificado o *shelf life* de linguiça toscana frescal produzidas com uma mistura de ervas e especiarias encontradas na Itália (canela, cravo, noz-moscada, coentro, aniz, alho e pimenta preta), após 14 dias conservada sob refrigeração de 2°C, foi verificado um aumento na oxidação de 0,052 a 0,086mg de malonaldeído/kg. (KAMDEM; PATRIGNANI; GUERZONI, 2007). Já Chiavaro *et al.* (2008), ao analisarem linguiças frescas embaladas em atmosfera modificada, observaram um aumento de 0,2 a 0,4 mg de malonaldeído/kg quando a linguiça frescal é conservada durante 15 dias a uma temperatura de 2°C. Segundo Meireles (2019), em estudo no qual foi verificado o TBARS de linguiças suínas cozidas produzidas com extrato de coentro com cultura starter (*Staphylococcus carnosus* Bactoferm S-B-61) foi comparado com o TBARS de linguiças produzidas com sal de cura com 150ppm de NaNO₂ e de linguiças produzidas sem conservantes, foi verificado que após 30 dias de estocagem a 4°C, nas produzidas com o sal de cura houve uma menor oxidação (com um valor médio de 0,19mg/kg de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico), seguido pelas produzidas com extrato de coentro 6,84ppm de nitrato (0,92mg/kg), extrato de coentro a 3,37ppm de nitrato (1,06mg/kg) e por último a formulação sem conservantes (2,83mg/kg), mostrando com isto que o nitrito é eficiente em minimizar a formação de compostos responsáveis pela rancidez oxidativa.

O aipo pode ser um bom substituto para o nitrito para diminuir a oxidação da linguiça. Em estudo realizado por Jin *et al.* (2018), foi verificado que aipo pode ter uma potência tão boa quanto o nitrito para evitar a oxidação. Neste estudo, no qual foi testado o TBARS de diversas formulações (usando nitrito a 0,01%, pó de aipo a 0,8%, extrato de frutas em pó a 0,6%, batata doce em pó a 0,45%, extrato de frutas e vegetais em pó a 0,5%, gardênia vermelha em pó a 0,04%, e páprica em pó a 0,04% + mirtilo em pó a 0,03%) após 4 semanas sob refrigeração a 4°C, o pó de aipo obteve o valor de 0,29mg de malonaldeído/kg, enquanto o nitrito obteve 0,26mg de malonaldeído/kg, sendo que todas as outras formulações obtiveram valores mais altos.

No presente estudo, a linguiça no qual foi utilizado o pó de aipo com extrato de alecrim obteve valores de TBARS menores que a produzida com nitrito, e isso pode ser devido ao fato de o extrato de alecrim ser um bom antioxidante, que pode ter agido em conjunto com o aipo na proteção ao produto. Em estudo realizado por Sebranek *et al.* (2005), no qual linguiças frescas suínas foram refrigeradas a 4°C

durante 14 dias com iluminação constante durante 24 horas por dia, foi comparado o TBARS de linguiças produzidas com antioxidantes artificiais (BHA/BHT a 100ppm) com linguiças produzidas com diferentes concentrações de extrato de alecrim (500 a 3000 ppm), sendo que as linguiças produzidas com 3000ppm de alecrim obtiveram resultados tão bons quanto as produzidas com antioxidantes artificiais (aproximadamente 1,2 mg de malonaldeído/kg para ambas amostras).

4.2.4 Avaliação microbiológica

Foi realizada a contagem de microrganismos psicrotróficos no primeiro dia após a produção e 15 dias após a produção. Os resultados estão expressos na Tabela 5.

Tabela 5 - Contagem de bactérias psicrotróficas das amostras produzidas no estudo de *shelf life*

Amostra	Contagem de bactérias psicrotróficas (LOG UFC/g)	
	Dia 1	Dia 15
LA	6,91	6,41
LN	7,08	6,62
LC	7,63	8,04

*LA = Linguiça produzida com aipo e alecrim. LN = Linguiça produzida com nitrito e eritorbato de sódio. LC = Linguiça controle (produzida sem nenhum tipo de conservante).

Fonte: elaborado pelo autor.

Na contagem realizada no primeiro dia após a produção das amostras foi identificada uma alta contagem de microrganismos. Isto pode ter ocorrido pelo fato de que houve uma demora para a produção das amostras, foi utilizado uma manhã inteira e uma tarde inteira para produzir estas amostras, e também pelo fato de ter sido produzido no verão, em um dia em que a temperatura na região atingiu aproximadamente 39 °C, INSTITUTO NACIONAL DE METEOROLOGIA (INMET) (2020) e sabe-se que o crescimento microbiano é estimulado em temperaturas acima dos 15 °C. (HUI *et al.*, 2001b). O laboratório utilizado para a produção das linguiças não é dedicado à produção de produtos cárneos, de forma a que não possui climatização ambiental.

A carne é um excelente meio de cultura para os microrganismos, pois apresenta alta atividade de água, pH favorável, elevado teor de nutrientes e não possui constituintes antimicrobianos. (FRANCO; LANDGRAF, 2005). A linguiça é produzida com carne moída, alimento em que há um grande risco de contaminação por ter uma grande superfície de contato devido à fragmentação da carne, por haver uma intensa manipulação, e também por possíveis faltas de higienização adequadas do local de moagem, nos equipamentos e utensílios. (ZAGO, 2019).

Contagens de microrganismo psicrotróficos acima de 10^6 UFC/g pode indicar que o produto encontra-se em condições insatisfatórias para o consumo. (FRANCO; LANDGRAF, 2005). A legislação brasileira não determina um valor máximo para bactérias psicrotróficas neste tipo de produto. (AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (ANVISA), 2001). As bactérias psicrotróficas geralmente não são patogênicas para o homem, no entanto, constituem a causa mais comum de deterioração de alimentos refrigerados e indicam condições insalubres durante a fabricação e manuseio de produtos à base de carne. (KHALAFALLA; EL-SHARIF, 1993).

Os sais de cura, segundo o *International Commission on Microbiological Specifications for Food*, nas condições e concentrações nas quais são normalmente utilizadas, não causam uma destruição bacteriana rápida, mas reduzem ou previnem o crescimento dos microrganismos prejudiciais em produtos não tratados pelo calor. (ICMSF, 1985). Em um estudo em que foi testado diferentes concentrações de nitrito, de 50ppm a 200ppm, em diferentes temperaturas de estocagem, a 7 °C ou a 12 °C, por até 10 dias, foi verificado que no fim dos 10 dias não houve diferença significativas nas populações entre os grupos com temperaturas de 7 °C ou a 12 °C, nem entre as diferentes concentrações de nitrito, sendo que em todos os grupos houve um aumento na quantidade de microrganismos ao final dos 10 dias de estocagem, resultado diferente ao encontrado em nosso estudo. (CORREIA, 2008). Já em outro estudo onde foram produzidas com 150ppm de nitrito e mantidas a 10°C e 90% de umidade por 3 dias, após isso foram mantidas à 24°C e 90% de umidade por 3 dias e então mantidas a 9°C e com umidade de 75% por 28 dias, e feita a contagem de bactérias (*Micrococcaceae*, *Enterobacteriaceae*, e psicrotróficos) em vários pontos entre os dias 0 e 35, foi verificado que houve uma diminuição de até duas unidades de log de psicrotróficos. (SANZ *et al.*, 1997).

Na linguiça produzida com o aipo como conservante, tanto no primeiro dia quanto no 15º dia houve uma tendência de menor contagem microbiológica. Em um estudo no qual foi comparado o efeito contra diversas bactérias em salames coloniais produzidos com aipo (0,14% do composto Veg 503 que contém de 3,0% a 3,3% de NaNO_3 e 0,27% do composto Veg 504 que contém de 1,0 a 1,2% de NaNO_2) e alecrim (0,5% de extrato oleoso) ou com a formulação controle utilizando sal de cura a 0,1% (contendo 85% de NaCl , 9% de NaNO_2 e 6% de NaNO_3) armazenados a umidade e temperatura ambiente por 30 dias, foi visto que após esses 30 dias a contagem de bactérias ácido-láticas foi de 6,72 Log UFC.g¹ na formulação controle e 7,07 Log UFC.g¹ na formulação utilizando aipo e alecrim, cocos gram positivos, catalase positivos foi 5,06 Log UFC.g¹ para a formulação controle e 4,52 Log UFC.g¹ para a formulação com aipo e alecrim, e para aeróbios mesófilos houve uma contagem 5,37 Log UFC.g¹ na formulação controle e 5,25 Log UFC.g¹ na formulação com aipo e alecrim. (BERTOL *et al.*, 2012). Já em um estudo em que foram produzidos presuntos com 100ppm de nitrito ou com aipo em pó com o equivalente a 100ppm de nitrito e armazenados a 0 C e então foi feita a contagem de bactérias aeróbicas, quando utilizado com 100 ppm de nitrito, após 16 semanas havia nas amostras produzidas com nitrito uma contagem 5,37 Log UFC/g de bactérias aeróbicas enquanto nas produzidas com pó de aipo equivalente a 100 ppm de nitrito havia 6,19 Log UFC/g. (STANLEY, 2016). A ação do aipo contra bactérias aeróbicas foi demonstrada em um estudo no qual foi utilizado uma combinação contendo nitrato em comparação com uma composição contendo aipo. Foram produzidas linguiças suínas utilizando 2,2 g/g de uma composição feita por 99,6% de sal e 0,4% NaNO_3 , ou utilizando 2,5 g/kg de uma composição feita com suco seco de aipo com equivalente a 1610mg/kg de nitratos e armazenados por 21 dias a 4 a 6°C. A contagem de bactérias aeróbicas no dia 2 foi de 2,24 Log UFC/g na amostra produzida com nitrato e 7,31 Log UFC/g no dia 21, já na amostra com aipo, a contagem foi de 2,34 Log UFC/g no dia 2 e 8,28 Log UFC/g no dia 21. Neste mesmo estudo foram feitas contagens para coliformes, bactérias esporulantes anaeróbicas, estafilococos coagulase positivos, *Listeria monocytogenes*, e *Salmonella spp*, sendo que em todos o resultado foi de <10 CFU/g em todos os dias e para *Salmonella spp* não foi encontrado. (KOSTECKI; BILSKA; DANYLUK, 2015).

4.3 CARACTERIZAÇÃO DAS LINGUIÇAS

Após ser realizado o estudo de *shelf-life*, foi produzido um novo lote onde foi feita a caracterização das linguiças, onde foram feitos testes microbiológicos, análise da cor, foram identificadas as características físico-químicas das linguiças, o pH, análise de nitrito residual, e os teores de oxidação lipídica, além da análise sensorial.

4.3.1 Testes Microbiológicos

Foi realizada a contagem de bactérias psicotróficas, *Escherichia coli*, estafilococos coagulase positiva, *Salmonella spp.*, coliformes termotolerantes e *Clostridium perfringens* nas amostras produzidas com aipo, com nitrito e na amostra produzida sem aipo ou nitrito. O resultado está expresso na Tabela 6. A legislação brasileira preconiza apenas a contagem de Coliformes, Estafilococos coagulase positiva, Clostridio sulfito redutor, e *Salmonella spp.*, sendo que todos estão dentro dos parâmetros exigidos pela lei. (ANVISA, 2001).

Tabela 6 - Contagem microbiológicas das amostras produzidas para a caracterização das linguiças

Amostra	Análise (LOG UFC/g)					
	Bactérias psicotróficas	<i>Escherichia coli</i>	Estafilococos coagulase positiva	<i>Salmonella spp.</i>	Coliformes termotolerantes	<i>Clostridium perfringens</i>
LA	5,89	<1	<1	Ausente	<1	<1
LN	5,76	<1	<1	Ausente	<1	<1
LC	5,78	<1	<1	Ausente	<1	<1

*LA = Linguiça produzida com aipo e alecrim. LN = Linguiça produzida com nitrito e eritorbato de sódio. LC = Linguiça controle (produzida sem nenhum tipo de conservante).

Fonte: elaborado pelo autor.

4.3.2 Análise de cor

A partir da análise em colorímetro, foram determinados os valores de L*, a*, b*, c* e h*, onde L* é a luminosidade, a* e b* correspondem as duas gamas de cores

que vão do verde ao vermelho e do azul ao amarelo, respectivamente, c^* representa a intensidade e saturação e h^* ao ângulo de tonalidade. Na Tabela 7 estão os valores encontrados.

Tabela 7 - Valores obtidos na análise de cor das amostras produzidas para caracterização das linguiças

Amostra	L*	a*	b*	c*	h°
LA	51,45±3,64 ^a	6,51±0,37 ^a	9,99±1,27 ^a	11,97±1,49 ^a	0,99±0,15 ^a
LN	52,43±2,17 ^a	5,81±1,17 ^a	12,03±0,85 ^a	13,41±1,22 ^a	1,12±0,14 ^a
LC	54,74±3,97 ^a	5,97±1,05 ^a	12,67±0,71 ^a	14,07±0,40 ^a	1,13±0,15 ^a

*LA = Linguiça produzida com aipo e alecrim. LN = Linguiça produzida com nitrito e eritorbato de sódio. LC = Linguiça controle (produzida sem nenhum tipo de conservante).

**Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey.

Fonte: elaborado pelo autor.

Os valores encontrados diferem dos encontrados por outros estudos. Benedicti (2014) encontrou os valores de $L^* = 56,47$ $a^* = 8,79$ e $b^* = 15,24$ em linguiças toscanas frescas utilizando extrato de aipo equivalente a 150 ppm de nitrito. Já Hwang *et al.* (2018) encontraram os valores de $L^* = 61,3$, $a^* = 9,2$ e $b^* = 15,1$ em linguiças frescas suínas com 3% extrato de aipo com 201,35ppm de nitrito, mostrando que ambos os estudos obtiveram linguiças com um vermelho e um amarelo mais forte que as linguiças produzidas no nosso estudo. Em um estudo no qual foram produzidas linguiças secas curadas utilizando nitrito ou pó de aipo concentrado e foram avaliados os parâmetros de qualidade destas linguiças, foi verificado que independente da concentração do nitrito ou do aipo, não houve diferenças significativas nos valores de c^* e de h^* , obtendo os valores de 17,86 e 0,49 para c^* e para h^* respectivamente quando utilizado nitrito na concentração de 70ppm, 17,82 para c^* e 0,49 para h^* quando utilizado o aipo com concentração equivalente a 70ppm de nitrito, 17,88 para c^* e 0,49 para h^* quando utilizada a concentração de 140ppm de nitrito e 18,13 para c^* e 0,50 para h^* quando utilizado aipo com concentração equivalente a 140ppm de nitrito. (MAGRINYA *et al.*, 2009).

4.3.3 Características Físico-químicas, pH, Nitrito Residual e Oxidação Lipídica

Foram determinados os valores de umidade, lipídeos totais, proteína, e cálcio em base seca nas amostras contendo aipo, nitrito e na amostra sem aipo ou nitrito. Os testes foram realizados em duplicata, e as médias e desvios padrão são apresentados na Tabela 8.

Tabela 8 - Valores obtidos nos testes físicos-químicos das amostras produzidas para caracterização das linguiças.

Amostra	Teor de umidade (em %)	Teor de Lipídeos (em %)	Teor de Proteínas (em %)	Teor de cálcio em base seca (em %)
LA*	56,58±0,25 ^a **	15,8±1,68 ^a	16,04±0,73 ^a	0,121±0,01 ^a
LN	58,41±1,08 ^a	12,6±1,54 ^a	15,72±0,44 ^a	0,048±0,01 ^b
LC	56,4±1,41 ^a	14,19±1,98 ^a	16,92±0,04 ^a	0,065±0,01 ^{ab}

*LA = Linguiça produzida com aipo e alecrim. LN = Linguiça produzida com nitrito e eritorbato de sódio. LC = Linguiça controle (produzida sem nenhum tipo de conservante).

** Médias seguidas por letras diferentes na coluna diferem entre si pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de significância.

Fonte: elaborado pelo autor.

O teor máximo de umidade permitido pela legislação é 70%, de lipídeos é 30%, cálcio em base seca é 0,1%, enquanto o mínimo de proteínas é 12%. (BRASIL, 2000). Todos os valores estão dentro dos determinados pela legislação, com exceção do teor de cálcio da linguiça no qual foi produzido com aipo. Isto pode ser devido o aipo ser um alimento rico em cálcio, com o aipo cru possuindo 65,2mg/100g. (TABELA BRASILEIRA DE COMPOSIÇÃO DE ALIMENTOS (TBCA), [2019?]).

No presente estudo foi visto que as umidades das linguiças produzidas com aipo e com nitrito não diferiram significativamente entre si, resultado semelhante ao encontrado em um estudo utilizando linguiças no qual foi utilizado 0,18% de um agente de cura que possuía 6,25% de nitrito ou 0,18% de aipo em pó produzido pela empresa Florida Food Products, onde a umidade da linguiça produzida com nitrito foi de 52,40% e para aipo foi de 53,25%. Neste estudo o valor de lipídeos foi maior na produzida com nitrito, com 26,85% e 26,40% na com pó de aipo. (FENG *et al.*, 2016). Em outro estudo, no qual foi utilizado nitrito ou pó de aipo, com 70ppm ou 140ppm, nas linguiças produzidas com aipo foram verificados os valores de 25,7% e 26% de lipídeos quando utilizados 70ppm ou 140ppm, respectivamente,

e nas produzidas com nitritos foi encontrado os valores de 25,6% e 25,3% quando utilizados 70ppm e 140ppm, respectivamente. (MAGRINYA *et al.*, 2009).

Os valores de pH estão indicados na Tabela 9. Neste lote de amostras os valores estão mais altos que os obtidos nas amostras feitas para o estudo de *shelf-life*. Um dos motivos para isto pode ser devido à menor contaminação microbiana que estas amostras tiveram, e sabe-se que o ácido láctico produzido por bactérias diminui o valor de pH de linguiças. Segundo estudo realizado em 1990 no qual foi verificado o valor de pH em linguiças com diferentes níveis de contaminação por lactobacilos, foi visto que a concentração de ácido láctico é constante até que a linguiça tenha uma contaminação na ordem de 5×10^7 UFC/g, havendo um grande aumento a partir deste valor, e conseqüentemente diminuindo o valor do pH. (KORKEALA *et al.*, 1990).

Tabela 9 - Valores de pH das amostras produzidas para caracterização das linguiças

Amostra	pH
LA	6,18±0,01
LN	6,09±0,03
LC	6,185±0,005

*LA = Linguiça produzida com aipo e alecrim. LN = Linguiça produzida com nitrito e eritorbato de sódio. LC = Linguiça controle (produzida sem nenhum tipo de conservante).

Fonte: elaborado pelo autor.

As análises dos teores de nitrito residual foram realizadas em triplicata e os valores estão expressos na Tabela 10. Os valores estão dentro dos permitidos pela legislação brasileira. (BRASIL, 2006). Em comparação às amostras utilizadas nos testes de shelf-life, foi encontrado um maior teor de nitrito. Isto pode ser devido uma maior formação de óxido nítrico a partir do nitrito pelas bactérias presentes em maior quantidade nas amostras anteriores, já que é sugerido por outros autores que pode haver redução do nitrito à óxido nítrico por bactérias. (ARIHARA *et al.*, 1993; GÜNDOĞDU; KARAHAN; ÇAKMAKÇI, 2006).

Tabela 10 - Valores de nitrito residual obtidos nas amostras produzidas para caracterização das linguças

Amostra	Teor de nitrito (em mg/kg)
LA*	106,3±4,61 ^{a**}
LN	74,3±2,38 ^b
LC	Não detectado

*LA = Linguça produzida com aipo e alecrim. LN = Linguça produzida com nitrito e eritorbato de sódio. LC = Linguça controle (produzida sem nenhum tipo de conservante).

** Médias seguidas por letras diferentes na coluna diferem entre si pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de significância.

Fonte: elaborado pelo autor.

A oxidação lipídica foi verificada nas amostras produzidas com aipo, com nitrito e nas produzidas sem aipo ou nitrito. As leituras foram realizadas em duplicata e os valores encontrados estão na Tabela 11. Em comparação com as amostras utilizadas para os testes de *Shelf-life* foram encontrados menores valores, e isto pode ser devido a um menor tempo para a preparação das amostras, e conseqüentemente uma menor exposição ao oxigênio do ar, e também por ter sido em um dia com temperaturas mais amenas. Com exceção da linguça no qual não foi utilizado nenhum tipo de conservante, todas estão com valores de oxidação considerados aceitáveis, já que segundo Tarladgis *et al.* (1960) até 1mg de malonaldeído/kg é aceitável.

Tabela 11 - Valores de oxidação lipídica presente nas amostras produzidas para caracterização das linguças

Amostra	Oxidação lipídica (em mg de malonaldeído/kg)
LA	0,144±0,012 ^c
LN	0,265±0,016 ^b
LC	1,201±0,016 ^a

*LA = Linguça produzida com aipo e alecrim. LN = Linguça produzida com nitrito e eritorbato de sódio. LC = Linguça controle (produzida sem nenhum tipo de conservante).

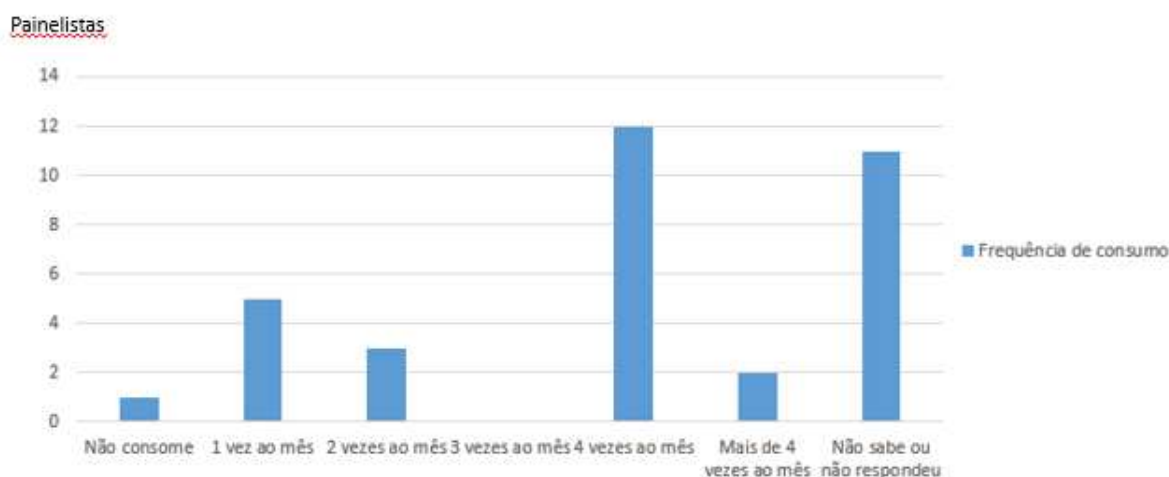
** Médias seguidas por letras diferentes na coluna diferem entre si pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de significância.

Fonte: elaborado pelo autor.

4.3.4 Análise sensorial

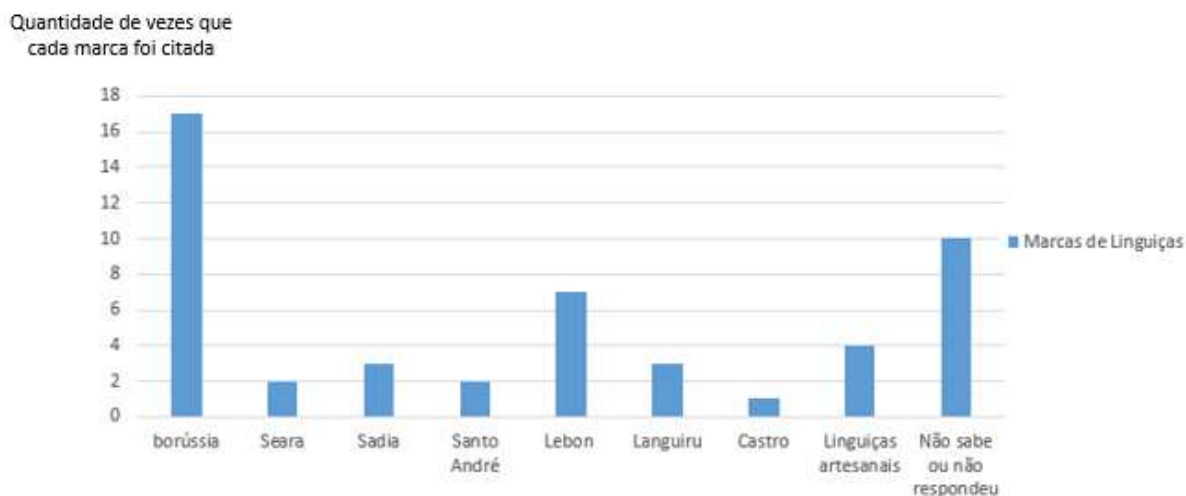
Para a realização da análise sensorial, foram convidados avaliadores não treinados. Ao total 34 painelistas participaram do ensaio. Todos responderam que possuem o hábito de possuir produtos cárneos e apenas um painalista relatou não ter o hábito de consumir linguiças frescas. A frequência de consumo dos participantes está representada no Gráfico 3, sendo que a maior parte dos que sabiam exatamente a sua frequência de consumo responderam que consomem 4 vezes ao mês. As marcas preferidas dos entrevistados estão representadas no Gráfico 4, sendo que foi possível responder mais de uma marca por pessoa. A marca mais citada foi a Borússia, sendo citada 17 vezes, enquanto a segunda mais citada, Lebon, foi citada apenas 7 vezes.

Gráfico 3 - Frequência de consumo de linguiças frescas pelos painelistas



Fonte: elaborado pelo autor.

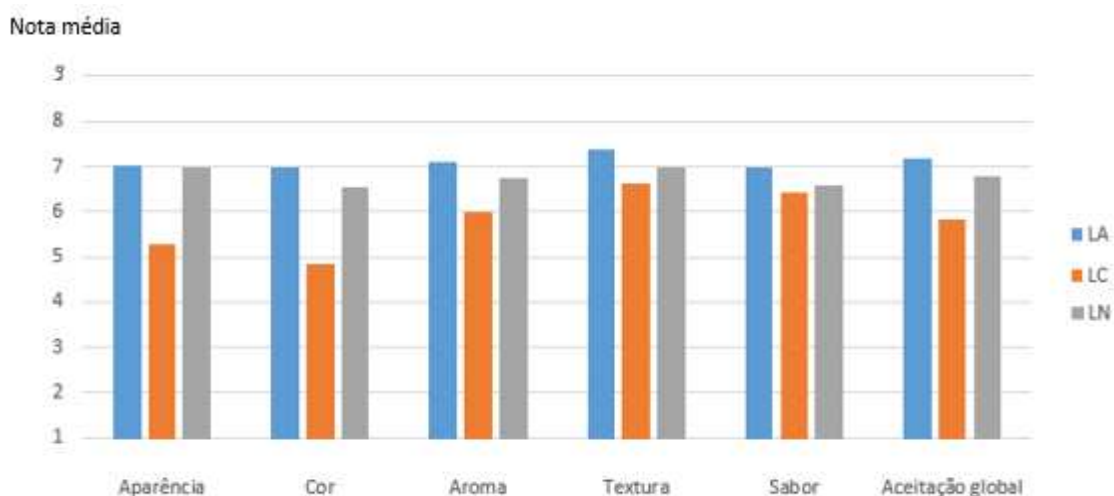
Gráfico 4 - Marcas de linguiças citadas e quantas vezes cada uma foi citada



Fonte: elaborado pelo autor.

Cada painelista deu sua nota sobre a aparência, cor, aroma, textura, sabor, e aceitação global, sendo que os valores médios estão representados no Gráfico 5. A amostra LA obteve as maiores notas em textura, sabor e aceitação global ($P < 0,05$), enquanto nos outros quesitos não houve diferença significativa em relação a amostra LN. A amostra LC obteve as notas mais baixas para todos os atributos sensoriais avaliados ($P < 0,05$). Em estudo realizado em Taiwan no qual foram produzidas linguiças do tipo chinesas utilizando o pó de aipo nas concentrações de 0,3%, 0,5% e 0,7% em substituição do nitrito a avaliada a aceitação sensorial destas linguiças, foi verificado que quando avaliada a cor, o odor, a textura, sabor e aceitação, não houve diferença significativa em nenhuma concentração em comparação as linguiças produzidas com nitrito, apenas na concentração de 0,7% houve uma maior pontuação para a cor. (HU; WU, 2008). Resultado semelhante foi encontrado em outro estudo no qual foram produzidas linguiças com pó de aipo na concentração de 0,438% em substituição ao nitrito e quando avaliadas a cor, odor, sabor, textura e aceitação global, foi verificado que não houve diferenças significativas nesses atributos entre a linguiça produzida com aipo e a produzida com nitrito. (ISMAIL, 2019). Já em um estudo no qual foi utilizado na produção de linguiça do tipo emulsão uma concentração de aipo equivalente a 70ppm de nitrito em substituição ao nitrito, a amostra produzida com aipo obteve notas menores para sabor e aceitação global em comparação à linguiça produzida com nitrito. (JUNG *et al.*, 2015).

Gráfico 5 - Média das notas recebidas pelas amostras LA, LC, e LN para aceitação da aparência, cor, aroma, textura, sabor e global

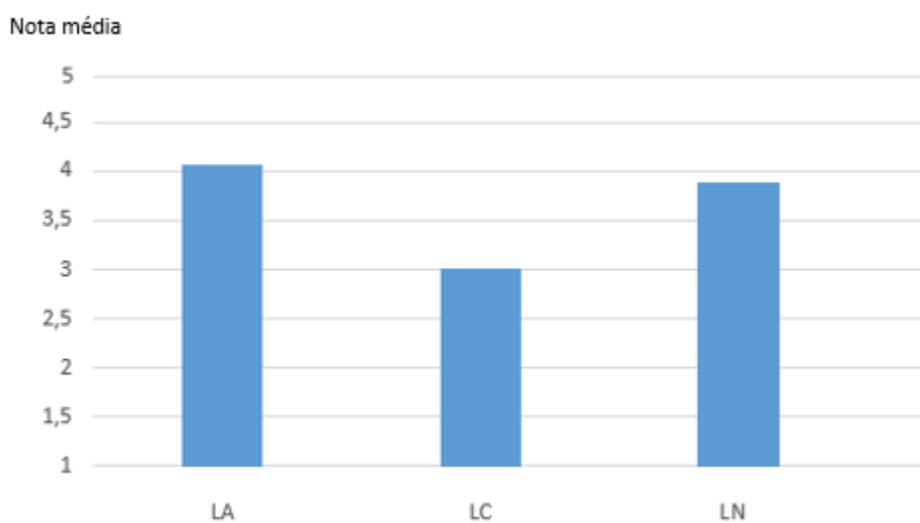


*LA = Linguiça produzida com aipo e alecrim. LN = Linguiça produzida com nitrito e eritorbato de sódio. LC = Linguiça controle (produzida sem nenhum tipo de conservante).

Fonte: elaborado pelo autor.

Em relação à intenção de compra, a amostra LA obteve as notas mais altas ($P < 0,05$), com um valor médio de 4,06, enquanto a amostra LN obteve uma média de 3,88 e a amostra LC obteve a nota mais baixa ($P < 0,05$), com um valor médio de 3. Os valores estão representados no gráfico 6.

Gráfico 6 - Valor médio da intenção de compra de cada amostra



*LA = Linguiça produzida com aipo e alecrim. LN = Linguiça produzida com nitrito e eritorbato de sódio. LC = Linguiça controle (produzida sem nenhum tipo de conservante).

Fonte: elaborado pelo autor.

5 CONCLUSÃO

O presente estudo, que teve seus objetivos atingidos, demonstrou que o pó de aipo pode ser um bom substituto para o nitrito quando utilizado para a produção de linguiças frescas, e o extrato de alecrim um bom adjuvante na prevenção da oxidação lipídica. Nas análises realizadas no presente estudo, a amostra no qual foi utilizado aipo obteve resultados semelhantes ou até melhores do que a amostra utilizando nitrito. Em relação ao pH, houve bastante semelhança entre as duas amostras. Já em relação aos teores de nitrito residual, foi demonstrado que na amostra contendo aipo em pó houve uma maior estabilidade do nitrito em relação à amostra contendo nitrito de sódio, havendo a presença de nitritos em ambas as amostras mesmo após 15 dias. Ambas formulações foram efetivas em evitar o aumento da oxidação lipídica, havendo uma estabilidade no valor da oxidação após 15 dias, enquanto na formulação controle, no qual não foi utilizado nenhum conservante, houve um grande aumento ao longo dos 15 dias de armazenamento refrigerado. Quanto à contagem microbiana, tanto na amostra LA quanto na amostra LN houve uma leve diminuição durante o tempo em que foi realizado o estudo de *shelf life* (15 dias), enquanto na amostra LC houve um aumento, o que demonstra que a presença de nitrito é efetiva na prevenção do crescimento microbiano durante o armazenamento.

Quanto aos aspectos sensoriais, as notas recebidas pela amostra LA foram ou levemente mais altas que as recebidas pela amostra LN ou não houve diferença significativa entre as duas amostras, sendo que ambas receberam notas melhores que a amostra LC. A amostra LA obteve uma maior intenção de compra que as outras amostras, mostrando uma boa aceitação deste produto.

Todos estes resultados demonstram a eficácia do uso do aipo para substituir o nitrito na produção deste produto, inclusive comercialmente, como pode ser observado pela existência de marcas, principalmente no mercado exterior, utilizando este aditivo natural. Desta forma, destaca-se que a utilização dos aditivos naturais aipo e extrato de alecrim representam uma oportunidade de inovação para a indústria cárnea brasileira, já que uma das principais tendências do consumidor atual é a preferência por produtos sem aditivos artificiais.

REFERÊNCIAS

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (ANVISA). Portaria nº 540, de 27 de outubro de 1997. Aprova o Regulamento Técnico: Aditivos Alimentares - definições, classificação e emprego. Brasília, DF: ANVISA, 1997. Disponível em: http://portal.anvisa.gov.br/documents/33916/391619/PORTARIA_540_1997.pdf/3c55fd22-d503-4570-a98b-30e63d85bdad. Acesso em: 05 abr. 2020.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (ANVISA). **Resolução RDC nº 12, de 02 de janeiro de 2001**. Aprovar o regulamento técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos. Brasília, DF: ANVISA, 2001. Disponível em: http://portal.anvisa.gov.br/documents/33880/2568070/RDC_12_2001.pdf/15ffddf6-3767-4527-bfac-740a0400829b. Acesso em: 13 jun. 2019.

ALAHAKOON, Amali U. *et al.* **Alternatives to nitrite in processed meat**: Up to date. *Trends in Food Science & Technology*, v. 45, n. 1, p. 37–49, 2015. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.tifs.2015.05.008>. Acesso em: 25 jan. 2020.

ALMEIDA, Cleide Oliveira De. **Avaliação físico-química e microbiológica de linguiça toscana porcionada e armazenada em diferentes embalagens, sob condições de esotocagem similares às praticadas em supermercados**. 2005. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) - Programa de Pós-Graduação em Tecnologia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2005.

AL-SEREITI, M. R.; ABU-AMER, K. M.; SEN, P. Pharmacology of rosemary (*Rosmarinus officinalis* Linn.) and its therapeutic potentials. **Indian Journal of Experimental Biology**, [s. l.], v. 37, p. 124-130, 1999.

ARCHER, Douglas L. Evidence that ingested nitrate and nitrite are beneficial to health. **Journal of Food Protection**, Chicago, v. 65, n. 5, p. 872-875, 2002.

ARIHARA, K. *et al.* Conversion of Metmyoglobin to Bright Red Myoglobin Derivatives by *Chromobacterium violaceum*, *Kurthia* sp., and *Lactobacillus fermentum* JCM1173. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 58, n. 1, p. 38-42, 1993.

BACUS, Jim N. Natural Ingredients for Cured and Smoked Meats. *In: ANNUAL RECIPROCAL MEAT CONFERENCE*, 59., 2006, Urbana. **Proceedings** of the 59 th American Meat Science Association Reciprocal Meat Conference. Urbana: Meat Science, 2006. p. 77-78. Disponível em: [https://meatscience.org/docs/default-source/publications-resources/rmc/2006/natural-ingredients-for-cured-and-smoked-meats\(3\).pdf?sfvrsn=2](https://meatscience.org/docs/default-source/publications-resources/rmc/2006/natural-ingredients-for-cured-and-smoked-meats(3).pdf?sfvrsn=2). Acesso em: 12 ago. 2019.

BAILEY, A. E. **Bailey's Industrial Oil and Fat Products**. 5. ed. New York: John Wiley, 1996.

BAKIREL, Tülay *et al.* In vivo assessment of antidiabetic and antioxidant activities of rosemary (*Rosmarinus officinalis*) in alloxan-diabetic rabbits. **Journal of ethnopharmacology**, [s. l.], v. 116, n 1, p. 64-73, Fev. 28 2008. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18063331/>. Acesso em: 12 jan. 2020.

BARBIERI, G. *et al.* Kinetics of nitrite evaluated in a meat product. **Meat Science**,

Parma, v. 93, n. 2, p. 282-286, 2013. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.meatsci.2012.09.003>. Acesso em: 3 mar. 2019.

BARNUM, Dennis W. Some History of Nitrates. **Journal of Chemical Education**, Portland, v. 80, n. 12, p. 1393, 2003.

BEDALE, Wendy; SINDELAR, Jeffrey J.; MILKOWSKI, Andrew L. Dietary nitrate and nitrite: Benefits, risks, and evolving perceptions. **Meat Science**, Parma, v. 120, p. 85-92, 2016. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.meatsci.2016.03.009>. Acesso em: 28 nov. 2019.

BEGUM, Asia. *et al.* An in-depth review on the medicinal flora *Rosmarinus officinalis* (Lamiaceae). **Acta Scientiarum Polonorum. Technologia Alimentaria**, Bethesda, v. 12, n. 1, p. 61-73. Jan. 2013. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24584866/>. Acesso em: 05 dez. 2019.

BENEDICTI, Carolina Magalhães. Produção de linguiça frescal (toscana) através de cura natural com extrato de aipo (*apium graveolens*). 2014. Trabalho de conclusão de curso (Curso Superior de Tecnologia em Alimentos) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campo Mourão, 2014. Disponível em: http://repositorio.roca.utfpr.edu.br/jspui/bitstream/1/2343/1/CM_COALM_2013_2_04.pdf. Acesso em: 10 jan. 2020.

BERTOL, Teresinha Marisa *et al.* Rosemary extract and celery-based products used as natural quality enhancers for colonial type salami with different ripening times. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 32, n. 4, p. 783-792, 2012.

BOTTERWECK, A. A. *et al.* Intake of butylated hydroxyanisole and butylated hydroxytoluene and stomach cancer risk: Results from analyses in the Netherlands cohort study. **Food and Chemical Toxicology**, [s. l.], v. 38, n. 7, p. 599-605, jul. 2000. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10942321/>. Acesso em: 21 maio 2019.

BOU, Ricard *et al.* Effect of Heating Oxymyoglobin and Metmyoglobin on the Oxidation of Muscle Microsomes. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 56, n. 20, p. 9612-9620, 2008.

BOZIN, Biljana *et al.* Antimicrobial and Antioxidant Properties of Rosemary and Sage (*Rosmarinus officinalis* L. and *Salvia officinalis* L., Lamiaceae) Essential Oils. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, p. 7879-7885, 2007.

BRAIDA, Washington; ONG, Say KEE. Decomposition of Nitrite Under Various pH and Aeration Conditions. **Water, Air, & Soil Pollution**, Cham, v. 118, p. 13-26, 2000.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Gabinete do Ministro. **Instrução normativa nº 5, de 31 de março de 2000**. Brasília, DF: Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, 2000. Disponível em: <http://extranet.agricultura.gov.br/sislegis-consulta/consultarLegislacao.do?operacao=visualizar&id=3375>. Acesso em: 6 jul. 2018.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Gabinete do Ministro. **Instrução normativa nº 62, de 26 de agosto de 2003**. Brasília, DF: Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, 2003. Disponível em: <http://extranet.agricultura.gov.br/sislegis-consulta/consultarLegislacao.do?operacao=visualizar&id=2851>. Acesso em: 15 abr. 2019.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Gabinete do Ministro. **Instrução normativa nº 51, de 29 de dezembro de 2006**. Brasília, DF: Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, 2006. Disponível em: <http://sistemasweb.agricultura.gov.br/sislegis/action/detalhaAto.do?method=consultarLegislacaoFederal>. Acesso em: 15 jul. 2018.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. **Instrução normativa nº 20, de 21 de julho de 1999**. Brasília, DF: Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, 1999.

BRENDER, Jean D. *et al.* Prenatal nitrate intake from drinking water and selected birth defects in offspring of participants in the national birth defects prevention study. **Environmental Health Perspectives**, [s. l.], v. 121, n. 9, p. 1083–1089, Set. 2013.

BRYAN, N. S.; HORD, N. G. Dietary nitrates and nitrites: The physiological context for potencial health benefits. **Food, Nutrition and the Nitric Oxide Pathway: Biochemistry and Bioactivity**, Berlin, p. 59–77, 2010.

BRYAN, Nathan S.; IGNARRO, Louis J. **Food, Nutrition, and nitric oxide pathway: Biochemistry and bioactivity**. Lancaster: DEStech, 2010.

BUCHANAN, Robert L.; SOLBERG, Myron. Interaction of sodium nitrate, oxygen and pH on growth of *Staphylococcus aureus*. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 37, n.1, p. 81–85, 1972.

CARVALHO, Catharina Calochi Pires De *et al.* Histórico e aspectos tecnológicos do processamento da linguiça cuiabana. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, São Paulo, v. 69, n. 3, p. 428–433, 2010.

CASSENS, R. G. Nitrite-cured meat: a food safety issue in perspective [1990]. **FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS (FAO)**, Washington, 1990. Disponível em: <https://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=US9141385>. Acesso em: 14 maio 2018.

CHEUNG, Susan; TAI, Joseph. Anti-proliferative and antioxidant properties of rosemary *Rosmarinus officinalis*. **Oncology Reports**, Bethesda, v. 17, n. 6, p. 1525–1531, Jun. 2007.

CHIAVARO, Emma *et al.* Efficacy of different storage practices in maintaining the physicochemical and microbiological properties of fresh pork sausages. **Journal of Muscle Foods**, Berlin, v. 19, n. 2, p. 157–174, 2008.

CHOI, Yun-Sang *et al.* Effects of Pre-Converted Nitrite from Red Beet and Ascorbic Acid on Quality Characteristics in Meat Emulsions. **Korean Journal for Food Science of Animal Resources**, Berlin, v. 37, n. 2, p. 288–296, 2017.

COMISSÃO PERMANENTE DA FARMACOPEIA PORTUGUESA. **Farmacopeia Portuguesa**. 7. ed. Lisboa: Infarmed, 2002.

CORREIA, Lucyanne Maria Moraes. **Multiplicação de microbiota autóctone e de Staphylococcus aureus inoculado em linguças frescas produzidas com diferentes concentrações de sais de cura**. 2008. Dissertação. (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) – Programa de Pós-Graduação de Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2008.

CORREIA, Manuela *et al.* Contribution of different vegetable types to exogenous nitrate and nitrite exposure. **Food Chemistry**, Oxford, v. 120, n. 4, p. 960–966, 2009. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.11.030>. Acesso em: 24 jul. 2019.

CUONG, Tran Van; CHIN, Koo Bok. Effects of Annatto (*Bixa orellana* L.) Seeds Powder on Physicochemical Properties, Antioxidant and Antimicrobial Activities of Pork Patties during Refrigerated Storage. **Korean Journal for Food Science of Animal Resources**, Berlin, v. 36, n. 4, p. 476–486, 2016. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5018507/pdf/kosfa-36-476.pdf> <http://koreascience.or.kr/journal/view.jsp?kj=CSSPBQ&py=2016&vnc=v36n4&sp=476>. Acesso em: 8 nov. 2019.

DA SILVA, Wladimir Padilha *et al.* Qualidade microbiológica de linguças mistas do tipo frescal produzidas na cidade de Pelotas (RS). **Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos**, Curitiba, v. 20, n. 2, p. 257–266, jul./dez. 2002.

DELAZARI, I.; LEITÃO, F. F.; HSU, L. A. Efeito da microflora contaminante sobre o desenvolvimento de *Staphylococcus aureus* em linguças. **Coletânea do Instituto de Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 8, p. 557–573, 1977.

DELGADO-PANDO, Gonzalo *et al.* Low-fat frankfurters formulated with a healthier lipid combination as functional ingredient: Microstructure, lipid oxidation, nitrite content, microbiological changes and biogenic amine formation. **Meat Science**, Oxford, v. 89, n. 1, p. 65–71, 2011. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.meatsci.2011.03.022>. Acesso em: 14 jan. 2020.

DOMÍNGUEZ, R. *et al.* Effect of fat replacement by olive oil on the physico-chemical properties, fatty acids, cholesterol and tocopherol content of pâté. **Grasas y Aceites**, Madrid, v. 67, n. 2, p. e133, 2016. Disponível em: <http://grasasyaceites.revistas.csic.es/index.php/grasasyaceites/article/view/1599/1912>. Acesso em: 12 dez. 2019.

DUFFY, L. L.; VANDERLINDE, P. B.; GRAU, F. H. Growth of *Listeria monocytogenes* on vacuum-packed cooked meats: effects of pH, a_w , nitrite and ascorbate. **International Journal of Food Microbiology**, Oxford, v. 23, n. 3-4, p. 377–390, Nov. 1994.

DUTHIE, Garry *et al.* Antioxidant effectiveness of vegetable powders on the lipid and protein oxidative stability of cooked Turkey meat patties: implications for health. **Nutrients**, Bethesda, v. 5, n. 4, p. 1241–1252, 17 abr. 2013. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23595133/>. Acesso em: 18 maio 2019.

ENDEAVOR. **Uma espiada na grama do vizinho, ou: como fazer benchmarking.** São Paulo, 25 jun. 2015. Disponível em: <https://endeavor.org.br/estrategia-e-gestao/benchmarking/>. Acesso em: 20 abr. 2020.

ENNAJAR, Monia *et al.* Chemical Compositiion and Antimicrobial and Antioxidant activities of Essential Oils and Various Extracts of Junipens phoenicea (Cupressacees). **Journal of Food Science**, Chicago, v. 74, n.7, p. 364–371, Set. 2009. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19895482/>. Acesso em: 24 ago. 2019.

ERBGUTH, Frank J. Historical notes on botulism, Clostridium botulinum, botulinum toxin, and the idea of the therapeutic use of the toxin. **Movement Disorders**, Bethesda, v. 19, n. S8, p. S2–S6, Mar. 2004. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15027048/>. Acesso em: 15 out. 2019.

ESTÉVEZ, Mario *et al.* Fluorescence spectroscopy as a novel approach for the assessment of myofibrillar protein oxidation in oil-in-water emulsions. **Meat Science**, Oxford, v. 80, n. 4, p. 1290–1296, 2008.

ESTÉVEZ, Mario; CAVA, Ramón. Effectiveness of rosemary essential oil as an inhibitor of lipid and protein oxidation : Contradictory effects in different types of frankfurters. **Meat Science**, Oxford, v. 72, n, 2, p. 348–355, 2006.

FENG, Xi *et al.* Effects of adding red wine on the physicochemical properties and sensory characteristics of uncured frankfurter-type sausage. **Meat Science**, Oxford, v. 121, p. 285–291, 2016. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.meatsci.2016.06.027>. Acsso em: 21 mar. 2020.

FERNANDES, R. P. P. *et al.* Evaluation of oxidative stability of lamb burger with Origanum vulgare extract. **Food Chemistry**, Oxford, v. 233, p. 101–109, 2017. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.04.100>. Acesso em: 12 fev. 2020.

FERRACCIOLI, Viviane Rodrigues. **Avaliação da qualidade de salsichas do tipo hot dog durante o armazenamento.** 2012. Dissertação (Engenharia de Processos Químicos e Bioquímicos) – Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Processos Químicos e Bioquímicos. Instituto Mauá de Tecnologia, São Caetano do Sul, 2012. Disponível em: <https://maua.br/files/dissertacoes/avaliacao-da-qualidade-de-salsichas-do-tipo-hot-dog-durante-o-armazenamento.pdf>. Acesso em: 07 out. 2019.

FERRARI, Carlos Kusano Bucalen. Oxidação Lipídica em Alimentos e Sistemas Biológicos : Mecanismos Gerais e Implicações Nutricionais e Patológicas. **Revista de Nutrição**, Campinas, v. 11, n. 1, p. 3–14, 1998.

FIGUEIRÓ, Lorane Sarmiento. **Influência da Redução do Teor de Nitrito de Sódio na Estabilidade Oxidativa e Avaliação Microbiológica de Linguiça Suína Frescal.** 2013. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal do Espírito Santo, Alegre, 2013.

FORMANEK, Z. *et al.* Combined effects of irradiation and the use of natural

antioxidants on the shelf-life stability of overwrapped minced beef. **Meat Science**, Oxford, v. 63, n. 4, p. 433–440, 2003. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0309174002000633>. Acesso em: 28 jan. 2020.

FRANCO, B. D. G.; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos alimentos**. São Paulo: Atheneu, 2005.

GILL, C. O. Meat Spoilage and Evaluation of the Potential Storage Life of Fresh Meat. **Journal of Food Protection**, Bethesda, v. 46, n. 5, p. 444–452, May 1983. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30913652/>. Acesso em: 4 maio 2020.

GOLDEN, Max C. *et al.* Inhibition of *Listeria monocytogenes* in Deli-Style Turkey Breast Formulated with Cultured Celery Powder and/or Cultured Sugar–Vinegar Blend during Storage at 4°C. **Journal of Food Protection**, Bethesda, v. 77, n. 10, p. 1787–1793, Out. 2014.

GOVARI, M.; PEXARA, A. Nitrates and Nitrites in meat products. **Journal of the Hellenic Veterinary Medical Society**, Atenas, v. 66, n. 3, p. 127–140, 2015.

GÜNDOĞDU, Arzu Kart; KARAHAN, Aynur Gül; ÇAKMAKÇI, M. Lütfü. Production of nitric oxide (NO) by lactic acid bacteria isolated from fermented products. **European Food Research and Technology**, Berlin, v. 223, n. 1, p. 35–38, 2006.

HAYES, J. E. *et al.* Evaluation of the effects of selected plant-derived nutraceuticals on the quality and shelf-life stability of raw and cooked pork sausages. **LWT - Food Science and Technology**, Oxford, v. 44, n. 1, p. 164–172, 2011. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.lwt.2010.05.020>>. Acesso em: 17 fev. 2020.

HERNANDEZ-RAMIREZ, Raúl U. *et al.* Dietary Intake of Polyphenols, Nitrate and Nitrite and Gastric Cancer Risk in Mexico City. **International Journal of Cancer**, Bethesda, v. 125, n. 6, p. 1424–1430, Set. 2009. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19449378/>. Acesso em: 03 abr. 2020.

HERRMANN, S. S. *et al.* Dietary exposure to volatile and non-volatile N-nitrosamines from processed meat products in Denmark. **Food and Chemical Toxicology**, Oxford, v. 80, p. 137–143, 2015. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.fct.2015.03.008>. Acesso em: 10 abr. 2020.

HOFFMANN, F. L. *et al.* Análise microbiológica e sensorial de lingüiça de frango produzida artesanalmente. **Boletim do Centro de Pesquisa e Processamento de Alimentos**, Curitiba, v. 14, n. 1, p. 40–45, 1996.

HORD, Norman G.; TANG, Yaoping.; BRYAN, Nathan S. Food Source of Nitrates and Nitrites: The Physiologic context for potencial Health Benefits. **American Journal of Clinical Nutrition**, Bethesda, v. 90, n. 1, p. 1–10, Jul. 2009. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19439460/>. Acesso em: 12 maio 2018.

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**, Oxford, v. 96, n. 1, p. 400–407, 2013.

Disponível em:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S030917401300363X>. Acesso em: 12 jul. 2019.

HU, Bo-kai; WU, Yun-chu. Effect of celery powder on residual nitrite , color and sensory quality of chinese style sausages. *In: International Congress of Meat Science and Technology (ICOMST)*, 71. 2008, Kansas. **Anais eletrônicos do International Congress of Meat Science and Technology**. Kansas: American Meat Science Association. Disponível em: http://icomst-proceedings.helsinki.fi/papers/2018_07_26.pdf. Acesso em: 23 ago. 2020.

HUI, Y. H. *et al.* **Meat and meat processing**. 2 ed. Boca Raton: CRC Press, 2001b.

HUI, Y. H. *et al.* **Meat Science and Applications**. New York: Marcel Dekker, 2001a.

HUNTERLAB. **ColorQuest XE User´s Manual**. Reston: Hunter Associates Laboratory, 2008. Disponível em: <https://www.hunterlab.com/media/documents/colorquest-xe-user-manual.pdf>. Acesso em: 23 mar. 2020.

HWANG, Ko-Eun *et al.* Effect of Natural Pre-converted Nitrite Sources on Color Development in Raw and Cooked Pork Sausage. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, Bethesda, v. 31, n. 8, p. 1358-1365, 2018.

ICMSF. **Ecologia Microbiana de los Alimentos**. Zaragoza: Acribia, 1985.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Métodos físico-químicos para análise de alimentos**. 4 ed. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 2008.

INSTITUTO NACIONAL DE METEOROLOGIA (INMET). **Sonabra**. Brasília, DF: INMET, 2020. Disponível em: http://www.inmet.gov.br/sonabra/pg_dspDadosCodigo_sim.php?QTg4NA==. Acesso em: 26 abr. 2020.

ISMAIL, Ibrahim Mohammad Mohiddin. **Effects of Vegetable powders as nitrite sources on the physicochemical, microbiologica and sensory characteristics of cooked sausages**. 2019. Dissertação (Mestrado em Ciências Agrícolas) – Departamento de Ciência de Alimentos, Cairo University, Cairo, 2019.

JARDAK, Marwa *et al.* Chemical composition , anti-biofilm activity and potential cytotoxic effect on cancer cells of Rosmarinus officinalis L . essential oil from Tunisia. **Lipids in Health and Disease**, Bethesda, v. 16, n.1, p. 1–10, Out 2 2017. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28969677/>. Acesso em: 24 abr. 2020.

JIANG, Jiang; XIONG, Youling L. Natural antioxidants as food and feed additives to promote health benefits and quality of meat products: A review. **Meat Science**, Oxford, v. 120, p. 107–117, 2016. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.meatsci.2016.04.005>. Acesso em: 30 set. 2019.

JIN, Sang-keun *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**, Oxford, v. 146, p. 34-40, 2018. Disponível em:

<https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2018.07.032>. Acesso em: 21 jul. 2019.

JORGE, Neuza. **Química e Tecnologia de Óleos Vegetais**. São Paulo: Cultura Acadêmica, 2009.

JUNG, Samooel *et al.* The use of atmospheric pressure plasma-treated water as a source of nitrite for emulsion-type sausage. **Meat Science**, Oxford, v. 108, p. 132-137, 2015. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.meatsci.2015.06.009>. Acesso em: 12 dez. 2018.

KAMDEM, Sylvain Sado; PATRIGNANI, Francesca; GUERZONI, M. Elisabetta. Shelf-life and safety characteristics of Italian Toscana traditional fresh sausage (Salsiccia) combining two commercial ready-to-use additives and spices. **Food Control**, Oxford, v. 18, n. 5, p. 421–429, 2007.

KARRE, Liz; LOPEZ, Keyla; GETTY, Kelly J. K. Natural antioxidants in meat and poultry products. **Meat Science**, Oxford, v. 94, n. 2, p. 220–227, 2013. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23501254/>. Acesso em: 04 jul. 2018.

KHALAFALLA, F.; EL-SHERIF, A. Psychrotrophic bacteria in sausage. **Molecular Nutrition & Food Research**, Hoboken, v. 37, n. 5, p. 428–432, 1993.

KINGSTON, E. R. *et al.* Lipid oxidation in cooked pork as affected by vitamin E, cooking and storage conditions. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 63, n. 3, p. 386–389, 1998.

KORKEALA, H. *et al.* Lactic acid and pH as indicators of spoilage for vacuum-packed cooked ring sausages. **International Journal of Food Microbiology**, Oxford, v. 10, n. 3-4, p. 245–253, 1990.

KOSTECKI, Adam; BILSKA, Agnieszka; DANYLUK, Bozena. Chosen quality parameters of pork sausage produced without curing mixture. **Acta Scientiarum Polonorum, Technologia Alimentaria**, Bethesda, v. 14, n. 3, p. 191–198, Jul.-Set. 2015. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28068026/>. Acesso em: 2 mar. 2019.

KRAUSE, B. L. *et al.* Incubation of curing brines for the production of ready-to-eat, uncured, no-nitrite-or-nitrate-added, ground, cooked and sliced ham. **Meat Science**, Oxford, v. 89, n. 4, p. 507–513, 2011. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.meatsci.2011.05.018>. Acesso em: 15 maio 2020.

KUBOW, S. Lipid oxidation products in food and atherogenesis. **Nutrition Reviews**, Bethesda, v. 51, n. 2, p. 33–40, Fev. 1993. Disponível em: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=8455800. Acesso em: 30 nov. 2018.

LAVIERI, Nicolas A. *et al.* Effects of Different Nitrite Concentrations from a Vegetable Source with and without High Hydrostatic Pressure on the Recovery of *Listeria monocytogenes* on Ready-to-Eat Restructured Ham. **Journal of Food Protection**, Bethesda, v. 77, n. 5, p. 781–787, Maio 2014. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24780333/>. Acesso em: 7 ago. 2018.

LEVINE, B. Rodney L. *et al.* Determination of Carbonyl Content in Oxidatively Modified Proteins. **Methods in Enzymology**, Oxford, v. 186, n. 1983, p. 464–478, 1990.

LI, Ling *et al.* Effect of Plant Polyphenols and Ascorbic Acid on Lipid Oxidation, Residual Nitrite and N-Nitrosamines Formation in Dry-Cured Sausage. **International Journal of Food Science and Technology**, Christchurch, v. 48, n. 6, p. 1157–1164, 2013.

LOPES, Marcia M.; MACEDO, Beatriz T.; DE SOUZA, Valeria G. Efeito da Embalagem em Atmosfera Modificada sobre a Conservação de Linguiça Frescal de Frango. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 18, p. 60–65, 2004.

LORENZO, José Manuel *et al.* Berries extracts as natural antioxidants in meat products: A review. **Food Research International**, Oxford, v. 106, p. 1095–1104, 2018.

LUND, Marianne N. *et al.* Protein oxidation in muscle foods : A review. **Molecular Nutrition & Food Research**, Hoboken, p. 83–95, 2011.

LUO, Aiguo *et al.* Polysaccharides in *Spirulina platensis* Improve Antioxidant Capacity of Chinese-Style Sausage. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 82, n. 11, p. 2591–2597, 2017.

MAAYAH, Tamador *et al.* Evaluation of the Shelf Life of Packaged Roast Beef and Some Treatments for Its Extension. **Food and Nutrition Sciences**, [s. l.], v. 7, n. 3, p. 205–213, 2016.

MAC DONALD, B.; GRAY, JI; GIBBINS, LN. Role of Nitrite in Cured Meat Flavor: Antioxidant Role of Nitrite. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 45, p. 893–897, 1980.

MAGRINYA, Núria *et al.* Effect of Tocopherol Extract, *Staphylococcus carnosus* Culture, and Celery Concentrate Addition on Quality Parameters of Organic and Conventional Dry-Cured Sausages. **Journal of agricultural and food chemistry**, Washington, v. 57, n. 19, p. 8963–8972, 2009.

MARQUES, Simone Cristina *et al.* Avaliação higiênico-sanitária de linguiças tipo frescal comercializadas nos municípios de Três Corações e Lavras. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 30, n. 6, p. 1120–1123, 2006. Disponível em: https://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1413-70542006000600012&lng=en&nrm=iso. Acesso em: 2 out. 2019.

MATTICK, Karen *et al.* The prevalence and number of Salmonella in sausages and their destruction by frying, grilling or barbecuing. **Journal of Applied Microbiology**, Berlin, v. 93, n. 4, p. 541–547, Fev. 2002.

MEIRELES, Theresa Paula Felix da Silva. **Aplicação do extrato de coentro (*Coriandrum sativum* L.) na elaboração de linguiça suína cozida**. 2019. Dissertação. (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos) Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2019.

MILKOWSKI, Andrew *et al.* Nutritional epidemiology in the context of nitric oxide biology: A risk-benefit evaluation for dietary nitrite and nitrate. **Nitric Oxide**, Oxford, v. 22, n. 2, p. 110–119, 2010. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.niox.2009.08.004>. Acesso em: 12 ago. 2019.

MOHAN, Anand. **Basics of Sausage Making Formulation, Processing & Safety**. Athens: UGA Extension Bulletin, 2014. Disponível em: <http://efsonline.uga.edu/wp-content/uploads/2016/08/Basics-of-Sausage-Making.pdf>. Acesso em: 3 maio 2018.

MUNEKATA, Paulo Eduardo Sichetti *et al.* Characterization of phenolic composition in chestnut leaves and beer residue by LC-DAD-ESI-MS. **LWT - Food Science and Technology**, Amsterdam, v. 68, p. 52–58, 2016.

MUNEKATA, Paulo Eduardo Sichetti *et al.* Effect of natural antioxidants in Spanish salchichón elaborated with encapsulated n-3 long chain fatty acids in konjac glucomannan matrix. **Meat Science**, Oxford, v. 124, p. 54–60, 2017. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.meatsci.2016.11.002>, Acesso em: 13 out. 2018.

MYERS, Kevin *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**, Oxford, v. 94, n. 1, p. 69–76, 2014. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.meatsci.2012.12.019>. Acesso em: 28 set. 2019.

NASSU, Renata Tieko *et al.* Oxidative stability of fermented goat meat sausage with different levels of natural antioxidant. **Meat Science**, Oxford, v. 63, n. 1, p. 43–49, 2003.

NIELSEN. **We are what we eat: Healthy eating trends around the world**. New York: Nielsen, jan. 2015. Disponível em: <https://www.nielsen.com/ssa/en/insights/report/2015/we-are-what-we-eat/>. Acesso em: 30 set. 2018.

OLIVEIRA, Milyan Jorge; ARAÚJO, Wilma M. C.; BORGIO, Luiz Antônio. Quantificação de nitrato e nitrito em linguiças do tipo frescal. **Ciência e tecnologia de alimentos**, Campinas, v. 25, n. 4, p. 736–742, 2005.

ORGERON, J. D. *et al.* Methemoglobinemia from eating meat with high nitrite content. **Public Health Reports**, Bethesda, v. 72, n. 3, p. 189–193, 1957.

OSAWA, Toshihiko; NAMIKI, Mitsuo. Mutagen formation in the reaction of nitrite with the food components analogous to sorbic acid. **Agricultural and Biological Chemistry**, Londres, v. 46, n. 9, p. 2299–2304, 1982. Disponível em: <http://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/00021369.1982.10865414>. Acesso em: 18 mar. 2018.

PAPUC, Camelia *et al.* Comparative study of the influence of hawthorn (*Crataegus monogyna*) berry ethanolic extract and butylated hydroxyanisole (BHA) on lipid peroxidation, myoglobin oxidation, consistency and firmness of minced pork during refrigeration. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, Berlin, v. 98, n. 4, p. 1346–1361, 2018.

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

PEGG, Ronald B.; SHAHIDI, Fereidoon. **Nitrite Curing of Meat: The N-Nitrosamine Problem and Nitrite Alternatives**. Trumbull: Food & Nutrition Press, 2000. E-book. Disponível em: <https://www.worldcat.org/title/nitrite-curing-of-meat-the-n-nitrosamine-problem-and-nitrite-alternatives/oclc/232611775>. Acesso em: 21 jan. 2019.

PÉREZ-FONZ, Laura; GARZÓN, Maria; MICOL, Vicente. Relationship between the Antioxidant Capacity and Effect of Rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) Polyphenols on Membrane Phospholipid Order. **Journal of agricultural and food chemistry**, Washington, v. 58, n.1, p. 161–171, 2010.

PIETRASIK, Z.; GAUDETTE, N. J.; JOHNSTON, S. P. The impact of high hydrostatic pressure on the functionality and consumer acceptability of reduced sodium naturally cured wieners. **Meat Science**, Oxford, v. 129, p. 127–134, 2017. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S030917401630691X>. Acesso em: 1 jun. 2019.

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**, Oxford, v. 116, p. 102–109, 2016. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.meatsci.2016.02.009>. Acesso em: 12 maio 2019.

PINHO, Olivia *et al.* FIA evaluation of nitrite and nitrate contents of liver pâtés. **Food Chemistry**, Oxford, v. 62, n. 3, p. 359–362, 1998.

POKORNÝ, J. Are Natural Antioxidants Better and Safer than Synthetic Antioxidants? **European Journal of Lipid Science and Technology**, [s. l.], v. 109, n. 6, p. 629–642, 2007.

POOJARY, Mahesha M. *et al.* Stability and extraction of bioactive sulfur compounds from Allium genus processed by traditional and innovative technologies. **Journal of Food Composition and Analysis**, Oxford, v. 61, p. 28–39, 2017.

PUTNIK, Predrag *et al.* Green extraction approach for the recovery of polyphenols from Croatian olive leaves (*Olea europea*). **Food and Bioproducts Processing**, Oxford, v. 106, p. 19–28, 2017.

QABAHA, Khaled Ibraheem. Antimicrobial and free radical scavenging activities of five palestinian medicinal plants. **African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines**, Bethesda, v. 10, n.4, p. 101–108, 2013. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3794399/>. Acesso em: 24 nov. 2018.

RIEL, Greta *et al.* Effects of parsley extract powder as an alternative for the direct addition of sodium nitrite in the production of mortadella-type sausages – Impact on microbiological, physicochemical and sensory aspects. **Meat Science**, Oxford, v. 131, p. 166–175, 2017. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.meatsci.2017.05.007>. Acesso em: 10 out. 2018.

SAHIN, Selin *et al.* Solvent-free microwave-assisted extraction of polyphenols from

olive tree leaves: Antioxidant and antimicrobial properties. **Molecules**, Bethesda, v. 22, n. 7, Jun. 24 2017. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28672807/>. Acesso em: 13 jan. 2019.

SANTAMARIA, Pietro. Nitrate in vegetables: Toxicity, content, intake and EC regulation. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, Hoboken, v. 86, n. 1, p. 10–17, 2006.

SANTOMAURO, Francesca *et al.* The antimicrobial effects of three phenolic extracts from *Rosmarinus officinalis* L., *Vitis vinifera* L. and *Polygonum cuspidatum* L. on food pathogens. **Natural Product Research**, Berlin, v. 32, n. 1, p. 1–7, 2017. Disponível em: <https://www.tandfonline.com/loi/gnpl20>. Acesso em: 02 fev. 2019.

SANZ, Y. *et al.* Effect of nitrate and nitrite curing salts on microbial changes and sensory quality of rapid ripened sausages. **International Journal of Food Microbiology**, Oxford, v. 37, n. 2-3, p. 225–229, 1997.

SEBRANEK, J. G. *et al.* Beyond celery and starter culture: Advances in natural/organic curing processes in the United States. **Meat Science**, Oxford, v. 92, n. 3, p. 267–273, 2012. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.meatsci.2012.03.002>. Acesso em: 18 jun. 2019.

SEBRANEK, J. G. *et al.* Comparison of a natural rosemary extract and BHA / BHT for relative antioxidant effectiveness in pork sausage. **Meat Science**, Bethesda, v. 69, n. 2, p. 289–296, Fev. 2005. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22062821/>. Acesso em: 21 jan. 2019.

SEBRANEK, Joseph G.; BACUS, James N. Cured meat products without direct addition of nitrate or nitrite: what are the issues? **Meat Science**, Berlin, v. 77, n. 1, p. 136–147, 2007.

SHAH, Manzoor Ahmad *et al.* Plant extracts as natural antioxidants in meat and meat products. **Meat Science**, Bethesda, v. 98, n. 1, p. 21–33, Set. 2014. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24824531/>. Acesso em: 7 ago. 2018.

SHAHIDI, Fereidoon. **Natural Antioxidants: Chemistry, Health Effects, And Applications**. Champaign: Amer Oil Chemists Society, 1997.

SILVA, Francisco A. M.; BORGES, M. Fernanda M.; FERREIRA, Margarida A. Métodos para avaliação do grau de oxidação lipídica e da capacidade antioxidante. **Química Nova**, São Paulo, v. 22, n. 1, p. 94–103, 1999. Disponível em: https://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-40421999000100016. Acesso em: 01 maio 2019.

SINDELAR, Jeffrey J. *et al.* Effects of varying levels of vegetable juice powder and incubation time on color, residual nitrate and nitrite, pigment, pH, and trained sensory attributes of ready-to-eat uncured ham. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 72, n. 6, p. 388–395, 2007.

SINDELAR, Jeffrey J.; MILKOWSKI, Andrew L. Human safety controversies surrounding nitrate and nitrite in the diet. **Nitric Oxide**, Oxford, v. 26, n. 4, p. 259–266, 2012. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.niox.2012.03.011>. Acesso em:

12 ago. 2018.

SINDELAR, Jeffrey J.; MILKOWSKI, Andrew L. Sodium nitrite in processed meat and poultry meats : a review of curing and examining the risk/benefit of its use. **American Meat Science Association**, Kearney, v. 3, p. 1–14, 2011.

SOFOS, J. N.; BUSTA, F. F.; ALLEN, C. E. Botulism Control by Nitrite and Sorbate in Cured Meats: A Review. **Journal of Food Protection**, Bethesda, v. 42, n. 9, p. 739–770, 1979.

STANLEY, Regan Elise. **Effects of salt and nitrite concentration on the shelf life of deli-style ham**. 2016. Dissertação (Mestre em Ciências) – University of Nebraska, Lincoln, 2016.

Tabela Brasileira de Composição de Alimentos. **Base de Dados**: composição estatística. Local: TBCA, [2019?]. Disponível em: http://www.tbca.net.br/base-dados/int_composicao_estatistica.php?cod_produto=C0065B. Acesso em: 29 abr. 2020

TARLADGIS, Brasil G. *et al.* A distillation method for the quantitative determination of malonaldehyde in rancid foods. **Journal of the american oil chemist's society**, [s. l.], v. 37, n. 1, p. 44–48, 1960.

TARTÉ, Rodrigo. **Ingredients in Meat Products: Properties, Functionality and Applications**. 1 ed. New York: Springer-Verlag, 2009.

TIWARI, Brijesh K. *et al.* No Application of Natural Antimicrobials for food preservation. **Journal of agricultural and food chemistry**, Washington, v. 57, p. 5987–6000, 2009.

TOLDRÁ, Fidel; REIG, Milagro. Innovations for healthier processed meats. **Trends in Food Science and Technology**, Oxford, v. 22, n. 9, p. 517–522, 2011.

United States Department of Agriculture. **Sausages and Food Safety**. [S. l.]: USDA, 2013. Disponível em: https://www.fsis.usda.gov/wps/wcm/connect/fsis-content/internet/main/topics/food-safety-education/get-answers/food-safety-fact-sheets/meat-preparation/sausages-and-food-safety/ct_index. Acesso em: 12 abr. 2019.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). Nitrate and Nitrite in Drinking Water: Background document for development of WHO Guidelines for Drinking-water Quality. Geneva, p. 1–21, 2011. Disponível em: https://www.who.int/water_sanitation_health/dwq/chemicals/nitratenitrite2ndadd.pdf. Acesso em: 12 ago. 2019.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **Q&A on the carcinogenicity of the consumption of red meat and processed meat**. [S. l.]:WHO, 25 out. 2015. Disponível em: <http://www.who.int/features/qa/cancer-red-meat/en>. Acesso em: 12 set. 2016.

WSOWICZ, Erwin *et al.* Oxidation of lipids in food. **Polish journal of food and nutrition sciences**, Berlin, v. 13-54, p. 87-100, March 2016, 2004.

XI, Y. *et al.* Effects of natural antimicrobials on inhibition of *Listeria monocytogenes* and on chemical, physical and sensory attributes of naturally-cured frankfurters. **Meat Science**, Bethesda, v. 90, n. 1, p. 130–138, Jan. 2012. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21723674/>. Acesso em: 13 dez. 2019.

YU, Mi-hee *et al.* Suppression of LPS-induced inflammatory activities by *Rosmarinus officinalis* L. **Food Chemistry**, Bethesda, v. 136, n. 2, p. 1047–1054, Jan. 2013. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23122161/>. Acesso em: 24 abr. 2018.

ZAGO, Zezé. **Gastronomia e segurança dos alimentos**. São Paulo: Senac, 2019.

ZHANG, Wangang *et al.* Improving functional value of meat products. **Meat Science**, Oxford, v. 86, n. 1, p. 15–31, 2010. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.meatsci.2010.04.018>. Acesso em: 18 fev. 2018.

APÊNDICE A - ANÁLISE SENSORIAL DE LINGUIÇA SEM CONSERVANTES ARTIFICIAIS.

Nome: _____

Data: ____ / ____ / ____

Você possui o hábito de consumir produtos cárneos?

Você possui o hábito de consumir linguiças frescas (salsichão, linguiças para churrascos)? Se sim, qual a frequência? Quais suas marcas/sabores preferidos?

Você está recebendo três amostras de linguiça fresca, uma tradicional (como encontrada no mercado local), outra produzida unicamente com conservantes e antioxidantes naturais e outra isenta de aditivos. Indique na escala abaixo o quanto você gostou ou desgostou da amostra, de acordo com cada parâmetro analisado para cada amostra.

- 9 – gostei muitíssimo.
- 8 – gostei muito.
- 7 – gostei moderadamente.
- 6 – gostei ligeiramente.
- 5 – não gostei nem desgostei.
- 4 – desgostei ligeiramente.
- 3 – desgostei moderadamente.
- 2 – desgostei muito.
- 1 – desgostei extremamente.

AMOSTRA: _____ -

aparência	cor	aroma	textura	sabor	Aceitação global

Avalie a amostra segundo a sua intenção de compra.

- 5 – certamente compraria o produto.
- 4 – possivelmente compraria o produto.
- 3 – talvez comprasse / talvez não comprasse.

2 – possivelmente não compraria o produto.

1 – certamente não compraria o produto.

Deixe aqui seus comentários, críticas e sugestões:

Muito obrigado por sua participação!

ANEXO A - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO - TCLE



UNIVERSIDADE DO VALE DO RIO DOS SINOS
 Unidade Acadêmica de Pesquisa e Pós-Graduação
 Comitê de Ética em Pesquisa

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO – TCLE

Você está sendo convidado a participar da pesquisa "Produção de linguiça fresca utilizando o pó de aipo em substituição ao nitrato e extrato de alecrim como antioxidante", coordenada pelo Mestrando Felipe Segabinazzi Siqueira, abaixo descrita. Por favor, leia todo o documento e assinie somente depois de compreender todo o seu conteúdo.

Uma linguiça pode ser definida como a carne moída ou picada combinada com sal, temperos e outros ingredientes, que podem ser embutidos em um recipiente ou embalagem de forma e tamanho particulares. Atualmente existe uma crescente busca pelo desenvolvimento de alimentos isentos de aditivos artificiais, tendo em vista a oferta de alimentos mais saudáveis e saborosos ao consumidor. O aipo em pó é um substituto natural do conservante nitrato de sódio, e vem sendo utilizado com sucesso na produção de embutidos isentos do conservante artificial. Adicionalmente, o extrato de alecrim é um importante auxiliar na manutenção da qualidade de embutidos, sendo um potente antioxidante de origem natural. Neste trabalho foi desenvolvida uma linguiça fresca isenta de conservantes artificiais, os quais foram substituídos pelas alternativas naturais aipo em pó e extrato de alecrim.

A aparência de um alimento pode ter uma relação direta sobre sua degustação e sua percepção pelos consumidores. Por isso, serão desenvolvidas análises sensoriais (degustações) de três amostras de linguiças frescas: uma delas tradicional, produzida da mesma forma como os principais produtos comercializados no Brasil, com os aditivos típicos de uma linguiça fresca do mercado local (Ingredientes: paleta suína, coxão bovino, toucinho, sal, água, eritorbato de sódio, pimenta preta, açúcar, sal de cura, alho, noz moscada); a segunda isenta de aditivos artificiais, tendo a aplicação aipo em pó como substituição do conservante artificial nitrato de sódio, e aplicação do antioxidante natural extrato de alecrim (Ingredientes: paleta suína, coxão bovino, toucinho, sal, água, aipo em pó, pimenta preta, beterraba em pó, açúcar, extrato de alecrim, alho, noz moscada); e uma terceira isenta de aditivos (Ingredientes: paleta suína, coxão bovino, toucinho, sal, água, pimenta preta, açúcar, alho, noz moscada); para verificar sua aceitação e percepção de características sensoriais. Caso você se sinta constrangido de responder qualquer questionário, pode desistir a qualquer momento.

Será recrutado um grupo de 30 consumidores habituais de linguiças, voluntários e que analisarão por meio de uma escala hedônica (de 1 a 9) as características do produto desenvolvido. E por fim, será aplicado o teste de intenção de compra. Você tem o direito e garantia de em qualquer momento fazer questionamentos e receber informações sobre a pesquisa, bem como os resultados obtidos ao final desta. Com sua participação, será possível um maior aprofundamento de seu conhecimento sobre degustação e análise sensorial de alimentos e assim, contribuir para a construção de conhecimento nas áreas de Nutrição e Alimentos.

Este produto oferece riscos mínimos ao participante, porém poderão acarretar apenas algum desconforto no que se refere ao paladar, alergia ou intolerância aos ingredientes utilizados na formulação. Se você apresenta alergia ou intolerância a algum ingrediente dos produtos testados (como informado acima), deve relatar ao pesquisador responsável antes de assinar este TCLE, e será excluída a sua participação no estudo. Caso você se sinta constrangido de responder qualquer questionário ou participar da degustação, pode desistir a qualquer momento.

CEP – UNISINOS
 VERSÃO APROVADA
 Em: 27/03/2020

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO – TCLE

Você tem o direito e garantia de em qualquer momento de fazer questionamentos e receber informações sobre a pesquisa, bem como os resultados obtidos ao final desta. Para isto, poderá consultar o pesquisador responsável. Você tem a liberdade de recusar, desistir ou interromper sua participação na pesquisa em qualquer momento, sem a necessidade de qualquer explicação. Sua desistência não lhe causará nenhum tipo de prejuízo.

Em caso de alergias ou reações adversas a responsabilidade será do pesquisador, que acompanhará e prestará assistência a quaisquer consequências decorrentes da participação na pesquisa. O voluntário será imediatamente encaminhado, com uma ambulância, para o ambulatório da Unisinos e/ou para uma Unidade Básica de Saúde mais próxima.

Os resultados deste estudo serão mantidos em sigilo, mas poderão ser divulgados em publicações científicas, no entanto os dados pessoais dos participantes não serão mencionados em nenhum momento. Caso você tenha novas perguntas sobre este estudo, você poderá contatar o pesquisador responsável pelo estudo, Felipe Segabinazzi Siqueira, através do telefone (55)997296501. O projeto não acarretará nenhum retorno financeiro aos participantes. Em caso de dúvidas, peça esclarecimentos ao aplicador presente. Você receberá uma (01) via do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE), o qual será lido integralmente pelo pesquisador responsável. Sua colaboração será de muita importância para nós, mas se desistir de participar desta pesquisa, a qualquer momento, isso não lhe implicará nenhum prejuízo.

Eu, _____ (participante), declaro ter sido informado sobre o objetivo, riscos, benefícios, procedimentos, confidencialidade da pesquisa, e ciente dos termos acima expostos, manifesto a concordância com a participação na presente pesquisa, bem como de que terei liberdade para desistir da participação a qualquer momento.

_____, _____ de _____ de 2020.

 Nome do (a) participante

 Assinatura do (a) participante

 Felipe Segabinazzi Siqueira
 Pesquisador

CEP – UNISINOS
 VERSÃO APROVADA
 Em: 27/03/2020

ANEXO B - LEGISLAÇÃO VIGENTE PARA A PRODUÇÃO DE LINGUIÇAS FRESCAIS

Na pesquisa sobre a legislação vigente no site do MAPA, foram encontradas as seguintes portarias, instruções normativas, decretos, e leis:

- a) Decreto Nº 9.013, de 29 de março de 2017, que dispõe sobre a inspeção industrial e sanitária de produtos de origem animal;
- b) Instrução Normativa nº 30 de 13/07/2018, que estabelece como oficiais os métodos constantes do Manual de Métodos Oficiais para Análise de Alimentos de Origem Animal;
- c) Instrução Normativa nº 51 de 29/12/2006, que adota o regulamento técnico de atribuição de aditivos, e seus limites das categorias de alimentos que especifica;
- d) Instrução Normativa nº 22, de 24 de novembro de 2005, que aprova o regulamento técnico para rotulagem de produto de origem animal embalado;
- e) Instrução Normativa nº 4, de 31 de março de 2000, regulamentos técnicos de identidade e qualidade de carne mecanicamente separada, de mortadela, de linguiça e de salsicha;
- f) Instrução Normativa nº 33, de 5 de setembro de 2017, que altera o subitem 4.1.2 do anexo III da Instrução Normativa nº4 de 31 de março de 2000;
- g) Instrução Normativa nº 1, de 11 de janeiro de 2017, sobre o registro de produtos de origem animal.

Já no site da ANVISA, foram encontradas portarias, instruções normativas, decretos, resoluções, e leis:

- a) RDC nº 359, de 23 de dezembro de 2003, Regulamento Técnico de Porções de Alimentos Embalados para Fins de Rotulagem Nutricional;
- b) Portaria SVS/MS nº326, de 30 de julho de 1997, sobre Condições Higiênicas Sanitárias e de Boas Práticas de Fabricação para Estabelecimentos Produtores /Industrializadores de Alimentos;

RDC nº 12, de 02 de janeiro de 2001, Regulamento Técnico sobre Padrões Microbiológicos para Alimentos.