
ESTUDO SOBRE O USO DE EXTRATO DE AIPO E BACTÉRIAS FERMENTATIVAS EM LINGUIÇA

Daniela Lima Santos (Centro Universitário Padre Anchieta)

Claudemar José Trevizam(Centro Universitário Padre Anchieta)

RESUMO

O consumo crescente do mercado de linguiças e a preocupação dos consumidores com produtos de uma demanda mais saudável motivou o início deste estudo alterando o uso de nitrito e nitrato, pelo uso de extrato de aipo. Para que a conversão do nitrito do aipo fosse completa e o produto fosse seguro de modo a não produzir toxinas de *Clostridium botulinum* e *Staphilococcus aureus* foi utilizado cultura starter Bactoferm T-SXP. As análises físico-químicas realizadas foram de pH, cinzas, umidade e lipídeos. Os resultados tiveram média de 6,5; 2,8%; 37% e 38% respectivamente. Na análise do teor de nitrito, após 5 e 10 dias da produção da linguiça, as amostras contendo cultura starter apresentaram 25,96 mg/kg e 57,68 mg/kg respectivamente, valor dentro do permitido pela legislação vigente. A análise microbiológica realizada foi em manitol salgado e não houve crescimento de *Staphilococcus aureus*, porém houve crescimento microbiológico na placa de petri pela possível contaminação através da flora natural da carne comprada em açougue ou devido ao desenvolvimento microbiológico da cultura starter. O estudo abre oportunidades para aprimoramento em futuras pesquisas sobre o assunto.

ABSTRACT

The growing consumption of the sausage market and the concern of consumers with products with a healthier demand motivated the beginning of this study, changing the use of nitrite and nitrate, using celery extract. For the conversion of nitrite from celery to be complete and the product to be safe so as not to produce toxins from *Clostridium botulinum* and *Staphilococcus aureus*, starter culture Bactoferm T-SXP was used. The physicochemical analyzes performed were pH, ash, moisture and lipids. The results averaged 6.5; 2.8%; 37% and 38% respectively. In the analysis of the nitrite content, after 5 and 10 days of the sausage production, the sample containing starter culture showed 25.96 mg / kg and 57.68 mg / kg respectively, a value within the limits allowed by current legislation. The microbiological analysis carried out was in salted mannitol and there was no growth of *Staphilococcus aureus*, however there was microbiological growth in the petri dish due to possible contamination through the natural flora of meat bought in a butcher shop or due to the microbiological development of the starter culture. The study opens opportunities for improvement in future research on the subject.

1. INTRODUÇÃO

Conforme a Instrução Normativa nº4 de 31/03/2000 publicada pelo Ministério da Agricultura e do Abastecimento: Entende-se por linguiça o produto cárneo industrializado, obtido de carnes de animais de açougue, adicionados ou não de tecidos adiposos e ingredientes; embutido em envoltório natural ou artificial, e submetido ao processo tecnológico adequado.

De acordo com a Revista Nacional da Carne, em 1998 os estabelecimentos existentes no país eram responsáveis por 1 milhão e 200 mil toneladas de embutidos. E a linguiça lidera o ranking de produção.

No processamento de linguiças existem diversas etapas, como a moagem e trituração da carne, preparo das tripas ou envoltórios e embutimento; além da adição de aditivos de cura como nitrito e nitrato, que são classificados como conservantes e tem como objetivo estabilizar a coloração e sabor dos produtos além de auxiliar na ação bacteriostática; impedindo o desenvolvimento de bactérias como *Clostridium botulinum* e *Staphylococcus aureus* e assim, retardando a vida de prateleira dos produtos.

Apesar das diversas vantagens, o uso de nitrito e nitrato vem sendo estudado devido aos seus supostos efeitos prejudiciais em longo prazo.

A apreensão primordial do uso de nitritos e nitratos em alimentos é proveniente de efeitos toxicológicos, ocasionada por excessos e pela formação de compostos N-nitrosos que apresentam sintomas mutagênicos e carcinógenos (FRANCO, 2014). Adicionalmente além de impedir a deterioração, são ingredientes que auxiliam no desenvolvimento e fixação da cor e aumentam o sabor e aroma característico dos produtos (BENEDICT, 2014). Para Oliveira (2005), o uso destes aditivos é altamente discutido em virtude da possibilidade de originarem compostos nitrosos de ação carcinogênica, como a N-nitrosodimetilamina e a monometilnitrosamina.

Por essa razão é importante à busca por compostos naturais para substituição desses conservantes, como por exemplo, o extrato de aipo. Trabalhos de Sindelar et al. (2007a), Sindelar et al. (2007b) e Terns et al. (2011), ao utilizarem como fonte de nitrito extratos vegetais de aipo em embutidos emulsionados cozidos obtiveram produtos com características físico-químicas similares ao controle adicionado de nitrito químico e com performance microbiológica satisfatória.

Os resultados obtidos devem ser trabalhados pela Estatística, que é um ramo da matemática, que trata da coleta, análise, interpretação e apresentação de dados numéricos. Estudar estatística é importante porque diariamente estamos expostos a enormes conjuntos de

informações que resultam a estudos e pesquisas científicas. Os métodos de amostragem e de interferência estatística atualmente são um dos principais métodos de pesquisa científica.

As análises preliminares e finais apresentam dois pontos importantes em controle estatístico de processos em indústria de alimentos, situando o primeiro na descrição e exploração das características principais dos resultados sem uma preocupação inicial preponderante com os objetivos ou hipóteses do trabalho, mas com um olhar investigativo dos dados obtidos e o segundo perfaz o ato de investigar criteriosamente se um conjunto de pressupostos estatísticos está presente nos dados. Neste último caso, verifica-se o ajustamento entre o conjunto de dados e pressupostos estatísticos fundamentais para o uso correto das diversas técnicas estatísticas (normalidade de distribuição das variáveis, presença de casos extremos, homocedasticidade, multicolinearidade, entre outros.

Desta forma contribui para a segura e correta comercialização de produtos embutidos cárneos, e que devem estar de acordo com os padrões exigidos pela legislação; por isso são necessárias a realização de análises microbiológicas e físico-químicas. Na apuração de dados, pode-se utilizar de dados estatísticos (CALAPEZ, 2015).

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Mercado

A criação de produtos cárneos em tempos de crise tem como objetivo estabilizar duas variáveis importantes no dia a dia dos brasileiros: Tempo e dinheiro. Tempo porque atualmente cerca de 70% das mulheres trabalham fora de casa e por isso preferem adquirir refeições de fácil preparo, porque devido à crise econômica de 2016, o brasileiro passou a procurar alimentos com baixo custo de mercado (O Globo, 2016).

Os produtos derivados de carne têm como objetivo a criação de novos produtos para o mercado e, além disso, aumentar a vida útil dos produtos devido aos aditivos utilizados.

Embutidos cárneos são definidos como "produtos elaborados com carnes ou outros tecidos animais comestíveis, curados ou não, defumados e dessecados ou não, tendo como envoltório natural tripas, bexigas ou outras membranas animais ou envoltório plástico apropriado" (MENDONÇA, 2006).

Os principais embutidos são a salsicha, o salame, a linguiça e a mortadela. O mercado consumidor desses produtos vem crescendo constantemente nos últimos anos devido à crise econômica. “Em tempos de crise, a expansão é consequência de o consumidor ter voltado suas atenções para o cruzamento de duas variáveis: dinheiro e tempo” (ABIA, 2016).

De acordo com a ABIA – Associação Brasileira das Indústrias da Alimentação, essa expansão se deve ao fato dos embutidos terem se tornado produtos de fácil substituição e preparo. Durante a crise produtos de valor elevado foram trocados por produtos de valor mediano, e os medianos, por embutidos que possuem valores acessíveis.

Em outra perspectiva, observa-se que as mulheres atualmente são mais independentes; muitas delas trabalham o dia todo e quando chegam em casa procuram um alimento de fácil preparo.

2.2 Linguiças

Conforme a Instrução Normativa nº4 de 31/03/2000 publicada pelo Ministério da Agricultura e do Abastecimento: Entende-se por linguiça o produto cárneo industrializado, obtido de carnes de animais de açougue, adicionados ou não de tecidos adiposos e ingredientes; embutido em envoltório natural ou artificial, e submetido ao processo tecnológico adequado.

De acordo com a Revista Nacional da Carne, em 1998 os estabelecimentos existentes no país eram responsáveis por 1 milhão e 200 mil toneladas de embutidos. E a linguiça lidera o ranking de produção.

Um dos embutidos mais consumidos no Brasil, devido ao sabor satisfatório, preço acessível e fácil preparo; é a linguiça frescal. Uma pesquisa realizada pelo Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística – IBGE revelou que dentro do período de 1999 e 2009 o consumo de linguiça aumentou de 38,89% para 50,9%. E tudo aponta para o crescimento contínuo devido à prática no preparo e à atual vida agitada dos consumidores (UNISALESIANO – 2013).

2.3 Ingredientes

No processamento de linguiça são comumente utilizados ingrediente como carne mecanicamente separada, gordura, água, gelo e sal. Além desses ingredientes em comum, também são utilizados estabilizantes, conservantes, antioxidantes, acidulantes, corantes, realçadores de sabor, reguladores de acidez e aromas. A adição desses aditivos tem como objetivo melhorar características de textura, sabor, coloração e conservação dos produtos.

Estabilizantes: A sua aplicação fundamenta-se no aumento da capacidade de retenção de água, auxiliando também no rendimento, realçando o sabor e melhorando a textura.

- ✓ Conservantes: Evitam o crescimento das células vegetativas e esporos de *Clostridium botulinum*. Além disso, conferem coloração e sabor característico e evitam a rancidez nos produtos.
- ✓ Antioxidantes: São agentes aceleradores de cura, contribuindo para aumentar a velocidade do desenvolvimento da cor e estabilidade da carne curada.
- ✓ Acidulantes: Promove a redução do pH, facilitando a reação de cura.
- ✓ Corantes: Fornecem ao produto a coloração desejada.
- ✓ Realçador de sabor: Age nas papilas gustativas, realçando o sabor desejado.
- ✓ Regulador de acidez: Age modificando ou mantendo o pH.
- ✓ Aromas: Os aromas são capazes de agir nas papilas gustativas realçando o sabor dos produtos.

Processamento: No fluxograma do processamento de linguiças, podemos descrever as seguintes etapas.

1. Elaboração das formulações: As formulações são elaboradas de acordo com a necessidade e característica do produto.
2. Preparo da matéria- prima: As carnes bovinas e suínas devem ter temperatura entre 3°C e 5°C. Para carnes em carcaças, separam-se os ossos da carne manualmente com o auxílio de facas.
3. Moagem: A carne é picada e moída com o auxílio de moedores e/ou quebradores ou desintegradores de blocos.
4. Pesagem de condimentos e aditivos: Os condimentos são devidamente pesados para que possam se juntar com a mistura previamente preparada.
5. Trituração: A carne moída e os demais ingredientes são colocados em um “cutter”, onde acontece a fragmentação das carnes e a mistura de todos os ingredientes. É comum a adição de gelo picado; para auxiliar no resfriamento da massa e na composição do teor de água do produto. A mistura acontece até que se obtenha uma massa.
6. Preparo e hidratação das tripas: As tripas devem ser imersas em água.
7. Embutimento: A emulsão é embutida em tripas que posteriormente são amarradas de acordo com o tipo de produto produzido.
8. Embalagem: Os produtos são embalados por envoltórios plásticos termoformados e selados a vácuo. Posteriormente é realizada a pasteurização por imersão em água quente.

9. Refrigeração: Os produtos são acondicionados em câmaras frias, com temperaturas controladas.

a. Nitrato e nitrito

De acordo com a definição do item 1.2 da portaria SVS/MS 540, de 27/10/97, aditivo alimentar é todo ingrediente incorporado aos produtos alimentícios sem a intenção de alimentar; apenas com a finalidade de alterar características sensoriais, físicas, químicas ou microbiológicas durante o processamento inteiro do alimento. Em outras palavras, entende-se por conservantes, substâncias adicionadas aos alimentos com o objetivo de impedir ou retardar o crescimento/desenvolvimento microbiológico ou enzimático.

Durante a fabricação de boa parte de embutidos, são utilizados nitrito (NO_2^-) e nitrato (NO_3^-) para aperfeiçoar sua cor e sabor característicos, além de inibir o crescimento de microrganismos como *Clostridium botulinum*. A coloração rosa estável e sabor das linguiças são definidas por reações específicas que ocorrem durante o processamento (FENNEMA 2010).

“A primeira reação ocorre entre o óxido nítrico (NO) e a Mb, produzindo a mioglobina óxido nítrico (MbNO), também conhecida como nitrosilmioglobina. A MbNO é vermelha, brilhante e instável. Após o crescimento forma-se a mio-hemocromogema óxido nítrico (nitrosil-hemocromo), que é mais estável. Esse composto produz a coloração rosa desejável das carnes curadas. O aquecimento deste pigmento desnatura a globina, mas a coloração rosa permanece. É postulado que, se a MMb está presente, necessitam-se de agentes redutores para a conversão da MMb à Mb, antes que a reação com o NO ocorra. Como alternativa, o nitrito pode interagir diretamente com a MMb. Na presença de excesso de ácido nitroso a nitrimióglobina (NMb) será formada” (FENNEMA 2010).

O nitrito tem efeitos inibidores mais evidenciados ao crescimento de bactérias anaeróbias e tem seu papel fundamental na estabilização do componente cor rósea, e contribui de forma significativa em sua avaliação sensorial.

Por ser parte do ciclo do nitrogênio, o nitrato está amplamente presente no meio ambiente e não possui atividade antioxidante, mas pode ser reduzido a nitrito pela ação de bactérias, este, é incorporado diretamente à massa, e suas principais atribuições são estabilização da cor, melhoramento da textura, crescimento de “flavor” característico de produtos curados e dificultar o crescimento de toxinas de *Clostridium* (BENEDICTI, 2014).

A utilização de nitritos e nitratos tem sido questionada devido à associação de formação de compostos nitrosaminas, em níveis baixos, mas possivelmente tóxicos em alguns produtos que utilizam a cura como parte do processamento. Para Oliveira (2005), o uso destes aditivos é altamente discutido em virtude da possibilidade de originarem compostos nitrosos de ação carcinogênica, como a N-nitrosodimetilamina e a monometilnitrosamina. Além disso, esses compostos estão presentes de forma natural em muitos outros alimentos, incluindo vegetais. Porém a justificativa para a utilização de nitritos e nitratos está na capacidade antimicrobiana, em especial, na possibilidade do crescimento de *Clostridium botulinum* (FENNEMA 2010).

De acordo com a portaria 1004, de 11 de dezembro de 1998, as quantidades máximas permitidas para nitrito de potássio, nitrito de sódio, nitrato de sódio e nitrato de potássio são respectivamente, 0,015g; 0,015g; 0,03g e 0,03g para cada 100g de produto.

A exibição da população a nitritos e nitratos é sugestionada pelos hábitos de vida e localização de moradia de cada um, pois as dietas podem ser ricas em peixes, queijos e vegetais, que possuem alto valor desses conservantes, levando-se em consideração de que as plantas são fonte original de nitrato e as carnes processadas são fonte original de nitrito. O nitrito é mais tóxico do que o nitrato, sendo que a dose letal ingerida de forma oral é cerca de 80 a 800mg de nitrato por Kg corporal e 33 a 250mg de nitrito por Kg corporal (BENEDICTI, 2014).

2.5 Cura natural

O termo “cura” relaciona-se ao processamento de embutidos cárneos e é globalmente conhecido como a adição de conservantes e sais de nitrito e nitrato com o objetivo de aprimorar sua conservação e caracterizar cor e sabor em embutidos (CORREIA, 2008).

Atualmente, estudos tem demonstrado o interesse do consumidor por produtos de origem natural devido à associação de produtos comumente produzidos pela indústria, com modificações genéticas em plantas e animais, hormônios, pesticidas e antibióticos (BENEDICTI, 2014).

Estudiosos têm respondido a esses questionamentos do consumidor com alimentos muitas vezes deduzidos como mais saudáveis e benéficos do que àqueles convencionalmente produzidos. Em sua maioria, alimentos naturais ou orgânicos assemelham-se aos produtos tradicionais, e não diferem em características típicas, esperadas pelo consumidor (CORREIA, 2008).

Durante a produção de produtos cárneos, a adição de sais de cura é tratada com atenção exclusiva, devido aos potenciais riscos que podem ser conferidos à ingestão de altas quantidades (BENEDICTI, 2014).

Quando o nitrito é adicionado ao processo, sendo ele inserido diretamente ou derivado do nitrato, ele não pode ser substituído, e conseqüentemente, alguns outros produtos e processos são necessários para que seja desenvolvido um produto com características similares às esperadas pelo consumidor (CORREIA, 2008).

Podem ser substituídos pela adição direta no nitrito, alguns extratos vegetais, naturalmente ricos em nitrato; eles possuem grande influência na oxidação lipídica dos produtos cárneos devido ao seu efeito antioxidante e atualmente é comum utilizar-se deles na substituição de antioxidantes sintéticos, pois os extratos de vegetais apresentam a capacidade de melhorar a capacidade oxidativa e aumentar a vida de prateleira dos mesmos (BENEDICTI, 2014).

Existem muitas fontes naturais com grande quantidade de nitrito e nitrato, porém, a mais comum delas é o extrato de aipo, ao que tudo indica é altamente conciliável com produtos cárneos processados, devido a sua baixa pigmentação e sabor suave impedindo a depreciação do sabor do produto final (CORREIA, 2008).

O aipo (*Apiumgraveolens L.*) tem origem do sul da Europa e é cultivado nas regiões Sul e Sudeste do Brasil. Pode alcançar de 60 a 90 cm de altura, possui caule verde claro e folhas verde escuras bem segmentadas e folíolos serrilhados. Possui ação antioxidante, estomáquica, contra gases intestinais, refrescante e atividade anti-inflamatória. Em sua composição encontram-se cloreto de sódio, ferro, derivados de tiofeno, sulfurados voláteis, alina, alcina e vitaminas (A, B1, B2, B5, C e E) (BENEDICTI, 2014).

2.6 Cultura starter

Quando realizamos o processo de cura natural, um ingrediente importante é a cultura de bactéria nitrato-redutora. As culturas utilizadas para conversão de nitrato podem prover no processo de cura natural, contribuindo no desenvolvimento e estabilidade da cor dos produtos curados (BENEDICTI, 2014).

Cultura Starter, são preparos com microrganismos vivos ou em estado latente que se desenvolvem através da fermentação de determinado substrato. Normalmente são utilizados de forma benéfica com o objetivo de melhorar a segurança do produto e estender sua vida útil devido a inibição de microrganismos deteriorantes. Em produtos cárneos, as bactérias auxiliam

a segurança e estabilidade e desenvolvem os aspectos sensoriais do produto, pois ocorrem interações entre as frações da proteína, gordura e carboidratos (GOLINELI, 2009).

2.7 Clostridium botulinum

Entre os diversos aspectos que determinam a qualidade de um produto alimentício, um deles é a análise microbiológica. É importante pensar que alimentos crus apresentam microrganismos que fazem parte da sua microbiota natural; porém alguns alimentos podem ter microrganismos indesejáveis que podem ocasionar algumas alterações, podendo ser patogênicos e comprometer a saúde do consumidor.

As análises microbiológicas de alimentos são importantes porque a partir delas, consegue-se obter dados a respeito das situações higiênico-sanitárias durante o processo, armazenamento, distribuição e sua vida de prateleira.

No processo de fabricação de linguças, devem ser tomadas algumas precauções devido à alta quantidade de microrganismos presentes. Entre elas estão o processo de cura, a embalagem a vácuo e a refrigeração.

O processo de cura consiste na adição de sal, nitratos e nitritos, açúcares e condimentos para a conservação do produto. No sistema de embalagem a vácuo, o alimento não entra em contato com o oxigênio, elemento que altera algumas propriedades dos alimentos, assim é possível proteger o alimento contra a deterioração. O resfriamento é realizado com o objetivo de inibir o crescimento microbiológico devido às baixas temperaturas.

Atualmente os microrganismos podem ser identificados em todo lugar, mas antigamente diversas pessoas morriam com epidemias em vários lugares do mundo e comumente os motivos não eram identificados. Isso porque até pouco tempo atrás, antes da invenção do microscópio, muitos microrganismos eram desconhecidos, assim, a comida estragada não era percebida e consumida normalmente ocasionando doenças que vacinas e antibióticos não eram capazes de combater, pois não estavam disponíveis. Não se sabe ao certo o período em que se desenvolveu o conhecimento a respeito dos microrganismos e seu papel relevante para os alimentos, porém, com o aumento de produtos alimentícios não consumidos de forma natural, surgiram problemas relacionados à doenças transmitidas pelos alimentos e por sua rápida deterioração, principalmente devido ao armazenamento inadequado (CARVALHO, 2010).

O *Clostridium botulinum* é um bacilo gram-positivo produtor de esporos, encontrados em fezes, legumes, frutas, verduras e no solo. São bastonetes retos ou levemente curvados com

flagelos, apresentam capsulas e são móveis, anaeróbicos, com esporos ovais (PARRILLI, 2008).

Os esporos desse microrganismo são as formas mais resistentes que se tem encontrado em agentes bacterianos e podem sobreviver por cerca de 30 anos ou mais em meios secos. Para destruir esses esporos em alimentos, é necessário que os alimentos contaminados sejam aquecidos a 120°C durante 30 minutos. A germinação desses esporos é realizada em condições anaeróbicas, onde o pH é superior à 4,5 e existe uma alta atividade de água (CERESER, 2008).

O botulismo é uma intoxicação ocasionada pelo *Clostridium botulinum*, proveniente, na maioria dos casos, da ingestão de uma potente neurotoxina proteica contida em alimentos contaminados com esse microrganismo. No Brasil, a incidência dessa doença é baixa, mas por ser muito grave podendo levar a morte, deve ser diagnosticada e tratada de forma ágil (CERESER, 2008).

Com base na especificidade sorológica das toxinas, são sete tipos conhecidos (A, B, C, D, E, F e G); sendo que os tipo A, B, E, F e G podem ocasionar doenças à humanos, o tipo C ocasiona doenças em aves, gado e outros animais; enquanto o tipo D está relacionado à intoxicações por ingestão de forragem pelo gado (JAY, 2009).

Os sintomas relacionados ao botulismo podem aparecer de 12 a 72 horas após a ingestão de alimentos contaminados. Dentro os sintomas estão náuseas, vômito, fadiga, tonturas, cefaleia, ressecamento da pele, boca e garganta, diarreia seguida de constipação; os pacientes normalmente não apresentam febre; ocorre paralisia muscular, visão dupla e parada cardíaca, ocasionando a morte. A toxina botulínica ataca o sistema nervoso de forma irreversível. Todos esses sintomas são ocasionados pela exotoxina e o tratamento equivale a administração de soros muito específicos o mais rápido possível. A taxa de mortalidade é baixa e varia entre 30% e 65% e a duração da doença é de 1 a 10 dias variando de acordo com a resistência do hospedeiro (JAY, 2009).

Cabe relatarmos que em paralelo ao botulismo outra bactéria com potencial alto de causar doença severa ao ser humano por ingestão de alimentos contaminados é o *Staphylococcus aureus*. Dessa forma, por questões de riscos na manipulação optamos em analisar somente *Staphylococcus aureus*, já que de acordo com Jay (2009) a presença dessa bactéria já identifica o potencial risco da presença do *Clostridium botulinum*.

2.8 Estatística

De acordo com Araújo (2003), a pesquisa científica nas diferentes áreas do conhecimento, as análises estatísticas são usadas como ferramentas para avaliação e verificação de suas hipóteses. O efeito comparativo múltiplo entre médias de tratamentos experimentais, antecedido da análise de variância, constitui-se, invariavelmente, uma das mais comuns dessas análises.

Os testes de comparações múltiplas entre médias de tratamentos auxiliam na análise de dados e segundo Conagin et al. (2008), amplia o interesse na pesquisa aplicada, tangenciando os trabalhos que buscam o comparativo para tratamentos qualitativos.

O uso de um teste é feito quando a análise de variância aponta a existência de efeito significativo dos tratamentos a um determinado nível de significância, assim é possível o estabelecimento da decisão de rejeitar a hipótese de nulidade (pelo menos um contraste ortogonal entre tratamentos diferentes de zero).

De acordo com Conagin et al (2008), os testes mais utilizados para verificação e comprovação dos resultados experimentais, estão o Teste F, usado para verificar a existência de diferença significativa entre contrastes ortogonais dos tratamentos, e os testes de Tukey, Duncan, Dunnet e o teste LSD, habitualmente estudado para detalhar esta informação, que permite mostrar as especificidades dos tratamentos que diferem, ou não, estatisticamente.

A característica desejada é que os testes mostrem controle da taxa de erro tipo I, que certifique a existência de diferença entre os tratamentos, evidenciada na realidade de que essas diferenças são causadas pelo acaso. A probabilidade máxima de se rejeitar erroneamente uma hipótese nula (H_0) é verificada pelo nível de significância do teste e fundamenta o erro tipo I, sendo usado o nível de 5% de probabilidade.

Conagin et al (2008) afirma que existem dificuldades em se comparar o erro tipo I nos procedimentos de comparações múltiplas. Menciona também que os testes de comparações múltiplas de médias controlem a taxa de ocorrência do erro tipo I com a mesma eficiência, vinculados tanto para comparações como para experimentos aliados aos diferentes tamanhos de experimentos, de acordo com o número de tratamentos, repetições e coeficientes de variação.

Já a Análise de Variância (ANOVA) é um procedimento usado para comparar três ou mais tratamentos. Evidencia-se algumas variações da ANOVA ocasionadas aos diferentes tipos de experimentos que podem ser executados no tratamento de dose de experimentos.

Montgomery (2008) menciona que a análise de variância, conhecida como ANOVA é uma abordagem utilizada para se comparar vários grupos de experimentos que evidenciam o início de uma avaliação para verificar se há diferenças consideráveis entre os grupos estudados.

Walpole et al. (2009) corroboram que a ANOVA é um procedimento muito comum usado para lidar com testes de médias populacionais.

Sousa et al. (2012) certificaram a eficiência das respostas de diferentes métodos de comparações múltiplas entre médias. Estudaram quatro diferentes procedimentos de testes de comparações múltiplas entre médias aplicadas a 200 experimentos e a 10 variáveis, geradas a partir de valores aleatórios.

Walpole et al. (2009) descreve ainda que o procedimento de Tukey permite a formação de intervalos de confiança $100(1-\alpha) \%$ simultâneos para todas as comparações em pares. O método é ancorado em uma distribuição de amplitude “estudentizada”. O percentual adequado é uma função de α , k e $v =$ graus de liberdade para S^2 , onde o método de comparações em pares de Tukey engloba a descoberta de uma diferença de significância entre as médias i e j , se $|\bar{y}_i - \bar{y}_j|$ exceder $q[\alpha, k, v]$ análises através do Teste de Tukey.

O teste de Tukey abre espaço para testar qualquer contraste, sempre, entre duas médias de tratamentos, ou seja, não possibilita a comparação de grupos entre si. O teste baseia-se na Diferença Mínima Significativa (DMS) Δ . A estatística do teste é dada da seguinte maneira,

$$\Delta = q \sqrt{\frac{QMRes}{r}} \quad (I)$$

onde, q é a amplitude total studentizada, $(QMRes)$ é o quadrado médio do resíduo, e (r) é o número de repetições. O valor de q depende do número de tratamentos e do número de graus de liberdade do resíduo. Também, em um teste de comparações de médias, deve-se determinar um nível de significância α para o teste. Normalmente, utiliza-se o nível de 5% ou 1% de significância.

Idealizamos que os resultados das análises físico-químicas e microbiológicas podem ser submetidos à análise de variância (ANOVA) e as médias comparadas pelo teste t (5 % de probabilidade) aliados após à análise de variância, as médias serão comparadas pelo teste de Tukey com significância de 5 % de probabilidade (VIEIRA, 2006).

3. MATERIAIS E MÉTODOS

Para a realização da linguiça sem nitrito e nitrato primeiramente foi pesquisado a respeito dos ingredientes necessários em uma formulação de linguiça comum e quais eram as reações que ocorriam entre eles para que se obtivesse um resultado satisfatório perante o

mercado, posteriormente, foram feitas alterações de acordo com a necessidade do projeto. A formulação final está descrita na tabela 01.

Tabela 01 - Ingredientes

Ingrediente	Formulação 1 (%)	Formulação 1 (g)	Formulação 2 (%)	Formulação 2 (g)
Paleta suína	96,6	400	96,1	400
Toucinho		133,3		133,3
Cultura Starter	0,05	0,28	0,05	0,28
Pimenta Branca	0,5	3	0,5	3
Alho	0,5	3	0,5	3
Noz moscada	0,03	0,17	0,03	0,17
Eritorbato de sódio	0,03	0,17	0,03	0,17
NaCl	2	11	2	11
Nitrito de sódio	-		-	
Extrato de aipo	0,3	1,5	0,8	4,5
Total	100,0	552,42	100,01	555,42

Fonte: Autores

Após tomada a decisão dos ingredientes e quantidades necessárias, foi utilizado o Laboratório de Nutrição e Dietética da Instituição para desenvolvimento do produto. A relação de materiais e equipamentos utilizados está descrita na tabela 02.

Tabela 02 – Materiais para processamento

Material	Quantidade
Tábua de carne	2
Facas	2
Recipientes	4
Moedor	1
Embutideira	1
Balança	1

Fonte: Dos autores

1) Inicialmente, a paleta e o toucinho (mantidos refrigerados na faixa de 5° a 10 ° C) foram cortados em filetes e moídos. Posteriormente a mistura de carnes foi pesada para que a partir da massa obtida pudéssemos calcular a quantidade dos demais ingredientes a partir de do balanço de massa da formulação base.

2) Os condimentos foram pesados e incorporados à mistura.

3) A massa foi misturada durante 5 minutos de forma manual de forma asséptica.

- 4) A mistura foi acondicionada em embutideira e em seguida foram ensacadas dentro de tripas previamente hidratadas.
- 5) As linguiças foram identificadas e armazenadas durante os 5 dias seguintes.
- 6) Uma parte da amostra foi congelada para realizar análises microbiológicas.

Após os 5 dias de estocagem, foram realizadas análises microbiológicas de *Staphylococcus*. Foram feitas análises em triplicatas com as duas amostras resfriadas e com a amostra congelada.

3.1 Análise microbiológica

Para a análise microbiológica foram utilizados os materiais e equipamentos descritos na tabela 03.

Tabela 03 – Materiais de análise microbiológica

Material	Quantidade
Placa de Petri	6
Agar Manitol	11,1 g
Água peptonada	1
Recipiente	2
Autoclave	1
Fluxo laminar	1
Ponteiras de 0,1 mL	1
Alça de Drigalsky	1
Estufa	1
Contador de colônias	1
Lâminas	2
Bico de Bunsen	1
Água deionizada	1

Fonte : Dos autores

O ágar manitol salgado e a água peptonada foram preparados conforme a instrução contida nos rótulos dos produtos. Foi colocado 11,1g de ágar em 100mL de água destilada. Misturou-se até se obter uma suspensão uniforme. A mistura foi aquecida com frequente agitação para que a dissolução fosse completa. A água peptonada foi preparada a 0,5%. Ambos foram colocados em um recipiente específico que suporta altas temperaturas e pressão e direcionados para a autoclave. Em seguida todos os materiais e soluções utilizados foram colocados em autoclave a 121°C durante 15 minutos.

Após esse período, esperou-se até que o equipamento estivesse frio para facilitar o manuseio. Posteriormente os materiais foram direcionados para o fluxo laminar com a luz ultravioleta ligada e permaneceram durante 30 minutos para controle de contaminantes microbiológicos.

Diluiu-se 10g de linguiça triturada em 100mL de água peptonada (diluição 10^{-1}). Em seguida uma amostra em duplicata de 0,3 mL da diluição foi inoculada em 02 placas de petri e espalhadas com alça de Drigalski. As ponteiros utilizadas foram de 0,3mL. As placas foram colocadas em estufa a 37°C por 48 horas e depois foi realizada a contagem utilizando o contador de colônias.

3.2 Determinação de Nitrito

A análise de determinação de nitrito foi separada em 3 partes, o preparo das soluções, a extração e a curva padrão.

Foram preparadas o total de 5 soluções, todas com o mesmo princípio, alterando apenas a concentração. Além de 2 reagentes. Para a solução de tetraborato de sódio deca-hidratado a 5% foi dissolvido 50g de tetraborato de sódio em água destilada e o conteúdo foi transferido para um balão volumétrico de 1000mL que completando-se o volume com água destilada.

A Solução de ferrocianeto de potássio tri-hidratado a 15 % utilizou 150 g de ferrocianeto de potássio para ser dissolvido em água destilada e seu conteúdo foi transferido para um balão volumétrico de 1000 mL, completando-se o volume com água destilada.

A solução de acetato de zinco di-hidratado a 30% teve 300g de acetato de zinco dissolvido em 30mL de ácido acético glacial e 500mL de água destilada. O conteúdo foi transferido para um balão volumétrico de 1000 mL completando-se o volume.

A solução padrão de nitrito de sódio a 0,2 foi iniciada após a secagem do nitrito de sódio em estufa a 105°C , pesou 0,2 g e o diluiu em 1000 mL água destilada e para a solução padrão de trabalho a 8 µg/mL colocou-se em um balão volumétrico 10 mL da solução padrão de nitrito de sódio e completou com água destilada.

Os reagentes foram preparados da seguinte forma:

Foram dissolvidos 1,25 g de sulfanilamida em 250 mL de ácido clorídrico 1:1 e 0,5 g de cloreto de alfa-naftil-etileno diamina em 100 mL de água destilada para obtenção de reagente sulfanilamida a 5 % e reagente NED a 0,5 % respectivamente.

O método envolve duas etapas no processamento da amostra; um tem o objetivo de retirar o sal da amostra e seguidamente quantificá-lo.

Para o preparo da amostra pesou-se 10 g da amostra triturada e homogeneizada em um béquer de 200 mL. Adicionou 5 mL de solução de tetraborato de sódio a 5 %. Após mistura com auxílio de um bastão de vidro, acrescentou 50 mL de água destilada para homogeneização da solução. Posteriormente, a solução foi aquecida em banho-maria a 80°C por 20 minutos sob agitação constante e com auxílio de bastão de vidro. Procedeu da mesma forma com um branco de reagentes, sem a adição da amostra. Após aquecimento, com o auxílio de um funil e bastão de vidro, transferiu a solução para um balão volumétrico de 200 mL, onde foram adicionados 5 mL de ferrocianeto de potássio 15 % e 5 mL de solução acetato de zinco 30 %, agitando por rotação a cada adição de reagente e completou o volume com água destilada até o valor de 200 mL.

Para a realização da quantificação, transferiu-se 10 mL da amostra preparada e filtrada em um balão volumétrico de 50 mL. Adicionou-se 5 mL do reagente de sulfanilamida a 5 % e após 5 minutos, adicionou 3 mL de reagente NED a 0,5 %. O volume do balão foi completo com água destilada e a solução foi homogeneizada; após 15 minutos foi realizada leitura em espectrofotômetro a 540 nm contra o branco dos reagentes filtrados em papel filtro.

Para realização da curva padrão, em balões volumétricos de 50mL pipetou-se alíquotas de 1 mL, 2 mL, 3 mL, 4 mL, 5 mL, 6 mL e 7 mL contendo a solução padrão de trabalho de nitrito de sódio. Em cada balão acrescentou-se 5 mL de reagente sulfanilamida. Após 5 minutos, adicionou 3 mL de reagente NED a 0,5 %. O volume foi completado com água destilada. Após 15 minutos foi efetuada a leitura em espectrofotômetro a 540 nm contra o branco dos reagentes.

Após a leitura foram feitas as curvas com os valores de absorbância em um plano y junto com a concentração de nitrito de sódio 0,16 µg/mL; 0,32 µg/mL; 0,48 µg/mL; 0,64 µg/mL; 0,80 µg/mL; 0,96 µg/mL e 1,12 µg/mL em plano x, sendo assim, foram calculados os valores de coeficiente linear, angular e determinação da reta pela análise de regressão.

3.4 Análises de Cinzas

As análises de cinzas foram realizadas em triplicatas no dia 09/11/2020 no laboratório da instituição de ensino. Utilizou-se os materiais e equipamentos descritos na Tabela 04.

Tabela 04 – Materiais para análise de cinzas

Material	Quantidade
Balança analítica	1
Cápsula de porcelana	4
Bico de Bunsen	1
Mufla	1
Pinça de madeira	1
Espátula	1
Tripé de ferro	1

Fonte: Dos autores

Foram pesadas em cadinhos de porcelana três amostras de entre 2 e 3 gramas das amostras 1 e 2 previamente separadas. Posteriormente, as amostras foram colocadas em contato com o bico de Bunsen utilizando o tripé de ferro até que houvesse a calcinação das mesmas.

Após 5 minutos da chama apagada, foram colocadas as amostras em mufla em 550°C até o desaparecimento completo de substâncias orgânicas. Após o período de repouso na Mufla, as amostras foram pesadas novamente para realização dos cálculos de acordo com a fórmula abaixo:

$$\frac{p \times 100}{P}$$

Onde:

p = nº de g de resíduo

P = nº g da amostra

3.5 Análise de Umidade

As análises de umidade foram realizadas em triplicatas para as amostras 1 e 2. Foram utilizados os materiais e equipamentos descritos na tabela 05.

Tabela 05 – Materiais para análise de umidade

Material	Quantidade
Balança analítica	1
Cápsula de porcelana	4
Espátula	1
Pinça	1
Estufa	1

Fonte: Dos autores

Foram pesadas em cadinhos de porcelana três amostras de 2 a 3 gramas de linguiça previamente separadas. Posteriormente, as amostras foram colocadas em estufa à 105°C e aquecidas durante 3 horas. Após todo o procedimento, pesou-se novamente as amostras para calcular o percentual de umidade, que é dado pela fórmula abaixo:

$$\frac{100 \times n}{P}$$

Onde:

n = n° de gramas de umidade (perda de massa em g)

P = n° de gramas da amostra

3.6 Análise de Gordura

Para as análises de gordura, utilizamos amostras em triplicata das amostras 1 e 2. Utilizamos as amostras previamente secas, depois das análises de umidade. Utilizou-se os materiais e equipamentos descritos na tabela 6.

Tabela 6 – Materiais para análise de gordura

Material	Quantidade
Aparelho extrator de Soxhlet	1
Balança analítica	1
Proveta	1
Reagente: Hexano	320 mL

Fonte: Dos autores

Foi pesada em papel de filtro as amostras provenientes da análise de umidade pesando entre 1 e 2 gramas. Posteriormente, colocado dentro do cartucho de Soxhlet. Foram colocados 80 mL do reagente hexano em cápsula previamente pesada e essa cápsula foi posta no aparelho Soxhlet para que a separação da gordura fosse realizada.

Assim que concluída a separação da gordura, o solvente hexano foi recuperado, a amostra foi levada em estufa à 100 ° C por 2 h, resfriada em dessecador e em seguida foi pesada novamente e os cálculos realizados através da fórmula:

$$\frac{100 \times N}{P}$$

Onde:

N = n° de gramas de lipídios

P = nº de gramas da amostra

3.7 Análise de pH

As análises de pH também foram realizadas em triplicatas e para realizá-las as amostras foram pesadas na quantidade de 10g de cada uma das amostras em um becker e em seguida foram adicionadas 90g de água deionizada. As amostras foram homogeneizadas e foi medido o valor em pH em um potenciômetro previamente calibrado em solução-padrão pH=4 e pH=7.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Para as análises físico-químicas, foram obtidos os resultados descritos na tabela 07.

Tabela 07 – Resultados de análises físico-químicas

Amostra	Cinzas (%)	Umidade (%)	Lipídeos (%)	pH
1.0	2,87	39,38	38,55	6,51
1.1	2,87	38,32	38,18	6,50
1.2	2,87	38,32	38,60	6,50
Média	2,87	38,67	38,44	6,50
2.0	2,87	34,67	39,48	6,48
2.1	2,86	38,47	36,70	6,46
2.2	2,86	38,50	39,50	6,50
Média	2,86	37,21	38,56	6,48

Fonte: Dos autores

Sendo que as amostras 1, são referentes à formulação desenvolvida 1 e as amostras 2 são referentes à formulação 2.

De acordo com o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de linguiças frescas, os valores máximos para análises de umidade e lipídeos são respectivamente 70% e 30%. A média de umidade das amostras está dentro dos requisitos estabelecidos, porém a de gordura está fora. Uma possível solução seria a redução da quantidade de toucinho utilizado na formulação.

Na análise de cinzas, um único valor distinguiu dos demais, então ele não foi considerado na média. Na literatura, foi encontrado o valor de 2,44%, e este é um valor próximo ao obtivo nas duas amostras desenvolvidas.

A análise de pH é considerada importante pois o desenvolvimento microbológico e da coloração do produto estão relacionados ao valor médio obtido. Na literatura, foram

encontrados valores entre 5,2 e 6,8. Então os valores obtidos em ambas as amostras se encontram de acordo com o previsto (SILVA, 2010).

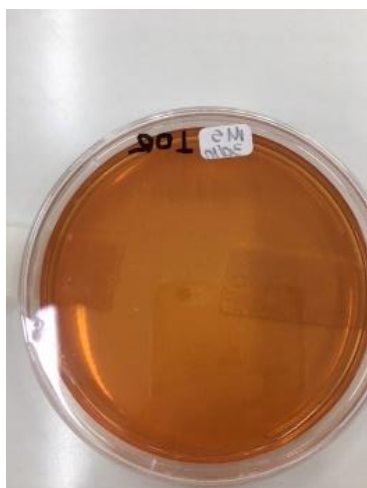
Nas análises microbiológicas realizadas no trabalho de iniciação científica realizado na instituição no ano de 2018, sem Cultura Starter, os valores obtidos estão descritos na tabela 08.

Tabela 08 – Resultados microbiológicos

Linguça Desenvolvida	
Amostra 1	$4,0 \times 10^3$
Amostra 2	$7,0 \times 10^3$
Amostra 3	$8,0 \times 10^3$
Média	$6,3 \times 10^3$

Fonte: Dos autores

Utilizando a cultura starter na formulação, os resultados obtidos nas análises microbiológicas foram de incontáveis UFC conforme anexos 1, 2 e 3.



Anexo 1: Amostra no marco zero



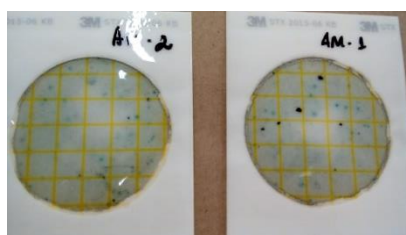
Anexo 2: Amostra 1



Anexo 3: Amostra 2

Na amostra 1, houve o crescimento microbiológico, porém ele é menor se comparado a amostra 2.

Em análise rápida de Petrifilm não foi identificado *Staphylococcus aureus* ou *epidermidis* devido à coloração apresentada nas amostras, conforme o anexo 4. A coloração encontrada foi de um tom verde, sendo que a coloração rósea confirmaria a presença de *Staphylococcus*.



Anexo 4: Análise de Petrifilm

Como no trabalho de IC houve um crescimento menor do que na amostra atual e na amostra original com o marco zero não teve crescimento, uma possibilidade dos crescimentos de outras colônias de bactérias no manitol salgado é de que a própria cultura starter pode ter influenciado no crescimento mostrado como incontável.

Outra possibilidade é que a contaminação da flora natural da carne fresca fermentou o manitol salgado. Além disso, também pode ter ocorrido contaminação através dos equipamentos utilizados ou na manipulação das carnes, aditivos ou linguiça.

As análises de nitrito foram realizadas no mesmo período das análises microbiológicas. Uma no marco zero, outra após 5 dias e a última após 10 dias da produção da linguiça. Os resultados estão descritos na tabela 09.

Tabela 09 – Resultado das análises de nitrito

Marco zero		5 dias (mg/kg)		10 dias (mg/kg)	
Amostra 1.0	Não detectável	Amostra 1.0	2,58	Amostra 1.0	8,70
Amostra 1.1	Não detectável	Amostra 1.1	2,65	Amostra 1.1	8,85
Amostra 1.2	Não detectável	Amostra 1.2	2,62	Amostra 1.2	8,92
Média	Não detectável	Média	2,62	Média	8,85
Amostra 2.0	Não detectável	Amostra 2.0	25,78	Amostra 2.0	57,68
Amostra 2.1	Não detectável	Amostra 2.1	26,05	Amostra 2.1	57,56
Amostra 2.2	Não detectável	Amostra 2.2	25,96	Amostra 2.2	57,74
Média	Não detectável	Média	25,96	Média	57,68

Fonte: Dos autores

Em ambas as amostras não havia concentração de nitrito. Após 5 e 10 dias da fabricação da linguiça, houve maior desenvolvimento de nitrito na amostra 2, pois esta conta com a presença da cultura starter. A cultura acelerou a conversão do nitrato presente no aipo em nitrito.

De acordo com a portaria nº 1004, de 11 de dezembro de 1998, o limite máximo para nitrito é de 150mg/kg, que é consideravelmente maior do que o encontrado na análise. Para afirmar a segurança do produto com relação ao desenvolvimento de nitrito seria necessário um maior tempo de análises para verificar qual seria o ponto de estabilização de desenvolvimento do sal.

5. CONCLUSÃO

Essa pesquisa permitiu a elaboração de uma linguiça com apelo natural, porém, no momento sem viabilidade tecnológica devido ao crescimento de bactérias até o momento

desconhecidas no meio de manitol salgado com possível influência da ação da cultura starter ou devido à contaminação proveniente da flora natural da carne.

O nitrato presente no extrato de aipo foi convertido a nitrito dentro dos limites estipulados em legislação, impedindo o crescimento de *Staphylococcus aureus*. Embora o baixo teor de nitrito, se comparado ao valor máximo permitido, esteja relacionado ao curto período de cura (5 e 10 dias); devido a inviabilidade do uso do laboratório da instituição em função da pandemia; a linha de tendência na amostra 2 apresenta tendência crescente conforme o gráfico 1.

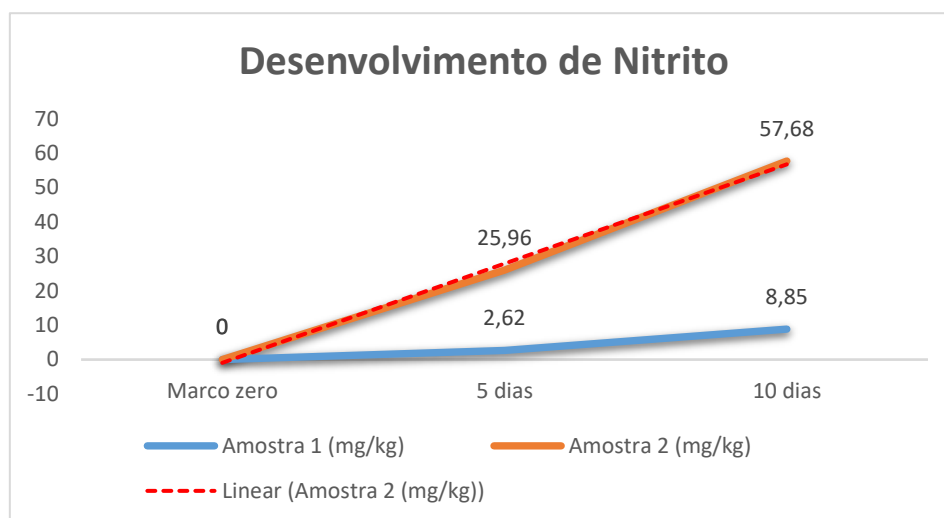


Gráfico 1 – Desenvolvimento de Nitrito

Para se obter um resultado mais preciso com relação ao período ideal de cura, seria necessário maior tempo de cura e a realização de mais análises para acompanhamento do desenvolvimento microbiológico e físico-químico de ambas as amostras para realização de um comparativo.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALVES, A. R. F. *Doenças alimentares de origem bacteriana*. 2012. Disponível em: <<http://www.rc.unesp.br/ib/ceis/mundoleveduras/2013/IntoxicacoesAlimentares.pdf>> Acesso em 22/04/2019.

ANDRADE, Ana Carolina G. *Trabalho de conclusão de semestre. Universidade Santa Cecília*. 2010. Disponível em: <<http://www.ebah.com.br/content/ABAAABapUAI/clostridium-botulinum>> . Acesso em: 23/04/2019.

ARAÚJO AP (2003) *Analysis of variance of primary data on plant growth analysis*. Pesquisa Agropecuária Brasileira, 38:1-10.

BENEDICTI, Carolina. *Produção de linguiça frescal (toscana) através de cura natural com extrato de aipo (apium graveolens)*. 2014. Disponível em: <http://repositorio.roca.utfpr.edu.br/jspui/bitstream/1/2343/1/CM_COALM_2013_2_04.pdf>. Acesso em: 07/04/2019.

BENEVIDES, Selene; **NASSU**, Renata. *Produtos cárneos*. Disponível em: <http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/gestor/ovinos_de_corte/arvore/CONT000g3izohks02wx5ok0tf2hbweqanedo.html> . Acesso em: 06/04/2019.

BIASI, Vanessa. *Produção de salame tipo italiano através de cura natural com extratos de aipo e acelga*. Disponível em: <<http://repositorio.ufsm.br/bitstream/handle/1/5693/BIASI%2c%20VANESSA.pdf?sequence=1&isAllowed=y>>. Acesso em 02/02/2018.

BRASIL, Resolução – RDC nº12 de 12 de janeiro de 2001. *Regulamento técnico sobre os padrões microbiológicos para alimentos*.

BRASIL, Portaria 1004, de 111 de dezembro de 1998. *Atribuição da função de aditivos, Aditivos e seus limites máximos de uso para a categoria 8 – Carne e produtos cárneos”*

BRASIL, Instrução Normativa nº 4, de 31 de março de 2000. *Regulamento técnico de identidade e qualidade de linguiças*.

CARNEIRO, Diego. *Determinação de Lipídeos*. Disponível em: <<http://www.ebah.com.br/content/ABAAA5skAH/determinacao-lipideos>>. Acesso em 08 de abr. 2019.

CALAPEZ, Teresa; et. al. *Estatística Aplicada 1*. Disponível em: < <https://static.fnac-static.com/multimedia/PT/pdf/9789726188193.pdf>> Acesso em: 16/04/2019

CARTAXO, James Linneker da Silva. *Riscos associados aos níveis de nitritos em alimentos: uma revisão*. Disponível em: <<http://rei.biblioteca.ufpb.br/jspui/handle/123456789/936>>.

Acesso em: 23/06/2017.

CERESER, Natacha Delboni, et. al. *Botulismo de origem alimentar*. Disponível em: <<http://www.redalyc.org/html/331/33138149/>>. Acesso em: 05/02/2018.

CONAGIN. A, BARBIN D & DEMÉTRIO CGB (2008) Modifications for the Tukey test procedure and evaluation of the power and efficiency of multiple comparison procedures. Scientia Agricola, 65:428-432.

COUTINHO, Fayd et al. *Estudo de métodos de cura natural aplicados a embutidos cárneos*. Disponível em: <<http://www2.pucpr.br/reol/index.php/SEMIC19?dd1=5387&dd99=view>> . Acesso em: 07/04/2017.

Equipe beef point. *Alguns aspectos para o processamento e conservação da carne* . 2009. Disponível em: <<http://www.beefpoint.com.br/radares-tecnicos/qualidade-da-carne/alguns-aspectos-para-o-processamento-e-conservacao-da-carne-54888/>> Acesso em: 14/04/2017.

FENNEMA, Owen, **DAMODARAN**, Srinivasan, **PARKIN**, Kirk L. *Química de Alimentos*. 4º edição. 2010

FRANCO, Bernadette D G M. *Análise microbiológica de alimentos: importância do plano de amostragem*. 2014. Disponível em: <<http://foodsafetybrazil.org/analise-microbiologica-de-alimentos-importancia-do-plano-de-amostragem/>> Acesso em: 10/04/2019.

FURTADO, M. A. M.; FERRAZ F.O. Determinação de umidade em alimentos por intermédio de secagem em estufa convencional e radiação infra vermelha – Estudo comparativo em alimentos com diferentes teores de umidade. Disponível em: <<http://www.ufjf.br/laaa/files/2008/08/04-7%C2%BA-SLACA-2007.pdf>> Acesso em: 10/04/2019.

GAVA, Altanir; SILVA, Carlos; FRIAS, Jenifer. Tecnologia de Alimentos. Editora: Nobel.

GOLINELI, Bruna. BERNARDI, Sabrina. Aspectos da aplicação de culturas starter na produção de embutidos cárneos fermentados. Disponível em: <<http://www.ital.sp.gov.br/bj/artigos/html/busca/PDF/v13n2415a.pdf>> Acesso em :25/04/2019

Instituto Adolfo Lutz (São Paulo). Métodos físico-químicos para análise de alimentos/coordenadores Odair Zenebon, Neus Sadocco Pascuet e Paulo Tiglea -- São Paulo:Instituto Adolfo Lutz, 2008 p. 1020.

JAY, James M. Microbiologia de alimentos. 6° edição. 2005.

LABOISSIÈRE, Paula. Maioria das mulheres no Brasil e no mundo prefere trabalhar a ficar em casa. Disponível em: <<http://agenciabrasil.ebc.com.br/direitos-humanos/noticia/2017-03/maioria-das-mulheres-no-brasil-e-no-mundo-prefere-trabalhar-ficar>>. Acesso em: 02/02/2018.

LAMARINO, Luciana et al. Nitritos e nitratos em produtos cárneos enlatados e/ou embutidos. Disponível em: <http://www.unifia.edu.br/revista_eletronica/revistas/gestao_foco/artigos/ano2015/nitritos_nitratos.pdf> Acesso em: 07/04/2017

LEMGRUBER, Adriana de Souza. VIZZACCARO, Cauê. Aditivos e ingredientes para embutidos. Revista Mais carne- Aditivos e ingredientes. Ed.: 9, p. 26.

MENDONÇA, Samanta Xavier. Embutidos Fermentados. 2008. 43f. Trabalho acadêmico – Bacharelado em Química de Alimentos. Disciplina de Seminário. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

MONTGOMERY, D.E. Introduction to Statistical Quality Control. Sixth edition New York: John Wiley and Sons, 2008.

O GLOBO. Com disputa entre marcas, cresce venda de industrializados e congelados. 2016. Disponível em: <http://www.abia.org.br/vsn/tmp_2.aspx?id=167>. Acesso em: 12/04/2017.

OLIVEIRA, Milyan Jorge, ARAÚJO, Wilma M. C., BORGIO, Luiz Antônio, Quantificação de nitrito e nitrato em linguiças tipo frescal - Ciência e Tecnologia de Alimentos 2005. Disponível em: <<http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=395940076018>> Acesso em: 05/04/2019.

OLIVEIRA, Ana Paula de, CARNICER, Aline Nunes, AMARAL, Jacira de Fátima do, ANDRIOLI, Laura Gabrieli Rodrigues, Monitoramento dos níveis de nitrito encontrados em linguiças artesanais comercializadas em Lins. Disponível em: <<http://www.unisalesiano.edu.br/simposio2013/publicado/artigo0198.pdf>> Acesso em: 12/09/2017.

ORDOÑEZ, Juan. Tecnologia de Alimentos. Vol II. Editora: Artmed.

PARRILLI, Carolina Chizzotti. *Clostridium botulinum em alimentos*. Disponível em: <<http://arquivo.fmu.br/prodisc/medvet/ccp.pdf>> Acesso em: 05/02/2018.

RITTER, Ana Rita carboni. *Produção de salame tipo Italiano adicionado de culturas iniciadoras nativas e extrato de aipo (Apium graveolens L.) como fonte de nitrato*, 2016. Disponível em: <http://dctaufpel.com.br/ppgcta/manager/uploads/documentos/dissertacoes/dissertacao_ritter,_ana_rita_carboni.pdf>.

Acesso em: 23/06/2017.

SHINODA, Cinthia *et al.* *Produção de Linguiça Toscana e de Frango*. 2013. Disponível em: <http://www.ebah.com.br/content/ABAAAf_V0AH/relatorio-producao-linguica> acesso em 14/04/2017.

SILVA, Cleimar Vedoy da. *Características físicoquímicas e microbiológicas de linguiça frescal resfriada em diferentes embalagens plásticas*. 2010. Disponível em: <<https://www.univates.br/bdu/bitstream/10737/476/1/2010CleimarVedoydaSilva.pdf>> Acesso em 13/11/2020

SINDELAR, J. J., **CORDRAY**, J. C., **SEBRANEK**, J. G., **LOVE**, J. A., **AHN**, D. U. 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*, 72(6), p. S388–S395, 2007a.

SINDELAR, J. J., **CORDRAY**, J. C., **SEBRANEK**, J. G., **LOVE**, J. A., **AHN**, D. U. Effects of vegetable juice powder concentration and storage time on some chemical and sensory quality attributes of uncured, emulsified cooked Sausages. *Journal of Food Science*, 72(5), p.S324–S332, 2007b.

SOUSA, C. A., **JUNIOR**, M. A. L., **FERREIRA**, R. L. C. **Avaliação de testes estatísticos de comparações múltiplas de médias**. *Revista Ceres*, Vol. 59 n. 3 Viçosa. Maio/Junho de 2012.

TERNS, M. J., **MILKOWSKI**, A. L., **RANKIN**, S. A., **SINDELAR**, J. J. Determining the impact of varying levels of cherry powder and starter culture on quality and sensory attributes of indirectly cured, emulsified cooked sausages. *Meat Science*, 88, p.311–318, 2011.

VIEIRA, S. **Análise de Variância: (Anova)**. São Paulo:Atlas, 2006. 204 p.

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

WALPOLE, R. E., **MYERS**, R.H., **MYERS**, S. L., **YE**, K. **Probabilidade e Estatística para engenharia e ciências**. [Tradução Vianna, L. F. P.]. São Paulo: Pearson Prentice Hall, 2009.