

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS
DEPARTAMENTO DE TECNOLOGIA DE ALIMENTOS

***“Efeito do Lactato de Sódio na Vida de Prateleira
de Lingüiça Mista Frescal”***

PARECER

Este exemplar corresponde à redação final da tese defendida por **Juliani Hitomi Arimura Kitakawa**, aprovada pela Comissão Julgadora em 08 de Outubro de 2002.

Campinas, 08 de Outubro de 2002


Prof. Dr. Arnaldo Yoshiteru Kuaye
Presidente da Banca

Juliani Hitomi Arimura Kitakawa
Engenheira de Alimentos

Prof. Dr. Arnaldo Yoshiteru Kuaye
Orientador

Tese apresentada à Faculdade de Engenharia de alimentos da Universidade Estadual de Campinas como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Tecnologia de Alimentos.

Campinas / SP
2002

UNICAMP
BIBLIOTECA CENTRAL

UNIDADE ~~BE~~ BE
Nº CHAMADA T/UNICAMP
K646e
V EX
TOMBO BC/ 51534 BE 51534
PROC 16.837102
C DY
PREÇO R\$ 11,00
DATA 14/11/02
Nº CPD

T/FEA/2002:1825 7

CM00176477-0

BIB ID 294025

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA
BIBLIOTECA DA F.E.A. – UNICAMP

Kitakawa, Juliani Hitomi Arimura
K646e Efeito do lactato de sódio na vida de prateleira de lingüiça
mista frescal / Juliani Hitomi Arimura Kitakawa. – Campinas,
SP: [s.n.], 2002.

Orientador: Arnaldo Yoshiteru Kuaye
Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual de
Campinas.Faculdade de Engenharia de Alimentos.

1.Lactato de sódio. 2.Lingüiças. 3.Nitrito de sódio. I.Kuaye,
Arnaldo Yoshiteru. II.Universidade Estadual de Campinas.
Faculdade de Engenharia de Alimentos. III.Título.

BANCA EXAMINADORA



Prof. Dr. Arnaldo Yoshiteru Kuaye

Orientador



Prof. Dr. Pedro Eduardo de Felício

Membro



Dra. Maria Helena Castro Reis Passos

Membro

Prof. Dr. Mauro Faber de Freitas Leitão

Membro

Dedico este trabalho às pessoas mais importantes
da minha vida, presentes em todos
os momentos, com seu apoio incondicional...

Minha mãe, Feéco
Meu pai, Tadashi (*in memoriam*)
Minha filha querida Gabriela Lumi,
Meu marido Humberto
Minhas irmãs Satie e Satomi.

AGRADECIMENTOS

- Ao Professor Arnaldo, pela orientação, compreensão e apoio para o desenvolvimento deste trabalho;
- À Dirce, Raquel e D. Jacinta, pela amizade e colaboração no laboratório;
- Ao Humberto, pelo carinho e apoio em todos os momentos;
- Ao Professor Pedro Felício, pelas sugestões no decorrer de todo o trabalho;
- Às amigas Pricila, Suzana e Luciana, pela amizade e pelos momentos de descontração na Faculdade;
- Às companheiras de laboratório, Maria Helena, Ângela, Ana Lúcia, Patrícia e Isabela pela convivência agradável;
- À Mirella, pelo auxílio no desenvolvimento experimental;
- Aos técnicos do DTA José Roberto, Judite, Ana Maria, Alice e Ana Lourdes pela colaboração nos ensaios laboratoriais;
- Ao CNPq, pelo apoio financeiro ao trabalho;
- À Purac Sínteses, na pessoa do Sr. Haroldo, pelo fornecimento do lactato de sódio;
- À Ângela Pellegrino, pela revisão do “Abstract” e pelo incentivo profissional;
- À Patrícia, pela revisão ortográfica;
- À banca examinadora, pelas correções e coerentes sugestões apresentadas;
- A todas pessoas que colaboraram, de alguma forma, na realização deste projeto.

SUMÁRIO

RESUMO	XII
ABSTRACT	XIV
1 - INTRODUÇÃO	1
2 - REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	3
2.1 - ELABORAÇÃO DE PRODUTOS FRESCAIS	3
2.1.1 - Aspectos Microbiológicos de Lingüiças Frescas	5
2.2 - UTILIZAÇÃO DE NITRITOS E NITRATOS EM PRODUTOS CÁRNEOS ..	8
2.2.1 - Aspectos tecnológicos	8
2.2.2 - Implicações Toxicológicas da Ingestão de Nitrito	9
2.3 - PROPRIEDADES DO LACTATO DE SÓDIO	11
2.3.1 - Efeito do lactato de sódio nas características sensoriais e físico- químicas de produtos cárneos.	12
2.3.2 - Atividade antioxidante do lactato de sódio	14
2.3.3 - Efeito antimicrobiano do lactato de sódio	15
2.3.4 - Mecanismos de ação do lactato de sódio	18
2.3.4.1 - Diminuição do pH intracelular	18
2.3.4.2 - Atividade de água (Aa)	19
2.3.4.3 - Outros efeitos	20
2.3.5 - Combinação do Lactato de Sódio com Outros Ingredientes	22
3 - MATERIAL E MÉTODOS	25
3.1 - MATERIAL	26
3.1.1 - Matérias-primas	26
3.1.2 - Ingredientes	26
3.1.3 - Embalagem	26



3.1.4 - Equipamentos do Processamento	27
3.1.5. - Equipamentos e Instrumentos para Análises.....	27
3.1.6 - Reagentes químicos	28
3.1.7 - Meios de Cultura.....	29
3.2 - METODOLOGIA	30
3.2.1 - Parte 1 – Avaliação da Influência de Diferentes concentrações de Lactato de Sódio na Vida de Prateleira de Lingüiça Mista Frescal	30
3.2.1.1 - Processamento	30
3.2.1.2 - Análise Físico-Química	33
3.2.1.2.1 - Determinação de TBA (ácido 2-tiobarbitúrico)	33
3.2.1.2.2 - Determinação de pH	33
3.2.1.2.3 - Determinação de Atividade de água (Aa)	34
3.2.1.3 - Análise microbiológica	34
3.2.1.4 - Análise sensorial.....	34
3.2.1.5 - Análise estatística	35
3.2.2 - Parte 2 – Avaliação da Influência de Diferentes Concentrações de Nitrito de Sódio e sua Combinação com Lactato de Sódio nas Características de Lingüiça Mista Frescal.	36
3.2.2.1 - Processamento	36
3.2.2.2 - Análise Físico-Química	37
3.2.2.2.1 - Determinação de TBA (ácido 2-tiobarbitúrico)	37
3.2.2.2.2 - Determinação de pH	37
3.2.2.2.3 - Determinação de Atividade de água (Aa)	37
3.2.2.2.4 - Determinação de Nitrito	37
3.2.2.2.5 - Determinação de Cor Objetiva.....	38
3.2.2.3 - Análise Microbiológica	38

3.2.2.3.1 - Contagem total de microrganismos psicrotróficos	38
3.2.2.3.2 - Contagem de bactérias lácticas	39
3.2.2.4 - Análise sensorial	39
3.2.2.5 - Análise estatística	40
4 - RESULTADOS E DISCUSSÃO	41
4.1 - PARTE 1 – Avaliação da Influência de Diferentes concentrações de Lactato de Sódio na Vida de Prateleira de Lingüiça Mista Frescal	41
4.1.1 - Análises Físico-Químicas	41
4.1.1.1 - Determinação de TBA	41
4.1.1.2 - Determinação de pH.....	43
4.1.1.3 - Determinação de atividade de água (Aa).....	44
4.1.1.4 - Análise Microbiológica	45
4.1.1.5 - Avaliação Sensorial	47
4.2 - PARTE 2 - Avaliação da Influência de Diferentes Concentrações de Nitrito de Sódio e sua Combinação com Lactato de Sódio nas Características de Lingüiça Mista Frescal.	50
4.2.1 - Análises Físico-Químicas	50
4.2.1.1 - Determinação de TBA.....	50
4.2.1.2 - Determinação de pH.....	53
4.2.1.3 - Determinação de atividade de água (Aa).....	57
4.2.1.4 - Determinação de Nitrito	59
4.2.1.5 - Determinação de cor objetiva	61
4.2.2 - Análises Microbiológicas.....	65
4.2.3 - Análise Sensorial	71
5 - CONCLUSÕES	82
6 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	84

7 - ANEXOS.....	95
-----------------	----

LISTA DE TABELAS

<i>Tabela 1</i> - Produção brasileira de produtos cárneos em 1994.	4
<i>Tabela 2</i> - Composição das formulações de lingüiça mista frescal utilizadas na Parte 1.....	30
<i>Tabela 3</i> - Composição das formulações de lingüiça mista frescal utilizadas na Parte 2.....	36
<i>Tabela 4</i> - Conceitos obtidos na primeira avaliação sensorial (4º dia) de lingüiça mista frescal com diferentes teores de lactato de sódio....	48
<i>Tabela 5</i> - Conceitos obtidos na segunda avaliação sensorial (11º dia) de lingüiça mista frescal com diferentes teores de lactato de sódio ...	48
<i>Tabela 6</i> - Conceitos atribuídos na avaliação sensorial de diferentes formulações de lingüiça mista frescal no 1º dia após seu processamento – Processamento 1	73
<i>Tabela 7</i> - Conceitos atribuídos na avaliação sensorial de diferentes formulações de lingüiça mista frescal na 1ª semana (8º dia) após seu processamento – Processamento 1	74
<i>Tabela 8</i> - Conceitos atribuídos na avaliação sensorial de diferentes formulações de lingüiça mista frescal no 1º dia após seu processamento – Processamento 2	75
<i>Tabela 9</i> - Conceitos atribuídos na avaliação sensorial de diferentes formulações de lingüiça mista frescal 1ª semana (8º dia) após seu processamento – Processamento 2	76
<i>Tabela 10</i> - Efeito de diferentes níveis de nitrito de sódio e adição de lactato de sódio nos valores de TBA-RS em lingüiça mista frescal armazenada a 3°C – Processamento 1	101
<i>Tabela 11</i> - Efeito de diferentes níveis de nitrito de sódio e adição de lactato de sódio nos valores de TBA-RS em lingüiça mista frescal armazenada a 3°C – Processamento 2	102

<i>Tabela 12</i> - Efeito de diferentes níveis de nitrito de sódio e adição de lactato de sódio no pH em lingüiça mista frescal armazenada a 3°C – Processamento 1.	103
<i>Tabela 13</i> - Efeito de diferentes níveis de nitrito de sódio e adição de lactato de sódio no pH em lingüiça mista frescal armazenada a 3°C – Processamento 2.	104
<i>Tabela 14</i> - Efeito de diferentes níveis de nitrito de sódio e adição de lactato de sódio na atividade de água (Aa) em lingüiça mista frescal armazenada a 3°C – Processamento 1.	105
<i>Tabela 15</i> - Efeito de diferentes níveis de nitrito de sódio e adição de lactato de sódio na Atividade de Água (Aa) em lingüiça mista frescal armazenada a 3°C – Processamento 2.	106
<i>Tabela 16</i> - Variação no teor de nitrito residual em diferentes formulações de lingüiça mista frescal armazenada a 3°C – Processamento 1.	107
<i>Tabela 17</i> - Variação no teor de nitrito residual em diferentes formulações de lingüiça mista frescal armazenada a 3°C – Processamento 2.	107
<i>Tabela 18</i> - Efeito de diferentes níveis de nitrito de sódio e adição de lactato de sódio na contagem total de microrganismos psicotróficos em lingüiça mista frescal armazenada a 3°C – Processamento 1.	108
<i>Tabela 19</i> - Efeito de diferentes níveis de nitrito de sódio e adição de lactato de sódio na contagem total de microrganismos psicotróficos em lingüiça mista frescal armazenada a 3°C – Processamento 2.	109
<i>Tabela 20</i> - Efeito de diferentes níveis de nitrito de sódio e adição de lactato de sódio na contagem de bactérias lácticas em lingüiça mista frescal armazenada a 3°C – Processamento 1.	110
<i>Tabela 21</i> - Efeito de diferentes níveis de nitrito de sódio e adição de lactato de sódio na contagem de bactérias lácticas em lingüiça mista frescal armazenada a 3°C – Processamento 2.	111

LISTA DE FIGURAS

<i>Figura 1</i> - Fluxograma do processamento de lingüiça mista frescal	32
<i>Figura 2</i> - Valores de TBA-RS em lingüiça mista frescal formulada com diferentes concentrações de lactato de sódio (NaL) estocada a 5°C.....	41
<i>Figura 3</i> - Influência de diferentes concentrações de lactato de sódio (NaL) no pH de lingüiça mista frescal estocada a 5°C.....	43
<i>Figura 4</i> - Influência de diferentes concentrações de lactato de sódio (NaL) na atividade de água de lingüiça mista frescal estocada a 5°C.....	44
<i>Figura 5</i> - Influência de diferentes concentrações de lactato de sódio (NaL) na contagem total de microrganismos mesófilos em lingüiça mista frescal estocada a 5°C.....	45
<i>Figura 6</i> - Histograma de distribuição dos conceitos atribuídos à aceitação sensorial de lingüiça mista frescal com diferentes teores de lactato de sódio – 4º dia	47
<i>Figura 7</i> - Histograma de distribuição dos conceitos atribuídos à aceitação sensorial de lingüiça mista frescal com diferentes teores de lactato de sódio – 11º dia	49
<i>Figura 8</i> - Valores de TBA-RS em diferentes formulações de lingüiça mista frescal armazenadas a 3°C – Processamento 1	50
<i>Figura 9</i> - Valores de TBA-RS em diferentes formulações de lingüiça mista frescal armazenadas a 3°C – Processamento 2	51
<i>Figura 10</i> - Evolução do pH durante a vida de prateleira de diferentes formulações de lingüiça mista frescal armazenadas a 3°C – Processamento 1	54
<i>Figura 11</i> - Evolução do pH durante a vida de prateleira de diferentes formulações de lingüiça mista frescal armazenadas a 3°C – Processamento 2	55
<i>Figura 12</i> - Evolução da atividade de água (Aa) durante a vida de prateleira de diferentes formulações de lingüiça mista frescal armazenadas à 3°C – Processamento 1	57
<i>Figura 13</i> - Evolução da atividade de água (Aa) durante a vida de prateleira de diferentes formulações de lingüiça mista frescal armazenadas à 3°C – Processamento 2	58

<i>Figura 14</i> - Evolução da quantidade de nitrito durante a vida de prateleira de diferentes formulações de lingüiça mista frescal armazenadas a 3°C – Processamento 1	59
<i>Figura 15</i> - Evolução da quantidade de nitrito durante a vida de prateleira de diferentes formulações de lingüiça mista frescal armazenadas a 3°C – Processamento 2	60
<i>Figura 16</i> - Evolução dos parâmetros referentes à cor objetiva (L*a*b*) em diferentes formulações de lingüiça mista frescal armazenadas a 3°C – Processamento 1	63
<i>Figura 17</i> - Evolução dos parâmetros referentes à cor objetiva (L*a*b*) em diferentes formulações de lingüiça mista frescal armazenadas a 3°C – Processamento 2	64
<i>Figura 18</i> - Evolução da contagem total de microrganismos psicrotróficos durante a vida de prateleira de diferentes formulações de lingüiça mista frescal armazenadas a 3°C – Processamento 1	66
<i>Figura 19</i> - Evolução da contagem total de microrganismos psicrotróficos durante a vida de prateleira de diferentes formulações de lingüiça mista frescal armazenadas a 3°C – Processamento 2	67
<i>Figura 20</i> - Evolução da contagem de bactérias lácticas durante a vida de prateleira de diferentes formulações de lingüiça mista frescal armazenadas a 3°C – Processamento 1	68
<i>Figura 21</i> - Evolução da contagem de bactérias lácticas durante a vida de prateleira de diferentes formulações de lingüiça mista frescal armazenadas a 3°C – Processamento 2	69
<i>Figura 22</i> - Distribuição dos valores atribuídos a diferentes formulações de lingüiça mista frescal na avaliação sensorial realizada no 1° e 8° dia após o processamento, com relação ao atributo “TERMOS GLOBAIS”	77
<i>Figura 23</i> - Distribuição dos valores atribuídos a diferentes formulações de lingüiça mista frescal na avaliação sensorial realizada no 1° e 8° dia após o processamento, com relação ao atributo “SABOR”	78
<i>Figura 24</i> - Distribuição dos valores atribuídos a diferentes formulações de lingüiça mista frescal na avaliação sensorial realizada no 1° e 8° dia após o processamento, com relação ao atributo “TEXTURA”..	78
<i>Figura 25</i> - Distribuição dos valores atribuídos a diferentes formulações de lingüiça mista frescal na avaliação sensorial realizada no 1° e 8°	

dia após o processamento, com relação ao atributo "APARÊNCIA DO PRODUTO FRITO".	79
<i>Figura 26</i> - Distribuição dos valores atribuídos a diferentes formulações de lingüiça mista frescal na avaliação sensorial realizada no 1° e 8° dia após o processamento, com relação ao atributo "APARÊNCIA DO PRODUTO CRU"	81
<i>Figura 27</i> - Matérias primas moídas e pesadas: carne suína, carne bovina e toucinho suíno.	95
<i>Figura 28</i> - Misturador (KLEBER ENGINEERING) utilizado nas etapas de mistura e homogeneização.	95
<i>Figura 29</i> - Aspecto visual de lingüiças após 1 dia de processamento.	96
<i>Figura 30</i> - Aspecto visual de lingüiças após 20 dias de processamento	96

LISTA DE ANEXOS

ANEXO 1 – Ilustrações do Processamento	95
ANEXO 2 - Ficha de Avaliação Sensorial – Parte 1.....	97
ANEXO 3 – Ficha de Avaliação Sensorial – Parte 2.....	98
ANEXO 4 – Curva Padrão para Determinação de TBA-RS.....	99
ANEXO 5 – Curvas Padrão para Determinação de Nitrito.....	100
ANEXO 6 – Tabelas de Resultados Analíticos.	101

RESUMO

Neste trabalho, investigou-se a influência da utilização de lactato de sódio isoladamente, bem como em combinação com nitrito de sódio, na vida de prateleira de lingüiça mista frescal. Na primeira etapa do trabalho, cinco formulações compostas por carne suína, bovina e toucinho, adicionadas de 0, 0,6; 1,2; 1,8 ou 2,4% de lactato de sódio foram produzidas, embaladas aerobicamente e armazenadas a 5°C. Análises físico-química (TBA, pH, atividade de água), microbiológica (contagem total de microrganismos mesófilos) e sensorial (aceitação de consumidor) foram conduzidas no decorrer do seu armazenamento por 30 dias. A concentração de 1,2% de lactato de sódio mostrou-se mais adequada, mantendo níveis de oxidação (expressos em TBA-RS) inferiores às demais concentrações e crescimento microbiano muito similar às concentrações superiores (1,8 e 2,4%), não apresentando diferença significativa na aceitação sensorial ($p > 0,05$) do produto. Na segunda etapa, seis formulações de lingüiça mista frescal foram produzidas, variando-se o teor de nitrito de sódio (NaNO_2) empregado, com ou sem a adição de 1,2% de lactato de sódio (NaL): 0 ppm de NaNO_2 e 0% de NaL (F1), 200 ppm de NaNO_2 e 0% de NaL (F2), 400 ppm de NaNO_2 e 0% de NaL (F3), 0 ppm de NaNO_2 e 1,2% de NaL (F4), 200 ppm de NaNO_2 e 1,2% de NaL (F5), 400 ppm de NaNO_2 e 1,2% de NaL (F6). Foram realizados 2 processamentos, a partir de matéria-prima apresentando contagem total de microrganismos psicrotróficos inicial de $1,5 \times 10^5$ UFC/g (Processamento 1) e $1,5 \times 10^4$ UFC/g (Processamento 2). Os produtos foram acondicionados aerobicamente e estocados a 3°C por um período de até 35 dias, ao longo do qual foram realizadas as avaliações físico-químicas (oxidação lipídica, pH, atividade de água, cor instrumental), microbiológicas (bactérias psicrotróficas totais e bactérias lácticas) e sensoriais (sabor, textura, aparência e termos globais). Em geral, observou-se que a adição de 1,2% de lactato de sódio promoveu o retardamento do crescimento de bactérias psicrotróficas totais e lácticas em até 3 dias, a estabilidade do pH e a redução da atividade de água, quando comparada com as formulações sem lactato. Verificou-se que a ação antimicrobiana, tanto do nitrito

de sódio como do lactato de sódio foi mais pronunciada no Processamento 1, cuja matéria prima apresentava contagem inicial maior, aonde o aumento da concentração de nitrito de 200 para 400 ppm estendeu em 5 dias a vida de prateleira do produto e a adição de 1,2% de lactato de sódio à formulação contendo 200 ppm de nitrito de sódio 7 dias, considerando-se o valor de 10^6 UFC/g como indicativo de deterioração. Observou-se pequeno efeito do lactato de sódio sobre o retardamento da oxidação e uma maior contribuição do nitrito de sódio. Não foi observada a influência do lactato de sódio no teor residual de nitrito de sódio ao longo da vida de prateleira do produto. Os parâmetros de medida de cor instrumental L^* a^* b^* , tanto interna como externamente, também não apresentaram alterações significativas pela adição de lactato de sódio. Os resultados da análise sensorial não apontaram diferenças relevantes para as amostras tratadas com nitrito e lactato, independentemente das concentrações empregadas. Pôde-se, entretanto, verificar que amostras sem nitrito, apesar de apresentarem boa aceitação para sua aparência antes da fritura, foram menos aceitas pelos provadores para os demais atributos, evidenciando a tendência do consumidor em correlacionar o produto “lingüiça” com um produto curado, pelas características de cor e sabor proporcionadas pelo nitrito de sódio. Os resultados obtidos mostraram a viabilidade da redução de quantidades de nitrito de sódio no processo de fabricação de lingüiça mista frescal pela adição de 1,2% de lactato de sódio (2% da solução comercial a 60% v/v), sem detrimento das características organolépticas e melhoria da qualidade microbiológica e físico-química

ABSTRACT

Influence of sodium lactate concentration and its interaction with sodium nitrite in fresh sausage shelf life was investigated. In the first part of this work, 5 different formulas composed by lean pork, beef and pork backfat containing 0, 0,6, 1,2, 1,8 or 2,4% sodium lactate, were produced, aerobically packaged and stored at 5°C. Chemical analyses (TBA, pH, water activity), microbiological analyses (total count) e sensory characteristics evaluation (consumer acceptance) were performed during its storage for 30 days. 1,2% sodium lactate concentration presented better results, showing lower oxidation levels (expressed by TBA-RS), microbial growth similar to sodium lactate higher concentration (1,8 e 2,4%), and no significant difference ($p < 0,05$) in sensorial acceptance was detected in the product. In the second part of this study, 6 fresh sausage formulas were produced, using different levels of sodium nitrite (NaNO_2), with or without 1,2% sodium lactate (NaL) addition: 0 ppm of NaNO_2 and 0% of NaL (F1), 200 ppm NaNO_2 and 0% NaL (F2), 400 ppm NaNO_2 and 0% NaL (F3), 0 ppm NaNO_2 and 1,2% NaL (F4), 200 ppm NaNO_2 and 1,2% NaL (F5), 400 ppm NaNO_2 and 1,2% NaL (F6). Two processing were conducted: the first one using high initial total count ($1,5 \times 10^5$ CFU/g) and the second one, with low initial total count ($1,5 \times 10^4$ CFU/g). Sausages were aerobically packaged and stored at 3°C, for 35 days, being submitted to chemical analyses (TBA, pH, water activity and instrumental color), microbiological analyses (total psychrotrophic count and lactic acid bacteria and sensory evaluation (flavor, texture, aspect and global attribute). Addition of 1,2% sodium lactate delayed microbial growth, for psychrotrophic and lactic acid bacteria, extending the lag phase in 3 days, stabilized and reduced water activity, when compared with others formulas without sodium lactate. Microbiological growth was suppressed by both sodium nitrite and sodium lactate. This was more effective in the high initial total count processing (Processing 1), once the increase of sodium nitrite level from 200 ppm (F2) to 400 ppm (F3) extended for 5 days sausage spoilage. 1,2% sodium lactate added to 200 ppm formulation (F5) increased in 7

days the shelf life, considering maximum level of 10^6 UFC/g, as a spoilage indicator. A small antioxidant activity of sodium lactate was observed, but the main contribution to decrease of oxidation was due to sodium nitrite presence. No sodium lactate influence was detected in the residual sodium nitrite level during cured sausage shelf life. Sodium lactate had no effect on the Instrumental color parameters L^* a^* b^* of sausages, neither internally nor externally. Sensory evaluation results showed no difference on formulas composed of sodium nitrite and sodium lactate together, independent of nitrite or lactate level. On the other hand, uncured sausage, in despite of good acceptance of its appearance before cooking, it was less preferred by panelists on the remaining attributes, showing the consumer tendency to relate "sausage" to cured meat product, for its flavor and color characteristics, provided by nitrite. Our results showed that the reduction of the sodium nitrite level used in fresh sausage processing is possible, through the addition of 1,2% sodium lactate (2% commercial solution of 60% v/v), without loss of sensory characteristics and improving its microbial and chemical quality.

1- INTRODUÇÃO

É estimado que ocorram entre 24 e 81 milhões de casos de doenças transmitidas por alimentos a cada ano, em todo o mundo, e, aproximadamente, 50% dos casos estão associados com carnes, aves e seus derivados (Chung et al., 1989).

Alguns fatores têm contribuído para o aumento da incidência de doenças de origem alimentar, tais como: a produção de alimentos em grande escala, até mesmo em condições clandestinas, o transporte a grandes distâncias, a manutenção e manipulação inadequada nos pontos de venda, entre outros (Manhoso, 1996; Eiroa, 1977).

Os alimentos de origem animal, particularmente aqueles que passam por apreciável manuseio, apresentam condições propícias para a permanência e crescimento dos microrganismos, muitos dos quais capazes de provocar toxinfecções ao homem (Delazari, 1977).

Pesquisas apontam que, no Brasil, o produto cárneo processado de maior consumo é a lingüiça (Terra, 1998). Este e outros produtos cárneos semi processados, perecíveis, tradicionalmente distribuídos e estocados a temperatura de refrigeração, têm uma limitada vida útil. Os consumidores comumente observam características sensoriais como cor e odor quando avaliam a aceitabilidade e segurança desses produtos. A perda da cor de carne fresca, o desenvolvimento de odor e sabor indesejáveis, devido ao crescimento microbiano e a oxidação de lipídeos, causam a inaceitabilidade pelo consumidor.

A segurança alimentar de produtos cárneos não pode ser somente controlada pela redução do risco de contaminação, mas também pela inibição do crescimento de patógenos durante a manipulação e estocagem. Durante o desenvolvimento ou ajuste de um produto, ingredientes podem ser adicionados, a

fim de proporcionar uma “segurança intrínseca” ao produto, melhorando sua estabilidade microbiológica e sua segurança alimentar.

Em substituição a aditivos conservadores de toxicidade duvidosa ou cuja IDA (Ingestão Diária Aceitável) vem sendo atingida e até ultrapassada, como é o caso de nitratos e nitritos, tem-se buscado a utilização de novos ingredientes efetivos e seguros para a preservação de alimentos. Dentre estes ingredientes, o lactato de sódio, cuja ocorrência é natural em muitos alimentos, apresenta propriedades preservativas, umectante e de acentuação do sabor dos alimentos.

O lactato de sódio é um sal neutro, derivado do ácido láctico, componente natural do mecanismo de contração muscular, cuja ação antimicrobiana pode estar ligada à redução de atividade de água dos alimentos ou ao abaixamento do pH intracelular das bactérias.

Produtos cárneos frescos têm sua coloração vermelha protegida ou intensificada pelo lactato de sódio, entretanto nenhum trabalho realizado mostra seu efeito sobre a coloração rósea característica de produtos curados.

Neste contexto, o presente trabalho teve como objetivos:

- avaliar a efetividade do lactato de sódio no aumento de vida de prateleira de lingüiça mista fresca, através de parâmetros físico-químicos, sensoriais e microbiológicos;
- verificar a influência de diferentes teores de nitrito e sua combinação com lactato de sódio nas características físico-químicas, sensoriais e microbiológicas de lingüiça mista fresca.

2 - REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 - ELABORAÇÃO DE PRODUTOS FRESCAIS

Embutidos crus são elaborados a partir de carne de suínos e bovinos, e gordura suína, cruas e moídas grosseiramente, adicionadas de sal nitrito e/ou nitrato, especiarias e outros aditivos, embutidas em tripas animais ou artificiais, conforme o tipo em questão (Pardi et al., 1994; Galli, 1993).

Os produtos frescais, por definição, não são maturados ou dessecados sob qualquer forma e são lançados ao mercado na mesma forma em que são produzidos ou com os gomos envolvidos em material plástico sob vácuo. Os envoltórios plásticos e a conservação sob refrigeração prolongam o seu prazo de vida comercial (Pardi et al., 1994).

Entre a grande variedade de produtos embutidos crus, sobressaem as lingüiças, com composição variada quanto ao tipo de carne (suína ou bovina) e à proporção de gordura. Também varia a proporção de “grãos” de carne ou de gordura com miga mais ou menos intensa, tamanho dos cortes ou discos de moagem empregados, condimentos, calibre da tripa ou comprimento dos gomos. (Pardi et al., 1994; Galli, 1993).

No Brasil, o Anexo III da Instrução Normativa nº4, de 31/03/2000, do Ministério da Agricultura e Abastecimento (BRASIL, 2000), define lingüiça como sendo “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” . Sua classificação varia de acordo com a tecnologia de fabricação, tratando-se de um produto fresco, seco, curado e/ou maturado, cozido; e de acordo com a composição da matéria-prima e das técnicas de fabricação: lingüiça de carne bovina, lingüiça de carne suína, lingüiça de lombo suíno, lingüiça de lombo e pernil suíno, lingüiça de carne suína defumada, lingüiça calabresa, portuguesa, toscana,

paio, lingüiça mista, entre outros. São mais comuns no mercado brasileiro a lingüiça de carne de porco, lingüiça tipo calabresa, tipo toscana e a mista (Pardi et al., 1994).

Uma pesquisa realizada em 1994 aponta que a lingüiça é o produto cárneo mais consumido no Brasil, cuja produção chega a 250.000 toneladas anuais (*Tabela 1*).

As principais etapas envolvidas no processamento de lingüiça são: recebimento da matéria-prima; preparo e formulação; moagem; mistura das carnes com condimentos e aditivos até completa homogeneização; cura fria (descanso em ambiente refrigerado por 12 horas), para desenvolvimento do sabor e início do processo de cura; embutimento; embalagem (a granel ou a vácuo); expedição ou estocagem sob refrigeração (Canhos & Dias, 1983).

Tabela 1 - Produção brasileira de produtos cárneos em 1994.

Produto	Produção (t)
Lingüiça	250.000
Mortadela	170.000
Salsicha	150.000
Apresuntado	80.000
Presunto	75.000
Hambúrguer	60.000
Salame	30.000
Charque	120.000
Outros	65.000

Fonte: TERRA (1998).

Além do sal comum e nitrato e/ou nitrito, outros aditivos são empregados, tais como: antioxidantes (ácido ascórbico, ascorbatos), estabilizantes (polifosfatos), e mesmo antiemectantes como o fosfato tricálcico, além de outros condimentos como essências naturais ou especiarias (Pardi et al., 1994).

A vida de prateleira desses produtos varia de acordo com a qualidade microbiológica da matéria-prima empregada, condições de processamento e estocagem do produto e tipo e quantidade de conservantes adicionados na formulação.

Lopez et al. (1989), citados por Pardi et al.(1994), estabeleceram vida útil de 30 dias para lingüiças cruas e curadas, mantidas de 12 a 25°C e UR de 50 a 60%, abrigadas da luz. Em seu experimento, produtos estocados por até 45 dias apresentaram perda de peso entre 31,9 e 45,9%, perda de umidade de 9,4 a 14,4%, atribuídas à exsudação da gordura e aumento do índice de TBA de 0,2 para até 1,4 mg de malonaldeído/kg (entre 7 e 45 dias).

Toyohara (1989) avaliou a vida de prateleira de lingüiça suína tipo frescal crua e cozida e, com relação à contagem total de mesófilos e psicrófilos, as amostras apresentaram conservação satisfatória por até 12 e 30 dias de armazenamento ($4 \pm 2^\circ\text{C}$), respectivamente.

2.1.1 - Aspectos Microbiológicos de Lingüiças Frescais

As lingüiças tipo frescal são alimentos muito expostos à contaminação e representam um excelente meio para o desenvolvimento e multiplicação dos microrganismos, devido ao fato de serem produtos preparados com vários ingredientes (carnes, condimentos e temperos, tripas ou envoltórios, água), podendo cada um deles contribuir com sua própria carga microbiana para a população do produto final (Manhoso,1996; Delazari, 1977). Além disso, a limpeza inadequada de equipamentos e utensílios, a manipulação excessiva e, muitas vezes, imprópria dos processadores e o ar ambiente são fatores que contribuem para o aumento da carga microbiana desses produtos, cujos principais agentes deteriorantes são bactérias e leveduras. De modo geral, esses produtos podem sofrer 3 tipos de alterações (Delazari, 1977):

1. Limo: ocorre no exterior do envoltório, podendo ser observado nos primeiros estágios como discretas colônias de microrganismos que em estágios mais

avançados confluirão, formando uma camada de limo cinza-esbranquiçado. Desse material podem ser isolados *Lactobacillus* e *Streptococcus* e também *Micobacterium*.

2. Acidificação: como resultado do crescimento de *Lactobacillus*, *Streptococcus* e organismos correlatos, devido à utilização de açúcares pelos microrganismos com formação de ácidos.
3. Esverdeamento: espécies heterofermentativas de *Lactobacillus* e *Leuconostoc* produzem peróxidos que, agindo sobre o pigmento da carne curada, causam essa alteração na cor.

Delazari et al. (1977) estudaram a microflora dominante em lingüiças frescas e constataram a grande predominância de bactérias psicrotróficas, lácticas e *Pseudomonas*. Também detectaram altos níveis de microrganismos indicadores de práticas higiênico-sanitárias incorretas (coliformes fecais e coliformes totais). Paralelamente, estudaram o comportamento do *Staphylococcus aureus*, observando um efeito inibitório da microflora dominante sobre o desenvolvimento desse microrganismo, mesmo em amostras inoculadas, onde o patógeno não apresentou populações superiores a 10^5 células/g.

Em sua revisão sobre aspectos microbiológicos de lingüiças frescas no Brasil, Manhoso (1996) cita os microrganismos *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Clostridium perfringens* e microrganismos da família *Enterobacteriaceae*, como os gêneros *Escherichia*, *Enterobacter*, *Citrobacter*, *Klebsiella* e *Proteus*, como possíveis contaminantes desses produtos.

Vasconcelos & Iaria (1991) pesquisaram agentes etiológicos de toxinfecções alimentares oriundos de 60 amostras de lingüiças frescas comercializadas em feiras livres no município de São Paulo, e detectaram *S. aureus* em 86,7%, *B. cereus* em 10%, *C. perfringens* tipo A em 11,7% e *Salmonella* em 13,3% das amostras analisadas.

Hirooka et al. (1982) analisaram 85 amostras de lingüiças coletadas na cidade de Londrina (PR), e destas 93% e 73%, respectivamente, apresentaram contagens de mesófilos e psicrotróficos superiores a 3×10^6 UFC/g, e em 67% das amostras foram isoladas cepas de *S. aureus*.

Da mesma forma, Amaral et al. (1984) avaliaram 24 amostras de lingüiça fresca comercializadas em Jaboticabal (SP) e observaram que 58,3% apresentaram NMP de coliformes totais superiores a 1600/g, 45,8% apresentaram NMP de coliformes fecais acima de 100/g e, em 12,5% das amostras, foram isoladas cepas de *S. aureus*.

Rudge (1980) analisou 231 amostras de lingüiça fresca vendidas em Botucatu (SP) e verificou em 21,6% a presença de cepas de *S. aureus* e, em 7,8%, a presença de *C. perfringens*.

Moreno et al. (1979) examinaram 60 amostras de vários produtos cárneos embutidos, expostos à venda no município de São Paulo e, particularmente, das 15 amostras de lingüiça suína fresca avaliadas, isolaram *Escherichia coli* em 60%, *Aerobacter aerogenes* em 67,7% e *Salmonella* em 46,7%.

Falcão et al. (1983), citados por Vasconcelos & Iaria (1991), isolaram salmonelas em 3 (15%) de 20 amostras de lingüiça fresca analisadas, provenientes do comércio da cidade de Araraquara (SP).

Leitão (1979) analisou 68 amostras de lingüiça fresca de carne suína vendidas no comércio da cidade de Campinas (SP), e verificou que 16 amostras (23,5%) apresentavam bactérias do gênero *Salmonella*. Dentre as amostras contaminadas, em 10 (65,2%) constatou a presença da espécie *S. anatum*, em 1 (6,2%) observou a presença de *S. anatum* e *Salmonella* sp e em 5 (31%) detectou a contaminação por *S. anatum* e *S. derby*.

2.2 - UTILIZAÇÃO DE NITRITOS E NITRATOS EM PRODUTOS CÁRNEOS

2.2.1 - Aspectos Tecnológicos

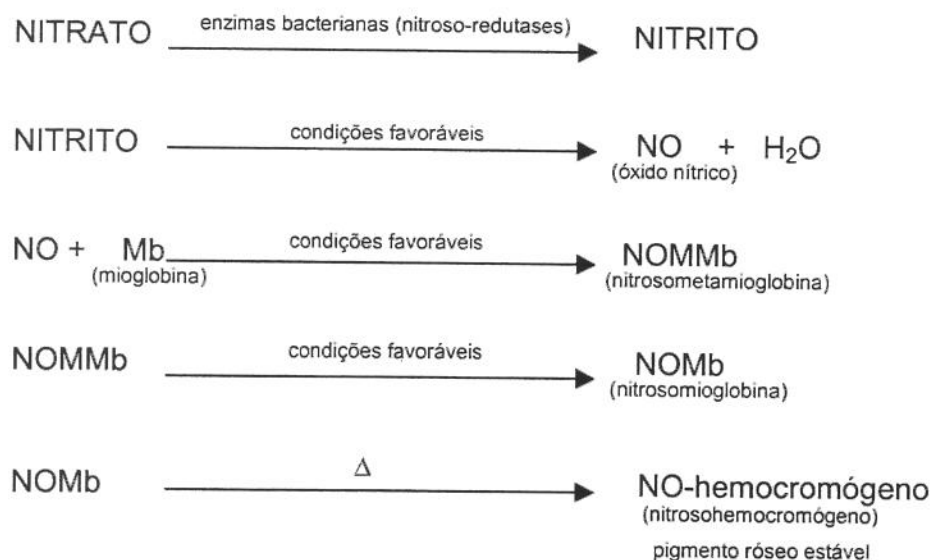
Nitritos e nitratos são compostos existentes naturalmente em alimentos, tais como espinafre, alface, beterraba, ou adicionados intencionalmente em produtos cárneos. Estima-se que aproximadamente 80% do nitrato ingerido pelo homem venha de vegetais, enquanto que aproximadamente 20% são provenientes de carnes curadas (Toyohara, 1989; Pedroso, 1993) .

As principais funções do nitrito em produtos cárneos curados são: 1) proporcionar e estabilizar a cor rósea da carne; 2) contribuir para características de sabor de carne curada; 3) inibir o crescimento de microrganismos deterioradores e patogênicos, incluindo a inibição do desenvolvimento de esporos do *Clostridium botulinum*; e 4) retardar o desenvolvimento da rancidez (Pearson & Gillett, 1996).

Quando se utiliza nitrato de sódio ou potássio, ele é inicialmente reduzido a nitrito por enzimas bacterianas (nitrato-redutases), provenientes de bactérias comumente presentes na carne ou sobre equipamentos (Pardi et al., 1994). A utilização direta de nitrito pode eliminar esta etapa; entretanto, alguns processadores preferem usar a combinação de nitrito e nitrato, para proporcionar uma fonte adicional de ácido nítrico durante todo o processo de cura e, conseqüentemente, maior segurança microbiológica para o produto (Pearson & Gillett, 1996).

Sob condições redutoras favoráveis (ácido presente na carne, ausência de luz e ar), o nitrito é desdobrado em óxido nítrico e água. O óxido nítrico reagindo com o pigmento férrico ou ferroso, sobretudo da mioglobina, forma tanto nitroso-mioglobina, de cor vermelha brilhante, como nitroso-metamioglobina, de cor pardacenta. Sob aquecimento térmico, porção protéica da mioglobina é desnaturada, resultando no pigmento nitroso-hemocromógeno, de cor rosa

brilhante estável, característica de carne curada cozida (Pardi et al. (1994) ; Pearson & Gillett, 1996). Resumidamente, podemos esquematizar estas etapas da seguinte forma:



Como a quantidade de mioglobina no músculo da carne é limitada, a adição excessiva de nitrito pode resultar no que se denomina “queimadura de nitrito”, caracterizada por enverdecimento da carne, devido à combinação com o oxigênio do pigmento curado (Pardi et al., 1994).

2.2.2 - Implicações Toxicológicas da Ingestão de Nitrito

No Brasil, o emprego de nitrito e nitrato de sódio em produtos cárneos frescos é permitido até o limite máximo de 0,015 e 0,030 g/100g, residual no produto final, respectivamente (Brasil, 1998). A Organização Mundial de Saúde (OMS) recomenda uma IDA (Ingestão Diária Aceitável) de 0-5 e 0-0,2 mg/kg de peso corpóreo para nitrato e nitrito, respectivamente. Com base nestes valores, a ingestão de nitrato por um indivíduo de 60 kg não deve ultrapassar 300 mg/dia, e a de nitrito 12 mg/dia (Pedroso, 1993).

Os principais efeitos tóxicos gerados pela ingestão de nitrato e nitrito são a metemoglobinemia, em neonatos e indivíduos com deficiência congênita de metemoglobina-redutase ou deficiência de glicose-6-fosfato desidrogenase (G6PD), e a formação "in-vivo" de compostos N-nitrosos, como nitrosaminas, as quais possuem propriedades carcinogênicas (Pedroso, 1993).

As nitrosaminas são produzidas a partir da reação do ácido nitroso (que é formado com a quebra do nitrito) com aminas secundárias (Pearson & Gillett, 1996).

A legislação brasileira, através da Portaria nº 1004, de 11 de dezembro de 1998, do Ministério da Saúde, estabelece o limite máximo de 0,03g/100g de alimento para nitrato de sódio ou potássio, e 0,015 g/100g de alimento para nitrito de sódio ou potássio (expresso em íon nitrito no alimento a ser consumido) em produtos cárneos frescos embutidos ou não (Brasil, 1999).

No Brasil, onde o nitrato e o nitrito são amplamente empregados no preparo de lingüiças e outros produtos curados, pouco se conhece sobre o teor residual dessas substâncias e da possível formação de nitrosaminas no produto consumido (Toyohara, 1989).

Toyohara (1989) determinou o teor residual de nitrito e nitrato em vários tipos de lingüiças comerciais, e os resultados indicaram que 3 e 31%, respectivamente, apresentaram teores residuais de nitrato e nitrito acima do limite permitido pela legislação vigente. Além disso, todas amostras de lingüiças comerciais estudadas apresentaram quantidades detectáveis de N-nitrosodimetilamina ($97,5 \pm 59,1 \mu\text{g/kg}$), e de N-nitrosopirrolidina ($43,1 \pm 37,9 \mu\text{g/kg}$). Também foi observado que a maioria dessas amostras apresentou N-nitrosomorfolina ($8,5 \pm 7,4 \mu\text{g/kg}$), em quantidades aproximadamente 10 vezes superiores às relatadas em outras literaturas.

Pardi et al. (1994) sugerem algumas alternativas quanto ao emprego do nitrito e/ou nitrato, em particular devido aos riscos das nitrosaminas: 1)

substituição pura e simples por outros conservadores, de fixação de cor e ação anti-botulínica eficazes; 2) associação a outros aditivos que permitam a redução do teor de nitrito como os ascorbatos e eritorbatos; 3) adoção de meios capazes de impedir a formação de nitrosaminas; 4) busca de meios que venham suprir o processo de ativação, inibindo a ação carcinogênica; 5) redução do limite máximo residual; 6) maior fiscalização para evitar a superdosagem.

2.3 - PROPRIEDADES DO LACTATO DE SÓDIO

O lactato de sódio é usado como umectante e acentuador de sabor em produtos cárneos e avícolas, e há uma crescente evidência das propriedades antimicrobianas deste sal (Shelef, 1994).

Comercialmente, o lactato de sódio, cuja fórmula molecular é $\text{CH}_3\text{CHOHCOONa}$, de peso molecular 112,07, é apresentado em solução aquosa 60%, com pH neutro (Shelef, 1994).

Inicialmente, no Brasil, o lactato de sódio foi permitido para sua utilização como umectante para balas, bombons, caramelos, chocolates, recheios e revestimentos para bombons e produtos de confeitaria, com limite máximo de 2,40g/100g ou 100mL, por meio da Resolução CNS/MS 04/88, de 24/11/88 (Brasil, 1988). Em 15 de janeiro de 1990, a Secretaria de Inspeção de Produto Animal, através da SIPA-AUP nº 235/90, autorizou o emprego de lactato de sódio como coadjuvante tecnológico na fabricação de produtos cárneos na proporção de 2% sobre o produto final (Brasil, 1990). Em 1995, a Secretaria da Vigilância Sanitária, pela Portaria nº 35/95, de 28/04/95, concedeu a permissão de uso do aditivo lactato de sódio com função "umectante (U.V)" em embutidos de carne, sem limite máximo de aplicação (Brasil, 1995). Finalmente, em 1998, através da Portaria SVS/ MS Nº 1004/98 (Brasil, 1999), o lactato de sódio (INS 325) foi regulamentado como "regulador de acidez" para produtos cárneos frescos embutidos ou não; produtos secos, curados e/ou maturados embutidos ou não;

produtos cozidos embutidos ou não; produtos salgados crus ou cozidos; conservas e semi-conservas de origem animal, sem limite máximo de aplicação (*"quantis satis"*).

Níveis de 2 a 3% de lactato podem ser aplicados em alimentos para proporcionar propriedades emulsificante e umectante, ou como agente de controle do pH, além de acentuar o sabor e aroma de produtos cárneos, aumentar a capacidade de retenção de água e rendimento na cocção. (Brewer et al., 1991; Papadopoulos et al., 1991a; Shelef, 1994).

Muitas pesquisas comprovam a efetividade do lactato de sódio na preservação de produtos cárneos através da melhoria nas propriedades sensoriais e físico-químicas e inibição de microrganismos deterioradores e patogênicos.

2.3.1 - Efeito do Lactato de Sódio nas Características Sensoriais e Físico-Químicas de Produtos Cárneos

A porcentagem do íon sódio do cloreto de sódio é de 40%, enquanto que a do lactato de sódio é 12,5%(O'Connor et al., 1993). Além da significativa redução em sódio adicionado em produtos processados com lactato de sódio, quando comparado ao cloreto de sódio, o lactato de sódio, segundo O'Connor et al. (1993), proporciona implementos tanto à vida de prateleira quanto ao sabor. O lactato de sódio aumenta a intensidade do sabor salgado dos alimentos, mas o sódio adicionado como lactato é menos perceptível como "salgado" que o adicionado como cloreto de sódio.

Papadopoulos et al. (1991b) reportaram que a adição de lactato de sódio em carne bovina embalada a vácuo realça o aroma de carne fresca, minimiza alterações no sabor durante a estocagem, além de proporcionar maior rendimento de cocção e coloração mais avermelhada, com menos áreas de superfície cinza.

Lamkey et al. (1991) observaram que salsichas de porco adicionadas de lactato de sódio apresentam redução na descoloração superficial e no desenvolvimento de odores indesejáveis.

A descoloração associada ao crescimento microbiano em um produto cárneo denominado "bratwurst", embalado a vácuo, submetido à cocção a 74°C, não foi observada com a adição de 2% de lactato de sódio (Ghorpade et al., 1992).

Segundo Brewer et al. (1991), a adição de 2 a 3% de lactato de sódio em lingüiça fresca de porco retarda o declínio do pH e o desenvolvimento de odores e sabor indesejáveis por 7 a 10 dias, à temperatura de 4°C. Entretanto, não apresenta efeito sobre os valores de medida de cor (CIE Lab) e oxidação (TBA), apesar de, aparentemente, proporcionar proteção à coloração vermelha quando adicionado a nível de 1%.

Walezicka et al. (1998) avaliaram as porcentagens dos pigmentos mioglobina, oximioglobina e metamioglobina em carne bovina moída e verificaram que o lactato de sódio tem influência positiva na estabilidade da cor vermelha, diminuindo as taxas de redução de mioglobina a metamioglobina, e o acúmulo de metamioglobina, responsável pelo escurecimento da carne.

A adição de lactato de sódio em lingüiça seca curada de calibre reduzido, denominada na Espanha de "Espetec" ou "Secallona", pode prevenir a acidificação do produto, um dos problemas que diminuem sua vida de prateleira, sem afetar suas características sensoriais, além de diminuir sua perda de peso durante o armazenamento (Gou et al., 1998).

Salsichas tipo "Frankfurter", com baixo teor de gordura, produzidas com óleo de oliva, adicionadas de 2% de lactato de sódio apresentam melhor intensidade de aroma, textura, coloração e propriedades sensoriais que o controle sem adição de lactato de sódio (Bloukas et al., 1997).

2.3.2 - Atividade Antioxidante do Lactato de Sódio

Devido às propriedades do lactato de sódio na preservação e acentuação do sabor e aroma em produtos cárneos e avícolas, tem-se sugerido que o lactato de sódio atua na inibição da oxidação de lipídeos (Nnanna et al., 1994).

Segundo Nnanna et al. (1994), o lactato de sódio inibe a oxidação em carne de porco durante 7 dias de estocagem a 0 e 5°C, atuando particularmente no controle de substâncias reativas do ácido tiobarbitúrico (TBA-RS). Entretanto, a inibição de peróxidos e dienos conjugados depende da concentração de lactato aplicada.

Calhoun et al. (1999) demonstraram que a adição de 3,3% de lactato de sódio retarda a oxidação lipídica em hambúrguer adicionado de 15% carne suína mecanicamente separada, a qual normalmente acelera as reações de oxidação e o crescimento microbiano, devido à elevada concentração de ferro e pigmento total.

O provável mecanismo da atividade antioxidante do lactato de sódio é explicado através da complexação Fe^{3+} -lactato ou da redução, pelo radical lactil, do Fe^{3+} a Fe^{2+} e subsequente quelação do Fe^{2+} por espécies carboxiladas (Nnanna et al., 1994).

2.3.3 - Efeito Antimicrobiano do Lactato de Sódio

As propriedades bacteriostáticas do ácido láctico têm sido demonstradas em diversos estudos na descontaminação de carcaças, através da eliminação de microrganismos e/ou controle do crescimento microbiano (Acuff et al., 1987; Anderson et al., 1987; Dickson, 1988; Prasai et al., 1992; Cutter & Siragusa, 1994; Siragusa, 1995; Smulders & Greer, 1998). Entretanto, Acuff et al. (1987) e Dixon et al. (1987) reportaram que a descontaminação de cortes cárneos embalados e refrigerados tinha pouco ou nenhum efeito na vida de prateleira. Além disso, concentrações acima de 1,25% de ácido láctico resultam em descoloração inaceitável da superfície e concentrações superiores a 2% proporcionam sabor desagradável (Woolthuis & Smulders, 1985; Mendonça et al., 1989; Kenney et al., 1995).

Recentemente, o lactato de sódio, um sal proveniente da neutralização do ácido láctico, foi aprovado como ingrediente alimentar seguro, mostrando eficácia no controle de microrganismos deterioradores e patogênicos, principalmente em produtos cárneos.

A adição de 1 a 3% de lactato de sódio em lingüiça de porco fresca, salsicha, carne bovina fresca ou cozida, carne de porco moída, hambúrguer bovino e lingüiça curada dessecada demonstrou proporcionar significativo aumento da vida de prateleira desses produtos (Papadopoulos et al., 1991a; Brewer et al., 1991; Lamkey et al., 1991; Brewer et al., 1995; Bloukas et al., 1997; Maca et al., 1997a; Shelef et al., 1997; Gou et al., 1998, Calhoun et al., 1999, Wang, 2000).

Em 1971, Angersbach (citado por Chen & Shelef, 1992) reportou que a adição de 0,3% de lactato de sódio inibiu crescimento de *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis* e *Bacillus circulans* em meio de crescimento.

Maas et al. (1989) demonstraram que o lactato de sódio, dependendo da concentração que é empregado, retarda a produção de toxina do *Clostridium botulinum*, em produtos de carne de peru embalados a vácuo.

Meng & Geniglorgis (1993) realizaram um estudo em carne de peru, utilizando uma combinação de 2% de cloreto de sódio e 2% de lactato de sódio. À temperatura de estocagem de 8°C, não havia produção de nenhuma toxina em 50 dias. Os autores concluíram que, em produtos em que a coloração rósea na carne não é requerida (como frango e peru), o nitrito pode ser substituído pelo lactato de sódio sem risco de crescimento ou produção de toxina do *Clostridium botulinum*.

Similarmente, Miller et al. (1993) desenvolveram um estudo comparativo da ação de diversos sais de ácidos orgânicos sobre a neurotoxina botulínica em produtos de peru não curados, embalados a vácuo. Em amostras não acrescidas de sais orgânicos, a neurotoxina botulínica era detectada após 2 dias de incubação a 28°C, enquanto que amostras contendo 2% de sal, desenvolveram a neurotoxina em 2, 2, 4, 5 e 5 dias para piruvato, citrato, lactato, acetato e propionato, respectivamente. Com adição de 6% de sal orgânico, a neurotoxina não era detectada até 7 dias, com o piruvato; 18 dias, com o citrato e acima de 18 dias, com os demais sais. A atividade antibotulínica dos sais orgânicos monocarboxílicos foi atribuída à sua constante de dissociação (pKa), com exceção de citrato para o qual foi sugerido diferente mecanismo de ação.

Embora Bacus (1988), citado por Shelef & Yang (1991) sugira que a inibição do crescimento microbiano pelo lactato seja afetado, sem consideração ao tipo de microrganismo, os dados publicados até o momento são insuficientes para concluir se o lactato é igualmente efetivo no controle de microrganismos deterioradores e patogênicos, ou se favorece o crescimento de certos microrganismos em detrimento de outros, causando alteração na flora (Shelef & Yang, 1991).

Em geral, bactérias Gram-positivas são mais sensíveis ao lactato de sódio que bactérias Gram-negativas. Já leveduras são mais resistentes, mesmo a

grandes quantidades de lactato de sódio (NaL >10%p/v) (Houtsma et al., 1993; Shelef & Addala, 1994).

Shelef & Potluri (1995) reportaram a maior sensibilidade da *Listeria monocytogenes* à presença de lactatos em salsicha de fígado de porco cozida, em relação a duas bactérias Gram-negativas, *Escherichia coli* O157:H7 e *Salmonella typhimurium*, apesar destas também serem afetadas.

Segundo Houtsma et al. (1993), cepas de *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes* e *Brochothrix thermosphacta*, capazes de crescer a 0°C e em presença de cloreto de sódio, são inibidas pelo lactato de sódio.

McMahon et al. (1999) verificaram que a destruição térmica dos patógenos *Yersinia enterocolitica* e *Listeria monocytogenes* a 55°C (temperatura branda de cocção) é melhorada com a adição de 2,4% de lactato de sódio.

A proliferação de alguns microrganismos patogênicos, como *Salmonella typhimurium*, *Listeria monocytogenes* e *Escherichia coli* O157:H7, pode ser controlada com a adição de 3 a 4% de lactato de sódio em carne bovina cozida (Miller & Acuff, 1994). Entretanto, para estes produtos, 3% de lactato de sódio parece ser o mais recomendado para se obter perspectivas de um alimento seguro e sensorialmente aceitável, pois níveis acima de 4% podem causar ligeira irritação na garganta e sabor residual de lactato de sódio. Os mesmos autores concluíram que o lactato de sódio não possui efeito inibitório significativo sobre o *Staphylococcus aureus*.

Muitos trabalhos confirmam a efetividade do lactato de sódio sobre a *Listeria monocytogenes* em produtos cárneos (Weaver & Shelef, 1993; Chen & Shelef, 1992; Miller & Acuff, 1994; Buncic et al., 1995; Lamers, 1996; Hu & Shelef, 1996) e avaliam a influência de fatores como a porcentagem de gordura presente, umidade e pH do produto, e o sinergismo com outros ingredientes não cárneos no desempenho deste sal contra a *Listeria monocytogenes*.

2.3.4 - Mecanismos de Ação do Lactato de Sódio

Estudos sobre a ação específica dos lactatos sobre células microbianas são limitados, mas ao menos 2 possíveis mecanismos têm sido propostos: (i) habilidade de ácidos lipofílicos fracos em atravessar a membrana celular em sua forma não dissociada, dissociar-se dentro da célula e acidificar o seu interior; (ii) habilidade específica do lactato de sódio em reduzir a atividade de água (Shelef, 1994).

2.3.4.1 - Diminuição do pH intracelular

O pH é um dos principais fatores que determinam a sobrevivência e o crescimento dos microrganismos durante o processamento, a estocagem e a distribuição dos alimentos. A importância da queda do pH durante o metabolismo post-mortem para a conservação da carne é bastante conhecida (Lawrie, 1974). Os microrganismos presentes são afetados tanto pela concentração de íons de hidrogênio livres (pH em si), quanto pela concentração de ácidos fracos não dissociados que, por sua vez, é afetada pelo pH (Xavier, 1997).

Moléculas de ácidos orgânicos lipofílicos são capazes de se difundir livremente através da membrana celular em sua forma protonada. Carregadores de energia ligada e o potencial da membrana podem também estar envolvidos na explicação desse mecanismo. Se o pH extracelular é menor que o pH intracelular, o ácido dissocia-se e libera prótons, que acidificam o citoplasma. A célula atua, geralmente, para manter um pH interno constante pela remoção de prótons, e assim, muita energia da célula é dispendida, fazendo com que a taxa de crescimento celular seja reduzida. A interferência com o gradiente dos prótons através da membrana causa distúrbios nas funções celulares, tais como no transporte de aminoácidos. Este mecanismo é justificado pela observação da maior atividade antimicrobiana a pH reduzido do que a valores próximos à neutralidade, e devido aos ácidos orgânicos (considerados não eletrólitos devido a

suas constantes de ionização relativamente baixas) serem inibidores mais efetivos que ácidos inorgânicos (Shelef, 1994).

Como a porcentagem de moléculas não dissociadas aumenta com o decréscimo do pH, uma vez que os valores de pKa dos ácidos orgânicos usados como conservadores em alimentos está entre 3 e 5, a contribuição do pH para a efetividade bacteriostática não pode ser ignorada (Papadopoulos et al., 1991a). A direta redução do pH do substrato, combinado com a depressão do pH interno celular pela ionização de moléculas de ácidos não dissociadas foi proposta por Beuchat & Golden (1989) como sendo o modo de ação dos ácidos orgânicos. Eles teorizaram que ácidos orgânicos atuam na interrupção do transporte de substrato, através da alteração da permeabilidade da membrana e pela inibição da oxidação do NaDH. Isso resultaria na eliminação de agentes reduzidos para sistemas de transporte de elétrons.

Similarmente Bacus (1988), citado por Papadopoulos et al. (1991a), postulou que o mecanismo bacteriostático do lactato de sódio ocorre através da inibição da retroalimentação pelo íon lactato e/ou pela habilidade do íon lactato em penetrar na membrana celular.

2.3.4.2 - Atividade de água

O efeito da redução da Aa no crescimento microbiano é caracterizado por estender a fase lag e diminuir a taxa de crescimento da fase logarítmica (Shelef & Yang, 1991).

Debevere (1989) observou que a Aa em patê de porco (50% de umidade) era reduzida de 0,959 a 0,945, com a adição de 2% de lactato e sugeriu que a inibição do crescimento microbiano era atribuída a este efeito.

Chen & Shelef (1992) avaliaram a relação entre Aa, a adição de lactato e o crescimento de *Listeria monocytogenes* em um sistema modelo de carne bovina cozida, contendo de 25 a 85% de umidade. Diferenças entre as Aa das amostras

tratadas com lactato e os controles em cada nível de umidade aumentavam quando a umidade decrescia. Em amostras com 85% de umidade (Aa 0,994) a diferença era de 0,003, enquanto que em produtos com 25% de umidade (Aa 0,932), esse valor era de 0,046. Entretanto, segundo os autores, essa redução na Aa não era suficiente para explicar a inibição do microrganismo pelo lactato de sódio, devido às seguintes razões: a) O conteúdo mais alto de umidade que apresentou efeitos de inibitórios com 4% de lactato era de 55%, correspondendo à Aa de 0,964. Em amostras sem lactato, estes efeitos ocorreram a 25% de umidade e $Aa < 0,932$, enquanto que o crescimento de *L. monocytogenes* ainda é evidente a 35% de umidade e Aa 0,964. b) O cloreto de sódio (NaCl) era mais efetivo na diminuição de Aa, quando comparado ao lactato de sódio, entretanto foi observada resistência da *L. monocytogenes* ao NaCl e habilidade do microrganismo em crescer em meios suplementados com altas concentrações deste sal.

Os mesmos autores demonstraram a atividade de lactatos contra *L. monocytogenes* em salsicha de fígado de porco (55% de umidade e 2% de cloreto de sódio). Observaram também o efeito dos lactatos na redução da Aa e novamente concluíram que este fenômeno não é suficiente para esclarecer o efeito inibitório dos lactatos contra esse microrganismo.

Houtsma et al. (1993) estudaram a resistência de diversos microrganismos patogênicos a diferentes concentrações de lactato de sódio e cloreto de sódio, e obtiveram que a mínima concentração inibitória (MCI) do lactato de sódio era sempre inferior à MCI do cloreto de sódio. Como 1 mol de cloreto de sódio causa a mesma redução na Aa que 1 mol de lactato de sódio, pode-se concluir que o lactato, mesmo a Aa superiores, é mais efetivo contra patógenos (Lamers, 1996).

2.3.4.3 - Outros efeitos

Outras explicações têm sido propostas para o efeito antimicrobiano do lactato de sódio.

Maas et al. (1989) sugeriram dois possíveis mecanismos para ação do lactato de sódio na inibição da produção da toxina do *Clostridium botulinum*: (i) a presença de altos níveis do íon lactato pode diminuir a reação de redução do piruvato a lactato até atingir o equilíbrio termodinâmico, dessa forma, inibindo o principal mecanismo do metabolismo de energia anaeróbica, que é essencial para o crescimento; (ii) no *Clostridium botulinum*, o refluxo de lactato da célula bacteriana pode estar associado à geração de ATP pelo próton transferido através da membrana celular, como demonstrado com o *Streptococcus faecalis* por Simpson et al. (1983), citado por Maas et al. (1989). Este mecanismo pode ser inibido com altos níveis de lactato extracelular.

O ácido láctico, como outros ácidos hidrocarboxílicos, é conhecido por suas propriedades quelantes e, apesar desses ácidos serem fracos em comparação com outros quelantes comumente usados em alimentos, como polifosfatos e EDTA, lactatos a concentração de 3% são 10 a 100 vezes mais eficientes que as mesmas concentrações dos mais potentes quelantes (Shelef & Potluri, 1995).

A formação de complexos com cátions polivalentes podem tornar o alimento deficiente em cátions necessários para o crescimento microbiano. A quelação de ferro em carne pode contribuir para a atividade do lactato sobre a *Listeria monocytogenes*. Isto é suposto pela observação de que o lactato estabiliza óleos e gorduras, provavelmente pela quelação de baixas quantias (traços) de ferro (Nnanna et al., 1994).

Segundo Shelef & Potluri (1995), a eficiência de 3% do lactato de sódio ou cálcio sobre a *Listeria monocytogenes*, em salsicha de fígado de porco, pode ser melhorada dependendo do tratamento térmico aplicado ao produto. Eles sugerem que a interação termo-induzida entre o lactato e um ou mais componentes do alimento aumenta o efeito inibitório pela quelação de nutrientes essenciais ou pela formação de um fator de inibição, ou por ambos.

Alguns fatores podem influenciar a efetividade do lactato contra microrganismos em produtos cárneos. A adição de concentrado protéico de soja

em lingüiça de porco fresca diminui a eficiência do lactato, tanto em relação ao crescimento microbiano quanto ao aumento de odores indesejáveis (Lamkey et al., 1991). O conteúdo de gordura presente no produto também afeta o desempenho do lactato. Em salsicha de fígado de porco, a atividade inibitória do lactato de sódio contra *Listeria monocytogenes* aumenta com o incremento na porcentagem de gordura, e é mais pronunciada a 4°C que a 10°C (Hu & Shelef, 1996). Shelef & Yang (1991) também demonstraram que a eficiência de 4% de lactato de sódio sobre o crescimento de *L. monocytogenes* é melhorada com a diminuição da temperatura de estocagem. Além disso, o microrganismo mostrou-se mais sensível ao lactato em carne bovina que em frango. Segundo Houtsma et al. (1996), os valores de mínima concentração inibitória (MCI) do lactato de sódio decresce a baixas temperaturas e a baixos valores de pH.

2.3.5 - Combinação do Lactato de Sódio com Outros Ingredientes

Brewer et al. (1995) avaliaram o efeito isolado e combinado do lactato de sódio e cloreto de sódio na contagem total de microrganismos aeróbios e na cor de carne de porco moída. A cor vermelha era melhor em carnes com baixa contagem inicial ($<10^3$ UFC/g), adicionadas de 3% de lactato de sódio e 0,5 a 2,0% de NaCl. Sem adição de NaCl, o crescimento microbiano era melhor controlado com 3% de lactato de sódio. A máxima inibição microbiológica era alcançada com a combinação de 2% de lactato de sódio e 1,5 a 2% de cloreto de sódio. Carnes com alta contagem inicial ($>10^5$ UFC/g) necessitavam de níveis de 2-3% de lactato de sódio e 2-3% de NaCl para inibição do crescimento microbiano, mas nestes níveis havia efeitos negativos na cor vermelha.

Segundo Sutton et al. (1997), a combinação do lactato de sódio com fosfato de sódio em lombo de porco "marinado" melhora a capacidade de retenção de água, tornando o produto mais suculento e com poucos defeitos nas

características sensoriais. O lactato de sódio pode aumentar o sabor alcalino do fosfato, mas também intensifica o sabor da carne.

As características sensoriais do lactato de sódio e do tripolifosfato de sódio (TPF) em um sistema modelo (gelatina 2%) foram avaliadas por Kim & Brewer (1996). Com o aumento nos níveis de lactato e TPF, observou-se que o sabor salgado aumentava. O sabor amargo era diminuído com adição de 1% de lactato de sódio e a alcalinidade aumentava com o incremento nos níveis de lactato. Tanto o sabor alcalino como o amargo não era afetado pelo aumento das concentrações de TPF.

Segundo Eckert et al. (1997), a adição de propionato de sódio em hambúrguer bovino formulado com lactato de sódio, armazenado aerobicamente, aumenta o efeito antimicrobiano e a suculência do produto e reduz a oxidação de lipídeos. A adição de 0,2% de propionato combinado a 3% de lactato proporciona efeitos antimicrobianos equivalentes a 4% de lactato de sódio.

Similarmente, Maca et al. (1997b) observaram que, em carne bovina cozida, embalada a vácuo, a adição de 3 ou 4% de lactato de sódio, sozinho ou combinado com 0,1 e 0,2% de propionato de sódio, aumenta a vida de prateleira do produto. A combinação de 3% de lactato e 0,2% de propionato tem efeito positivo no sabor da carne. A coloração do produto é melhorada com a adição de lactato sozinho ou combinado com 0,1% de propionato. A oxidação de lipídeos e a atividade de água são diminuídas pela adição de lactato com propionato, e o pH e o rendimento de cocção são aumentados com qualquer nível ou combinação dos ingredientes. Em 1999, Maca et al. estudaram o efeito da adição de lactato de sódio e temperaturas de estocagem na vida de prateleira desse mesmo produto, verificando que a adição de 4% de lactato de sódio retarda o crescimento microbiano até mesmo em temperaturas abusivas de armazenamento (16°C).

Buncic et al. (1995) avaliaram os efeitos individuais e combinados dos preservativos lactato de sódio (4%), sorbato de potássio (0,3%) e nisina (400UI/mL), na presença ou ausência de sais de cura, nitrito (125ppm) e

polifosfato (0,5%), em meio de cultura (BHI) à temperatura de refrigeração, sobre *Listeria monocytogenes*. O crescimento do microrganismo era prevenido pela adição de 4% de lactato sozinho ou em combinação com nitrito e/ou polifosfato, mas nenhum efeito bactericida era obtido durante 7 semanas de incubação. A ação combinada do lactato com sorbato era similar aos efeitos isolados desses ingredientes. A combinação do lactato com a nisina causou decréscimo de 2,2–2,4 ciclos logarítmicos no número de *Listeria monocytogenes* após 4 semanas de incubação, e a adição de polifosfato aumentava esse decréscimo para 4,2 ciclos em 20 dias. O crescimento do microrganismo era prevenido em meio com a adição conjunta de lactato, sorbato e nisina, sem sais de cura, mas o efeito dessa adição não era significativo. O efeito da combinação de lactato, sorbato e nisina era melhorado na presença de nitrito, com decréscimo de 3,7 ciclos logarítmicos em 37 dias, e era ainda mais acentuado com a adição de nitrito e 0,5% de polifosfato (decrécimo de 3,7 ciclos em 12 dias).

Combinações de 4% de lactato de sódio com 3% de cloreto de sódio ou 140 ppm de nitrito de potássio não melhoraram o efeito isolado do lactato sobre *L. monocytogenes* inoculada em carne bovina ou carne de frango moídas (Shelef & Yang, 1991).

Schlyter et al. (1993) avaliaram o efeito de 0,1, 0,3 e 0,5% de diacetato de sódio sozinho ou combinado com 30 ppm de nitrito, 2,5% de lactato de sódio e 5000 UI/mL de pediocina, sobre *L. monocytogenes* em pasta de peru embalada a vácuo e estocada a 4 ou 25°C. Na presença de nitrito e diacetato, não havia crescimento apreciável da bactéria comparado com o efeito isolado do diacetato. A atividade contra *L. monocytogenes* era potencializada nos tratamentos contendo lactato e 0,3% de diacetato a 25°C e lactato e 0,1% de diacetato a 4°C, comparado com tratamentos similares contendo lactato ou diacetato isolados.

A combinação de 2500 UA/g de bacteriocina lacticina 3147, produzida por *Lactococcus lactis* DPC 3147, com 2% de lactato de sódio em lingüiça suína fresca, preveniu o crescimento de *Clostridium perfringens*, além de retardar significativamente o crescimento de microrganismos mesófilos totais, mantendo a

contagem de $1,6 \log_{10}$ UFC/g após 2 semanas de armazenamento, enquanto que o controle apresentava em torno de $4 \log_{10}$ UFC/g (Scannell et al., 2000).

O efeito inibitório da associação do lactato de sódio com diacetato de sódio sobre *Listeria monocytogenes* e *Salmonella Enteritidis* em carne bovina também foi avaliado por Mbandi & Shelef (2000). A combinação de 2,5% de lactato de sódio com 0,2% de diacetato de sódio apresentou efeito bacteriostático sobre *L. monocytogenes* e bactericida sobre *Salmonella Enteritidis*, após 20 dias de armazenamento a 10°C, e foi considerada pelos autores como sendo uma alternativa viável para o aumento da segurança alimentar de produtos cárneos refrigerados e submetidos a temperaturas abusivas.

A combinação de diversas substâncias e/ ou diferentes tratamentos com o lactato e sódio tem sido objeto de estudo de outros autores (Banks et al., 1998; Garren et al., 1998; Phillips, 1999), para verificação de sua efetividade com relação a inibição microrganismos ou influência em características sensoriais ou físico-químicas de alimentos.

3 - MATERIAL E MÉTODOS

3.1 - MATERIAL

3.1.1 - Matérias-primas

Foram utilizados pernil e paleta suína desossados, acém bovino e toucinho suíno, adquiridos no comércio local, limpos e moidos no Laboratório de Carnes do Departamento de Tecnologia de Alimentos da Faculdade de Engenharia de Alimentos da UNICAMP.

Como envoltório, utilizou-se tripa natural de carneiro, também adquirida no mercado varejista de Campinas.

3.1.2 - Ingredientes

- Lactato de sódio, solução 60% v/v, comercialmente denominado PURASAL[®], fornecido pela PURAC Sínteses S.A.;
- Sal (NaCl);
- Condimento pronto para lingüiça, composto por sal refinado, especiarias naturais e aromas naturais reforçados, produzido pela KIENAST & KRATSCHER Ltda;
- Sal de cura KURAGEL[®], composto por sal refinado (cloreto de sódio) e nitrito de sódio, da KIENAST & KRATSCHER Ltda;
- Acelerador de cura FIXAGEL[®], composto por sacarose e antioxidantes isoascorbato, ácido isoascórbico e ácido cítrico, da KIENAST & KRATSCHER Ltda (este ingrediente foi somente utilizado na primeira parte do experimento, descrito em 3.2.1).

3.1.3 - Embalagem

- Sacos plásticos de PEBD (Polietileno de Baixa Densidade);

3.1.4 - Equipamentos do Processamento

- Facas para corte;
- Moedor, FILIZOLA;
- Misturadeira, KLEBER ENGINEERING;
- Embutideira manual, HERMAN S.A.;
- Câmara B.O.D, mod. 347F, FANEM;
- Balança digital, SEMRO HOBART.

3.1.5 - Equipamentos e Instrumentos para Análises

- Agitador de tubos, mod. 251, FANEM;
- Aparelho para medida de atividade de água AQUALAB CX-2;
- Autoclave horizontal estática, mod. 39206, 18 kg vapor/h, LUTZ FERRANDO;
- Autoclave vertical estática, mod. 39211, 3,75 kg vapor/h, LUTZ FERRANDO;
- Balança analítica, mod. AB 204, METLER TOLEDO;
- Balança semi-analítica, mod. B400, MICRONAL;
- Banhos de água termostáticos;
- Cabine de fluxo laminar VECO;
- Colorímetro, mod. CR300, MINOLTA;
- Contador de colônias CP600, PHOENIX;
- Destilador de nitrogênio mod. TE 036, TECNAL;
- Embutideira manual;

- Espectrofotômetro Spectronic 20, MILTON ROY COMPANY;
- Estufa de cultura, mod. 002CB, FANEM;
- Estufa incubadora B.O.D., mod. 346F, FANEM;
- Estufa para secagem e esterilização, mod. 315se, FANEM;
- Forno de Microondas, BRASTEMP;
- Freezer horizontal doméstico, mod. Quality 270, BRASTEMP;
- Homogeneizador de pistões Stomacher 400, LAB BLENDER;
- Mantas de aquecimento;
- Potenciômetro B374, MICRONAL.

3.1.6 - Reagentes químicos

- α -Naftol, marca Vetec;
- Acetato de zinco dihidratado ($\text{Zn}(\text{CH}_3\text{COO})_2$), marca Ecibra;
- Ácido 2-tiobarbitúrico (TBA), marca Merck;
- Ácido acético glacial, marca Merck;
- Ácido clorídrico (HCl) marca Merck;
- Ácido sulfanílico, marca Sigma;
- Ferrocianeto de potássio trihidratado ($\text{K}_4\text{Fe}(\text{CN})_6 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$), marca Ecibra;
- Hidróxido de Amônio (NH_4OH), marca Ecibra;
- Nitrito de Sódio p.a., marca Merck;

- Silicone anti-espumante, marca Merck;
- Solução de Butilato de Hidroxitolueno (BHT), marca Merck;
- Solução padrão 1,1',3,3'Tetraetoxipropano (TEP), marca Merck;
- Tetraborato de sódio decahidratado ($\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$), marca Artlab.

3.1.7 - Meios de Cultura

- Ágar padrão para contagem (PCA), marca Difco;
- Água peptonada 0,1%, marca Merck, .preparada com 25,5g por litro de água destilada;
- Ágar APT, marca Difco, para determinação de bactérias lácticas.

3.2 - METODOLOGIA

3.2.1 - Parte 1 – Avaliação da Influência de Diferentes Concentrações de Lactato de Sódio na Vida de Prateleira de Lingüiça Mista Frescal

3.2.1.1 - Processamento

Foram processadas cinco formulações de lingüiça mista frescal, as quais se diferenciaram no teor de lactato de sódio adicionado: 0, 0,6, 1,2, 1,8 e 2,4%, ou seja, 0, 1, 2, 3 e 4% da solução NaL 60%v/v, calculado sobre o total de matéria-prima cárnea (carne suína, carne bovina e toucinho). A *Tabela 2* apresenta a composição das formulações utilizadas.

Tabela 2 - Composição das formulações de lingüiça mista fresca utilizadas na Parte 1

Ingrediente	Formulações^a				
	0,0 %	0,6 %	1,2 %	1,8 %	2,4 %
carne suína (g)	3.000,0	3.000,0	3.000,0	3.000,0	3.000,0
carne bovina (g)	2.000,0	2.000,0	2.000,0	2.000,0	2.000,0
toucinho (g)	1.800,0	1.800,0	1.800,0	1.800,0	1.800,0
sal de cura (g)	34,0	34,0	34,0	34,0	34,0
condimentos (g)	68,0	68,0	68,0	68,0	68,0
sal (g)	75,0	75,0	75,0	75,0	75,0
acelerador de cura (g)	68,0	68,0	68,0	68,0	68,0
sol. lactato de sódio (g)	0,0	68,0	136,0	204,0	272,0
água (g)	340,0	312,8	285,6	258,4	231,2

A: refere-se ao teor de lactato de sódio adicionado, calculado sobre o total de matéria-prima cárnea (carne suína, carne bovina e toucinho).

As principais etapas do processamento dos produtos estão esquematizadas na *Figura 1*.

Inicialmente, os ingredientes das 5 formulações (condimentos, sais de cura, água, aceleradores e lactato) foram pesados e reservados. Após a retirada dos

tecidos conectivos e do excesso de gordura, as carnes limpas foram cortadas em pedaços menores e, posteriormente, moídas. Para moagem da carne suína e toucinho foi utilizada matriz com aberturas de 7 mm, e para a carne bovina, matriz com aberturas de 3 mm. As carnes foram pesadas na proporção adequada e, a seguir, homogeneizadas em misturador.

Os condimentos, sal de cura e sal foram adicionados diluídos em água, e incorporados através de mistura por 2 minutos. A seguir, adicionaram-se os aceleradores de cura, e por último, o lactato de sódio, homogeneizando-se por mais 1 minuto.

A massa obtida foi mantida em repouso por 12 horas sob refrigeração (5°C), para início da cura e melhor distribuição do sal e condimentos.

Após este período, o produto foi embutido em tripas de carneiro, previamente imersas em solução de ácido acético 2%, para hidratação e descontaminação.

O produto embutido foi, então, acondicionado em sacos plásticos e armazenado a 5°C para subseqüentes análises físico-químicas, microbiológicas e sensoriais.

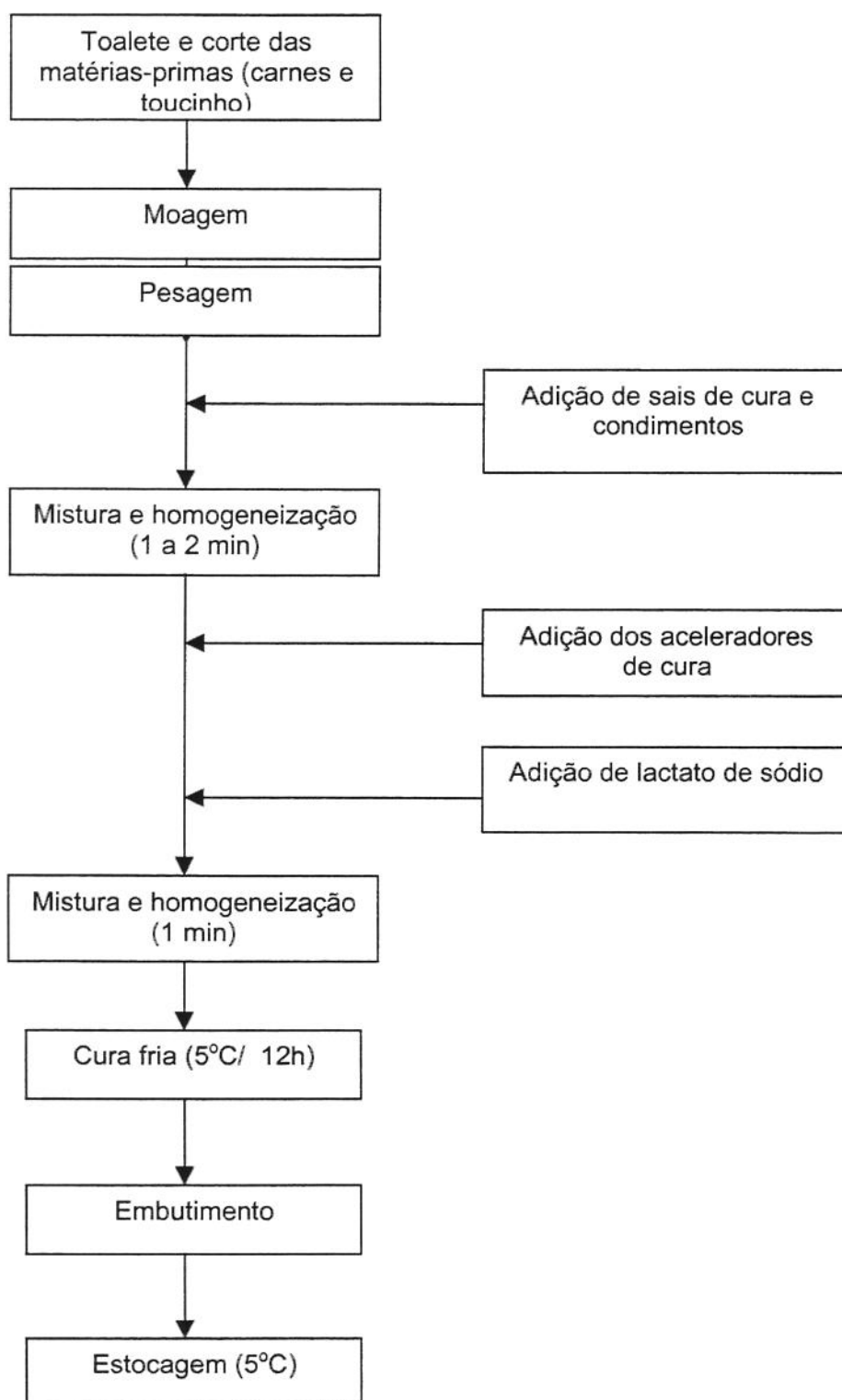


Figura 1 - Fluxograma do processamento de lingüiça mista fresca

3.2.1.2 - Análise Físico-Química

3.2.1.2.1 - Determinação de TBA (ácido 2-tiobarbitúrico)

Para avaliação do nível de oxidação das amostras no decorrer de seu armazenamento, foi determinado, semanalmente, o número de substâncias reativas ao ácido 2-tiobarbitúrico (TBA-RS), como descrito por Tarladgis et al. (1960). Produtos primários de oxidação lipídica constituem-se principalmente de hidroperóxidos, os quais são rapidamente decompostos em várias substâncias reativas ao ácido 2-tiobarbitúrico, particularmente carbonilas, sendo o malonaldeído o mais importante. O produto da reação destas substâncias com o TBA é colorido e absorve fortemente a 532nm. O padrão utilizado nesta reação foi o 1,1',3,3'-Tetraetoxipropano (TEP), cuja hidrólise ácida gera malonaldeído, na proporção de 1 mol : 1 mol. Os resultados foram expressos em mg de malonaldeído/ 1000g de amostra. As determinações foram realizadas em triplicata, nos dias 2, 8, 16 e 25 após o processamento.

A curva padrão para determinação da quantidade de malonaldeído a partir da absorbância, em lingüiça mista frescal, encontra-se no *ANEXO 4*.

3.2.1.2.2 - Determinação de pH

Porções de 4 a 5 gomos de lingüiça, contendo aproximadamente 150g de produto, foram retiradas aleatoriamente e homogeneizadas em homogeneizador de pistão por 1 minuto e utilizadas para determinações de pH, Aa e contagem microbiológica.

Para determinação de pH, 10g de amostras foram homogeneizadas em 90 mL de água deionizada por 2 minutos em homogeneizador de pistão, e o valor do pH foi determinado em potenciômetro digital, previamente padronizado a pH 4 e 7 (Sebranek, citado por Schoeni et al., 1991). As determinações foram realizadas em triplicata, nos dias 1, 7, 10, 15, 20, 25 e 30 de processamento.

3.2.1.2.3 - Determinação de atividade de água (Aa)

A Aa foi determinada em higrômetro elétrico (Aqualab, Decagon), calibrado para $20,0 \pm 0,3^{\circ}\text{C}$, com a inserção direta das amostras em cápsulas apropriadas ao equipamento. Esta medida também foi realizada em triplicata, com a mesma frequência utilizada na determinação de pH.

3.2.1.3 - Análise microbiológica

A contagem total de microrganismos mesófilos foi determinada na matéria-prima logo após a moagem e mistura das carnes, e nos produtos finais nos dias 1, 3, 5, 10, 15, 20, 25 e 30 de processamento. Aliquotas de 25g do produto foram retiradas do homogeneizado obtido como descrito em 3.2.1.2.2, adicionadas de 225 mL de água peptonada 0,1% estéril e homogeneizadas em homogeneizador de pistão (Stomacher 400) por 2 minutos. Diluições seriadas subsequentes foram também preparadas com água peptonada 0,1% estéril. A seguir 1mL de cada diluição, em duplicata, foi plaqueado em ágar padrão para contagem, por plaqueamento "pour plate", conforme descrito pela American Public Health Association (1992). As placas foram incubadas por 48h a 35°C , para posterior leitura. A contagem total por placa foi expressa em logaritmo de unidades formadoras de colônia por grama de produto (log UFC/g).

3.2.1.4 - Análise sensorial

Foram realizados dois testes de aceitação de consumidor, na 1ª semana e 2ª semana após o processamento (4º e 11º dia, respectivamente), para avaliar se a adição de lactato de sódio poderia afetar sensorialmente o produto. As amostras foram fritas em recipiente de aço inox provido de tampa, com cerca de 50mL de óleo de soja. Durante o início da fritura, adicionou-se 100 mL de água para cada 7 gomos de lingüiça, aproximadamente, para garantir o cozimento homogêneo do

produto, o qual permanecia sob aquecimento até a completa evaporação da água e a obtenção da cor característica de lingüiça frita. Este procedimento baseou-se no método utilizado pelo CTC/ITAL, descrito por Barreto (1995). As amostras foram cortadas em cerca de 3 cm e mantidas em caixa isotérmica até serem servidas.

Para a degustação, as amostras foram codificadas, com códigos de 3 dígitos, e servidas em posição aleatória diferente para cada provador. Quarenta provadores não treinados avaliaram cada amostra usando uma escala hedônica estruturada variando de 1=desgostei extremamente, 5=não gostei nem desgostei, a 9=gostei extremamente. Além disso, na ficha de avaliação (ANEXO 2), o provador podia descrever o que mais e menos gostou em cada amostra.

Para limpar o paladar entre a degustação das diferentes amostras, foram utilizados biscoitos “cream cracker” e água filtrada.

A formulação controle (sem lactato) foi congelada (-18°C) para sua utilização na segunda avaliação (11 dias após o processamento), servindo como padrão de comparação dos resultados.

3.2.1.5 - Análise estatística

Os resultados das análises químicas, físicas e sensoriais foram submetidos à análise de variância. Aplicou-se o teste de Tukey para comparação entre as médias dos resultados a nível de significância de 5%.

3.2.2 - Parte 2 – Avaliação da Influência de Diferentes Concentrações de Nitrito de Sódio e sua Combinação com Lactato de Sódio nas Características de Lingüiça Mista Frescal

3.2.2.1 - Processamento

Nesta parte do estudo foram processadas 6 diferentes formulações, variando-se o teor de nitrito de sódio (0, 200 e 400ppm), com ou sem adição de 1,2% de lactato de sódio (2% da solução de lactato de sódio 60% v/v). Esta concentração foi adotada devido aos resultados obtidos na Parte 1 (item 4.1 deste trabalho).

A Tabela 3 apresenta as composições das formulações utilizadas neste experimento.

Tabela 3 - Composição das formulações de lingüiça mista frescal utilizadas na Parte 2.

Ingrediente	Formulações^a					
	F1	F2	F3	F4	F5	F6
carne suína (g)	3.000,0	3.000,0	3.000,0	3.000,0	3.000,0	3.000,0
carne bovina (g)	2.000,0	2.000,0	2.000,0	2.000,0	2.000,0	2.000,0
toucinho (g)	1.800,0	1.800,0	1.800,0	1.800,0	1.800,0	1.800,0
sal de cura (g)	0,0	34,0	68,0	0,0	34,0	68,0
condimentos (g)	68,0	68,0	68,0	68,0	68,0	68,0
sal (g)	109,0	75,0	41,0	109,0	75,0	41,0
sol. lactato de sódio (g)	0,0	0,0	0,0	136,0	136,0	136,0
água	340,0	340,0	340,0	285,6	285,6	285,6

- a (nomenclatura empregada):
 F1: 0 ppm de nitrito de sódio / 0% de lactato de sódio
 F2: 200 ppm de nitrito de sódio / 0% de lactato de sódio
 F3: 400 ppm de nitrito de sódio / 0% de lactato de sódio
 F4: 0 ppm de nitrito de sódio / 1,2% de lactato de sódio
 F5: 200 ppm de nitrito de sódio / 1,2% de lactato de sódio
 F6: 400 ppm de nitrito de sódio / 1,2% de lactato de sódio

O processamento seguiu as mesmas etapas descritas em 3.2.1.1 e esquematizado na *Figura 1*, com exceção da adição dos aceleradores de cura,

que não foi realizada nesta etapa, e a temperatura de estocagem utilizada, que foi de 3°C.

Os produtos foram embalados aerobicamente em sacos plásticos de polietileno.

3.2.2.2 - Análise físico-química

Todas as determinações físico-químicas foram realizadas semanalmente, com exceção das determinações de pH e Aa, que foram realizadas no mesmo dia da análise microbiológica, por viabilidade de sua execução e adequação ao estudo dos resultados.

3.2.2.2.1 - Determinação de TBA (ácido 2-tiobarbitúrico)

Realizado como descrito em 3.2.1.2.1.

3.2.2.2.2 - Determinação de pH

Realizado como descrito em 3.2.1.2.2. As determinações foram realizadas nos dias 1, 4, 7, 11, 14, 21, 28 e 35 de processamento.

3.2.2.2.3 - Determinação de atividade de água (Aa)

Realizado como descrito em 3.2.1.2.3. As determinações foram realizadas nos dias 1, 4, 7, 11, 14, 21, 28 e 35 de processamento.

3.2.2.2.4 - Determinação de nitrito

A determinação de nitrito de sódio no sal de cura utilizado foi realizada de acordo como Lara & Takahashi (1974), por espectrofotometria, utilizando-se leitura de 355 nm. Pelo mesmo método também é possível a determinação do teor de

nitratos através do valor de leitura a 302 nm , subtraído do resultado à absorbância a 355 nm dividido por 2,5.

A quantidade de nitrito residual presente nas amostras foi determinada segundo Lara et al. (1978).

As curvas padrão utilizadas para o cálculo da concentração de nitrito em sal de cura e em lingüiça encontram-se no ANEXO 5.

As determinações foram realizadas em duplicata, nos dias 2, 9, 15, 22 e 29 após o processamento.

3.2.2.2.5 - Determinação de cor objetiva

Na determinação instrumental de cor, utilizou-se o espectrocolorímetro ColorQUEST Sphere (STDZMode: RSIN), ajustado para leitura no sistema CIELab, iluminante D65 e ângulo do observador de 10° (Bloukas et al., 1997). A cor externa do produto foi determinada tomando-se leituras em 3 pontos diferentes em 3 gomos de lingüiça, totalizando-se 9 leituras para cada amostra. Através de um corte transversal, retirou-se o conteúdo interno do produto, o qual foi acondicionado em discos plásticos padronizados de 4cm de diâmetro, e procedeu-se a leitura em triplicata da coloração interna das amostras. Dessa forma, obtiveram-se os parâmetros L, a e b referentes a Luminosidade, intensidade da cor vermelha e intensidade da cor amarela, respectivamente. As determinações foram realizadas nos dias 2, 9, 16 e 23 de processamento.

3.2.2.3 - Análise microbiológica

3.2.2.3.1 - Contagem total de microrganismos psicrotróficos

Foi determinada como descrito em 3.2.1.3, com incubação a 20°C durante 72 horas. As determinações foram realizadas nos dias 1, 4, 7, 11, 14, 21, 28 e 35 de processamento.

Uma porção de matéria-prima (mistura de carne suína, carne bovina e toucinho na proporção de 1,5 :1,0 :0,9) era retirada após a moagem, homogeneizada em saco plástico estéril e analisada, para a determinação da sua contagem inicial de microrganismos psicrotróficos.

3.2.2.3.2 - Contagem de bactérias lácticas

Das diluições seriadas obtidas como descrito em 3.2.1.3, tomou-se 1mL de cada diluição e procedeu-se o plaqueamento, empregando-se a técnica “pour plate” em ágar APT (Silva et al., 1997). As placas foram incubadas em microaerofilia a 20°C por 72 horas. A frequência das determinações foi a mesma da realizada para a contagem total (item 3.2.2.3.1)

3.2.2.4 - Análise sensorial

As amostras foram submetidas a testes de aceitação de consumidor na 1ª e 2ª semana (3º e 10º dia, respectivamente), para avaliar a preferência do consumidor com relação ao sabor, textura, termos globais e aparência do produto cru e frito (Stone & Sidel, 1985).

O produto foi frito em recipiente de aço inox provido de tampa, com cerca de 50mL de óleo de soja. No início da fritura, foi adicionado 100 mL de água para cada 7 gomos de lingüiça, aproximadamente, para se garantir o cozimento homogêneo do produto, o qual permaneceu sob aquecimento até a completa evaporação da água e a obtenção da cor característica de lingüiça frita. Este procedimento baseou-se no método utilizado pelo CTC/ITAL, descrito por Barreto (1995). As amostras foram cortadas em cerca de 3 cm e mantidas em caixa isotérmica até serem servidas.

Na avaliação da primeira semana, a análise foi realizada em dois blocos, utilizando-se os mesmos provadores, sendo um bloco realizado no período da manhã e outro à tarde, em cada qual eram avaliadas 3 amostras. A realização da análise sensorial em blocos foi devida ao elevado número de formulações (6 no total), o que poderia causar saturação por parte do provador. Na segunda

semana, foram descartadas as amostras das formulações sem nitrito, devido ao risco de término de sua validade, e dessa forma foi possível a realização da análise sensorial em um só bloco, avaliando-se 4 amostras na degustação e as 6 amostras somente na avaliação visual.

Para a degustação, as amostras foram codificadas, com códigos de 3 dígitos, e servidas em posição aleatória. Os provadores avaliaram cada amostra, segundo os parâmetros termos globais, sabor, textura, aparência do produto cru e aparência do produto frito, utilizando-se escala hedônica estruturada de 9 pontos, variando entre 1=desgostei extremamente a 9 = gostei extremamente. O ANEXO 3 mostra o modelo de ficha de avaliação utilizado.

A aparência do produto foi avaliada fora das cabines, através da observação de gomos inteiros dispostos em prato de fundo branco, sob iluminação branca.

Para limpar o paladar entre a degustação das diferentes amostras, foram utilizados biscoitos "cream cracker " e água filtrada.

3.2.2.5 - Análise estatística

Os resultados das análises químicas, físicas e sensoriais foram submetidos a análise de variância (ANOVA), através do programa STATISTICA 5.0 (StatSoft, Inc.). Foi aplicado teste de DUNCAN para comparação entre os resultados obtidos para as diferentes formulações a cada período de análise considerado, a nível de 5% de significância. Todos os resultados detalhados encontram-se no ANEXO 6.

4 - RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 - PARTE 1 – Avaliação da Influência de Diferentes Concentrações de Lactato de Sódio na Vida de Prateleira de Lingüiça Mista Frescal

4.1.1 - Análise Físico-Química

4.1.1.1 - Determinação de TBA

A Figura 2 representa a variação nos valores de TBA-RS para as 5 formulações avaliadas no decorrer de sua armazenagem. Observa-se que, após o 8º dia de estocagem, os valores de TBA-RS aumentaram sensivelmente.

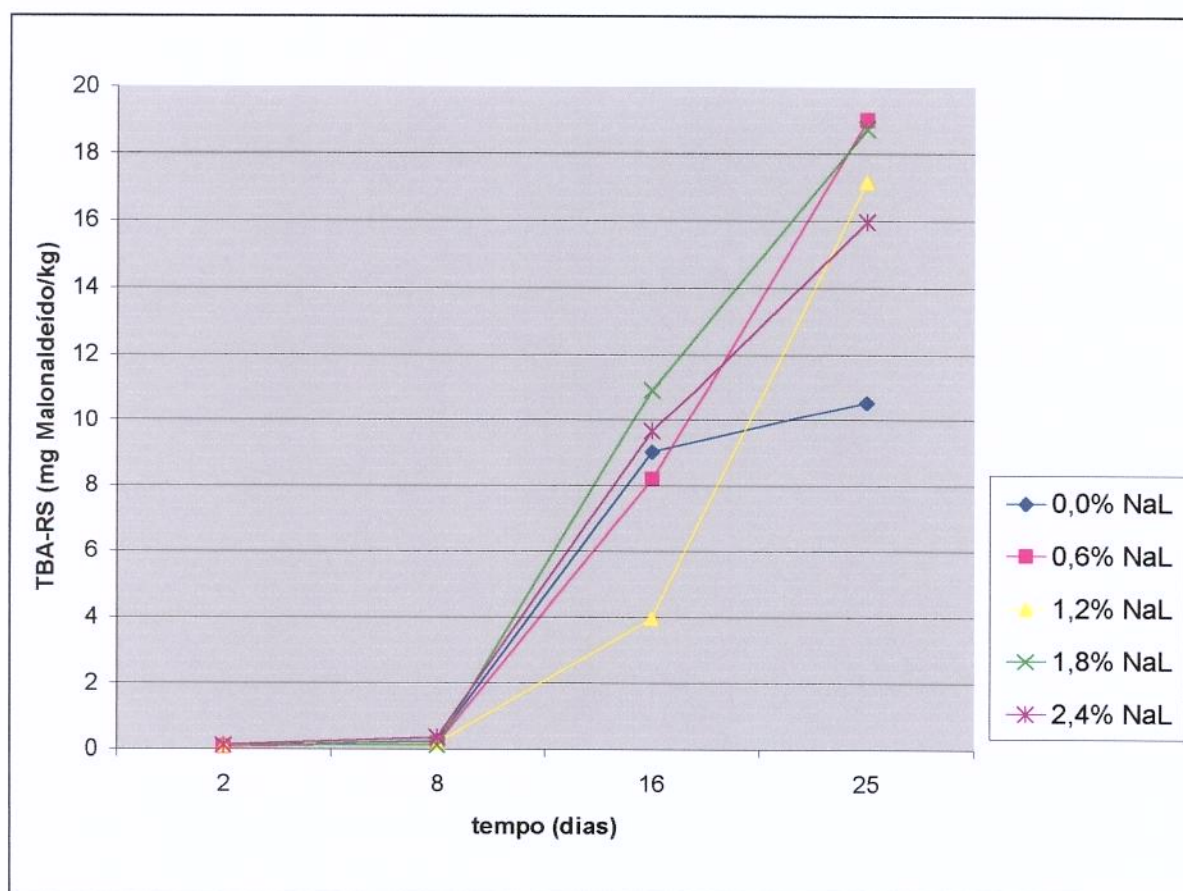


Figura 2 - Valores de TBA-RS em lingüiça mista frescal formulada com diferentes concentrações de lactato de sódio (NaL) estocadas a 5°C.

Segundo Siu & Drapper (1978), a quantidade de malonaldeído em carne fresca varia de 1 a 6 mg/kg; portanto, antes do 16º dia, todas amostras, com exceção da formulação contendo 1,2% de lactato de sódio, poderiam apresentar sabor de ranço ou, até mesmo, estar impróprias para o consumo.

De acordo com os dados apresentados na *Figura 2*, não se pode verificar influência da variação de diferentes níveis de lactato de sódio na oxidação do produto. Tal constatação está de acordo com o observado por Brewer et al. (1991), os quais observaram que a adição de diferentes níveis de lactato de sódio (1 a 3%) não mostrou efeito sobre as quantidades de TBA-RS, analisado no estudo de vida de prateleira de lingüiça suína fresca.

4.1.1.2 - Determinação de pH

Pela *Figura 3* pode-se observar que a amostra controle (sem lactato de sódio) apresentou declínio acentuado do pH após a 1ª semana de processamento.

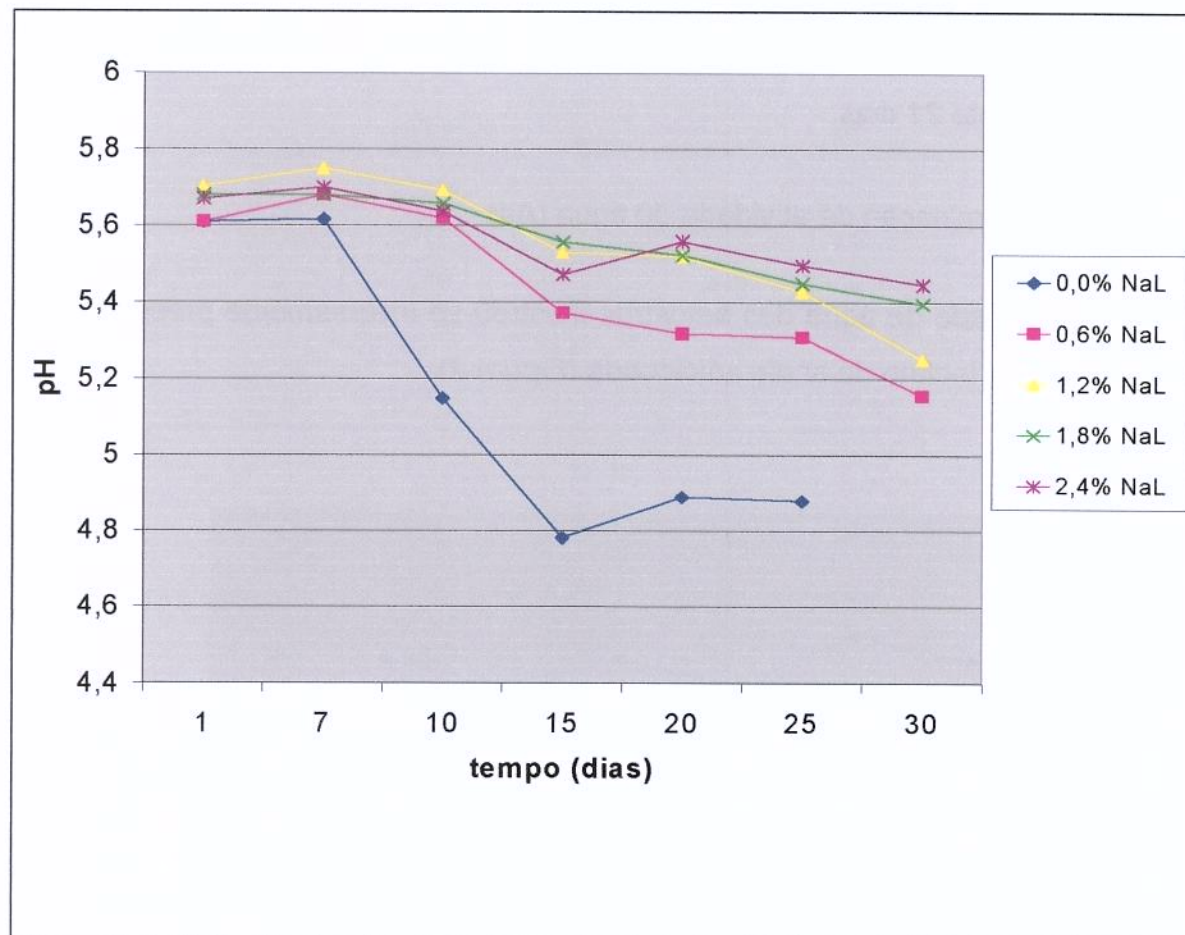


Figura 3 -Influência de diferentes concentrações de lactato de sódio (NaL) no pH de lingüiça mista fresca estocada a 5°C.

As amostras adicionadas de lactato também apresentaram ligeiro declínio, provavelmente relacionado ao crescimento microbiano, principalmente de bactérias lácticas, naturalmente presentes neste tipo de produto, as quais têm como característica a acidificação do meio, decorrente de seu metabolismo (Delazari, 1977).

No 30º dia, a amostra controle não foi analisada, devido à sua deterioração microbiológica, cuja contagem total apresentava-se acima de 10^8 UFC/g, com formação visível de bolor na superfície.

Brewer et al. (1993) também reportaram que as alterações no pH de lingüiça suína fresca adicionadas de lactato de sódio, estocadas sob refrigeração, eram mínimas durante 21 dias.

4.1.1.3 - Determinação de atividade de água (Aa)

A atividade de água das amostras mostrou-se inversamente proporcional à quantidade de lactato de sódio adicionada (*Figura 4*).

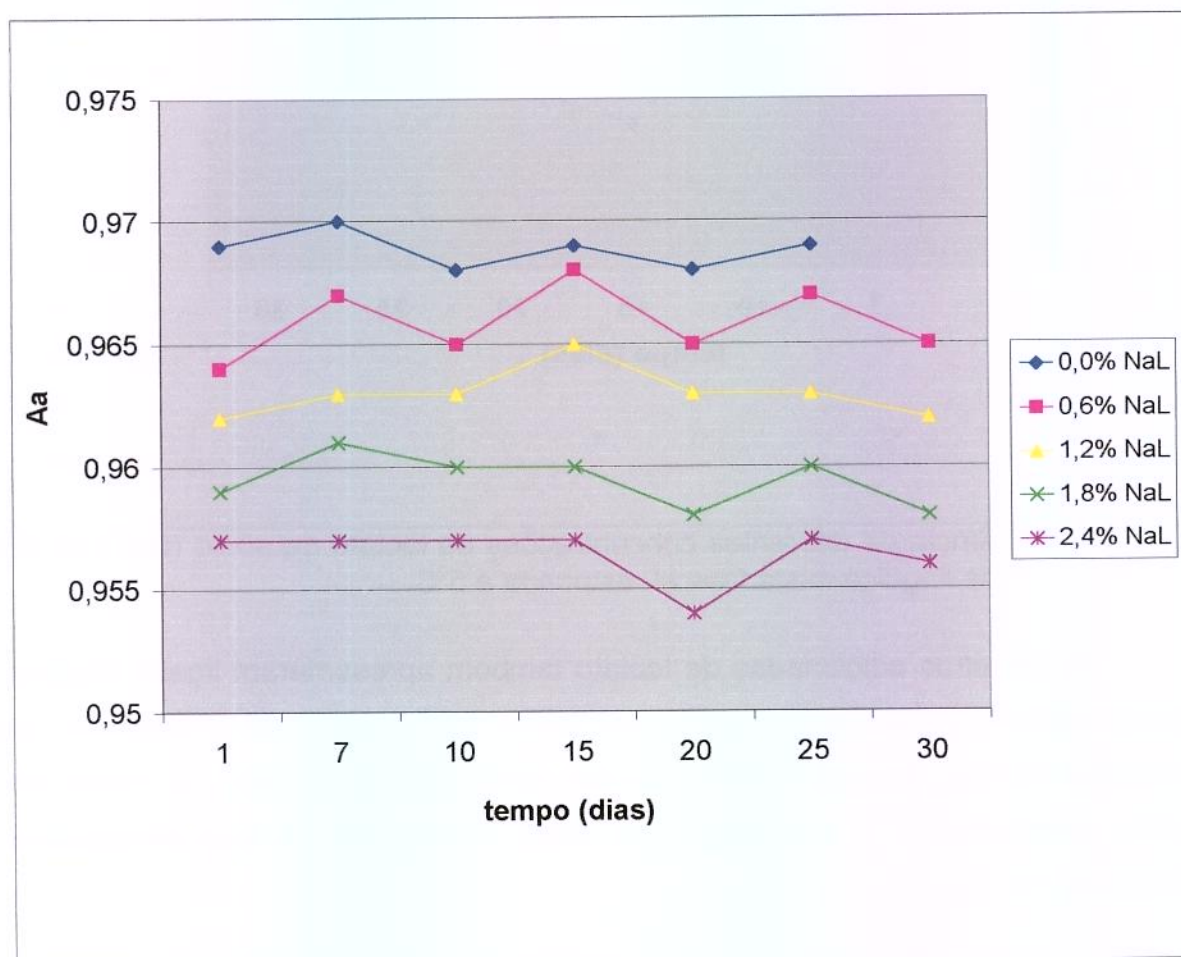


Figura 4 - Influência de diferentes concentrações de lactato de sódio (NaL) na atividade de água de lingüiça mista fresca estocada a 5°C.

Tal resultado é condizente com o que tem sido demonstrado na literatura (Houstma et al., 1993; Chen & Shelef, 1992; Debevere, 1989). Esta diminuição da atividade de água pela adição de lactato de sódio tem sido proposta como sendo um dos mecanismos de sua ação antimicrobiana, como descrito em 2.3.4.2.

4.1.1.4 - Análise microbiológica

A evolução da contagem total de microrganismos mesófilos nas diferentes formulações de lingüiça mista frescal testadas é apresentada na *Figura 5*.

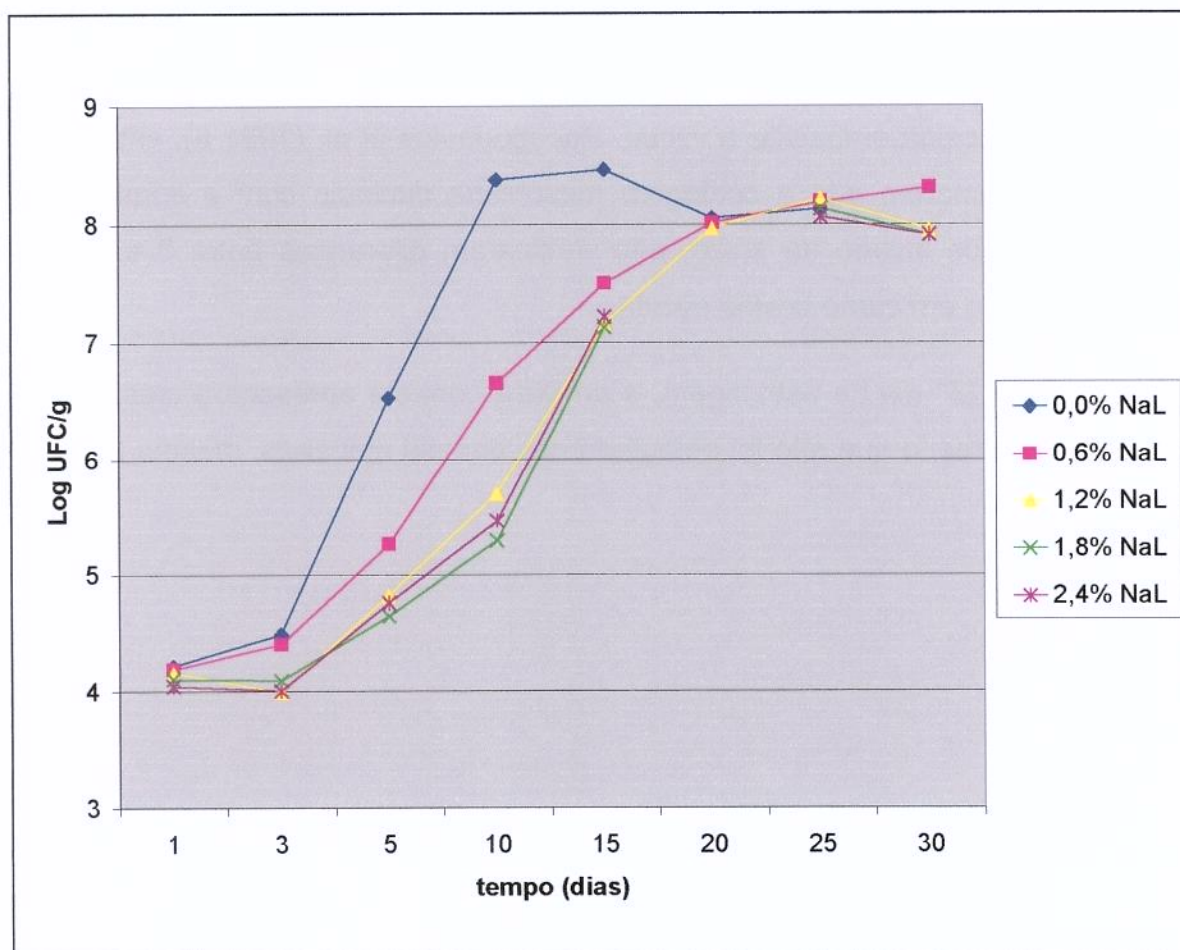


Figura 5 - Influência de diferentes concentrações de lactato de sódio (NaL) na contagem total de microrganismos mesófilos em lingüiça mista frescal estocada a 5°C.

A amostra controle (sem lactato de sódio) apresentou contagem superior a 10^6 UFC/g, valor que caracteriza o início da deterioração microbiológica para produtos cárneos frescos (Delazari, 1977), antes da 1ª semana de estocagem a 5°C. O mesmo número foi atingido pela amostra contendo 0,6% de lactato de sódio entre o 5º e o 10º dia de armazenamento. As demais amostras só superaram 10^6 UFC/g após 10 dias de armazenamento. Não foram observadas diferenças significativas ($p>0,05$) nas contagens das amostras contendo 1,2, 1,8 e 2,4% de lactato de sódio, as quais apresentaram comportamento similar no decorrer das análises. Tal resultado diverge dos obtidos por Maca et al. (1997a, 1999), os quais reportaram a redução no crescimento microbiano, com o aumento da quantidade de lactato de sódio (0, 2, 3 e 4%) adicionada em hambúrguer e carne bovina cozida embalada a vácuo. Papadopoulos et al. (1991 a), entretanto, apesar de afirmarem que a contagem microbiana diminuiu com o aumento da concentração de lactato de sódio, não verificaram diferenças entre 3 e 4% de lactato de sódio em carne bovina cozida.

Após o 25º dia de estocagem, a amostra controle apresentou crescimento visível de bolores, o que não foi detectado nas demais amostras, mesmo após 30 dias.

4.1.1.5 - Avaliação sensorial

Na primeira avaliação sensorial dos produtos (4º dia), observou-se que, independentemente da quantidade de lactato adicionada, todas amostras apresentaram alto índice de aceitação, com a predominância dos conceitos “gostei ligeiramente” (6) a “gostei extremamente”(9) (*Figura 6*). A *Tabela 4* mostra que o conceito médio atribuído para as amostras foi 7 (“gostei moderadamente”) e que, pelo teste de Tukey, não houve diferença significativa ($p>0,05$) entre os produtos.

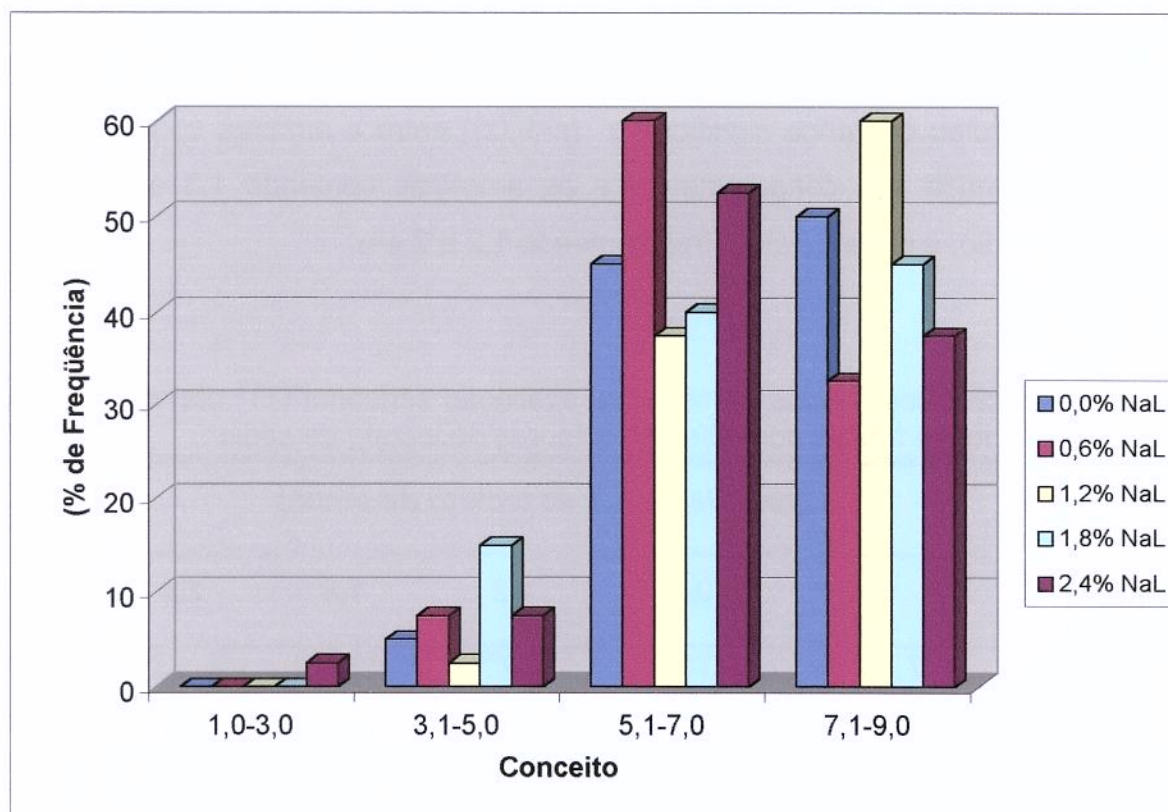


Figura 6 - Histograma de distribuição dos conceitos atribuídos à aceitação sensorial de lingüiça mista frescal com diferentes teores de lactato de sódio – 4º dia

Tabela 4 - Conceitos obtidos na primeira avaliação sensorial (4º dia) de lingüiça mista frescal com diferentes teores de lactato de sódio.

Avaliação	Formulação (%lactato de sódio)				
	0	0,6	1,2	1,8	2,4
média	7,25 ^a	7,025 ^a	7,55 ^a	7,1 ^a	6,9 ^a
desvio	1,14	1,05	1,01	1,24	1,5

*amostras com letras iguais não apresentam diferença significativa entre si ($p>0,05$)

Os conceitos atribuídos às amostras adicionadas de lactato diminuíram na segunda avaliação (11º dia), variando entre “não gostei nem desgostei” (5) a “gostei moderadamente” (7) (*Figura 7*). Pela *Tabela 5*, pode-se observar que houve um declínio nas médias com relação à primeira avaliação. O teste de Tukey aplicado detectou diferença significativa ($p<0,05$) entre a amostra controle (sem lactato e mantida sob congelamento) e as amostras contendo 1,8 e 2,4% de lactato de sódio, e entre as amostras contendo 1,2 e 2,4%.

Tabela 5 - Conceitos obtidos na segunda avaliação sensorial (11º dia) de lingüiça mista frescal com diferentes teores de lactato de sódio .

Avaliação	Formulação (% de lactato de sódio)				
	0	0,6	1,2	1,8	2,4
média	7,35 ^a	6,73 ^{abc}	6,9 ^{ab}	6,35 ^{bc}	6,13 ^c
desvio	1,31	1,18	1,15	1,49	1,54

* amostras com letras iguais não apresentam diferença significativa entre si ($p>0,05$)

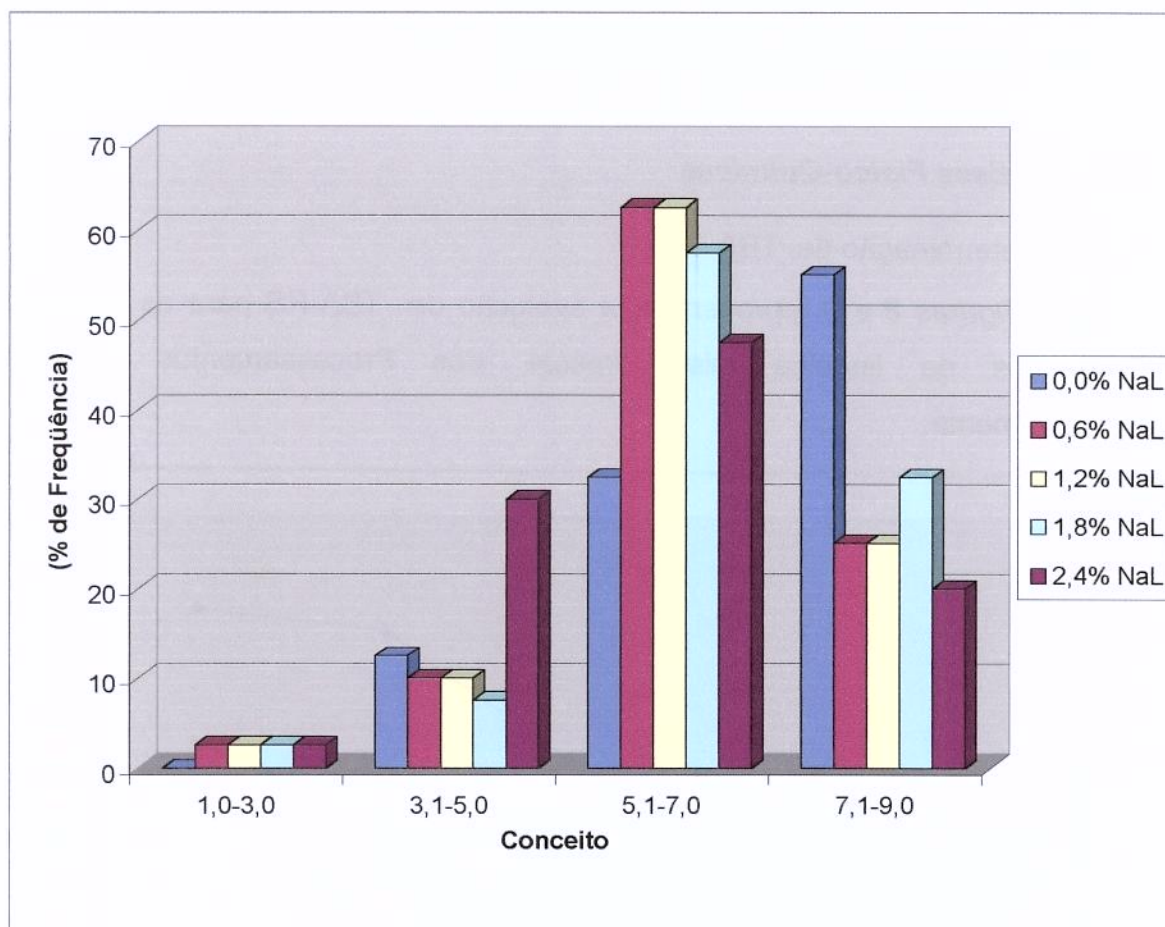


Figura 7 - Histograma de distribuição dos conceitos atribuídos à aceitação sensorial de lingüiça mista frescal com diferentes teores de lactato de sódio – 11º dia

A formulação com 1,2% de lactato de sódio apresentou, em geral, os melhores resultados, tendo mostrado nível de oxidação expressos em TBA-RS, inferior às demais formulações após 16 dias, curva de crescimento microbiológico muito semelhante aos níveis mais altos de lactato de sódio, além da boa aceitação sensorial. Além disso, concentrações de 2 a 3% da solução 60% v/v de lactato de sódio, ou seja, 1,2 a 1,8% de lactato de sódio, baseadas no peso de matéria-prima carne, são normalmente recomendadas para aplicação em produtos cárneos (Duxbury, 1988). Dessa forma, a concentração de 1,2% de lactato de sódio foi indicada para a Parte 2 deste estudo.

4.2 - PARTE 2 - Avaliação da Influência de Diferentes Concentrações de Nitrito de Sódio em Combinação com Lactato de Sódio nas Características de Lingüiça Mista Frescal

4.2.1 - Análises Físico-Químicas

4.2.1.1 - Determinação de TBA

As Figuras 8 e 9 representam a evolução de TBA-RS para as diferentes formulações de lingüiça mista frescal, dos Processamentos 1 e 2, respectivamente.

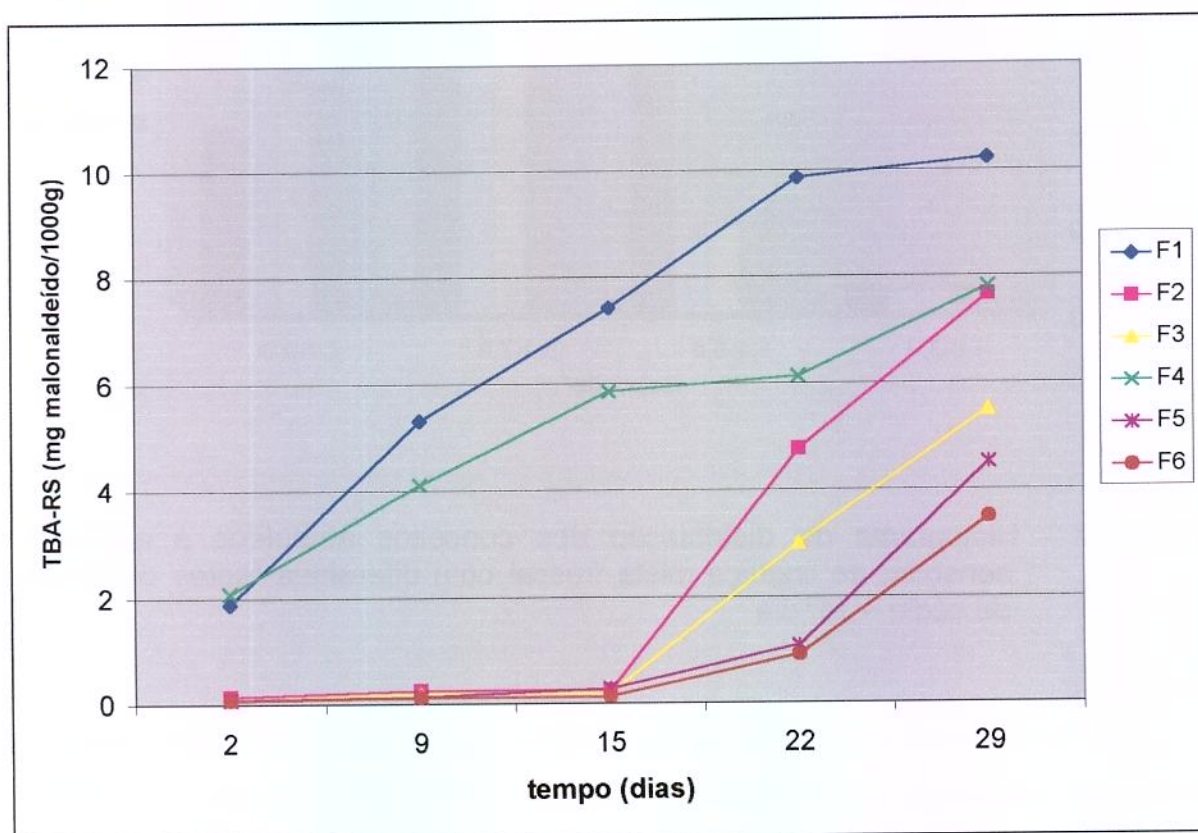


Figura 8 - Valores de TBA-RS em diferentes formulações de lingüiça mista frescal armazenadas a 3°C – **Processamento 1.**

F1: 0 ppm de nitrito de sódio / 0% de lactato de sódio
 F2: 200 ppm de nitrito de sódio / 0% de lactato de sódio
 F3: 400 ppm de nitrito de sódio / 0% de lactato de sódio
 F4: 0 ppm de nitrito de sódio / 1,2% de lactato de sódio
 F5: 200 ppm de nitrito de sódio / 1,2% de lactato de sódio
 F6: 400 ppm de nitrito de sódio / 1,2% de lactato de sódio

Em ambos processamentos pode-se observar a discrepância nas quantidades de malonaldeído presentes nas formulações sem nitrito em relação às formulações contendo nitrito. Tal constatação está de acordo com a literatura que relata, dentre as qualidades tecnológicas do nitrito em carne, o retardamento da rancidez (Pearson & Gillett, 1996).

No Processamento 1 (*Figura 8*), amostras contendo nitrito, independentemente da quantidade adicionada e da presença ou não de lactato de sódio, não tiveram alteração nos valores de TBA-RS até o 15º dia. Após este período, houve um aumento nos valores de TBA-RS para todas amostras, entretanto, nas formulações contendo 1,2% de lactato de sódio este aumento foi menos acentuado que nas demais.

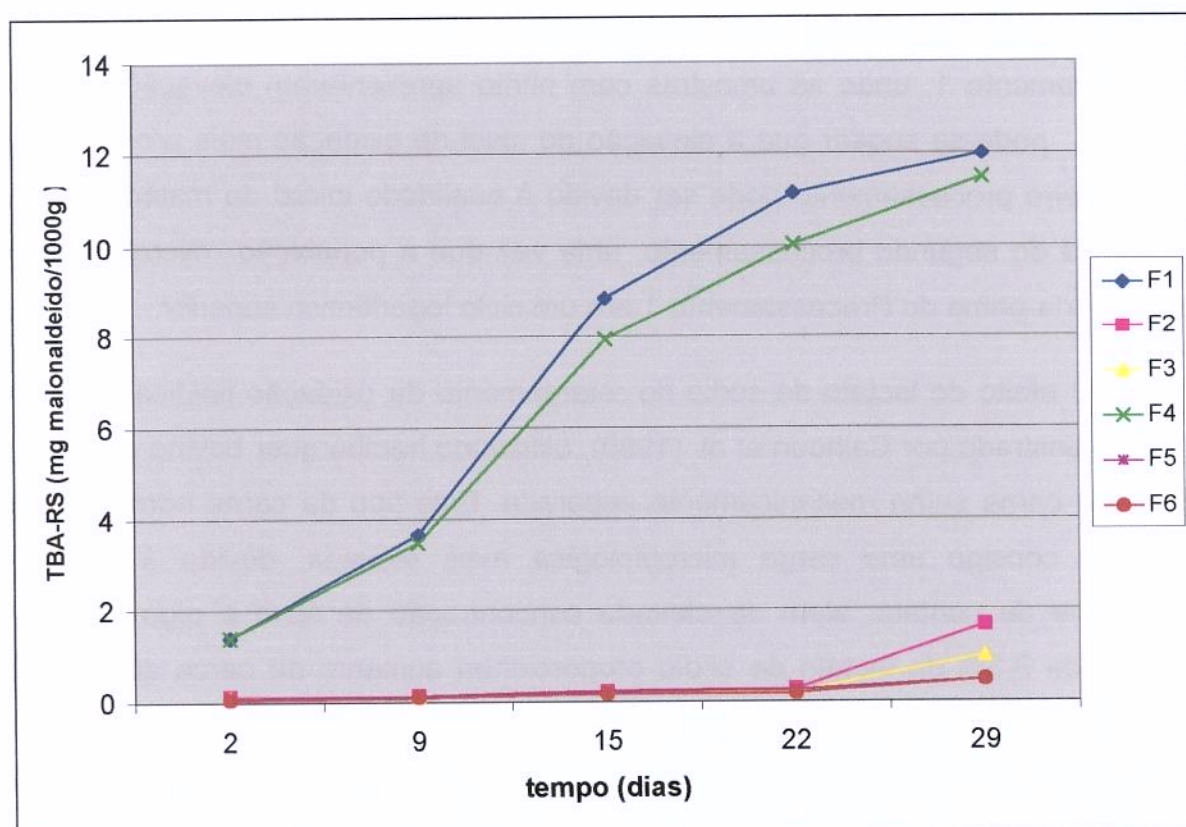


Figura 9 - Valores de TBA-RS em diferentes formulações de lingüiça mista fresca armazenadas a 3°C – **Processamento 2.**

F1: 0 ppm de nitrito de sódio / 0% de lactato de sódio

F2: 200 ppm de nitrito de sódio / 0% de lactato de sódio

F3: 400 ppm de nitrito de sódio / 0% de lactato de sódio

F4: 0 ppm de nitrito de sódio / 1,2% de lactato de sódio

F5: 200 ppm de nitrito de sódio / 1,2% de lactato de sódio

F6: 400 ppm de nitrito de sódio / 1,2% de lactato de sódio

Segundo Siu & Draper (1978), a carne contendo entre 1 a 6 mg de malonaldeído/kg pode ser considerada fresca. No Processamento 1, as formulações F1 (0 ppm nitrito; 0% lactato), F4 (0 ppm nitrito; 1,2% lactato) e F2 (200 ppm; 0% lactato), ultrapassaram este limite após 9, 15 e 22 dias, respectivamente, enquanto que as demais amostras não alcançaram este limite até o 29º dia.

No Processamento 2 (*Figura 9*), a estabilidade à oxidação das amostras contendo nitrito durou até o 22º dia. As amostras sem nitrito (F1 e F4) do Processamento 2 tiveram comportamentos similares, superando a faixa de frescor entre o 9º e o 15º dia. Apesar das amostras com nitrito e sem lactato (F2 e F3) apresentarem ligeira elevação do nível de TBA-RS após o 22º dia, até o 29º dia, não chegaram a atingir 2 mg de malonaldeído/kg. Comparando-se com o Processamento 1, onde as amostras com nitrito apresentaram elevação após o 15º dia, pode-se sugerir que a elevação do nível de oxidação mais pronunciada no primeiro processamento pode ser devido à qualidade inicial da matéria-prima, inferior à do segundo processamento, uma vez que a população microbiológica da matéria-prima do Processamento 1 era um ciclo logarítmico superior.

O efeito do lactato de sódio no retardamento da oxidação lipídica também foi demonstrado por Calhoun et al. (1999), utilizando hambúrguer bovino contendo 15% de carne suína mecanicamente separada. Este tipo de carne normalmente carrega consigo uma carga microbiológica mais elevada, devido à extensa superfície de contato, além de elevada concentração de ferro e pigmentos. A adição de 3,3% de lactato de sódio proporcionou aumento de cerca de 1,0 mg malonaldeído/ kg de produto após 4 dias de estocagem, enquanto que na formulação sem lactato o aumento foi de 3,5 mg malonaldeído/ kg de produto, no mesmo período de armazenamento.

Maca et al. (1999) também relataram a ação do lactato de sódio na diminuição da oxidação lipídica e odor de "ranço" em carne bovina cozida embalada a vácuo.

Já Maca et al. (1997a) e Brewer et al. (1991) não verificaram influência do lactato de sódio na oxidação lipídica de hambúrguer bovino e lingüiça suína, respectivamente.

O lactato de sódio parece exercer efeito antioxidante em produtos cárneos, como sugerido por Nnanna et al. (1994), os quais compararam a efetividade do lactato de sódio a antioxidantes como BHT e BHA. Entretanto, constatou-se que, para lingüiça mista frescal curada, o principal agente que atuou no retardamento da rancidez foi o nitrito de sódio, de modo similar aos resultados observados no presente trabalho.

4.2.1.2 - Determinação de pH

No Processamento 1, a formulação sem nitrito e sem lactato (F1) mostrou um comportamento bem diferente em relação às demais (*Figura 10*). Seu pH inicial, inferior ao das outras formulações, decresceu até o 11º dia, quando então começou a subir e, entre o 21º e 28º dias, apresentou uma elevação brusca. O mesmo ocorreu com a amostra contendo 0 ppm de nitrito e 1,2% lactato (F4) que, até o 14º dia, apresentou pH estável, entre 5,80 e 5,93, e, após esta data, apresentou aumento, chegando a um valor de 6,93 no 28º dia. Esta elevação no pH ($\text{pH} > 5,6$) poderia ser explicada pelo crescimento microbiano de bactérias gram positivas proteolíticas, como *Pseudomonas spp* (Nasso et al., citados por Brewer et al., 1995).

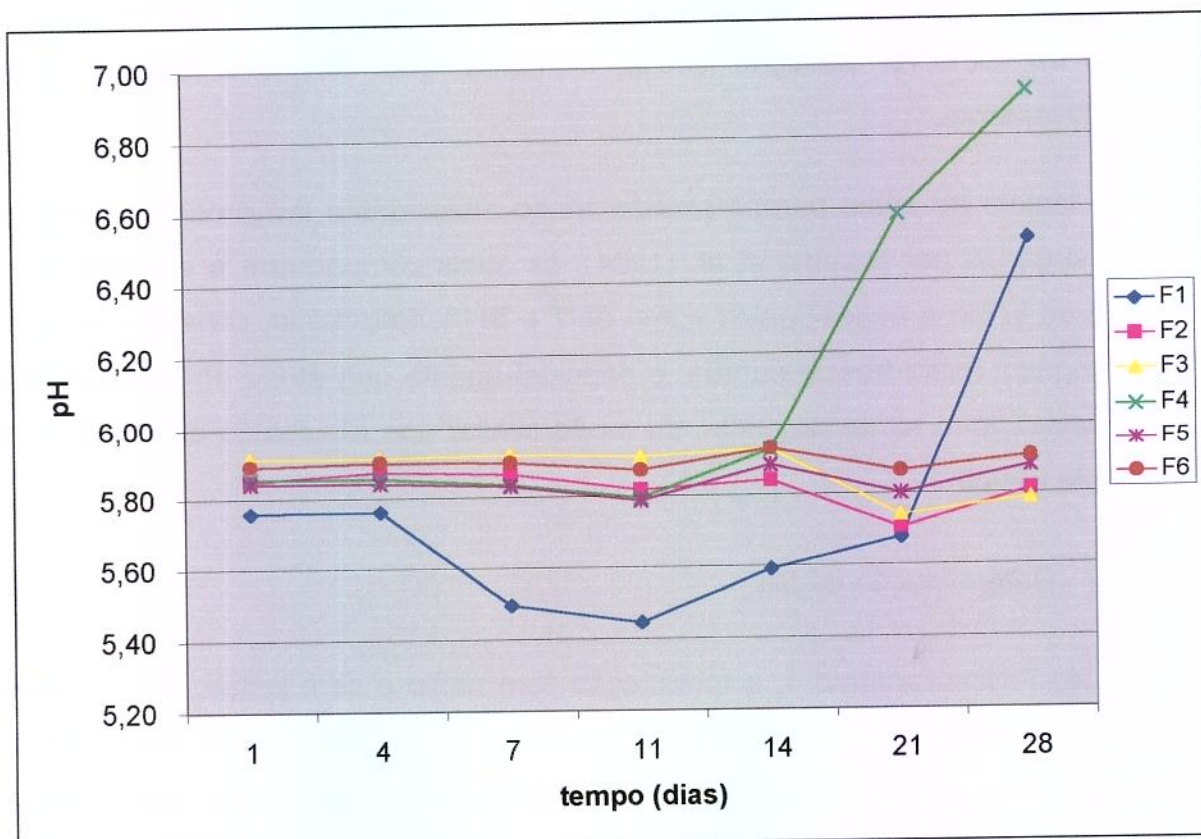


Figura 10 - Evolução do pH durante a vida de prateleira de diferentes formulações de lingüiça mista fresca armazenadas a 3°C – **Processamento 1**.

F1: 0 ppm de nitrito de sódio / 0% de lactato de sódio
 F2: 200 ppm de nitrito de sódio / 0% de lactato de sódio
 F3: 400 ppm de nitrito de sódio / 0% de lactato de sódio
 F4: 0 ppm de nitrito de sódio / 1,2% de lactato de sódio
 F5: 200 ppm de nitrito de sódio / 1,2% de lactato de sódio
 F6: 400 ppm de nitrito de sódio / 1,2% de lactato de sódio

As demais amostras, no Processamento 1, permaneceram com pH estável na faixa de 5,70 a 5,93, valores que podem ser considerados normais para carne, cujo valor de pH oscila entre 5,2 e 6,8 (Hedrick et al., 1994).

No Processamento 2 (Figura 11), todas as amostras contendo 1,2% de lactato de sódio apresentaram pH dentro da faixa de 5,71 e 5,85 (ANEXO 6). A amostra sem nitrito e sem lactato (F1) apresentou queda a partir do 11º dia, chegando até a pH 5,42 no 28º dia, quando o pH voltou a subir. A amostra contendo 400 ppm de nitrito, sem adição de lactato (F3), desde o 1º dia após seu processamento apresentou pH superior ao dos demais tratamentos. Após o 11º

dia, seu pH caiu bruscamente, apresentando, no 35º dia, pH próximo ao das demais formulações sem lactato (entre 5,54 e 5,58).

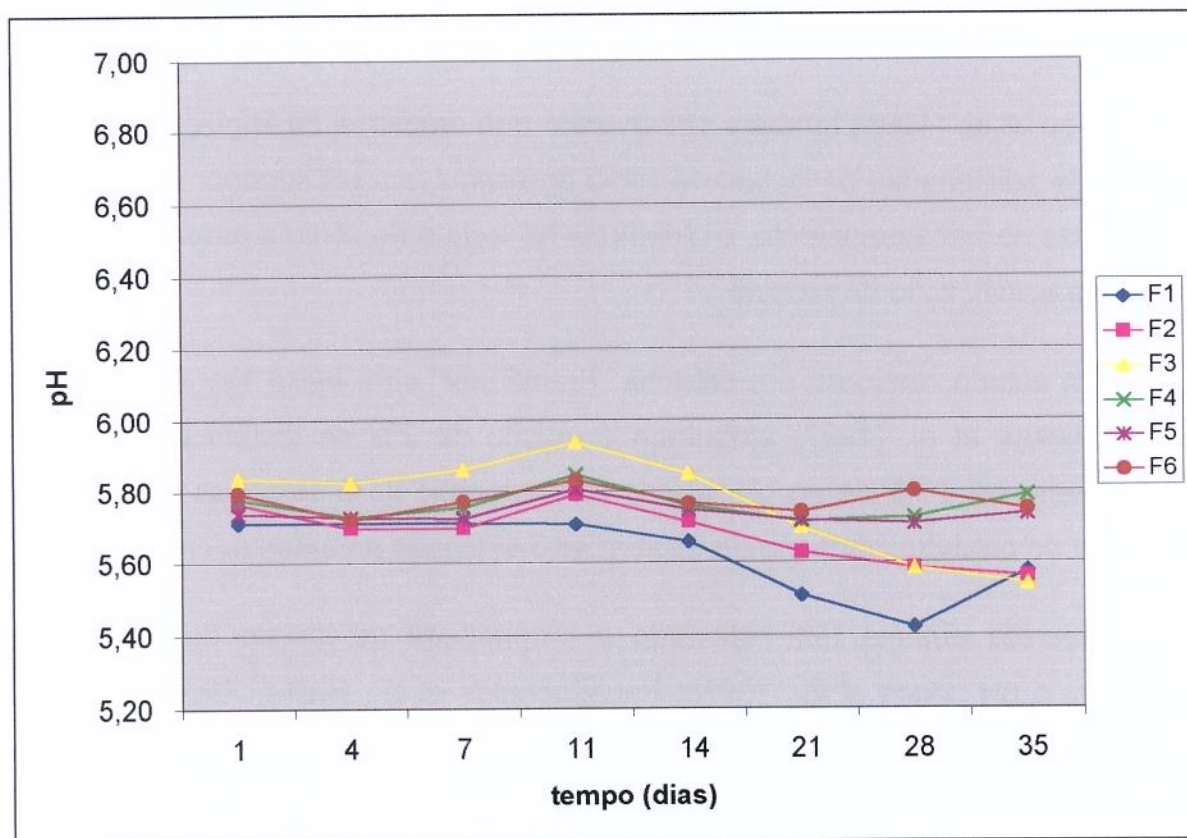


Figura 11 - Evolução do pH durante a vida de prateleira de diferentes formulações de lingüiça mista frescal armazenadas a 3°C – **Processamento 2**.

F1: 0 ppm de nitrito de sódio / 0% de lactato de sódio
 F2: 200 ppm de nitrito de sódio / 0% de lactato de sódio
 F3: 400 ppm de nitrito de sódio / 0% de lactato de sódio
 F4: 0 ppm de nitrito de sódio / 1,2% de lactato de sódio
 F5: 200 ppm de nitrito de sódio / 1,2% de lactato de sódio
 F6: 400 ppm de nitrito de sódio / 1,2% de lactato de sódio

Através da *Figura 11* podemos observar que, após o 14º dia, as amostras sem lactato de sódio apresentaram queda no pH, enquanto que as amostras com lactato permaneceram com pH estável entre 5,60 e 5,70. Da mesma forma, Brewer et al. (1991) verificaram que o pH de lingüiça suína fresca contendo 0 ou 1% de lactato de sódio diminuiu após 17 e 21 dias de armazenamento a 4°C, respectivamente, enquanto que amostras com 2 ou 3% de lactato de sódio não apresentavam variação significativa ($p < 0,05$) em até 21 dias.

A queda no pH das formulações sem lactato (F1, F2 e F3) , pode estar relacionada com o crescimento de bactérias lácticas (*Figura 21*), que têm correlação inversa com a evolução do pH (Nassos et al., citados por Brewer et al., 1995).

Gou et al. (1998) também observaram que amostras de lingüiça curada e dessecada adicionadas de lactato de sódio apresentavam pH superior ao controle após 9 dias de armazenamento, e atribuíram ao lactato de sódio a propriedade em retardar a acidificação do produto.

Em estudo realizado em salsicha “Frankfurter” com baixo teor de gordura (9%), Bloukas et al. (1997) atribuíram à adição de 2% de lactato de sódio e consequente estabilidade do pH, a extensão em mais de 6 semanas da vida de prateleira do produto, comparando-se com as 3 semanas da amostra controle.

Diversos autores têm reportado a propriedade do lactato de sódio em estabilizar o pH (Maca et al., 1997b; Papadopoulos et al., 1991a; Bloukas et al., 1997; Walezycka et al, 1998), relacionando tal fato à diminuição da deterioração microbiana.

4.2.1.3 - Determinação de atividade de água (Aa)

Em ambos processamentos, a Aa das amostras adicionadas de lactato de sódio variou entre 0,956 e 0,964, médias inferiores às amostras sem lactato, que permaneceram com Aa entre 0,965 e 0,964 (*Figuras 12 e 13*). Tal constatação vai ao encontro com outros estudos realizados (Chen & Shelef, 1992; Debevere, 1989; Maca et al., 1997a,b). Entretanto esta diferença, de cerca de 0,006, em média, não seria o único fator no aumento da vida de prateleira do produto, uma vez que a atividade de água mínima para o crescimento da maioria dos microrganismos é de 0,9 (Jay, 1994).

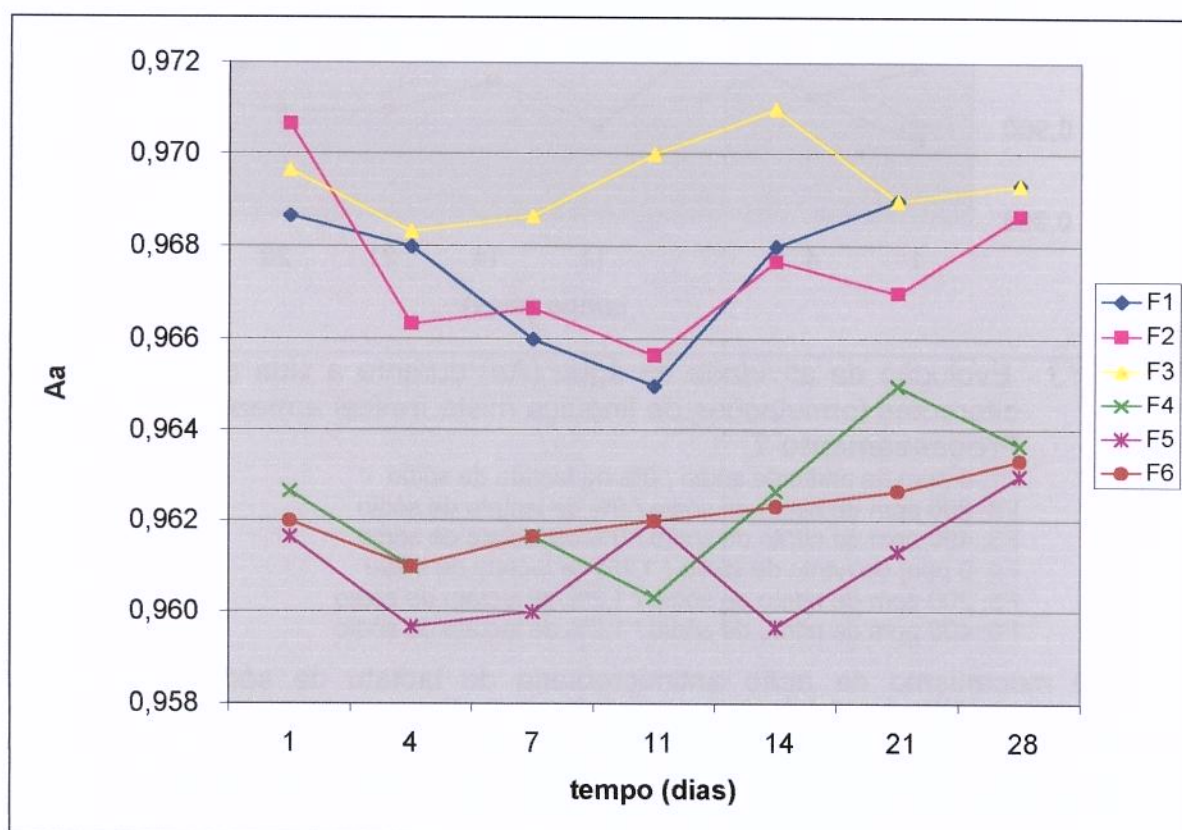


Figura 12 - Evolução da atividade de água (Aa) durante a vida de prateleira de diferentes formulações de lingüiça mista fresca armazenadas a 3°C – **Processamento 1.**

- F1: 0 ppm de nitrito de sódio / 0% de lactato de sódio
 F2: 200 ppm de nitrito de sódio / 0% de lactato de sódio
 F3: 400 ppm de nitrito de sódio / 0% de lactato de sódio
 F4: 0 ppm de nitrito de sódio / 1,2% de lactato de sódio
 F5: 200 ppm de nitrito de sódio / 1,2% de lactato de sódio
 F6: 400 ppm de nitrito de sódio / 1,2% de lactato de sódio

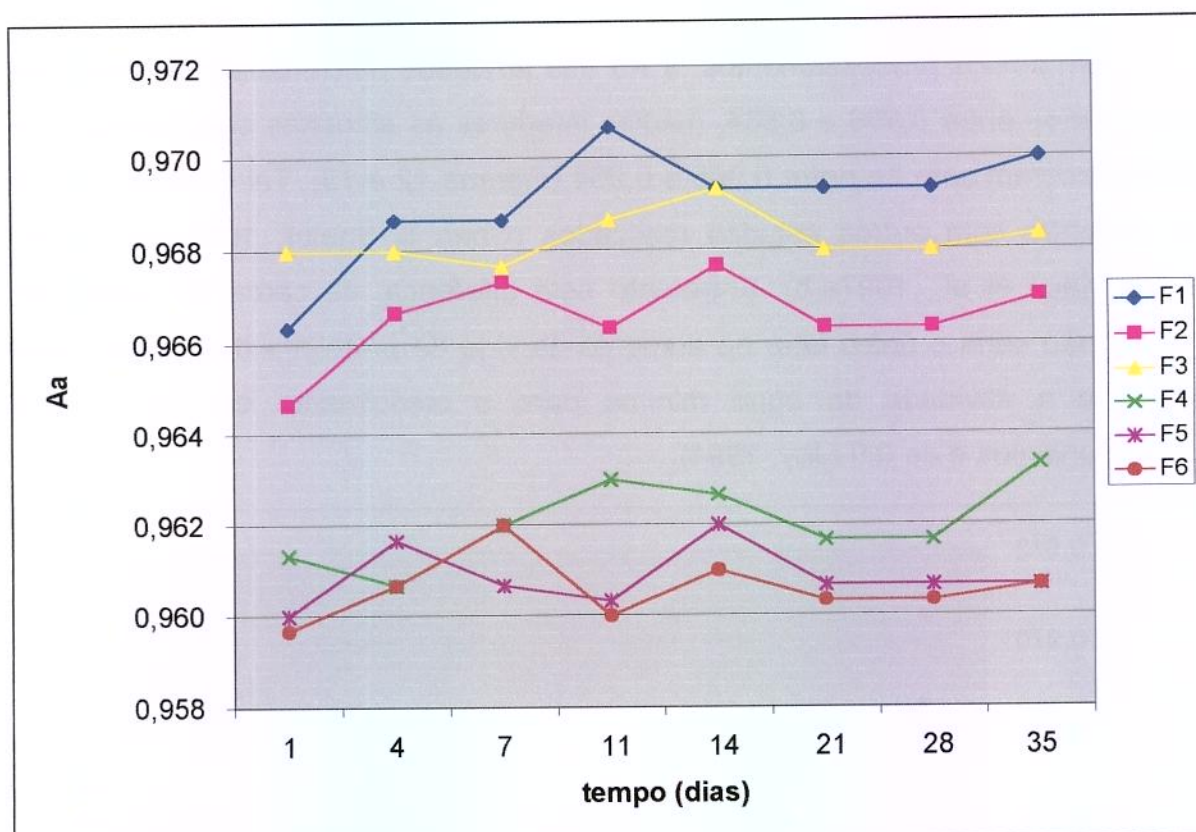


Figura 13 - Evolução da atividade de água (Aa) durante a vida de prateleira de diferentes formulações de lingüiça mista fresca armazenadas a 3°C – **Processamento 2.**

F1: 0 ppm de nitrito de sódio / 0% de lactato de sódio
 F2: 200 ppm de nitrito de sódio / 0% de lactato de sódio
 F3: 400 ppm de nitrito de sódio / 0% de lactato de sódio
 F4: 0 ppm de nitrito de sódio / 1,2% de lactato de sódio
 F5: 200 ppm de nitrito de sódio / 1,2% de lactato de sódio
 F6: 400 ppm de nitrito de sódio / 1,2% de lactato de sódio

O mecanismo de ação antimicrobiana do lactato de sódio, atribuída à redução da atividade de água (Debevere, 1989), tem sido contestado em alguns trabalhos. Chen & Shelef (1992) e Houstma et al. (1996) verificaram que outros sais, como o NaCl, provocaram queda superior na atividade de água em alguns produtos cárneos, mas não apresentaram o mesmo efeito do lactato de sódio.

De acordo com Chen & Shelef (1992), a redução da atividade de água por ação do lactato de sódio varia de acordo com a umidade do produto. Quanto maior a umidade, menor será o efeito do lactato de sódio na diminuição da atividade de água.

O nitrito parece não exercer influência na Aa do produto, pois nenhuma correlação pôde ser observada entre a quantidade de nitrito adicionada e o valor de Aa obtido no decorrer das análises.

4.2.1.4 - Determinação de nitrito

A concentração de nitrito no sal de cura foi de 190 ppm. Tal valor diferiu em 5% do valor teórico, que seria 200 ppm, mas foi considerado aceitável devido à instabilidade do nitrito.

As Figuras 14 e 15 representam a evolução do teor de nitrito dos Processamentos 1 e 2, respectivamente, durante o período de armazenamento das amostras.

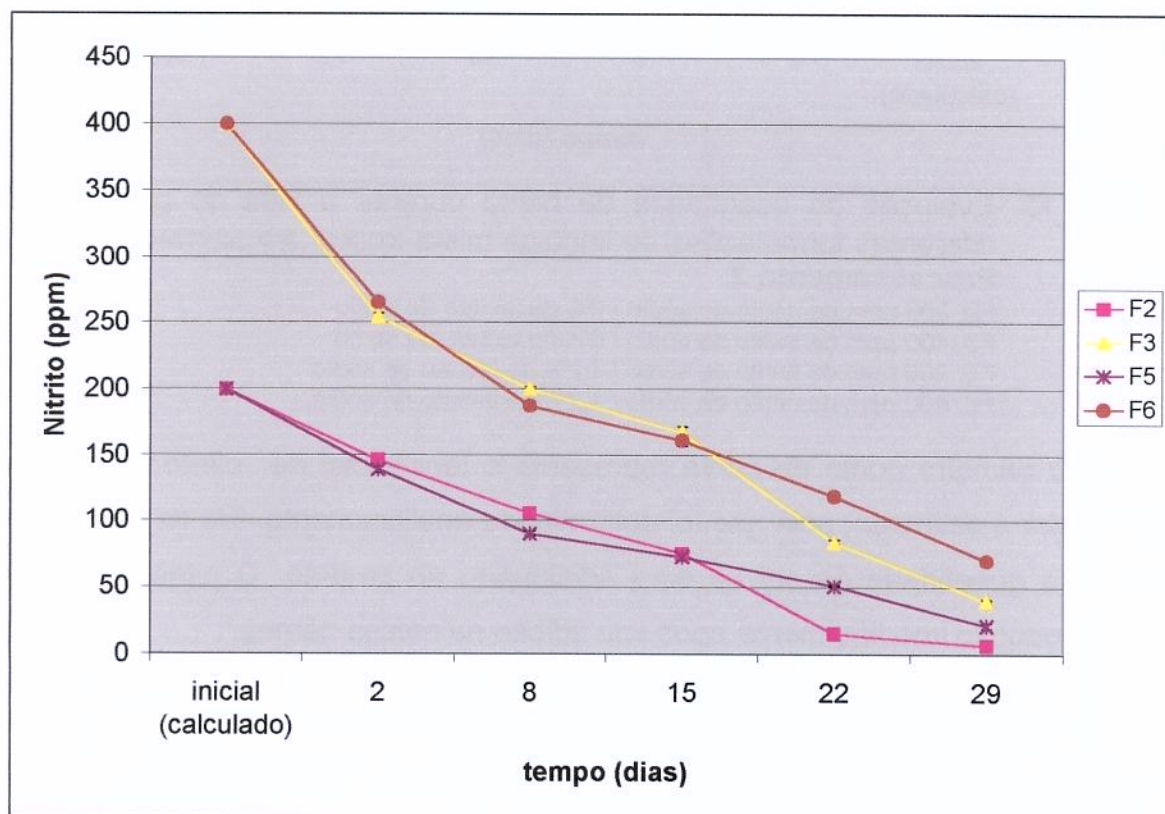


Figura 14 - Evolução da quantidade de nitrito durante a vida de prateleira de diferentes formulações de lingüiça mista fresca armazenadas a 3°C – **Processamento 1.**

F2: 200 ppm de nitrito de sódio / 0% de lactato de sódio

F3: 400 ppm de nitrito de sódio / 0% de lactato de sódio

F5: 200 ppm de nitrito de sódio / 1,2% de lactato de sódio

F6: 400 ppm de nitrito de sódio / 1,2% de lactato de sódio

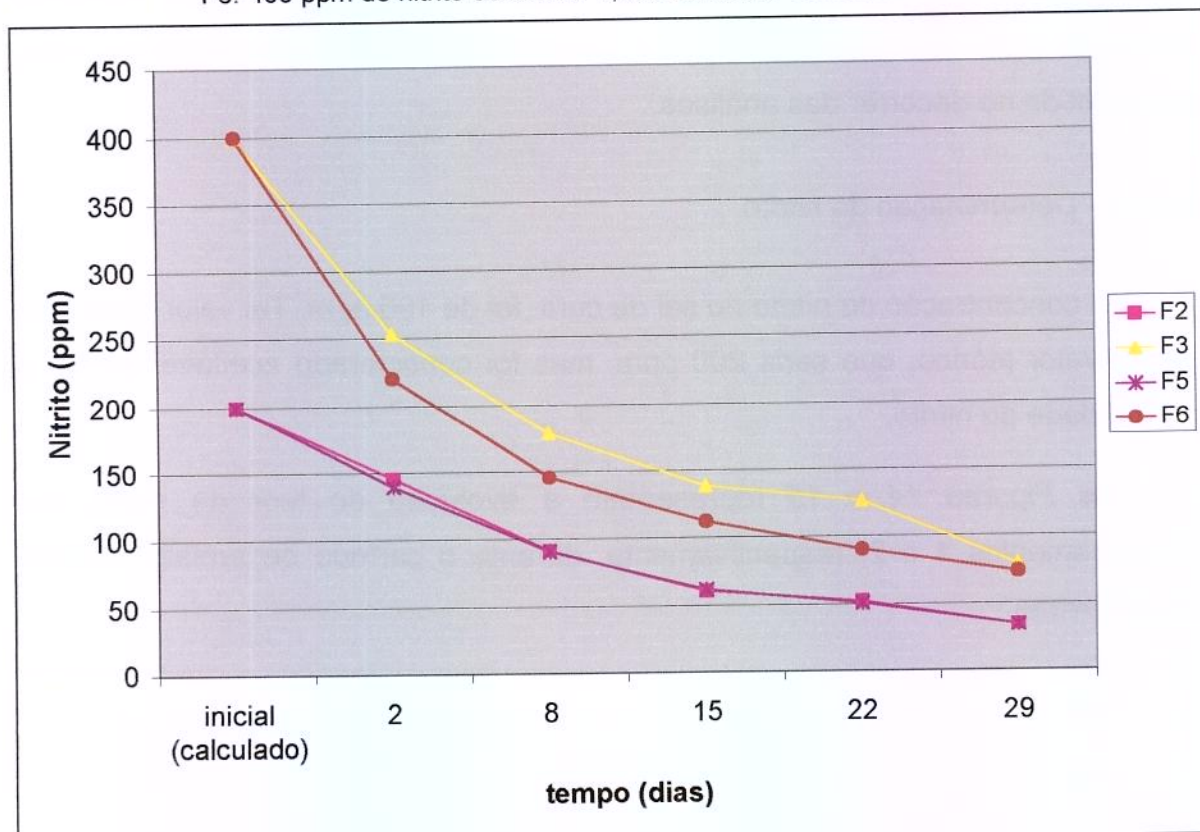


Figura 15 -Evolução da quantidade de nitrito durante a vida de prateleira de diferentes formulações de lingüiça mista fresca armazenadas a 3°C – **Processamento 2.**

F2: 200 ppm de nitrito de sódio / 0% de lactato de sódio

F3: 400 ppm de nitrito de sódio / 0% de lactato de sódio

F5: 200 ppm de nitrito de sódio / 1,2% de lactato de sódio

F6: 400 ppm de nitrito de sódio / 1,2% de lactato de sódio.

O primeiro ponto da curva representa o teor inicial de nitrito no produto. Este valor é estimado, pois não foi determinado analiticamente. Ele foi calculado a partir da quantidade de sal de cura adicionado ao produto. O nitrito começa a sofrer redução imediatamente após sua adição na massa cárnea.

O perfil das curvas de redução do nitrito mostrou-se semelhante tanto para amostras com 400 ppm quanto para amostras com 200 ppm inicial, independentemente da adição de lactato.

Os valores obtidos para a formulação com 400 ppm de nitrito sem lactato (F3) no Processamento 2, em geral, foram cerca de 30 ppm superiores àqueles encontrados para a formulação contendo o mesmo teor de nitrito com lactato (F6).

Entretanto, não se pode afirmar que tal diferença é devida à influência do lactato, uma vez que nas formulações com 200 ppm, e no Processamento 1, este fato não foi observado.

4.2.1.5 – Determinação de cor objetiva

Nenhuma relação entre os teores de nitrito e/ ou de lactato e o parâmetro L^* , que mensura a luminosidade da cor do produto, pôde ser observada, uma vez que a variação entre as diferentes formulações foi bem distinta, não apresentando nenhuma tendência comparativa (*Figuras 16 e 17*).

Brewer et al. (1991) e Maca et al. (1997a) também não constataram efeito do lactato de sódio nos valores de L^* , em lingüiça suína e hambúrguer bovino, respectivamente.

Nas *Figuras 16 e 17* também pode ser observado que, tanto interna como externamente, o valor de a^* , que representa a coloração vermelha da carne, foi maior para as formulações sem nitrito (F1 e F4) na primeira leitura (2 dias após o processamento), devido a cor característica de carne fresca não curada, atribuída pelo pigmento mioglobina, que ainda se encontra estável (Pardi, 1994). Já as formulações adicionadas de nitrito iniciavam a reação com óxido-nítrico, formando tanto nitroso-mioglobina, de cor vermelha brilhante, como nitroso-metamioglobina, de cor pardacenta, apresentando valores menores para o parâmetro a^* . Nas semanas subseqüentes, pôde-se observar queda no valor de a^* externo das amostras sem nitrito (F1 e F4) devido à formação de metamioglobina, pela oxidação do pigmento, resultando em uma coloração mais marrom ou acinzentada, enquanto que as demais amostras não tiveram grandes oscilações.

Como descrito por Brewer et al. (1991, 1993, 1995), O'Connor et al (1993) e Sutton et al. (1997), não foi verificado nenhum efeito do lactato de sódio na cor vermelha do produto, apesar de outros autores (Ghorpade et al., 1992; Lamkey et al., 1991, Papadopoulos et al., 1991 a, b, Maca et al., 1997b; Walezycka et al.,

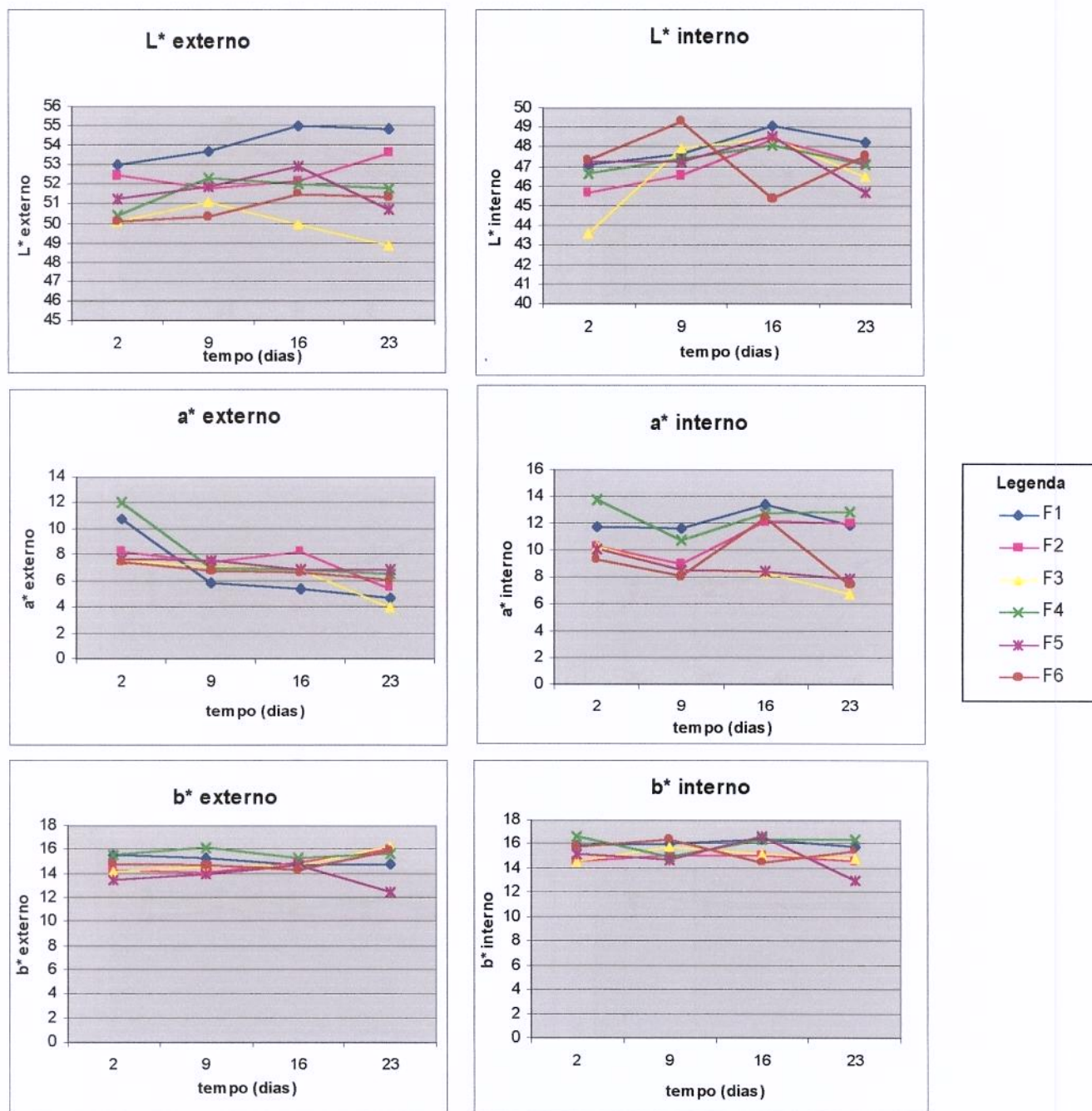
1998, Calhoun et al., 1999) sugerirem que o lactato de sódio poderia proteger a coloração vermelha da carne, devido ao retardamento do crescimento microbiano.

O parâmetro b^* , que aponta a variação da cor na tonalidade amarela, tanto interna como externamente, não apresentou variação no decorrer do armazenamento para todas as formulações, o que pode sugerir que a coloração amarela, devida principalmente à porção de gordura do produto, não é afetada pela concentração de nitrito ou lactato de sódio.

Bloukas et al. (1997) não encontraram nenhuma diferença significativa ($p>0,05$) nos valores de cor instrumental L^* , a^* ou b^* , externamente ou internamente, em salsicha contendo diferentes teores de lactato de sódio. Brewer et al. (1993) e Lamkey et al. (1997) também não constataram influência de diferentes níveis de lactato de sódio nos parâmetros a^* e b^* , de lingüiça de porco frescal. Segundo Sutton et al. (1997), os parâmetros de cor ($L^*a^*b^*$) não foram afetados pela adição de 1 ou 2% de lactato de sódio em lombo suíno marinado.

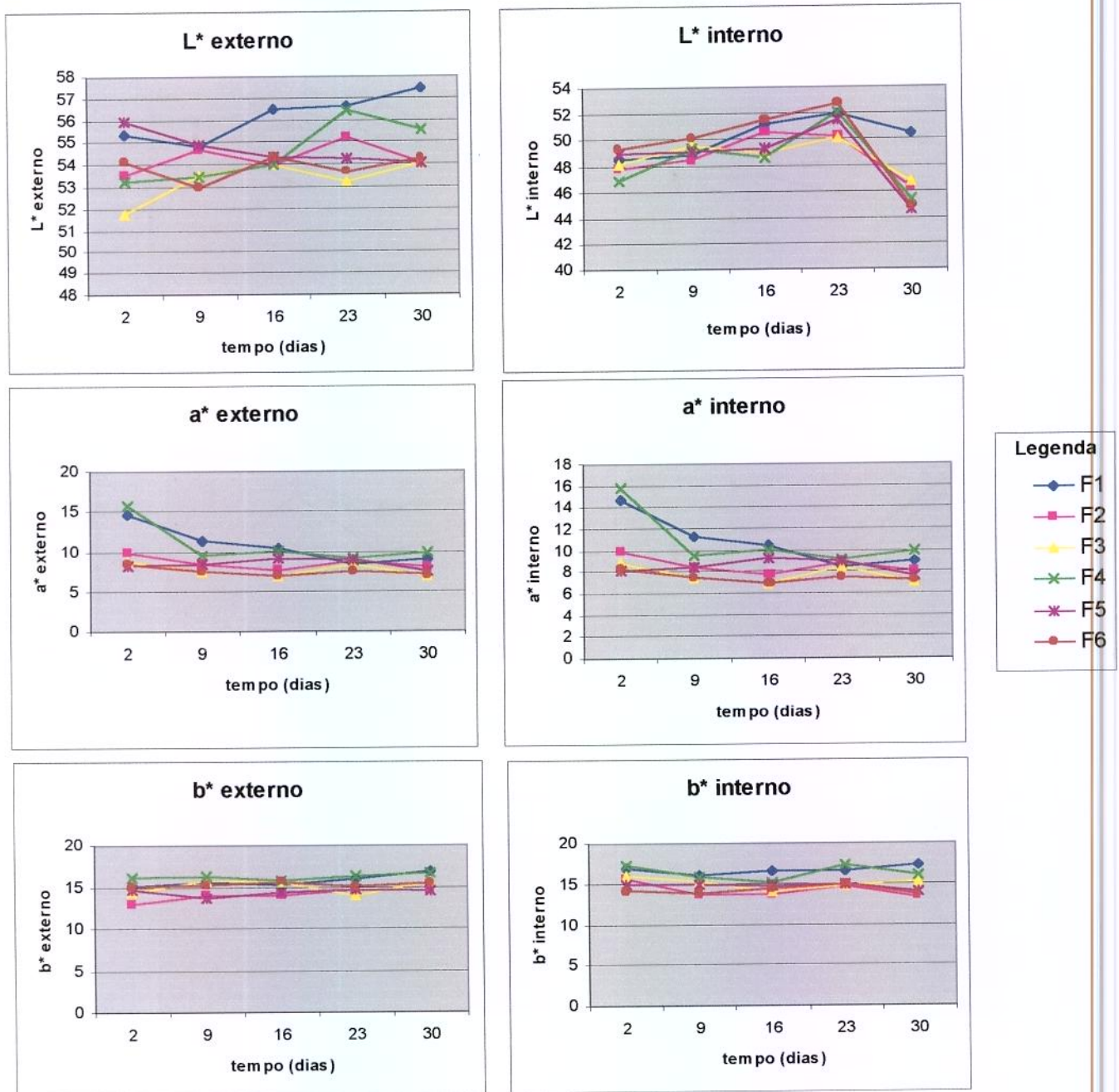
A determinação da cor através dos parâmetros $L^*a^*b^*$, obtidos através do espectrocolorímetro ColorQUEST Sphere, não se mostrou adequada para o produto analisado, devido à heterogeneidade da distribuição e tamanho dos pedaços das carnes suína, bovina e toucinho. Para a avaliação da cor externa havia, ainda, a interferência da tripa utilizada como invólucro, cuja espessura não é uniforme, por se tratar de um insumo natural.

Figura 16 - Evolução dos parâmetros referentes à cor objetiva ($L^*a^*b^*$) em diferentes formulações de lingüiça mista frescal armazenadas a 3°C – **Processamento 1.**



F1: 0 ppm de nitrito de sódio / 0% de lactato de sódio
 F2: 200 ppm de nitrito de sódio / 0% de lactato de sódio
 F3: 400 ppm de nitrito de sódio / 0% de lactato de sódio
 F4: 0 ppm de nitrito de sódio / 1,2% de lactato de sódio
 F5: 200 ppm de nitrito de sódio / 1,2% de lactato de sódio
 F6: 400 ppm de nitrito de sódio / 1,2% de lactato de sódio

Figura 17 - Evolução dos parâmetros referentes à cor objetiva ($L^*a^*b^*$) em diferentes formulações de lingüiça mista fresca armazenadas a 3°C – **Processamento 2.**



F1: 0 ppm de nitrito de sódio / 0% de lactato de sódio
 F2: 200 ppm de nitrito de sódio / 0% de lactato de sódio
 F3: 400 ppm de nitrito de sódio / 0% de lactato de sódio
 F4: 0 ppm de nitrito de sódio / 1,2% de lactato de sódio
 F5: 200 ppm de nitrito de sódio / 1,2% de lactato de sódio
 F6: 400 ppm de nitrito de sódio / 1,2% de lactato de sódio

4.2.2 - Análises Microbiológicas

Houve uma grande diferença na evolução microbiológica entre os 2 processamentos estudados. Este fato, provavelmente, foi devido à contagem inicial de microrganismos psicrotróficos da matéria-prima empregada, a qual foi cerca de 1 log UFC/g superior no Processamento 1. Assim, nos estudos comparativos entre os 2 processamentos, considerou-se o Processamento 1 como sendo de alta contagem inicial e o Processamento 2 como o de baixa contagem inicial.

No Processamento 1, partindo-se de uma matéria-prima (mistura de carne suína, carne bovina e toucinho na proporção de 1,5:1:0,9) com contagem de $1,5 \times 10^5$ UFC/g, as contagens do dia 1, ou seja, no dia do embutimento, 24 horas após a mistura das carnes e demais ingredientes, foram diferentes para as 6 formulações (*Figura 18*). A contagem de 10^6 UFC/g, indicativa do início da deterioração (Delazari, 1977; O'Connor et al., 1993) foi atingida pelas amostras sem nitrito (F1 e F4) após 4 dias de armazenagem. A contagem de psicrotróficos da formulação F4 foi ligeiramente inferior à da sem lactato (F1) até o 11º dia, quando superou a contagem da formulação F1, alcançando contagens de até 8,84 log UFC/g. As formulações com nitrito e sem lactato (F2 e F3) atingiram 10^6 UFC/g após o 7º e o 11º dias, respectivamente; enquanto que amostras contendo nitrito e lactato (F5 e F6) alcançaram este valor após 14 dias de estocagem. O crescimento de bactérias lácticas (*Figura 20*), em geral, seguiu a mesma tendência de desenvolvimento descrito para contagem total de microrganismos psicrotróficos.

No Processamento 2 (*Figura 19*), todas amostras apresentaram contagens iniciais (24 horas após a mistura) similares, em torno de 10^4 UFC/g, partindo-se de matéria-prima com contagem de $1,5 \times 10^4$ UFC/g. Neste processamento, a amostra sem conservantes (F1) atingiu 10^6 UFC/g após 11 dias de estocagem a 3°C. A amostra sem nitrito e com 1,2% de lactato (F4) e as amostras com nitrito e sem lactato (F2 e F3) atingiram este valor após 14 dias. Amostras contendo nitrito

e lactato de sódio (F5 e F6) só atingiram 10^6 UFC/g entre 14 e 21 dias, cerca de 3 dias após as amostras contendo só nitrito ou somente lactato. A contagem de bactérias lácticas (*Figura 21*), inicialmente inferior à contagem total de microrganismos psicrotróficos, chegou a valores de 10^6 UFC/g nos mesmos períodos descritos para a contagem total.

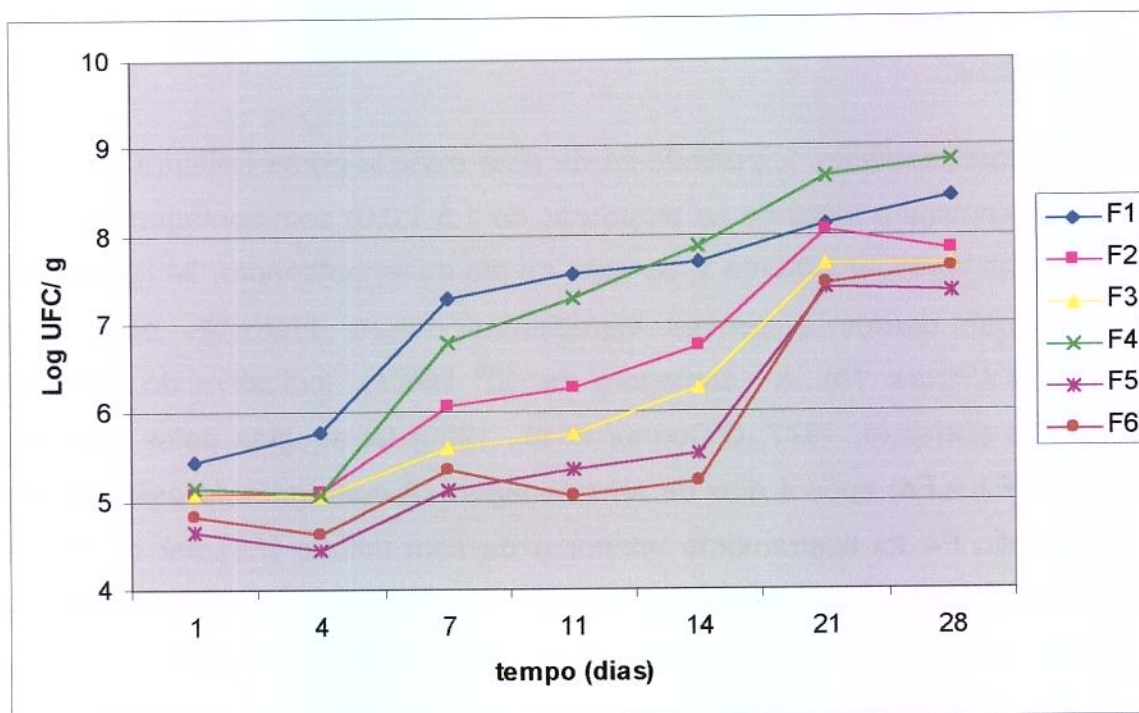


Figura 18 - Evolução da contagem total de microrganismos psicrotróficos durante a vida de prateleira de diferentes formulações de lingüiça mista fresca, armazenadas a 3°C – **Processamento 1**.

F1: 0 ppm de nitrito de sódio / 0% de lactato de sódio

F2: 200 ppm de nitrito de sódio / 0% de lactato de sódio

F3: 400 ppm de nitrito de sódio / 0% de lactato de sódio

F4: 0 ppm de nitrito de sódio / 1,2% de lactato de sódio

F5: 200 ppm de nitrito de sódio / 1,2% de lactato de sódio

F6: 400 ppm de nitrito de sódio / 1,2% de lactato de sódio

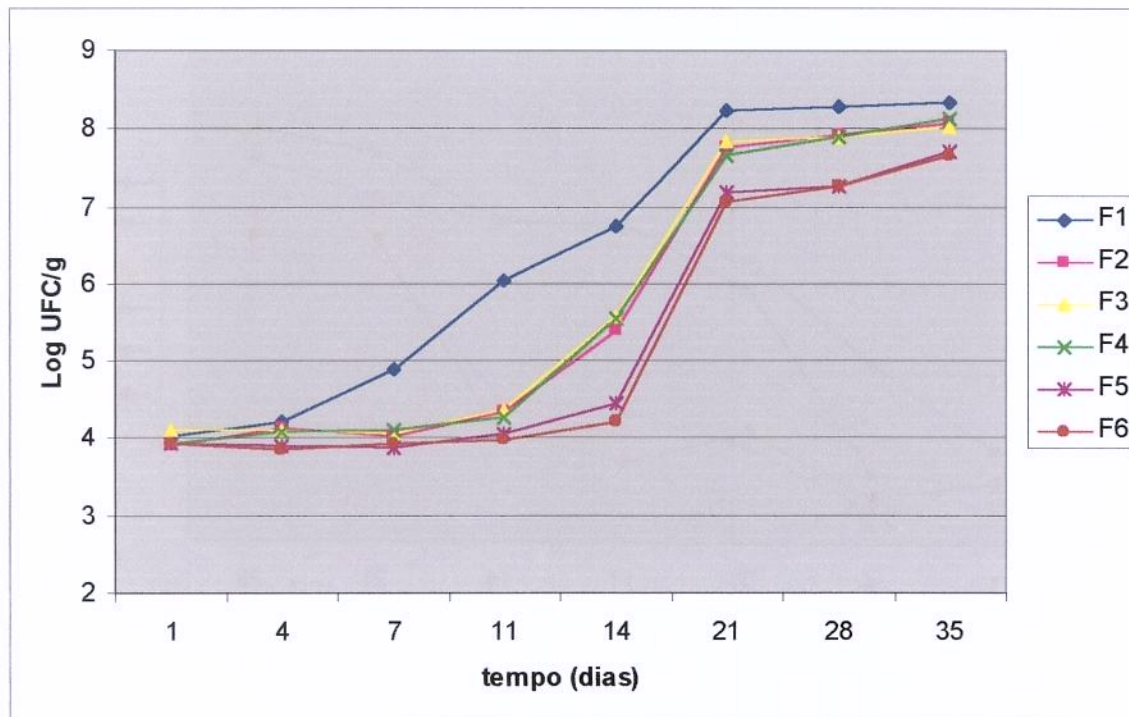


Figura 19 - Evolução da contagem total de microrganismos psicotróficos durante a vida de prateleira de diferentes formulações de lingüiça mista fresca armazenadas a 3°C – **Processamento 2**.

F1: 0 ppm de nitrito de sódio / 0% de lactato de sódio

F2: 200 ppm de nitrito de sódio / 0% de lactato de sódio

F3: 400 ppm de nitrito de sódio / 0% de lactato de sódio

F4: 0 ppm de nitrito de sódio / 1,2% de lactato de sódio

F5: 200 ppm de nitrito de sódio / 1,2% de lactato de sódio

F6: 400 ppm de nitrito de sódio / 1,2% de lactato de sódio

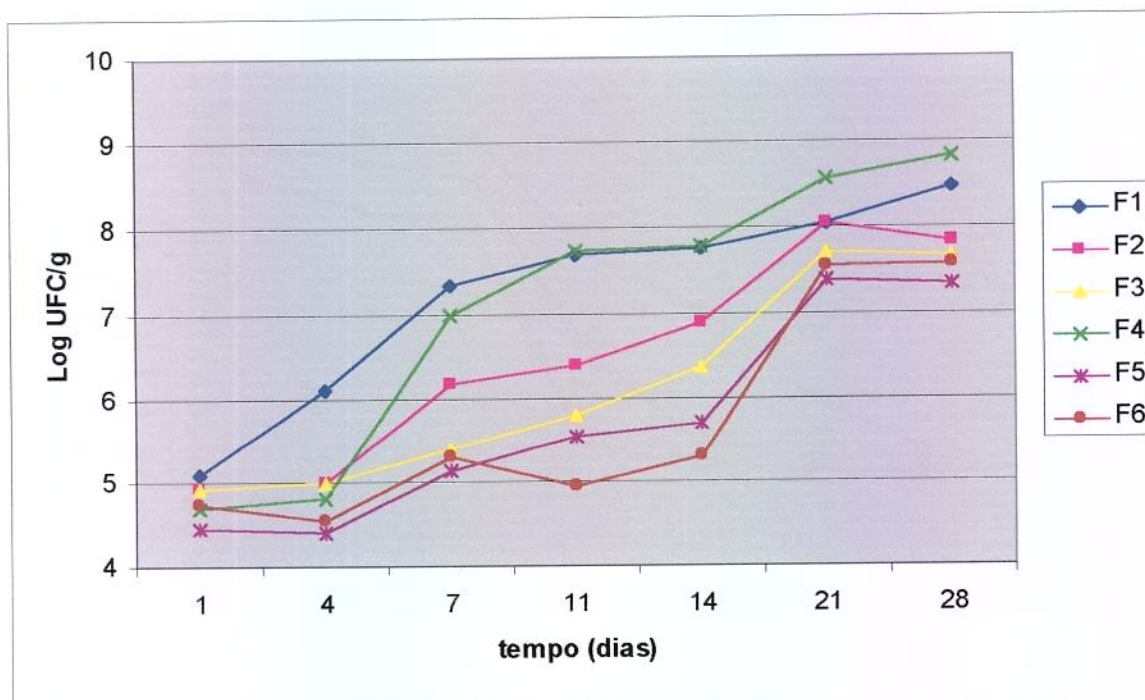


Figura 20 - Evolução da contagem de bactérias lácticas durante a vida de prateleira de diferentes formulações de lingüiça mista fresca armazenadas a 3°C – **Processamento 1.**

F1: 0 ppm de nitrito de sódio / 0% de lactato de sódio

F2: 200 ppm de nitrito de sódio / 0% de lactato de sódio

F3: 400 ppm de nitrito de sódio / 0% de lactato de sódio

F4: 0 ppm de nitrito de sódio / 1,2% de lactato de sódio

F5: 200 ppm de nitrito de sódio / 1,2% de lactato de sódio

F6: 400 ppm de nitrito de sódio / 1,2% de lactato de sódio

A comparação entre as Figuras 18 e 20, e as Figuras 19 e 21, aponta similaridade na evolução das bactérias lácticas em relação ao desenvolvimento de microrganismos psicotróficos totais no decorrer do armazenamento do produto. Este fato também foi observado por Gou et al. (1998), os quais avaliariam o efeito da adição de lactato de sódio e bissulfito de potássio em lingüiça seca curada.

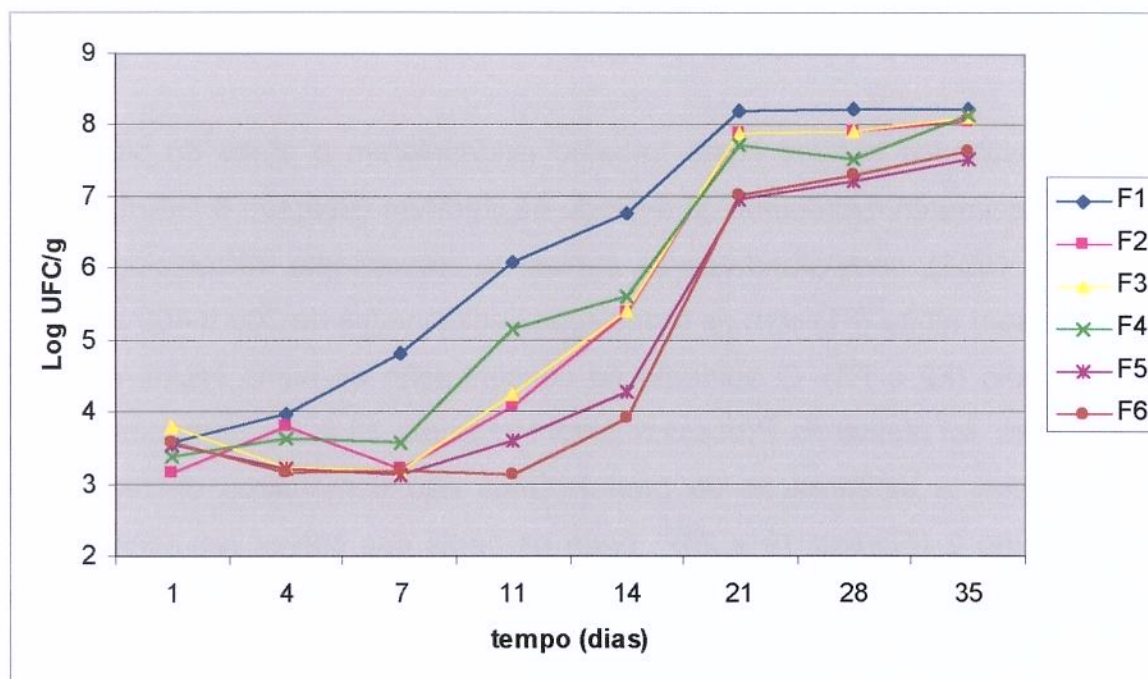


Figura 21 - Evolução da contagem de bactérias lácticas durante a vida de prateleira de diferentes formulações de lingüiça mista fresca armazenadas à 3°C – **Processamento 2**.

F1: 0 ppm de nitrito de sódio / 0% de lactato de sódio

F2: 200 ppm de nitrito de sódio / 0% de lactato de sódio

F3: 400 ppm de nitrito de sódio / 0% de lactato de sódio

F4: 0 ppm de nitrito de sódio / 1,2% de lactato de sódio

F5: 200 ppm de nitrito de sódio / 1,2% de lactato de sódio

F6: 400 ppm de nitrito de sódio / 1,2% de lactato de sódio

Em geral, pode-se observar que a adição de 1,2% de lactato de sódio à formulação de lingüiça mista fresca pode estender por cerca de 3 dias a fase lag de crescimento dos microrganismos presentes. O efeito antimicrobiano do lactato de sódio foi mais evidente no Processamento 1, em que a contagem total inicial era mais alta, sendo que, na formulação contendo 200 ppm de nitrito, a adição de lactato prorrogou em 1 semana a contagem indicativa de deterioração do produto. O'Connor et al. (1993) também demonstraram que a adição de 3,0% de lactato de sódio em carne suína fresca retardou sua deterioração em 12 dias, atribuindo tal efeito à extensão da fase lag. Da mesma forma, Lamkey et al. (1991) observaram que a fase lag de crescimento microbiano em lingüiça suína fresca aumentou de 10 para 20 dias, devido à adição de 3% de lactato de sódio (sol. 60%). Shelef et

al. (1997) observaram um aumento de 4 dias na vida de prateleira de carne bovina fresca adicionada de 2% de lactato de sódio.

Os resultados obtidos neste trabalho evidenciaram o efeito do nitrito de sódio no crescimento microbiano, já relatado na literatura (Pearson & Gillett, 1996; Pardi et al., 1994), comparando-se as curvas de crescimento microbiológico da formulação sem nitrito (F1) com as formulações adicionadas de 200 e 400 ppm de nitrito de sódio (F2 e F3). O aumento na concentração de nitrito inicial, de 200 para 400 ppm, foi efetivo no Processamento 1 (*Figuras 18 e 21*), retardando em mais de 4 dias a deterioração do produto, mas não demonstrou diferença no Processamento 2 (*Figuras 19 e 20*), onde os perfis das curvas representativas das formulações F2 e F3 foram muito similares.

Em condições aonde a matéria-prima já apresente uma contaminação inicial maior, a ação do nitrito pode ser mais efetiva, motivo pelo qual algumas indústrias empregariam quantidades superiores ao permitido por lei (Toyohara, 1989). Esta melhor efetividade pode estar envolvida com quantidade de enzima bacteriana disponível para reação com o nitrito.

4.2.3 – Análise Sensorial

Em geral, as avaliações sensoriais realizadas logo após a produção (1º dia), tanto para o Processamento 1 como para o Processamento 2, não mostraram diferenças significativas ($p < 0,05$) nas amostras adicionadas de lactato de sódio e nitrito de sódio (200 ou 400 ppm), para todos os atributos avaliados, com exceção da “aparência do produto cru” do Processamento 1 (*Tabelas 6 e 8*). Com relação a este atributo, em ambos processamentos as amostras sem nitrito (F1 e F4) apresentaram as maiores médias, sendo que no Processamento 2, foram significativamente diferentes ($p > 0,05$) com relação às demais formulações, sendo preferidas devido à coloração mais vermelha, característica de carne fresca não curada. As formulações adicionadas de nitrito, devido ao início da reação do pigmento da carne e óxido nítrico (formação de nitrosomioglobina), apresentavam coloração marrom (Pardi et al., 1994), fato que, provavelmente, causou impacto negativo aos provadores. Entretanto, com relação ao parâmetro “aparência do produto frito”, as amostras com nitrito (F1 e F4) apresentaram médias muito inferiores às das formulações com nitrito, apresentando diferença significativa ($p < 0,05$), fato este devido à sua coloração marrom acinzentada, característica de carne cozida não curada.

Bloukas et al. (1997) também não encontram diferenças significativas ($p > 0,05$) nas características de qualidade (sensoriais, textura e cor instrumental) em salsichas tratadas com 1 ou 2% de lactato de sódio.

Uma semana após o processamento (8º dia), as amostras sem nitrito (F1 e F4) não foram avaliadas com relação aos parâmetros sabor, textura e termos globais, devido ao risco microbiológico (*Tabelas 7 e 9*).

Para as formulações adicionadas de nitrito, não houve diferença significativa ($p > 0,05$) na textura e “aparência do produto frito”, independentemente das quantidades de nitrito e lactato adicionadas, e do tempo de estocagem, em ambos processamentos. Da mesma forma, a adição de lactato de sódio também

não apresentou efeito sobre a textura em salsichas Frankfurter, avaliadas por Bloukas et al. (1997). O possível aumento da suculência de carnes suína e bovina devido à adição de lactato de sódio, relatadas por Sutton et al. (1997), Papadopoulos et al. (1991b) e O'Connor et al. (1993), não foi relatado pelos provadores em nosso trabalho.

Na análise realizada no 8º dia de processamento, o atributo “aparência do produto frito”, para as formulações sem nitrito (F1 e F4), obteve médias inferiores às demais formulações, apresentando diferença significativa ($p > 0,05$) com relação às demais formulações, em ambos processamentos, como ocorreu no 1º dia após o processamento.

Na avaliação sensorial realizada no 8º dia do Processamento 1 (*Tabela 7, Figura 23*), a formulação F2 (200 ppm de nitrito, sem adição de lactato de sódio) foi preferida em relação ao sabor, apesar de não apresentar diferença significativa ($p > 0,05$) com relação a F3 e F6, ambas com 400 ppm de nitrito, sem e com 1,2% de lactato de sódio, respectivamente.

No Processamento 2 (*Tabela 9, Figura 23*), as maiores médias com relação ao atributo sabor, obtidas no 8º dia após o processamento, foram atingidas pelas amostras F5 e F6 (200 e 400 ppm de nitrito, adicionadas de 1,2% de lactato de sódio, respectivamente). Alguns autores sugerem que a intensidade do sabor da carne suína poderia ser melhorada pela adição de lactato de sódio (Sutton et al., 1997; O'Connor et al. 1993, Calhoun et al., 1999).

Alguns panelistas apontaram o teor de sal ou o sabor do tempero, como sendo características que os agradaram nas amostras adicionadas de lactato de sódio. De acordo com Bloukas et al. (1997), Papadopoulos et al. (1991a), Brewer et al. (1991, 1993), Kim & Brewer (1996), o lactato de sódio intensifica o sabor salgado, devido ao íon sódio.

Watts (1962), citado por Calhoun et al. (1999), utilizou avaliação sensorial “threshold” e reportou que a quantidade para detecção de rancidez em carne

fresca variava entre 1 a 2 TBA-RS (mg malonaldeído/kg carne). Em nosso trabalho, este valor foi atingido pelas formulações sem nitrito já na primeira semana de processamento, tanto para o Processamento 1 como o 2, o que pode explicar o comentário realizado por alguns panelistas com relação ao sabor rançoso das formulações F1 e F4.

Amostras adicionadas de nitrito foram preferidas, evidenciando a tendência do consumidor em correlacionar o produto “lingüiça” com um produto curado, pelas características de cor e sabor proporcionadas pelo nitrito de sódio.

Tabela 6 - Conceitos atribuídos na avaliação sensorial de diferentes formulações de lingüiça mista fresca no 1º dia após seu processamento – Processamento 1.

Tratamento		Atributos									
NaNO₃	Lactato de sódio	Termos globais		Sabor		Textura		Aparência Frito		Aparência Cru	
(ppm)	(%)	média	Desvio	média	desvio	média	desvio	média	desvio	média	desvio
0	0	4,93 ^a	1,71	4,93 ^a	1,75	6,17 ^a	1,92	4,73 ^a	1,70	6,67 ^{ac}	1,22
200	0	7,53 ^b	1,18	7,63 ^b	1,12	7,40 ^b	1,15	7,03 ^b	1,03	6,27 ^{a,b}	1,36
400	0	7,60 ^b	0,94	7,47 ^b	1,35	7,53 ^b	1,23	7,33 ^b	1,14	5,60 ^b	1,40
0	1,2	5,33 ^a	1,79	5,40 ^a	1,96	6,27 ^a	1,89	4,93 ^a	1,80	6,87 ^a	1,17
200	1,2	7,56 ^b	0,96	7,40 ^b	1,04	7,37 ^b	1,15	7,30 ^b	1,07	6,13 ^{b,c}	1,32
400	1,2	7,77 ^b	1,15	7,80 ^b	1,29	7,70 ^b	1,09	7,53 ^b	1,14	5,77 ^b	1,55

*amostras com letras iguais na mesma coluna não apresentam diferença significativa entre si (p>0,05)

** escala utilizada: 1=desgostei extremamente a 9=gostei extremamente

Tabela 7 - Conceitos atribuídos na avaliação sensorial de diferentes formulações lingüiça mista frescal na 1ª semana (8º dia) após seu processamento – **Processamento 1.**

Tratamento		Atributos									
NaNO₃	Lactato de sódio	Termos globais		Sabor		Textura		Aparência Frito		Aparência Cru	
(ppm)	(%)	média	desvio	média	desvio	média	desvio	média	desvio	média	desvio
0	0	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	5,17 ^a	1,83	5,83 ^a	1,56
200	0	7,63 ^a	0,88	7,97 ^a	0,99	7,77 ^a	1,01	7,60 ^b	1,12	7,10 ^b	1,44
400	0	7,60 ^a	1,02	7,67 ^{a,b}	1,15	7,70 ^a	1,89	7,27 ^b	1,15	6,47 ^{a,b}	1,59
0	1,2	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	5,20 ^a	1,59	6,73 ^b	1,67
200	1,2	7,30 ^a	1,31	7,20 ^b	1,57	7,67 ^a	1,27	7,37 ^b	1,07	6,53 ^{a,b}	1,51
400	1,2	7,70 ^a	1,14	7,83 ^a	1,09	7,67 ^a	1,41	7,27 ^b	1,47	6,37 ^{a,b}	1,41

*amostras com letras iguais na mesma coluna não apresentam diferença significativa entre si (p>0,05)

** escala utilizada: 1=desgostei extremamente a 9=gostei extremamente

*** n.d.: não determinado

Tabela 8 - Conceitos atribuídos na avaliação sensorial de diferentes formulações de lingüiça mista fresca no 1º dia após seu processamento – **Processamento 2.**

Tratamento		Atributos									
NaNO₃	Lactato de sódio	Termos globais		Sabor		Textura		Aparência Frito		Aparência Cru	
(ppm)	(%)	média	desvio	média	desvio	média	desvio	média	desvio	média	desvio
0	0	5,13 ^a	1,61	5,23 ^a	1,87	6,43 ^a	1,68	3,97 ^a	1,69	7,40 ^a	1,16
200	0	7,63 ^b	0,85	7,77 ^b	0,86	7,60 ^b	1,16	7,37 ^b	0,93	6,10 ^b	1,30
400	0	7,80 ^b	0,81	7,73 ^b	1,17	7,43 ^b	1,10	7,60 ^b	1,07	6,40 ^b	1,19
0	1,2	5,30 ^a	1,60	5,63 ^a	1,87	6,50 ^a	1,48	3,97 ^a	1,67	7,53 ^a	0,94
200	1,2	7,33 ^b	1,15	7,47 ^b	0,94	7,53 ^b	0,97	7,67 ^b	1,12	6,13 ^b	1,28
400	1,2	7,43 ^b	0,90	7,67 ^b	0,99	7,53 ^b	1,22	7,33 ^b	1,21	6,33 ^b	1,18

*amostras com letras iguais na mesma coluna não apresentam diferença significativa entre si (p>0,05)

** escala utilizada: 1=desgostei extremamente a 9=gostei extremamente

Tabela 9 - Conceitos atribuídos na avaliação sensorial de diferentes formulações de lingüiça mista frescal na 1ª semana (8º dia) após seu processamento – **Processamento 2**.

<i>Tratamento</i>		<i>Atributos</i>									
NaNO ₃	Lactato de sódio	Termos globais		Sabor		Textura		Aparência Frito		Aparência Cru	
(ppm)	(%)	média	Desvio	média	desvio	média	desvio	média	desvio	média	desvio
0	0	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	4,57 ^a	1,74	6,10 ^a	1,47
200	0	7,50 ^{a,b}	0,94	7,50 ^{a,b}	1,17	7,73 ^a	1,20	7,60 ^b	0,86	6,73 ^a	1,23
400	0	7,10 ^a	1,24	6,93 ^a	1,46	7,26 ^a	1,23	7,63 ^b	1,00	6,53 ^a	1,43
0	1,2	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	4,97 ^a	1,87	6,50 ^a	1,17
200	1,2	7,63 ^{a,b}	0,89	7,73 ^b	1,05	7,67 ^a	1,37	7,33 ^b	1,03	6,53 ^a	1,46
400	1,2	7,73 ^b	1,01	7,70 ^b	1,12	7,57 ^a	1,30	7,5 ^b	1,04	6,43 ^a	1,41

*amostras com letras iguais na mesma coluna não apresentam diferença significativa entre si (p>0,05)

** escala utilizada: 1=desgostei extremamente a 9=gostei extremamente

*** n.d.: não determinado

Figura 22 - Distribuição dos valores atribuídos a diferentes formulações de lingüiça mista frescal na avaliação sensorial realizada no 1º e 8º dia após o processamento, com relação ao atributo “TERMOS GLOBAIS” (escala: 1=desgostei extremamente, 5= não gostei nem desgostei, 9= gostei extremamente).

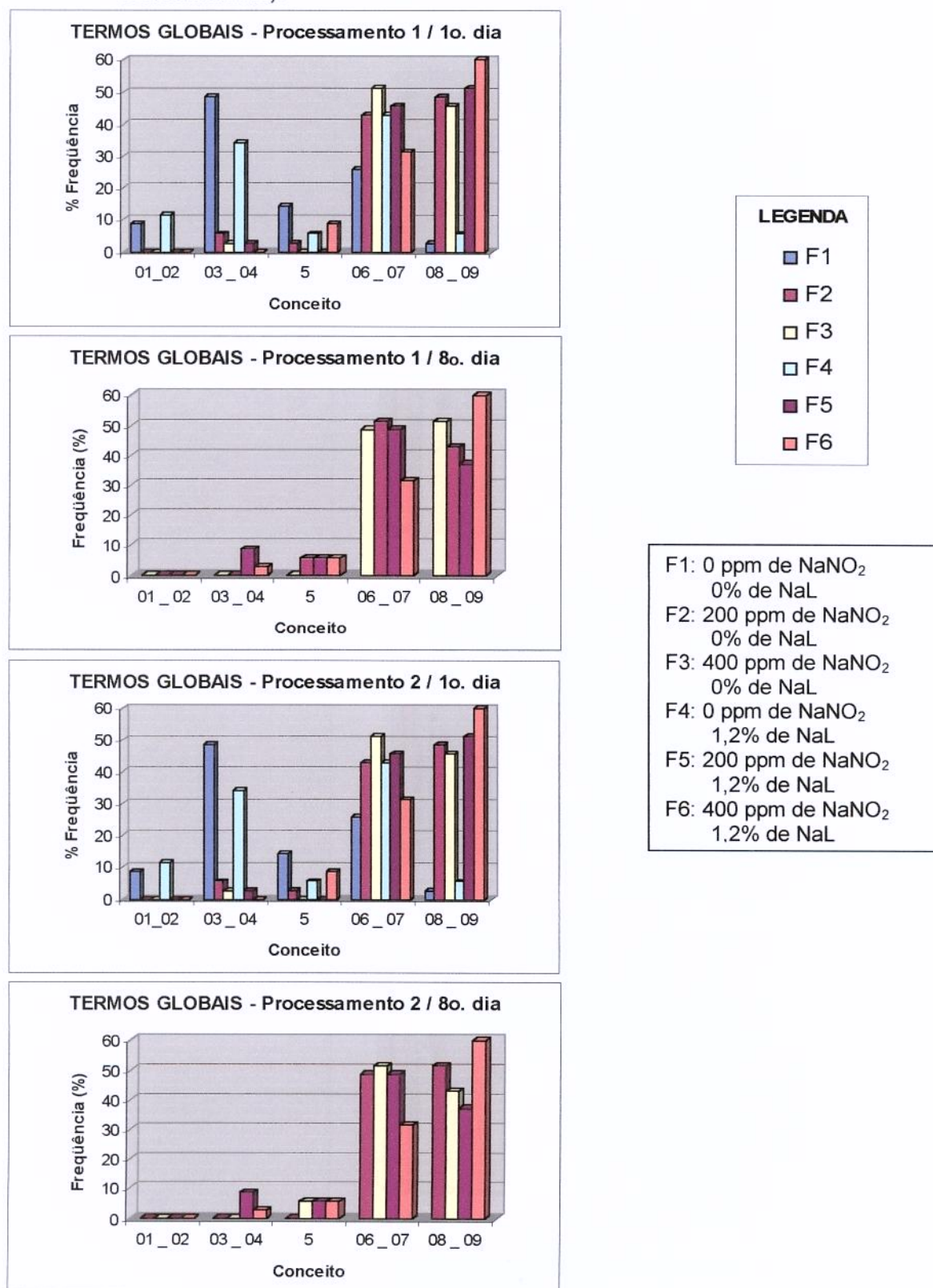


Figura 23 - Distribuição dos valores atribuídos a diferentes formulações de lingüiça mista frescal na avaliação sensorial realizada no 1º e 8º dia após o processamento, com relação ao atributo “SABOR” (escala: 1=desgostei extremamente, 5= não gostei nem desgostei, 9= gostei extremamente).

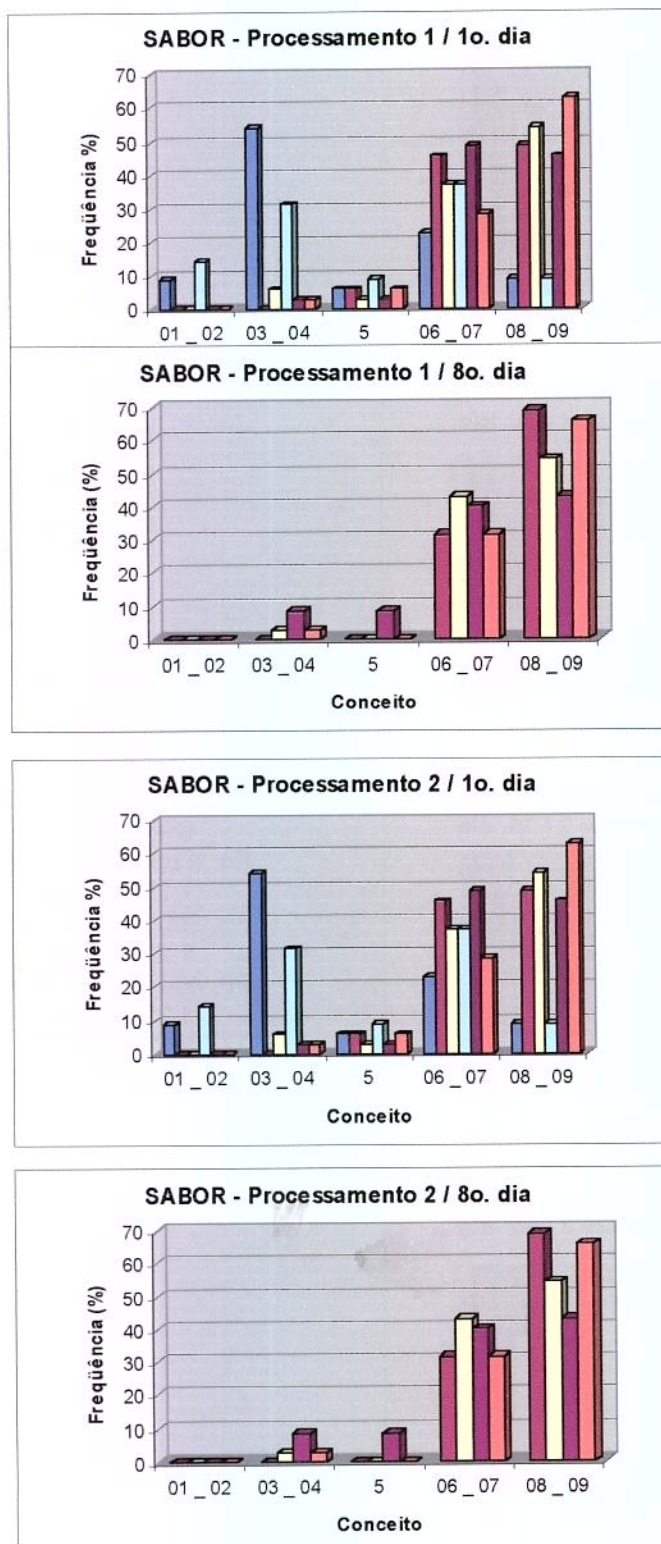


Figura 24 - Distribuição dos valores atribuídos a diferentes formulações de lingüiça mista fresca na avaliação sensorial realizada no 1º e 8º dia após o processamento, com relação ao atributo "TEXTURA" (escala: 1=desgostei extremamente, 5= não gostei nem desgostei, 9= gostei extremamente).

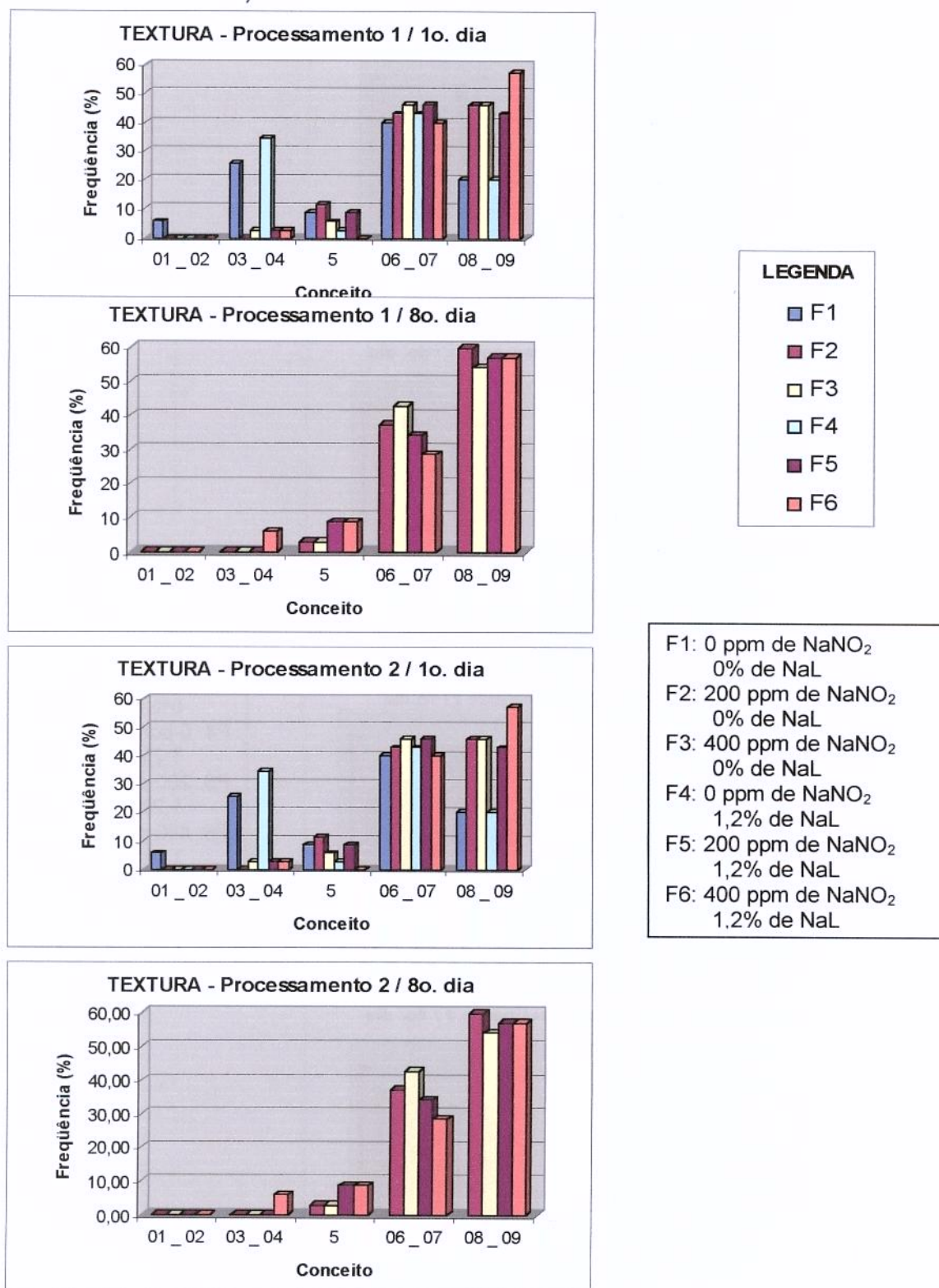


Figura 25 - Distribuição dos valores atribuídos a diferentes formulações de lingüiça mista fresca na avaliação sensorial realizada no 1º e 8º dia após o processamento, com relação ao atributo “APARÊNCIA DO PRODUTO FRITO” (escala: 1=desgostei extremamente, 5= não gostei nem desgostei, 9= gostei extremamente).

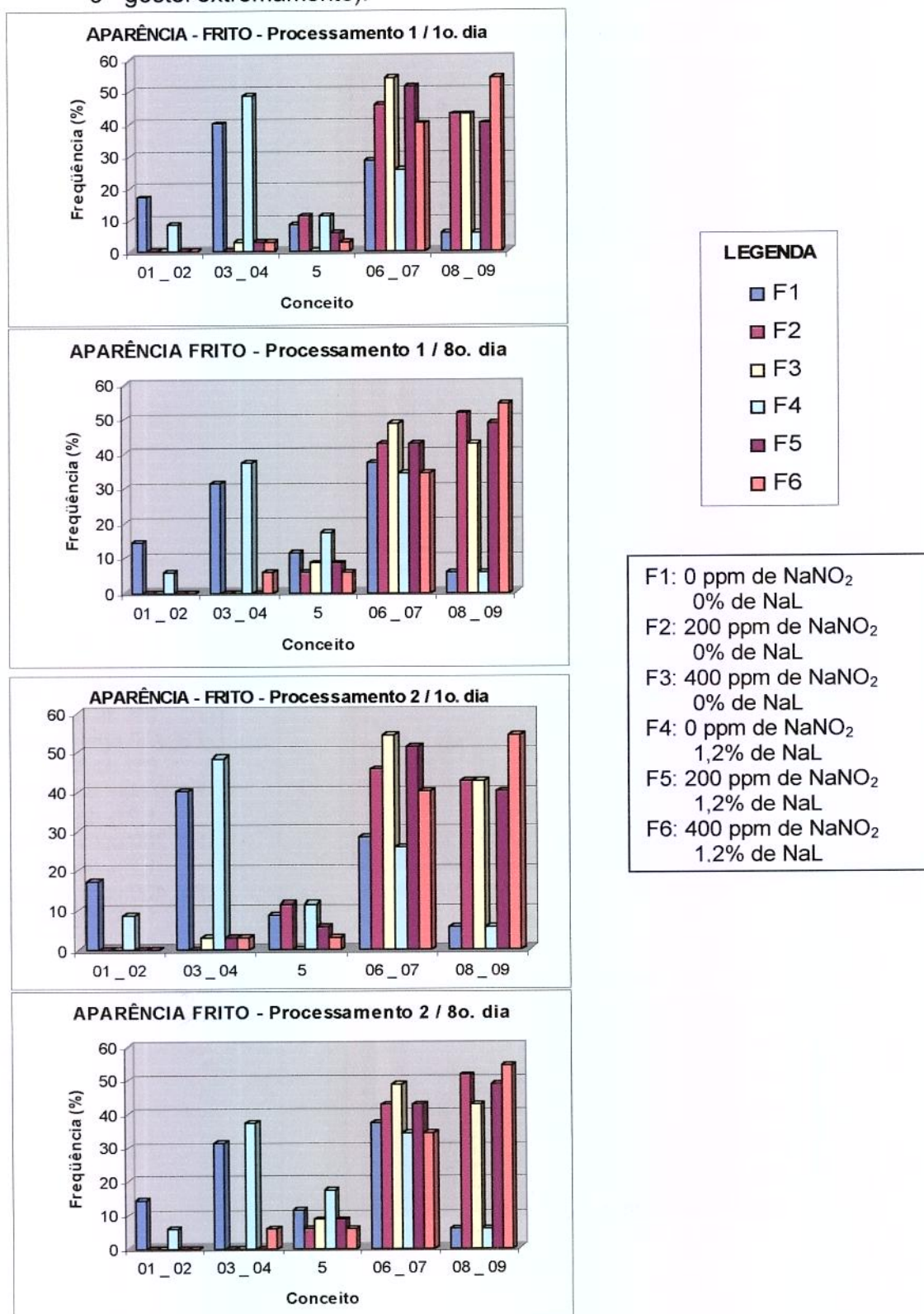
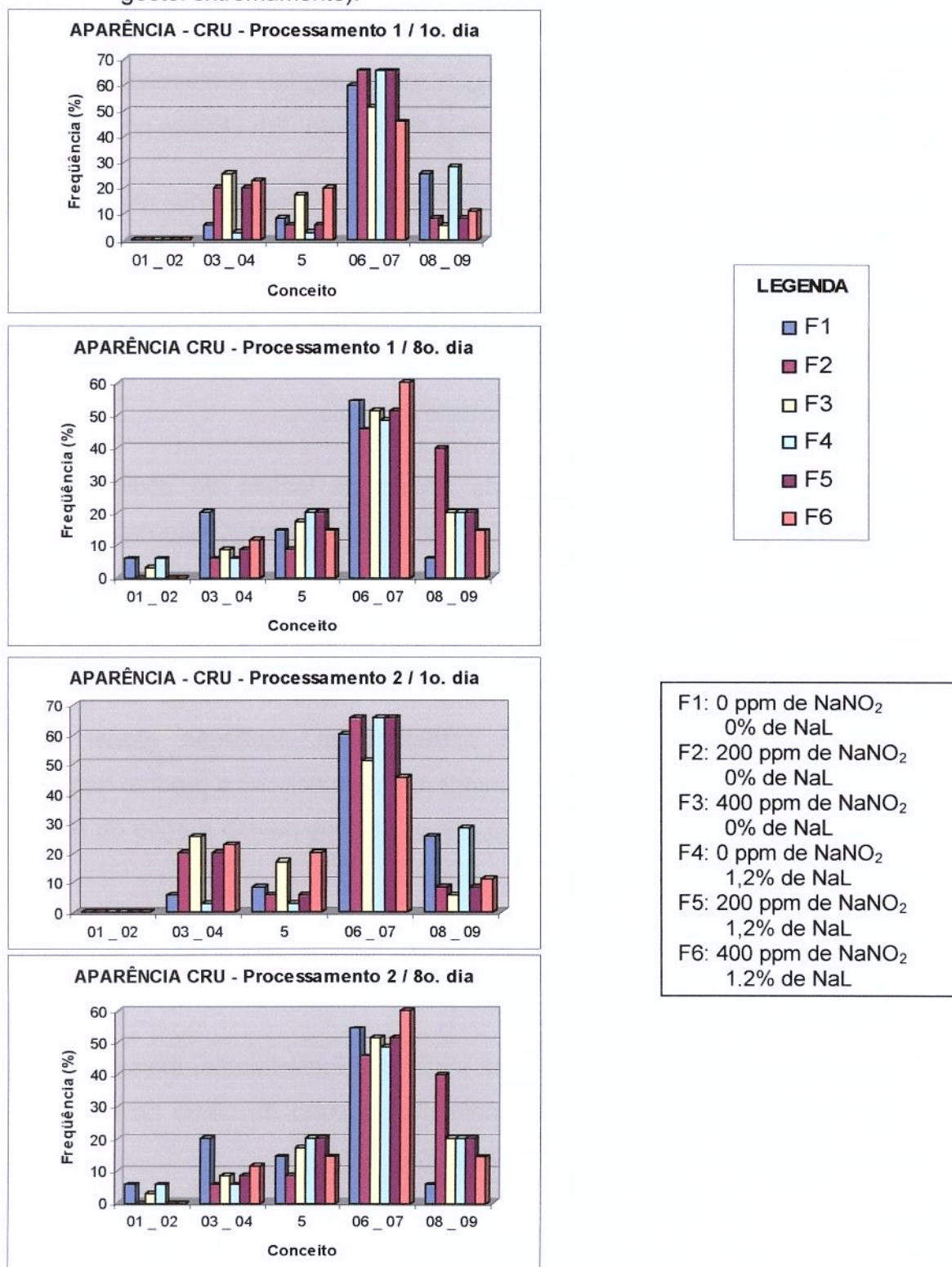


Figura 26 - Distribuição dos valores atribuídos a diferentes formulações de lingüiça mista fresca na avaliação sensorial realizada no 1º e 8º dia após o processamento, com relação ao atributo “APARÊNCIA DO PRODUTO CRU” (escala: 1=desgostei extremamente, 5= não gostei nem desgostei, 9= gostei extremamente).



5 - CONCLUSÕES

Os resultados obtidos neste trabalho evidenciaram que o emprego de lactato de sódio no processamento de lingüiça mista frescal pode ter influência direta sobre alguns parâmetros físico-químicos, sensoriais e microbiológicos que determinam a qualidade e vida de prateleira do produto. Em síntese concluímos:

- a adição de 1,2% de lactato de sódio retarda o crescimento microbiano de bactérias psicrotróficas totais e bactérias lácticas, estabiliza o pH, reduz a atividade de água e retarda a oxidação lipídica;
- o nitrito de sódio é um agente que contribue de forma mais acentuada para o retardamento da rancidez do que o lactato de sódio;
- não ficou evidenciada influência da adição de lactato de sódio sobre os parâmetros de cor instrumental L^* a^* b^* , tanto interna como externamente;
- a análise sensorial dos atributos sabor, textura, termos globais, aparência do produto cru e aparência do produto frito, não apontou diferenças significativas ($p < 0,05$) para as amostras formuladas com nitrito e lactato, em conjunto; entretanto, amostras sem nitrito apresentaram aceitação global inferior evidenciando a tendência do consumidor em correlacionar o produto “lingüiça” a um produto curado, com cor e sabor característicos devido a ação do nitrito de sódio;
- a adição de 1,2% de lactato de sódio promove a extensão da fase lag de desenvolvimento microbiano por um período de 3 dias;
- quanto maior a contagem microbiana inicial dos ingredientes, mais significativa será a contribuição do nitrito de sódio e do lactato de sódio no controle do desenvolvimento microbiano do produto final;

- o emprego de lactato de sódio em combinação com nitrito de sódio apresenta-se como excelente alternativa para o aumento da vida de prateleira de lingüiça fresca, bem como na redução da quantidade de nitrito utilizada nestas formulações, sem detrimento da sua qualidade organoléptica.

O emprego de aditivos “GRAS” (Generally Recognized as Safe), em substituição total ou parcial de aditivos cujas dosagens abusivas poderiam afetar negativamente a saúde, deve continuar sendo tema para outros estudos, uma vez que se trata de um importante “obstáculo” contra os microrganismos deterioradores e patogênicos, entretanto, as condições higiênico-sanitárias da matéria-prima e do processo não podem ser negligenciadas para se atingir a segurança alimentar pretendida.

6 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION. **Compendium of methods for microbiological examination of foods**. 3rd ed., Washigton: American Public Health Association, 1992. 1219p.

ACUFF, G.K.; ANDERZANT, C.; SAVELL, J.W.; JONES, D.K.; GRIFFIN, D.B.; EHLERS, J.G. Effect of acid decontamination of beef subprimal cuts on the microbiological and sensory characteristics of steaks. **Meat Science**, Great Britain, v. 19, n. 2, p. 217-226, 1987.

AMARAL, L. A.; NADER FILHO, A.; LACAVA, P. M. Colorimetria e pesquisa de *S. aureus* em lingüiça de carne suína tipo "frescal" comercializada em Jaboticabal/ SP. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 3, n. 3 /4, p. 211-214, set./dez., 1984.

ANDERSON, M. E.; HUFF, H. E.; NAUMANN, H. D.; DAMARE, J. M.; PRATT, M.; JOHNSON, R.; MARSHALL, R. T. Evaluation of nan automated beef carcass washing and sanitizing system under production conditions. **Journal of Food Protection**, Des Moines, v. 50, n. 5, p.562-566, 1987.

BANKS, W. T.; WANG, C.; BREWER, M. S. Sodium lactate/ sodium tripolyphosphate combination effects on aerobic plate counts, pH and color of fresh pork *longissimus* muscle. **Meat Science**, Great Britain, v. 50, n. 4, p. 499-504, 1998.

BARRETO, G. **Caracterização microbiológica, sensorial e nutricional de lingüiça congelada contendo carne de frango mecanicamente separada**. Campinas, 1995. Tese (Mestre em Tecnologia de Alimentos). Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas.

BEUCHAT, L.R.; GOLDEN, D. A. Antimicrobials occuring naturally in foods. **Food technology**, Chicago, v. 43, n. 1, p.135, Jan., 1989.

BLOUKAS, J.G.; PANERAS, E.D. & FOURNITZIS, G.C. Sodium lactate and protective culture effects on quality characteristics and shelf life of low fat frankfurters produced with olive oil. **Meat Science**, Great Britain, v. 45, n. 2, p. 223-233, 1997.

BRASIL. Instrução Normativa nº 4, de 31 de março de 2000, Ministério da Agricultura e Abastecimento. Aprova os regulamentos técnicos de identidade e qualidade de carne mecanicamente separada, de mortadela, de lingüiça e de salsicha. **Diário Oficial da União**: Brasília, 5 abr., 2000.

BRASIL. Ofício nº AUP 235/90, de 15 de janeiro de 1990, Secretaria de Inspeção de Produto Animal, Ministério da Agricultura e Abastecimento. Autoriza o emprego do lactato de sódio como coadjuvante tecnológico na preparação de carnes destinadas a fabricação de produtos à base de carnes em geral na proporção de 2% sobre o produto final. Brasília, 15 jan., 1990.

BRASIL. Portaria nº 1004, de 11 de dezembro de 1998, Secretaria da Vigilância Sanitária, Ministério da Saúde. Aprova o Regulamento Técnico: "Atribuição de Função de Aditivos, Aditivos e seus Limites Máximo de uso para a Categoria B – Carne e Produtos Cárneos". **Diário Oficial da União**: Brasília, 22 mar., 1999.

BRASIL. Portaria nº 35, de 28 de abril de 1995, Secretaria da Vigilância Sanitária, Ministério da Saúde. Resolve: "Conceder a extensão do uso do aditivo Lactato de Sódio, com a função umectante, código U.V, ao alimento relacionado (embutidos de carne), obedecendo o limite máximo focado". **Diário Oficial da União**: Brasília, 3 mai., 1995.

BREWER, M.S.; ROSTOGI, B.K.; ARGOUDELIS, L.; SPROULS, G.K. Sodium lactate/ sodium chloride effects on aerobic plate counts and color of aerobically packaged ground pork. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 60, n. 1, p. 58-62, Jan., 1995.

BREWER, M.S.; MC KEITH, F.; SPROULS, G. Sodium lactate effect on shelf life, sensory and physical characteristics of vacuum package fresh pork sausage. **Journal of Muscle Foods**, Trumbull, v. 4, p.179-192, 1993.

BREWER, M.S.; MC KEITH, F.; MARTIN, S.E.; DALLMIER, A.W.; MEYER, J. Sodium lactate effects on shelf life, sensory and physical characteristics of fresh pork sausage. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 56, n. 5, p.1176-1178, 1991.

BUNCIC, S.; FITZGERLD, C.M.; BELL, R.G.; HUDSON, J. A. Individual and combined listericidal effects of sodium lactate, potassium sorbate, nisin and curing salts at refrigeration temperature. **Journal of Food Safety**, Trumbull, v. 15, n. 3, p. 247-264, 1995.

CALHOUN, C.M.; GAEBLER, D.M.; MANDIGO, R.W. Storage stability of ground pork containing meat from an advanced meat recovery system. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 64, n. 1, p. 69-75, 1999.

CANHOS, P.A.L.; DIAS, E.L. **Tecnologia de carne bovina e produtos derivados**, 1^o ed., Campinas: Fundação Tropical de Pesquisa e Tecnologia (FTPT), 1983. p. 380-382.

CHEN, N.; SHELEF, L. A. Relationship between water activity salts of lactic acid and growth of *Listeria monocytogenes* in meat model systems. **Journal of Food Protection**, Des Moines, v. 55, n. 8, p. 574-578, Aug., 1992

CUTTER, C.N.; SIRAGUSA, G.R. Efficacy of organic acids against *Escherichia coli* O157:H7 attached to beef carcass tissue using a pilot scale model carcass washer. **Journal of Food Protection**, Des Moines, v. 57, n. 2, p.97-103, Feb., 1994

DELAZARI, I. Microbiologia de carnes. **Boletim do Instituto de Tecnologia de Alimentos**, Campinas, n. 52, p.25-60, jul./ago., 1977.

DELAZARI, I.; LEITÃO, M. F. F.; HSU, L. A. Efeito da microflora contaminante sobre o desenvolvimento de *Staphylococcus aureus* em lingüiças. **Coletânea do Instituto de Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 8, p. 557-571, 1977.

DEBEVERE, J.M. The effect of sodium lactate on the shelf life of vacuum-packaged coarse liver paté. **Fleischwirtschaft**, Kulmbach, v.9, n. 2, p. 223, 1989.

DICKSON, J. S. Reduction of bacteria attached to meat surfaces by washing with selected compounds. **Journal of Food Protection**, Des Moines, n. 51, v. 11, p. 139-147, Feb., 1988.

DIXON, Z.R.; VANDERZANT, C.; ACUFF, G.R.; SAVELL, J.W.; JONES, D.K. Effect of acid treatment of beef strip loin steaks on microbiological and sensory characteristics. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v. 5, n. 2, p. 181, 1997.

DUXBURY, D.D. Natural sodium lactate extends shelf life of whole and ground meats. **Food Processing**, 1: 91-92, Jan., 1988

ECKERT, L. A. MACA, J.C.; MILLER, R.K.; ACUFF, G.R. Sensory, microbial and chemical characteristics of fresh aerobically stored ground beef containing sodium lactate and sodium propionate. **Journal of Food Science**, Chicago, n. 62, v. 2, p. 429-433, Feb., 1997.

GALLI, F. Como fabricar lingüiças. **Revista Nacional da Carne**, São Paulo, v. 197, p. 37-45, abr., 1993.

GARREN, D.M.; HARRISON, M. A.; RUSSELL, S.M. Acid tolerance and acid shock response of *Escherichia coli* O157:H7 and Non-O157:H7 isolates provide cross protection to sodium lactate and sodium chloride. **Journal of Food Protection**, Des Moines, n. 61, v. 2, p. 158-161, Feb., 1998.

GHORPADE, V.M.; CORNFORTH, D.F.; SIISSON, D.V. Inhibition of red discoloration in cooked, vacuum packaged bratwurst. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 57, n. 5, p. 1053-1055, May, 1992.

- GOU, P.; GARRIGA, M.; GUERRERO, L.; VALERO, A.; ANDORRÀ, J.; CUBIÑÀ; ARNAU, J. Effect of sodium lactate and potassium bisulphite in a non-acid dry-cured sausage of reduced calibre. **Fleischwirtschaft**, Kulmbach, v. 78, n. 4, p. 340-341, 1998.
- HEDRICK, H. B.; ABERIE, E. D.; FORREST, J. C.; JUDGE, M. D.; MERKEL, R. A. **Principles of meat science**. 3rd ed. Dubuque: Kendall/ Hunt Publishing Company, 1994. 354 p.
- HIROOKA, E. Y.; MÜLLER, E. E.; SANTO, A. E. Bacterimetria de *Staphylococcus aureus* em produtos cárneos comercializados em Londrina, Paraná. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 2, n. 2, p. 111-122, 1982.
- HOUSTMA, P.C.; WIT, J.C.; ROMBOUTS, F.M. Minimum inhibitory concentration (MIC) of sodium lactate for pathogens and spoilage organisms occurring in meat products. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v. 20, n. 4, p. 247-257, Apr., 1993.
- HOUSTMA, P.C.; WIT, J.C.; ROMBOUTS, F.M. Minimum inhibitory concentration (MIC) of sodium lactate and sodium chloride for spoilage organisms and pathogens at different pH values and temperatures. **Journal of Food Protection**, Des Moines, n. 59, v. 2, p. 1300-1304, Feb., 1996.
- HU, A.C.; SHELEF, L.A. Influence of fat content and preservatives on the behaviour of *Listeria monocytogenes* in beaker sausage. **Journal of Food Safety**, Trumbull, v. 16, n. 3, p. 175-181, 1996.
- JAY, J. M. **Microbiologia Moderna de Los Alimentos**. Zaragoza: Editorial Acribia, 1994. 804 p.
- KENNEY, P.B.; PRASAI, R.K.; CAMPBELL, R.E.; KASTNER, C.L.; FUNG, D.Y.C. Microbiological quality of beef carcasses and vacuum packaged subprimals process intervention during slaughter and fabrication. **Journal of Food Protection**, Des Moines, v. 58, n.6, p. 633-638, 1995.

KIM, N. M.; BREWER, M. S. Sensory characteristics of sodium lactate and sodium tripolyphosphate in a model system. **Journal of Sensory Studies**, Trumbull, v. 11, p. 165-173, 1996.

LAMERS, P.P. Food Safety and product development. **Fleischwirtschaft**, Kulmbach, v. 76, n. 10, p. 1040-1041, Oct., 1996.

LAMKEY, J.W.; LEAK, F.W.; TULEY, W.B.; JOHNSON, D.D; WEST, R.L. Assesment of sodium lactate addition to fresh pork sausage. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 56, n. 1, p. 220-223, Jan., 1991.

LARA, W.H.; TAKAHASHI, M.Y. Determinação de nitritos e nitratos em sais de cura. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, São Paulo, n. 34, p. 35-39, 1974.

LARA, W.H.; TAKAHASHI, M.Y.; SILVEIRA, N. Determinação de nitritos e nitratos em conserva carne. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, São Paulo, n. 38, p. 161-166, 1978.

LAWRIE, R. A. **Meat Science**. 2nd ed. Oxford: Pergamon, 1974. 419p.

LEITÃO, M.F.F. **Salmonelas em águas fluviais e em alimentos não processados e industrializados de origem animal e vegetal no Estado de São Paulo**. São Paulo, 1979, 243 p. Tese (Doutorado) Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo.

MAAS, ME.R.; GLASS, K.A.; DOYLE, M.P. Sodium lactate delays toxin production by *Clostridium botulinum* in cook-in-bag turkey products. **Applied and Enviromental Microbiology**, Washington, v. 55, n. 9, p.226-2229, Sep., 1989.

MACA, J.V.; MILLER, R.K. & ACUFF, G.R. Microbiological, sensory and chemical characteristics of vacuum-packaged ground beef patties treated with salts of organic acids. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 62, n.3, p. 591-596, Mar., 1997a.

MACA, J.V.; MILLER, R.K.; MACA, J.D.; ACUFF, G.R. Microbiological, sensory and chemical characteristics of vacuum packaged cooked beef top rounds treated with sodium lactate and sodium propionate. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 62, n. 3, p. 586-590, Mar., 1997b.

MACA, J.V.; MILLER, R.K.; BIGNER, M. E.; LUCIA, L. M.; ACUFF, G.R. Sodium lactate and storage temperature effects on shelf life of vacuum packaged cooked beef top. **Meat Science**, Great Britain, v. 53, p. 23-29, 1999.

MANHOSO, F. F. R. Aspectos químicos e microbiológicos de lingüiças tipo frescal. **Revista Nacional da Carne**, São Paulo, n. 230, p. 90-92, abr., 1996.

MBANDI, E.; SHELEF, L.A. Enhanced inhibition of *Listeria monocytogenes* and *Salmonella Enteritidis* in meat by combinations of sodium lactate and diacetate. **Journal of Food Protection**, Des Moines, v. 64, n. 5, p. 640-644, May, 2000.

MCCMAHON, C. M. M.; DOHERTY, A. M.; SHERIDAN, J. J.; BLAIR, I. S.; MCDOWELL, D. A.; HEGARTY, T. Synergistic effect of heat and sodium lactate on the thermal resistance of *Yersinia enterocolitica* and *Listeria monocytogenes* in minced beef. **Letters in Applied Microbiology**, Oxford, v. 28, p. 340-344, 1999.

MENDONÇA, A. F.; MOLINS, R.A.; KRAFT, A.A.; WALKER, H.W. Microbiological, chemical and physical changes in fresh, vacuum-packaged pork treated with organic acids and salts. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 54, n. 1, p. 18-21, Jan., 1989.

MENG, J.; GENIGEORGIS, C. A. Modelling lag phase of nonproteolytic *Clostridium botulinum* toxigenesis in cooked turkey and chicken breast as affected by temperature, sodium lactate, sodium chloride and spare inoculum. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v. 19, n. 2, p. 109-122, 1993.

MILLER, R.K.; ACUFF, G.R. Sodium lactate affects pathogens in cooked beef. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 54, n. 1, p. 15-19, Jan., 1994.

- MILLER, A. J.; CALL, J. E.; WHITING, R. C. Comparision of organic acid salts for *Clostridium botulinum* control in an uncured turkey product. **Journal of Food Protection**, Des Moines, v. 56, n. 11, p. 958-962, Nov., 1993.
- MORENO, G.; PANETA, J.C.; BOTTINO, J.A. Isolamento de enterobactérias a partir de produtos cárneos embutidos. **Arquivo do Instituto de Biologia**, São Paulo, v. 36, p. 191-196, 1979.
- NNANNA, I. A.; UKUKU, D.O.; McVANN, K.B.; SHELEF, L.A. Antioxidant activity of sodium lactate in meat and models systems. **Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie**, London, v. 27, n. 1 p. 78-85, Jan., 1994.
- O'CONNOR, P.L.; BREWER, M.S.; McKEITH, F.K.; NOVAKOFSKI, J.E.; CARR, T.R. Sodium lactate/ sodium chloride effects on sensory characteristics and shelf life of fresh ground pork. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 58, n. 5, p. 978-980, May, 1993
- PAPADOPOULOS, L.S.; MILLER, R. K.; ACUFF, G.R.; VANDERZANT, C.; CROSS, H.R. Effect of sodium lactate on microbiology and chemical composition of cooked beef during storage. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 56, n. 2, p. 341-347, May, 1991a.
- PAPADOPOULOS, L.S.; MILLER, R.K.; RINGER, L.J.; CROSS, H.R. Sodium lactate effect on sensory characteristics, cooked meat color and chemical composition. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 56, n. 3, p.621-626, 1991b.
- PARDI, M.C.; SANTOS, I.F.; SOUSA, E.R.; PARDI, H.R. **Ciência, higiene e tecnologia da carne**, v. 2., Goiânia: Ed. CEGRAF, Goiânia, 1994. 1110 p.
- PEARSON, A.M. & GILLET, T.A. **Processed meats**. 3rd ed. New York: Chapman & Hall, 1996. 448p.
- PEDROSO, M. A. M. **Ingestão potencial de nitrato e nitrito através das refeições oferecidas pelos restatuentes universitários da UNICAMP**.

Campinas, 1993. Tese (Mestre em Ciência de Alimentos) - Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas.

PHILLIPS, C. A. The effect of citric, lactic acid, sodium citrate and sodium lactate, alone and combination with nisin, on growth of *Arcobacter butzleri*. **Letters in Applied Microbiology**, Oxford, v. 29, p. 424-428, 1999.

PRASAI, R.K.; ACUFF, G.R.; LUCIA, L.M.; MORGAN, J.B.; MAV, S.G.; SAVELL, J.W. Microbiological effects of acid decontamination of pork carcasses at various locations in processing. **Meat Science**, Great Britain, v. 32, p. 413-423, 1992.

RUDGE, A. C. **Aspectos microbiológicos e sanitários de lingüiças tipo frescal: análise de contaminação por *Staphylococcus aureus* e *Clostridium perfringens***. Botucatu, 1980. Tese (Livre Docência) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho.

SCANNELL, A. G. M.; ROSS, R.P.; HILL, C.; ARENDT, E.K. An effective lacticin biopreservative in fresh pork sausage. **Journal of Food Protection**, Des Moines, v. 63, n. 3, p. 370-375, Mar., 2000.

SCHLYTER, J. H.; GLASS, K. A.; LOEFFELHOLZ, J.; DEGNAN, A. J.; LUCHANSKY, J. B. The effects of diacetate with nitrite, lactate or pediocin on the viability of *Listeria monocytogenes* in turkey slurries. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v. 19, n. 4, p. 271-281, Sep., 1993.

SCHOENI, J.L.; BRUNNER, K.; DOYLE, M. P. Rates of thermal inactivation of *Listeria monocytogenes* in beef and fermented beaker sausage. **Journal of Food Protection**, Ames, v. 54, n. 5, p. 334-337, May, 1991.

SHELEF, L.A. Antimicrobial effects os lactates: a review. **Journal of Food Protection**, Des Moines, n. 57, v. 5, p. 445-450, May, 1994.

SHELEF, L.A. & POTLURI, V. Behaviour of foodborne pathogens in cooked liver sausage containing lactates. **Food microbiology**, London, v. 12, n.3, p.221-227, 1995.

- SHELEF, L. A.; ADDALA L. Inhibition of *Listeria monocytogenes* and other bacteria by sodium diacetate . **Journal of Food Safety**, Trumbull, v. 14, n.2, p. 103-115, May, 1994.
- SHELEF, L.A.; MOHAMED, S.; TAN, W.; WEBBER, M.L. Rapid optical measurements of microbial contamination in raw ground beef and effects of citrate and lactate. **Journal of Food Protection**, Des Moines, v.60, n.6, p. 673-676, June, 1997.
- SHELEF, L.A.; YANG, Q. Growth suppression of *Listeria monocytogenes* by lactates in broth chicken and beef. **Journal of Food Protection**, Des Moines, v. 54, n. 4, p. 283-287, Apr., 1991.
- SILVA, N.; JUNQUEIRA, V.C.; SILVEIRA, N.F.A. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos**, 1ª ed., São Paulo: Livraria Varela, 1997. 295p.
- SIRAGUSA, G.R. The effectiveness of carcass decontamination systems for controlling the presence of pathogens on the surfaces of meat animal carcasses. . **Journal of Food Safety**, Trumbull, v. 15, p. 229-238, 1995.
- SIU, G. M.; DRAPPER, H. H. A survey of malonaldehyde content of retail meats and fish. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 43, n. 4, p. 1147-1149, Apr., 1978.
- SMULDERS, F. J. M.; GREER, G. G. Integrating decontamination with organic acids in HACCP programmes for muscle foods: prospects and controversies.. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v. 44, p. 149 -169, 1998.
- STONE, H.; SIDEL, J. L. **Sensory evaluation practices**. 1st ed. San Diego: Academic, 1993. 419p.
- SUTTON, D.S.; BREWER, M.S.; McKEITH, F.K. Effects of sodium lactate and sodium phosphate on the physical and sensory characteristics of pumped pork loins. **Journal of Muscle Foods**, Trumbull, v. 8, n. 1, p. 95-104, Jan., 1997.

TARLADGIS, B. G.; WATTS, B. M.; YOUNANTHAN, M. T. A distillation method for the quantitative determination of malonaldehyde in rancid foods. **Journal of American Oil Chemical Society**, v. 37, n. 1, p. 4-48, 1960.

TERRA, N.N. **Apontamentos de tecnologia de carnes**. São Leopoldo: Ed. Unisinos, 1998. p. 54.

TOYOHARA, D.Q.K. **Determinação de nitrato, nitrito e N-nitrosaminas em lingüiças**. Campinas, 1989. Tese (Mestre em Ciência de Alimentos). Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas.

VASCONCELOS, J. C.; IARIA, S. T. Condições microbiológicas (higiênico-sanitárias) das lingüiças frescas comercializadas em feiras livres no município de São Paulo – SP. **Boletim CEPPA**, São Paulo, v. 9, n. 2, p. 106-121, jul./dez., 1991.

WALEZYCKA, M.; KOLEZAK, T.; KIJOWSKI, A.; LACKI, J. Effect of sodium lactate and starter culture on minced beef during chilled sotrage. **Polish Journal of Food and Nutrition Sciences**, Cracow, v. 7, n. 4, p. 663-672, 1998.

WANG, F. S. Effects of three preservative agents on the shelf life of vacuum packaged Chinese-style sausage stored at 20°C. **Meat Science**, Great Britain, v. 56, p. 67-71, 2000.

WEAVER, R.A.; SHELEF, L.A. Antilisterial activity of sodium, potassium and calcium lactate in pork liver sausage. **Journal of Food Safety**, Trumbull, v. 13; p. 133-146, 1993.

WOOLTHUIS, C.H.J.; SMULDERS, F.J.M. Microbial decontamination of calf carcasses by lactic acid sprays. **Journal of Food Protection**, Des Moines, v. 48, p. 832-835, 1985.

XAVIER, C. V. A. **Métodos químicos e físicos para prolongamento da vida de prateleira de carne de frango refrigerada**. Campinas, 1997. Tese (Mestre em Tecnologia de Alimentos). Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas.

7 - ANEXOS

ANEXO 1 - Ilustrações do Processamento



Figura 27 – Matérias primas moídas e pesadas: carne suína, carne bovina e toucinho suíno (da esquerda para a direita).



Figura 28 – Misturador (KLEBER ENGINEERING) utilizado nas etapas de mistura e homogeneização da massa antes do embutimento.

ANEXO 1 - Ilustrações do Processamento - continuação



Figura 29 – Aspecto visual de lingüiças após 1 dia de processamento.

- F1: 0 ppm de nitrito de sódio / 0% de lactato de sódio
- F2: 200 ppm de nitrito de sódio / 0% de lactato de sódio
- F3: 400 ppm de nitrito de sódio / 0% de lactato de sódio
- F4: 0 ppm de nitrito de sódio / 1,2% de lactato de sódio
- F5: 200 ppm de nitrito de sódio / 1,2% de lactato de sódio
- F6: 400 ppm de nitrito de sódio / 1,2% de lactato de sódio

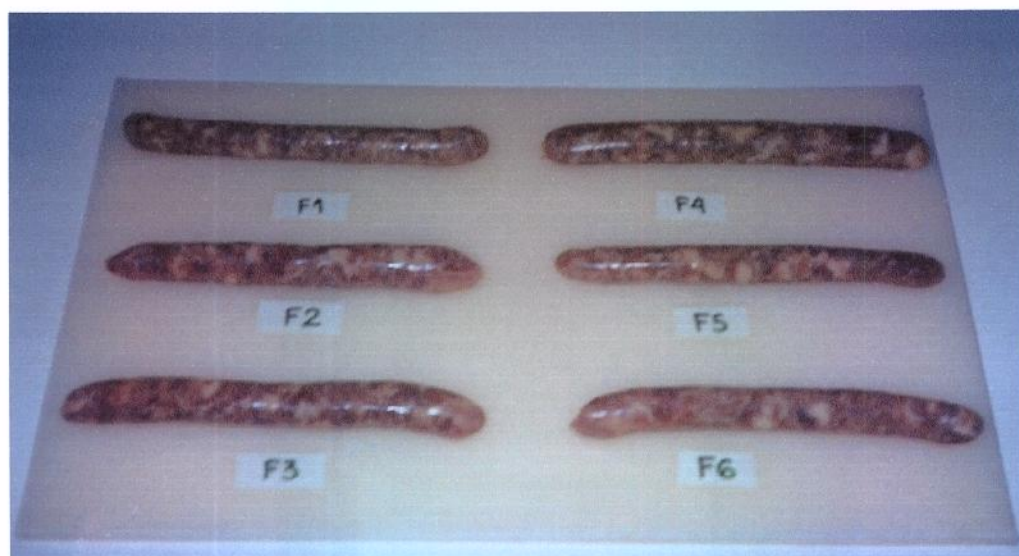


Figura 30 – Aspecto visual de lingüiças após 20 dias de processamento.

- F1: 0 ppm de nitrito de sódio / 0% de lactato de sódio
- F2: 200 ppm de nitrito de sódio / 0% de lactato de sódio
- F3: 400 ppm de nitrito de sódio / 0% de lactato de sódio
- F4: 0 ppm de nitrito de sódio / 1,2% de lactato de sódio
- F5: 200 ppm de nitrito de sódio / 1,2% de lactato de sódio
- F6: 400 ppm de nitrito de sódio / 1,2% de lactato de sódio

ANEXO 2 - Ficha de Avaliação Sensorial – Parte 1

Nome _____ idade _____ data ____/____/____

1. Você está recebendo 5 amostras de lingüiça mista frescal. Por favor, avalie cada um das amostras e, utilize a escala abaixo para expressar o quanto você gostou ou desgostou de cada amostra:

- 9 – gostei extremamente
 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	Valor

2. Agora comente o que mais gostou e o que menos gostou em cada uma das amostras:

Amostra	Mais gostei	Menos gostei

ANEXO 3 - Ficha de Avaliação Sensorial – Parte 2

Nome _____ idade _____ data ____/____/____

1. Você está recebendo 3 amostras de lingüiça mista frescal. Por favor, avalie cada um das amostras em **TERMOS GLOBAIS**, utilizando a escala abaixo para expressar o quanto você gostou ou desgostou de cada amostra, e comente o que mais gostou e o que menos gostou.

- 9 – gostei extremamente
 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	Valor	Mais gostei	Menos gostei

2. Por favor, prove, da esquerda para direita, e utilize a escala acima para expressar o quanto você gostou ou desgostou de cada amostra com relação ao **SABOR**, e comente o que mais gostou e o que menos gostou.

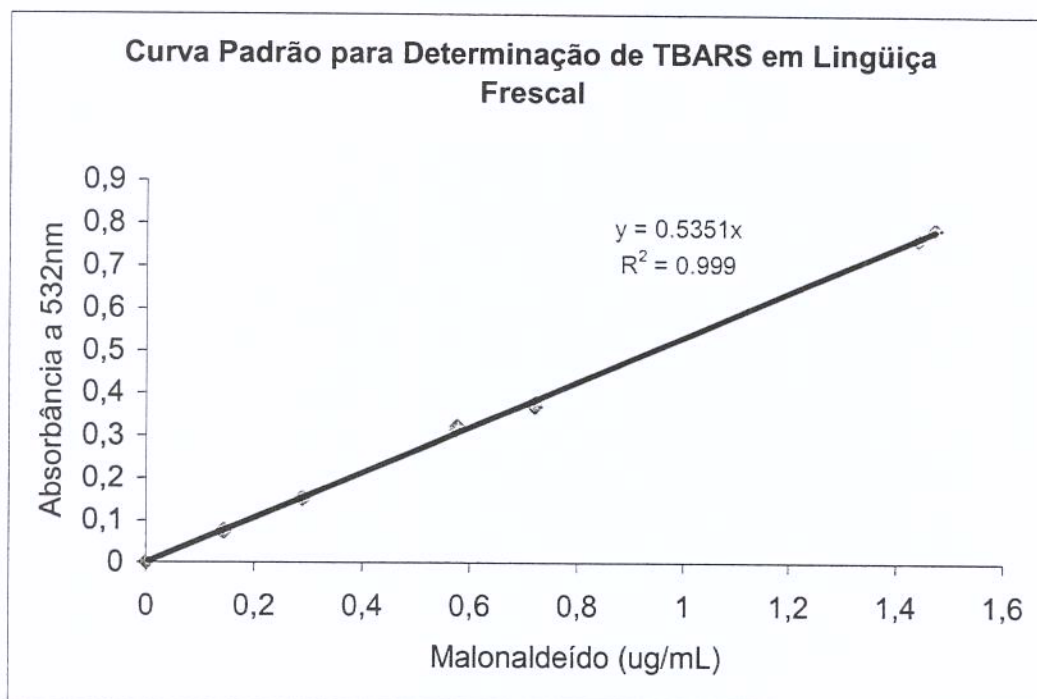
Amostra	Valor	Mais gostei	Menos gostei

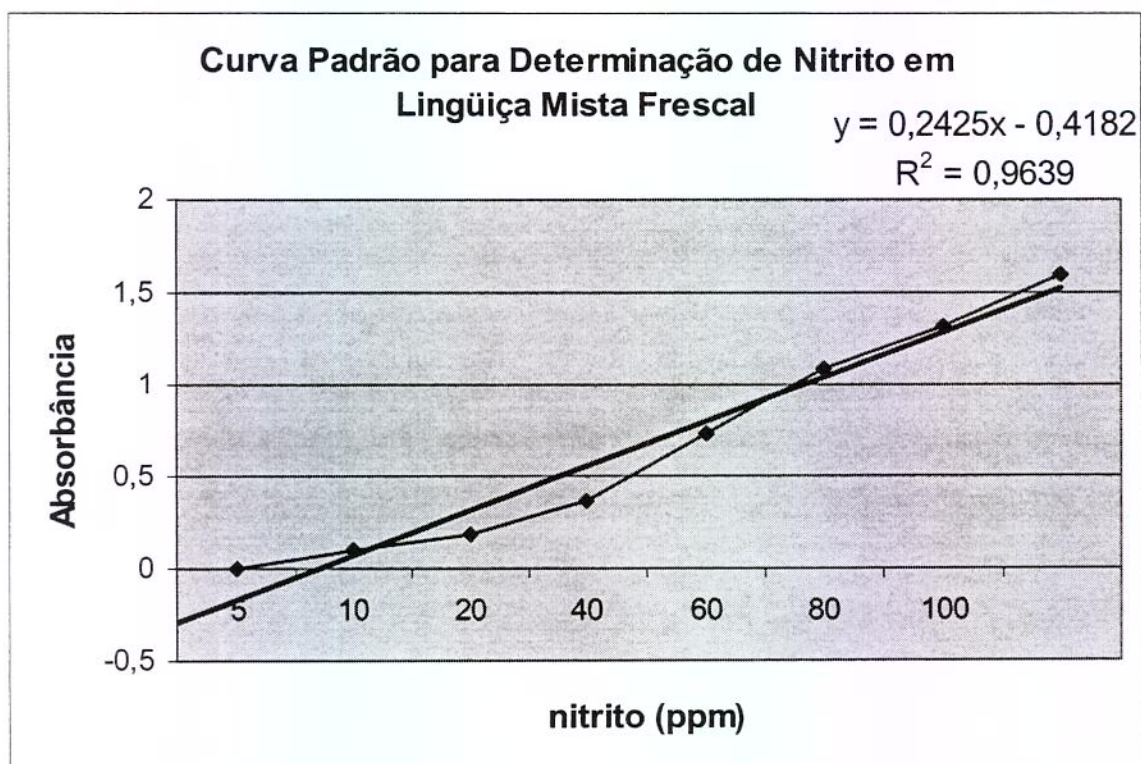
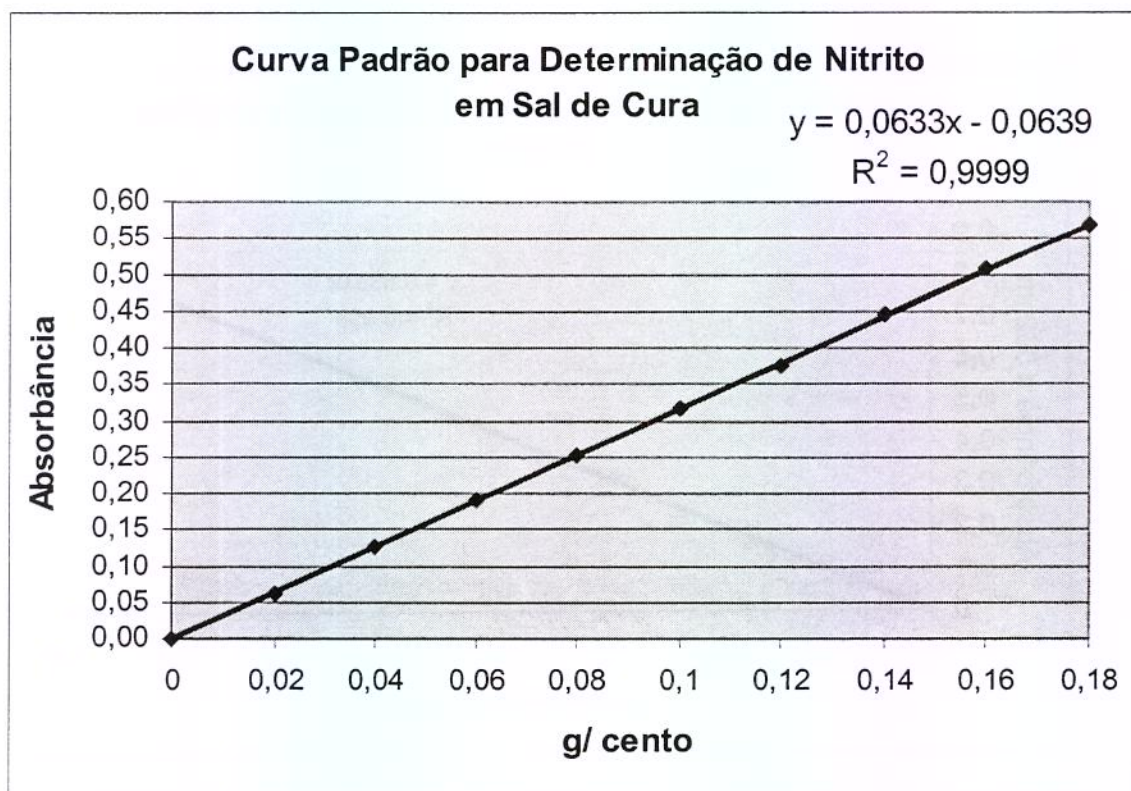
3. Por favor utilize a escala acima para expressar o quanto você gostou ou desgostou de cada amostra com relação à **TEXTURA**, e comente o que mais gostou e o que menos gostou em cada amostra.

Amostra	Valor	Mais gostei	Menos gostei

4. Por favor, avalie a **APARÊNCIA GLOBAL** do produto **CRU**, utilizando a escala acima para expressar o quanto gostou ou desgostou de cada amostra, e comente o que mais gostou e o que menos gostou.

Amostra	Valor	Mais gostei	Menos gostei

ANEXO 4 - Curva Padrão para Determinação de TBA-RS

ANEXO 5 - Curvas Padrão para Determinação de Nitrito

ANEXO 6 - Tabelas de Resultados Analíticos

Tabela 10 - Efeito de diferentes níveis de nitrito de sódio e adição de lactato de sódio nos valores de TBA-RS em lingüiça mista fresca armazenada a 3°C – **Processamento 1.**

Tratamento		Tempo (dias)											
NaNO ₃ (ppm)	Lactato de sódio (%)	2		9		15		22		29			
		mg Malonaldeído/ml		mg Malonaldeído/ml		mg Malonaldeído/ml		mg Malonaldeído/ml		mg Malonaldeído/ml			
		média	desvio	média	desvio	média	desvio	média	desvio	média	desvio		
0	0	1,883 ^a	0,014	5,321 ^a	0,000	7,429 ^a	0,047	9,858 ^a	0,234	10,232 ^a	0,140		
200	0	0,150 ^b	0,038	0,257 ^b	0,014	0,262 ^b	0,037	4,784 ^b	0,112	7,662 ^b	0,000		
400	0	0,084 ^b	0,000	0,187 ^c	0,009	0,187 ^{bc}	0,000	3,023 ^c	0,042	5,513 ^c	0,047		
0	1,2	2,088 ^c	0,023	4,124 ^d	0,021	5,854 ^d	0,014	6,139 ^d	0,065	7,802 ^d	0,093		
200	1,2	0,084 ^b	0,009	0,135 ^e	0,005	0,276 ^b	0,005	1,089 ^e	0,023	4,523 ^b	0,009		
400	1,2	0,079 ^b	0,005	0,117 ^e	0,005	0,135 ^c	0,005	0,906 ^e	0,009	3,490 ^e	0,098		

*amostras com letras iguais na mesma coluna não apresentam diferença significativa entre si (p>0,05)

Tabela 11 - Efeito de diferentes níveis de nitrito de sódio e adição de lactato de sódio nos valores de TBA-RS em lingüiça mista fresca armazenada a 3°C – **Processamento 2**.

Tratamento		Semana											
NaNO₃ (ppm)	Lactato de sódio (%)	2		9		15		22		29			
		mg Malonaldeído/ml		mg Malonaldeído/ml		mg Malonaldeído/ml		mg Malonaldeído/ml		mg Malonaldeído/ml			
		média	desvio	média	desvio	média	desvio	média	desvio	média	desvio	média	desvio
0	0	1,402 ^a	0,000	3,668 ^a	0,285	8,877 ^a	0,467	11,166 ^a	0,047	12,007 ^a	0,140		
200	0	0,126 ^b	0,014	0,140 ^b	0,019	0,224 ^b	0,019	0,285 ^b	0,023	1,663 ^b	0,000		
400	0	0,098 ^b	0,014	0,112 ^b	0,009	0,192 ^b	0,023	0,210 ^b	0,005	1,004 ^c	0,192		
0	1,2	1,397 ^a	0,023	3,490 ^a	0,014	7,942 ^c	0,280	10,045 ^c	0,234	11,493 ^d	0,000		
200	1,2	0,084 ^b	0,019	0,117 ^b	0,005	0,201 ^b	0,014	0,243 ^b	0,019	0,472 ^e	0,107		
400	1,2	0,056 ^c	0,019	0,103 ^b	0,009	0,164 ^b	0,033	0,187 ^b	0,009	0,477 ^e	0,159		

*amostras com letras iguais na mesma coluna não apresentam diferença significativa entre si (p>0,05).

Tabela 12 - Efeito de diferentes níveis de nitrito de sódio e adição de lactato de sódio no pH em lingüiça mista fresca armazenada a 3°C – Processamento 1.

Tratamento		Tempo (dias)													
NaNO ₃ (ppm)	Lactato de sódio (%)	1		4		7		11		14		21		28	
		média	desvio	média	desvio	média	desvio	média	desvio	média	desvio	média	desvio	média	desvio
0	0	5,76 ^a	0,01	5,76 ^a	0,00	5,50 ^a	0,01	5,45 ^a	0,04	5,59 ^a	0,03	5,68 ^a	0,04	6,52 ^a	0,03
200	0	5,85 ^b	0,01	5,88 ^b	0,00	5,87 ^b	0,01	5,82 ^b	0,01	5,84 ^b	0,01	5,71 ^{ab}	0,00	5,81 ^b	0,02
400	0	5,92 ^c	0,01	5,92 ^c	0,01	5,92 ^c	0,00	5,91 ^c	0,00	5,93 ^c	0,01	5,74 ^b	0,00	5,79 ^b	0,01
0	1,2	5,86 ^b	0,01	5,86 ^d	0,01	5,84 ^d	0,00	5,80 ^b	0,00	5,93 ^c	0,01	6,59 ^c	0,03	6,93 ^c	0,06
200	1,2	5,84 ^b	0,02	5,84 ^d	0,00	5,83 ^d	0,00	5,79 ^b	0,01	5,89 ^d	0,00	5,80 ^d	0,02	5,88 ^d	0,01
400	1,2	5,89 ^c	0,00	5,90 ^c	0,00	5,90 ^c	0,01	5,88 ^c	0,00	5,93 ^c	0,00	5,87 ^e	0,00	5,91 ^d	0,00

*amostras com letras iguais na mesma coluna não apresentam diferença significativa entre si (p>0,05)

Tabela 13 - Efeito de diferentes níveis de nitrito de sódio e adição de lactato de sódio no pH em lingüiça mista fresca armazenada a 3°C – Processamento 2.

Tratamento		Tempo (dias)															
NaNO ₃	Lactato de sódio (%)	1		4		7		11		14		21		28		35	
(ppm)		média	desvio	média	desvio	média	desvio	média	desvio	média	desvio	média	desvio	média	desvio	média	desvio
0	0	5,71 ^a	0,02	5,72 ^a	0,02	5,71 ^a	0,02	5,71 ^a	0,04	5,66 ^a	0,01	5,51 ^a	0,03	5,42 ^a	0,06	5,58 ^a	0,03
200	0	5,77 ^b	0,02	5,70 ^a	0,00	5,70 ^a	0,01	5,79 ^b	0,00	5,72 ^b	0,01	5,63 ^b	0,01	5,59 ^b	0,02	5,56 ^a	0,02
400	0	5,84 ^c	0,03	5,83 ^b	0,01	5,86 ^b	0,00	5,94 ^c	0,02	5,85 ^c	0,02	5,70 ^c	0,00	5,59 ^b	0,01	5,54 ^a	0,02
0	1,2	5,78 ^{bd}	0,01	5,73 ^a	0,01	5,76 ^c	0,00	5,85 ^d	0,02	5,76 ^b	0,01	5,72 ^{cd}	0,01	5,73 ^c	0,02	5,79 ^b	0,04
200	1,2	5,74 ^{ab}	0,01	5,73 ^a	0,01	5,73 ^{ac}	0,03	5,81 ^{bd}	0,00	5,75 ^b	0,01	5,72 ^{ce}	0,00	5,71 ^c	0,00	5,74 ^c	0,00
400	1,2	5,80 ^{bd}	0,02	5,72 ^a	0,03	5,77 ^c	0,02	5,83 ^{bd}	0,00	5,77 ^b	0,05	5,74 ^{de}	0,00	5,80 ^d	0,01	5,75 ^{bc}	0,01

*amostras com letras iguais na mesma coluna não apresentam diferença significativa entre si (p>0,05)

Tabela 14 - Efeito de diferentes níveis de nitrito de sódio e adição de lactato de sódio na atividade de água (Aa) em lingüiça mista fresca armazenada a 3°C – **Processamento 1**.

Tratamento		Tempo (dias)													
NaNO ₃ (ppm)	Lactato de sódio (%)	1		4		7		11		14		21		28	
		média	desvio	média	desvio	média	desvio	média	desvio	média	desvio	média	desvio	média	desvio
0	0	0,969 ^a	0,001	0,968 ^a	0,001	0,966 ^a	0,000	0,965 ^{ab}	0,003	0,968 ^a	0,001	0,969 ^a	0,001	0,969 ^a	0,000
200	0	0,971 ^a	0,001	0,966 ^a	0,002	0,967 ^a	0,001	0,966 ^{bc}	0,002	0,968 ^{ab}	0,000	0,967 ^{ab}	0,002	0,969 ^a	0,000
400	0	0,970 ^a	0,000	0,968 ^a	0,002	0,969 ^b	0,001	0,970 ^c	0,002	0,971 ^a	0,001	0,969 ^a	0,002	0,969 ^a	0,001
0	1,2	0,963 ^b	0,000	0,961 ^b	0,001	0,962 ^c	0,000	0,960 ^a	0,003	0,963 ^{bd}	0,000	0,965 ^{bd}	0,000	0,964 ^b	0,000
200	1,2	0,962 ^b	0,000	0,960 ^b	0,000	0,960 ^c	0,000	0,962 ^{ab}	0,001	0,960 ^c	0,001	0,961 ^c	0,001	0,963 ^b	0,000
400	1,2	0,962 ^b	0,001	0,961 ^b	0,001	0,962 ^c	0,000	0,962 ^{ab}	0,000	0,962 ^{cd}	0,001	0,963 ^{cd}	0,000	0,963 ^b	0,000

* amostras com letras iguais na mesma coluna não apresentam diferença significativa entre si (p>0,05).

Tabela 15 - Efeito de diferentes níveis de nitrato de sódio e adição de lactato de sódio na Atividade de Água (Aa) em lingüiça mista fresca armazenada a 3°C – Processamento 2.

Tratamento		Tempo (dias)															
NaNO ₃	Lactato de sódio (%)	1		4		7		11		14		21		28		35	
(ppm)		média	desvio	média	desvio	média	desvio	média	desvio	média	desvio	média	desvio	média	desvio	média	desvio
0	0	0,966 ^{ab}	0,000	0,969 ^a	0,001	0,969 ^a	0,001	0,971 ^a	0,000	0,969 ^a	0,001	0,969 ^a	0,001	0,969 ^a	0,002	0,970 ^a	0,002
200	0	0,965 ^a	0,001	0,967 ^a	0,001	0,967 ^a	0,001	0,966 ^b	0,000	0,968 ^b	0,000	0,966 ^b	0,000	0,966 ^a	0,002	0,967 ^b	0,000
400	0	0,968 ^b	0,001	0,968 ^a	0,000	0,968 ^a	0,000	0,969 ^c	0,001	0,969 ^a	0,001	0,968 ^{ab}	0,001	0,968 ^a	0,001	0,968 ^{ab}	0,002
0	1,2	0,961 ^c	0,001	0,961 ^b	0,000	0,962 ^b	0,001	0,963 ^d	0,000	0,963 ^c	0,000	0,962 ^c	0,000	0,962 ^b	0,000	0,963 ^c	0,000
200	1,2	0,960 ^c	0,001	0,962 ^b	0,001	0,961 ^b	0,002	0,960 ^e	0,000	0,962 ^c	0,000	0,961 ^c	0,001	0,961 ^{bc}	0,001	0,961 ^{cd}	0,001
400	1,2	0,960 ^c	0,001	0,961 ^b	0,001	0,962 ^b	0,001	0,960 ^e	0,001	0,961 ^c	0,000	0,960 ^c	0,001	0,960 ^c	0,000	0,961 ^d	0,001

*amostras com letras iguais na mesma coluna não apresentam diferença significativa entre si (p>0,05)

Tabela 16 - Variação no teor de nitrito residual em diferentes formulações de lingüiça mista fresca armazenada a 3°C – **Processamento 1.**

Tratamento		Tempo (dias)											
NaNO ₃ (ppm)	Lactato de sódio (%)	2		8		15		22		29			
		ppm		ppm		ppm		ppm		ppm			
		média	desvio	média	desvio	média	desvio	média	desvio	média	desvio		
200	0	147 ^a	1	106 ^a	1	76 ^a	2	15 ^a	0	7 ^a	0		
400	0	255 ^b	2	201 ^b	1	168 ^b	4	84 ^b	2	40 ^b	1		
200	1,2	139 ^c	3	90 ^c	2	73 ^a	1	51 ^c	0	22 ^c	2		
400	1,2	265 ^d	1	188 ^d	3	162 ^b	5	119 ^d	3	70 ^d	1		

*amostras com letras iguais não apresentam diferença significativa entre si (p>0,05)

107

Tabela 17 - Variação no teor de nitrito residual em diferentes formulações de lingüiça mista fresca armazenada a 3°C – **Processamento 2.**

Tratamento		Tempo (dias)											
NaNO ₃ (ppm)	Lactato de sódio (%)	2		8		15		22		29			
		Ppm		Ppm		Ppm		Ppm		Ppm			
		média	desvio	média	desvio	média	desvio	média	desvio	média	desvio		
200	0	146 ^a	0	92 ^a	1	61 ^a	0	53 ^a	4	35 ^a	0		
400	0	254 ^b	7	178 ^b	0	139 ^b	15	127 ^b	2	80 ^b	1		
200	1,2	140 ^a	2	91 ^a	2	62 ^a	1	51 ^a	2	34 ^a	1		
400	1,2	221 ^c	7	146 ^c	6	112 ^b	1	90 ^c	0	74 ^c	1		

*amostras com letras iguais na mesma coluna não apresentam diferença significativa entre si (p>0,05)

Tabela 18 - Efeito de diferentes níveis de nitrito de sódio e adição de lactato de sódio na contagem total de microrganismos psicrotróficos em lingüiça mista fresca armazenada a 3°C – Processamento 1.

Tratamento		Tempo (dias)													
NaNO ₃ (ppm)	Lactato de sódio (%)	1		4		7		11		14		21		28	
		Log UFC/g	desvio	Log UFC/g	desvio	Log UFC/g	desvio	Log UFC/g	desvio	Log UFC/g	desvio	Log UFC/g	desvio	Log UFC/g	desvio
0	0	5,45 ^a	0,04	5,78 ^a	0,07	7,30 ^a	0,01	7,56 ^a	0,01	7,70 ^a	0,05	8,13 ^a	0,02	8,44 ^a	0,02
200	0	5,08 ^b	0,06	5,09 ^b	0,01	6,07 ^b	0,03	6,29 ^b	0,02	6,76 ^b	0,02	8,05 ^{ab}	0,03	7,84 ^b	0,03
400	0	5,09 ^b	0,07	5,05 ^b	0,02	5,60 ^b	0,00	5,75 ^{bc}	0,04	6,27 ^b	0,00	7,68 ^{ab}	0,03	7,68 ^{bc}	0,03
0	1,2	5,14 ^b	0,02	5,09 ^b	0,02	6,79 ^c	0,07	7,30 ^d	0,02	7,87 ^c	0,04	8,67 ^c	0,06	8,85 ^d	0,02
200	1,2	4,64 ^c	0,02	4,46 ^b	0,14	5,14 ^b	0,02	5,35 ^{bc}	0,01	5,54 ^b	0,04	7,40 ^b	0,03	7,36 ^c	0,08
400	1,2	4,84 ^c	0,03	4,64 ^b	0,05	5,35 ^b	0,05	5,07 ^c	0,02	5,23 ^b	0,01	7,46 ^b	0,03	7,63 ^{bc}	0,02

*amostras com letras iguais na mesma coluna não apresentam diferença significativa entre si (p>0,05)

Tabela 19 - Efeito de diferentes níveis de nitrito de sódio e adição de lactato de sódio na contagem total de microrganismos psicrotróficos em lingüiça mista fresca armazenada a 3°C – Processamento 2.

Tratamento		Tempo (dias)															
NaNO ₃	Lactato de sódio (%)	1		4		7		11		14		21		28		35	
(ppm)		Log UFC/g	desvio	Log UFC/g	desvio	Log UFC/g	desvio	Log UFC/g	desvio	Log UFC/g	desvio	Log UFC/g	desvio	Log UFC/g	desvio	Log UFC/g	desvio
0	0	4,04 ^{ab}	0,03	4,23 ^a	0,04	4,90 ^a	0,01	6,05 ^a	0,00	6,75 ^a	0,05	8,24 ^a	0,01	8,30 ^a	0,03	8,34 ^a	0,01
200	0	3,90 ^a	0,05	4,13 ^a	0,08	4,05 ^{bc}	0,03	4,35 ^{bc}	0,03	5,40 ^b	0,02	7,77 ^b	0,01	7,93 ^b	0,07	8,09 ^a	0,02
400	0	4,11 ^b	0,06	4,11 ^{ab}	0,07	4,05 ^{bc}	0,01	4,37 ^b	0,03	5,58 ^b	0,05	7,84 ^c	0,00	7,90 ^b	0,06	8,02 ^a	0,03
0	1,2	3,94 ^a	0,04	4,09 ^{abc}	0,01	4,12 ^b	0,07	4,28 ^c	0,02	5,54 ^b	0,01	7,66 ^d	0,03	7,91 ^b	0,04	8,15 ^a	0,03
200	1,2	3,92 ^a	0,02	3,89 ^{bc}	0,05	3,89 ^c	0,05	4,06 ^d	0,03	4,47 ^b	0,05	7,19 ^e	0,02	7,27 ^c	0,03	7,72 ^a	0,00
400	1,2	3,93 ^a	0,03	3,86 ^c	0,05	3,93 ^c	0,04	3,98 ^d	0,05	4,23 ^b	0,02	7,06 ^e	0,03	7,26 ^c	0,03	7,68 ^a	0,07

*amostras com letras iguais na mesma coluna não apresentam diferença significativa entre si (p>0,05)

Tabela 20 - Efeito de diferentes níveis de nitrito de sódio e adição de lactato de sódio na contagem de bactérias lácticas em lingüiça mista fresca armazenada a 3°C – **Processamento 1**.

Tratamento		Tempo (dias)													
NaNO ₃	Lactato de sódio (%)	1		4		7		11		14		21		28	
		Log UFC/g	Log UFC/g	Log UFC/g	Log UFC/g	Log UFC/g	Log UFC/g	Log UFC/g	Log UFC/g	Log UFC/g	Log UFC/g	Log UFC/g	Log UFC/g	Log UFC/g	
		média	desvio	média	desvio	média	desvio	média	desvio	média	desvio	média	desvio	média	desvio
0	0	5,09 ^a	0,01	6,11 ^a	0,06	7,35 ^a	0,01	7,71 ^a	0,03	7,76 ^a	0,01	8,05 ^a	0,07	8,48 ^a	0,00
200	0	4,91 ^b	0,04	4,99 ^b	0,00	6,17 ^b	0,00	6,40 ^b	0,10	6,89 ^b	0,07	8,05 ^a	0,02	7,84 ^b	0,02
400	0	4,93 ^b	0,05	4,99 ^b	0,02	5,39 ^c	0,03	5,80 ^b	0,04	6,36 ^c	0,02	7,73 ^a	0,07	7,68 ^b	0,03
0	2	4,69 ^c	0,02	4,80 ^b	0,09	6,99 ^d	0,01	7,74 ^a	0,01	7,80 ^d	0,00	8,57 ^b	0,07	8,84 ^c	0,02
200	2	4,44 ^d	0,05	4,40 ^b	0,00	5,13 ^c	0,02	5,54 ^b	0,01	5,71 ^c	0,08	7,39 ^a	0,01	7,36 ^b	0,00
400	2	4,73 ^c	0,02	4,55 ^b	0,02	5,31 ^c	0,02	4,96 ^b	0,01	5,32 ^c	0,04	7,56 ^a	0,01	7,58 ^b	0,00

*amostras com letras iguais na mesma coluna não apresentam diferença significativa entre si (p>0,05)

