

VIVIANE RODRIGUES FERRACCIOLI

**AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DE SALSICHAS DO TIPO *HOT DOG*
DURANTE O ARMAZENAMENTO**

**SÃO CAETANO DO SUL
2012**

VIVIANE RODRIGUES FERRACCIOLI

**AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DE SALSICHAS DO TIPO *HOT DOG*
DURANTE O ARMAZENAMENTO**

Dissertação apresentada à Escola de Engenharia Mauá
do Instituto Mauá de Tecnologia para obtenção do
título de Mestre em Engenharia de Processos
Químicos e Bioquímicos

Linha de Pesquisa: Desenvolvimento e otimização de
processos da indústria de alimentos

Orientadora: Profa. Dra. Antonia Miwa Iguti

**SÃO CAETANO DO SUL
2012**

Ferracioli, Viviane Rodrigues

Avaliação da qualidade de salsichas do tipo hot dog durante o armazenamento / Viviane Rodrigues Ferracioli. -- São Caetano do Sul, SP: CEUN-EEM, 2012.

117p.

Dissertação de Mestrado – Programa de Pós-Graduação. Linha de pesquisa: Desenvolvimento e Otimização de Processos da Indústria de Alimentos - Escola de Engenharia Mauá do Centro Universitário do Instituto Mauá de Tecnologia, São Caetano do Sul, SP, 2012.

Orientadora: Profa. Dra. Antonia Miwa Iguti

1. Salsicha 2. Nitrito e Nitrato I. Instituto Mauá de Tecnologia. Centro Universitário. Escola de Engenharia Mauá II.Título.

Dedico este trabalho com muito carinho à minha amada família, ao meu noivo e à minha orientadora, por terem sempre acreditado nos meus objetivos.

Aos meus pais,
Cid e Eunice

Ao meu irmão e cunhada,
Ricardo e Patrícia

Ao meu Noivo,
Adriano

À Minha Orientadora,
Antonia

AGRADECIMENTOS

A Deus pelo dom da vida, pelo entendimento concedido, saúde para obter conquistas e coragem para enfrentar adversidades.

Agradeço em especial a minha Orientadora, Dra. Antonia Miwa Iguti pelas sugestões e críticas que contribuíram para o meu crescimento profissional, que confiou e acreditou em mim, jamais permitiu que minhas dúvidas e angústias nos momentos de crise me desestimulassem. Suas qualidades, profissionais e humanas, serão eternamente fonte de inspiração.

À banca examinadora desta dissertação, Prof. Dr. Alfredo Tenuta Filho e Prof. Dra. Elisena Aparecida Gustaferro Seravalli, pelas sugestões e correções que em muito valorizaram este trabalho.

Ao Centro Universitário do Instituto Mauá de Tecnologia representada pelo seu Reitor Otávio de Mattos Silvares e à Escola de Engenharia Mauá nas pessoas do seu diretor Mário Cavaleiro Fernandes Garrote, do Coordenador do Mestrado em Engenharia de Processos Químicos e Bioquímicos Dr. Léo Kunigk e do Coordenador da Graduação em Engenharia Química e de Alimentos Dr. Marcelo Nitz que proporcionaram a oportunidade da realização de um grande objetivo em minha vida e pela disponibilização de suas instalações laboratoriais.

A todo o corpo docente que conseguiu, por meio do entusiasmo de suas aulas, propiciar-me momentos de reflexão, me indicando as possibilidades e perspectivas, diante da complexidade e dilemas dos temas abordados.

À técnica Inês Aparecida Santana que gentilmente disponibilizou o laboratório instrumental e equipamentos necessários, aos nossos cuidados para a elaboração desta dissertação.

Às técnicas do departamento de Engenharia Química e de Alimentos, Daniela Cristina do Couto Vasconcelos e Ana Paula Buriti Santa Rosa, pelo auxílio na preparação e execução das análises. A equipe de apoio, Marinês dos Santos e Sandra Maria do Nascimento que tiveram participação ativa no preparo e higienização de todas as vidrarias laboratoriais.

Ao estagiário Wesley Prieto, pela colaboração na execução das análises.

Ao amigo Alessandro Henrique Fonseca Cevilha, pela inestimável ajuda e colaboração.

À Empresa Kienast & Kratschmer Ltda. (KRAKI) representada pelas famílias de Dr. Franz Kienast e Dr. Peter Kratschmer, ao Diretor Wilson Mathias e à Gerente da divisão de aditivos,

Engenheira Matilde Faustino Marques, pela compreensão e apoio na disponibilização do uso das instalações, insumos e equipamentos que tornaram viáveis o processamento das 03 formulações de salsichas *hot dog*. Aos colegas de empresa, do setor de pesquisa & desenvolvimento (Carnes), Márcio Hatano, Flavio Andrade, Aline Diniz e Airton José Roque pela inestimável e indispensável ajuda na elaboração dos produtos na planta piloto. Aos colegas do Laboratório físico químico - Controle de Qualidade, pelo respeito e convivência no decorrer destes anos.

À Dra. Jussara Carvalho de Moura Della Torre, pesquisadora científica do Instituto Adolfo Lutz, sem os seus ensinamentos não teria chegado até aqui.

Agradeço a minha família, especialmente meus pais Cid e Eunice, meu irmão Ricardo e cunhada Patrícia, pelo entusiasmo, compreensão, força e otimismo nos momentos de desânimo e cansaço, souberam entender meus inúmeros momentos de ausências, o meu isolamento necessário para a realização dos trabalhos e das pesquisas que se fizeram necessárias ao longo deste curso e por compartilhar das minhas leituras e descobertas.

Ao meu noivo Adriano, pelo carinho e companheirismo ao longo dos últimos anos.

A todos os meus amigos, em especial à Marta Cesar de Souza e Marlene Cesar de Souza que me acompanharam no decorrer de toda a minha vida, compartilhando comigo maus e bons momentos.

Enfim, a todos que de alguma maneira contribuíram para a execução deste trabalho, seja pela ajuda constante ou por uma palavra de amizade. **MUITO OBRIGADO!**

RESUMO

Este trabalho teve como objetivo produzir salsichas *hot dog* com três diferentes formulações e verificar se atendem aos regulamentos técnicos de identidade e qualidade, estabelecidos pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, ao longo do armazenamento. Essa avaliação incluiu determinação dos resíduos de nitrito e de nitrato, além das características físico-químicas e microbiológicas. Para a escolha do método de análise de nitrato, quinze amostras de salsicha *hot dog* comercializadas na região metropolitana de São Paulo foram analisadas pelos dois métodos analíticos oficiais. Essas amostras foram analisadas também quanto ao teor de nitrito e ao pH. Este resultou em valores entre 5,93 e 6,80, variação que pode ser decorrente de diferenças nas formulações e da presença de bactérias láticas. Quanto ao nitrito, nenhuma apresentou teor superior ao limite legal, de 150 mg/kg. Ao mesmo tempo, duas amostras mereceram destaque por terem apresentado teores inferiores a 10 mg/kg. Quanto ao teor de nitrato, os resultados pelos dois métodos mostraram-se coerentes, sendo que duas amostras ultrapassaram o limite estabelecido de 150 mg/kg, por ambos os métodos. Ambos os métodos apresentaram bons resultados de eficiência. Quanto às salsichas produzidas para este estudo, todas obedeceram ao Regulamento técnico de Identidade e Qualidade de Salsicha sendo que os teores de umidade, cinzas, gordura e proteína foram bem semelhantes nas 3 formulações. Esse resultado era esperado, já que apenas as quantidades dos conservantes foram variadas nessas formulações. A atividade de água variou entre 0,968 e 0,970 e o pH de 6,54 a 6,83 indicando que estes parâmetros não formam barreiras suficientes para proporcionar a estabilidade microbiológica dos produtos. É necessária a aplicação de mais obstáculos ao desenvolvimento microbiano no produto, principalmente por fornecer condições ideais para crescimento do *Clostridium botulinum*. A redução do nitrito foi evidenciada no processamento e acondicionamento das salsichas sendo que, somente no processamento, houve perda de 33 a 38% frente à quantidade adicionada. No acondicionamento a queda ocorreu em menores proporções. Com relação ao nitrato, as análises indicaram a presença desse íon na composição dos produtos mesmo sem a sua adição. As análises indicaram ainda uma tendência de aumento com o decorrer do tempo de armazenamento em condições controladas. As análises microbiológicas indicaram que a vida de prateleira estabelecida para a comercialização destas 3 formulações estaria adequada, uma vez observadas as condições de temperatura de armazenamento e os cuidados de higiene.

Palavras-chave: Salsicha. Nitrito e nitrato. Análises. Vida de prateleira.

ABSTRACT

This work aimed to process hot dog sausages with three different formulations to check if they meet technical regulations of identity and quality established by the Ministry of Agriculture, Livestock and Supply, during the storage. This assessment included determination of residual nitrite and nitrate in addition to physico-chemical and microbiological analysis. The method of nitrate analysis was chosen after analyses of fifteen samples of sausage commercialized in the metropolitan region of São Paulo by two official analytical methods. These samples were also analyzed on nitrite content and pH. The variation of pH values, between 5.93 and 6.80, may result from differences in formulations or presence of lactic acid bacteria. No nitrite content over the legal limit of $150 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ was observed. At the same time, two samples presented content below $10\text{--}150 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$. The nitrate content by both methods showed consistency and good efficiency. Two samples exceeded the limit of $150 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, by both methods. All sausages produced for this study obeyed the Technical Regulation of Identity and Quality and the contents of moisture, ash, fat and protein were very similar in the three formulations, which were expected, since only the amounts of preservatives varied in these formulations. The water activity varied between 0.968 and 0.970 and the pH from 6.54 to 6.83 indicating that these parameters are not enough barriers to provide microbiological safety of the products. More obstacles against microbial growth, particularly of *Clostridium botulinum* are necessary. Nitrite reduction was observed in processing and storage of sausages. In the processing 33 to 38% of nitrite added was lost. Smaller proportions were reduced during storage. With respect to nitrate, the analysis indicated the presence of this ion in the product even without its addition. The analysis also indicated an increasing trend of nitrate during the shelf-life. Microbiological analyzes indicated that the shelf life established for commercialization of these three formulations would be appropriate, if the storage temperature and hygiene care were observed.

Keywords: Sausage. Nitrite e nitrate. Analysis. Shelf life.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

FIGURA 1 - Reação de Cura	16
FIGURA 2 - Número de casos suspeitos e confirmados de botulismo no Brasil - Período 1999 a 2008	25
FIGURA 3 - Número de casos confirmados por local de ocorrência de botulismo no Brasil - Período 1999 a 2008	26
FIGURA 4 - Número de casos confirmados e taxa de letalidade de botulismo no Brasil - Período 1999 a 2008	26
FIGURA 5 - Fluxograma do processamento da Salsicha <i>hot dog</i>	40
FIGURA 6 - Reações envolvidas na análise de nitrito	47
FIGURA 7 - Amostras solubilizadas após a adição de tetraborato de sódio e água quente	48
FIGURA 8 - Amostras no banho maria etapa de extração.....	48
FIGURA 9 - Amostras precipitadas em balão volumétrico em repouso	49
FIGURA 10 - Etapa de filtração das amostras após precipitação	49
FIGURA 11 - Reação de cor aguardando leitura no espectrofotômetro	50
FIGURA 12 - Fluxograma da determinação de nitrito e nitrato pela metodologia do Instituto Adolfo Lutz.....	51
FIGURA 13 - Funil de separação acoplado a coluna de cádmio.....	52
FIGURA 14 - Coordenadas de cor - Sistema CIELAB	56
FIGURA 15 - Processo de fabricação das salsichas.....	60
FIGURA 16 - Curva padrão de Nitrito de Sódio.....	66
FIGURA 17 - Curva - Comportamento dos residuais de nitrito durante o processamento e acondicionamento das 3 formulações	79
FIGURA 18 - Curva - Comportamento dos residuais de nitrato expresso em nitrito durante o processamento e acondicionamento das 3 formulações.....	82

LISTA DE TABELAS

TABELA 1- Tipos de botulismo notificados confirmados no Brasil - Período 1999 a 2008.....	24
TABELA 2 - Casos de botulismo alimentar notificados por tipo de alimento no Brasil - Período 1999 a 2008	25
TABELA 3 - Limite dos conservantes nitritos e nitratos empregados em diversos países.....	29
TABELA 4 - Vendas de produtos cárneos industrializados 2010 a 2011	34
TABELA 5 - Técnicas de quantificação de nitritos e nitratos em alimentos.....	42
TABELA 6 - Formulações de salsicha hot dog	59
TABELA 7 - Resultados de pH e residual de nitrito	65
TABELA 8 - Resultados de residual de nitrato expresso em nitrito - Redução coluna de cádmio - IAL.....	68
TABELA 9 - Resultados de residual de nitrato expresso em nitrito - Redução sistema com agitação- IN 20 MAPA	70
TABELA 10 - Resultados de residual nitrato expresso em nitrito - Compilados - Redução Coluna de Cádmio (IAL) x Redução Sistema Aberto com agitação (MAPA)	71
TABELA 11 - Composição centesimal das salsichas processadas	74
TABELA 12 - Atividade de água das salsichas processadas	75
TABELA 13 - pH das salsichas processadas.....	76
TABELA 14 - Nitrito residual das salsichas processadas	77
TABELA 15 - Nitrato expresso em nitrito residual das salsichas processadas.....	80
TABELA 16 - Contagem Padrão de Microrganismos Mesófilos Aeróbios e Anaeróbios Facultativos das salsichas processadas	83
TABELA 17 - Bactérias láticas das salsichas processadas	84
TABELA 18 - Atributo L* - Cor interna das salsichas durante o tempo de armazenamento	86
TABELA 19 - Atributo a* - Cor interna das salsichas durante o tempo de armazenamento	87
TABELA 20 - Atributo b* - Cor interna das salsichas durante o tempo de armazenamento	87

TABELA 21 - Atributo L* - Cor externa das salsichas durante o tempo de armazenamento	89
TABELA 22 - Atributo a* - Cor externa das salsichas durante o tempo de armazenamento	89
TABELA 23 - Atributo b* - Cor externa das salsichas durante o tempo de armazenamento	90

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	13
2	OBJETIVO	15
2.1	OBJETIVO GERAL.....	15
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	15
3	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	16
3.1	NITRITO E NITRATO.....	16
3.2	ASPECTOS TOXICOLÓGICOS E DE EXPOSIÇÃO AOS NITRITOS E	
	NITRATOS	20
3.3	BOTULISMO	21
3.4	PANORAMA MUNDIAL SOBRE O USO DE NITRITO E NITRATO EM	
	PRODUTOS CÁRNEOS.....	28
3.5	SALSICHAS.....	30
3.5.1	Definição	30
3.5.2	Mercado e tendências	32
3.5.3	Ingredientes utilizados na elaboração	35
3.5.4	Processo de fabricação.....	39
3.6	METODOLOGIAS PARA A QUANTIFICAÇÃO DE NITRITOS E NITRATOS	
	EM PRODUTOS CÁRNEOS	42
4	MATERIAIS E MÉTODOS	45
4.1	MATERIAIS	45
4.1.1	Obtenção e preparo das amostras	45
4.1.2	Vidrarias, reagentes, ingredientes e equipamentos	45
4.2	MÉTODOS	46
4.2.1	pH	46
4.2.2	Nitritos	47
4.2.3	Nitratos.....	50
4.2.3.1	Redução do nitrato em coluna de cádmio	51
4.2.3.2	Redução do nitrato através de sistema aberto -Agitação	53
4.2.4	Análise de umidade	54
4.2.5	Análise de cinzas	54
4.2.6	Análise de proteína	55
4.2.7	Análise de lipideos.....	55
4.2.8	Análise de atividade de água	56
4.2.9	Análise de cor	56
4.2.10	Análises microbiológicas	57
4.2.10.1	Contagem total de bactérias mesófilas aerobias e/ou facultativas	57
4.2.10.2	Contagem de bactérias láticas	57
4.2.11	Análise estatística	58
4.2.12	Formulações e fabricação das salsichas hot dog	58
4.2.12.1	Elaboração da massa	61
4.2.12.2	Embutimento.....	61

4.2.12.3	Cozimento	62
4.2.12.4	Resfriamento	62
4.2.12.5	Depelagem	62
4.2.12.6	Tingimento	63
4.2.13	Tempo de armazenamento e periodicidade de retirada das amostras de salsicha hot dog	63
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	65
5.1	AVALIAÇÃO DAS SALSICHAS DE MERCADO	65
5.1.1	pH e Nitrito residual	65
5.1.2	Nitrato residual	67
5.2	AVALIAÇÃO DAS SALSICHAS PROCESSADAS	73
5.2.1	Composição centesimal	73
5.2.2	Atividade de água	75
5.2.3	pH	76
5.2.4	Nitrito residual	77
5.2.5	Nitrato residual	80
5.2.6	Análises microbiológicas	82
5.2.6.1	Contagem padrão de microrganismos mesófilos aeróbios e anaeróbios facultativos	82
5.2.6.2	Bactérias láticas	84
5.2.7	Cor	85
5.2.7.1	Cor interna	86
5.2.7.2	Cor externa	88
6	CONCLUSÃO	91
	REFERÊNCIAS	93
	ANEXOS	98

1 INTRODUÇÃO

Com o crescimento da população mundial, a globalização e o avanço tecnológico, o consumidor passa a exigir, cada vez mais, alimentos que sejam de preparo e consumo facilitado, qualidade superior, com características de um produto mais próximo ao original e que não tragam riscos à saúde.

Ao lado de fatores como a introdução de novos produtos, da associação de processos de conservação, e muitos outros procedimentos básicos, o uso de aditivos, representa para a fabricação de produtos alimentícios, um dos seus mais importantes recursos, sendo hoje, totalmente indispensável (EVANGELISTA, 1987).

Os embutidos, particularmente, estão dentre as formas mais antigas de processamento de carnes, sendo que o emprego de substâncias químicas com a finalidade de melhorar a conservação e a aparência dos alimentos é quase tão antigo quanto à existência da civilização. O termo inglês *sausage*, da forma que é usado atualmente, é derivado do latim, *salsus*, que significa salgado ou, literalmente, preservado. Este termo foi empregado primeiramente pelos antigos romanos para denominar carne preservada pelo uso do sal (PARDI et al., 1995).

Dentre os embutidos, a salsicha é um dos mais populares no mundo e também no Brasil. Essa importância pode ser ilustrada pelo volume estimado de produção desse alimento no nosso país. O volume de salsichas produzidas no ano de 2008 atingiu 511196 toneladas e estima-se que em 2013 a produção atinja 701140 toneladas (DATAMARK, 2009).

Nitritos e nitratos são os únicos aditivos, com função conservante, previstos para uso na massa de salsichas contemplados na lista positiva do regulamento técnico brasileiro de atribuição de aditivos e seus limites da categoria de alimentos 8: *Carne e Produtos cárneos* (BRASIL, 1999; BRASIL, 2006). Em produtos de origem animal a adição de nitrato e de nitrito, associada ou não ao NaCl, somada à temperatura de refrigeração, são recursos adequados para o controle do desenvolvimento de *Clostridium botulinum* impedindo, desta forma, a produção da substância causadora da intoxicação decorrente da ingestão de alimentos contendo neurotoxinas causadoras do botulismo. O nitrato e nitrito, de sódio ou de potássio, além de inibirem o crescimento do *Clostridium botulinum*, são estabilizadores da cor vermelha da carne (FRANCO et al., 2001).

Ao mesmo tempo em que se verifica a necessidade de adição dessas substâncias para garantia da segurança microbiológica desses produtos, há a preocupação com os possíveis efeitos tóxicos ao organismo exposto, que dependem da quantidade ingerida e de sua susceptibilidade. Especificamente nesse caso, a preocupação decorre da presença de compostos potencialmente carcinogênicos, resultantes de reação dos nitritos com aminas, as nitrosaminas. Esses compostos têm sido causa de preocupação por parte das autoridades sanitárias por todo o mundo há pelo menos 40 anos.

Isso posto, verifica-se a necessidade de estudos que visem à avaliação do prazo de vida comercial de alimentos contendo esses conservadores, tanto para a segurança dos consumidores quanto da indústria fabricante. Este trabalho com salsichas do tipo *hot dog* teve dois objetivos principais: comparar os métodos oficiais de análises de nitratos por meio da determinação dos teores de nitritos e de nitratos de salsichas comercializados na região metropolitana de São Paulo e avaliar a segurança de salsichas produzidas em escala piloto durante o armazenamento, por meio de análises microbiológicas e dos citados aditivos.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Este trabalho teve como objetivo avaliar os resíduais de nitrito e nitrato durante o armazenamento da salsicha *hot dog*.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Comparar os dois métodos analíticos oficiais utilizados para a quantificação de nitrato e determinar nitrito, avaliando os resíduais em salsichas *hot dog* comercializadas na região metropolitana de São Paulo. Com esses resultados, verificar se a regulamentação quanto o emprego destes conservantes está atendida.
- Processar 3 formulações de salsichas do tipo *hot dog* e analisá-las quanto às características físico-químicas e microbiológicas e verificar se atendem aos regulamentos técnicos de identidade e qualidade, estabelecidos pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, ao longo do armazenamento.
- Estudar a variação dos resíduais de nitrito e nitrato durante o armazenamento das 3 formulações de salsichas *hot dog* elaboradas. Também foram avaliados parâmetros como pH e cor (externa e interna) no decorrer da vida de prateleira destes produtos.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 NITRITO E NITRATO

Como é de comum conhecimento, o nitrito de sódio (NaNO_2), seja utilizado puro ou em mistura com nitrato de sódio (NaNO_3), é o principal componente na reação de cura, propiciando as características de cor/sabor e conservação para a classe de produtos conhecidos como curados (CASSENS, 1997).

A reação de cura envolve a modificação química do pigmento hemoglobina, com a mudança no seu grupo Heme devido à presença do óxido nitroso, oriundo da decomposição do nitrito em meio aquoso (FIGURA 1).

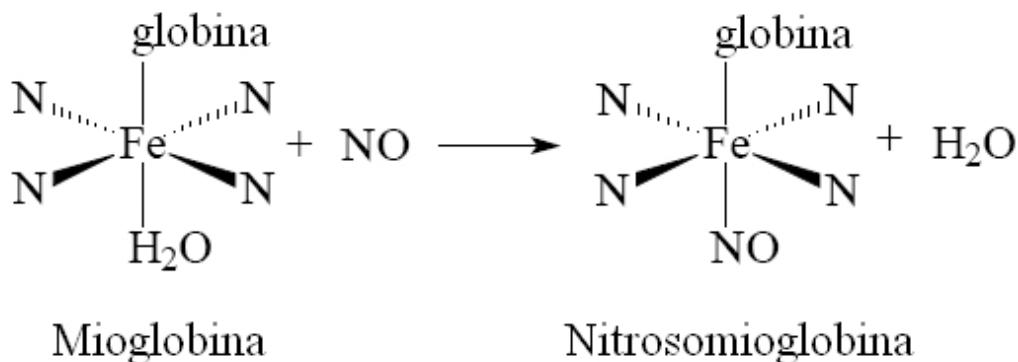


FIGURA 1 – Reação de Cura.

Tal reação é responsável não somente pelos efeitos bacteriostáticos, especialmente em relação ao gênero *Clostridium*, mas também pela formação de sabor e cor característicos desta categoria de produto. Outro efeito da utilização de nitrito e de nitrato é a redução dos processos oxidativos, muito comuns em produto cárneos industrializados (PARDI et al., 1995).

Dentre as muitas questões relativas à segurança alimentar, a presença de compostos potencialmente carcinogênicos em alimentos tem sido fortemente estudada e é causa de preocupações por parte das autoridades sanitárias por todo o mundo há pelo menos 40 anos.

As nitrosaminas são uma classe de compostos químicos que foram primeiramente descritos na literatura química há mais de 100 anos, mas até 1954 não receberam muita atenção. Nesse ano dois cientistas britânicos, John Barnes e Peter Magee, cujos trabalhos foram os primeiros a relacionar danos ao DNA com câncer, publicaram resultados que ligavam a dimetilnitrosamina com a produção de tumores em fígados de ratos. Essa descoberta foi realizada durante uma investigação toxicológica sobre dois casos de cirrose hepática que acometeu uma equipe de três homens que trabalhavam em um laboratório de pesquisa de uma grande indústria química da Inglaterra (BARNES; MAGEE, 1954).

A descoberta de Magee e Barnes fez com que cientistas de todo o mundo começassem a estudar as propriedades carcinogênicas de outras nitrosaminas e compostos N-nitrosos. Aproximadamente 300 desses compostos foram testados e 90% deles apresentou carcinogenicidade em uma ampla gama de estudos experimentais com animais (SCANLAN, 2000).

As nitrosaminas são compostos N-nitrosos, que apresentam uma estrutura genérica $R_1 R_2 N=O$, em que R_1 e R_2 podem ser grupos alquila ou arila. Dependendo dos radicais R_1 e R_2 , esses compostos podem se encontrar nas formas sólidas, líquidas ou gasosas. De modo geral, as N-nitrosaminas são estáveis, decompondo-se em soluções ácidas ou por radiação ultravioleta (MAFF, 1992).

Estes compostos estão presentes em diferentes meios como água, solo e ar. Podem ser encontrados como contaminantes de alimentos, rações, drogas, cosméticos e pesticidas. É absorvido pela pele, vias aéreas e trato alimentar. Existem evidências de que os compostos nitrosos podem ser gerados *in vivo* a partir de nitritos ou nitratos combinados com aminas primárias, secundárias e terciárias em órgãos de pessoas que aparentemente não foram expostas a estes compostos (BRENDLER et al., 1992).

As N-nitrosaminas são formadas em uma reação de substituição eletrofílica do nitrogênio orgânico com um composto nitrosante. O nitrogênio orgânico é derivado das aminas primárias, secundárias e terciárias, hidroxiamina ou peróxidos de aminas, os quais são produtos de transformação de fertilizantes e herbicidas fenoxiacéticos. Os agentes nitrosantes (N_2O_3) podem ser formados por nitritos, nitratos, ou compostos nitrosos diversos (ROSTKOWSKA et al., 1998).

Os sais de nitrito e de nitrato, especialmente os combinados com o cátion sódio, têm sido empregados durante décadas pela indústria de processamento de carne como conservante evitando o envenenamento por toxinas bacterianas, em especial a toxina botulínica. De acordo com os trabalhos de Hustad et al. (1973) e Christiansen et al. (1973), a presença de nitrito é essencial na redução do risco de envenenamento por toxina botulínica em salsichas e carne enlatada. Sua presença em produtos caracterizados como curados é essencial, não somente pelo aspecto de segurança alimentar, mas também por questões de sabor.

Dada a natureza da carne, rica em proteínas, e por consequência, rica em aminas, o uso de sais de nitrito e nitrato poderia levar a formação de nitrosaminas. Com os sais de nitrito, as reações mais extensivas aplicam-se a substâncias amínicas fracamente básicas (aminas aromáticas, amidas, ureia) sob condições aquosas ácidas. Para aminas secundárias e aminoácidos, a formação dos seus derivados N-nitrosos geralmente ocorre a um máximo entre pH 2,5 – 3,5, em que o rendimento da reação é inversamente proporcional a basicidade da substância amínica. Estas reações são catalisadas por substâncias como haletos, tiocianatos e formaldeídos (ANDRADE, 2004).

As aminas terciárias reagem similarmente às aminas secundárias, mas usualmente em menor quantidade. Com a redução do nitrito, ocorre a formação de anidrido nitroso (NO_x), muito mais reativo, com substâncias amínicas de alta basicidade, em condições não aquosas, neutras ou aquosas alcalinas. Nessas condições, o oxigênio, o iodo e vários sais metálicos têm efeito catalisador, enquanto que em condições ácidas são inibitórias. Amidas, peptídeos, ureia e guanidina não reagem com óxidos de nitrogênio em meio aquoso. As condições ácidas do estômago são propícias para as reações de conversão de nitrato e nitrito dos alimentos e da saliva. A nitração gástrica é mais dependente do consumo de nitrato do que de nitrito (CHALLIS, 1985).

A formação do anidrido nitroso não se dá apenas pela decomposição do nitrito, mas também ocorre na atmosfera (especialmente em áreas com muita poluição causada por automóveis), pela fumaça de cigarro (contém em torno de 1000 ppm de NO_x) e pela formação por processos de oxidação intracelulares. Com base no conhecimento químico da reação de produção de nitrosaminas, é possível que o NO_x produzido endogenamente possa reagir com oxigênio e, subsequentemente, nitrosar aminas secundárias e produzir N-nitrosaminas carcinogênicas *in vivo* (TANNENBAUM; WISHNOK; LEAF, 1991).

Como forma de inibir a formação de N-nitrosaminas, a utilização de substâncias antioxidantes, especialmente o ácido ascórbico e seus isômeros e sais, como ascorbato de sódio, ácido eritórbico e eritorbato de sódio tem mostrado resultados efetivos. O ácido eritórbico e o eritorbato de sódio combinam-se com o NO_x produzindo óxido nítrico, um agente de nitração relativamente inefetivo (ANDRADE, 2004).

Segundo Andrade (2004), a formação de nitrosaminas pode ocorrer sob condições específicas, que envolvem: a presença de umidade em níveis altos o suficiente para permitir as interações moleculares necessárias para a reação; valores de pH baixos o suficiente; presença dos reagentes em quantidades e disponibilidades suficientes; ausência de inibidores de reação e energia térmica (calor).

Assim, a presença de antioxidantes como os já citados (tecnologicamente conhecidos como auxiliares de cura ou fixadores de cor) reduzem em muito a possibilidade de formação de nitrosaminas, especialmente em produtos cárneos processados dentro dos padrões de identidade de qualidade estabelecidos. A literatura científica também apresenta várias indicações da não formação de nitrosaminas em produtos cárneos (DUTRA, 2006; HUSTAD et al., 1973; CHRISTIANSEN et al., 1973).

Outro fator a ser considerado é a dosagem de nitrito/nitrato empregada durante o processamento tecnológico dos produtos cárneos. Dado o grau de complexidade das reações e da matriz cárnea, bem como das interações entre ingredientes e limites de legislação, a dosagem de adição de nitritos e nitratos não apresenta uma relação direta clara com os valores residuais. Alguns fatores a serem considerados para tal:

- O nitrito é uma substância química muito reativa com forte ação óxido-redutora e nitrosante, podendo ser convertido a formas como nitrato, óxido nítrico, trióxido de dinitrogênio e ácido nítrico.
- A evidência empírica mais forte da reatividade do nitrito, além dos aspectos de cor, sabor e vida de prateleira é a redução do seu teor em relação às quantidades inicialmente adicionadas.
- A redução do teor ocorre continuamente e é influenciada principalmente por fatores como tempo, temperatura, pH, tipo de matéria prima cárnea, interações entre ingredientes, além de outros.

- Em geral, menos de 50% do nitrito adicionado pode ser quantificado quimicamente após o término do processo de cura.

Desta forma, a adição de dosagens iniciais conforme preconizada pela legislação pode, em determinadas situações, ser até insuficiente ao objetivo final na redução do gênero *Clostridium*. De acordo com Sofos, Busta e Allen (1979) dosagens de 80 ppm de nitrito não foram efetivas na redução do crescimento de *Clostridium botulinum*, assim como na não produção da toxina botulínica em emulsões com CMS (carne mecanicamente separada) de frango. Outros trabalhos (CHRISTIANSEN et al., 1974; FIDDLER et al., 1972; HUSTAD et al., 1973) demonstram a rápida queda dos teores residuais de nitrito a níveis tão baixos como 10 ppm em prazos inferiores a 7 dias, ao se partir de dosagens iniciais de 150 ppm. Assim, a manutenção dos valores de segurança para nitrito/nitrato atualmente preconizados pela Legislação Brasileira apresenta-se no limite.

3.2 ASPECTOS TOXICOLÓGICOS E DE EXPOSIÇÃO AOS NITRITOS E NITRATOS

O comitê FAO/WHO, do inglês Food and Agriculture Organization/World Health Organization de Peritos em Aditivos Alimentares (JECFA), em sua 59^a Reunião, reavaliou os limites de IDA (ingestão diária aceitável) para os íons nitrito e nitrato, com base nos últimos estudos toxicológicos existentes. A IDA é a quantidade de um aditivo (no caso nitrito e nitrato) que pode ser ingerido por toda a vida sem provocar um dano à saúde humana (ANDRADE, 2004).

Para o nitrito, o JECFA estabeleceu uma IDA de 0 – 0,07 mg kg⁻¹ de peso corpóreo, expresso como íon nitrito (WHO, 2003). Para o nitrato, o comitê manteve a IDA de 0 – 3,7 mg kg⁻¹ de peso corpóreo, expresso como íon nitrato, a qual tinha sido estabelecida na sua 44^a Reunião (WHO, 1996).

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

outros consumidores, consequentemente ingerindo alto teor de nitrato (STOPES et al., 1988). Os alimentos de origem vegetal são a principal fonte da ingestão de nitrato pelo homem, representando aproximadamente 80% do total de nitrato ingerido.

Atualmente, as pesquisas estão se voltando para a desmistificação dos males causados pelo nitrato, surgindo inclusive citações sobre importantes funções do nitrato no organismo humano, principalmente com funções de defesa contra patógenos. Pesquisando casos de metahemoglobina no Reino Unido, Leifert et al. (1999) mencionaram que a última ocorrência registrada em bebês foi em 1972. Além disso, os autores citam que não existem evidências epidemiológicas comprovando a ligação do nitrato com o câncer causado por nitrosaminas. Recentes pesquisas vêm trazendo evidências de que o nitrato apresenta destacado papel benéfico, protegendo a área gastrintestinal contra patógenos que se desenvolvem nos alimentos. Estudos nutricionais e epidemiológicos mostram que a adição de nitrito ao ácido estomacal controla melhor patógenos como *Salmonella*, *Escherichia coli* e *Helicobacter pylori*, que poderiam sobreviver apenas com o ácido estomacal. Além disso, indicam que dietas ricas de saladas e vegetais e, portanto, com alto conteúdo de nitrato são protetoras contra alguns tipos de câncer, particularmente câncer gástrico (ADDISCOTT; BENJAMIN, 2000; ARCHER, 2002). Porém, McKnight et al. (1999) mostraram que experimentos tentando ligar o aparecimento de câncer à dieta rica em nitratos têm demonstrado resultados contraditórios.

Pesquisas freqüentes devem ser efetuadas para avaliar a quantidade de nitratos e nitritos em alimentos a fim de que a Ingestão Diária Aceitável (IDA) relativa a esses íons não seja ultrapassada, já que ainda existe grande divergência no que tange ao assunto nitrito e nitrato à saúde humana.

3.3 BOTULISMO

O termo botulismo, utilizado para designar a intoxicação provocada pelo *Clostridium botulinum*, provém de *botulus*, que significa salsicha em Latim, devido ao envolvimento deste alimento nos primeiros casos de botulismo cientificamente comprovados (FRANCO et al., 2001), que ocorreram na Europa, mais exatamente na Alemanha no século XVII (CVE, 2008).

Este microrganismo foi descrito, pela primeira vez, em 1897, por Emile Pierre Van Ermengem, após uma investigação de um surto com 33 casos decorrentes de uma refeição comum (presunto, entre outras coisas) servida por um restaurante na cidade de Ellezelles, na Bélgica. O botulismo de origem alimentar é relativamente raro, mas pode matar rapidamente, e por meio de uma fonte comum alimentar contaminada pode expor muitas pessoas ao mesmo tempo (CVE, 2006).

O *Clostridium botulinum* é um bacilo Gram positivo, produtor de esporos, encontrado com freqüência no solo, alimentos, fezes humanas e animais (FRANCO et al., 2001). São bastonetes retos ou levemente curvos com flagelos piritríquios, apresentam cápsula e são móveis, anaeróbicos, com esporos ovais e sub-terminais. Para produzirem a toxina necessitam de pH básico ou próximo do neutro e faixa de atividade de água ideal de 0,95 a 0,97 (CVE, 2008).

Atualmente, três formas de botulismo são conhecidas. A primeira é o botulismo clássico, que corresponde à intoxicação causada pela ingestão de alimentos contendo neurotoxinas. A segunda, é o botulismo de lesão, que é uma doença infecciosa causada pela proliferação e consequente liberação de toxinas em lesões infectadas com *Clostridium botulinum*. A terceira, é o botulismo infantil, que é também uma doença infecciosa causada pela ingestão de esporos de *Clostridium botulinum* e subsequente germinação, multiplicação e toxigênese no intestino de crianças com menos de um ano de idade. Uma vez que a toxina é responsável pela sintomatologia do botulismo, as três formas dessa doença são clinicamente muito semelhantes (FRANCO et al., 2001).

Muitos são os alimentos associados em casos de botulismo, tais como embutidos de carnes em geral (por exemplo salsicha, mortadela, salame, presunto), conservas em lata ou vidro como doces; hortaliças; legumes (por exemplo palmitos, espargos, cogumelo, alcachofra, pimentões, berinjela, alho, pickles); peixes; frutos do mar, e outros, especialmente acondicionados em embalagens a vácuo, sem oxigênio, sem o tratamento adequado, que favorecem o desenvolvimento da bactéria, e assim, a produção da toxina (TRABULSI et al., 1999).

O botulismo de origem alimentar tem um período de incubação que, em geral, varia de 12 a 36 horas, dependendo da quantidade de toxina ingerida. A doença inicia-se às vezes com problemas gastrintestinais como náuseas, vômitos e diarréia, mas estes efeitos não são

causados pela neurotoxina, já que inexistem nos casos de botulismo de lesão e de botulismo infantil. Às vezes, a diarréia ocorre nos primeiros estágios da doença, e, em seguida, é substituída pela constipação intestinal (FRANCO et al., 2001). A anamnese e o exame físico e neurológico do paciente são imprescindíveis para o diagnóstico do botulismo. Na suspeita de botulismo alimentar, também devem ser verificados: tipos de alimentos ingeridos, tempo decorrido da ingestão e aparecimento da doença, existência de outros casos, fonte comum de ingestão, além dos sinais e sintomas apresentados (CVE, 2008).

O início da ação da neurotoxina botulínica provoca fadiga e fraqueza muscular. O quadro neurológico se instala com manifestações de cefaléia, vertigem, ptose palpebral, disfagia, paralisia facial bilateral, redução dos movimentos da língua e dificuldade para sustentar o pescoço. A paralisia se instala e não há alteração do nível de consciência (FIGUEIREDO; DIAS; LUCENA, 2006). A musculatura que controla a respiração é progressivamente paralisada, podendo provocar a morte em três a cinco dias por parada respiratória (FRANCO et al., 2001).

O botulismo é diagnosticado através dos sinais e sintomas, pela detecção e triagem da toxina no sangue do paciente e pelos testes complementares nos alimentos suspeitos. A ocorrência de um único caso de botulismo de origem alimentar representa uma emergência de saúde pública, pois pode ser um prenúncio de um grande surto, devido à possibilidade de haver outros casos resultantes da ingestão de uma fonte única de alimentos contaminados, os quais podem ainda estar disponíveis para o consumo (PARDI et al., 1995). O médico, ao se deparar com quadros neurológicos abruptos, em pacientes geralmente saudáveis, e com história de ingestão de alimentos suspeitos (conservas em latas ou vidros, embutidos, ou compotas) deve discutir o caso imediatamente com o serviço de Vigilância Epidemiológica local/municipal, regional ou estadual. As autoridades de saúde pública do estado devem contatar imediatamente a Central de Vigilância Epidemiológica, cujos profissionais estão preparados para orientar sobre todos os aspectos técnicos e operacionais relativos à doença (CVE, 2008).

Segundo o CVE (2008), nos casos de botulismo alimentar, o diagnóstico laboratorial é baseado na análise de amostras clínicas e de amostras bromatológicas. Os exames visam evidenciar a presença de toxina botulínica em material procedente dos casos e em alimentos suspeitos. A cultura do *Clostridium botulinum* pode ser considerada auxiliar do diagnóstico,

em condições especiais, como exemplo no caso de suspeita de botulismo intestinal e por ferimentos.

A ocorrência da doença é baixa no mundo, porém, com alta letalidade se não tratada adequadamente e precocemente. Em todos os países do mundo, são conhecidos casos esporádicos ou em grupos de pessoas, relacionados a ingestão de alimento preparado e conservado em condições que permitam a produção da toxina pelo bacilo. Alguns casos de botulismo podem estar subnotificados devido às dificuldades diagnósticas (CIÊNCIA RURAL, 2008).

No Brasil, o botulismo passou a ser doença de notificação compulsória a partir da Portaria 1.943/MS, de 18 de outubro de 2001 (BRASIL, 2001). A vigilância epidemiológica alerta que apesar da toxina botulínica ser letal apenas uma pequena quantidade dela causa doença, já que a toxina é termolábil e pode ser destruída se aquecida a 80 °C por, no mínimo, 10 minutos. O levantamento dos dados frutos das notificações ao Ministério da Saúde com os casos suspeitos e confirmados sistematizados sobre a incidência, formas de botulismo, mortalidade e distribuição geográfica apresentados nas tabelas (TABELA 1 e 2) e gráficos (FIGURAS 2, 3 e 4), lembrando que as doenças transmitidas por alimentos são uma preocupação muito recente, sendo este levantamento realizado de 1999 a 2008 (CVE, 2008).

TABELA 1 – Tipos de botulismo notificados confirmados no Brasil – Período 1999 a 2008

Tipo de botulismo	Número de casos	%
Botulismo Alimentar	37	95
Botulismo por ferimento	1	2,5
Botulismo intestinal	1	2,5
Total	39	100

Fonte: (CVE, 2008)

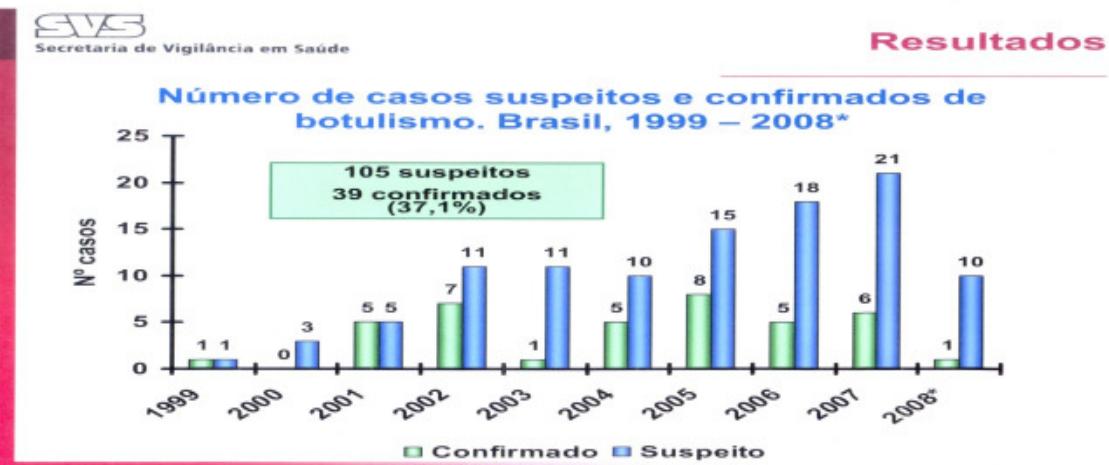


FIGURA 2 – Número de casos suspeitos e confirmados de botulismo no Brasil – Período 1999 a 2008
 Fonte: (CVE, 2008).

TABELA 2 – Casos de botulismo alimentar notificados por tipo de alimento no Brasil – Período 1999 a 2008.

Alimentos	Número de casos	%
Produtos suínos	15	41
Palmito	4	11
Torta de Frango	8	21
Tofu	4	11
Peixe em conserva	1	2
Ignorado	5	14
Total	37	100

Fonte: (CVE, 2008)

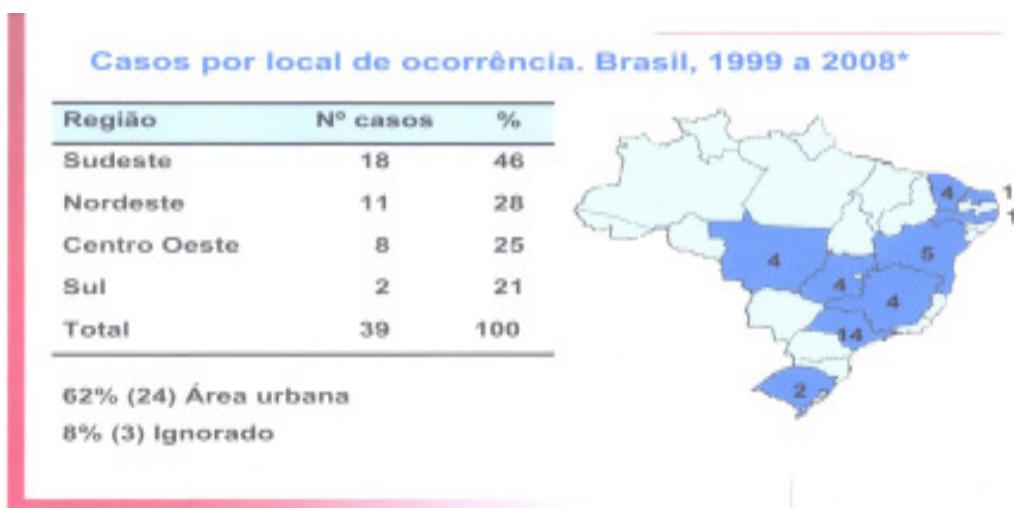


FIGURA 3 – Número de casos confirmados por local de ocorrência de botulismo no Brasil – Período 1999 a 2008
Fonte: (CVE, 2008).



FIGURA 4 – Número de casos confirmados e taxa de letalidade de botulismo no Brasil – Período 1999 a 2008
Fonte: (CVE, 2008).

O tratamento deve ser feito em unidade de terapia intensiva (UTI), abrangendo os seguintes aspectos principais (CVE, 2008):

1. Administração de antitoxina botulínica, na tentativa de prevenir a progressão neurológica da doença, nos casos moderados e de progressão lenta, ou para encurtar a duração da falência das funções ou dificuldade respiratória, nos casos severos e de progressão rápida.
2. Monitoração cuidadosa da capacidade vital respiratória e suporte respiratório efetivo para aqueles com insuficiência ventilatória (o monitoramento da capacidade vital respiratória deve ser iniciado tão logo o diagnóstico é estabelecido);
3. Cuidado intensivo e meticuloso apropriado para uma doença paralítica de longa duração.

Do ponto de vista de prevenção e controle, três aspectos são de extrema importância: o controle na indústria, na comercialização e os cuidados preventivos por parte do consumidor (PARDI et al., 1995).

Na indústria, os principais fatores que influenciam a germinação e multiplicação do *Clostridium botulinum* são temperatura, pH e atividade água (SILVA, 2002). Além disso, no caso de produtos de origem animal, a adição de nitrato e nitrito, associada ou não ao NaCl (sal), e temperaturas de refrigeração, são controles adequados contra o desenvolvimento da bactéria impedindo, desta forma, a produção da toxina.

Na comercialização, a higiene dos estabelecimentos industriais e de processamento é importante no sentido de que eles não sejam transformados em fonte de contaminação. É fundamental também que a rede varejista obedeça ao prazo de validade e as exigências de manutenção dos diferentes produtos, à constância das temperaturas prescritas e as condições de umidade e de higiene em geral principalmente no fracionamento dos produtos (PARDI et al., 1995).

Ao consumidor, recomenda-se, independentemente da adoção de cuidados quanto à procedência do alimento, pressionar para que os varejistas obedeçam às boas regras de manutenção dos produtos (STEPHEN, 2001).

3.4 PANORAMA MUNDIAL SOBRE O USO DE NITRITO E NITRATO EM PRODUTOS CÁRNEOS

Os nitratos e nitritos, de sódio e de potássio, usados na elaboração de produtos de origem animal, conforme o Decreto Nº 30.691, de 29 de Março de 1952, não devem conter metais pesados, nem substâncias tóxicas ou não permitidas em regulamento técnico específico. Os estoques de nitritos, bem como de misturas prontas que os contenham é de responsabilidade do estabelecimento ficando a cargo da inspeção federal a verificação sempre que julgar necessário do teor de nitritos em produtos ou misturas prontas (BRASIL, 1952).

O Decreto supracitado determina ainda que o emprego dos nitratos e nitritos, sejam eles de sódio, potássio ou qualquer combinação entre eles, só pode ser feito em quantidades tais que, no produto pronto para o consumo, o teor em nitrito não ultrapasse 200 ppm e de nitrato até uma parte por mil, separadamente. Existem ainda, fixadas nesta legislação, proporções máximas de uso: 1) 240 g (duzentos e quarenta gramas) para cada 100 (cem litros) de salmoura; 2) 60 g (sessenta gramas) para cada 100 kg (cem quilogramas) de carne, na cura a seco, de mistura com o sal (cloreto de sódio); 3) 15 g (quinze gramas) para cada 100 kg (cem quilogramas) de carne picada ou triturada, de mistura com o sal (cloreto de sódio) (BRASIL, 1952).

A legislação brasileira em vigor, que limita a adição de aditivos em produtos cárneos, está expressa na Portaria nº 1004, de 11 de dezembro de 1998 – MS e na Instrução Normativa nº 51, de 29 de dezembro de 2006 – MAPA sendo esta harmonizada com a Resolução MERCOSUL GMC Nº 73/97, que aprovou o Regulamento Técnico Mercosul de Atribuição de Aditivos, e seus limites das seguintes categorias de Alimentos 8: Carne e Produtos Cárneos. Em ambas as normas referenciadas, a quantidade residual máxima expressa como nitrito de sódio é de 0,015 g/100 g para o conservante nitrito de sódio ou de potássio e de 0,030 g/100 g para o conservante nitrato de sódio ou potássio, sendo que quando houver mescla de aditivos com igual função, a soma de todos os limites não pode ser superior ao limite máximo de nenhum deles. Cabe ressaltar que os únicos conservantes previstos nesta norma para uso na massa de salsicha é o nitrito e nitrato sejam eles de sódio ou potássio. Estes mesmos limites são praticados pelos países membros do Mercosul: Argentina, Paraguai e Uruguai (BRASIL, 1998; BRASIL, 2006; MERCOSUL, 1997).

O Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, através do Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal, que monitora por meio de análises físico-químicas e das formulações enviadas para registro, esclarece as legislações vigentes de uso de nitrito e nitrato. No esclarecimento, por meio do MEMO CGI nº 40, de 24 de outubro de 2008, posteriormente revogado pelo Ofício Circular nº 15, de 08 de maio de 2009, consta o procedimento de registro de rótulos e fiscalização do uso de conservantes e aditivos em produtos cárneos. Esse documento orientativo é direcionado aos Chefes das SIPAG's (Serviço de Inspeção de Produtos Agropecuários), Chefes de Divisão Técnica e aos Superintendentes Federal de Agricultura onde detalha que em uma unidade fabril casos de reincidência na violação dos níveis dos conservantes no mesmo produto ou no terceiro desvio em diferentes produtos é instituído o regime especial de fiscalização pelo Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal que poderá acarretar na suspensão total ou parcial da comercialização de produtos que levam em sua composição os conservantes/aditivos com limitação de uso podendo em alguns casos mais sérios de desvio ocorrer o cancelamento do registro do produto/rótulo (BRASIL, 2008; BRASIL, 2009).

A TABELA 3 apresenta o órgão regulamentador responsável e os limites máximos permitidos dos aditivos nitrito e nitrato de sódio ou potássio em diversos países e blocos econômicos.

TABELA 3 – Limite dos conservantes nitritos e nitratos empregado em diversos países

País	Órgão regulamentador	O que diz a legislação
EUA	FDA	Máx. 200 ppm Nitrito no produto acabado
		Máx. 500 ppm Nitrato no produto acabado
EU	Parlamento europeu	Máx. 150 ppm de Nitrito adicionado ao produto
		Máx. 300 ppm de Nitrato adicionado ao produto
Canadá	Departamento de Justiça	Máx. 200 ppm de Nitrito calculado antes do processamento
Japão	Ministry of Health, Labour and Welfare	Máx. 0,070 g/kg de Nitrito no produto final
		Máx. 0,070 g/kg de Nitrato no produto final
Austrália	Food Standards Agency	Máx. 125 ppm de Nitrito no produto final
México	Secretaría de Agricultura Y Ganadería	Máx. 200 ppm de Nitrito no produto final

Na TABELA 3, podemos evidenciar duas formas de limitação do emprego dos conservantes nitrito e nitrato de sódio ou potássio em produtos cárneos, no processamento (adição) ou através do seu residual no produto final.

A comunidade européia e o Canadá limitam o uso no processo de fabricação, ou seja, o limite máximo é controlado na adição durante o processamento do produto cárneo, conforme apresentados na TABELA 3. Já nos demais países, este controle é realizado por meio do residual no produto final mesma tratativa adotada pelos países do MERCOSUL.

3.5 SALSICHAS

3.5.1 Definição

Entendem-se como produtos cárneos processados ou preparados, aqueles em que as propriedades originais da carne fresca foram modificadas através de tratamento físico, químico ou biológico, ou por meio da combinação destes métodos. O processo envolve geralmente cortes ou cominuições mais ou menos intensos, adição de condimentos, especiarias e aditivos diversos (PARDI et al., 1996).

O Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal (RIISPOA) define embutido como sendo todo produto elaborado com carne ou órgãos comestíveis curados ou não, condimentado, cozido ou não, defumado e dessecado ou não, tendo como envoltório, tripa, bexiga ou outra membrana animal (BRASIL, 1952).

O regulamento técnico de identidade e qualidade, Instrução Normativa nº 04 do Ministério da Agricultura, descreve salsicha como produto cárneo industrializado, obtido da emulsão de carne de uma ou mais espécies de animais de açougue, adicionados de ingredientes, embutido em envoltório natural, ou artificial ou por processo de extrusão, e submetido a um processo térmico adequado. As salsichas poderão ter como processo alternativo o tingimento, depelação, defumação e a utilização de recheios e molhos (BRASIL, 2000).

A Portaria nº 1002 do Ministério da Saúde regula a lista dos produtos comercializados no país, enquadrando nas subcategorias que fazem parte da Categoria 8 – Carnes e Produtos

Cárneos. A salsicha encontra-se enquadrada na sub-categoria 8.2.1 Produtos industrializados mais especificadamente no item 8.2.1.3 Produtos Cozidos Embutidos ou não (BRASIL, 1998).

Como consta em sua definição e enquadramento na lista de produtos comercializados, a salsicha é um produto cozido e de acordo com a sua classificação, permite diferentes composições de matéria prima e diferentes técnicas de fabricação. A regulamentação em vigor detalha os ingredientes obrigatórios e opcionais empregados na fabricação deste produto. A salsicha obrigatoriamente deve conter em sua composição carnes das diferentes espécies de animais de açougue conforme a designação do produto e sal. A carne mecanicamente separada é permitida até o limite máximo de 60%. Nos ingredientes opcionais contempla o emprego de miúdos e vísceras comestíveis (coração, língua, rins, estômagos, pele, tendões, medula e miolos) ficando limitado a 10% utilizados de forma isolada ou combinada. Outros ingredientes opcionais que também podem ser utilizados neste produto é a gordura animal ou vegetal, água, proteína vegetal e/ou animal (permite-se a adição de proteína não cárnea de no máximo 4% como proteína agregada), agentes de liga, aditivos intencionais, açúcares, aromas, especiarias e condimentos com diferentes funcionalidades tecnológicas (BRASIL, 1998).

As salsichas são produtos cárneos emulsionados. A emulsão é definida como suspensão coloidal de dois líquidos não solúveis entre si (imiscíveis), mas que, no entanto, mantém-se harmoniosamente dispersos um no outro, pela ação de um agente emulsificante interfacial. Para que ocorra a união entre o óleo e a água, há a necessidade da presença de um terceiro componente: a proteína, que é o agente denominado emulsificante. A proteína, por possuir uma porção hidrofílica (polar) e outra hidrofóbica (apolar), atua na interface entre a gordura e a água, diminuindo a tensão interfacial entre as duas, unindo-as e evitando a saída e coalescência da gordura. As emulsões cárneas são chamadas de emulsão óleo em água, no qual a fase dispersa é o óleo ou gordura e a fase contínua é o meio aquoso (SHIMOKOMAKI et al., 2006).

A eficácia emulsificante das proteínas e, em última análise, a estabilidade da emulsão cárnea, depende tanto do pH da carne como da quantidade de sal empregada na formulação. Se o pH situa-se acima de 5,7 e o conteúdo de sal supera a concentração de 4%, seja separadamente ou em combinação, melhora-se a eficácia das proteínas miofibrilares (ORDÓÑEZ et al., 2005).

A salsicha tipo *hot dog* é enquadrada tecnicamente na classificação de salsicha. Avaliando o regulamento técnico pertinente e com isso todos os ingredientes obrigatórios e opcionais, verifica-se que são os mesmos direcionados a fabricação de salsicha, sendo que os padrões de identidade e qualidade a ser obedecidos para a sua fabricação também deverão atender aos mesmos requisitos (BRASIL, 1998).

A salsicha tipo *hot dog* deverá atender aos padrões higiênicos sanitários descritos na Resolução RDC nº 12, de 11 de dezembro de 1998 – MS que determina os padrões microbiológicos para alimentos, estando classificada na categoria 5 Carnes e produtos cárneos – item i - produtos cárneos cozidos ou não, embutidos ou não (mortadela, salsicha, presunto, fiambre, morcela e outros) onde os parâmetros e seus respectivos limites são para os seguintes microorganismos: Coliformes a 45 °C , Estafilococos coagulase positiva, Clostridium sulfite redutor a 46 °C e Pesquisa de *Salmonella* sp. Neste trabalho iremos avaliar dois importantes microrganismos as bactérias láticas e a contagem Padrão de Microrganismos Mesófilos Aeróbios e Anaeróbios Facultativos porém que não foram contemplados nesta regulamentação já que são microorganismos deteriorantes e indicadores e que não possui limite máximo normatizado (BRASIL, 2001).

Deve-se salientar ainda que os aditivos nitrito e nitrato são considerados ingredientes opcionais utilizados na fabricação da salsicha *hot dog* e estão contemplados na categoria aditivos intencionais sendo tratados em uma regulamentação específica conforme já mencionado anteriormente.

3.5.2 Mercado e tendências

O mercado de embutidos tem apresentado alta competitividade na última década, uma vez que o consumo de produtos cárneos como salsichas, lingüiças, mortadelas e outros, tornou-se parte do hábito alimentar de uma parcela considerável de consumidores brasileiros (MELO, 1998).

Price e Schweigert (1994) citam que nos Estados Unidos, em torno da décima parte da carne é consumida sob a forma de embutidos, e Pardi et al.(1996), descrevem que na Alemanha a produção de embutidos é de 50% da produção cárnea.

As salsichas já representaram o mais vendido produto cárneo industrializado no Brasil, cuja produção atingiu 25 mil toneladas em 1986, evoluindo para alcançar em 1993 cerca de 55 mil toneladas. O preço acessível de algumas marcas, a praticidade do preparo e o valor protéico desses produtos, especialmente da salsicha, contribuem, para a redução do *déficit* nutricional, principalmente da população de menor renda. Todavia, convém considerar os principais diferenciadores entre os fabricantes: a qualidade, o preço e a apresentação do produto (SILVA, 1995).

Os produtos cárneos emulsionados como as salsichas, são bastantes populares, sendo consumidos tanto no âmbito doméstico como no mercado da alimentação rápida. Estima-se um consumo *per capita* de aproximadamente 5 kg de produtos cárneos emulsificados, mostrando fazer parte integrante de nossa dieta e ter considerável importância em nossa economia (SHIMOKOMAKI et al., 2006).

O volume de vendas em 2008 aponta que lingüiça e salsicha tiveram queda no consumo, algo em torno de 3%, enquanto do hambúrguer manteve-se estável. Quanto ao prato pronto, houve um salto de quase 18%. A queda dos dois primeiros ocorreu depois de um forte crescimento, o que mantém a importância das categorias nas vendas. Lingüiça e salsicha perderam volume em função da alta nos preços. Com o aumento do valor das *commodities* agrícolas, principalmente soja e milho, utilizadas na alimentação dos suínos, o preço surpreendeu os consumidores. Mas é bom lembrar que o aumento ocorreu após um período de variação abaixo da inflação. Não é à toa que produtos mais baratos tiveram bom desempenho. É o caso de uma marca consagrada, que pratica o chamado *smart choice* (preço econômico). Ela cresceu com embutidos em 2008, 2% em volume, puxado por lingüiças. E obteve alta de 33% em volume com congelados, principalmente hambúrguer e pratos prontos. Outra marca igualmente importante, também garante que alcançou ganhos em volume neste mesmo período (SUPERMERCADO MODERNO, 2009).

Segundo Datamark (2009), o volume de salsichas produzidas no ano de 2008 atingiu 511196 toneladas e estima-se que em 2013 a produção atinja 701140 toneladas.

A TABELA 4, originalmente apresentada por Nielsen e detalhada no estudo de Mattanna (2012), descreve os produtos cárneos industrializados com sua respectiva representatividade em vendas. Analisando os dados da tabela, o volume de vendas em 2010/2011 continua apontando a salsicha com a tendência de queda no consumo.

TABELA 4 – Vendas de produtos cárneos industrializados 2010 a 2011

T. INDUSTRIALIZADOS DE CARNES	TOTAL BRASIL					
	VENDAS QUILOS ('000)			VENDAS EM VALOR REAL ('000)		
	2010	2011	Var.%	2010	2011	Var.%
T. INDUSTRIALIZADOS DE CARNES	1.036.972,0	935.685,3	-9,8	8.984.736,4	8.634.109,1	-3,9
LINGUIÇA	399.685,2	368.630,1	-7,8	3.342.703,2	3.346.757,6	0,1
MORTADELA	208.076,2	188.328,2	-9,5	1.557.026,9	1.523.499,2	-2,2
PRESUNTO	112.094,9	101.213,2	-9,7	1.480.269,7	1.362.306,8	-8,0
SALSICHA	225.415,6	196.054,5	-13,0	1.170.884,8	1.049.820,6	-10,3
SALAME	16.920,6	15.198,7	-10,2	453.975,3	444.035,7	-2,2
CARNES SAUDÁVEIS	20.261,0	19.683,4	-2,9	460.120,1	433.445,9	-5,8
APRESUNTADO	38.911,3	34.415,5	-11,6	394.491,1	368.157,1	-6,7
SALSICHÃO	7.990,9	6.649,0	-16,8	53.054,9	46.699,0	-12,0
AFIAMBRAZO	6.960,0	4.979,2	-28,5	51.121,7	37.444,3	-26,8
COPA	589,4	469,1	-20,4	15.641,7	16.724,3	6,9
PARMA	66,9	64,4	-3,7	5.447,0	5.218,9	-4,2

Fonte: Nielsen | br.nielsen.com

Os dados revelam, além da oscilação natural do mercado em função de preço, a concorrência dos produtos em queda com categorias de produto de maior valor agregado (BERNARDES, 2010).

Segundo Felipe Abofialho, analista de mercado da Nielsen, o brasileiro está diversificando sua refeição. “Em vez de colocar três salsichas no prato, ele passa a colocar duas e acrescentar um pedaço de torta salgada pronta”. Eduardo Bernstein, diretor de marketing de um dos principais frigoríficos, concorda. Segundo ele, graças ao aumento na renda, o consumidor tem migrado para produtos de maior valor agregado. “O prato pronto é um deles. Está cada vez mais presente nas refeições de quem trabalha fora, leva uma vida cheia de compromissos e quer conveniência.” (SUPERMERCADO MODERNO, 2009).

Alguns analistas acreditam que a redução na venda dos embutidos e a estabilidade na de linhas como hambúrguer podem indicar início de uma tendência: de substituição por produtos mais saudáveis. A indústria, atenta a esta “nova” necessidade do consumidor, apostou em produtos menos gordurosos. É o caso das linhas *light* adotadas por vários fabricantes lembrando apenas que as versões menos calóricas mantêm uma larga distância nas vendas frente aos produtos tradicionais. A tendência de linhas *light* com uma “roupagem nova”, mais chamativa no ponto-de-venda, cresce ano a ano, porém sua participação nas vendas ainda é pequena. A procura do consumidor por produtos com apelo de saudabilidade não inviabilizará as salsichas e demais embutidos cárneos. Ao contrário, as empresas processadoras estão otimistas em relação às vendas no mercado interno mesmo com a crise financeira mundial. Essas categorias de produtos integram a cultura culinária do país e dificilmente serão abandonadas. Afinal, não é possível imaginar o brasileiro sem o churrasco, o cachorro-quente ou mesmo o *cheeseburguer* (SUPERMERCADO MODERNO, 2009).

Opiniões de especialistas em mercado indicam que existe espaço para aumento nas vendas e crescimento no consumo de salsichas, bastando saber usar as ferramentas certas e extrair o melhor de cada categoria de produto.

3.5.3 Ingredientes utilizados na elaboração

Existe muita versatilidade nos ingredientes usados na elaboração de embutidos. Os ingredientes mais utilizados são aqueles que possuem os seguintes requisitos: fácil obtenção ou compra, baixo preço, disponibilidade durante todo o ano, além de segurança microbiológica (PARDI, 1994).

A água é o ingrediente mais importante de quase todos os alimentos. Na elaboração de salsichas desempenha papel fundamental no auxílio à distribuição dos aditivos e demais ingredientes do produto, reduz a temperatura das massas cárneas quando de seu processamento. É o agente fundamental de textura, influencia diretamente no rendimento e possui ação direta no crescimento de bactérias, mofos e leveduras (GUERREIRO, 2006).

O sal, além de ser usado como um agente de sabor fundamental, fornecendo características únicas quando combinado com a carne, contribui também na solubilização das proteínas miofibrilares. Quando aquecida, esta proteína solubilizada fixa-se como uma estrutura de rede, imobilizando a água, tornando esta pasta com a consistência de um gel e melhorando consequentemente a textura das salsichas (SHIMOKOMAKI et al., 2006). Matulis et al. (1995) comentam que o mínimo usado de sal para que se tenha uma boa emulsão em salsichas é de 1,3%. Já Pardi (1994) comenta que a adição de 2% de sal em uma emulsão cárnea é adequada, porém a eficácia é maior com 3%. No entanto, o sódio contido no sal (NaCl) é um mineral que, se ingerido em excesso, pode contribuir com uma série de problemas fisiológicos tais como aumento do volume de fluido extracelular, alterações na secreção gástrica e alterações na permeabilidade e morfologia das 26 membranas celulares (SGARBIERI, 1987). Portanto, a quantidade de sal usada deve ser a mínima suficiente que possa resultar em uma emulsão de características sensoriais aceitáveis.

A proteína de soja é um ingrediente usado na elaboração das emulsões de produtos embutidos, por possuir propriedades como geleificação, retenção de água e estruturação. A proteína de soja apresenta-se como a mais barata e abundante fonte de proteína para uso em produtos cárneos. O ingrediente proteico é normalmente classificado em isolado proteico ($\pm 90\%$), concentrado proteico ($\pm 70\%$), proteína texturizada ($\pm 50\%$), conforme o teor. Apresenta a desvantagem de apresentar certo sabor residual, principalmente nas versões com menor teor de proteína. Desempenha papel fundamental na textura, emulsificação e rendimento do produto. No Brasil, no entanto, o máximo permitido pela legislação de inclusão da proteína de soja em salsichas é de 4% (BRASIL, 2000).

Os agentes de ligas são adicionados ao embutido cárneo para melhorar a capacidade de ligar água, contribuir de forma positiva às características de corte, melhorar o rendimento durante a cocção e muitas vezes reduzir os custos de formulação. O amido é o ingrediente amplamente usado em embutidos cárneos, devido a sua capacidade de formar gel quando submetido ao calor e à ligação com a água (PARDI, 1994), sendo que o máximo permitido pela legislação brasileira para salsichas é de 2% (BRASIL, 2000).

Os estabilizantes são substâncias utilizadas para evitar que emulsões (misturas de gordura e água) se separem provocando liberação de gordura e perdas dos produtos. Os polifosfatos básicos (tripolifosfatos/hexametafosfatos) aumentam a capacidade de retenção de água pelas

proteínas, devido ao aumento de pH e consequente aumento das cargas negativas do músculo. Estas cargas aumentam a repulsão eletrostática entre as fibras musculares o que aumenta a sua hidratação. O tripolifosfato ajuda na extração das proteínas miofibrilares (actina/miosina) não pelo aumento de pH, mas principalmente, pela redução promovida pelas enzimas fosfatases presentes na carne à forma de pirofosfatos. Estes são muito mais efetivos na extração protéica. Assim como forma de acelerar/melhorar o processo de extração, podem ser adicionados pirofosfatos diretamente. Os fosfatos ainda protegem contra a perda de umidade, aumentando a suculência e melhorando a textura (PARDI, 1994).

O sal de cura (nitrito e nitrato de sódio) são substâncias conservantes utilizadas nos alimentos para inibir e retardar o crescimento de microorganismos. O nitrato e o nitrito, por exemplo, são também responsáveis pelo sabor e aroma característicos e agradáveis dos produtos curados, e responsáveis também pela cor avermelhada destes produtos (GUERREIRO, 2006).

A função do antioxidante na indústria de carnes é combater as reações oxidativas dos alimentos, evitar o ranço e ajudar a evitar as alterações de cor não desejadas. Em produtos cárneos ajudam a manutenção da cor vermelha atrativa e reduz os níveis de nitrito residuais, reduz a oxidação das gorduras evitando a rancidez e consequentemente aumenta a vida de prateleira do produto (ADITIVOS..., [200?]).

O corante natural é utilizado para melhorar ou atribuir cor aos alimentos. A funcionalidade está relacionada com a melhora da cor e da aparência do produto, garantindo maior estabilidade de cor e deixando a salsicha mais atrativa, além de também corrigir eventuais alterações ocorridas durante o processo de fabricação (perdas de cor). O corante de urucum, de cor laranja avermelhado, é produzido a partir das sementes do urucumzeiro (*Bixa orellana*), árvore nativa da América do Sul. É muito utilizado em salsichas na superfície externa devido ao alto poder corante, baixo preço e estabilidade (GUERREIRO, 2006).

O glutamato monossódico possui a função principal de realçador de sabor, ou seja, agrupa aos produtos sabores conhecidos e conferem continuidade e harmonia, além de estabilidade por longos períodos de armazenamento. Estes componentes possuem propriedades de modificar as características organolépticas dos alimentos, mascarando sabores indesejados, como os crus, notas de terra, amargo, fécula de mandioca, proteína de soja e carne mecanicamente separada (ADITIVOS..., [200?]).

Segundo Pardi (1994), os espessantes são substâncias utilizadas para aumentar a viscosidade das soluções, emulsões e suspensões onde são empregados. A funcionalidade no processamento de embutidos está relacionada com a melhora da textura. Tornam mais atrativos, reduzindo a perda de umidade, evitando que os alimentos percam textura após o congelamento, auxiliam na emulsificação das gorduras quando do processamento e promovem uma melhora do fatiamento em produtos emulsionados.

O lactato de sódio proveniente do ácido láctico natural é amplamente utilizado na indústria da carne para melhorar a segurança alimentar. A vida de prateleira pode aumentar de 30% a 50%. O mecanismo específico antimicrobiano é bastante complexo. Em primeiro lugar, o lactato diminui a atividade de água, que é um parâmetro importante no controle do crescimento microbiológico. Além disso, o lactato apresenta uma específica atividade antimicrobiana, o chamado efeito do íon lactato. Esta atividade é devido ao fato de que, em solução, existe um equilíbrio entre as formas dissociadas e não dissociadas. A forma não dissociada é capaz de passar facilmente através da membrana celular e dissociar-se dentro dela e, consequentemente, acidificar o seu interior. Isto explica porque a eficácia do lactato aumenta em valores mais baixos de pH. A vida de prateleira de produtos emulsionados é limitada devido à contaminação após o cozimento causado pela manipulação, no processo de embalagem ou retirada da tripa. As bactérias lácticas normalmente são as que predominantemente causam a deterioração em salsichas embaladas a vácuo. Limo ou bactérias lácticas produtoras de gás podem crescer na superfície da salsicha ou no líquido liberado pela salsicha dentro da embalagem. O lactato de sódio provou ser altamente eficaz no controle do crescimento das bactérias lácticas (ADITIVOS..., [200?]).

Os condimentos ou especiarias são substâncias aromáticas e saborosas, com ou sem valor alimentício, empregadas com a finalidade de temperar as conservas e demais alimentos. Muitas vezes, são os temperos que desenvolvem o sabor e o aroma característicos dos produtos cárneos (PARDI, 1994).

3.5.4 Processo de fabricação

O processamento de produtos embutidos apresenta, em geral, etapas básicas, que podem sofrer variações dependendo do tipo de produto que se deseja obter, bem como do fabricante. Desde que a legislação seja obedecida, o fabricante poderá seguir o seu método de processamento, o que inclui variação na escolha da carne, nos condimentos usados e outros.

As operações que procedem à elaboração de produtos cárneos envolvem cominuição e reestruturação. A etapa de fragmentação dos tecidos musculares e adiposos ocorre sob o efeito de forças de corte, esmagamento e ruptura, através da utilização de energia mecânica para desorganizar as estruturas dos tecidos. A importância relativa de cada uma destas forças influí na capacidade de a carne sofrer transformações posteriores, necessárias para a elaboração dos produtos. Esta etapa é utilizada para reduzir de tamanho os pedaços de carne *in natura*, como também para quebrar os blocos de Carne Mecanicamente Separada (CMS) que porventura estejam congelados e unidos, formando uma pasta ao final. As características das matérias-primas cominuídas dependerão, em grande parte, do tipo de equipamento utilizado na cominuição. Os equipamentos disponíveis estão classificados nas seguintes categorias básicas: moedores, cutter, cubetadoras, floculadoras e moinho coloidal. O processo de cominuição não só influencia as características físicas e sensoriais dos produtos, mas também seu rendimento após a secagem ou cocção. Cuidados com a manutenção das facas amoladas e bem ajustadas ao equipamento são muito importantes para atingir uma cominuição adequada. A reestruturação é a etapa seguinte à fragmentação e pode ser executada no mesmo equipamento. As partículas tornam-se cada vez menores e ocorre à coesão entre os lipídeos, proteínas e água. Nesta etapa, acrescentam-se os outros ingredientes: especiarias, fécula, aditivos e outros. O produto formado denomina-se pasta fina (GUERREIRO, 2006).

O processo de mistura, quando realizado após a moagem das matérias-primas, é muito importante para a qualidade do embutido obtido. Neste sentido, o desenho do equipamento (misturadeira), principalmente no que se refere à disposição das pás e seu formato, influenciam a capacidade de mistura, bem como a possibilidade de realizar vácuo. O tempo de mistura deve ser tal que permita extração parcial das proteínas, sem emulsificação da gordura, especialmente nas lingüiças e similares. No caso dos embutidos emulsionados, a extração das

proteínas deverá ser mais efetiva e geralmente, todo o processo é realizado em um só equipamento o cutter (SHIMOKOMAKI et al., 2006).

O processo de fabricação de uma salsicha se dá conforme fluxograma apresentado na FIGURA 5.

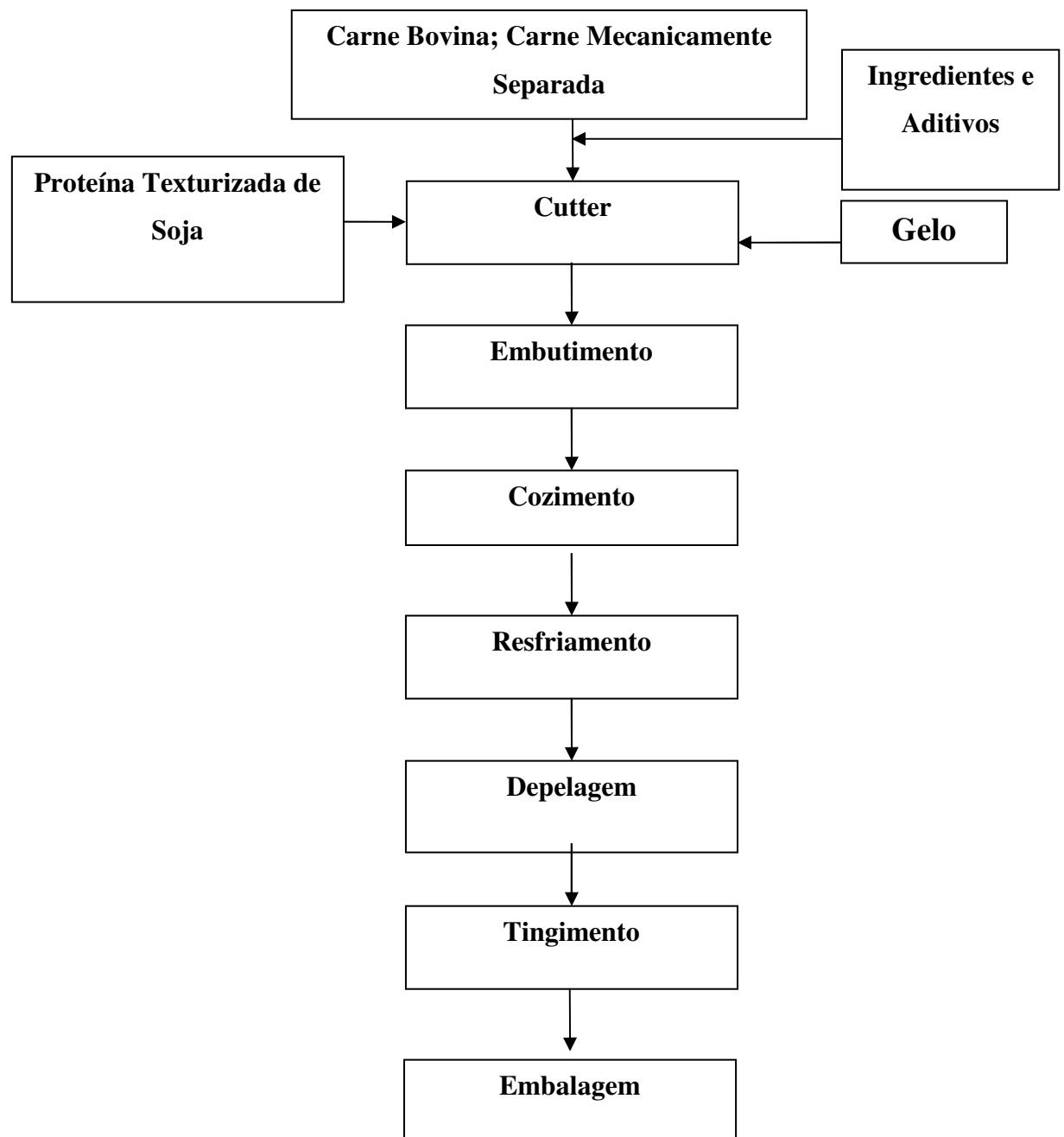


FIGURA 5 – Fluxograma de processamento da Salsicha Hot-Dog

Fonte: (GUERREIRO, 2006)

As matérias primas congeladas são passadas pelo quebrador de blocos. Logo a seguir, as carnes e a carne mecanicamente separada (CMS) são levadas ao cutter e adicionadas da metade da quantidade de água e sal. Refina-se no cutter e adicionam-se os demais ingredientes com exceção do conservante e da fécula. A seguir, incorpora-se a fécula, o restante da água gelada e o por último os conservantes (nitritos e nitratos). Concluída a elaboração da massa deve-se verificar a sedosidade. Cabe salientar que nesta etapa, quando o músculo, a água, a gordura e o sal são misturados e submetidos à mistura eficiente através do cutter, forma-se uma massa cárnea que apresenta características de uma emulsão de gordura em água. A formação da massa típica de produto emulsionado é formada em duas etapas: inicialmente ocorre absorção de água pelas proteínas e formação de uma matriz viscosa, a seguir ocorre a solubilização das proteínas com emulsificação dos glóbulos de gordura. O rompimento das fibras musculares expõe as proteínas à água. As proteínas, naturalmente insolúveis, principalmente miosina e actina ou actomiosina, formam um gel capaz de reter água se a força iônica do meio, o pH e a temperatura forem favoráveis. A absorção de água pelo gel protéico na presença de sal e tripolifosfato de sódio (estabilizante), provoca inchamento das proteínas com aumento de viscosidade. Naturalmente, algumas proteínas permanecem intactas, na fibra muscular ou no tecido conjuntivo, enquanto outras solubilizam e servem como agentes emulsificantes. A formação estrutural, na massa emulsificada, estabiliza a estrutura ao imobilizar a água livre, impedindo perda de água e a coalescência dos glóbulos de gordura durante o aquecimento (GUERREIRO, 2006).

Segundo Pardi (2004), a massa fina é embutida em tripa celulósica de 20-24 mm de diâmetro, na seqüência o produto deve ser levado para o cozimento em estufa ou tanque de cozimento. O objetivo desta etapa do processo é cozinhar a massa, dando características de paladar adequado (cor, sabor e consistência), além de estabilizar a mistura e melhorar a conservação. Recomenda-se cozinhar a 60 °C por 30 minutos. A seguir eleva-se a temperatura da estufa até que a temperatura no interior da salsicha atinja 74 °C.

Concluído o cozimento, as salsichas são resfriadas, inicialmente, sob aspersão de água fria, a seguir em câmara fria até a temperatura de 5° C. Retira-se a tripa sintética e passa-se à etapa de coloração das salsichas sendo que posteriormente a sua secagem são embaladas em sacos plásticos onde é feito o vácuo, termossoldagem e termorretração. A embalagem secundária da salsicha é a caixa de papelão (PARDI, 2004).

3.6 METODOLOGIA PARA A QUANTIFICAÇÃO DE NITRITOS E NITRATOS EM PRODUTOS CÁRNEOS

Existe um grande número de métodos empregados para a determinação e monitoramento de nitritos e nitratos em alimentos. As técnicas normalmente utilizadas estão compiladas na TABELA 5 (ANDRADE, 2004).

TABELA 5 – Técnicas de quantificação de nitritos e nitratos em alimentos. FIA: análise por injeção em fluxo, HPLC: cromatografia líquida de alta eficiência.

Técnica	Analito
Espectrofotometria	$\text{NO}_3^- / \text{NO}_2^-$
Quimiluminescência/FIA	$\text{NO}_3^- / \text{NO}_2^-$
Espectrofotometria/FIA	$\text{NO}_3^- / \text{NO}_2^-$
HPLC/UV	$\text{NO}_3^- / \text{NO}_2^-$
HPLC/ Quimiluminescência	NO_2^-
HPLC/Fluorescência	$\text{NO}_3^- / \text{NO}_2^-$
HPLC/detecção condutimétrica	$\text{NO}_3^- / \text{NO}_2^-$
HPLC/detecção eletroquímica	$\text{NO}_3^- / \text{NO}_2^-$
Potenciometria	NO_3^-
Polarografia	NO_3^-
Eletroforese capilar	$\text{NO}_3^- / \text{NO}_2^-$
Fluorescência	NO_2^-
Espectroscopia de absorção atômica	$\text{NO}_3^- / \text{NO}_2^-$

A quantificação de nitrato, por meio das diversas técnicas apresentadas na literatura, se diferencia quanto à determinação que pode ocorrer de forma simultânea ou seqüencial. Como exemplo de técnica que realiza a determinação de nitrato e nitrito simultaneamente podem-se

citar as técnicas voltamétricas e a eletroforese capilar, embora a detecção dos analitos seja independente um do outro em uma única medida (MOORCROFT; DAVIS; COMPTON, 2001). A determinação seqüencial se baseia na detecção do íon nitrito inicialmente, seguido da redução do íon nitrato ao íon nitrito para sua posterior quantificação. Os valores dos teores de nitrato são obtidos por diferença. A estratégia de análise na determinação de nitrato e nitrito é dependente da metodologia a ser usada (ANDRADE, 2004).

A técnica mais amplamente utilizada é, sem dúvida alguma, a espectrofotométrica na região do visível sendo a determinação realizada seqüencialmente. A metodologia preconizada pela AOAC (1997) para nitrito em produtos cárneos prevê o uso da técnica espectrofotométrica, bastante semelhante ao descrito nas normas analítica brasileiras, com diferenças apenas nas etapas de extração e precipitação. Outro método contemplado pela AOAC (1997) está baseado em uma destilação com posterior reação colorimétrica, quantificando nitrato e nitrito empregando o xilenol.

O Ministério da Agricultura oficializa a Instrução Normativa nº 20 de 21 de julho de 1999 da Secretaria de Defesa Agropecuária detalhando os métodos analíticos físico-químicos para controle de produtos cárneos e seus ingredientes a ser adotado pelos laboratórios do próprio Ministério da Agricultura – Laboratório Nacional Agropecuário (LANAGROS) ou na rede de laboratórios credenciados. O controle de produtos cárneos coletados pelos fiscais do Serviço de Inspeção Federal (SIF) e nos planos de autocontrole implementados pelos frigoríficos é pautada na técnica de espectrofotometria na região do visível sendo a determinação realizada seqüencialmente (BRASIL, 1999).

O Instituto Adolfo Lutz, Laboratório Central de Saúde Pública no Estado de São Paulo, responsável por executar as análises das amostras coletadas pela Vigilância Sanitária no Estado, também segue para as análises fiscais a metodologia espectrofotométrica. A execução do procedimento é bastante similar quando o parâmetro é o nitrito de sódio em ambas as metodologias. Já quando abordamos a análise de nitrato embora o fundamento do método seja o mesmo, a etapa de redução de nitrato a nitrito ocorre de maneiras distintas. As Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz prevê a redução em uma coluna de cádmio compactada. Já a Instrução Normativa 20/MAPA adota como mecanismo a redução através de um sistema aberto com agitação (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 2005; BRASIL, 1999). A metodologia

adotada empregando a coluna de cádmio e sua confecção foi baseada na literatura descrita em Strickland e Parsons (1972).

Existe uma variedade de agentes redutores que foram avaliados quanto à eficiência na redução do nitrato a nitrito, entre eles, redutores a base de zinco, cobre-hidrazina e cádmio. Uma nova técnica para reduzir nitrato a nitrito por foto-indução foi avaliado por Takeda e Fujiwara (1993), que reportaram o uso da radiação UV entre 200 e 300nm, resultando na formação de nitrito e oxigênio. Esta técnica se mostrou atrativa uma vez que não há utilização de substâncias tóxicas como o cádmio, porém, às vezes este agente redutor pode provocar uma redução incompleta do nitrato ou levar à formação de amônia.

A mecanização e/ou automação dos procedimentos visando à determinação quantitativa de espécies químicas, tem sido proposta como alternativa aos procedimentos convencionais quando se pretende analisar um grande número de amostras por unidade de tempo, minimizar o consumo de amostras e de reagentes, diminuir problemas de contaminação e melhorar a precisão dos resultados analíticos (ANDRADE, 2004).

Atualmente no Brasil, para fins de análises fiscais, as metodologias empregadas pelos órgãos regulamentadores não prevêem a automação dos procedimentos quando se trata da matriz cárnea e produtos cárneos, trazendo com isso desvantagens como a de analistas em contato com substâncias potencialmente carcinogênicas, elevado consumo de reagentes e impossibilidade de realização de grande número de amostras por unidade de tempo.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 MATERIAL

4.1.1 Obtenção e preparo das amostras

Amostras comerciais: no período de setembro/2009 a março/2010, foram coletadas quinze amostras de salsicha *hot-dog* de quinze diferentes marcas comerciais. Todas as salsichas foram adquiridas em supermercados da região metropolitana de São Paulo. As amostras coletadas foram devidamente identificadas, trituradas e avaliadas quanto ao pH. Em seguida, foram analisadas pelos dois métodos analíticos propostos para nitrato e por um único método analítico para o nitrito. As análises foram realizadas no mesmo dia para que os resultados pudessem ser comparados já que a tecnologia de fabricação e o armazenamento podem proporcionar a redução dos teores de nitrito/nitrato.

Amostras de salsichas processadas para este trabalho: foi realizado o processamento de três formulações de salsichas *hot-dog*, na Planta Piloto de produtos cárneos da empresa Kienast & Kratschmer Ltda. Após o processamento os produtos foram armazenados e amostras foram coletadas nesse período. Após a coleta, foram imediatamente trituradas e analisadas.

4.1.2 Vidorrias, reagentes, ingredientes e equipamentos

As vidrarias utilizadas foram as de uso comum em laboratórios, com exceção da coluna de cádmio, que foi produzida conforme especificações do método analítico (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 2005).

Os reagentes analíticos empregados foram todos de grau analítico.

Os ingredientes e matérias primas cárneas utilizados no processamento das salsichas foram adquiridos de diferentes fornecedores e doados pela empresa Kienast & Kratschmer Ltda. Salientamos que todos os aditivos empregados são de grau alimentício e que o nitrito de sódio e o nitrato de sódio utilizado são provenientes da Badische Anilin und Soda-Fabrik (BASF).

Os equipamentos utilizados nas avaliações laboratoriais foram: mini processador (modelo HC31, marca Black & Decker), mixer (modelo Robot Classic, marca Mallory), balança analítica (modelo AB204-5, marca Mettler Toledo), estufa (modelo 515, marca Fanem), banho-maria (modelo NT 232C, Nova Técnica), banho-maria com agitação (modelo NT 246, marca Nova Técnica), agitador magnético (modelo TE-085, marca Tecnal), pHmetro (modelo TEC-2, marca Tecnal), espectrofotômetro UV/VIS faixa espectral entre 190 e 900 nm (modelo Carry 100, marca Varian), higrômetro para determinação de atividade de água (modelo Aqualab Série 3 TE, marca Decagon Devices Inc), determinador de gordura (modelo TE -044, marca Tecnal), bloco digestor (modelo 008750-04, marca Tecnal), destilador de nitrogênio (modelo TE-0363, marca Tecnal), colorímetro (modelo Colorflex, marca Hunterlab), estufa (modelo 315SE, marca Fanem) e mufla (modelo EDG 3P-S, marca EDG).

Para o processamento das salsichas foram empregados os seguintes equipamentos na planta piloto: balança (modelo 9091, marca Toledo), serra (modelo: 282 I, marca: CAF), moedor (modelo MEW 603, marca: Mado Primus), cutter (modelo: EX 3000RS, Marca Kilia), embutideira (modelo VF 50, marca Handtmann) e estufa (Modelo MC 500, marca Bastra).

4.2 MÉTODOS

As determinações conduzidas neste trabalho foram realizadas em triplicata, exceto as avaliações microbiológicas.

4.2.1 pH

O potenciômetro foi calibrado com as soluções tampão de pH 4,00 e 7,00. Cerca de 50 g de amostra foram pesados e homogeneizados com 20 mL de água destilada. O pH da amostra foi medido logo após sua preparação (BRASIL, 1999).

4.2.2 Nitritos

A análise de nitritos é fundamentada na reação de diazotação dos nitritos com ácido sulfanílico e copulação com cloridrato de α -naftilamina em meio ácido, formando o ácido α -naftilamino-p-azobenzeno-p-sulfônico de coloração rósea (FIGURA 6). O produto resultante é determinado espectrofotometricamente a 540 nm (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 2005).

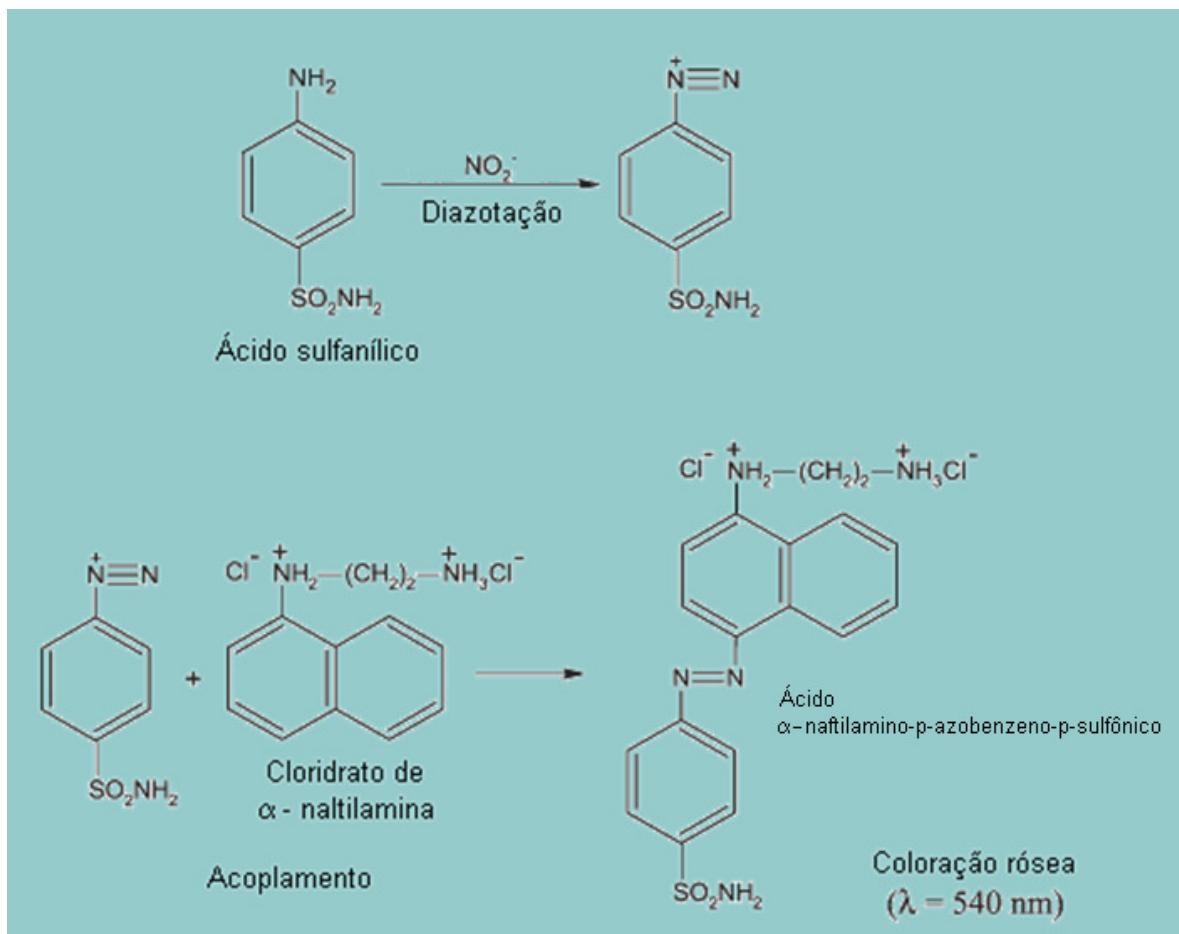


FIGURA 6 – Reações envolvidas na análise de nitrito

Preparo da amostra: Para esta análise foram pesados 10 g de amostra triturada e homogeneizada em um bêquer de 200 mL. 5 mL de solução de tetraborato de sódio foram adicionados (FIGURA 7). Após mistura com bastão de vidro, cerca de 50 mL de água quente (80°C) foram acrescentados. Esta suspensão, frequentemente agitada com bagueta, permaneceu em banho-maria por 15 minutos (FIGURA 8).



FIGURA 7 – Amostras solubilizadas após a adição de tetraborato de sódio e água quente



FIGURA 8 – Amostras no banho-maria etapa de extração

Com auxilio do bastão de vidro e de um funil, o conteúdo foi transferido quantitativamente para balão volumétrico de 200 mL. O béquer foi lavado com aproximadamente 50 mL de água. Após resfriamento do conteúdo do balão, 5 mL de $K_4Fe(CN)_6$ e 5 mL de $ZnSO_4$ foram adicionados. O balão volumétrico foi agitado por rotação após a adição de cada reagente e, ao final, o volume foi completado com água e vigorosamente homogeneizado (FIGURA 9).



FIGURA 9 – Amostras precipitadas em balão volumétrico em repouso

A amostra permaneceu em repouso por 15 minutos, sendo várias vezes agitada com vigor nesse período (FIGURA 9). Em seguida, o filtrado foi separado em papel de filtro qualitativo e recolhido em um frasco Erlenmeyer de 250 mL (FIGURA 10).



FIGURA 10 – Etapa de filtração das amostras após precipitação

O mesmo procedimento foi executado com um “branco” de reagentes (sem a adição da amostra).

Reação de cor: 10 mL dos filtrados (“branco” e amostras) foram pipetados para balões volumétricos de 50 mL. Após adição de 5 mL de sulfanilamida, e repouso por 3 minutos, 3 mL de cloreto de alfa-naftilenodiamina (NED) foram adicionados em cada um, e o conteúdo imediatamente agitado (FIGURA 11). O volume foi completado com água e homogeneizado.

Após 15 minutos de repouso, a leitura da absorbância a 540 nm contra o “branco” de reagentes foi executada no espectrofotômetro.

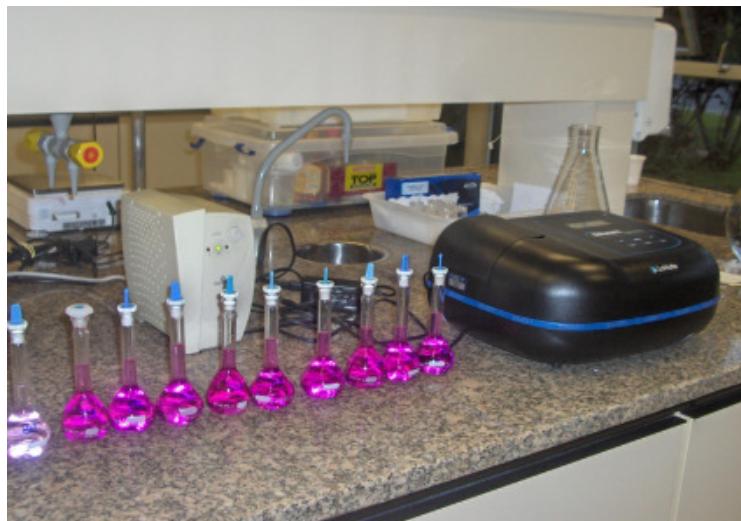


FIGURA 11 – Reação de cor aguardando leitura no espectrofotômetro

Curva padrão: foram pipetadas alíquotas de 1, 2, 3, 4, 5, 6 e 7 mL da solução padrão de trabalho de NaNO₃ (8 µg/mL) para balões volumétricos de 50 mL. A cada um dos balões foram adicionados, 5 mL de reagente sulfanilamida, misturados por rotação e, após 3 minutos, adicionados 3 mL de reagente alfa-naftilenodiamina. Os volumes foram completados e homogeneizados. Após aguardar 15 minutos para o desenvolvimento da cor, foi determinada a absorbância a 540 nm contra o “branco” de reagentes, utilizando cubeta de 1 cm. A curva foi construída com os valores de absorbância (variável dependente) e de concentração de nitrito de sódio 0,16; 0,32; 0,48; 0,64; 0,80; 0,96 e 1,12 µg/mL (variável independente), por meio de ajuste ao modelo linear, tornando possível o cálculo dos coeficientes linear e angular da reta (absortividade).

4.2.3 Nitratos

O nitrato é reduzido a nitrito por ação do cádmio esponjoso em meio alcalino. Esta redução foi avaliada por meio de dois métodos distintos. O primeiro preconiza o uso de coluna compactada recomendado pelas Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz (2005); o segundo, o sistema aberto com agitação conforme descrito pela Instrução Normativa 20 de 21

de julho de 1999 – MAPA. A seguir, é realizada a análise de nitritos como já descrito em 4.2.2.

4.2.3.1 Redução do nitrato em coluna de cádmio

O método de análise de nitrito e nitrato em coluna está detalhado na FIGURA 12:

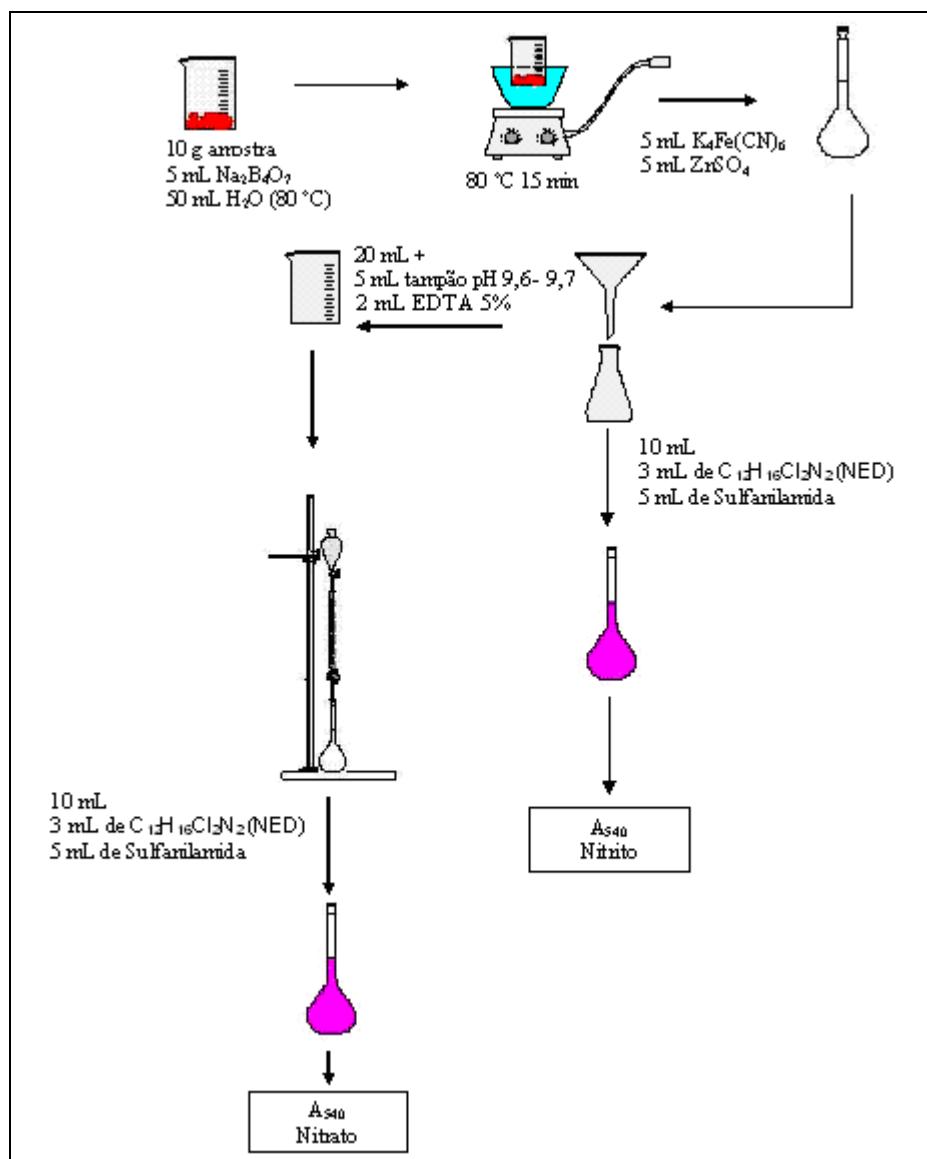


FIGURA 12 – Fluxograma da determinação de nitrito e nitrato pela metodologia do Instituto Adolfo Lutz (2005)

Preparo do cádmio esponjoso: barras de zinco metálico foram mergulhadas em 500 mL de solução de CdSO₄ a 20%. À medida que o cádmio esponjoso se depositava nas barras, era removido e transferido para um béquer contendo água. Com o auxilio de um mixer, o material foi homogeneizado e peneirado, com o cuidado de mantê-lo sempre imerso em água. Após a fração sólida ficar visualmente bem separada, a água sobrenadante foi removida por decantação. O cádmio foi, então, coberto com HCl 2 mol/L e deixado em repouso por 2 minutos. Decorrido este período, o ácido clorídrico foi removido por decantação e o cádmio foi lavado com água até pH neutro. O cádmio foi completamente coberto com ácido clorídrico 0,1 mol/L e, após repouso de 15 minutos, o ácido foi removido por decantação e o cádmio foi novamente lavado com água até pH neutro. Após decantação da água, foi adicionada solução-tampão de pH 9,6 – 9,7 (1+9), que permaneceu em contato por, no mínimo, 15 minutos.

A coluna de vidro foi preparada com lã de vidro e areia na extremidade. O cádmio esponjoso foi transferido em pequenas porções com o auxilio de água, até atingir uma altura de 10 cm. No topo da coluna foi adaptado um funil de separação de 100 mL, com haste de 10 mm de diâmetro e 25 cm de comprimento. Na extremidade da haste, foi adaptada uma rolha de silicone, capaz de encaixar-se perfeitamente à coluna, e prevenir a entrada de ar. O sistema, ilustrado na FIGURA 13, permite o controle do fluxo.



FIGURA 13 – Funil de separação acoplado a coluna de cádmio.

Regeneração/ativação da coluna: a coluna deve ser regenerada sempre na primeira utilização do dia e, depois, a cada duas passagens de amostras. A regeneração é realizada por passagem de soluções na coluna a um fluxo de 10 mL/min respeitando a seguinte ordem: 25 mL de HCl 0,1 mol/L, 50 mL de água e 25 mL de solução tampão diluída (1+9).

Redução do nitrato: 20 mL de cada filtrado obtido no preparo das amostras e do “branco” da determinação de nitritos foram transferidos quantitativamente para bêqueres de 100 mL, onde foram adicionados 5 mL da solução-tampão pH (9,6-9,7) e 2 mL de solução de EDTA 5%. Cada amostra foi transferida para a coluna a um fluxo \leq 6 mL/minuto, recolhendo diretamente em balão volumétrico de 100 mL. As paredes do bêquer foram lavadas com água e esta foi passada pela coluna de cádmio. O volume do balão volumétrico foi completado com água passada pela coluna. Após homogeneização, 10 mL (“branco” e amostras) foram transferidos para balões volumétricos de 50 mL. 5 mL de sulfanilamida foram adicionados em cada, seguidas de agitação por rotação. Passados 5 minutos de repouso, 3 mL de NED foram adicionados. O volume foi completado com água e, após agitação e 15 minutos de repouso, a absorbância foi lida a 540 nm.

Eficiência ou controle da capacidade redutora da coluna: a eficiência da coluna deve ser verificada, passando por ela solução padrão de nitrato de sódio e determinando a quantidade de nitrito formado. Para isso, misturou-se em um bêquer de 100 mL, uma alíquota de 20 mL da solução padrão de nitrato de sódio (10 μ g/mL) e 5 mL da solução tampão pH (9,6-9,7). Essa solução foi passada pela coluna e foi realizada a reação de cor, conforme o procedimento já descrito. Se a recuperação for inferior a 90%, isto é, a concentração de nitrato calculado menor que 90% do valor teórico esperado, a coluna de cádmio deve ser regenerada.

4.2.3.2 Redução do nitrato através de sistema aberto – agitação

No sistema aberto, o cádmio esponjoso deve permanecer imerso no tampão diluído durante a condução da análise, sendo lavado posteriormente com água e deixado em repouso, sempre imerso em água até que seja recuperado. O cádmio esponjoso não usado deve ser mantido em água. A água do cádmio esponjoso deve ser substituída por tampão pH 9,6 - 9,7 diluído (1+9) pelo menos 15 minutos antes da sua utilização para a ativação (BRASIL, 1999).

20 mL de filtrados (“branco” e amostras) obtidos na determinação de nitrito (4.2.2) foram transferidos quantitativamente para erlenmeyers de 125 mL. 5 mL de tampão pH 9,6-9,7 e aproximadamente 20 g do cádmio esponjoso foram adicionados em cada erlenmeyer. As paredes do erlenmeyer foram lavadas com o mínimo de água. Após agitação em *shaker* por no mínimo 15 minutos, permaneceram em repouso para sedimentar. O sobrenadante foi filtrado em papel de filtro qualitativo, e o filtrado foi recolhido diretamente em balão volumétrico de 100 mL. O erlenmeyer foi lavado no mínimo 3 vezes com água, agitado por 2 minutos a cada lavagem, deixado em repouso para sedimentar e o conteúdo foi filtrado. O papel de filtro foi lavado e o volume do balão completado com água. 10 mL (“branco” e amostras) foram transferidos para balões volumétricos de 50 mL e a reação de cor foi realizada conforme já descrito.

A curva padrão utilizada para a quantificação dos íons nitrato é a mesma já explicitada na determinação dos íons nitrito.

4.2.4 Análise de umidade

Fundamenta-se na perda de água e substâncias voláteis a uma temperatura determinada. A umidade das amostras de salsicha foi calculada após a desidratação em estufa a 105 ± 2 °C até peso constante (BRASIL, 1999).

4.2.5 Análise de cinzas

Fundamenta-se na eliminação da matéria orgânica e inorgânica volátil a 550 °C. O produto obtido é denominado de resíduo mineral fixo. 3 g de salsichas foram utilizadas nessa análise, que foi realizada em triplicata. As amostras permaneceram por 3 horas na mufla a 550 °C, antes do resfriamento e pesagem. (BRASIL, 1999).

4.2.6 Análise de proteína

Para a análise de proteínas foi utilizado o método de Macro-Kjeldahl que é fundamentado na transformação do nitrogênio da amostra em sulfato de amônio através da digestão com ácido sulfúrico P.A. e posterior destilação com liberação da amônia, que é fixada em solução ácida e titulada. O nitrogênio existente na amostra foi expresso em protídios, multiplicando a porcentagem do nitrogênio total pelo fator específico de carnes e derivados que é de 6,25 (BRASIL, 1999).

A digestão da amostra foi realizada da seguinte forma: em um tubo de digestão (Kjeldahl), foram adicionados 5 g de mistura catalítica e 1 g da salsicha e por fim 20 ml de H₂SO₄ PA. O tubo foi colocado no bloco digestor, gradativamente aquecido até atingir 400 °C, temperatura em que o tubo permaneceu até finalização da digestão. A destilação da amônia presente no tubo após a digestão foi realizada após neutralização dos ácidos nele presentes com NaOH 50%. A amônia foi recolhida em solução de ácido bórico 4%, contendo vermelho de metila e verde de bromocresol como indicadores. A titulação do destilado foi realizada com solução fatorada de ácido clorídrico 0,1 mol/L.

4.2.7 Análise de lipídios

A análise utilizada para determinação de lipídios fundamenta-se na solubilidade da gordura em solventes orgânicos. É um método gravimétrico em que a gordura extraída pelo solvente é pesada após evaporação do solvente (BRASIL, 1999). As amostras de salsichas foram pesadas e secas em estufa a (105 ± 2) °C por 2 horas antes da análise. O éter de petróleo foi o solvente empregado nesta avaliação.

4.2.8 Análise de atividade de água

A atividade de água foi determinada em triplicata, utilizando-se higrômetro Aqualab (modelo Série 3 TE, Decagon Devices Inc). Esse equipamento mede a atividade de água, com fundamento no ponto de orvalho, em que a água é condensada em superfície espelhada e fria e detectada por sensor infravermelho. As amostras foram colocadas em recipientes plásticos e as leituras foram realizadas em temperatura controlada de 25,0 °C.

4.2.9 Análise de cor

Para determinação objetiva da cor foi usado o colorímetro (Modelo Colorflex, Hunterlab), programado com o Sistema L^* . a^* . b^* de acordo com a *CIALAB* (do francês: *Commission Internationale de L'eclairage*: Comissão Internacional de Iluminação/Cor), sendo L^* a medida da luminosidade, a^* a intensidade da cor vermelha e b^* a intensidade da cor amarela (FIGURA 14). O feixe de luz foi emitido primeiramente na região interna das salsichas e posteriormente na superfície da salsicha.



FIGURA 14 – Coordenadas de cor – Sistema CIELAB

4.2.10 Análises microbiológicas

Todas as análises microbiológicas foram executadas em um laboratório terceirizado, credenciado pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) e pelo Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia (INMETRO). Os certificados de análises estão detalhados no Anexo II.

Para as determinações microbiológicas, foram coletadas 25 gramas das salsichas e adicionadas em 225 ml de solução diluente (água peptonada estéril 0,1%) e homogeneizadas por 60 segundos.

As diluições decimais necessárias foram feitas no mesmo diluente, e alíquotas das diluições apropriadas foram semeadas em duplicata em meios de cultura seletivos e não seletivos para a enumeração da microbiota presente.

4.2.10.1 Contagem total de bactérias mesófilas aeróbias e/ou facultativas

A partir das diluições obtidas e descritas no item anterior, foi realizada a contagem de mesófilos pela técnica de semeadura em profundidade “pour plate” utilizando-se para isso Plate Count Agar (PCA). As placas foram incubadas a 35-37 °C/48h seguindo as recomendações dos métodos analíticos do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, publicados pela Instrução Normativa 62 de 2003 (BRASIL, 2003).

4.2.10.2 Contagem de Bactérias Lácticas

A quantidade de bactérias ácido-lácticas das amostras de salsichas foi determinada pela técnica de semeadura em profundidade (pour plate), com a adição de sobrecamada, em placas com Ágar Man, Rogosa e Sharpe (MRS) adicionado de azul de anilina, depois de incubadas em estufa por 48 h a 35 °C.

4.2.11 Análise estatística

Todos os ensaios foram executados, no mínimo, em triplicata. Seus valores descritivos estão apresentados na forma de média, desvio padrão e coeficiente de variação.

Os valores aparentemente discrepantes (*outliers*) foram submetidos a teste Q para rejeição de resultados.

Para a comparação entre métodos diferentes aplicados a uma mesma amostra foi utilizado o teste t pareado. Este mesmo teste foi também utilizado para comparar resultados obtidos em tempos diferentes de armazenamento. Foram comparadas análises subsequentes no tempo e também cada tempo com relação ao tempo inicial.

A partir da análise de variância (ANOVA), o teste F avaliou a existência ou não de diferença entre as 3 formulações propostas, ao nível 5% de significância. Quando encontrada diferença significativa neste teste ($p<0,05$) investigou-se através do teste post hoc de Tukey quais formulações diferiram entre si.

Todos os cálculos estatísticos deste trabalho foram executados em planilha Excel (Microsoft Office) e no software Origin 7.5.

4.2.12 Formulações e fabricação das salsichas hot dog

Para testar o efeito do conservante nitrito de sódio e nitrato de sódio foram feitas 03 partidas de salsichas empregando uma formulação padrão praticada pelo mercado de salsicha hot-dog. Os ingredientes e os percentuais utilizados estão descritos na TABELA 6.

TABELA 6 - Formulações das salsichas *hot dog*

INGREDIENTES	FORMULAÇÕES (%)		
	A	B	C
CMS de aves	60	60	60
Carne Bovina	20	20	20
Sal Refinado	1,2	1,2	1,2
Proteína Texturizada de Soja	4	4	4
Fécula de mandioca	2	2	2
Condimento Salsicha	1	1	1
Nitrito de Sódio	0,015	0,025	0,02
Nitrato de Sódio	-	-	0,005
Eritorbato de Sódio	0,05	0,05	0,05
Tripolifosfato de Sódio	0,25	0,25	0,25
Glutamato monosódico	0,1	0,1	0,1
Gelo	9,385	9,375	9,375
Lactato de Sódio	2	2	2
TOTAL	100	100	100

As três formulações de salsichas foram elaboradas seguindo as Boas Práticas de Fabricação conforme ilustração e detalhado no memorial descritivo a seguir apresentados (FIGURA 15).

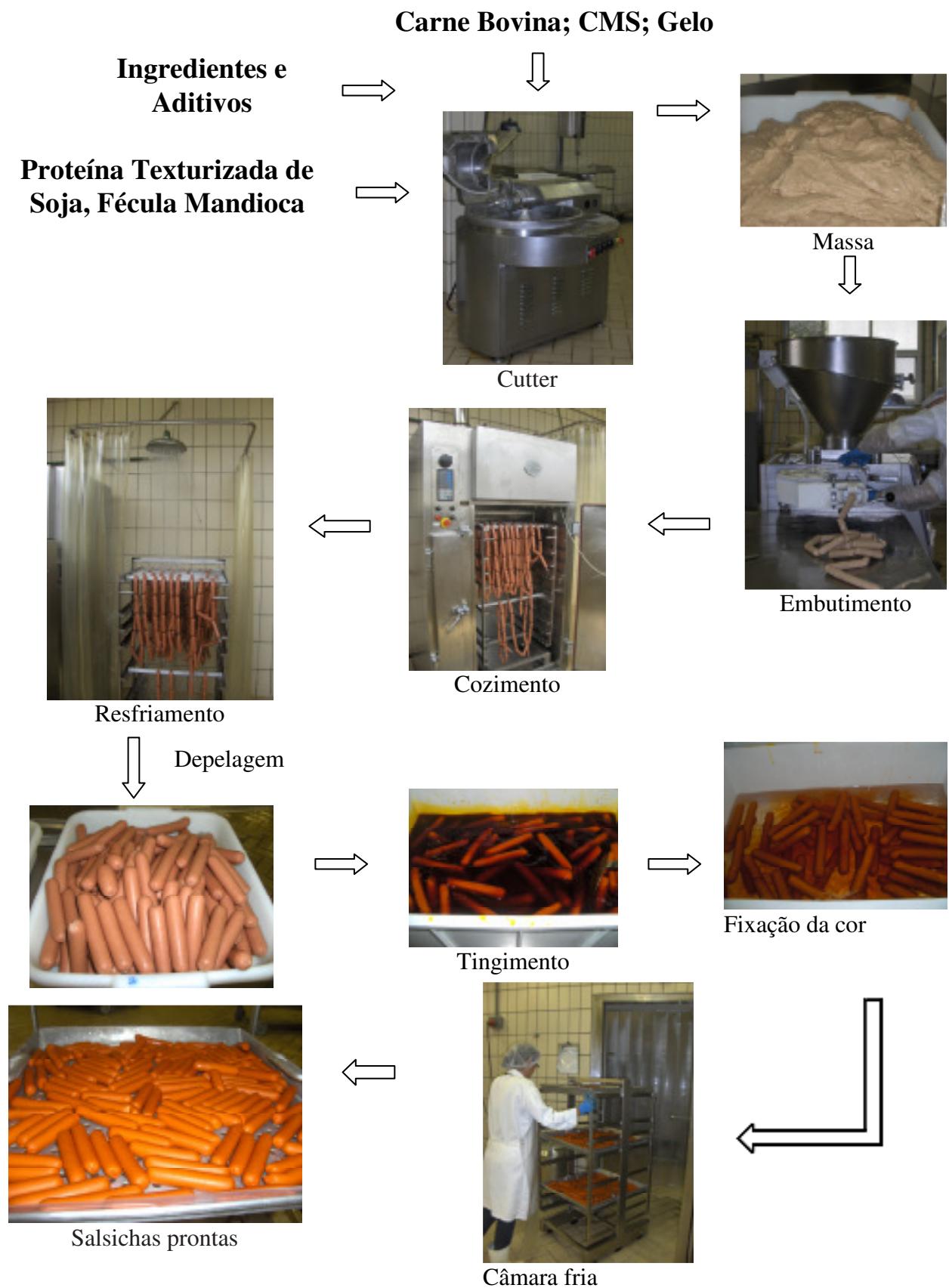


FIGURA 15 – Processo de fabricação das salsichas.

4.2.12.1 Elaboração da massa

- Todos os ingredientes empregados foram pesados de acordo com as formulações propostas.
- A matérias-prima cárnea, com exceção da carne mecanicamente separada de aves (CMS), foi moída em disco 5 mm a fim de facilitar a formação da massa cárnea emulsionada definida como massa.
- A carne mecanicamente separada de aves (CMS) foi fragmentada em quebrador de blocos.
- Foi adicionado primeiramente no cutter a matéria prima cárnea (bovina), a carne mecanicamente separada e o gelo. Após a extração das proteínas miofibrilares, adicionou-se o sal, tripolifosfato de sódio, nitrito de sódio, nitrato de sódio, glutamato monossódico, condimento para salsicha e todos os demais ingredientes.
- A massa foi misturada até completa homogeneização.

4.2.12.2 Embutimento

- No processo de embutimento foram utilizadas tripas celulósicas de calibre 24 milímetros.
- A tripa foi torcida em forma de gomos de 9 a 12 cm de comprimento (equipamento mecânico de torção).
- Após o embutimento, os gomos foram colocados em varas e estas em gaiolas para serem transportados à estufa de cozimento.

4.2.12.3 Cozimento

- Esta etapa foi conduzida com o auxilio de uma rampa de aquecimento da seguinte forma:
 - 15 minutos a 60 °C, com chaminé semi aberta, calor seco.
 - 15 minutos a 65 °C, com chaminé semi aberta, calor seco.
 - 15 minutos a 70 °C, com chaminé semi aberta, calor seco.
 - 15 minutos a 75 °C, com chaminé semi aberta, calor seco.
 - 80 °C até temperatura interna de 74 °C, chaminé fechada, 80% de umidade.

4.2.12.4 Resfriamento

- O resfriamento é feito em chuveiros, ou seja, jatos de água em temperatura ambiente por aproximadamente 5 minutos.
- Foi empregada água potável e tratada para evitar contaminação do produto
- Após o choque térmico, as salsichas foram resfriadas em câmara fria até 5 °C.

4.2.12.5 Depelagem

- A salsicha após o resfriamento foram depeladas, ou seja, retirado o seu envoltório celulósico (tripa) utilizado inicialmente para dar forma ao produto.

4.2.12.6 Tingimento

- Neste estudo, utilizou-se o processo de tingimento a frio. Foi preparada uma solução partindo do Corante Urucum 900 (Norbixina = 0,9%) com 5% de concentração do corante (5 kg de Corante Urucum 900 para cada 100 litros de água).
- Em outro tanque, foi preparada a solução ácida da seguinte maneira: 0,2 litro de ácido fosfórico concentrado grau alimentício (85%) para cada 100 litros de água.
- As salsichas foram mergulhas na solução de urucum a 5% por aproximadamente 3 a 5 minutos.
- Em seguida, as mesmas salsichas foram mergulhadas em solução ácida por aproximadamente 2 a 3 minutos para fixação do corante.
- A salsicha foi secada sob refrigeração em câmara fria.
- As formulações foram fracionadas e embaladas em sacos plásticos simulando a condição de comercialização a granel e armazenados sob refrigeração para posteriormente serem analisados.

4.2.13 Tempo de armazenamento e periodicidade de retirada das amostras de salsichas hot dog

Após o processamento das 3 formulações de salsichas descritas acima, foi possível iniciar o estudo do residual dos conservantes nitrito e nitrato no decorrer do armazenamento.

O estudo foi realizado após acondicionar o produto em sacos plásticos, sob refrigeração, simulando as condições praticadas nos estabelecimentos comerciais, de venda do produto a granel, que seria a forma mais crítica de exposição da salsicha *hot dog*.

A composição centesimal e a atividade de água foram determinadas nas 3 fórmulas propostas.

Os parâmetros pH, residual de nitrito e residual de nitrato expresso em nitrito foram realizadas na massa após a mistura dos ingredientes e posteriormente nos tempos zero, 1 dia, 3 dias, 5 dias e 7 dias. Os tempos estabelecidos para a realização dos ensaios foram escolhidos por ser o período praticado por cinco grandes redes de supermercados na vida de prateleira do produto.

As avaliações microbiológicas e de cor interna e externa foram conduzidas nos tempos zero, 3 dias, 5 dias e 7 dias.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 AVALIAÇÃO DAS SALSICHAS DE MERCADO

5.1.1 pH e Nitrito Residual

A TABELA 7 apresenta resultados de pH e de nitrito residual em 15 amostras de salsicha, obtidas no mercado varejista, identificadas como A até P.

TABELA 7 - Resultados de pH e residual de nitrito

Amostras	pH	Nitrito (mg/kg)	Coeficiente de variação (%)
A	6,80	27± 1	4,2
B	6,26	34,8±0,5	1,2
C	6,00	9,6±0,3	2,7
D	6,23	38,5±0,4	1
E	6,35	21±2	7,5
F	6,42	55,6±0,2	0,4
G	6,37	30,9±0,6	1,9
H	6,18	48,8±0,3	0,6
I	5,93	26,2±0,2	0,7
J	6,13	4,6±0,7	15
L	6,51	52±1	2,1
M	6,30	64,4±0,4	0,6
N	6,18	40±2	5,7
O	6,38	48±3	5,7
P	5,67	2,0±0,3	15

*Resultados das médias de três determinações em cada amostra.

Os resultados de pH variaram de 5,67 a 6,80. É provável que essa oscilação seja decorrente de dois fatores principais: características do antioxidante e do estabilizante utilizados no

processamento da salsicha e a possível presença de bactérias láticas, importantes microorganismos deteriorantes em embutidos cozidos.

Para as análises de nitrito foi preparada uma curva padrão de nitrito de sódio por data de ensaio, ressaltando que os coeficientes de correlação encontrados variaram entre 0,99945 e 0,99998, o que indica excelente ajuste ao modelo linear. A FIGURA 16 apresenta, a título de ilustração, uma das curvas obtidas.

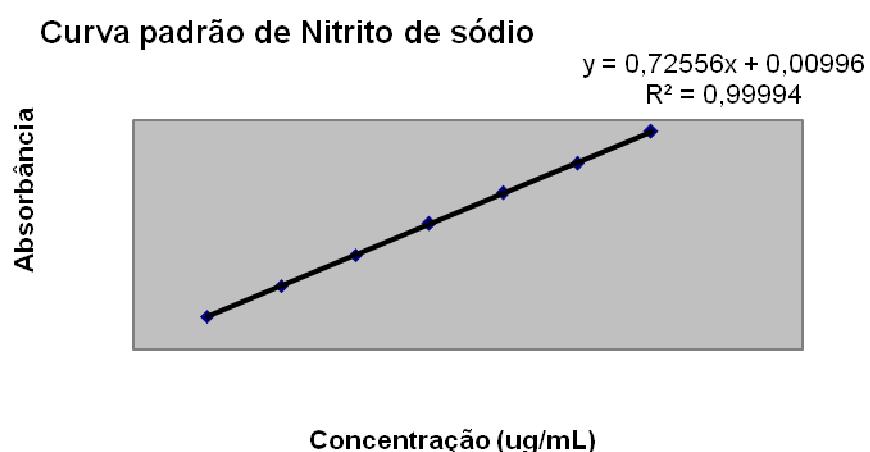


FIGURA 16 – Curva Padrão de Nitrito de Sódio

Quanto ao nitrito residual, pode-se observar que o desvio padrão para as amostras avaliadas foi baixo assim como o coeficiente de variação analítico, exceto para as amostras J e P, que apresentaram coeficiente de variação 15%, mostrando, portanto, que esta análise possui boa repetibilidade quando executada nas mesmas condições e na mesma data. Os menores coeficientes de variação foram obtidos para os teores mais altos de nitrito. O inverso foi verdadeiro também, possivelmente por conta do limite de detecção da metodologia empregada. Boa repetibilidade, portanto, é obtida quando os teores de nitrito não forem muito baixos.

Observou-se também que valores de nitrito residual obtidos durante os ensaios merecem destaque, pois nenhuma das marcas analisadas apresentou quantidade superior ao permitido pela legislação em vigor, de 150 mg/kg, indicando, portanto, um uso racional do conservante.

Por outro lado, embora os níveis de nitrito tenham sido reduzidos pelos fabricantes mostrando uma melhoria quanto aos riscos dos efeitos toxicológicos, este fato pode implicar em riscos quando os teores não garantirem a segurança quanto à preservação do produto principalmente relativa às bactérias potencialmente perigosas como o *Clostridium botulinum*. Na TABELA 7 evidenciamos alguns resultados preocupantes, com destaque para as amostras C, J e P que apresentaram respectivamente 9,6, 4,6 e 2,0 ppm de nitrito residual.

Mello Filho, Biscontini e Andrade (2004) analisaram 54 amostras de salsichas do tipo *hot dog*, que classificaram em grupos e subgrupos conforme a região de origem e marcas: A e B produzidas sob inspeção federal, coletadas em supermercados, e provenientes da região Sul e Nordeste, respectivamente. As do grupo C foram produzidas em indústrias locais, sem marca e inspeção definidas e obtidas em feiras livres. As amostras do grupo A, do Sul do Brasil, apresentaram teores de nitrito variáveis entre 27,50 e 76,50 mg/kg (média de 48 mg/kg), contra 2,0 a 64,4 mg/kg (média de 37,6 mg/kg) deste trabalho, sendo que nenhuma ultrapassou o limite máximo permitido. Dentre as amostras do grupo B, embora com média significativamente maior, de 81 mg/kg, apenas uma ultrapassou o limite máximo permitido. Entretanto, dentre as do grupo C, com média de 143 mg/kg, 67% das amostras ultrapassou o limite legal, indicando a importância da Inspeção Federal na fiscalização desses produtos.

Também Souza, Faleiros e Souza (1990) analisaram 20 amostras de salsichas coletadas na região de Jaboticabal e verificaram que nenhuma ultrapassou o limite máximo permitido.

5.1.2 Nitrato Residual

A TABELA 8 apresenta resultados de nitrato residual expresso em nitrito em 15 amostras de salsicha, obtidas no mercado varejista, identificadas como amostras A até P, sendo aplicada a redução em coluna de cádmio.

Deve-se salientar que a aplicação das duas metodologias ocorreu na mesma data para evitar que os resultados fossem influenciados pela variação do nitrito/nitrato durante o armazenamento.

TABELA 8 - Resultados de residual de nitrato expresso em nitrito – Redução coluna de cádmio – IAL.

Amostras	Eficiência (%)	Nitrato expresso em nitrito (mg/kg)		
		Média	Desvio Padrão	Coeficiente de variação (%)
A	94,6	79	3	4
B	94,6	63	3	5
C	84,3	92	3	3
D	91,4	74	3	5
E	91,4	31	2	5
F	110,9	41	4	9
G	110,4	32	2	7
H	110,4	36	2	6
I	94,9	30	1	4
J	105,4	257	3	1
L	105,4	31	2	7
M	94,9	29	4	15
N	94,2	145	10	7
O	94,2	28	3	10
P	90,5	58	5	9

Resultados das médias de três determinações em cada amostra.

Analisando os resultados encontrados para o nitrato residual, expresso em nitrito pelo método analítico preconizado nas Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz (2005), pode-se observar que nenhuma das amostras excedeu o limite individual regulamentado para este atributo. Porém a norma regulamentadora detalha que quando há mistura de aditivos com igual função, neste caso conservante, a soma de todas as concentrações na salsicha não deve ser superior ao limite máximo de nenhum deles. De acordo com o exposto, os resultados desta soma, apenas para as amostras J e N (13%) ultrapassaram o limite estabelecido de 150 ppm ou 0,015 g/100 g. Salientamos que esta metodologia é empregada nas análises das amostras de controle, fiscais e de orientação dos produtos cárneos coletados pela Vigilância Sanitária do Estado de São Paulo.

Cabe ressaltar que todas as análises realizadas foram acompanhadas de ensaios de eficiência da coluna de cádmio para a concentração de trabalho – 10 µg/mL, dos quais recuperações na

faixa de 84,3 a 110,9% foram obtidas. Com isso conclui-se que a coluna está atuando de forma eficaz, reduzindo o nitrato a nitrito e por isso pode ser usada com segurança nas determinações realizadas. O método analítico recomenda que quando a recuperação for inferior a 90%, isto é, a concentração de nitrato calculado menor que 90% do valor teórico esperado, a coluna de cádmio deve ser regenerada e a amostra avaliada novamente. Considerando esse critério, em apenas uma das amostras este fato foi evidenciado, a amostra C que resultou em 84,3% sendo, portanto, o resultado obtido nesta avaliação passíveis de desvios. É importante mencionar que as Normas do Instituto Adolfo Lutz, não especificam os limites aceitáveis para os casos em que a recuperação seja superior a 110%.

Com base na TABELA 8, podemos verificar ainda que, os dois maiores coeficientes de variações determinados foram nas amostras M e O que apresentaram 15 e 10% coeficiente de variação, sendo que nestas mesmas amostras foram quantificados os menores residuais de nitrato expresso em nitrito, 29 ppm e 28 ppm, respectivamente. Com isso conclui-se que estes resultados provavelmente devem-se ao fato dos valores quantificados estarem próximo do limite de quantificação do método e por isso apresenta uma maior dispersão.

Paralelamente nas mesmas amostras foi conduzida a análise de nitrato expresso em nitrito conforme estabelecido pela Instrução Normativa 20 (MAPA), reiterando que os produtos coletados pelo Serviço de Inspeção Federal são avaliados quanto a sua conformidade em laboratórios credenciados ou nos LANAGROS empregando esta metodologia.

O intuito desta comparação foi também evidenciar a possibilidade de uma avaliação do mesmo produto no mesmo período por diferentes órgãos regulamentadores ANVISA (Vigilâncias Sanitárias estaduais) e pelo MAPA e possuir parecer técnico divergente devido os resultados analíticos obtidos (TABELA 9).

TABELA 9 - Resultados de residual de nitrato expresso em nitrito – Redução sistema aberto com agitação – IN20/MAPA

Amostras	Eficiência (%)	Nitrato expresso em nitrito (mg/kg)		
		Média	Desvio padrão	Coeficiente de variação (%)
A	100,3	83	3	3
B	100,3	69	2	2
C	91,4	71	1	1
D	90,5	61	4	7
E	90,5	38	2	4
F	113,6	43	3	7
G	121,0	42	7	17
H	121,0	50	6	11
I	97,8	26	2	7
J	98,2	246	4	2
L	98,2	32	3	10
M	97,8	25	3	10
N	89,8	100	10	10
O	89,8	28	-	-
P	130,9	25	2	9

Resultados das médias de três determinações em cada amostra.

Avaliando os resultados obtidos de residual de nitrato expresso em nitrito pelo método analítico preconizado na Instrução Normativa do MAPA pode-se observar que nenhuma das amostras excedeu o limite individual regulamentado para este atributo com resultados bastante similar ao encontrado na metodologia seguida pelo Instituto Adolfo Lutz. Os resultados da soma dos aditivos de igual função apenas para as amostras J (7%) analisada ultrapassaram o limite estabelecido de 150 ppm ou 0,015 g/100 g lembrando que no parecer técnico obtido com a metodologia empregada da coluna de cádmio teríamos a reprovação das amostras N e J.

As análises de eficiência para a concentração de trabalho – 10 µg/mL foram acompanhadas das análises das salsichas, onde recuperações na faixa de 89,8 a 130,9% foram obtidas. Com isso conclui-se que o sistema aberto com agitação está reduzindo de forma eficaz o nitrato a nitrito e, por isso, pode ser usado com segurança nas determinações realizadas.

Compilando os resultados dos resíduos de nitrato expresso em nitrito pelos dois métodos propostos na TABELA 10, é possível constatar que o método de sistema aberto resultou em coeficientes de variação superiores aos obtidos pela metodologia da coluna. É possível que isso decorra devido o maior controle da velocidade da solução ao percorrer o cádmio na coluna.

TABELA 10 - Resultados de residual de nitrato expresso em nitrito – Compilados – Redução Coluna de Cádmio (IAL) x Redução Sistema Aberto com agitação (MAPA)

Amostras	Nitrato expresso em nitrito (mg/kg)		Coeficiente de variação (%)	
	IAL	MAPA	IAL	MAPA
	Coluna	Sistema Aberto	Coluna	Sistema Aberto
A	79 ± 3	83 ± 3	4	3
B	63 ± 3	69 ± 2	5	2
C	92 ± 3	71 ± 1	3	1
D	74 ± 3	61 ± 4	5	7
E	31 ± 2	38 ± 2	5	4
F	41 ± 4	43 ± 3	9	7
G	32 ± 2	42 ± 7	7	17
H	36 ± 2	50 ± 6	6	11
I	30 ± 1	26 ± 2	4	7
J	257 ± 3	246 ± 4	1	2
L	31 ± 2	32 ± 3	7	10
M	29 ± 4	25 ± 3	15	10
N	145 ± 10	100 ± 10	7	10
O	28 ± 3	28	10	-
P	58 ± 5	25 ± 2	9	9

Resultados das médias de três determinações em cada amostra (± desvio padrão).

A avaliação estatística dos resultados foi realizada inicialmente aplicando o teste Q para rejeição de resultados sendo que em nenhum dos casos estudados o valor resultou acima do valor crítico de Q, portanto todos os dados foram considerados nos cálculos. A seguir, foi aplicado o teste T pareado para cada uma das marcas, onde apenas as amostras C e P apresentaram uma diferença significativa entre os métodos. A comparação global dos métodos utilizando as médias mostrou não haver diferença entre os dois métodos analíticos aplicados.

Conforme Mello Filho, Biscontini e Andrade (2004) analisaram 54 amostras de salsichas do tipo *hot dog*, que classificaram em grupos e subgrupos conforme a região de origem e marcas:

A e B produzidas sob inspeção federal, coletadas em supermercados, e provenientes da região Sul e Nordeste, respectivamente. As do grupo C foram produzidas em indústrias locais, sem marca e inspeção definidas e obtidas em feiras livres. As amostras do grupo A, do Sul do Brasil, apresentaram residuais de nitrato expresso em nitrito variáveis entre 62,50 e 329,4 mg/kg (média de 149 mg/kg), contra 28 a 257 mg/kg (média de 68,4 mg/kg) deste trabalho, sendo comparado com o método da coluna de cádmio adotado pelo autor como método controle, observamos que 22% excedeu o limite individual regulamentado para este atributo sendo que nenhuma amostra coletada em nossos testes apresentou estes desvios. Avaliando os resultados da soma dos aditivos de igual função, 33% amostras ultrapassaram o limite máximo permitido frente aos 13% obtidos neste estudo. Dentre as amostras do grupo B, apresentaram média significativamente maior, de 310 mg/kg, sendo que 100% dos produtos analisados ultrapassaram o limite máximo permitido quando aplicado o uso de forma combinada e 83% excedeu o limite do parâmetro individual. Com as amostras do grupo C não foi diferente, com média de 367 mg/kg, 100% das amostras ultrapassaram o limite legal aplicado individualmente e aplicando o uso dos aditivos de forma combinada, indicando novamente a importância da Inspeção Federal na fiscalização e ressaltando alguns hábitos regionais no emprego dos conservantes. Salientamos que para o produto pronto para consumo, os níveis destes aditivos deverão atender o estipulado na Instrução Normativa nº 51/06, o produtor deverá garantir residuais de 150 ppm para nitrito (de sódio ou de potássio), ou 150 ppm para combinações de nitrito (de sódio ou de potássio) com nitrato (de sódio ou de potássio), ou ainda, 300 ppm de nitrato (de sódio ou de potássio).

Já Souza, Faleiros e Souza (1990) analisaram 20 amostras de salsichas coletadas na região de Jaboticabal e verificaram que avaliando os resultados da soma dos aditivos de igual função, 35% amostras ultrapassaram o limite máximo permitido frente aos 13% obtidos neste estudo.

Valores superiores aos limites máximos estabelecidos pelas normas vigentes podem ocorrer por diversos fatores, sendo o mais freqüente a adição de uma dose excessiva do aditivo, salientando que esta condição não foi evidenciada nas amostras coletadas. Contudo, quando se utiliza a quantidade de nitrito e nitrato dentro do limite estabelecido, são necessários ajustes de alguns parâmetros do processo tecnológico como tempo e temperatura de cocção, o tipo de tratamento térmico, a quantidade de matéria prima dentre outros.

Destacamos ainda, a importância da reavaliação da legislação atual com relação ao emprego de aditivos de mesma função onde a legislação harmonizada preconiza que o uso de misturas de aditivos com igual função, a soma de todas as concentrações não seja superior ao limite máximo de nenhum deles. Acreditamos ser de extrema relevância a alteração destes dizeres lembrando que em outros regulamentos de aditivos mais recentes vem sendo adotado o seguinte critério (por ex.: para cereais e produtos de ou a base de cereais e para snacks): *Quando, para uma determinada função são autorizados dois ou mais aditivos com limite máximo numérico estabelecido, a soma das quantidades a serem utilizadas no alimento não pode ser superior ao limite máximo correspondente ao aditivo permitido em maior concentração, e a quantidade de cada aditivo não poderá ser superior ao seu limite individual.* Se um aditivo apresentar duas ou mais funções permitidas para o mesmo alimento, a quantidade a ser utilizada neste alimento não poderá ser superior ao limite indicado na função em que o aditivo é permitido em maior concentração.

5.2 AVALIAÇÃO DAS SALSICHAS PROCESSADAS

5.2.1 Composição Centesimal

Os resultados referentes à composição centesimal das salsichas processadas são apresentados na TABELA 11.

TABELA 11 - Composição centesimal das salsichas processadas

Formulações	Composição centesimal				
	Umidade (%)	Cinzas (%)	Gordura (%)	Proteína (%)	Carboidrato (%)
A 150ppm NO ₂	62,16 ^a ± 0,06	3,61 ^a ± 0,03	12,7 ^a ± 0,4	14,9 ^a ± 0,6	6,7
B 250ppm NO ₂	63,0 ^b ± 0,4	3,55 ^a ± 0,01	12,5 ^a ± 0,2	14,8 ^a ± 0,4	6,2
C 200ppm NO ₂ e 50ppm NO ₃	62,9 ^b ± 0,1	3,46 ^b ± 0,04	12,5 ^a ± 0,4	14,3 ^a ± 0,3	6,9

* Letras minúsculas iguais na mesma coluna, não diferem significativamente quanto ao macronutriente ($p \leq 0,05$) independente do tratamento.

**Resultados das médias de três determinações em cada formulação (± desvio padrão).

Os teores de umidade, cinzas, gordura e proteína estão bem semelhantes nas 3 formulações (TABELA 11). Estes resultados já eram esperados, pois apenas as quantidades dos conservantes foram variadas nestas formulações.

Pela análise de variância (ANOVA), existe uma diferença significativa entre as formulações quanto à umidade. Aplicando o teste de Tukey foi possível identificar que existe uma diferença significativa entre as formulações A e B e entre as formulações A e C. Não há diferença significativa entre as formulações B e C.

Na avaliação das cinzas também existe uma diferença significativa entre as formulações. Para encontrar entre quais formulações, o teste de Tukey foi aplicado evidenciando que existe uma diferença significativa entre as formulações A e C e entre as formulações B e C. Não há diferença significativa entre as formulações A e B para o teor de cinza.

As análises de proteína e gordura não apresentaram diferença significativa entre nenhuma das formulações.

Ressaltamos que todas as formulações obedeceram ao Regulamento técnico de Identidade e Qualidade da Salsicha que preconiza limites máximos de 65% umidade, 30% gordura e 7% carboidratos e limite mínimo de 12% proteína (BRASIL, 2000).

5.2.2 Atividade de Água

A atividade de água é um dos fatores mais relevantes para a multiplicação microbiana e consequentemente para a estabilidade dos alimentos. Para o parâmetro atividade de água nas formulações avaliadas, os valores obtidos não variaram conforme evidenciado na TABELA 12.

TABELA 12 - Atividade de água das salsichas processadas

Formulações	Atividade de Água
A 150ppm NO ₂	$0,969 \pm 0,001$
B 250ppm NO ₂	$0,970 \pm 0,001$
C 200ppm NO ₂ e 50ppm NO ₃	$0,969 \pm 0,001$

*Resultados das médias de três determinações em cada formulação (\pm desvio padrão).

A maioria dos microrganismos, incluindo as bactérias patogênicas, se desenvolve rapidamente a níveis de aw entre 0,99 a 0,98. A faixa de atividade de água de 0,95 a 0,97 propicia condições ideais para que o *Clostridium. botulinum* assuma a forma vegetativa e produtora de toxina. Avaliando os resultados obtidos nas formulações elaboradas, a salsicha *hot dog* demanda cuidados do ponto de vista higiênico sanitária, o processo produtivo bem como a formulação deve ser assistido com a finalidade da criação de barreira adicional ao crescimento deste microrganismo (CARRASCOSA; CORNEJO, 1989).

5.2.3 pH

Os resultados das variações de pH às quais as salsichas foram submetidas durante o período de armazenamento por 7 dias, sob condições comerciais de aquisição a granel simuladas, denominadas de ensaio comercial, estão apresentados na TABELA 13.

TABELA 13 - pH das salsichas processadas

Amostra	pH					
	Massa	Tempo Zero	1 dia	3 dias	5 dias	7 dias
A 150ppm NO ₂	6,72 ^{Aa} ±0,01	6,81 ^{Aa} ±0,01	6,82 ^{Aa} ±0,01	6,82 ^{Aa} ±0,01	6,81 ^{Aa} ±0,01	6,54 ^{Ba} ±0,01
B 250ppm NO ₂	6,72 ^{Aa} ±0,02	6,82 ^{Aa} ±0,02	6,83 ^{Aa} ±0,01	6,83 ^{Aa} ±0,01	6,80 ^{Aa} ±0,02	6,55 ^{Ba} ±0,01
C 200ppm NO ₂ e 50ppm NO ₃	6,70 ^{Aa} ±0,02	6,82 ^{Aa} ±0,02	6,83 ^{Aa} ±0,01	6,82 ^{Aa} ±0,01	6,82 ^{Aa} ±0,01	6,55 ^{Ba} ±0,01

*Letras maiúsculas iguais na mesma linha não diferem significativamente quanto ao pH ($p \leq 0,05$) ao longo do tempo.

Letras minúsculas iguais na mesma coluna, não diferem significativamente quanto ao pH ($p \leq 0,05$) independente do tratamento.

**Resultados das médias de três determinações em cada formulação (\pm desvio padrão).

Os valores de pH obtidos não apresentaram grandes oscilações entre as formulações estudadas. Tal fato demonstra que diferentes dosagens de nitrito e nitrato não influenciam o pH do produto. Este resultado era esperado, uma vez que em todas as formulações foram utilizados os mesmos ingredientes.

É possível verificar que no tempo 7 dias, o pH sofreu uma redução significativa em toda as amostras, este fato pode ser decorrente de alterações microbiológicas principalmente ocasionadas pela ação de bactérias lácticas sobre os açúcares com consequente produção de ácido láctico.

Nas amostras analisadas, as medidas de pH ficaram entre 6,54 e 6,83. É importante salientar que a germinação dos esporos do *Clostridium botulinum* no alimento ocorre em condições anaeróbicas (alimentos embalados ou lacrados) em que o pH é superior a 4,5 e com uma

elevada atividade água. Nessas condições, a forma esporulada se transforma na forma vegetativa produzindo a toxina dentro do recipiente durante o armazenamento (SCARCELLI; PIATTI, 2002).

Dessa forma, em se verificando que o pH e a atividade de água não formam barreiras suficientes para proporcionar a estabilidade dos produtos, existe a necessidade da aplicação de mais obstáculos ao desenvolvimento microbiano.

5.2.4 Nitrito Residual

A TABELA 14 apresenta os resultados dos ensaios da determinação de nitrito residual nas 03 formulações durante o período de armazenamento por 7 dias.

TABELA 14 - Nitrito residual das salsichas processadas

Formulações	Nitrito residual (ppm)					
	Massa	Tempo zero	1 dia	3 dias	5 dias	7 dias
A 150ppm NO ₂	119,8±0,9	93,1 ^{Aa} ±0,9	90,5 ^{Ba} ±1,2	89,9 ^{Ba} ±0,6	89,0 ^{Ba} ±0,2	83,4 ^{Ca} ±0,3
B 250ppm NO ₂	205±2	168 ^{Ab} ±1	164 ^{ABb} ±1	160 ^{Bb} ±1	155 ^{Cb} ±1	152 ^{Cb} ±3
C 200ppm NO ₂ e 50ppm NO ₃	163±1	131,9 ^{Ac} ±0,5	131 ^{Ac} ±1	123 ^{Bc} ±1	122 ^{Bc} ±1	120,9 ^{Bc} ±0,4

*Letras maiúsculas iguais na mesma linha não diferem significativamente quanto ao nitrito residual ($p\leq 0,05$) ao longo do tempo.

Letras minúsculas iguais na mesma coluna, não diferem significativamente quanto ao nitrito residual ($p\leq 0,05$) independente do tratamento.

**Resultados das médias de três determinações em cada formulação (\pm desvio padrão).

Os resultados obtidos reiteram as evidências científicas e tecnológicas da redução do nitrito durante as etapas de produção. Na produção de salsicha este fato é evidenciado em dois momentos distintos: na elaboração da massa e no cozimento do produto (BRASIL, 2008).

Em ambas formulações, podemos constatar que a quantidade adicionada de nitrito de sódio na massa elaborada foi quantificada com perdas equivalentes a 20,1%, 18% e 18,5% respectivamente, sendo esta perda proveniente das interações com os demais componentes da formulação e do processamento para elaboração da massa fina. Este efeito já havia sido evidenciado em outros trabalhos científicos apontando que após o contato com a carne ocorre uma redução de nitrito média 16 a 20% do adicionado (HUSTAD et al., 1973; CHRISTIANSEN et al., 1973).

Após a finalização do processo de cozimento e conclusão do processo produtivo da salsicha foram avaliados os residuais no tempo zero das 3 formulações. Esta avaliação indica que durante o cozimento ocorreram perdas equivalentes a 22,3%, 18,2% e 18,9% respectivamente. O processamento do cozimento pode ser responsável pela redução do nitrito apenas em alguns casos. Estudos apontam que na elaboração de Carne Curada Cominuida a redução na etapa do cozimento não foi evidenciada mas em casos de salsichas relatos apontam perda que podem chegar a 35% do nitrito adicionado (HUSTAD et al., 1973; CHRISTIANSEN et al., 1973).

Com isso, pode-se concluir que na etapa de processamento parte do nitrito é degradada, sendo esta perda nas formulações sucessivamente de 38%, 33% e 34% frente à quantidade adicionada. Trabalhos apontam que a perda na etapa de processamento pode alcançar redução de cerca de 51% na etapa de processamento, assim, aproximadamente 33% da adição de nitrito permaneceria no produto após preparação. Portanto países e mercados comuns que regulamentam os limites máximos de uso do conservante nitrito nos seus produtos cárneos pela quantidade adicionada devem tomar um cuidado adicional frente a estes resultados obtidos já que este conservante é uma importante barreira ao crescimento de microorganismos patogênicos.

Na etapa de acondicionamento também ficou evidenciada a redução do nitrito, porém em menores proporções quando comparado à etapa do processamento. Esta situação deve-se ao fato de que ambas as formulações foram preservadas em condições controladas de temperatura durante o estudo simulando a condição de refrigeração doméstica. Estudos apontam que a redução do nitrito é dependente da temperatura. Algumas citações mencionam que quando utilizada a refrigeração ocorre uma perda de pequena parcela do residual do nitrito. Já em produtos mantidos em condições ambientais pode ocorrer a perda total do

residual nos 3 primeiros dias após sua elaboração (HUSTAD et al., 1973; CHRISTIANSEN et al., 1973).

A análise estatística dos resultados foi realizada e evidência que em alguns momentos ocorre uma diferença significativa entre ensaios. Contudo, não é possível identificar um padrão comum a todos principalmente devido à complexidade cinética do sistema.

A FIGURA 17 apresenta o comportamento do nitrito residual nas 03 formulações desde a adição até o término do período de armazenamento.

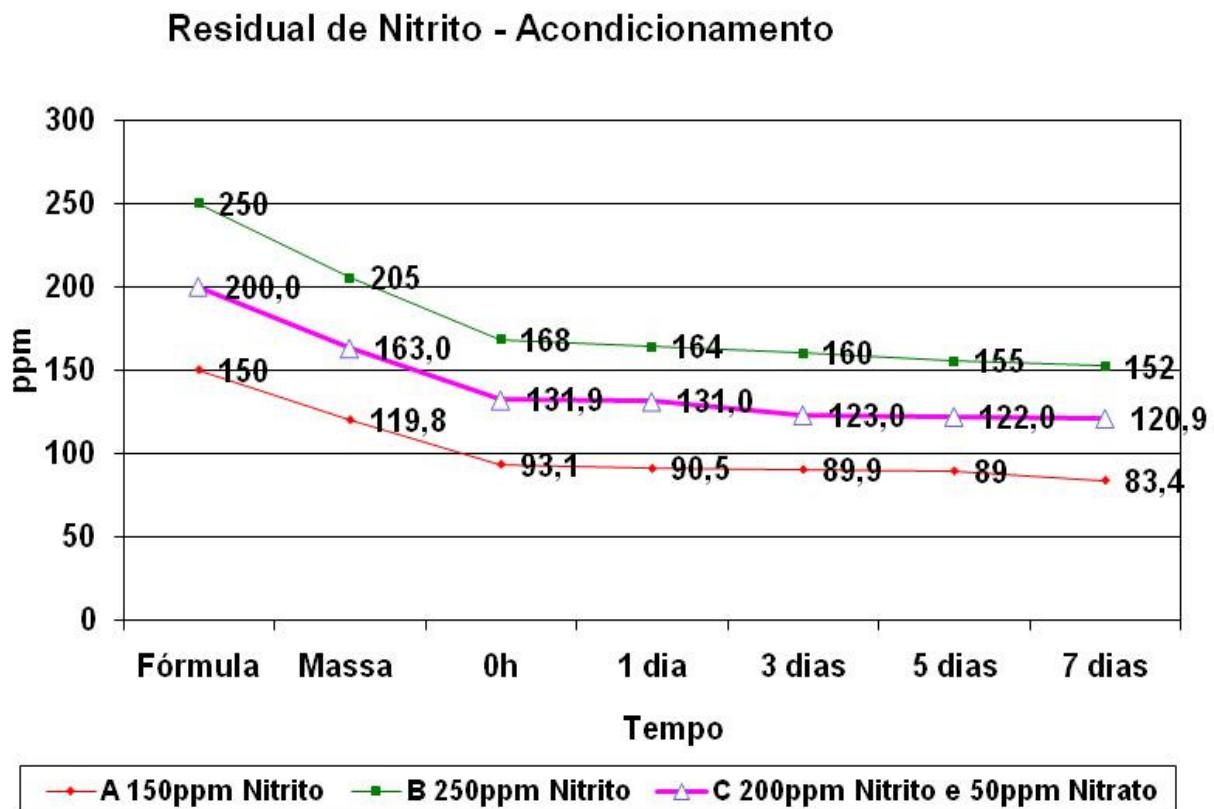


FIGURA 17 – Comportamento dos residuais de nitrito durante o processamento e o acondicionamento das 3 formulações.

Ressaltamos que a redução evidenciada na FIGURA 17 varia de produto a produto, quer seja pela tecnologia empregada, quer seja pelos teores de mioglobina e hemoglobina presentes na massa muscular (BRASIL, 2008). Portanto a redução verificada neste estudo corresponde a formulação e processo produtivo empregado e em caso de substituição de ingredientes ou alteração no processamento realizado nova avaliação deve ser realizada.

5.2.5 Nitrato Residual

Ambos os métodos analíticos empregados para a quantificação de nitrato nas salsichas de mercado se mostraram eficientes, mas a metodologia empregando a coluna de cádmio apresentou coeficiente de variação médio ligeiramente inferior. Por este motivo foi escolhido para ser utilizado no estudo cinético da variação do teor de nitrato.

A TABELA 15 apresenta os resultados dos ensaios da determinação de nitrato residual nas 03 formulações durante o período de armazenamento por 7 dias.

Formulações	Nitrato expresso em nitrito residual (ppm)					
	Massa	Tempo zero	1 dia	3 dias	5 dias	7 dias
A 150 ppm NO ₂	14±2	11 ^{Aa} ±2	17 ^{Aa} ±1	14 ^{Aa} ±1	15 ^{Aa} ±3	24 ^{Ba} ±2
B 250 ppm NO ₂	21±3	19 ^{Db} ±3	24,5 ^{BCb} ±0,6	21 ^{CDb} ±1	26 ^{Bb} ±2	30 ^{Ab} ±1
C 200 ppm NO ₂ e 50 ppm NO ₃	54±6	56 ^{Bc} ±4	58 ^{ABC} ±1	61 ^{ABC} ±2	64 ^{Ac} ±2	64 ^{Ac} ±2

*Letras maiúsculas iguais na mesma linha não diferem significativamente quanto ao nitrato expresso em nitrito residual ($p \leq 0,05$) ao longo do tempo.

Letras minúsculas iguais na mesma coluna, não diferem significativamente quanto ao atributo b* ($p \leq 0,05$) independente do tratamento.

**Resultados das médias de três determinações em cada formulação (\pm desvio padrão).

Através dos resultados apresentados na TABELA 15, mesmo o conservante nitrato não sendo adicionado na formulação o mesmo foi quantificado nas salsichas. Tal resultado era esperado, uma vez que o residual de nitrato pode ser decorrente da interação de ingredientes da composição da salsicha sendo que a presença deste íon pode ser proveniente da água utilizada no processamento, assim como de especiarias e de resíduos de nitrato do próprio nitrito e no sal utilizado. Este efeito também pode ser proveniente de reações químicas já que o nitrito é uma substância química muito reativa com forte ação óxido-redutora e nitrosante, podendo ser convertida a formas como nitrato, óxido nítrico, trióxido de dinitrogênio e ácido nítrico (ARAUJO, 1999).

A detecção de resíduos de nitratos onde o aditivo conservante empregado foi o nitrito não é uma surpresa. Vários autores (CHEAH, 1976; HERRING, 1973; LEE et al., 1978; MÖHLER, 1971, 1974; NEWMARK et al., 1973; WALTERS et al., 1967) atribuem a formação de nitrato a partir do nitrito adicionado a carne devido a uma oxidação simultânea de nitrito a nitrato e do íon Fe^{3+} da oximiglobina para o íon Fe^{2+} da metamiglobina.

A presença de eritorbato de sódio parece ter um papel catalisador nesta reação, aumentando a formação do nitrato. Mesmo em sistemas cárneos onde não existe a presença de eritorbato a formação de nitrato se explica pela presença de enzimas redutoras que atuam da mesma forma que o antioxidante, porém com menor intensidade. O mecanismo proposto envolve a redução inicial da metamiglobina a mioglobina sendo que posteriormente, na presença de oxigênio a mioglobina e o nitrito são oxidados a metamiglobina e nitrato, respectivamente. O ácido ascórbico é então regenerado da redução do dehidroascórbato.

Ressalte-se que a constatação supracitada é bastante importante do ponto de vista das regras atuais sobre rotulagem de alimentos embalados onde o fabricante obrigatoriamente deve declarar na lista de ingredientes apenas os componentes da formulação. Nos casos das formulações A e B, o nitrato não seria mencionado na lista de ingredientes, porém foi quantificado no produto. Infelizmente algumas autoridades sanitárias por desconhecimento das reações que envolvem a formação do nitrato acabam autuando as empresas por não mencionar o nitrato na lista de ingredientes alegando não conformidade com a Resolução RDC nº 259, de 20 de setembro de 2002 (BRASIL, 2002).

A análise estatística dos resultados de nitrato expresso em nitrito foi realizada com o mesmo mecanismo do nitrito e evidência que em alguns momentos ocorre uma diferença significativa entre ensaios. Contudo, também não foi possível identificar um padrão comum a todos principalmente devido à complexidade cinética do sistema estudado.

A FIGURA 18 apresenta o comportamento do nitrato expresso em nitrito residual nas 03 formulações desde a adição até o término do período de armazenamento.

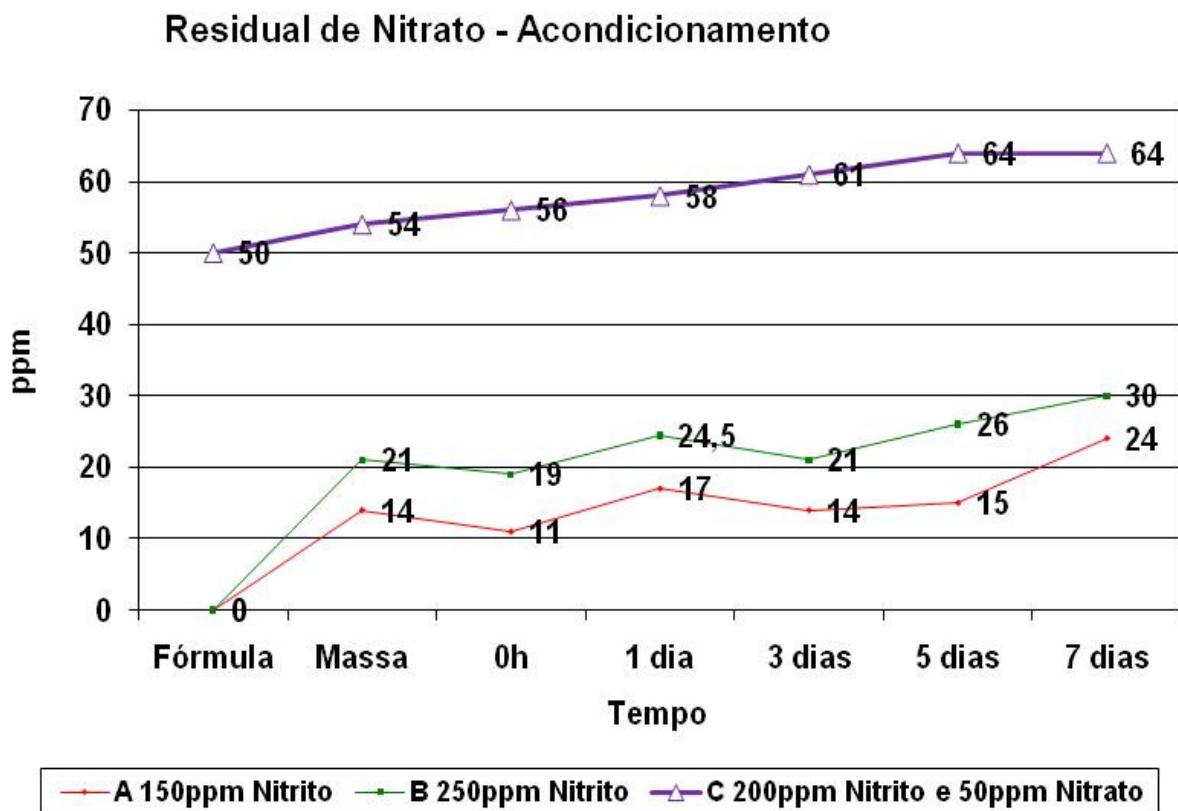


FIGURA 18 – Curva comportamento dos resíduos de nitrato expresso em nitrito durante o processamento e o acondicionamento das 3 formulações.

Outra evidência verificada foi o aumento gradativo dos resíduos de nitrato durante o armazenamento observado nas 3 formulações. Este aumento foi evidenciado principalmente nas composições onde o nitrato não foi adicionado.

5.2.6 Análises Microbiológicas

5.2.6.1 Contagem padrão de microrganismos mesófilos aeróbios e anaeróbios facultativos

A pesquisa dos microrganismos indicadores é utilizada para avaliar a qualidade microbiológica dos alimentos e apontar riscos de contaminações de origem fecal com a provável presença de patógenos ou ocorrência de deterioração do alimento. Além disso,

fornecem indicações relevantes sobre as condições higiênico-sanitárias durante o processamento, a produção e o armazenamento (FRANCO; LANDGRAF, 1996). A maioria dos microrganismos que se encontram em produtos cárneos são os aeróbios mesófilos, e poucos conseguem se desenvolver em temperaturas inferiores a 7 °C. Sua contagem tem sido usada como indicador de qualidade higiênica dos alimentos e, quando presente em grande número, indica falhas durante a produção (CARDOSO et al., 2005).

Para a Contagem Padrão de Microrganismos Mesófilos Aeróbios e Anaérobios Facultativos das salsichas processadas observam-se que a variação nesta pesquisa foi de <10 UFC/g a 5×10^3 UFC/g lembrando apenas que não existe limite regulamentado para este microrganismo na legislação brasileira. Os resultados indicam que no tempo 3 dias ocorre um aumento na contagem e no tempo 7 dias esta tendência é novamente confirmada nas 3 formulações, embora tais variações não tenham sido constatadas no tempo 5 dias.

TABELA 16 - Contagem Padrão de Microrganismos Mesófilos Aeróbios e Anaérobios Facultativos das salsichas processadas

Formulações	Contagem padrão em placas (UFC/g)			
	Tempo zero	3 dias	5 dias	7 dias
A 150ppm NO ₂	< 10	50	< 10	950
B 250ppm NO ₂	< 10	100	< 10	5000
C 200ppm NO ₂ e 50ppm NO ₃	< 10	100	< 10	250

Os resultados obtidos compilados na TABELA 16 demonstram condições higiênico-sanitárias semelhantes nas 3 formulações elaboradas. Nogueira Pinto et al. (1999) observaram em seu estudo que 44,7% das amostras de salsichas de mercado avaliadas apresentaram contagens de mesófilos entre 10^2 e 10^3 UFC/g e 28,94% apresentaram contagens acima de 10^5 UFC/g. Com

estes resultados podemos afirmar que os níveis de contagem entre 10^2 e 10^3 UFC/g evidenciados por Nogueira Pinto et al. (1999) foram alcançados apenas no final da vida de prateleira das 3 formulações propostas neste trabalho.

Não foi possível constatar diferenças entre as dosagens empregadas dos conservantes e o desenvolvimento desses microrganismos no produto. Provavelmente a manutenção dos residuais principalmente de nitrito nas amostras aliada ao controle de temperatura com os cuidados na manipulação tenham contribuído favoravelmente para os bons resultados microbiológicos alcançados.

5.2.6.2 Bactérias Láticas

Os resultados das avaliações microbiológicas às quais as salsichas foram submetidas durante o período de armazenamento por 7 dias, sob condições de aquisição a granel, estão apresentados na TABELA 17.

TABELA 17. Bactérias Láticas das salsichas processadas

Formulações	Bactérias láticas (UFC/g)			
	Tempo zero	3 dias	5 dias	7 dias
A 150 ppm NO ₂	< 10	< 10	< 10	20
B 250 ppm NO ₂	< 10	< 10	< 10	20
C 200 ppm NO ₂ e 50 ppm NO ₃	< 10	< 10	< 10	10

Por meio destas análises verificou-se que condições controladas de temperatura sem oscilações térmicas durante o armazenamento das salsichas e cuidados higiênicos no manuseio do produto evitaram o crescimento de bactérias láticas, o principal grupo de microrganismos deteriorantes deste tipo de embutido. É bom salientar que nem sempre essas condições e cuidados são observados nos produtos comercializados a granel. Não foi possível constatar diferenças significativas entre as dosagens empregadas dos conservantes e o desenvolvimento deste microorganismo no produto.

Geralmente as salsichas expostas à venda a granel têm duas formas de acondicionamento: embaladas a vácuo resfriada ou a vácuo congelado. As embalagens de salsicha são abertas quando estão refrigeradas e expostas ao consumidor em prateleira refrigerada para que possa ser pesada em sacos plásticos e conferida nova vida de prateleira que pode variar de 3 a 7 dias conforme o ponto de venda. Nos casos das salsichas congeladas, previamente ocorre o descongelamento em câmara fria para posteriormente exposição à venda.

A enumeração de bactérias láticas somente resultou em valor acima do seu limite de quantificação no tempo 7 dias, quando foi possível constatar concomitantemente, uma pequena queda no pH frente aos resultados obtidos nos demais tempos. É possível que esta oscilação tenha sido ocasionada pela ação de bactérias láticas sobre os açúcares com consequente produção de ácido lático.

5.2.7 Cor

A avaliação objetiva da cor tornou-se uma medida muito importante para obtenção de informações sobre a qualidade dos embutidos cárneos em geral. Neste sentido, mesmo sem padrões para cor de salsicha, foi mensurada a cor interna e a superficial das amostras em questão.

5.2.7.1 Cor – Interna

Os resultados de L* (luminosidade), a* (intensidade da cor vermelha), b* (intensidade da cor amarela), para as amostras de salsicha não apresentaram alteração em relação ao tempo de armazenamento, mantendo-se praticamente inalterados (TABELAS 18,19 e 20).

TABELA 18 - Atributo L* - Cor interna das salsichas processadas durante o tempo de armazenamento

Formulações	L*			
	Tempo zero	3 dias	5 dias	7 dias
A 150ppm NO ₂	55,8 ^{ABa} ±0,8	57 ^{Aa} ±1	55 ^{Ba} ±1	56 ^{ABa} ±1
B 250ppm NO ₂	56 ^{Aab} ±1	57 ^{Aa} ±1	56 ^{Aa} ±2	56 ^{Aa} ±1
C 200ppm NO ₂ e 50ppm NO ₃	58,0 ^{Ab} ±0,7	58,0 ^{Aa} ±0,7	56 ^{ABa} ±2	55 ^{Ba} ±1

Letras maiúsculas iguais na mesma linha não diferem significativamente quanto ao atributo L ($p \leq 0,05$) ao longo do tempo.

Letras minúsculas iguais na mesma coluna, não diferem significativamente quanto ao atributo L* ($p \leq 0,05$) independente do tratamento.

**Resultados das médias de três determinações em cada formulação (\pm desvio padrão).

TABELA 19 - Atributo a*- Cor interna das salsichas processadas durante o tempo de armazenamento

Formulações	a*			
	Tempo zero	3 dias	5 dias	7 dias
A NO ₂ =150ppm	15,4 ^{ABa} ±0,6	13,9 ^{Ca} ±0,3	16,2 ^{Aa} ±0,9	14,8 ^{BCa} ±0,6
B NO ₂ =250ppm	15,2 ^{Aa} ±0,6	14,7 ^{Aa} ±0,8	15 ^{Aa} ±1	15,4 ^{Aa} ±0,9
C NO ₂ =200ppm e NO ₃ =50ppm	14,5 ^{ABa} ±0,5	14,3 ^{Ba} ±0,3	14,8 ^{ABa} ±0,3	15,2 ^{Aa} ±0,6

Letras maiúsculas iguais na mesma linha não diferem significativamente quanto ao atributo a ($p \leq 0,05$) ao longo do tempo.

Letras minúsculas iguais na mesma coluna, não diferem significativamente quanto ao atributo a* ($p \leq 0,05$) independente do tratamento.

**Resultados das médias de três determinações em cada formulação (\pm desvio padrão).

TABELA 20 - Atributo b*- Cor interna das salsichas processadas durante o tempo de armazenamento

Formulações	b*			
	Tempo zero	3 dias	5 dias	7 dias
A 150ppm NO ₂	17,4 ^{Aa} ±0,5	16,2 ^{Aa} ±0,4	19 ^{Ba} ±1	17,4 ^{Aa} ±0,6
B 250ppm NO ₂	17,6 ^{Aa} ±0,9	17,5 ^{Ab} ±0,7	18 ^{Aa} ±1	18,0 ^{Aa} ±0,9
C 200ppm NO ₂ e 50ppm NO ₃	17,1 ^{ABa} ±0,4	16,9 ^{Aab} ±0,4	17,9 ^{ABa} ±0,4	18,1 ^{Ba} ±0,9

Letras maiúsculas iguais na mesma linha não diferem significativamente quanto ao atributo b ($p \leq 0,05$) ao longo do tempo.

Letras minúsculas iguais na mesma coluna, não diferem significativamente quanto ao atributo b* ($p \leq 0,05$) independente do tratamento.

**Resultados das médias de três determinações em cada formulação (\pm desvio padrão).

As avaliações de cor das amostras em colorímetro foram realizadas a fim de constatar a influência do nitrito e nitrato nesta característica física. O nitrito e o nitrato, dentre outras funções, também são responsáveis por conferir e fixar a cor rósea avermelhada, característica dos produtos cárneos. A cor de um produto cárneo está associada à conformação química e concentração dos pigmentos heme, mais especificamente da mioglobina, nítrico proveniente da redução do nitrito (FARIA et al., 2001).

Os resultados apresentados de cor interna, foram submetidos ao teste T para verificar se ocorreram mudanças significativas na cor das salsichas. Foi possível evidenciar algumas mudanças significativas pontuais, porém, sem retratar uma tendência.

Salientamos que o atributo a* (intensidade da cor vermelha) não apresentou diferenças significativas entre as 03 dosagens empregadas dos conservantes. Este fato evidencia que salsichas com maior residual de nitrito não necessariamente apresentarão coloração vermelha mais atraente ao consumidor.

A perda de cor interna durante o armazenamento não ocorreu de forma significativa. Este fato pode ser explicado com base na efetividade do sistema redutor de pigmentos, cujo principal agente é o eritorbato de sódio que preserva a manutenção da nitrosilmoglobina (FARIA et al., 2001).

5.2.7.2 Cor – Externa

Quanto à cor externa das salsichas processadas, os resultados estão apresentados nas TABELAS 21, 22 e 23.

TABELA 21 - Atributo L*- Cor externa das salsichas processadas durante o tempo de armazenamento

Formulações	L*			
	Tempo zero	3 dias	5 dias	7 dias
A 150ppm NO ₂	44 ^{Aa} ±1	44,0 ^{Aa} ±0,4	45,1 ^{Aa} ±0,6	44 ^{Aa} ±1
B 250ppm NO ₂	43,9 ^{ABa} ±0,7	43,7 ^{Ba} ±0,3	44,8 ^{Aa} ±0,8	44,8 ^{Aa} ±0,5
C 200ppm NO ₂ e 50ppm NO ₃	44,3 ^{Aa} ±0,6	44,0 ^{Aa} ±0,2	44,5 ^{Aa} ±0,4	44,6 ^{Aa} ±0,9

Letras maiúsculas iguais na mesma linha não diferem significativamente quanto ao atributo L ($p \leq 0,05$) ao longo do tempo.

Letras minúsculas iguais na mesma coluna, não diferem significativamente quanto ao atributo L* ($p \leq 0,05$) independente do tratamento.

**Resultados das médias de três determinações em cada formulação (\pm desvio padrão).

TABELA 22 - Atributo a*- Cor externa das salsichas processadas durante o tempo de armazenamento

Formulações	a*			
	Tempo zero	3 dias	5 dias	7 dias
A 150ppm NO ₂	31,9 ^{Aa} ±0,5	30,2 ^{Ba} ±0,4	29,6 ^{Ba} ±0,6	30,2 ^{Ba} ±0,4
B 250ppm NO ₂	34,6 ^{Ab} ±0,5	33,8 ^{Ab} ±0,7	32,7 ^{Bb} ±0,5	32,5 ^{Bb} ±0,4
C 200ppm NO ₂ e 50ppm NO ₃	33,8 ^{Ac} ±0,4	32,2 ^{Bc} ±0,6	33,3 ^{Ab} ±0,7	31,3 ^{Bc} ±0,2

Letras maiúsculas iguais na mesma linha não diferem significativamente quanto ao atributo a ($p \leq 0,05$) ao longo do tempo.

Letras minúsculas iguais na mesma coluna, não diferem significativamente quanto ao atributo a* ($p \leq 0,05$) independente do tratamento.

**Resultados das médias de três determinações em cada formulação (\pm desvio padrão).

TABELA 23 - Atributo b*- Cor externa das salsichas processadas durante o tempo de armazenamento

Formulações	b*			
	Tempo zero	3 dias	5 dias	7 dias
A 150ppm NO ₂	46 ^{Aab} ±2	47 ^{ABa} ±1	49 ^{Ba} ±2	47 ^{ABa} ±1
B 250ppm NO ₂	48 ^{Aa} ±2	48 ^{Aa} ±2	49 ^{Aa} ±2	47 ^{Aa} ±2
C 200ppm NO ₂ e 50ppm NO ₃	45 ^{Ab} ±1	48 ^{ABa} ±2	49 ^{Ba} ±2	47 ^{ABa} ±1

Letras maiúsculas iguais na mesma linha não diferem significativamente quanto ao atributo b ($p \leq 0,05$) ao longo do tempo.

Letras minúsculas iguais na mesma coluna, não diferem significativamente quanto ao atributo b* ($p \leq 0,05$) independente do tratamento.

**Resultados das médias de três determinações em cada formulação (\pm desvio padrão).

Com base nos resultados apresentados nas TABELAS 21, 22 e 23, a cor superficial foi avaliada por meio do teste T com o objetivo de verificar se ocorreram mudanças significativas na cor das salsichas. A avaliação demonstrou que existe uma mudança significativa no atributo a* em todas as dosagens empregadas dos conservantes nas formulações.

Esta avaliação torna-se importante, pois os pigmentos de carnes curadas estão susceptíveis à descoloração promovida pela ação de bactérias, que desenvolvem uma coloração verde na superfície do produto. Sob condições aeróbias, a bactéria responsável pelo esverdeamento produz peróxido de hidrogênio, que oxida diretamente o pigmento da carne. A descoloração é geralmente acompanhada pela formação de um limo, oriundo de um crescimento excessivo de microrganismos (FARIA et al., 2001).

6 CONCLUSÃO

Os resultados das análises das salsichas de mercado indicam que nenhuma das amostras excedeu os limites individuais regulamentados para o atributo nitrito. Quando o nitrato foi analisado por redução em coluna de cádmio, dois dos quinze fabricantes de salsichas comercializadas na região metropolitana de São Paulo não atenderam às normas legais vigentes quanto ao limite de uso de aditivos conservantes quando aplicada a soma de aditivos de mesma função. Já no método de quantificação do nitrato por meio de agitação em sistema aberto um único fabricante de salsicha seria acionado legalmente.

Ambos os métodos analíticos empregados para a quantificação de nitrato se mostraram eficientes e com resultados bastante semelhantes, sendo que, em coluna o coeficiente de variação médio apresentou-se ligeiramente inferior.

As salsichas *hot dog* processadas para este trabalho atenderam aos requisitos da legislação brasileira sobre os padrões de identidade e qualidade de salsichas. Os parâmetros pH, cor interna e cor externa apresentaram pequena variação durante o acondicionamento. A redução do nitrito foi evidenciada na fabricação e no acondicionamento do produto sendo o comportamento do nitrato inverso, ou seja, mesmo em formulações isenta deste aditivo, o íon foi quantificado e foi demonstrado que ao longo da vida de prateleira existe um acréscimo deste componente. A vida útil da salsicha a granel empregada na comercialização pelas redes de supermercados na região metropolitana de São Paulo demonstrou ser adequadas do ponto de vista microbiológico nas 3 formulações avaliadas desde que permaneçam sob controle adequado da temperatura de armazenamento e de higiene na manipulação, tanto no ponto de venda quanto na residência do consumidor.

PROPOSTA PARA CONTINUAÇÃO DO TRABALHO

Sugere-se, de acordo com as conclusões acima e com apoio na literatura, que mais estudos sejam realizados no sentido de:

- a) Avaliar o comportamento microbiológico das formulações em outras temperaturas de acondicionamento, simulando eventuais abusos.
- b) Avaliar a alteração dos teores de nitrito e de nitrato conforme variações na proporção das matérias primas empregadas com a finalidade de realizar uma modelagem. Com isso os frigoríficos teriam uma equação a ser utilizada para estimar o residual de nitrito e nitrato ao final do processamento e da vida de prateleira, de acordo com os insumos e matérias primas cárneo empregadas no seu processo tecnológico.

REFERÊNCIAS

- ADDISCOTT, T.; BENJAMIN, N. Are you taking your nitrate? **Food Science and Technology Today**, London, v.14, n.1, p.59-61, 2000.
- ADITIVOS e ingredientes na indústria da carne. Aditivos & ingredientes, [200?] Disponível em: <http://www.insumos.com.br/aditivos_e_ingredientes/_materias/163.pdf>. Acesso em: 14 maio 2012.
- ANDRADE, R. **Desenvolvimento de métodos analíticos para determinação de nitrato, nitrito e nitrosaminas em produtos cárneos**. 2004. Tese (Doutorado em Química) Instituto de Química, Universidade de Campinas, Campinas, 2004.
- AOAC - Association of Official Analytical Chemists. **Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists**. 16.ed. Gaithersburg: AOAC, 1997.
- ARAÚJO, J. M. A. **Química de alimentos**: teoria e prática. Viçosa: UFC, 1999.
- ARCHER, D. L. Evidence that ingested nitrate and nitrite are beneficial to health. **Journal of Food Protection**, Des Moines, v.65, n.5, p.872-875, 2002.
- BARNES, J. M.; MAGEE, P. N. Some toxic properties of dimethylnitrosamine. **British Journal of Industrial Medicine**, v. 11, p. 167-174, 1954.
- BERNARDES, Erik. Brasil: um grande negócio. **Revista Nacional da Carne**, ano 34, n.395, jan. 2010.
- BRASIL. Decreto nº 30691, de 29 de março de 1952. Aprova o Regulamento da inspeção industrial e sanitária de produtos de origem animal (RIISPOA). **Diário Oficial da União**, 07 jul. 1952. Seção I, p. 10785.
- BRASIL. Decreto Lei nº 986 de 21 de outubro de 1969. Institui normas básicas sobre alimentos. **Diário Oficial da União**, Brasília, 21 out. 1969. p. 8935. (Retificado no Diário Oficial da União, 11 nov. 1969, p. 9737).
- BRASIL. Ministério da Saúde. Portaria nº 1002, de 11 de dezembro de 1998. Aprova a lista de produtos comercializados no país, enquadrando-os nas Subcategorias que fazem parte da Categoria 8 - Carnes e Produtos cárneos". **Diário Oficial da União**, Brasília, 14 dez. 1998. Seção I, p. 28.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 20, de 21 de julho de 1999. Oficializa os métodos analíticos físico-químicos para controle de produtos cárneos e seus ingredientes. **Diário Oficial da União**, Brasília, 09 set. 1999. Seção I, p. 30.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 04, de 31 de março de 2000. Aprova os Regulamentos técnicos de identidade e qualidade de carne

mecanicamente separada, de mortadela, de lingüiça e de salsicha. **Diário Oficial da União**, Brasília, 05 abr. 2000. Seção I, p. 14.

BRASIL. Ministério da Saúde. Portaria n.º 1943, de 18 de outubro de 2001. Define a relação de doenças de notificação compulsória para todo território nacional. **Diário Oficial da União**, Brasília, 24 out. 2001.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução **RDC nº 259, de 20 de setembro de 2002**. Aprova o regulamento técnico sobre rotulagem de alimentos embalados. **Diário Oficial da União**, Brasília, 23 set. 2002.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 62 de 26 de agosto de 2003. Oficializa os métodos analíticos oficiais para análises microbiológicas para controle de produtos de origem animal e água. **Diário Oficial da União**, Brasília, 18 set. 2003. Seção I, p. 14.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 51, de 29 de dezembro de 2006. Adota o Regulamento técnico de atribuição de aditivos e seus limites das seguintes categorias de alimentos: grupo 8 – carnes e produtos cárneos. **Diário oficial da União**, Brasília, 04 jan. 2007. Seção I, p. 14.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. MEMO CGI nº 40, de 24 de outubro de 2008. Registros de produtos com adição de nitratos e nitritos. (não publicado).

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Diretor do Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal – DIPOA. Oficio Circular nº 15, de 08 de maio de 2009. **Uso de conservantes/aditivos em produtos cárneos – procedimentos de registro e fiscalização**. Disponível em: <http://www.abef.com.br/uba/arquivos/15/conservantes_e%20_aditivos_registro_fiscalizacao_brasil.pdf>. Acesso em: 13 maio 2012.

BRENDLER, S.Y. et al. In vivo and in vitro genotoxicity of several N-nitrosamines in extrahepatic tissues of the rat. **Carcinogenesis**, v. 13, p. 2435-2441, 1992.

CARDOSO, A. L. S. P. et al. Pesquisa de *Salmonella* spp, coliformes totais, coliformes fecais, mesófilos, em carcaças e cortes de frango. **Higiene Alimentar**, v.19, n.128, p.144-150, 2005.

CARRASCOSA, A. V.; CORNEJO, I. Aspectos físico-químicos del curado de jamón serrano y su influencia sobre el desarrollo microbiano: revisión. **Aliementaria**, p. 27-33, 1989.

CASSENS, R. G. Residual nitrite in cured meat. **Food Technology**, v. 51, n. 2, p. 53-55, 1997.

CHALLIS, B. C. Nutrition and nitrosamine formation. **Proceedings of the Nutrition Society**, v. 44, p. 95-100, 1985. Disponível em: <http://journals.cambridge.org/download.php?file=%2FPNS%2FPNS44_01%2FS0029665185000209a.pdf&code=73be0263eefe13fabe3d4e84592ebdd3>. Acesso em: 10 mar. 2012.

CHRISTIANSEN, L.N. et al. Effect of nitrite and nitrate on toxin production by Clostridium botulinum and on nitrosamine formation in perishable canned comminuted cured meat. **Applied Microbiology**, v. 25, p. 357-362, 1973.

CHRISTIANSEN, L.N. et al. Effect of sodium nitrite on toxin production by clostridium botulinum in bacon. **Applied Microbiology**, v. 27, p. 733-737, 1974.

CVE - Centro de Vigilância Epidemiológica. **Manual integrado de vigilância epidemiológica do botulismo**. Brasília: Ministério da Saúde, 2006. Disponível em: <http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/manual_botulismo.pdf>. Acesso em: 13 maio 2012.

CVE – Centro de Vigilância Epidemiológica. **Vigilância epidemiológica do botulismo**. Brasília, DF: Ministério da Saúde, 2008.

DATAMARK. Brazil Focus. **Carne industrializada**: salsichas. 2009. Disponível em: <<http://www.brazilfocus.com/newbrazilfocus/ASP/bf/yearlypd/ys00861.asp>>. Acesso em: 15 fev. 2012.

DUTRA, C. B. **Determinação de nitrosaminas voláteis em salsichas hot dog**. 2006. 61f. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade de Campinas, Campinas, 2006.

EVANGELISTA, J. **Tecnologia de alimentos**. Rio de Janeiro: Atheneu, 1987.

FARIA, J. A. F. et al. Formação e estabilidade da cor de produtos cárneos curados: revisão. **Revista TeC Carnes**, Campinas, v.3, n.2, p.16-22, 2001.

FIDDLER, W. et al. Effect of sodium nitrite concentration on n-nitrosodimethylamine formation in frankfurters. **Journal of Food Science**, v. 37, p. 668-670, 1972.

FIGUEIREDO, M. A. A.; DIAS, J.; LUCENA, R. Considerações acerca de dois casos de botulismo ocorridos no Estado da Bahia. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Uberaba, v.39, n.3, maio/jun. 2006.

FRANCO, B. D. G. M. et al. **Microbiologia dos alimentos**. São Paulo: Atheneu, 2001. v.2.

FRANCO, B. D. G. M.; LANDGRAF, M. Microrganismos patogênicos de importância nos alimentos. In: FRANCO, B. D. G. M.; LANDGRAF, M. (Ed.). **Microbiologia dos alimentos**. São Paulo: Atheneu, 1996. p. 33-38.

GUERREIRO, L. **Dossiê técnico**: produção de salsicha. Rio de Janeiro: REDETEC, 2006.

HUSTAD, G. O. et al. Effect of sodium nitrite and sodium nitrate on botulinal toxin production and nitrosamine formation in wieners. **Applied Microbiology**, v. 26, p. 22-26, 1973.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Métodos físico-químicos para análise de alimentos**. 4. ed. Brasília, DF: Ministério da Saúde, 2005.

LEIFERT, C. et al. Human health effects of nitrate. In: IFA AGRICULTURAL CONFERENCE ON MANAGING PLANT NUTRITION, 1999, Barcelona. **Proceedings...** Barcelona: IFA, p.1-12, 1999.

MAFF - Ministry of Agriculture, Fisheries, and Food, Great Britain. **Nitrate, nitrite and N-nitroso compounds in foods:** second report. 1992. (Food Surveillance Paper, 32).

MATTANNA, P. et al. Análise físico-química de linguiças provenientes de agroindústrias. **Revista Nacional da Carne**, n. 422, p. 46-52, abr. 2012.

McKNIGHT, G. M. et al. Dietary nitrate in man: friend or foe? **British Journal of Nutrition**, London, n.81, p.349-358, 1999.

MELLO FILHO, A. B.; BISCONTINI, T. M. B.; ANDRADE, S. A. C. Níveis de nitrito e nitrato em salsichas comercializadas na região metropolitana do Recife. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.24, n.3, p.390-392, jul./set. 2004.

MERCOSUL. Resolução GMC Nº 73/97. Regulamento técnico Mercosul de atribuição de aditivos e seus limites as seguintes categorias de alimentos: categoria 8 - carnes e produtos derivados. Disponível em: <http://www2.uol.com.br/actasoft/actamercosul/espanhol/res_73_97.htm>. Acesso em: 10 out. 2011.

MOORCROFT, M. J.; DAVIS, J.; COMPTON, R. G. Detection and determination of nitrate and nitrite: a review. **Talanta**, v.54, p.785-803, 2001.

NOGUEIRA PINTO, J. P. A. et al. Avaliação microbiológica de produtos embutidos encaminhados ao serviço de orientação à alimentação pública (SOAP) da FMVZ, Unesp, Campus de Botucatu. **Higiene Alimentar**, v.13, n.61, p.69-70, 1999.

ORDÓÑEZ PEREDA, J. A. et al. **Tecnología de alimentos:** alimentos de origem animal. Porto Alegre: Artmed, 2005. 2v.

PARDI, M. C. et al. **Ciência, higiene e tecnologia da carne.** Goiânia: UFG, 1995. v.1.

PARDI, M. C. et al. **Ciência, higiene e tecnologia da carne.** Goiânia: UFG, 1996. v.2.

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

ROSTKOWSKA, K. et al. Formation and metabolism of N-Nitrosamines. **Polish Journal of Environmental Studies**, v. 7, p. 321-325, 1998,

SCANLAN, R. A. Nitrosamines and cancer. Oregon: The Linus Pauling Institute, 2000. Disponível em: <http://lpi.oregonstate.edu/f-w00/nitrosamine.html>. Acesso em: 10 out. 2011.

SCARCELLI, E.: PIATTI, R. M. Patógenos emergentes relacionados á contaminação de alimentos de origem animal. **Biológico**, São Paulo, v.64, n.2, p.123-127, 2002.

SGARBieri, V. C. **Alimentação e nutrição:** fator de saúde e desenvolvimento. Campinas: UNICAMP, 1987.

- SHIMOKOMAKI, M. et al. **Atualidades em ciências e tecnologia de carnes.** São Paulo: Varela, 2006.
- SILVA, E. A. **Manual de controle higiênico sanitário.** 5. ed. São Paulo: Varela, 2002.
- SILVA, P. O mercado de embutidos cresce no Brasil. **Alimentos e Tecnologia**, v. 61, n. 10, p. 40-41, 1995.
- SOFOS, J. N.; BUSTA, F. F.; ALLEN, C. E. *Clostridium botulinum* control by sodium nitrite and sorbic acid in various meat and soy protein formulations. **Journal of Food Science**, v. 44, p. 1662-1667, 1979.
- SOUZA, P. A.; FALEIROS, R. R. S.; SOUZA, H. B. A. Dosagem de nitrato e nitrito em produtos embutidos de carne. **Alimentação e Nutrição**, São Paulo, v.2, p. 27-34, 1990.
- STEPHEN, S. A. et al. Botulinum toxin as a biological weapon. **Journal of American Medical Association**, Chicago, v.285, n.8, p.43-49, 2001.
- STRICKLAND, J. D. H. & PARSONS, T. R. **A practical handbook of seawater analysis.** Ottawa: Fisheries Research Board of Canada, Bull. 167, 1972.
- SUPERMERCADO MODERNO. **Embutidos:** boa promessa apesar da queda. 2009. Disponível em:<<http://www.sm.com.br/publique/cgi/cgilua.exe/sys/start>>. Acesso em 10 out. 2011.
- TAKEDA, K.; FUJIWARA, K. Determination of nitrate in natural waters with the photo-induced conversion of nitrate to nitrite. **Analytical Chimica Acta**, v.276, n.1, p. 25-32, 1993.
- TANNENBAUM, S. R., WISHNOK, J. S., LEAF, C. D. Inhibition of nitrosamine formation by ascorbic acid. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 53, p. 247S-250S, 1991.
- TRABULSI, L.R. et al. **Microbiologia.** 3. ed. São Paulo: Atheneu, 1999.
- WALKER, R. Nitrates, nitrites and N-nitroso compounds: a review of the occurrence in food and diet and the toxicological implications. **Food Additives and Contaminants**, v.7, p. 717-768, 1990.
- WHO – World Health Organization. **Safety evaluation of certain food additives:** fifty-ninth report of the Joint FAO/WHO Committee on Foods Additives. Geneva: WHO, 2003. (Food Additives Series, 50).
- WHO – World Health Organization. **Toxicological evaluation of certain food additives:** forty-fourth report of the Joint FAO/WHO Committee on Foods Additives. Geneva: WHO, 1996. (Food Additives Series, 35).

ANEXO A - INSTRUÇÃO NORMATIVA Nº 4, DE 31 DE MARÇO DE 2000

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA E DO ABASTECIMENTO

SECRETARIA DE DEFESA AGROPECUÁRIA

INSTRUÇÃO NORMATIVA Nº 4, DE 31 DE MARÇO DE 2000

O SECRETÁRIO DE DEFESA AGROPECUÁRIA DO MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO, no uso da atribuição que lhe confere o art. 83, inciso IV do Regimento Interno da Secretaria, aprovado pela Portaria Ministerial nº 574, de 8 de dezembro de 1998, considerando que é necessário instituir medidas que normatizem a industrialização de produtos de origem animal, garantindo condições de igualdade entre os produtores e assegurando a transparência na produção, processamento e comercialização, e o que consta do Processo nº 21000.003863/99-12, resolve:

Art. 1º. Aprovar os Regulamentos Técnicos de Identidade e Qualidade de Carne Mecanicamente Separada, de Mortadela, de Lingüiça e de **Salsicha** em conformidade com os Anexos desta Instrução Normativa.

Art. 2º. Esta Instrução Normativa entra em vigor na data de sua publicação.

LUIZ CARLOS DE OLIVEIRA

ANEXO IV

REGULAMENTO TÉCNICO DE IDENTIDADE E QUALIDADE DE SALSICHA**1. Alcance**

1.1. Objetivo: Fixar a identidade e as características mínimas de qualidade que deverá apresentar o produto cárneo industrializado denominado Salsicha.

1.2. Âmbito de Aplicação: O presente regulamento refere-se ao produto Salsicha destinado ao comércio nacional e/ou internacional.

2. Descrição

2.1. Definição: Entende-se por Salsicha o produto cárneo industrializado, obtido da emulsão de carne de uma ou mais espécies de animais de açougue, adicionados de ingredientes, embutido em envoltório natural, ou artificial ou por processo de extrusão, e submetido a um processo térmico adequado.

Nota: As salsichas poderão ter como processo alternativo o tingimento, depelação, defumação e a utilização de recheios e molhos.

2.2. Classificação

Trata-se de um produto cozido.

De acordo com a composição da matéria-prima e das técnicas de fabricação: Salsicha. - Carnes de diferentes espécies de animais de açougue, carnes mecanicamente separadas até o limite máximo de 60%, miúdos comestíveis de diferentes espécies de animais de açougue (Estômago, Coração, Língua, Rins, Miolos, Fígado), tendões, pele e gorduras.

Salsicha.Tipo Viena - Carnes bovina e/ ou suína e carnes mecanicamente separadas até o limite máximo de 40%, miúdos comestíveis de bovino e/ ou suíno (Estômago, Coração, Língua, Rins, Miolos, Fígado), tendões, pele e gorduras.

Salsicha.Tipo Frankfurt - Carnes bovina e/ ou suína e carnes mecanicamente separadas até o limite de 40%, miúdos comestíveis de bovino e/ ou suíno (Estômago, Coração, Língua, Rins, Miolos, Fígado) tendões, pele e gorduras.

Salsicha.Frankfurt - Porções musculares de carnes bovina e/ ou suína e gorduras.

Salsicha.Viena -Porções musculares de carnes bovina e/ ou suína e gordura.

Salsicha.de Carne de Ave - Carne de ave e carne mecanicamente separada de ave, no máximo de 40%, miúdos comestíveis de ave e gorduras.

2.3. Designação (Denominação de Venda): Será denominada de Salsicha e opcionalmente poderá ter as seguintes denominações, isoladas ou combinadas de acordo com a sua apresentação para venda:

Salsicha

Salsicha.Viena

Salsicha.Frankfurt

Salsicha Tipo Viena

Salsicha Tipo Frankfurt

Salsicha de Carne de Ave

Salsicha de Peru

Outras

3. Referências

- Código de Defesa do Consumidor. Lei nº 8.078 de 11 de Setembro de 1990, Brasil.
- Code of Federal Regulations, Animal and Animal Products, USA, 1982.
- Codex Alimentarius - Volume 10 - Programa conjunto FAO/OMS sobre Normas Alimentarias, Comisión del Codex Alimentarius, Roma, 1994.

- ICMSF- Microorganisms in foods. 2. Sampling for microbiological analysis: Principles and specific applications. University of Toronto. Press, 1974.
- Decreto nº 63.526 de 04 de Novembro de 1968, Ministério da Agricultura, Brasil.
- European Parliament and Council Directive nº 95/2/EC of 20 February 1995. Official Journal of the European Communities No L61/1, 18/03/95.
- Portaria INMETRO nº 88 de 24 de Maio de 1996, Ministério da Indústria, do Comércio e do Turismo, Brasil.
- Padrões Microbiológicos. Portaria nº 451 de 19/09/97 - Publicada no DOU de 02/07/98, Ministério da Saúde - Brasil.
- Programa Nacional de Controle de Resíduos Biológicos. Portaria nº 110 de 26 de Agosto de 1996, Ministério da Agricultura, Brasil.
- Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal - RIISPOA Decreto nº 30.691, de 29 de março de 1952.
- Resolução 91/94- Mercosul, Portaria 74 de 25/05/95, Ministério da Ind., Com. e Turismo, Brasil.
- Resolução GMC 36/93- Mercosul, 1993.
- Portaria nº 368, de 04/09/97 - Regulamento Técnico sobre as Condições Higiênico-Sanitárias e de Boas Práticas de Elaboração para Estabelecimentos Elaboradores/Industrializadores de Alimentos- Ministério da Agricultura e do Abastecimento, Brasil.
- Portaria nº 371, de 04/09/97 - Regulamento técnico para Rotulagem de Alimentos - Ministério da Agricultura e do Abastecimento, Brasil.
- Normas ABNT (Associação Brasileira de Normas Técnicas) - Plano de Amostragem e Procedimentos na Inspeção por atributos- 03.011- NBR 5426 - Jan/1985 Portaria n º 1004 de 11.12.98 - Regulamento Técnico Atribuição de Função de Aditivos, Aditivos e seus Limites Máximo de uso para a Categoria 8 - Carne e Produtos Cárneos - Ministério da Saúde, Brasil
- Instrução Normativa n. 20 de 21.07.99, publicada no DOU de 09.09.99 - Métodos Analíticos Físico-químicos para Controle de Produtos Cárneos e seus Ingredientes
- Sal e Salmoura - SDA - Ministério da Agricultura e Abastecimento, Brasil.

4. Composição e Requisitos

4.1. Composição

4.1.1. Ingredientes Obrigatórios: Carnes das diferentes espécies de animais de açougue, conforme designação do produto, observando definição estabelecida no Codex Alimentarius. Sal.

4.1.2. Ingredientes Opcionais

4.1.2.1 - O emprego de miúdos e vísceras comestíveis (coração, língua, rins, estômagos, pele, tendões, medula e miolos), fica limitado no percentual de 10%, utilizados de forma isolada ou combinada, exceto nas Salsichas Viena e Frankfurt.

4.1.2.2. - Outros Ingredientes Opcionais

Gordura animal ou vegetal

Água

Proteína vegetal e/ ou animal

Agentes de liga

Aditivos intencionais

Açucares

Aromas, especiarias e condimentos

Nota: Permite-se a adição de proteínas não cárnica de 4,0% (max.), como proteína agregada. Não será permitida a adição de proteínas não cárnica nas salsichas Viena e Frankfurt, exceto as proteínas lácteas.

4.2. Requisitos

4.2.1. Características Sensoriais

4.2.1.1. Textura : Característica

4.2.1.2. Cor : Característica

4.2.1.3. Sabor : Característico

4.2.1.4. Odor : Característico

4.2.2. Características Físico-Químicas

Amido (máx.) 1 - 2,0%

Carboidratos Totais (máx.) 1 - 7,0%

Umidade (máx.) - 65%

Gordura (máx.) - 30%

Proteína (mín.) - 12%

PRODUTO	TEOR DE CÁLCIO EM BASE SECA
Salsicha	0,9 %
Salsicha Viena	0,1 %
Salsicha Frankfurt	0,1 %
<Salsicha> Tipo Viena	0,6 %
Salsicha Tipo Frankfurt	0,6 %
Salsicha de Ave	0,6 %

(1) A somatória dos açúcares totais (carboidratos totais incluindo os de origem do amido ou da fécula) não deverá ultrapassar o teor de 7% (sete por cento), sendo que o teor máximo de

amido se limita a 2% (dois por cento).(*Redação dada pela Instrução Normativa 36/2011/SDA/MAPA*)

4.2.3. Acondicionamento: As salsichas deverão ser embaladas com materiais adequados para as condições de armazenamento e que assegure uma proteção apropriada contra a contaminação.

5. Aditivos e Coadjuvantes de Tecnologia/ Elaboração Deverá obedecer a legislação vigente.

6. Contaminantes: Os contaminantes orgânicos e inorgânicos não deverão estar presentes em quantidades superiores ao limite estabelecido pelo regulamento vigente.

7. Higiene

7.1. Considerações Gerais

7.1.1. Sugere-se que as práticas de higiene para a elaboração do produto, estejam de acordo com o estabelecimento no:

- "Código Internacional Recomendado de Práticas de Higiene para os Produtos Cárnico Elaborados" (Ref. CAC/RCP 13 - 1976 (rev. 1, 1985))
- "Código Internacional Recomendado de Práticas de Higiene para a Carne Fresca" (CAC/RCP 11-1976 (rev. 1, 1993))
- "Código Internacional Recomendado de Práticas - Princípios Gerais de Higiene dos Alimentos" (Ref.: CAC/RCP 1 - 1969 (rev. 2 - 1985)) - Ref. Codex Alimentarius, vol. 10, 1994.

7.1.2. Toda a carne usada para elaboração de Salsichas deverá ter sido submetida aos processos de inspeção prescritos no RIISPOA - "Regulamento de Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal" - Decreto nº 30691, de 29/03/1952.

7.1.3. As carnes cruas, miúdos e gorduras e as Salsichas já elaborados, deverão ser manipuladas, armazenadas e transportadas em locais próprios de forma que as carnes, gorduras e miúdos e as Salsichas não deverão ficar expostos à contaminação ou adicionada de qualquer substância nociva para o consumo humano.

7.1.4. As Salsichas deverão ser tratadas termicamente em conformidade com as seções 7.5 e 7.6.1 à 7.6.7 do "Código Internacional Recomendado de Práticas de Higiene para Alimentos pouco Ácidos e Alimentos pouco Ácidos Acidificados Envasados".

7.2. Critérios Macroscópicos: Deverá atender a regulamentação específica.

7.3. Critérios Microscópicos: Deverá atender a regulamentação específica

7.4. Critérios Microbiológicos

Aplica-se a legislação vigente.

8. Pesos e Medidas

Aplica-se o Regulamento vigente.

9. Rotulagem

9.1. Aplica-se o Regulamento vigente (Portaria nº 371, de 04/09/97) Regulamento Técnico para Rotulagem de Alimentos - Ministério da Agricultura e do Abastecimento, Brasil).

10. Métodos de Análises Físico-Químicos Instrução Normativa n. 20 de 21.07.99, publicada no DOU de 09.09.99 - Métodos Analíticos Físico-Químicos para Controle de Produtos Cárneos e seus Ingredientes - Sal e Salmoura -SDA -Ministério da Agricultura e Abastecimento, Brasil.

11. Amostragem

Seguem os procedimentos recomendados na Norma vigente.

D.O.U., 05/04/2000

**ANEXO B – LAUDOS DO LABORATÓRIO BIOAGRI ALIMENTOS SILLIKER –
ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS**



**BOLETIM DE ANÁLISE N° 3917/2012-0
Processo Comercial N° 206/2012-2**

DADOS REFERENTES AO CLIENTE

Empresa solicitante:	Kienast e Kratschmer Ltda
Endereço:	Avenida Industrial, 3331 - Campestre - Santo André-SP - CEP: 01452-912 .
Nome do Solicitante:	Viviane Rodrigues Ferracioli

DADOS REFERENTES A AMOSTRA

Identificação do Cliente:	Salsicha hot dog - tempo zero - fórmula 1		
Amostra Rotulada como:	Alimento		
Coletor:	Cliente	Data da coleta:	6/1/2012
Data da entrada no laboratório:	06/01/2012 15:00:00	Data de Elaboração do BA:	10/01/2012

RESULTADOS ANALÍTICOS DA AMOSTRA

Parâmetros	Unidade	LQ	Resultados analíticos
Contagem Padrão de Microorganismos Mesófilos Aeróbios e Aanaeróbios Facultativos	UFC/g		< 10 estimado
Contagem de Bactérias Lácticas	UFC/g		< 10

Notas

LQ = Limite de Quantificação.

Abrangência

O(s) resultado(s) se referem somente à(s) amostra(s) analisada(s).

Este Boletim de Análise só pode ser reproduzido por inteiro e sem nenhuma alteração.

Data de realização das análises

A Bioagri Ambiental garante que todas as análises foram executadas dentro do prazo de validade de cada parâmetro segundo o Guia de Coleta e Preservação de Amostra da Bioagri Ambiental, quando todo o trâmite analítico (coleta e análise) é de responsabilidade da Bioagri Ambiental. Quando a coleta é de responsabilidade do interessado, caso haja algum desvio, o cliente é previamente consultado sobre a disposição das amostras e a continuidade do processo analítico.

Todas estas datas constam nos dados brutos das análises e estão à disposição para serem solicitadas a qualquer momento pelo interessado.

Plano de Amostragem

Local da Coleta:

Tipo de Amostragem:

Ocorrência de chuva nas últimas 24h:

Outras informações:

Referências Metodológicas

APHA. American Public Health Association. Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods. 4.ed. Washington DC. 2001.

Revisores

Janeide de Oliveira Moura

Eliane Sanchez

Chave de Validação:
b67a01a54b97386dfa7f60770387
1d69

Eliane Sanchez Gomes
Responsável Técnico
CRMV - 15627



**Relatório de Ensaio N°3924/2012-0
Processo Comercial N°206/2012-2**

DADOS DA EMPRESA

Empresa Solicitante: Kienast e Kratschmer Ltda
Endereço: Avenida Industrial, 3331 - - Campestre - Santo André - SP - CEP: 01452-912 .
Solicitante: Viviane Rodrigues Ferracioli

DADOS DA AMOSTRA

Identificação da Amostra:	Salsicha hot dog - tempo zero - fórmula 2		
Responsável pela Coleta:	Cliente	Data da Coleta:	06/01/2012
Data/Hora do Recebimento:	06/01/2012 15:00h	Temperatura no Recebimento (°C):	Ambiente
Data do início da análise:	06/01/2012	Data do término da análise:	09/01/2012

Observação

Data de Fabricação:	---	Lote (s):	---
Data de Validade:	---		

RESULTADO ANALÍTICO

Microbiologia

Parâmetro(s)	Resultado(s)	Unidade
Contagem Padrão de Microorganismos Mesófilos Aeróbios e Anaeróbios Facultativos	< 10 estimado	UFC/g
Contagem de Bactérias Lácticas	< 10	UFC/g

O Relatório de Ensaio só pode ser reproduzido integralmente sem modificações.

Os resultados aqui relatados referem-se somente à amostra descrita acima.

Referências

APHA. American Public Health Association. Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods. 4.ed. Washington DC. 2001.

Credenciamento/Acreditação/Habilitação

1) Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento
 Laboratório de Multi-Resíduos: Portaria SDA nº. 321 , de 25 de Junho de 2010.

2) INMETRO
 CRL 0376, 09 de Setembro de 2009.

3) ANVISA
 ANALI 120, 21 de Janeiro de 2002.

Revisor

Janeide de Oliveira Moura

São Paulo, 10 de janeiro de 2012.

Eliane Sanchez

Eliane Sanchez Gomes
 Responsável Técnico
 CRMV - 15627



**Relatório de Ensaio N°3926/2012-0
Processo Comercial N°206/2012-2**

DADOS DA EMPRESA

Empresa Solicitante: Kienast e Kratschmer Ltda
Endereço: Avenida Industrial, 3331 - - Campestre - Santo André - SP - CEP: 01452-912 .
Solicitante: Viviane Rodrigues Ferracioli

DADOS DA AMOSTRA

Identificação da Amostra:	Salsicha hot dog - tempo zero - fórmula 3		
Responsável pela Coleta:	Cliente	Data da Coleta:	06/01/2012
Data/Hora do Recebimento:	06/01/2012 15:00h	Temperatura no Recebimento (°C):	Ambiente
Data do início da análise:	06/01/2012	Data do término da análise:	09/01/2012

Observação

Data de Fabricação:	---	Lote (s):	---
Data de Validade:	---		

RESULTADO ANALÍTICO

Microbiologia

Parâmetro(s)	Resultado(s)	Unidade
Contagem Padrão de Microorganismos Mesófilos Aeróbios e Anaeróbios Facultativos	< 10 estimado	UFC/g
Contagem de Bactérias Lácticas	< 10	UFC/g

O Relatório de Ensaio só pode ser reproduzido integralmente sem modificações.

Os resultados aqui relatados referem-se somente à amostra descrita acima.

Referências

APHA. American Public Health Association. Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods. 4.ed. Washington DC. 2001.

Credenciamento/Acreditação/Habilitação

1) Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento
 Laboratório de Multi-Resíduos: Portaria SDA nº. 321 , de 25 de Junho de 2010.

2) INMETRO
 CRL 0376, 09 de Setembro de 2009.

3) ANVISA
 ANALI 120, 21 de Janeiro de 2002.

Revisor

Janeide de Oliveira Moura

São Paulo, 10 de janeiro de 2012.

Eliane Sanchez Gomes

Eliane Sanchez Gomes
 Responsável Técnico
 CRMV - 15627



Relatório de Ensaio N° 5237/2012-0
Processo Comercial N° 206/2012-2

DADOS DA EMPRESA

Empresa Solicitante: Kienast e Kratschmer Ltda
Endereço: Avenida Industrial, 3331 - - Campestre - Santo André - SP - CEP: 01452-912 .
Solicitante: Viviane Rodrigues Ferracioli

DADOS DA AMOSTRA

Identificação da Amostra:	Salsicha hot dog - tempo 3 dias - fórmula 1		
Responsável pela Coleta:	Cliente	Data da Coleta:	09/01/2012
Data/Hora do Recebimento:	09/01/2012 12:30h	Temperatura no Recebimento (°C):	Ambiente
Data do início da análise:	09/01/2012	Data do término da análise:	13/01/2012

Observação

Data de Fabricação:	---	Lote (s):	---
Data de Validade:	---		

RESULTADO ANALÍTICO

Microbiologia

Parâmetro(s)	Resultado(s)	Unidade
Contagem Padrão de Microorganismos Mesófilos Aeróbios e Anaeróbios Facultativos	50 estimado	UFC/g
Contagem de Bactérias Lácticas	< 10	UFC/g

O Relatório de Ensaio só pode ser reproduzido integralmente sem modificações.

Os resultados aqui relatados referem-se somente à amostra descrita acima.

Referências

APHA. American Public Health Association. Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods. 4.ed. Washington DC. 2001.

Credenciamento/Acreditação/Habilitação

1) Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento
 Laboratório de Multi-Resíduos: Portaria SDA nº. 321 , de 25 de Junho de 2010.

2) INMETRO
 CRL 0376, 09 de Setembro de 2009.

3) ANVISA
 ANALI 120, 21 de Janeiro de 2002.

Revisor

Janeide de Oliveira Moura

São Paulo, 18 de janeiro de 2012.

Eliane Sanchez Gomes
 Eliane Sanchez Gomes
 Responsável Técnico
 CRMV- 15627



**Relatório de Ensaio N° 5242/2012-0
Processo Comercial N° 206/2012-2**

DADOS DA EMPRESA

Empresa Solicitante: Kienast e Kratschmer Ltda
Endereço: Avenida Industrial, 3331 - - Campestre - Santo André - SP - CEP: 01452-912 .
Solicitante: Viviane Rodrigues Ferracioli

DADOS DA AMOSTRA

Identificação da Amostra:	Salsicha hot dog - tempo 3 dias - fórmula 2		
Responsável pela Coleta:	Cliente	Data da Coleta:	09/01/2012
Data/Hora do Recebimento:	09/01/2012 12:30h	Temperatura no Recebimento (°C):	Ambiente
Data do início da análise:	09/01/2012	Data do término da análise:	13/01/2012

Observação

Data de Fabricação:	---	Lote (s):	---
Data de Validade:	---		

RESULTADO ANALÍTICO

Microbiologia

Parâmetro(s)	Resultado(s)	Unidade
Contagem Padrão de Microorganismos Mesófilos Aeróbios e Anaeróbios Facultativos	1,0 x 10 ² estimado	UFC/g
Contagem de Bactérias Lácticas	< 10	UFC/g

O Relatório de Ensaio só pode ser reproduzido integralmente sem modificações.

Os resultados aqui relatados referem-se somente à amostra descrita acima.

Referências

APHA. American Public Health Association. Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods. 4.ed. Washington DC. 2001.

Credenciamento/Acreditação/Habilitação

1) Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento
 Laboratório de Multi-Resíduos: Portaria SDA nº. 321 , de 25 de Junho de 2010.

2) INMETRO
 CRL 0376, 09 de Setembro de 2009.

3) ANVISA
 ANALI 120, 21 de Janeiro de 2002.

Revisor

Janeide de Oliveira Moura

São Paulo, 18 de janeiro de 2012.

Eliane Sanchez Gomes

Eliane Sanchez Gomes
 Responsável Técnico
 CRMV - 15627



**Relatório de Ensaio N°5243/2012-0
Processo Comercial N°206/2012-2**

DADOS DA EMPRESA

Empresa Solicitante: Kienast e Kratschmer Ltda
Endereço: Avenida Industrial, 3331 - - Campestre - Santo André - SP - CEP: 01452-912 .
Solicitante: Viviane Rodrigues Ferracioli

DADOS DA AMOSTRA

Identificação da Amostra:	Salsicha hot dog - tempo 3 dias - fórmula 3		
Responsável pela Coleta:	Cliente	Data da Coleta:	09/01/2012
Data/Hora do Recebimento:	09/01/2012 12:30h	Temperatura no Recebimento (°C):	Ambiente
Data do início da análise:	09/01/2012	Data do término da análise:	13/01/2012

Observação

Data de Fabricação:	---	Lote (s):	---
Data de Validade:	---		

RESULTADO ANALÍTICO

Microbiologia

Parâmetro(s)	Resultado(s)	Unidade
Contagem Padrão de Microorganismos Mesófilos Aeróbios e Anaeróbios Facultativos	1,0 x 10 ² estimado	UFC/g
Contagem de Bactérias Lácticas	< 10	UFC/g

O Relatório de Ensaio só pode ser reproduzido integralmente sem modificações.

Os resultados aqui relatados referem-se somente à amostra descrita acima.

Referências

APHA. American Public Health Association. Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods. 4.ed. Washington DC. 2001.

Credenciamento/Acreditação/Habilitação

1) Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento
 Laboratório de Multi-Resíduos: Portaria SDA nº. 321 , de 25 de Junho de 2010.

2) INMETRO
 CRL 0376, 09 de Setembro de 2009.

3) ANVISA
 ANALI 120, 21 de Janeiro de 2002.

Revisor

Janeide de Oliveira Moura

São Paulo, 18 de janeiro de 2012.

Eliane Sanchez

Eliane Sanchez Gomes
 Responsável Técnico
 CRMV - 15627



**Relatório de Ensaio N°7454/2012-0
Processo Comercial N°206/2012-2**

DADOS DA EMPRESA

Empresa Solicitante: Kienast e Kratschmer Ltda
Endereço: Avenida Industrial, 3331 - - Campestre - Santo André - SP - CEP: 01452-912 .
Solicitante: Viviane Rodrigues Ferracioli

DADOS DA AMOSTRA

Identificação da Amostra:	Salsicha hot dog - tempo 5 dias - fórmula 1		
Responsável pela Coleta:	Cliente	Data da Coleta:	11/01/2012
Data/Hora do Recebimento:	11/01/2012 16:40h	Temperatura no Recebimento (°C):	Ambiente
Data do início da análise:	11/01/2012	Data do término da análise:	15/01/2012

Observação

Data de Fabricação:	--	Lote (s):	--
Data de Validade:	--		

RESULTADO ANALÍTICO

Microbiologia

Parâmetro(s)	Resultado(s)	Unidade
Contagem Padrão de Microorganismos Mesófilos Aeróbios e Anaeróbios Facultativos	< 10 estimado	UFC/g
Contagem de Bactérias Lácticas	< 10	UFC/g

O Relatório de Ensaio só pode ser reproduzido integralmente sem modificações.

Os resultados aqui relatados referem-se somente à amostra descrita acima.

Referências

APHA. American Public Health Association. Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods. 4.ed. Washington DC. 2001.

Credenciamento/Acreditação/Habilitação

1) Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento
 Laboratório de Multi-Resíduos: Portaria SDA nº. 321 , de 25 de Junho de 2010.

2) INMETRO
 CRL 0376, 09 de Setembro de 2009.

3) ANVISA
 ANALI 120, 21 de Janeiro de 2002.

Revisor

Janeide de Oliveira Moura

São Paulo, 17 de janeiro de 2012.

Eliane Sanchez Gomes

Eliane Sanchez Gomes
 Responsável Técnico
 CRMV - 15627



Relatório de Ensaio N° 7456/2012-0
Processo Comercial N° 206/2012-2

DADOS DA EMPRESA

Empresa Solicitante: Kienast e Kratschmer Ltda
Endereço: Avenida Industrial, 3331 - - Campestre - Santo André - SP - CEP: 01452-912 .
Solicitante: Viviane Rodrigues Ferracioli

DADOS DA AMOSTRA

Identificação da Amostra:	Salsicha hot dog - tempo 5 dias - fórmula 2		
Responsável pela Coleta:	Cliente	Data da Coleta:	11/01/2012
Data/Hora do Recebimento:	11/01/2012 16:40h	Temperatura no Recebimento (°C):	Ambiente
Data do início da análise:	11/01/2012	Data do término da análise:	15/01/2012

Observação

Data de Fabricação:	---	Lote (s):	---
Data de Validade:	---		

RESULTADO ANALÍTICO

Microbiologia

Parâmetro(s)	Resultado(s)	Unidade
Contagem Padrão de Microorganismos Mesófilos Aeróbios e Anaeróbios Facultativos	< 10 estimado	UFC/g
Contagem de Bactérias Lácticas	< 10	UFC/g

O Relatório de Ensaio só pode ser reproduzido integralmente sem modificações.

Os resultados aqui relatados referem-se somente à amostra descrita acima.

Referências

APHA. American Public Health Association. Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods. 4.ed. Washington DC. 2001.

Credenciamento/Acreditação/Habilitação

1) Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento
 Laboratório de Multi-Resíduos: Portaria SDA nº. 321 , de 25 de Junho de 2010.

2) INMETRO
 CRL 0376, 09 de Setembro de 2009.

3) ANVISA
 ANALI 120, 21 de Janeiro de 2002.

Revisor

Janeide de Oliveira Moura

São Paulo, 17 de janeiro de 2012.

Eliane Sanchez

Eliane Sanchez Gomes
 Responsável Técnico
 CRMV- 15627



Relatório de Ensaio N° 7459/2012-0
Processo Comercial N° 206/2012-2

DADOS DA EMPRESA

Empresa Solicitante: Kienast e Kratschmer Ltda
Endereço: Avenida Industrial, 3331 - - Campestre - Santo André - SP - CEP: 01452-912 .
Solicitante: Viviane Rodrigues Ferracioli

DADOS DA AMOSTRA

Identificação da Amostra:	Salsicha hot dog - tempo 5 dias - fórmula 3		
Responsável pela Coleta:	Cliente	Data da Coleta:	11/01/2012
Data/Hora do Recebimento:	11/01/2012 16:40h	Temperatura no Recebimento (°C):	Ambiente
Data do início da análise:	11/01/2012	Data do término da análise:	15/01/2012

Observação

Data de Fabricação:	---	Lote (s):	---
Data de Validade:	---		

RESULTADO ANALÍTICO

Microbiologia

Parâmetro(s)	Resultado(s)	Unidade
Contagem Padrão de Microorganismos Mesófilos Aeróbios e Anaeróbios Facultativos	< 10 estimado	UFC/g
Contagem de Bactérias Lácticas	< 10	UFC/g

O Relatório de Ensaio só pode ser reproduzido integralmente sem modificações.

Os resultados aqui relatados referem-se somente à amostra descrita acima.

Referências

APHA. American Public Health Association. Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods. 4.ed. Washington DC. 2001.

Credenciamento/Acreditação/Habilitação

1) Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento
 Laboratório de Multi-Resíduos: Portaria SDA nº. 321 , de 25 de Junho de 2010.

2) INMETRO
 CRL 0376, 09 de Setembro de 2009.

3) ANVISA
 ANALI 120, 21 de Janeiro de 2002.

Revisor

Janeide de Oliveira Moura

São Paulo, 17 de janeiro de 2012.

Eliane Someliz
 Eliane Sanchez Gomes
 Responsável Técnico
 CRMV - 15627



Relatório de Ensaio N° 9390/2012-0
Processo Comercial N° 206/2012-2

DADOS DA EMPRESA

Empresa Solicitante: Kienast e Kratschmer Ltda
Endereço: Avenida Industrial, 3331 - - Campestre - Santo André - SP - CEP: 01452-912 .
Solicitante: Viviane Rodrigues Ferracioli

DADOS DA AMOSTRA

Identificação da Amostra:	Salsicha hot dog - tempo 7 dias - fórmula 1		
Responsável pela Coleta:	Cliente	Data da Coleta:	13/01/2012
Data/Hora do Recebimento:	13/01/2012 11:10h	Temperatura no Recebimento (°C):	Ambiente
Data do inicio da análise:	13/01/2012	Data do término da análise:	16/01/2012

Observação

Data de Fabricação:	---	Lote (s):	---
Data de Validade:	---		

RESULTADO ANALÍTICO

Microbiologia

Parâmetro(s)	Resultado(s)	Unidade
Contagem Padrão de Microorganismos Mesófilos Aeróbios e Anaeróbios Facultativos	9,5 x 10 ²	UFC/g
Contagem de Bactérias Lácticas	20	UFC/g

O Relatório de Ensaio só pode ser reproduzido integralmente sem modificações.

Os resultados aqui relatados referem-se somente à amostra descrita acima.

Referências

APHA. American Public Health Association. Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods. 4.ed. Washington DC. 2001.

Credenciamento/Acreditação/Habilitação

1) Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento
 Laboratório de Multi-Resíduos: Portaria SDA nº. 321 , de 25 de Junho de 2010.

2) INMETRO
 CRL 0376, 09 de Setembro de 2009.

3) ANVISA
 ANALI 120, 21 de Janeiro de 2002.

Revisor

Janeide de Oliveira Moura

São Paulo, 18 de janeiro de 2012.

Eliane Sanchez Gomes
 Eliane Sanchez Gomes
 Responsável Técnico
 CRMV- 15627



**Relatório de Ensaio N°9392/2012-0
Processo Comercial N°206/2012-2**

DADOS DA EMPRESA

Empresa Solicitante: Kienast e Kratschmer Ltda
Endereço: Avenida Industrial, 3331 - - Campestre - Santo André - SP - CEP: 01452-912 .
Solicitante: Viviane Rodrigues Ferracioli

DADOS DA AMOSTRA

Identificação da Amostra:	Salsicha hot dog - tempo 7 dias - fórmula 2		
Responsável pela Coleta:	Cliente	Data da Coleta:	13/01/2012
Data/Hora do Recebimento:	13/01/2012 11:10h	Temperatura no Recebimento (°C):	Ambiente
Data do início da análise:	13/01/2012	Data do término da análise:	16/01/2012

Observação

Data de Fabricação:	---	Lote (s):	---
Data de Validade:	---		

RESULTADO ANALÍTICO

Microbiologia

Parâmetro(s)	Resultado(s)	Unidade
Contagem Padrão de Microorganismos Mesófilos Aeróbios e Anaeróbios Facultativos	5,0 x 10 ³	UFC/g
Contagem de Bactérias Lácticas	20	UFC/g

O Relatório de Ensaio só pode ser reproduzido integralmente sem modificações.

Os resultados aqui relatados referem-se somente à amostra descrita acima.

Referências

APHA. American Public Health Association. Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods. 4.ed. Washington DC. 2001.

Credenciamento/Acreditação/Habilitação

1) Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento
 Laboratório de Multi-Resíduos: Portaria SDA nº. 321 , de 25 de Junho de 2010.

2) INMETRO
 CRL 0376, 09 de Setembro de 2009.

3) ANVISA
 ANALI 120, 21 de Janeiro de 2002.

Revisor

Janeide de Oliveira Moura

São Paulo, 18 de janeiro de 2012.

Eliane Sanchez

Eliane Sanchez Gomes
 Responsável Técnico
 CRMV- 15627



**Relatório de Ensaio N°9394/2012-0
Processo Comercial N°206/2012-2**

DADOS DA EMPRESA

Empresa Solicitante: Kienast e Kratschmer Ltda
Endereço: Avenida Industrial, 3331 - - Campestre - Santo André - SP - CEP: 01452-912 .
Solicitante: Viviane Rodrigues Ferracioli

DADOS DA AMOSTRA

Identificação da Amostra: Salsicha hot dog - tempo 7 dias - fórmula 3
Responsável pela Coleta: Cliente **Data da Coleta:** 13/01/2012
Data/Hora do Recebimento: 13/01/2012 11:10h **Temperatura no Recebimento (°C):** Ambiente
Data do Início da análise: 13/01/2012 **Data do término da análise:** 16/01/2012

Observação

Data de Fabricação: --- **Lote (s):** ---
Data de Validade: ---

RESULTADO ANALÍTICO

Microbiologia

Parâmetro(s)	Resultado(s)	Unidade
Contagem Padrão de Microorganismos Mesófilos Aeróbios e Anaeróbios Facultativos	2,5 x 10 ²	UFC/g
Contagem de Bactérias Lácticas	10	UFC/g

O Relatório de Ensaio só pode ser reproduzido integralmente sem modificações.

Os resultados aqui relatados referem-se somente à amostra descrita acima.

Referências

APHA. American Public Health Association. Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods. 4.ed. Washington DC. 2001.

Credenciamento/Acreditação/Habilitação

1) **Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento**
 Laboratório de Multi-Resíduos: Portaria SDA nº. 321 , de 25 de Junho de 2010.

2) **INMETRO**
 CRL 0376, 09 de Setembro de 2009.

3) **ANVISA**
 ANALI 120, 21 de Janeiro de 2002.

Revisor

Janeide de Oliveira Moura

São Paulo, 18 de janeiro de 2012.

Eliane Sanchez Gomes
 Eliane Sanchez Gomes
 Responsável Técnico
 CRMV - 15627