



10º Congresso Interinstitucional de Iniciação Científica – CIIC 2016
02 a 04 de agosto de 2016 – Campinas, São Paulo
ISBN 978-85-7029-135-6

ESTABILIDADE MICROBIOLÓGICA DE MORTADELA DE BAIXO CUSTO ESTÁVEL EM TEMPERATURA AMBIENTE

IMPACTOS DA ATIVIDADE DE ÁGUA E DO TEOR DE NITRITO ADICIONADO

Mariana Guerci **Sidone**¹; Marcia Mayumi Harada **Haguiwara**²; Miriam Gonçalves **Marquezi**³;
Suzana Eri **Yotsuyanagi**⁴; Ana Lúcia da Silva Corrêa **Lemos**⁵

Nº 16244

RESUMO – O estudo das barreiras que conferem estabilidade microbiológica à mortadela de baixo custo estável em temperatura ambiente é fundamental para subsidiar os órgãos fiscalizadores para aprovação da comercialização do produto e fornecer parâmetros mínimos que assegurem a inocuidade do produto. Foram elaborados 6 tratamentos variando-se a atividade de água (0,95; 0,955; 0,96) e o teor de nitrito adicionado (150 ppm e 300 ppm). Determinou-se o valor de pH, atividade de água, teores de nitrito e nitrato no produto recém processado, após incubação (35°C durante 10 dias) e aos 38, 60 e 90 dias após processamento. Contagens de enterobactérias, bactérias lácticas, anaeróbios mesófilos e clostridio sulfito redutores (total e esporos) no produto recém processado e após submetido a incubação foram realizadas. Os resultados indicam que não houve alteração do valor de pH entre os tratamentos e ao longo do estudo. Após incubação o teor de nitrito atingiu cerca de 5 ppm nos tratamentos com 150 ppm adicionados e foi da ordem de 20 ppm nos de 300 ppm adicionados, enquanto os teores de nitrato aumentaram para os tratamentos com maior teor de nitrito adicionado (300 ppm), comparando-se aos tratamentos com 150 ppm, que apresentaram redução, exceto na aw 0,95, quando o teor manteve-se. Não foram detectadas bactérias anaeróbias mesófilas, lácticas, enterobactérias, bem como esporos e células vegetativas de *Cl. sulfito redutores* após o tratamento térmico. Após a incubação somente os tratamentos com 150 ppm apresentaram contagens de anaeróbios mesófilos e bactérias lácticas entre 1 e 2 log UFC/g.

Palavras-chaves: mortadela, estabilidade microbiológica, atividade de água, nitrito residual.

1 Autor, Bolsista CNPq (PIBITI): Graduação em Engenharia de Alimentos, UNICAMP, Campinas-SP; mariana.sidone@gmail.com

2 Colaborador: Pesquisadora, Centro de Tecnologia de Carnes/ITAL, Campinas – SP.

3 Colaborador: Técnica, Centro de Tecnologia de Carnes/ITAL, Campinas-SP.

4 Colaborador: Doutoranda em Tecnologia de Alimentos, FEA/Unicamp, Campinas- SP.

5 Orientador: Pesquisadora no Centro de Tecnologia de Carnes/ITAL, Campinas – SP; analucia@ital.sp.gov.br



ABSTRACT – *The study of hurdles, which confer microbiological stability to low-cost shelf-stable Bologna, is fundamental for supporting the supervisory authorities to approval the commercialization of the product at room temperature providing some minimum parameters to assure product safety. The study comprised 6 treatments varying the water activity (0.95; 0.955; 0.96) and the levels of nitrites added (150 ppm e 300 ppm). The pH value, water activity, nitrite and nitrate, at 35°C during 10 days and after 38, 60 and 90 days of storage at room temperature. Total counts of Enterobacteria, Mesophylic anaerobic bacteria, spores and vegetative cells of sulfite-reducing clostridia were evaluated after thermal processing and after incubation. No differences among treatments and during the study were detected for pH values. After incubation, nitrite amounts reached 5 and 20 ppm for treatments with 150 and 300 ppm addition, respectively. Nitrate increased for the treatments with higher level of nitrite added (300 ppm) comparing to the treatments with 150 ppm added which showed decreasing, except at aw 0.95 which kept the level constant after incubation. No anaerobic mesophilic, lactic, enterobacteria counts, just as well spores and vegetative cells of Cl. sulfite-reducing were detected after heat treatment. After incubation only treatments with 150 ppm showed counts for anaerobic mesophilic and lactic bacteria between 1 and 2 logUFC/g.*

Keywords: bologna, microbiological stability, water activity, residual nitrite.

1 INTRODUÇÃO

A mortadela se destaca entre os produtos mais produzidos no país, com volume de produção estimado de 547.140 toneladas em 2014 (Datamark, 2012), só ligeiramente inferior ao de salsichas e linguiças. No Anexo I da Instrução Normativa nº4 do Ministério da Agricultura (Brasil, 2000) as mortadelas são classificadas em diferentes categorias em função das matérias-primas e ingredientes utilizados na sua formulação. Nas mortadelas de baixo custo, é autorizado o uso de até 60% de carne mecanicamente separada e 10% de miúdos comestíveis e gorduras. Permite-se a inclusão de proteínas não cárneas (máx. 3,5%) e amido (máx. 5%). O produto é adicionado de sal de cura, aceleradores de cura e condimentos e o tratamento térmico utilizado para sua elaboração é a pasteurização, que elimina células vegetativas e pode injuriar alguns esporos, dependendo da intensidade, mas é insuficiente para eliminar esporos do *Clostridium botulinum*, considerado o maior perigo microbiológico neste tipo de produto. Esta categoria de produto é transportada e comercializada sob temperatura ambiente no país. Não existe no país nenhum



10º Congresso Interinstitucional de Iniciação Científica – CIIC 2016
02 a 04 de agosto de 2016 – Campinas, São Paulo
ISBN 978-85-7029-135-6

laboratório habilitado para realização de teste de desafio com este micro-organismo, pois os requisitos de segurança são inúmeros.

As mortadelas de baixo custo precisam ser investigadas para que suas principais barreiras relacionadas à formulação possam agregar subsídios aos órgãos fiscalizadores para aprovação da comercialização do produto sob temperatura ambiente, desde que se comprove que não ofereceria riscos microbiológicos para a população, uma vez que a manutenção sob refrigeração imporia sérios riscos de saúde pública caso houvesse alguma quebra da cadeia de frio, o que é muito comum no país, especialmente nas regiões Norte e Nordeste, nas quais concentram-se os maiores volumes comercializados no país.

Os resultados permitirão avaliar o efeito da atividade de água e do teor de nitrito adicionado, permitindo estabelecer limites desses parâmetros de formulação subsidiando o MAPA no estabelecimento de um protocolo para a elaboração para a mortadela comercializada sob temperatura ambiente segura sob o aspecto microbiológico.

Resultados preliminares decorrentes da avaliação do efeito da atividade de água (0,94; 0,95; 0,96 e 0,97) em tratamentos inoculados com *Cl. sporogenes* PA3679, mantendo-se fixo o teor de nitrito de sódio adicionado em 150 ppm, já foram objeto de apresentação no MAPA que publicou o ofício circular nº005/2015/CGI/DIPOA/DAS (BRASIL, 2015) estabelecendo os parâmetros mínimos para comercialização de produtos dessa categoria sob temperatura ambiente. Neste ofício, a atividade de água máxima permitida é 0,955, desta forma, o teor de cloreto de sódio necessário para se atingir esta atividade de água atinge cerca de 3,5% impactando de maneira relevante o teor de sódio no produto final, contrariando as recomendações dos órgãos do setor de saúde e a proposta das indústrias frigoríficas de reduzirem o sódio de seus produtos. Desta forma, se faz necessário avaliar outras alternativas para a garantia da segurança do produto. No presente trabalho buscou-se avaliar o efeito do aumento do teor de nitrito e seus impactos na segurança em diferentes atividades de água.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Os produtos foram elaborados na Planta Piloto do Centro de Tecnologia de Carnes (CTC) do Instituto de Tecnologia de Alimentos (ITAL) em Campinas. As avaliações físico-químicas e microbiológicas foram realizadas nos respectivos laboratórios do CTC, de acordo com o tipo de atividade. O planejamento experimental baseou-se em três níveis de atividade de água (0,95; 0,955; 0,96) e dois teores de nitrito adicionado (150 ppm e 300 ppm), totalizando em 6 tratamentos.



2.1 Processamento

2.1.1 Massa Básica

Para a elaboração das mortadelas com diferentes atividades de água foi necessário formular-se uma “massa básica” isenta de sal. Sendo a atividade de água diretamente relacionada à concentração salina, a partir da “massa básica” foram desenvolvidos os diferentes tratamentos variando-se a atividade de água. Foram elaboradas duas massas básicas variando-se o teor de sal de cura adicionado, de tal forma que obtivéssemos 150 ppm e 300 ppm.

As matérias-primas cárneas foram moídas e colocadas no *cutter* (Kramer Grebe de Karl Ernst Zippel, Alemanha), adicionou-se os fosfatos e o sal de cura e, a seguir, a proteína texturizada de soja, a fécula, o açúcar e o lactato de sódio. Retirou-se a massa do *cutter* com 10-12°C, determinou-se a umidade por método rápido (microondas), segundo Pettinate (1985).

Para possibilitar os cálculos de atividade de água referentes aos diferentes tratamentos, utilizou-se a Equação 1 proposta por Krispien, Roedel e Leistner (1979) modificada por Degenhardt (2015) em virtude da adição de lactato de sódio.

$$Aw = [0,99918 + (-0,00726 * CS)] - [-0,00076621 + (0,0054567 * CL)] \quad (1)$$

Onde:

CS – concentração salina do produto

CL – concentração de lactato de sódio

Após a realização dos cálculos obteve-se a quantidade de sal (NaCl) necessária para atingir-se as atividades de água desejadas, correspondendo aos seis tratamentos, conforme apresentado na **Tabela 1**. Após a devida adição de sal nos diferentes tratamentos, foi adicionado o eritorbato de sódio (400 ppm). As massas foram embutidas em tripa plástica impermeável de poliamida em multicamadas com 60 mm de calibre (Visflex, Viskase). Foi realizado o tratamento térmico em estufa por meio do cozimento em vapor direto a 85°C de forma que o interior do produto atingisse 75°C. Resfriou-se em chuveiro por 10 minutos e conservou-se em temperatura ambiente. No dia seguinte, as amostras foram submetidas à incubação a 35°C durante 10 dias. Após esse período as amostras permaneceram em temperatura ambiente para realização das análises físico-químicas nos intervalos 38, 60 e 90 dias após processo.



Tabela 1. Composição das formulações referentes aos diferentes tratamentos.

Ingredientes (%)	150 ppm			300 ppm		
	Atividade de água					
	0,95	0,955	0,96	0,95	0,955	0,96
CMS	57,85	58,11	58,33	58,01	58,22	58,53
Gel pele suína	11,57	11,62	11,67	11,60	11,64	11,71
Fígado	0,96	0,97	0,97	0,97	0,97	0,98
Rim	0,96	0,97	0,97	0,97	0,97	0,98
Carne suína	14,22	14,29	14,34	14,12	14,17	14,24
Proteína texturizada de soja	3,37	3,39	3,40	3,38	3,40	3,41
Fécula de mandioca	4,82	4,84	4,86	4,83	4,85	4,88
Açúcar	0,58	0,58	0,58	0,58	0,58	0,59
Tripolifosfato	0,34	0,34	0,34	0,34	0,34	0,34
Pirofosfato ácido de sódio	0,14	0,15	0,15	0,15	0,15	0,15
Sal	3,54	3,11	2,74	3,28	2,93	2,40
Sal de cura (90% NaCl+ 10% Nitrito de sódio)	0,15	0,15	0,15	0,29	0,29	0,29
Lactato de sódio (Sol. 60%)	1,45	1,45	1,46	1,45	1,46	1,46
Eritorbato de sódio	0,04	0,04	0,04	0,04	0,04	0,04

2.2 Análises Físico-Químicas

As determinações de umidade, proteína, gordura e cinzas nas mortadelas foram realizadas segundo as metodologias descritas pela AOAC (2005) e os resultados foram expressos em g/100g de amostra. As análises para quantificação dos teores de nitrato e nitrito nas massas cruas e nas mortadelas foram realizadas em triplicata, de acordo com Brasil (2005). As medidas de pH foram realizadas com pHmetro Digimed modelo DM21 (Digimed, Brasil) utilizando-se um eletrodo para perfuração que foi introduzido diretamente nas amostras. A atividade de água foi determinada em triplicata nos produtos finais utilizando-se o aparelho AquaLab Modelo 4TE (Decagon Devices, USA), operando à temperatura de 25±0,3°C.

2.3 Metodologias dos ensaios microbiológicos

Os procedimentos microbiológicos foram realizados conforme Downes & Ito (2001). A retirada da unidade analítica das amostras foi realizada por meio da técnica de pesagem (25g). Foram realizadas contagens de bactérias anaeróbias mesófilas totais, enterobactérias, bactérias lácticas e esporos e células vegetativas de clostrídios sulfito redutores a 35°C. Os resultados foram expressos em log UFC/g (unidades formadoras de colônia por grama de amostra).



3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A composição centesimal e a concentração salina dos diferentes tratamentos são apresentadas na **Tabela 2**.

Tabela 2. Composição centesimal dos tratamentos.

Tratamentos	Teor de nitrito	Aw	Composição (%)				Concentração salina (%)	
			Umidade	Proteína	Colágeno	Gordura		Cinzas
150 ppm	0,95		57,8 ± 0,1	14,0 ± 0,0	2,4 ± 0,0	15,8 ± 0,0	5,9 ± 0,0	6,0
	0,955		57,9 ± 0,2	13,9 ± 0,1	2,3 ± 0,0	15,7 ± 0,3	5,4 ± 0,0	5,3
	0,96		58,5 ± 0,2	14,3 ± 0,1	2,3 ± 0,0	15,6 ± 0,0	5,0 ± 0,0	4,7
300 ppm	0,95		57,1 ± 0,1	13,7 ± 0,2	2,4 ± 0,0	15,8 ± 0,1	5,9 ± 0,0	5,9
	0,955		57,2 ± 0,2	13,8 ± 0,3	2,3 ± 0,1	15,5 ± 0,6	5,4 ± 0,0	5,3
	0,96		57,1 ± 0,3	14,1 ± 0,0	2,5 ± 0,0	16,4 ± 0,1	5,0 ± 0,1	4,5

Média ± desvio-padrão

Observam-se pequenas variações no teor de umidade, indicando que, independentemente da aw, a umidade não apresenta alterações. Já com relação ao teor de cinzas, nota-se uma grande variação, uma vez que as diferentes quantidades de sal adicionadas estão diretamente relacionadas aos teores de cinzas. Isto é, quanto menor a aw, maior o teor de sal adicionado e, portanto, maior o teor de cinzas encontrado no produto final. A atividade de água está diretamente relacionada com a concentração salina, quanto maior a concentração salina, menor a atividade de água. Uma vez que não foram observadas grandes variações na umidade, conclui-se que esta não apresenta relação com a atividade de água.

As **Tabelas 3 e 4** apresentam, respectivamente, os resultados de pH e de nitrito e nitrato em diferentes intervalos de tempo.

Tabela 3. Valores médios de pH na massa crua e ao longo da estocagem das mortadelas.

Tratamentos	Massa Crua	Produto Recém processado	Após incubação 10 dias (35 ° C)	Após 38 dias do processo	Após 60 dias do processo	Após 90 dias do processo	Valor de P	
150 ppm	0,95	6,6±0,0	6,8±0,0 ^{Aa}	6,7±0,0 ^{Bb}	6,7±0,0 ^{ABa}	6,7±0,0 ^{ABa}	6,7±0,0 ^{Ba}	0,023
	0,955	6,8±0,0	6,8±0,0 ^{Aa}	6,7±0,0 ^{Bb}	6,7±0,0 ^{Ba}	6,7±0,0 ^{Ba}	6,7±0,0 ^{Ba}	0,010
	0,96	6,8±0,0	6,8±0,0 ^{Aa}	6,7±0,0 ^{Ab}	6,6±0,2 ^{Aa}	6,7±0,0 ^{Aa}	6,7±0,0 ^{Aa}	0,484
300 ppm	0,95	6,6±0,0	6,8±0,0 ^{Ba}	6,9±0,0 ^{Aa}	6,8±0,0 ^{Ba}	6,8±0,0 ^{Ba}	6,7±0,0 ^{Ca}	0,0012
	0,955	6,7±0,0	6,8±0,0 ^{BCa}	6,9±0,0 ^{Aa}	6,8±0,0 ^{Ba}	6,7±0,0 ^{CDa}	6,7±0,0 ^{Da}	0,0004
	0,96	6,7±0,0	6,8±0,0 ^{Ba}	6,9±0,0 ^{Aa}	6,8±0,0 ^{Ba}	6,7±0,0 ^{Ca}	6,7±0,0 ^{Da}	0,0001
Valor de P	-	0,1419	0,0002	0,2926	0,966	0,2720		

Valores apresentados como média ± desvio padrão, n = 3

Letras minúsculas diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa entre os tratamentos (P < 0,05)
 Letras maiúsculas diferentes na mesma linha indicam diferença significativa entre os pontos de vida útil (P < 0,05)

A “Massa Crua” não foi incluída na análise estatística



10º Congresso Interinstitucional de Iniciação Científica – CIIC 2016
02 a 04 de agosto de 2016 – Campinas, São Paulo
ISBN 978-85-7029-135-6

Não foram detectadas alterações significativas nos valores de pH entre a massa crua e após a cocção, bem como ao longo da incubação e estocagem. Como não houve alteração no valor de pH durante a incubação sugere-se que os produtos mantiveram-se estáveis.

Com relação ao nitrito, nota-se que houve uma redução em torno de 50% do teor de nitrito durante o processamento térmico nos tratamentos com 150 ppm adicionado, enquanto nos tratamentos com 300 ppm, observou-se uma redução menor, em torno de 33%, mostrando que a depleção do nitrito é menor proporcionalmente no tratamento de 300 ppm do que no tratamento de 150 ppm. Pode-se observar também que a atividade de água não apresenta grande impacto nessa variação (depleção) do nitrito. Provavelmente isto está relacionado ao teor de eritorbato de sódio (agente redutor e acelerador de cura) que foi o mesmo tanto para os tratamentos com 150 ppm quanto para o de 300 ppm.

Gry e seus colaboradores (1983) verificaram que, para a grande maioria dos produtos cárneos curados analisados, ocorre uma redução de cerca de 50% da concentração de nitrito nos primeiros dias após o seu processamento. A concentração de nitrito pode apresentar redução para valores inferiores a 10% após algumas semanas de armazenamento (EFSA, 2003). Resultados semelhantes foram encontrados no presente trabalho para o tratamento de 150 ppm, enquanto nos tratamentos de 300 ppm a depleção não foi tão acentuada, provavelmente isso está relacionado ao teor de eritorbato presente.

Quando o nitrito é adicionado a uma matriz cárnea, ele reage a inúmeros componentes químicos e em especial a mioglobina (Cassens,1997). Grande parte do nitrito adicionado é consumido por uma série de reações durante o processamento do produto. Geralmente, há uma diminuição de 10 a 20% da quantidade de nitrito adicionada inicialmente após o processamento e os níveis de nitrito tendem a continuar caindo durante o armazenamento. (Pérez-Rodríguez et al., 1996; Cassens,1997). Os resultados obtidos no presente estudo estão de acordo com a literatura, mas vale destacar que as amostras foram submetidas à incubação, o que pode ter acelerado a depleção do nitrito, o que ficou bastante evidente nos tratamentos adicionados de 150 ppm de nitrito, enquanto nos tratamentos com 300 ppm, os teores de nitrito ainda estavam mais elevados. Importante notar que a quantidade de nitrito no produto após 38 dias do processo é inferior à de nitrato, evidenciando a conversão do nitrito a nitrato, especialmente nos tratamentos com 300 ppm. O nitrato apresenta um comportamento de forma geral dependente da A_w e, sobretudo, do teor de nitrito adicionado inicialmente ao produto. Observa-se uma relação entre a A_w e a formação/conversão de nitrato, especialmente quando os teores de nitrito adicionado são menores (150 ppm). Neste caso, quanto maior a A_w , menor o teor de nitrato formado.



10º Congresso Interinstitucional de Iniciação Científica – CIIC 2016
02 a 04 de agosto de 2016 – Campinas, São Paulo
ISBN 978-85-7029-135-6

Tabela 4. Teores médios de nitrito e nitrato de sódio (mg/kg) ao longo do processamento e durante o período de incubação e estocagem das mortadelas.

Tratamento	Análise	Massa Crua	Produto Recém processado	Após incubação 10 dias (35 ° C)	Após 38 dias do processo	Após 60 dias do processo	Após 90 dias do processo	Valor de P
150 ppm	0,95	111,5 ± 0,1	59,0 ± 1,4 ^{Ac}	5,4 ± 0,5 ^{Bb}	5,6 ± 0,4 ^{Bc}	6,7 ± 0,4 ^{Bbc}	4,8 ± 0,3 ^{Bbc}	<0,0001
	0,955	122,6 ± 0,0	58,8 ± 0,2 ^{Ac}	3,6 ± 0,4 ^{Bb}	5,1 ± 0,5 ^{Bc}	5,3 ± 0,5 ^{Bc}	5,0 ± 1,2 ^{Bbc}	<0,0001
	0,96	111,6 ± 0,7	62,5 ± 0,3 ^{Ac}	3,8 ± 2,8 ^{Cb}	5,0 ± 0,1 ^{Bc}	5,6 ± 0,0 ^{Bc}	3,5 ± 0,0 ^{Cc}	<0,0001
300 ppm	0,95	230,8 ± 2,3	153,0 ± 0,9 ^{Ab}	20,6 ± 1,7 ^{Ba}	7,7 ± 0,5 ^{Ca}	8,7 ± 0,9 ^{Ca}	6,4 ± 0,1 ^{Cab}	<0,0001
	0,955	245,2 ± 3,0	161,6 ± 2,0 ^{Aa}	21,7 ± 1,1 ^{Ba}	8,3 ± 0,6 ^{Ca}	8,4 ± 0,1 ^{Cab}	6,7 ± 0,2 ^{Cab}	<0,0001
	0,96	243,3 ± 1,9	164,6 ± 0,4 ^{Aa}	17,8 ± 3,4 ^{Ba}	7,5 ± 0,7 ^{Cab}	8,0 ± 0,0 ^{Cab}	7,2 ± 0,5 ^{Ca}	<0,0001
		-	<0,0001	<0,0001	0,0016	0,0010	0,0034	
150 ppm	0,95	23,9 ± 0,5	25,2 ± 1,1 ^{Aa}	29,3 ± 3,2 ^{Ab}	5,6 ± 0,2 ^{Bb}	5,5 ± 0,4 ^{Ba}	4,6 ± 0,0 ^{Ba}	<0,0001
	0,955	28,4 ± 0,3	26,1 ± 2,0 ^{Aa}	15,6 ± 0,7 ^{Bc}	5,5 ± 0,8 ^{Cb}	1,9 ± 0,3 ^{Ca}	5,0 ± 1,5 ^{Ca}	<0,0001
	0,96	14,2 ± 1,8	28,3 ± 0,2 ^{Aa}	10,9 ± 2,8 ^{Bd}	5,4 ± 0,2 ^{Cb}	3,4 ± 0,3 ^{Ca}	3,6 ± 0,3 ^{Ca}	<0,0001
300 ppm	0,95	38,1 ± 0,67	27,2 ± 6,6 ^{Ba}	46,6 ± 0,5 ^{Aa}	10,0 ± 2,7 ^{Cab}	5,3 ± 0,7 ^{Ca}	5,8 ± 0,7 ^{Ca}	0,0002
	0,955	30,7 ± 0,7	24,1 ± 9,0 ^{ABa}	41,6 ± 3,8 ^{Aa}	15,0 ± 1,8 ^{BCa}	5,3 ± 1,6 ^{Ca}	6,5 ± 0,0 ^{BCa}	0,0023
	0,96	32,8 ± 1,9	21,5 ± 11,5 ^{ABa}	40,5 ± 1,6 ^{Aa}	10,2 ± 2,6 ^{Bab}	6,6 ± 2,8 ^{Ba}	5,9 ± 1,6 ^{Ba}	0,0064
		-	0,9172	<0,0001	0,0078	0,1020	0,1606	

Valores apresentados como média ± desvio padrão, n = 3

Letras minúsculas diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa entre os tratamentos (P < 0,05)

Letras maiúsculas diferentes na mesma linha indicam diferença significativa entre os pontos de vida útil (P < 0,05)

A “Massa Crua” não foi incluída na análise estatística



10º Congresso Interinstitucional de Iniciação Científica – CIIC 2016
02 a 04 de agosto de 2016 – Campinas, São Paulo
ISBN 978-85-7029-135-6

As contagens totais de enterobactérias apresentaram valores entre 2,4 e 2,8 Log UFC/g na massa crua, níveis geralmente encontrados em produtos da categoria antes da cocção. O tratamento térmico se mostrou eficaz uma vez que não foram detectadas bactérias após a pasteurização em nenhum dos tratamentos.

Os micro-organismos anaeróbios mesófilos caracterizam-se por apresentar crescimento em ambientes sem a presença de oxigênio e a temperaturas na faixa de 30-45 °C. Entre os mesófilos destacam-se as bactérias patogênicas e deterioradoras, alguns bolores e leveduras. Na massa crua observaram-se valores entre 4,0 e 4,5 log UFC/g de anaeróbios mesófilos e notou-se que houve o desenvolvimento após o período de incubação (10 dias a 35°C) nas mortadelas do tratamento de 150 ppm de nitrito, e nos tratamentos com 300 ppm a contagem manteve-se abaixo do limite de detecção (<1 log UFC/g), mostrando que pode haver uma influência do teor de nitrito no desenvolvimento desses micro-organismos.

Em relação às bactérias lácticas, o tratamento térmico foi eficaz para a sua destruição, uma vez que na massa crua observaram-se valores entre 4,2 a 4,5 log UFC/g do micro-organismo e após o tratamento térmico (cocção), a contagem de todos os tratamentos foi abaixo do limite de detecção (<1 log UFC/g). Por outro lado, após a incubação das amostras, os tratamentos adicionados de 150 ppm de nitrito evidenciaram crescimento atingindo entre 0,8 e 2 log UFC/g. Há controvérsias na literatura quanto ao efeito inibitório do nitrito sobre as bactérias lácticas, mas não foi detectado no presente estudo crescimento nos tratamentos adicionados de 300 ppm de nitrito.

Sugere-se que os efeitos do nitrito em diferentes espécies de bactérias são devido a diferentes mecanismos inibitórios. Há questionamentos se o nitrito adicionado ou o residual é o mais importante para a função antimicrobiana, ou, ainda, se ambos devem ser considerados. O impacto antimicrobiano dos ingredientes é um aspecto que exige minuciosa atenção quando se considera mudanças nas formulações e nos ingredientes de produtos (Sebranek, 2015).

As massas cruas apresentaram contagens totais de clostrídios sulfito redutores entre 1,8 e 2,2 log UFC/g. Após o tratamento térmico não foram detectados esses micro-organismos e tampouco após a incubação em nenhum dos tratamentos, indicando que eram células vegetativas que foram destruídas pelo calor e provavelmente não havia esporos.

Uma importante função do nitrito é o papel que desempenha como agente bacteriostático e bactericida. Embora não muito bem entendido, o nitrito apresenta vários graus de efetividade na preservação e controle do crescimento de certas bactérias. Geralmente é considerado mais efetivo contra bactérias gram positivas, mas algumas gram negativas também são sensíveis e, especialmente tem se mostrado efetivo no controle de crescimento de diferentes bactérias patogênicas (Tompkin, 2005).



10º Congresso Interinstitucional de Iniciação Científica – CIIC 2016
02 a 04 de agosto de 2016 – Campinas, São Paulo
ISBN 978-85-7029-135-6

Nota-se que não foi detectada a presença de esporos durante nenhuma das etapas do estudo, independentemente do teor de nitrito adicionado. Deve ser ressaltado que 150 ppm de nitrito são suficientes para inibir a germinação e o crescimento de esporos de Clostrídios. Enquanto o limite de adição de nitrito na maioria dos países é de 150 ppm nas massas cruas, o Brasil estabelece esse valor para o produto pronto para consumo, podendo favorecer a produção de nitrosaminas.

4 CONCLUSÃO

Não houve interação entre atividade de água e teor de nitrito adicionado, principalmente sobre os residuais de nitrito, assim como sobre o crescimento de anaeróbios mesófilos e bactérias lácticas nas condições do presente estudo, sendo o teor de nitrito adicionado o principal fator de impacto. Em relação aos residuais de nitrato após incubação, a atividade de água parece ter impactado o residual, pois manteve-se constante no tratamento de a_w 0,95 enquanto apresentou redução nos demais e, naqueles com 300 ppm, houve aumento. Nas atividades de água estudadas, o menor teor de nitrito adicionado (150 ppm) foi suficiente para inibir a germinação e impedir crescimento de micro-organismos sulfito redutores durante o período. A adição de 300 ppm de nitrito preveniu o crescimento de anaeróbios mesófilos e bactérias lácticas após incubação. A continuidade de estudos incluindo variação no teor de aceleradores de cura e testes de desafio com micro-organismos do gênero *Clostridium* permitirá aprofundar o conhecimento para incrementar a segurança microbiológica nessa categoria de produtos cárneos.

5 AGRADECIMENTOS

Ao CNPq pela bolsa concedida e à ABPA (Associação Brasileira de Proteína Animal) pelo apoio e financiamento do estudo. Ao CTC (Centro de Tecnologia de Carnes) pela oportunidade de desenvolvimento do projeto de Iniciação Científica.

6 REFERÊNCIAS

AOAC. **Official methods of analysis of AOAC International**. Association of Official Analytical Chemists. 18 ed., Gaithersbur: AOAC International, 2005, 1018p.

BRASIL. Métodos físico-químicos para análise de alimentos. **Adolfo Lutz**. 2005. BRASIL. Ministério da Agricultura e do Abastecimento. Instrução Normativa nº 04 de 31 de março de 2000. Regulamentos técnicos de identidade e qualidade de carne mecanicamente separada, de mortadela, de lingüiça, de salsicha. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, DF, 05 abr 2000, Seção 1, p. 6-10.



10º Congresso Interinstitucional de Iniciação Científica – CIIC 2016
02 a 04 de agosto de 2016 – Campinas, São Paulo
ISBN 978-85-7029-135-6

- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Ofício-circular nº 005/2015/CGI/DIPOA/SDA**. Informações sobre registro do produto mortadela conservada em temperatura ambiente. Brasília, 27 de julho de 2015.
- CASSENS, R.G. Residual nitrite in cured meat. **Food Technology**, Chicago, v.51, n.2, p.53-55, July 1997.
- DATAMARK – Brasil Focus - **Datamark**, São Paulo, 2010.
- DEGENHARDT, J. Comunicação pessoal. 2015.
- DOWNES, F.P.; ITO, K. **Compendium of methods for the microbiological examination of foods**. 4º ed. Washington: American Public Health Association, 2001. 676p.
- EFSA Journal, Opinion of the Scientific Panel on Biological Hazards on a request from the Commission related to the effects of nitrites/nitrates on the microbiological safety of meat products, **EFSA Journal**, vol. 14, p 1-34. 2003.
- GRY, J., RASMUSSEN, N. J., JENSEN, W. K., BRANDT, I. G., FABECH, B. **Investigations on effects of nitrite in commercially prepared Danish cured meat products**. A report of the Federation of Danish Pig Producers and Slaughterhouses and the National Food Agency of Denmark, 1983.
- KRISPIEN, K., RODEL, W., LEISTNER, L. Vorschlag zur Berechnung der Wasseraktivitat (aw-Wert) von Fleischerzeugnissen aus den Gehalten von Wasser und Kochsalz. **Fleischwirtschaft**, v.59, n.8, p. 1173-1177, 1979.
- PÉREZ RODRÍGUEZ, M.L.; BOSCH-BOSCH, N.; GARCÍA-MATA, M. Monitoring nitrite and nitrate residues in frankfurters during processing and storage. **Meat Science**, Oxford, v.44, n.1/2, p.65-73, Sept./Oct. 1996.
- PETTINATI, J. D. 1975. Microwave oven method for rapid determination of moisture in meat. **J. Assn. Off. Anal. Chem.** 58:1188-1193.
- SEBRANEK, J.G. An overview of Dunctional Non-Meat Ingredients in Meat Processing: The Current Toolbox. **68º Annual Reciprocal Meat Conference**. 2015. Disponível em: <http://www.meatscience.org/docs/default-source/publications-resources/rmc/2015/09_sebranek_f.pdf?sfvrsn=2>. Acessado em: 15/02/2016.
- TOMPKIN, R.B. Nitrite. In P.M.Davidson, J.N. Sofos, &A.L.Branen (Eds.), **Antimicrobials in Food** (3rd ed., p. 169-236). Boca Raton, FL: Taylor and Francis. 2005.