

INFLUÊNCIA DA TEMPERATURA DE CURA NA AÇÃO DOS CONSERVANTES EM LINGUIÇAS FRESCAIS

SILVA, Rafaela¹
PEREIRA JUNIOR, Oduvaldo Câmara Marques²
MUNHOZ, Patrícia Marques³
BOSCARATO, André Giarola⁴

RESUMO

Considerada um alimento obtido de diversas etapas de manipulação e pouca tecnologia de transformação, a linguiça frescal tem potencial chance de envolvimento nos surtos de DTA. Neste sentido, a preservação faz-se necessária com o intuito de prolongar a vida útil do embutido por meio da adição de conservantes. Dentre estes, os mais utilizados constituem os sais de nitrito e nitrato. Entretanto, seu uso indiscriminado pode resultar em compostos nitrosos – subprodutos de caráter carcinogênico. Desta forma, o presente trabalho buscou avaliar o efeito do aumento da temperatura de descanso de massas de linguiças frescas de carne suína e o teor de nitrito/nitrato e perfil microbiológico, sendo as amostras coletadas de 04 lotes distintos em uma Fábrica de Embutidos localizada no município de Umuarama-Pr. Foram enviadas 04 repetições de 500 g de cada lote, totalizando 16 amostras, ao laboratório de análises de alimentos acreditado junto ao MAPA. Exclusivamente para realização do experimento, a massa de preparo foi previamente submetida a duas diferentes temperaturas de descanso/cura: refrigerada (0°C) e ambiente (25°C). Os resultados microbiológicos e físico-químicos obtidos demonstraram influência negativa do descanso de massa em temperatura ambiente quando comparado ao processo de cura em refrigeração, representados especialmente pela análise estatística de *Staphylococcus* coagulase positiva e nitrito, ambos $p < 0,05$.

PALAVRAS-CHAVE: Nitrito. Nitrato, *Salmonella* spp. *Staphylococcus*. *E. coli*.

INFLUENCE OF CURE TEMPERATURE IN THE ACTION OF CONSERVATIVES IN FRESH SAUSAGE

ABSTRACT

Considered a food obtained from several stages of manipulation and little transformation technology, the fresh sausage has a potential chance of involvement in the outbreaks of ATD. In this sense, preservation is necessary in order to extend the life of the sausage through the addition of preservatives. Among these, the most used are the nitrite and nitrate salts. However, its indiscriminate use can result in nitrous compounds - by-products of a carcinogenic character. In this way, the present work sought to evaluate the effect of increasing the resting temperature of fresh pork sausages pasta and the nitrite / nitrate content and microbiological profile, with samples collected from 04 different batches in a Embutido Factory located in the municipality of Umuarama-Pr. 04 repetitions of 500 g of each batch, totaling 16 samples, were sent to the food analysis laboratory accredited by MAPA. Exclusively to perform the experiment, the preparation mass was previously subjected to two different resting / curing temperatures: refrigerated (0°C) and room (25°C). The microbiological and physical-chemical results obtained demonstrated a negative influence of the mass rest at room temperature when compared to the refrigeration curing process, represented especially by the statistical analysis of positive coagulase and nitrite *Staphylococcus*, both $p < 0.05$.

KEYWORDS: Nitrite. Nitrate. *Salmonella* spp. *Staphylococcus*. *E. coli*.

¹ Mestranda no Programa de Pós Graduação em Produção Sustentável e Saúde Animal – Universidade Estadual de Maringá - Campus Fazenda - Umuarama-Pr – Brasil. E-mail: rafaellavet.consultoria@gmail.com

² Doutor e Docente no Programa de Pós Graduação em Produção Sustentável e Saúde Animal – Universidade Estadual de Maringá – Campus Fazenda – Umuarama – Pr – Brasil. E-mail: ocmpjunior@uem.br

³ Doutora e Docente no Curso de Medicina Veterinária – Universidade Estadual de Maringá – Campus Fazenda – Umuarama – Pr – Brasil. E-mail: pmmunhoz2@uem.br

⁴ Doutor e Docente do Curso de Medicina Veterinária – Universidade Paranaense – Umuarama – Pr – Brasil. E-mail: andreboscarato@prof.unipar.br

1. INTRODUÇÃO

Dentre os derivados cárneos, a linguça frescal configura parte da grande variedade de produtos processados, representando uma alternativa ao reaproveitamento de partes menos nobres. A seu favor tem-se ainda o relativo baixo custo de produção e a expressiva aceitação pelo mercado consumidor. Sua elaboração envolve diversas etapas de manipulação e sua formulação não é submetida a nenhum processamento tecnológico que promova a redução de microrganismos deteriorantes ou patogênicos mais encontrados nestes alimentos: *Salmonella* spp, *Staphylococcus* coagulase positiva e *Escherichia coli*. Em consequência, há possibilidades de surtos de DTA's resultante da contaminação em situações inadequadas de higiene do ambiente e manipuladores. Neste contexto, os processos e tecnologias de transformação contribuem para a preservação das características dos alimentos, sendo os conservantes tradicionalmente de destaque no processo de elaboração de linguça frescal.

Os sais de cura comumente utilizados no processo de fabricação de embutidos crus contemplam o nitrito e nitrato de sódio. Popularmente conhecido como “cura”, o recurso permite um controle da deterioração por microrganismos patogênicos. Por outro lado, o uso desses aditivos é legalmente restrito há décadas devido aos efeitos adversos cumulativos, principalmente relativos ao nitrito – subproduto da redução do nitrato, reação que ocorre tanto no organismo quanto nos alimentos. Seu efeito tóxico é causado pela formação endógena de compostos nitrosos como a N-nitrosodimetilamina e monometilnitrosamina (nitrosaminas e nitrosamidas) ambas de caráter carcinogênico, mutagênico e teratogênico. No Brasil, o Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) é responsável por determinar o limite do teor residual de nitrito no produto cárneo final a ser consumido, regido por meio da RDC nº 272/2019.

Esta estabelece os aditivos alimentares autorizados para uso em carnes e produtos cárneos. Também regulamenta e permite a adição de sais de nitrito e nitrato de sódio até os valores máximos de 150 mg/Kg e 300 mg/Kg de produto, respectivamente. Desta forma, considerando-se a importância industrial e os efeitos toxicológicos deste aditivo, torna-se de relevância pública e sanitária o monitoramento dos níveis de nitrito e nitrato por meio das determinações quantitativas desses compostos, visando a não exposição do consumidor a riscos à saúde, pois além de ser um problema direto àquele que consome, traz também problemas indiretos à sociedade: ausência no trabalho, maiores gastos do sistema público de saúde junto ao tratamento destas pessoas e redução da arrecadação fiscal – produtos não inspecionados geralmente são comercializados de forma clandestina, portanto, não recolhem impostos.

Neste sentido, o objetivo deste estudo será avaliar a correlação entre temperatura e o teor de nitrito e nitrato, bem como o perfil microbiológico em amostras de linguiças frescas de carne suína com duas temperaturas de cura distintas: ambiente (25°C) *versus* resfriada a 0°.

2. METODOLOGIA

2.1 ELABORAÇÃO DAS LINGUIÇAS

O experimento foi conduzido a partir de amostras de linguiças frescas de carne suína coletadas de 04 lotes distintos em uma Fábrica de Embutidos inscrita no Serviço de Inspeção Estadual do Paraná (SIP), localizada no município de Umuarama-Pr. Foram coletadas 04 repetições de 500 g de cada lote, totalizando 16 amostras (Figura 1).

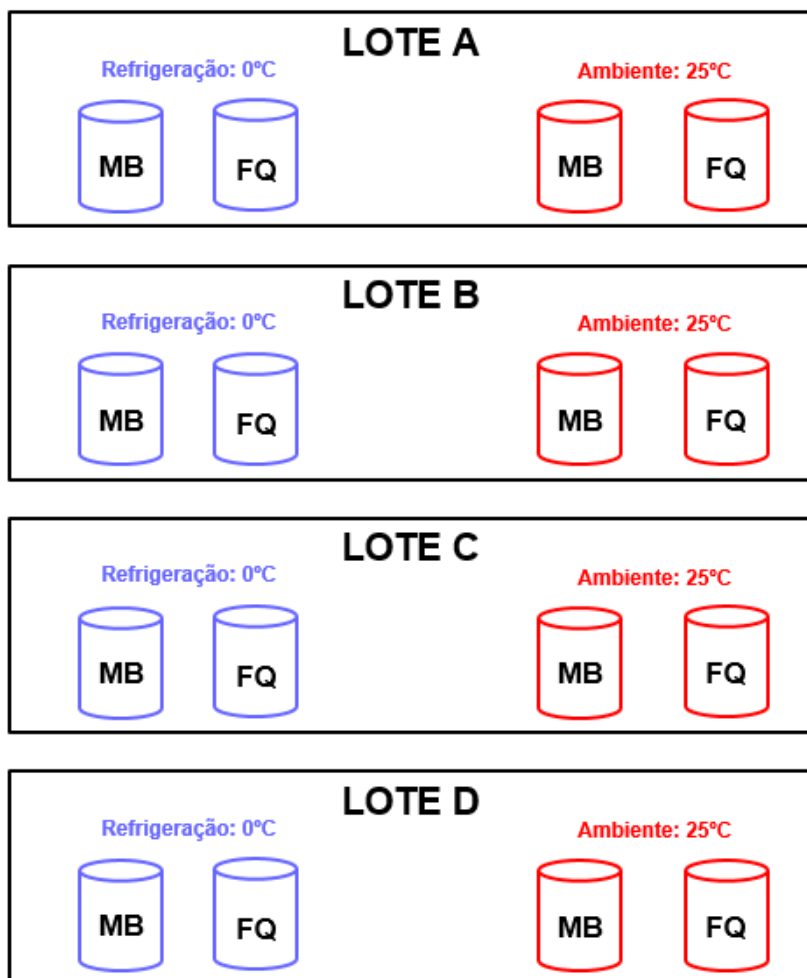
O processo de elaboração das linguiças frescas foi realizado de acordo com as normas de Boas Práticas e Fabricação (BPF) determinadas para estabelecimentos de manipulação de alimentos. Desta forma, as formulações e modo de preparo seguiram os padrões de qualidade registrados junto ao órgão fiscalizador, obedecendo a seguinte sequência de operações: moagem das carnes e gorduras; condimentação; cura (descanso de massa); embutimento e embalagem.

O processo de condimentação consistiu na adição de ingredientes junto à massa, seguida do emprego dos sais de cura compostos por: sal refinado (88%), nitrito (10%) e nitrato de sódio (2%).

Exclusivamente para realização do experimento, a massa de preparo foi separada em duas partes iguais: uma parte submetida ao processo de cura em refrigeração (0°C) e o restante, a ação dos sais de cura ocorreu em temperatura ambiente (25°C), ambos pelo tempo de 12 horas.

As linguiças foram enviadas sob refrigeração para transporte até o laboratório de análises de alimentos credenciado junto ao MAPA.

Figura 1 – Ilustração das quatro repetições coletadas de cada lote em que metade foram descansadas em temperatura de refrigeração (0°C) e o restante, em temperatura ambiente (25°C).



* MB: Microbiológico / FQ: Físico-químico

Fonte: Desenvolvido pelos autores.

2.2 METODOLOGIA DOS ENSAIOS MICROBIOLÓGICOS E FÍSICO-QUÍMICOS

As análises de quantificação dos teores de nitrato e nitrito foram realizadas de acordo com a metodologia NMKL 194:2013 – “Nitrate and Nitrite - Determination of nitrate and nitrite in food stuffs and water spectrophotometric after zinc reduction and griess reaction”. Trata-se do método de maior reconhecimento e relevância para o doseamento de nitrato e nitrito mediante espectrofotometria, baseado na reação de Johann Peter Griess (1829-1888).

Os ensaios microbiológicos foram realizados com diferentes metodologias de acordo com cada microrganismo, sendo:

- Contagem de *Escherichia coli*: técnica de inoculação em superfície pelo método AOAC 998.08;
- Pesquisa de *Salmonella* spp.: técnica de ensaio para detecção molecular pelo método AFNOR Validation 3M 01/16 - 11/16 3M;

- Contagem de *Staphylococcus* coagulase positiva: técnica de inoculação em superfície pelo método ISSO 6888-1

2.3 ANÁLISE ESTATÍSTICA

A análise estatística foi realizada empregando-se o programa computacional SAS - versão SAS *University Edition* (SAS INSTITUTE INC. 2020).

Realizando-se primeiramente uma análise exploratória dos dados, foi verificada que a pressuposição de normalidade não foi atendida para o parâmetro *Coliformes termotolerantes* (Coliformes). Deste modo, foi necessário transformar os dados originais pelo logarítmico na base 10 (\log_{10}) através da potência ótima de Box;Cox (1964), assim: $\text{Coliformes}_T = \log_{10} \text{Coliformes}$. A fim de analisar os parâmetros mensurados (*E. coli*, *Staphylococcus*, nitrito e nitrato) nas amostras, foi realizada análise de variância (Anova) que incluiu o efeito de temperatura (refrigerada: 0°C e ambiente: 25°C) através da Proc Anova do SAS. Em seguida, as médias foram comparadas pelo teste de Tukey, sendo que o modelo ficou definido como:

$$Y_{ij} = \mu + \text{Temp}_i + e_{ij}, \quad (1)$$

onde:

Y_{ij} = i-ésima Observação na j-ésima Temperatura;

μ = estimativa de média geral;

Temp_j = efeito da j-ésima Temperatura (refrigerada: 0°C e ambiente: 25°C);

e_{ij} = erro aleatório inerente a cada observação $\sim \text{NID}(0, \sigma^2_e)$.

Em virtude dos resultados obtidos para *Salmonella spp* serem idênticos para todas as amostras, não foi necessário realizar inferência estatística para a mesma.

Os testes foram realizados com $P < 0,05$, ou seja, com nível de significância de 5%.

Tabela 1 – Tabela de Resultados e Análise de Variância

Variável	Modelo	Nível Signif.	N	Resultado - Temperatura (Pr > F)
<i>E.coli</i>	= Temperatura	5%	16	0,5640 Não Signif.
<i>Staphylococcus</i>	= Temperatura	5%	16	0,0029 Significativo
Nitrito	= Temperatura	5%	16	0,0304 Significativo
Nitrato	= Temperatura	5%	16	0,2605 Não Signif.

* Os resultados destacados em verde são significativos a 5%, ou seja, as médias são diferentes para o efeito de temperatura (0° e ambiente). Os valores destacados em laranja não são significativos a 5%, ou seja, as médias não são diferentes para o efeito de temperatura (0° e ambiente).

Fonte: Arquivo Pessoal, 2021.

3. REVISÃO DE LITERATURA

Dentre os alimentos da dieta humana, a carne destaca-se por seu elevado perfil nutritivo, representando a principal fonte de proteína de alto valor biológico (SOARES *et al.*, 2017). Indicativos históricos mostram que o consumo de carne não é recente. Dados científicos demonstram que a evolução do homem moderno propiciou um aumento no consumo de produtos de origem animal equivalente a 80% da energia de sua dieta quando comparada a de cerca de 50.000 anos atrás (GODFRAY *et al.*, 2018).

Entretanto, a constituição intrínseca da carne favorece o processo de degradação microbiológica devido à presença considerável de água (42%), proteína (12%) e gordura (45%) (ORDONEZ, 2005; LISTRAT *et al.*, 2016). Seu pH tende a manter próximo a neutralidade e, imediatamente após a morte do animal, a quantidade normal de glicogênio presente no músculo (1%) é convertida em ácido lático promovendo a redução do pH de aproximadamente 7,4 para 5,6 (CHARMPI *et al.*, 2020). Portanto, o pH influencia não somente na microbiota que pode se desenvolver, mas também no estado de conservação do produto (KIM *et al.*, 2016). Soma-se a isto o fato de que a condição de armazenamento do alimento tem influência direta em seu tempo de vida útil (XIONG, 2017). Daí a importância deste subproduto ser acondicionado em ambientes higiênicos e sob refrigeração adequada (LI *et al.*, 2017), sendo fundamental o monitoramento da temperatura do mesmo ao longo de todo processo (GEORGES *et al.*, 2019). Neste cenário, os microrganismos (patogênicos ou

deteriorantes) tais como *Salmonella* spp, *Staphylococcus* coagulase positiva e *Escherichia coli* dispõem de meios propícios para o desenvolvimento e podem estar presentes no produto final (ARKON *et al.*, 2017) tornando-o um risco potencial na causa de doenças transmitidas por alimentos (DTA) (DE MORAIS *et al.*, 2018).

Diante disto, a população tem buscado, desde a antiguidade, preservar as características dos alimentos através de processos e tecnologias de transformação. A crescente demanda pelos consumidores resultou na elaboração de produtos diversificados advindos de produtos a base de carnes e vísceras bovinas, suínas e de aves (RESENDE FILHO; DE SOUZA; LIMA, 2016). Neste contexto, a linguiça frescal configura parte da grande variedade de derivados cárneos, dentre os produtos processados, representando uma alternativa ao reaproveitamento de partes menos nobres. A seu favor tem-se ainda o relativo baixo custo de produção e a expressiva aceitação pelo mercado consumidor (BEZERRA *et al.*, 2012).

Por se tratar de um alimento com grandes variações na fabricação e matéria prima, as legislações regulamentam os requisitos básicos e características para os diferentes tipos de produtos processados. Sendo assim, o Regulamento de Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal (RIISPOA) define linguiça como “o produto cárneo obtido de carnes cominuídas das diferentes espécies animais, condimentado, com adição ou não de ingredientes, embutido em envoltório natural ou artificial e submetido a processo tecnológico específico” (BRASIL, 2017). A linguiça frescal, de acordo com Instrução Normativa nº 4 de 31 de março de 2000, se caracteriza por ser um produto cru e curado, de carne, gordura e outros ingredientes. As características físico-químicas da linguiça frescal regida pela mesma legislação estabelece: 70% de umidade máxima, 30% de gordura, 0,1% de cálcio (base seca) e no mínimo, 12% de proteína sendo proibida a adição de carne mecanicamente separada (CMS) (MAPA, 2000). A normativa tem por objetivo criar condições de igualdade e transparência na produção de linguiças, fixando suas características em relação aos padrões oficiais exigidos (MAPA, 2000).

Além disso, embora haja diversas etapas de manipulação durante a produção de linguiças frescas, importa salientar que sua formulação não é submetida a nenhum processamento tecnológico que promova a redução de microrganismos deteriorantes ou patogênicos (MONTEIRO *et al.*, 2017). Em consequência, há possibilidades de surtos de DTAs resultante da contaminação em situações inadequadas de higiene do ambiente e manipuladores (RESENDE FILHO; DE SOUZA; LIMA, 2016). Dentre os principais microrganismos implicados em tais surtos, os estafilococos coagulase positiva (ECP) são bactérias que produzem coagulase livre. O patógeno é elemento importante na cadeia epidemiológica da intoxicação alimentar estafilocócica, e é transmitido aos alimentos especialmente pelo homem e por condições inadequadas de higiene, além da ocorrência de

contaminação cruzada entre equipamentos, utensílios e matéria prima (SILVA; FEITOSA; RODRIGUES, 2017). Tratam-se de bactérias potencialmente produtoras de enterotoxinas, conferindo características de risco atreladas a contaminação (DE ANDRADE JÚNIOR *et al.*, 2019).

Entre os problemas mais alarmantes de saúde pública em todo mundo, as doenças causadas por *Salmonella* spp., e transmitidas por alimentos, também apresentam risco em potencial para o consumidor (ED-DRA, *et al.*, 2017). Este microrganismo possui atualmente mais de 2600 sorotipos, e dentre as de maior importância para a saúde humana estão a *Salmonella enterica subsp. enterica* sorovar *Typhi*, causadora de infecções sistêmicas e febre tifoide, e a *Salmonella enterica subsp. enterica* sorovar *Typhimurium*, agente causador de gastroenterites (CHRISTIEANS, *et al.*, 2018). A IN nº 60/ 2019 e RDC nº 331/ 2019 preconizam como requisito microbiológico único para carnes de aves, bovina, suína e outras, sendo cruas ou não, a ausência de *Salmonella* em 25 g, independente do sorotipo (BRASIL, 2019b; BRASIL, 2019c).

Outro microrganismo de relevância e responsável pela recolha de produtos alimentícios é a *Escherichia coli*. Trata-se de uma bactéria bacilar Gram negativa, encontrada no trato gastrointestinal inferior dos organismos de sangue quente (endotérmicos), e sua presença em água ou alimentos é indicativo de contaminação fecal (DUCIC *et al.*, 2016). Embora a maioria das estirpes sejam inofensivas, alguns sorotipos podem causar graves intoxicações alimentares nos seres humanos (CHRISTIEANS *et al.*, 2018), constituindo causa importante nos quadros de gastroenterites, como é o caso da *Escherichia coli* O157:H7, causadora de colite hemorrágica e síndrome hemolítico-urêmica. Esta, atrelada à baixa dose de infecção e a gravidade da doença, representa uma preocupação frente a saúde pública (ROSA; BARROS; SANTOS, 2016).

Soma-se a isto ainda a microbiota natural do animal (CHOI *et al.*, 2020) e outras prováveis fontes de contaminação, tais como os envoltórios (COLOMBO; BACHINI; SILVA, 2016), condimentos, e até mesmo a água utilizada em todo o processo de fabricação do produto em si (ADAMI *et al.*, 2015a).

Segundo Tapia, Alzamora e Chirife (2020), a ausência de processamento térmico ou dessecação, somado a alta atividade de água, influenciam no curto prazo comercial do produto. Isso porque a qualidade microbiológica do produto final resulta da ausência, ou baixos níveis, de contaminação da matéria prima e demais ingredientes adicionados à formulação.

Neste contexto, os processos e tecnologias de transformação contribuem para a preservação das características dos alimentos, sendo os conservantes tradicionalmente de destaque no processo de elaboração de linguiça fresca. Os sais de cura comumente utilizados no processo de fabricação de embutidos crus contemplam o nitrito e nitrato de sódio (JUNG, S. *et al.*, 2015). Popularmente conhecido como “cura”, o recurso permite um controle da deterioração por microrganismos

patogênicos (JIN, S. K *et al.*, 2018). Adami *et al.*, (2015b) relataram que os sais de nitrito e nitrato são empregados como aditivos alimentares para a prevenção da proliferação de esporos – importantes causadores de graves alterações nos produtos cárneos, com repercussão na saúde humana. Além disso, a literatura comprova que tais conservantes possibilitam o alcance aos parâmetros característicos de qualidade sensorial, maximizando cor, sabor, aroma e textura (HONIKEL, 2008), permitindo a oferta de variações no material cru, nas formulações e diferenças em processos e técnicas aplicadas. Outro relato científico constatou também, além da conferência de cor e sabor característicos de carne curada pelos sais nitrito e nitrato, uma significativa inibição da oxidação lipídica de linguiças frescas, aumentando assim o tempo de conservação do produto (DOMINGUES *et al.*, 2019).

Por outro lado, o uso desses aditivos é legalmente restrito há décadas devido aos efeitos adversos cumulativos, principalmente relativos ao nitrito – subproduto da redução do nitrato, reação que ocorre tanto no organismo quanto nos alimentos (PEGG; SHAHIDI, 2004; GIROT, MASSON e HARACEMIV, 2011). Seu efeito tóxico é causado pela formação endógena de compostos nitrosos como a N-nitrosodimetilamina e monometilnitrosamina (nitrosaminas e nitrosamidas) ambas de caráter carcinogênico, mutagênico e teratogênico (WANG *et al.*, 2018). Ademais, quando ingeridos em excesso, os nitritos unem-se irreversivelmente à hemoglobina e originam um quadro de hemoglobinemia, também conhecido por “Síndrome do Bebê Azul”. Isto porque quando o nitrito encontra-se presente no organismo, principalmente de crianças, causa oxidação da hemoglobina acarretando em efeitos nocivos, dentre eles o menor aporte de oxigênio para o corpo. Tal doença pode levar a anoxia e morte (HENTGES *et al.*, 2016). Deste modo, tem-se que os nitratos são relativamente pouco tóxicos para os seres humanos, mas a sua toxicidade e relevância neste sentido está atribuída principalmente à sua redução a nitrito (WANG *et al.*, 2018).

A preocupação frente à presença de nitrosaminas nos alimentos ocorre desde 1968, quando pesquisas realizadas pela agência estadunidense *Food and Drug Administration* (FDA) foram iniciadas com intuito de se reduzir os níveis de nitrosaminas e encontrar substitutos para o nitrito como conservante alimentar. No Brasil, o Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) é responsável por determinar o limite do teor residual de nitrito no produto cárneo final a ser consumido, regido por meio da RDC nº 272/2019. Esta estabelece os aditivos alimentares autorizados para uso em carnes e produtos cárneos. Também regulamenta e permite a adição de sais de nitrito e nitrato de sódio até os valores máximos de 150 mg/Kg e 300 mg/Kg de produto, respectivamente (BRASIL, 2019a).

Apesar da legislação vigente, embutidos oriundos de produção artesanal ou de marcas desconhecidas e desprovidas de qualquer fiscalização de ordem sanitária, podem apresentar

desconformidades em relação aos padrões oficiais. Tais irregularidades versam especialmente no descumprimento relacionado ao limite máximo para nitrito nestes produtos. Sua oferta indiscriminada acaba por expor os consumidores a riscos inerentes à ingestão de alimentos processados em condições precárias e/ou irregulares, em especial aos aditivos empregados e suas quantidades excessivas (FLORES; TOLDRÁ, 2020).

Desta forma, considerando-se a importância industrial e os efeitos toxicológicos deste aditivo, torna-se de relevância pública e sanitária o monitoramento dos níveis de nitrito e nitrato por meio das determinações quantitativas desses compostos, visando a não exposição do consumidor a riscos à saúde, pois além de ser um problema direto àquele que consome, traz também problemas indiretos à sociedade: ausência no trabalho, maiores gastos do sistema público de saúde junto ao tratamento destas pessoas e redução da arrecadação fiscal – produtos não inspecionados geralmente são comercializados de forma clandestina, portanto, não recolhem impostos.

Neste sentido, o objetivo deste estudo será avaliar a correlação entre temperatura e o teor de nitrito e nitrato, bem como o perfil microbiológico em amostras de linguiças frescas de carne suína com duas temperaturas de cura distintas: ambiente (25°C) *versus* resfriada a 0°.

4. ANÁLISE E DISCUSSÃO DOS RESULTADOS

4.1 ENSAIOS MICROBIOLÓGICOS

A análise das amostras para o desenvolvimento microbiológico de *Escherichia coli*, *Staphylococcus coagulase positiva* e *Salmonella spp.*, em duas diferentes temperaturas de descanso de massa: 0°C e ambiente (25°C), apresentou os resultados descritos na Tabela 2.

Tabela 2 – Resultados microbiológicos de linguiças frescas de carne suína coletadas em uma Fábrica de Embutidos em Umuarama-Pr a partir de massas submetidas a duas diferentes temperaturas de cura (refrigerada: 0°C e ambiente: 25°C)

Patógeno	LOTE A		LOTE B		LOTE C		LOTE D	
	0°C	AMBIENTE	0°C	AMBIENTE	0°C	AMBIENTE	0°C	AMBIENTE
<i>Salmonella spp.</i>	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente
<i>E. coli</i> (UFC / g)	4,7 x 10 ⁴	7,0 x 10 ⁴	1,0 x 10 ⁴	1,0 x 10 ²	1,0 x 10 ⁴	5,3 x 10 ⁴	<1,0 x 10 ⁴	2,1 x 10 ²
<i>S. coag. positiva</i> (UFC / g)	< 1,0 x 10 ⁴	1,9 x 10 ⁴	< 1,0 x 10 ⁴	2,2 x 10 ⁴	< 1,0 x 10 ⁴	2,9 x 10 ⁴	< 1,0 x 10 ⁴	1,8 x 10 ⁴

Fonte: Levantamento de dados, 2021.

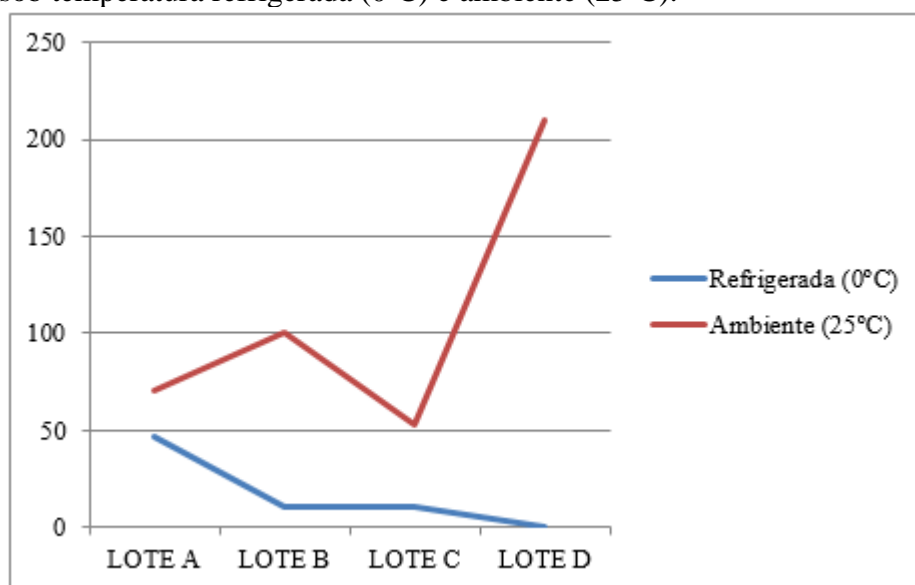
4.1.1 Escherichia coli

Tabela 3 – Resultados microbiológicos (E. coli) de linguiças frescas de carne suína coletadas em uma Fábrica de Embutidos em Umuarama-Pr a partir de massas submetidas a duas diferentes temperaturas de cura (refrigerada: 0°C e ambiente: 25°C) representado em logaritmo 10 (log 10).

	Refrigerada (0°C)	Ambiente (25°C)
LOTE A	4,7 x 10 ¹ UFC/ g	7,0 x 10 ¹ UFC/ g
LOTE B	1,0 x 10 ¹ UFC/ g	1,0 x 10 ² UFC/ g
LOTE C	1,0 x 10 ¹ UFC/ g	5,3 x 10 ¹ UFC/ g
LOTE D	<1,0 x 10 ¹ UFC/ g	2,1 x 10 ² UFC/ g

Fonte: Levantamento de dados, 2021.

Figura 2 – Perfil de desenvolvimento de Escherichia coli (UFC/ g) em quatro distintos lotes de linguiças coletadas em uma Fábrica de Embutidos em Umuarama – Pr a partir de massas descansadas sob temperatura refrigerada (0°C) e ambiente (25°C).



Fonte: Levantamento de dados, 2021.

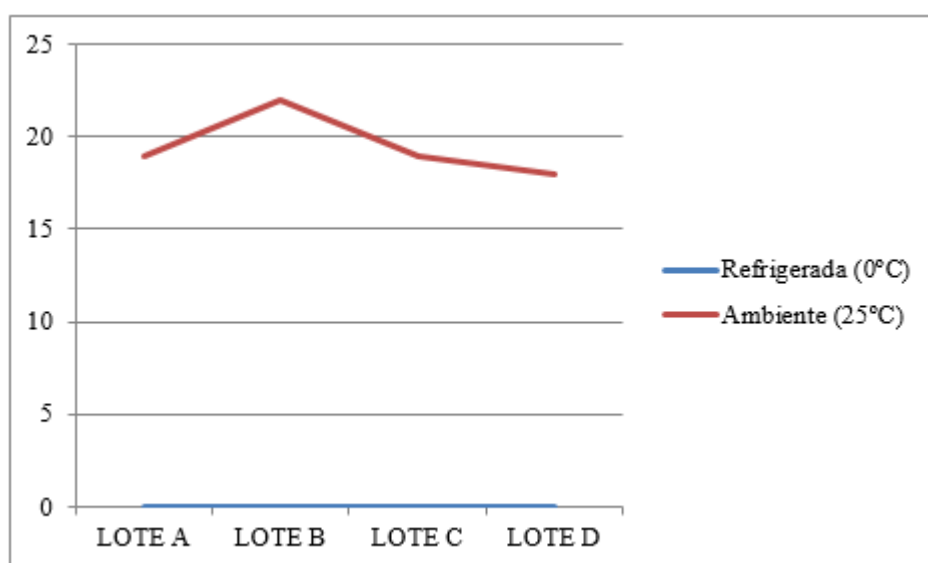
4.1.2 – *Staphylococcus* coagulase positiva

Tabela 4 – Resultados microbiológicos (*S. coag. positiva*) de linguiças frescas de carne suína coletadas em uma Fábrica de Embutidos em Umuarama-Pr a partir de massas submetidas a duas diferentes temperaturas de cura (refrigerada: 0°C e ambiente: 25°C) representado em logaritmo 10 (log 10).

	Refrigerada (0°C)	Ambiente (25°C)
LOTE A	< 1,0 x 10 ¹ UFC/ g	1,9 x 10 ¹ UFC/ g
LOTE B	< 1,0 x 10 ¹ UFC/ g	2,2 x 10 ¹ UFC/ g
LOTE C	< 1,0 x 10 ¹ UFC/ g	2,9 x 10 ¹ UFC/ g
LOTE D	< 1,0 x 10 ¹ UFC/ g	1,8 x 10 ¹ UFC/ g

Fonte: Levantamento de dados, 2021.

Figura 3 – Perfil de desenvolvimento de *Staphylococcus* coagulase positiva (UFC/ g) em quatro distintos lotes de linguiças coletadas em uma Fábrica de Embutidos em Umuarama – Pr a partir de massas descansadas sob temperatura refrigerada (0°C)



Fonte: Levantamento de dados, 2021.

4.1.3 – *Salmonella* spp

Tabela 5 – Resultados microbiológicos (*Salmonella* spp) de linguiças frescas de carne suína coletadas em uma Fábrica de Embutidos em Umuarama-Pr a partir de massas submetidas a duas diferentes temperaturas de cura (refrigerada: 0°C e ambiente: 25°C) representado em logaritmo 10 (log 10).

	Refrigerada (0°C)	Ambiente (25°C)
LOTE A	Ausente/ 25 g	Ausente/ 25 g
LOTE B	Ausente/ 25 g	Ausente/ 25 g
LOTE C	Ausente/ 25 g	Ausente/ 25 g
LOTE D	Ausente/ 25 g	Ausente/ 25 g

Fonte: Levantamento de dados, 2021.

As amostras submetidas ao descanso de massa sob temperatura ambiente (25°C) obtiveram crescimento significativo ($p < 0,05$) no que diz respeito ao perfil microbiológico de *Staphylococcus* coagulase positiva quando comparadas às formulações descansadas sob refrigeração (0°C). Já o desenvolvimento de *E. coli*, embora o efeito temperatura elevasse a curva de crescimento (Figura 2), não houve resultados significativos ($p > 0,05$) conforme representado em análise estatística (Tabela 1). Para *Salmonella* spp., foi constatada ausência de unidades formadoras de colônias em todos os lotes analisados.

Neste cenário, De Andrade *et al.*, (2019) consideram a temperatura de acondicionamento de linguiças um agravante para a segurança deste, uma vez que contaminado por estafilococos, o alimento pode conter enterotoxinas estafilocócicas resultando em graves quadros de intoxicação alimentar ao consumidor. No presente estudo os resultados para crescimento de *Staphylococcus* coagulase positiva mostraram-se inferiores ao valor considerado capaz de provocar intoxicação: 106 UFC/ g de alimento (BARBOSA *et al.*, 2014). Mesmo as amostras analisadas não apresentando risco para intoxicações, observou-se influência da temperatura de descanso de massa a 25°C (ambiente), sendo o perfil de desenvolvimento obtido na faixa de 18 a 21 UFC/ g em comparação ao descanso a 0°C, quando a contagem indicou < 10 UFC/ g. Por se tratar de microrganismos mesófilos, sua temperatura ideal de crescimento varia entre 7 e 47,8°C (FEITOSA *et al.*, 2017). Além da temperatura, a carga microbiológica da matéria prima é considerada outro fator de influência ao desenvolvimento de patógenos no produto final. Patarata *et al.*, (2020), demonstraram que a redução da contaminação na carne crua é fator favorável contra a multiplicação de microrganismos, entre ele a *Staphylococcus aureus*, espécie pertencente a classificação de estafilococos coagulase positiva.

Ao observar o comportamento da *Escherichia coli* no presente estudo, notou-se que o desenvolvimento de colônias em linguiças formuladas com massas submetidas ao descanso ambiente (25°C) foi de 70 UFC/ g e ultrapassou a quantidade estimada capaz de conferir doenças graves, já que segundo Meira *et al.*, (2017) menos de 50 organismos por grama de alimento pode promover quadros de diarreia com sangue, síndrome hemolítico-urêmica e insuficiência renal aguda ao homem quando ingeridos alimentos infectados com baixa dose. Neste sentido, as infecções causadas pelo patógeno consistem em ameaça global para a segurança alimentar, agravadas pelo fato de que outros surtos graves com manifestações enterohemorrágica têm sido decorrentes da capacidade dos patógenos utilizarem respostas adaptativas a diferentes condições estressantes, podendo aumentar sua sobrevivência. Tal fato pode ser observado por McLeod *et al.*, (2016) ao induzirem um estresse em massas contendo níveis aumentados de NaCl, sendo a sobrevivência da *E. coli* registrada em duas temperaturas (20°C e 30°C). Com o intuito de levar a uma maior resistência ao estresse aplicado, demonstraram a capacidade de adaptação da *E. coli* ao sal e temperaturas médias. Na busca de produtos seguros, estudos têm sido desenvolvidos para reduzir a carga microbiana após processamento. Ducic *et al.*, (2016) confirmaram que, ao utilizar pasteurização em linguiças acabadas de porco, foi possível eliminar *E. coli* O157, ainda preservando-se a qualidade sensorial aceitável do produto acabado.

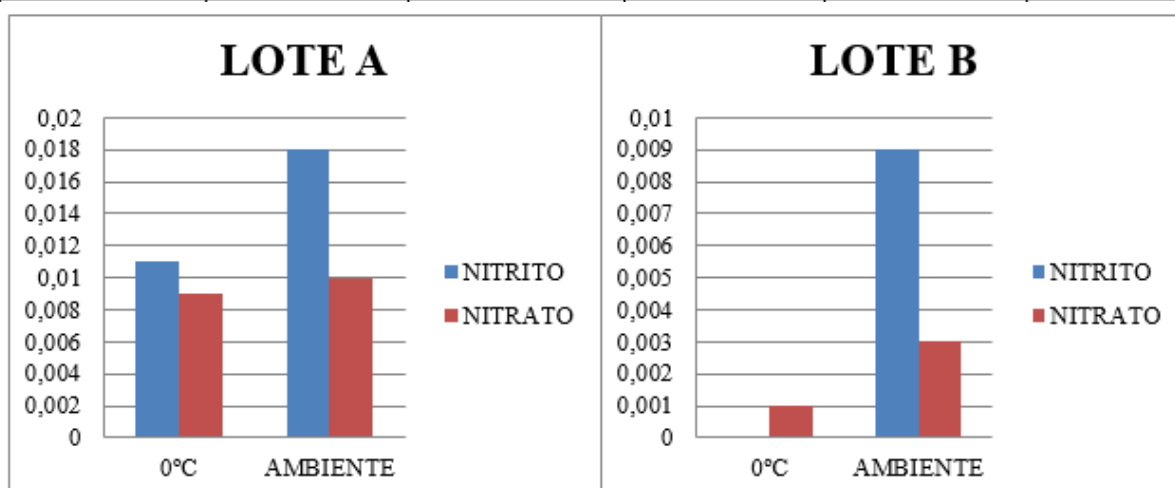
No presente estudo não houve presença de *Salmonella* spp. nas amostras dos diferentes lotes submetidos tanto a temperaturas de descanso de massa refrigerada (0°C) quanto ambiente (25°C). O resultado satisfaz a legislação brasileira regulamentada pela Instrução Normativa nº 60/ 2019, a qual prevê como aceitável a ausência de *Salmonella* spp em 25 g de alimento. O mesmo não foi observado por ED-DRA *et al.* (2017), os quais detectaram *Salmonella* spp em 21% das amostras avaliadas, sendo a maior prevalência em linguiças vendidas em camelôs (30,55%), seguidas de açougue (18,05%) e supermercado (12,5%). Nota-se que alguns estudos avaliam diferentes concentrações de nitrito de sódio e o seu efeito. HA *et al.*, (2016) avaliaram o crescimento de *Salmonella* spp em linguiças formulada com diferentes teores de cloreto de sódio (NaCl) e baixo nitrito de sódio (NaNO₂), seguido de armazenamento aeróbio ou a vácuo a 10°C e 15°C para até 816 h ou 480 h, respectivamente. O resultado obtido indicou que apenas 10 ppm de NaNO₂ pode aumentar o crescimento de *Salmonella* em baixas concentrações de NaCl, e que o NaCl desempenha papel importante na inibição do crescimento de *Salmonella* em salsichas com baixo NaNO₂.

4.2 ENSAIOS FÍSICO-QUÍMICOS

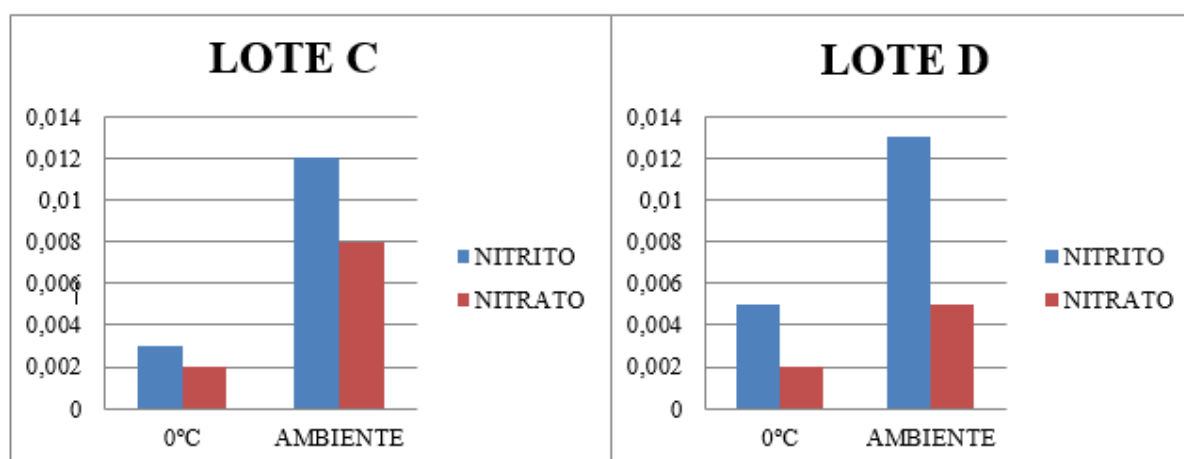
Na tabela 6 estão os resultados obtidos na análise das amostras para a quantificação de nitrito e nitrato em duas diferentes temperaturas de descanso de massa: refrigerada (0°C) e ambiente (25°C).

Tabela 6 – Resultados físico-químicos para quantificação de nitrito e nitrato em linguiças frescas de carne suína coletadas em uma Fábrica de Conservas em Umuarama-Pr a partir de massas submetida a duas diferentes temperaturas de cura (refrigerada: 0°C e ambiente: 25°C)

LOTE A			LOTE B		
	0°C	AMBIENTE		0°C	AMBIENTE
NITRITO	0,011	0,018	NITRITO	<0,002	0,009
NITRATO	0,009	0,01	NITRATO	0,001	0,003



LOTE C			LOTE D		
	0°C	AMBIENTE		0°C	AMBIENTE
NITRITO	0,003	0,012	NITRITO	0,005	0,013
NITRATO	0,002	0,008	NITRATO	0,002	0,005



Fonte: Levantamento de dados, 2021.

No ano de 2019, a ANVISA decidiu pela revogação da RDC nº 12, a qual regulamentava os padrões microbiológicos para alimentos desde 2001 (ANVISA, 2001). Desta forma, os novos padrões bem como sua aplicação foram definidos pela RDC nº 331/ 2019. Associado a isto, a autoridade sanitária optou por incluir uma lista de padrões microbiológicos para alimentos sob o anexo de uma Instrução Normativa (IN nº 60/2019), no intuito de otimizar as atualizações e/ou correções já que o trâmite se torna mais ágil quando ocorre por meio de IN. A principal alteração refere-se ao plano de amostragem que poderá ser adotado pelos setores envolvidos na cadeia produtiva de alimento, visto que a autoridade sanitária permitiu que a empresa elaborasse seu próprio plano amostral de acordo com os parâmetros determinados pela nova instrução (BRASIL, 2019b; BRASIL, 2019c). Neste caso, para os microrganismos de interesse no presente estudo compreendem as seguintes determinações (Tabela 7):

Tabela 7 – Lista de padrões microbiológicos para alimentos segundo IN n. 60/ 2019 (ANVISA) para determinação da qualidade do produto final.

Categorias Específicas	Microrganismos	n	c	m	M
c) Embutidos crus (linguiças frescas)	<i>Salmonella</i> / 25 g, para carne suína	5	0	Aus	-
	<i>Escherichia coli</i> / g, para carne suína	5	3	10 ²	10 ³
	Aeróbios mesófilos/ g	5	3	10 ⁵	10 ⁶

* N: número de unidades amostrais coletadas aleatoriamente/ c: qualidade intermediária (tolerada)/ m: limite mínimo/ M: limite máximo

Fonte: IN n.60/ 2019 (ANVISA)

A partir dessas informações, observa-se que neste experimento as amostras encontram-se dentro dos parâmetros aceitáveis de qualidade para o perfil microbiológico, levando-se em conta que o desenvolvimento para *Escherichia coli* não ultrapassou 210 UFC/ g (Tabela 3) , *Staphylococcus coagulase positiva* não ultrapassou 22 UFC/ g (Tabela 4) e para *Salmonella* spp. foi ausente (Tabela 5).

O perfil físico-químico das amostras analisadas demonstrou aumento no teor de nitrito e nitrato em formulações de massas submetidas ao descanso em temperatura ambiente (25°C) em todos os lotes. Ao observar a legislação brasileira vigente, tem-se o estabelecimento do limite na adição de nitrato aos produtos cárneos não cozidos através da RDC nº 272/ 2019 (ANVISA) na ordem de 0,03 g/ 100 g do produto (300 ppm) e nitrito de sódio, 0,015 g/ 100 g (150 ppm) (BRASIL, 2019a). Deste modo, os lotes B, C e D são consideradas “amostras ideal” ao consumo humano. O mesmo não ocorre para o lote A, o qual demonstrou resultado expressivo em 0,018 g/ 100. Adami *et al.*, 2015b verificaram que 54,5% das amostras de linguiças produzidas em estabelecimento fiscalizado pelo

Serviço de Inspeção Sanitária Municipal (SIM) apresentaram nitrito acima do permitido e 100% das amostras apresentaram nitrato acima do permitido em pelo menos um dos lotes analisados.

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

O estudo demonstrou influência negativa do descanso de massa submetido à temperatura ambiente (25°C) em todos os lotes de linguiças frescas de carne suína analisados, observado através do crescimento de *Staphylococcus* coagulase positiva e *Escherichia coli*, e pela quantificação de nitrito e nitrato, de maneira que a manutenção do frio ao longo da cadeia produtiva interfere na qualidade do produto final.

REFERÊNCIAS

ADAMI, F. S.; DAL BOSCO, S. M.; ALTENHOFEN, G.; DE SOUZA, C. F. V.; OLIVEIRA, E. C. Avaliação da qualidade microbiológica de linguiças e queijos. **Revista Caderno Pedagógico**, v. 12, n. 1, 2015a.

ADAMI, F.S.; GIOVANAZ, L. S.; ALTENHOFEN, G.; DAL BOSCO, S. M.; MACADENTRI, A.; OLIVEIRA, E. C. Análise microbiológica e de nitrito e nitrato em linguiça. **Scientia plena**, v. 11, n. 5, 2015b.

ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária). Resolução de Diretoria Colegiada – RDC nº 12, de 02 de janeiro de 2001. Regulamento Técnico sobre Padrões Microbiológicos para Alimentos. **D. O. U. Brasília**, 2001 Jan 07.

ARKOUN, M.; DAIGLE, F.; HEUZEY, M.C.; AJJI, A. Mechanism of action of eletrospun chitosan-based nanofibres against meat spoilage and pathogenic bacteria. **Molecules**, v. 22, n. 4, pág. 585, 2017.

BARBOSA, L. G.; MADEIRA JÚNIOR, R.; MARTINS, A. D. O.; MARTINS, E. M. F.; MARTINS, C. T. Avaliação de estafilococos coagulase positiva em uma unidade de alimentação pública do estado de Minas Gerais. **Revista Científica da Faminas**, v. 10, n. 1, 2014.

BEZERRA, M. V. P.; ABRANTES, M. R.; SILVESTRE, M. K. S.; SOUSA, E. S.; ROCHA, M. O. C.; FAUSTINO, J. G.; SILVA, J. B. A. Avaliação microbiológica e físico química de linguiça toscana no município de Mossoró, RN. **Arq Inst Biol**, v. 79, n. 2, p. 297-300, 2012.

BOHRER, B. M. Nutrient density and nutritional value of meat products and non-meat food high in protein. **Trends in Food Science & Technology**, v. 65, p. 103-112, 2017.

BOX, G.E.P.; COX, D.R. An analysis of transformations. **Journal of the Royal Statistical Society**, Edinburgh, Vol. 26, Issue 2, pp. 211-252, 1964. (Series B - Methodological).

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Instrução Normativa Nº 60, de 23 de dezembro de 2019c. Estabelece a lista de padrões microbiológicos para alimentos. **D. O. U. Brasília**, 2019 dez 26; Edição: 249; Seção 1. p. 133.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Resolução da Diretoria Colegiada – RDC Nº 272, de 14 de março de 2019a. Estabelece os aditivos alimentares autorizados para uso em carne produtos carnes. **D. O. U. Brasília**, 2019 Mar 18; Edição: 62; Seção 1. p. 194.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Resolução da Diretoria Colegiada – RDC Nº 331, de 23 de dezembro de 2019b. Dispõe sobre os padrões microbiológicos de alimentos e sua aplicação. **D. O. U. Brasília**, 2019 dez 26; Edição: 249; Seção 1. p. 96.

BRASIL. RIISPOA - Regulamento de Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal. Decreto 9.013, de 29 de março de 2017. **D.O.U. Brasília, 30 de março de 2017**. Edição: 62, Seção: 1, p. 3.

CHARMPI, C.; RECKEM, E. V.; SAMELI, N.; VAN DER VEKEN, D.; DE VUYST L.; LEROY, F. O uso de carnes menos convencionais ou carnes com pH alto pode levar ao crescimento de microrganismos indesejáveis durante a fermentação natural da carne. **Alimentos**, v. 9, n. 10, pág. 1386, 2020.

CHOI, H.; HWANG, B. K.; KIM, G. S.; CHOI, S. H. Influence of pathogen contamination on beef microbiota under different storage temperatures. **Food Research International**, v. 132, p. 109118, 2020.

CHRISTIEANS, S.; PICGIRARD, L.; PARAFITA, E.; LEBERT, A.; GREGORI, T. Impact of reducing nitrate/ nitrite levels on the behavior of *Salmonella typhimurium* e *Listeria monocytogenes* in French dry fermented sausages. **Meat Science**, v. 137, p. 160-167, 2018.

COLOMBO, S. G.; BACHINI, T. V.; SILVA, J. M.. Modelo de gestão para otimização do rendimento de envoltórios naturais na fabricação de linguiça suína tipo frescal. **Revista Latino-Americana de Inovação e Engenharia de Produção**, v. 4, n. 5, p. 124-139, 2016.

DE ANDRADE JÚNIOR, F. P.; DE MEDEIROS LIMA, B. T.; ALVES, T. W. B.; MENEZES, M. E. S. Fatores que propiciam o desenvolvimento de *Staphylococcus aureus* em alimentos e riscos atrelados a contaminação: uma breve revisão. **Revista de Ciências Médicas e Biológicas**, v. 18, n. 1, p. 89-93, 2019.

DE MORAIS, E. J. F.; DE CARVALHO, C. V. F.; DE CARVALHO, C. W. B.; BARBOSA, F. R.; PEREIRA, D. E. Controle Microbiológico com Relação às Doenças Transmitidas Por Alimentos: um Estudo de Revisão Literária. **International Journal of Nutrology**, v. 11, n. S 01, p. 272, 2018.

DOMÍNGUEZ, R.; PATEIRO, M.; GAGAOUA, M.; BARBA, F. J.; ZHANG, W.; LORENZO, J. M. A comprehensive review on lipid oxidation in meat and meat products. **Antioxidants**, v. 8, n. 10, pág. 429, 2019.

DUCIC, M.; KLISARA, N.; MARKOV, S.; BLAGOJEVIC, B.; VIDAKOVIC, A.; BUNCIC, S. The fate and pasteurization-based inactivation of *Escherichia coli* O157, *Salmonella Typhimurium* e *Listeria monocytogenes* in dry, fermented sausages. **Food Control**, v. 59, p. 400-406, 2016.

ED-DRA, A.; FILALI, F.R.; KARRAOUAN, B.; EL ALLAQUI, A.; ABOULK, ACEM, A.; BOUCHRIF, B. Prevalence, molecular and antimicrobial resistance of *Salmonella* isolated from sausages in Meknes, Marrocos. **Microbial Pathogenesis**, v. 105, p. 340-345, 2017.

FEITOSA, A. C.; RODRIGUES, R. M.; TORRES, E. A.; SILVA, J. F. M.. *Staphylococcus aureus* em alimentos. **Revista Interdisciplinar Da Universidade Federal Do Tocantins**, v. 4, n. 4, p. 15-31, 2017.

FLORES, M.; TOLDRÁ, F. Chemistry, safety, and regulatory considerations in the use of nitrite and nitrate from natural origin in meat products. **Meat Science**, p. 108272, 2020.

GEORGES, S. O.; BERNARDO, L. G., ANDRÉ, M. C. D. P. B.; CAMPO, M. R. H.; BORGES, L. J. Ecofisiologia microbiana e micro-organismos contaminantes de linguiça suína e de frango do tipo frescal. **Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos**, v. 36, n. 1, 2019.

GIROT, J. M.; MASSON, M. L.; HARACEMIV, S. M. C. O uso de nitrato e nitrito em produtos cárneos e a formação de N-nitrosaminas. **Higiene alimentar**. p. 114-121, 2011.

GODFRAY, H. C. J.; AVEYARD, P.; GARNETT, T.; HALL, J. W.; TIMOTHY J. K.; LORIMER, J.; PIERREHUMBERT, R. T.; SCARBOROUGH, P.; SPRINGMANN, M.; JEBB, S. A. Meat consumption, health, and the environment. **Science**, v. 361, n. 6399, 2018.

HA, J.; GWAK, E.; OH, M.; PARK, B.; LEE, J.; KIM, S.; LEE, H.; LEE, S.; YOON, Y.; CHOI, K-H. Kinetic behavior of *Salmonella* on low NaNO₂ sausages during aerobic and vacuum storage. **Jornal coreano para ciência alimentar de recursos animais**, v. 36, n. 2, pág. 262, 2016.

HENTGES, D.; ZART, N.; MARMITT, L. G.; OLIVEIRA, E. C.; ADAMI, F. S. Concentrações de nitrito e nitrato em salsichas. **Revista Brasileira em promoção da Saúde**, v. 29, n. 1, p. 27-33, 2016.

HONIKEL, K. O. The use and control of nitrate and nitrite for the processing of meat products. **Meat Science**. v. 78, p. 68-76, 2008.

JIN, S. K.; CHOI, J. S.; YANG, H. S.; PARK, T. S.; DONG-GYUN, H. Natural curing agents as nitrite alternatives and their effects on the physicochemical, microbiological properties and sensory evaluation of sausages during storage. **Meat Science**, v. 146, p. 34-40, 2018.

JUNG, S.; KIM, H. J.; PARK, S.; IN YONG, H.; CHOE, J. H.; JEON, H. J.; CHOE, W.; JO, C.. The use of atmospheric pressure plasma-treated water as a source of nitrite for emulsion-type sausage. **Meat Science**, v. 108, p. 132-137, 2015.

KIM, T. W.; KIM, C. W.; KNOW, S. G.; HWANG, J. H.; PARK D. H.; KANG, D. G.; HA J.; YANG, M. R.; KIM, S. W.; KIM, I. S. pH as analytical indicator for managing pork meat quality. **Sains malaysiana**, v. 45, n. 7, p. 1097-1103, 2016.

LI, X.; ZHANG, Y.; LI, Z.; LI, M.; LIU, Y.; ZHANG, D. The effect of temperature in the range of -0,8 to 4°C on lamb meat color stability. **Ciência da carne**, v. 134, p. 28-33, 2017.

LISTRAT, A.; LEBRET, B.; LOUVEAU, I.; ASTRUC, T.; BONNET, M.; LEFAUCHEUR L.; PICARD, B.; BUGEON, J. How muscle structure and composition influence meat and flesh quality. **The Scientific World Journal**, v. 2016, 2016.

MAPA - Ministério da Agricultura e do Abastecimento. Aprova o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Carne Mecanicamente Separada, de Mortadela, de Linguiça e de Salsicha. Instrução Normativa nº 4, de 31 de março de 2000. **D. O.U.** Brasília, 05 de abril de 2000. p.6.

MCLEOD, A.; MAGE, I.; HEIR, E.; AXELSSON, L. HOLCK, A. L. Effect of relevant environmental stresses on survival of enterohemorrhagic *Escherichia coli* in dry-fermented sausage. **Jornal Internacional de Microbiologia Alimentar** , v. 229, p. 15 a 23 de 2016.

MEIRA, N. V.; HOLLEY, R.A.; BORDIN, K.; DE MACEDO, R. E.; LUCIANO, F. B. Combination of essential oil compounds and phenolic acids against *Escherichia coli* O157: H7 *in vitro* and in dry-fermented sausage production. **International Journal of Food Microbiology**, v. 260, p. 59-64, 2017.

MONTEIRO, G. M.; SOUZA, X. R.; COSTA, D. P. B.; FARIA, P. B.; VICENTE, J. Partial substitution of pork fat with canola oil in Toscana sausage. **Innovative Food Science & Emerging Technologies** , v. 44, p. 2-8 de 2017.

ORDONEZ, J.A. **Tecnologia de Alimentos de Origem Animal**. v. 2. São Paulo: Artmed, p. 279, 2005.

PATARATA, L.; NOVAIS, M.; FRAQUEZA, M. J.; SILVA, J. A. Influence of meat spoilage microbiota initial load on the growth and survival of three pathogens on a naturally fermented sausage. **Alimentos**, v. 9, n. 5, pág. 676, 2020.

PEGG, R.; SHAHIDI, F. Nitrite curing of meat. The N-nitrosamine problem and nitrite alternatives. 2004. **Blackwell Publishing**.

RESENDE FILHO, M. A.; DE SOUZA, K. J.; LIMA, L. C. F. Crises de segurança do alimento e a demanda por carnes no Brasil. **Revista de Economia e Sociologia Rural**, v. 54, n. 3, p. 459-482, 2016.

ROSA, J. L.; BARROS, R. F.; SANTOS, M. O. Características da *Escherichia coli* enterohemorrágica (EHEC). **Saúde & Ciência em Ação**, v. 2, n. 1, p. 66-78, 2016.

SAS Institute Inc. 2020. SAS/STAT® 15.1 User's Guide. Cary, NC: SAS Institute Inc.

SILVA, J. F. M.; FEITOSA, A. C.; RODRIGUES, R. M. *Staphylococcus aureus* em alimentos. **DESAFIOS-Revista Interdisciplinar Da Universidade Federal Do Tocantins**, v. 4, n. 4, p. 15-31, 2017.

SOARES, K. M. P.; DA SILVA, J. B. A.; DE GÓIS, V.A. Parâmetros de qualidade de carnes e produtos cárneos: UMA REVISÃO. **Higiene Alimentar**, v. 31, n. 268/269, 2017.

SONG, P.; WU, L.; GUAN, W. Dietary nitrates, nitrites, and nitrosamines intake and the risk of gastric cancer: a meta-analysis. **Nutrients**, v. 7, n. 12, p. 9872-9895, 2015.

TAPIA, M. S.; ALZAMORA, S. M.; CHIRIFE, J. Effects of water activity on microbial stability as a hurdle in food preservation. **Atividade da água em alimentos: fundamentos e aplicações** , p. 323-355, 2020.

WANG, Q.; WANG, J.; DING, W.; ZHANG, D.; REED, K.; ZHANG, B. Alternatives to carcinogenic preservatives in Chinese Sausage - Sorbic acid-loaded chitosan/tripolyphosphate nanoparticles **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 120, p. 28-33, 2018.

XIONG, L. Y. The storage and preservation of meat: I - Thermal Technologies. In: **Lawrie's Meat Science**. Publicação Woodhead, 2017. p. 205-230.