

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
FACULDADE DE VETERINÁRIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS**

**EFEITOS DO TRIPOLIFOSFATO DE SÓDIO SOBRE AS  
CARACTERÍSTICAS MICROBIOLÓGICAS, FÍSICO-QUÍMICAS E VIDA-  
DE-PRATELEIRA EM LINGÜIÇA FRESCAL DE FRANGO**

**Dissertação de Mestrado**

**ANELISE MARÇAL PÉREZ DE QUEIROZ**

**PORTO ALEGRE**

**2006**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL**  
**FACULDADE DE VETERINÁRIA**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS**

**EFEITOS DO TRIPOLIFOSFATO DE SÓDIO SOBRE AS  
CARACTERÍSTICAS MICROBIOLÓGICAS, FÍSICO-QUÍMICAS E VIDA-  
DE-PRATELEIRA EM LINGÜIÇA FRESCAL DE FRANGO.**

**ANELISE MARÇAL PÉREZ DE  
QUEIROZ**

Dissertação apresentada como requisito parcial para a obtenção do grau de Mestre em Ciências Veterinárias na especialidade de Inspeção e Tecnologia de Produtos de Origem Animal.

**Orientador: Prof. Dr. Guiomar Pedro Bergmann**

**PORTO ALEGRE**

**2006**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
FACULDADE DE VETERINÀRIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS**

**ANELISE MARÇAL PÉREZ DE QUEIROZ**

**EFEITOS DO TRIPOLIFOSFATO DE SÓDIO SOBRE AS  
CARACTERÍSTICAS MICROBIOLÓGICAS, FÍSICO-QUÍMICAS E VIDA-  
DE-PRATELEIRA EM LINGÜIÇA FRESCAL DE FRANGO.**

Dissertação aprovada como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre no Curso de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, pela comissão formada pelos professores:

Prof. Dr. Guiomar Pedro Bergmann  
Orientador e Presidente da Comissão

Prof<sup>a</sup>. Dra. Erna Vogt de Jong  
Membro da comissão

Prof<sup>a</sup>. Dra. Neila Silvia Pereira dos Santos  
Richards  
Membro da Comissão

Prof<sup>o</sup>. Dr. César Augusto M. Avancini  
Membro da Comissão

Porto Alegre, 27 de março de 2006.

*Dedico este trabalho ao meu querido  
filho João Vítor que foi gerado  
durante a sua realização e que me deu  
mais força para completar esta etapa  
da minha vida profissional.*

## AGRADECIMENTOS

Agradeço, especialmente, a Deus por me iluminar e me acompanhar a cada dia da minha vida;

A minha família, em especial ao meu marido Carlos Alberto e ao meu filho João Vítor que me incentivaram desde o início desta jornada e que não deixaram de me estimular em cada momento difícil, aos meus pais Milton e Maria Igleze que estiveram desde sempre torcendo por mim;

Ao meu orientador Prof. Dr. Guiomar Pedro Bergmann que me deu a oportunidade para realização do curso de mestrado e que me ajudou em todas as fases deste trabalho;

A Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup>. Susana Cardoso e ao Guilherme Eichner pelo apoio na obtenção da matéria-prima para a fabricação das amostras e também pela amizade;

Aos funcionários e estagiários do Laboratório de Inspeção e Tecnologia de Alimentos da Faculdade de Veterinária da UFRGS, João Batista, Quintilha, Grazyne, Daniela, Malusa, Juliana por terem me auxiliado na realização do experimento;

As colegas e amigas Regina e Marilene que me acompanharam nesta caminhada, pela amizade e ajuda durante a fase experimental;

Ao Prof. Dr. Félix Gonzalez que manteve a disposição os equipamentos do laboratório de Análises Clínicas do Hospital Veterinário da UFRGS;

A bibliotecária Ana Vera Finardi Rodrigues, da Faculdade de Veterinária desta universidade, pelo auxílio na formatação das referências de acordo com as normas da ABNT.

## SUMÁRIO

|                |  |    |
|----------------|--|----|
| <b>1</b>       | <b>INTRODUÇÃO</b> .....  | 12 |
| <b>2</b>       | <b>REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b> .....   | 14 |
| <b>2.1</b>     | <b>Definição</b> .....   | 14 |
| <b>2.2</b>     | <b>Vida-de-Prateleira da Lingüiça Frescal de Frango</b> .....                                      | 14 |
| <b>2.2.1</b>   | Fatores que Desencadeiam a Contaminação das Lingüiças Frescas Elaboradas com Carne de Frango ..... | 14 |
| <b>2.2.2</b>   | Microrganismos Patogênicos Indicadores da Qualidade das Lingüiças .....                            | 16 |
| <b>2.3</b>     | <b>Agente Estabilizante: Tripolifosfato de Sódio</b> .....   | 17 |
| <b>2.3.1</b>   | Especificações Legais .....  | 17 |
| <b>2.3.2</b>   | Aspectos Funcionais .....  | 19 |
| <b>2.3.3</b>   | Considerações Ligadas à Aplicação dos Polifosfatos no Processamento das Carnes.....                | 21 |
| <b>2.4</b>     | <b>Características Gerais dos Microrganismos Indicadores e das Respektivas Doenças</b> .....       | 22 |
| <b>2.4.1</b>   | <i>Escherichia coli</i> Patogênica .....   | 22 |
| <b>2.4.2</b>   | <i>Salmonella</i> Spp. ....  | 24 |
| <b>2.4.3</b>   | <i>Staphylococcus aureus</i> .....   | 25 |
| <b>2.4.4</b>   | <i>Clostridium perfringens</i> .....   | 26 |
| <b>2.4.5</b>   | <i>Clostridium botulinum</i> .....   | 27 |
| <b>2.5</b>     | <b>Oxidação Lipídica</b> .....   | 27 |
| <b>2.5.1</b>   | Considerações sobre a Oxidação Lipídica .....  | 27 |
| <b>2.5.2</b>   | Processos de Oxidação Lipídica .....   | 29 |
| <b>2.5.3</b>   | Inibidores da Oxidação Lipídica .....  | 30 |
| <b>2.5.4</b>   | Método de Determinação da Oxidação Lipídica – TBA.....   | 32 |
| <b>2.6</b>     | <b>Carne e Potencial Hidrogeniônico (pH)</b> .....   | 32 |
| <b>3</b>       | <b>MATERIAL E MÉTODOS</b> .....  | 34 |
| <b>3.1</b>     | <b>Fabricação das Lingüiças</b> .....  | 34 |
| <b>3.2</b>     | <b>Análises Microbiológicas</b> .....  | 37 |
| <b>3.2.1</b>   | Pesquisa de <i>Salmonella</i> .....  | 38 |
| <b>3.2.1.1</b> | Etapa de Pré-Enriquecimento.....   | 38 |
| <b>3.2.1.2</b> | Etapa de Enriquecimento .....  | 38 |
| <b>3.2.1.3</b> | Etapa de Isolamento .....  | 38 |

|         |   |    |
|---------|---|----|
| 3.2.2   | Contagem de <i>Staphylococcus aureus</i> .....                          | 39 |
| 3.2.3   | Contagem de <i>Clostridium</i> Sulfito Redutores .....                  | 39 |
| 3.2.4   | Contagem de Coliformes Totais e <i>Escherichia coli</i> .....           | 40 |
| 3.2.5   | Contagem de Microrganismos Mesófilos Aeróbios.....                      | 40 |
| 3.2.6   | Contagem de Microrganismos Psicrotróficos Aeróbios .....                | 41 |
| 3.3     | <b>Análises Físico-Químicas</b> .....                                   | 41 |
| 3.3.1   | Determinação da Oxidação Lipídica das Lingüiças Frescais de Frango..... | 41 |
| 3.3.1.1 | Soluções Utilizadas na Determinação da Oxidação lipídica.....           | 41 |
| 3.3.1.2 | Teste de Recuperação .....  | 42 |
| 3.3.1.3 | Curva Padrão .....  | 44 |
| 3.3.1.4 | Cálculo de Recuperação do Malonaldeído (R) .....                        | 45 |
| 3.3.1.5 | Valor do Fator de Conversão (K).....                                    | 45 |
| 3.3.1.6 | Valor do Número de TBA em mg MA/kg da Amostra:.....                     | 46 |
| 3.3.2   | Determinação do Potencial Hidrogeniônico (pH).....                      | 46 |
| 3.4     | <b>Análise Estatística</b> .....  | 47 |
| 4       | <b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....                                     | 48 |
| 4.1     | <b>Pesquisa de <i>Salmonella Spp.</i></b> .....                         | 48 |
| 4.2     | <b>Contagem de <i>Staphylococcus aureus</i></b> .....                   | 49 |
| 4.3     | <b>Contagem de <i>Clostridium</i> Sulfito Redutores</b> .....           | 51 |
| 4.4     | <b>Contagem de Coliformes Totais e <i>Escherichia coli</i></b> .....    | 51 |
| 4.5     | <b>Contagem de Microrganismos Mesófilos Aeróbios</b> .....              | 54 |
| 4.6     | <b>Contagem de Microrganismos Psicrotróficos Aeróbios</b> .....         | 56 |
| 4.7     | <b>Análises Físico-Químicas</b> .....                                   | 58 |
| 4.7.1   | Determinação da Oxidação Lipídica das Lingüiças Frescais de Frango..... | 58 |
| 4.7.1.1 | Teste de Recuperação.....   | 63 |
| 4.7.1.2 | Curva Padrão do Malonaldeído.....                                       | 64 |
| 4.7.1.3 | Valor do Fator de Conversão (K).....                                    | 66 |
| 4.8     | <b>Determinação de Ph</b> .....   | 67 |
| 5       | <b>CONCLUSÕES</b> .....   | 71 |
|         | <b>REFERÊNCIAS</b> .....  | 72 |

## LISTA DE TABELAS

|   |    |
|---|----|
| Tabela 1 – Alíquotas das soluções de TMP e TCA introduzidas nos respectivos tubos .....   | 44 |
| Tabela 2 – Valores encontrados para contagem de coliformes totais (UFC/g) nos dias 0, 8, 15 e 22 das três repetições do experimento .....   | 52 |
| Tabela 3 – Valores encontrados para contagem de coliformes totais (UFC/g) no grupo controle e nos tratamentos 1, 2, 3 e 4 das três repetições do experimento.....   | 53 |
| Tabela 4 – Média e desvio padrão dos valores das contagens de microrganismos mesófilos aeróbios (log 10) das amostras de lingüiças de frango das três repetições dos diferentes tratamentos nos dias 0, 8, 15 e 22 do experimento.....      | 55 |
| Tabela 5 - Média e desvio padrão dos valores das contagens de microrganismos psicrotróficos aeróbios (log 10) das amostras de lingüiças de frango dos diferentes tratamentos nos dias 0, 8, 15 e 22 das três repetições do experimento..... | 57 |
| Tabela 6 - Média e desvio padrão (x 10 <sup>-2</sup> ) dos números de TBA (mg MA/ Kg) das lingüiças de frango nos dias 0, 8, 15 e 22 das três repetições para os diferentes tratamentos realizados no experimento .....                     | 59 |
| Tabela 7 - Média e desvio padrão dos valores de “R” das amostras de lingüiças de frango para cada tratamento realizado nos dias 0, 8, 15 e 22 das três repetições do experimento.....   | 63 |
| Tabela 8 - Média e desvio padrão dos valores de “K” das lingüiças de frango para os diferentes tratamentos nos dias 0, 8, 15 e 22 das três repetições do experimento.....   | 67 |
| Tabela 9 - Média e desvio padrão dos valores de pH das lingüiças de frango, nos dias 0, 8, 15 e 22 das três repetições do experimento .....   | 68 |

## LISTA DE FIGURAS

|  |    |
|--|----|
| Figura 1 – Matérias-primas para fabricação das lingüiças frescas de frango .....   | 34 |
| Figura 2 – Carne de frango sendo moída para elaboração das lingüiças .....   | 35 |
| Figura 3 - Etapa de homogeneização da massa cárnea e adição dos ingredientes .....   | 36 |
| Figura 4 - Etapa de embutimento das lingüiças frescas de frango.....   | 37 |
| Figura 5 - Etapa de filtragem dos extratos das amostras na análise de oxidação lipídica.....   | 42 |
| Figura 6 - Tubos retirados do banho-maria para posterior leitura dos valores de TBA.....   | 43 |
| Figura 7 - Etapa de homogeneização dos extratos das amostras de lingüiças frescas de frango para posterior leitura do pH .....   | 46 |
| Figura 8 - Curva padrão do malonaldeído através da qual determinou-se o N° de TBA das amostras de lingüiças frescas de frango primeira repetição do experimento.....     | 65 |
| Figura 9 – Curva padrão do malonaldeído através da qual determinou-se o N° de TBA das amostras de lingüiças frescas de frango na segunda repetição do experimento.....   | 65 |
| Figura 10 - Curva padrão do malonaldeído através da qual determinou-se o N° de TBA das amostras de lingüiças frescas de frango na terceira repetição do experimento..... | 66 |

## RESUMO

Neste trabalho foram analisados os efeitos da adição de 0,125%, 0,25%, 0,375% e 0,5% de tripolifosfato de sódio sobre as contagens microbiológicas de Coliformes Totais, *Escherichia coli*, *Salmonella* Spp., *Staphylococcus aureus*, *Clostridium* sulfito redutores, microrganismos mesófilos aeróbios, psicrotróficos aeróbios, nas características físico-químicas de oxidação lipídica e pH em lingüiças frescas de carne de frango, armazenadas sob refrigeração a 5°C nos dias 0, 8, 15 e 22. O tripolifosfato de sódio não aumentou a segurança microbiológica das lingüiças de frango, pois verificou-se aumento progressivo nas contagens das bactérias presentes, como mesófilos aeróbios e psicrotróficos aeróbios não demonstrando diferença significativa com relação ao tratamento aplicado. Para os coliformes totais evidenciou-se variação nas contagens dos mesmos, no decorrer do experimento, não apresentando correlação com as concentrações de tripolifosfato de sódio adicionadas nas lingüiças de frango. Para os demais microrganismos pesquisados os resultados encontrados nas amostras no dia 0 foram: para *Salmonella* Spp. ausência em 25g das amostras, *Staphylococcus aureus*  $<1,0 \times 10^3$  UFC/g, *Clostridium* sulfito redutor  $<1,0 \times 10^3$  UFC/g, portanto, apresentaram-se dentro do padrão exigido pela legislação para todas as amostras de lingüiças. As lingüiças frescas de frango adicionadas de 0,5% de tripolifosfato de sódio apresentaram valores de TBA mais baixos que os demais tratamentos e que o grupo controle, porém este resultado não foi significativamente diferente. Com relação aos dias de análises, estes revelaram diferença significativa para os números de TBA. Os valores foram de 0,93 = dia 0; 1,39 = dia 8; 4,09 = dia 15 e de 3,18 = dia 22, inicialmente os números de TBA foram baixos, os quais, apresentaram aumento progressivo ao longo da vida-de-prateleira das lingüiças, exceto nos tratamentos com 0,25% e 0,375% de tripolifosfato de sódio que apresentaram decréscimo destes números do dia 15 para o dia 22. Os valores do pH apresentaram diferença significativa para os dias de análise, tais como: dia 0 = 6,09; dia 8 = 6,25; dia 15 = 6,30; dia 22 = 6,47, estes valores demonstraram aumento do pH durante a vida-de-prateleira das amostras. Não houve diferença significativa entre os distintos tratamentos, porém evidenciou-se que os valores do pH dos tratamentos com adição de 0,5% de tripolifosfato de sódio apresentaram-se mais elevados do que o do grupo controle e também dos demais tratamentos. O tripolifosfato de sódio em diferentes concentrações não agiu prolongando a vida-de-prateleira das lingüiças frescas de frango.

**PALAVRAS-CHAVE:** Lingüiça de frango; tripolifosfato de sódio; vida-de-prateleira; oxidação lipídica, análise microbiológica

## ABSTRACT

*The aim of the present study was to assess the effects of adding 0.125%, 0.25%, 0.375% and 0.5% of sodium tripolyphosphate to the microbial counts of total coliforms, Escherichia coli, Salmonella spp., Staphylococcus aureus, sulfite-reducing clostridia, and aerobic mesophilic and aerobic psychrotrophic bacteria, on physical and chemical characteristics of lipid oxidation and pH in chicken fresh sausages stored under refrigeration at 5°C on days 0, 8, 15 and 22. Sodium tripolyphosphate did not increase the microbiological safety of chicken sausages, as there was a gradual increase in the count of aerobic mesophilic and aerobic psychrotrophic bacteria, with no significant difference in relation to the treatment used. Total coliform count varied throughout the experiment, with no correlation with the concentrations of sodium tripolyphosphate added to chicken sausages. The results obtained for other microorganisms on day 0 were as follows: Salmonella spp. absent in 25g of samples, Staphylococcus aureus  $<1.0 \times 10^3$  CFU/g, sulfite-reducing clostridia  $<1.0 \times 10^3$  CFU/g; therefore, they were in agreement with the standards set for all sausage samples. The chicken fresh sausages that received 0.5% of sodium tripolyphosphate had lower TBA values than those under other treatments and than those in the control group; however, this result was not significantly different. The days of analysis revealed significant difference in TBA values, which amounted to 0.93 on day 0; 1.39 on day 8; 4.09 on day 15, and 3.18 on day 22. TBA values were low at first, but they gradually increased throughout the shelf life of sausages, except in treatments with 0.25% and 0.375% of sodium tripolyphosphate, in which they decreased between day 15 and day 22. For the days of analysis, pH values were significantly different: day 0 = 6.09; day 8 = 6.25; day 15 = 6.30; day 22 = 6.47, having increased during the shelf life of the samples. No significant difference was observed between the different treatments, but the pH values for the treatments that added 0.5% of sodium tripolyphosphate were higher than those of the control group and also higher than in the other treatments. Sodium tripolyphosphate at different concentrations did not prolong the shelf life of chicken fresh sausages.*

**Key words:** *Chicken sausage; sodium tripolyphosphate; shelf life; lipid oxidation, microbiological analysis.*

## 1 INTRODUÇÃO

O crescimento da tecnologia de alimentos vem se acentuando e tem contribuído para a melhoria nutricional e social das populações. A tecnologia de alimentos tem como objetivos o aperfeiçoamento e aplicação experimental de processos, visando aplicar os conceitos na obtenção, processamento, conservação, preservação, transporte e comercialização de alimentos. Busca apresentar ao consumidor produtos com qualidades nutricionais, sensoriais e com maior vida-de-prateleira.

O valor da indústria de alimentos está na função de, através dos processos físicos, químicos e biológicos, transformar matérias-primas em produtos que supram as necessidades nutricionais e de prolongamento da vida-de-prateleira. Entre todas as indústrias, a de alimentos se destaca como a mais importante, pela grande variedade de produtos e por atingir todas as classes sociais.

Atualmente, tem-se evidenciado significativo progresso na produção de embutidos pelas indústrias que têm investido cada vez mais na industrialização dos produtos cárneos, apresentando novas formulações visando à melhoria da qualidade e, principalmente, a segurança no consumo de produtos alimentares.

A carne de frango apresenta sérios problemas em seu processamento e na sua conservação; a oxidação lipídica caracteriza-se como um dos principais problemas, principalmente no caso dos produtos embutidos, sendo mais comum em lingüiças elaboradas com carne de frango.

O crescimento na área de produtos embutidos cárneos, devido ao nível de exigência do mercado mundial, pela diversificação de alimentos industrializados com qualidade higiênico-sanitária, nutricional e sensorial, em condições satisfatórias, tem feito com que as empresas produtoras de aditivos tenham investido em uma variedade de produtos conservadores.

Os aditivos podem ser definidos como os componentes característicos dos alimentos industrializados, utilizados para sua conservação e melhoria de seu aspecto, aroma e sabor. Estes são considerados excelentes agentes utilizados, porém seu uso deve ser limitado a alimentos específicos, em condições específicas e ao menor nível para alcançar o efeito desejado (BRASIL, 1999).

Entre os aditivos, o tripolifosfato de sódio que pertence ao grupo dos polifosfatos, classificados como estabilizantes, tem seu efeito de retenção de água nas

carnes e produtos cárneos, investigado em diversos trabalhos, sendo este efeito considerado de maior importância em relação aos polifosfatos.

No entanto, o tripolifosfato de sódio apresenta outras funções nos produtos cárneos sendo que sua abordagem apresenta frequência insignificante de pesquisa quando comparada com a função anterior mencionada.

Os tripolifosfato de sódio é largamente utilizado pelas indústrias na elaboração dos produtos cárneos, mas o intuito é quase sempre o mesmo. Contudo, faz-se necessário conhecer as demais funções deste aditivo para potencializar seus efeitos, em sinergismo com os demais aditivos aplicados nos produtos cárneos, prevendo com isso qualidade elevada e vida-de-prateleira prolongada dos produtos.

Os objetivos do presente trabalho foram pesquisar o efeito conservante do tripolifosfato de sódio em lingüiças frescas de frango, durante a vida-de-prateleira, através da avaliação do efeito antioxidante do tripolifosfato de sódio e da verificação da ação antimicrobiana do mesmo.

## **2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**

### **2.1 Definição**

Entende-se por lingüiça, o produto cárneo industrializado elaborado a partir de carnes de uma ou mais espécies de animais de açougue, obtida na forma crua ou cozida, dessecada ou não, defumada ou não, curada ou não, adicionado ou não de gorduras, toucinho, adicionado de ingredientes e embutidos em tripas naturais ou artificiais (BRASIL, 2000).

### **2.2 Vida-de-Prateleira da Lingüiça Frescal de Frango**

Vida-de-prateleira é o período compreendido entre a produção e embalagem de um alimento até quando este atinge seu “ponto final” ou seja, quando já não atende mais aos critérios predeterminados pelos testes sensoriais, microbiológicos e físico-químicos (ALMEIDA; SILVA; ALMEIDA, 1993).

O progressivo aumento da população mundial exige cada vez mais a diversificação de alimentos industrializados com qualidade higiênico-sanitária, nutricional e propriedades organolépticas ou sensoriais satisfatórias adaptadas aos hábitos alimentares dos consumidores, o que torna necessário também que os mesmos apresentem uma maior vida-de-prateleira (POCHET-CAMPOS, 1996).

A qualidade dos produtos depende da vida-de-prateleira, estabelecida pelos produtores que devem identificar os parâmetros intrínsecos e extrínsecos que limitam este período para cada produto (FORSYTHE, 2002).

A lingüiça por ser um produto frescal, não sofre nenhum tratamento térmico o que contribui para a redução da sua vida útil, a qual está diretamente ligada à carga microbiana resultante das diferentes contaminações (TERRA, 1998).

#### **2.2.1 Fatores que Desencadeiam a Contaminação das Lingüiças Frescas Elaboradas com Carne de Frango**

A carne apresenta composição química que a torna excelente meio de cultura para os microrganismos, alta atividade de água, é um alimento rico em substâncias

nitrogenadas, minerais e fatores de crescimento. Além disso, o pH é favorável para a maioria dos microrganismos. A temperatura é outro fator de importância que influenciará o tipo de deterioração. Assim, a carne refrigerada será deteriorada por microrganismos que crescem nessas temperaturas, incluindo muitos daqueles capazes de produzir limosidade superficial, alterações na cor e pontos de crescimento superficial (LECHOWICH, 1971).

A carne fresca de aves apresenta uma microbiota natural e a sua qualidade guarda estreita relação com essa microflora. A manutenção da qualidade de carcaças refrigeradas de frango é dependente da baixa contaminação bacteriana inicial. Entretanto, por mais sofisticadas que sejam as práticas higiênicas durante o abate, as carcaças inevitavelmente serão contaminadas (ALMEIDA; SILVA; ALMEIDA, 1993).

A carne de frango é normalmente comercializada refrigerada ou congelada. O principal fator limitante da vida-de-prateleira da carne congelada é a oxidação de lipídeos e pigmentos, uma vez que à temperatura de congelamento cessa o crescimento microbiano e atividades enzimáticas. A carne de aves refrigerada é especialmente suscetível a problemas microbiológicos, uma vez que na própria linha de abate existem alguns pontos críticos de contaminação (EGAN, 1984; GILL e NEWTON, 1978; LEE e HAN, 1986). As bactérias são as principais causadoras da deterioração deste alimento, sendo o conteúdo intestinal a fonte primária desses microrganismos. A maioria delas cresce na superfície (pele, parte interna da cavidade do corpo e qualquer superfície cortada), com os produtos de decomposição difundindo-se vagarosamente para o interior da carne (FRANCO; LANDGRAF, 1996).

Na fabricação da lingüiça, a matéria-prima é moída tornando-se imprópria para o consumo muito rapidamente, pois aumenta a superfície de exposição para a contaminação e o crescimento de microrganismos (PRICE; SCHWEIGERT, 1994; PROUDLOVE, 1996).

As lingüiças do tipo frescal são alimentos grandemente expostos à contaminação e representam um excelente meio para a multiplicação de microrganismos. As prováveis fontes de contaminação compreendem as carnes, as tripas ou envoltórios, os temperos ou condimentos, bem como a água utilizada em todas as aplicações de limpeza e manutenção (MANHOSO, 1996).

### 2.2.2 Microrganismos Patogênicos Indicadores da Qualidade das Lingüiças

Microrganismos indicadores são grupos ou espécies de microrganismos que, quando presentes em um alimento, podem fornecer informações sobre a ocorrência de contaminação de origem fecal, sobre a provável presença de patógenos ou sobre a deterioração potencial do alimento, além de poderem indicar condições sanitárias inadequadas durante o processamento, produção ou armazenamento (FRANCO; LANDGRAF, 1996).

O uso de *Escherichia coli* como um indicador de contaminação de origem fecal foi proposto em 1982, uma vez que esse microrganismo é encontrado no conteúdo intestinal do homem e animais de sangue quente. A pesquisa de coliformes fecais ou de *Escherichia coli* nos alimentos fornece, com maior segurança, informações sobre as condições higiênicas do produto e melhor indicação da eventual presença de enteropatógenos. A presença de números elevados de *Staphylococcus aureus* é uma indicação de perigo potencial à saúde pública devido a enterotoxina estafilocócica, bem como à sanificação questionável, principalmente quando o processamento envolve a manipulação do alimento. Os clostrídios foram sugeridos como indicadores de contaminação fecal, mas não são específicos de fezes humanas. Por serem formadores de esporos, podem persistir nos alimentos quando a maioria dos microrganismos entéricos foi destruída. Todas as bactérias patogênicas de origem alimentar são mesófilas, portanto a alta contagem de mesófilos, que crescem à mesma temperatura da temperatura do corpo humano, significa dizer que houve condições para que esses patógenos se multiplicassem (BANWART, 1989).

A ocorrência de salmonelas na carne de aves pode ser encarada com naturalidade, uma vez que esses gêneros de microrganismos fazem parte da flora desses animais. A incidência e a quantidade desses microrganismos, presentes na carne, variam de acordo com as condições de manejo durante a criação e com os cuidados higiênicos nas operações de abate dos animais e posterior manipulação das carcaças (HINTON; LINTON, 1966). As salmonelas são as principais responsáveis pelas toxiinfecções alimentares (BOURGEOIS; MESCLE; ZUCCA, 1994).

A carne de aves e seus derivados estão entre os principais causadores de toxinfecções alimentares (ROBERTS, 1983). As bactérias são as principais causadoras da deterioração da carne de frango, sendo o conteúdo intestinal a fonte primária desses microrganismos. A microbiota inicial da carne é muito variada, na carne de aves podem

ser isoladas bactérias mesófilas produtoras de toxiinfecções alimentares como *Salmonella* spp., *Clostridium botulinum*, *Clostridium perfringens*, *Campylobacter* spp., *Escherichia coli* enterohemorrágica e ainda *Listeria monocytogenes*.

De acordo com Franco e Landgraf 1996, a deterioração de alimentos pode ser causada pelo crescimento de microrganismos que levariam a alterações organolépticas. Neste caso, números elevados são esperados e variam com o tipo de alimento e microrganismo presente. A maioria dos alimentos apresenta, quando essas alterações são detectáveis, números superiores a  $10^6$  UFC/g do alimento. Entretanto há aqueles em que são necessários  $10^7$  UFC/g do alimento.

Conforme Hendrick et al. (1994), a disponibilidade de oxigênio nos produtos cárneos é que determina os tipos de microrganismos presentes e as alterações nos produtos deteriorados. A deterioração que ocorre nos embutidos é ocasionada por bactérias anaeróbias ou facultativas, provocando a proteólise com posterior formação de compostos de enxofre.

Segundo a ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária) 2001, os microrganismos patogênicos que devem ser pesquisados em linguiças frescas para verificar a qualidade destas, são: *Salmonella* sp., coliformes a 45°C, Estafilococos coagulase positiva e *Clostridium* sulfito redutores.

## **2.3 Agente Estabilizante: Tripolifosfato de Sódio**

### **2.3.1 Especificações Legais**

Segundo a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (2001), através da resolução RDC nº 179, de 17 de outubro de 2001, aprova a extensão de uso do aditivo INS 451i Tripolifosfato de Sódio como estabilizante em produtos cárneos frescos, embutidos ou não, no limite máximo de 0,5%.

Os polifosfatos são compostos que pertencem ao grupo dos estabilizantes e são substâncias que tornam possível a manutenção de uma dispersão uniforme de duas ou mais substâncias imiscíveis em um alimento (BRASIL, 1999). De acordo com Gerhart (1980), estabilizantes são substâncias macromoleculares que não dispõem de ação emulsionante direta, mas consolidam as emulsões. Sua eficácia consiste em formar películas na superfície de separação, ou cargas elétricas, além de funcionarem como colóides protetores.

Os tripolifosfatos são sais do anion pentavalente, que se formam por tríplice condensação de grupamentos  $\text{PO}_4$ , com perda de dois moles de água, caracterizando-se estruturalmente pelo encadeamento de ligações P-O-P-O-P e pela fórmula  $\text{Me}_5 \text{P}_3 \text{O}_{10}$ , sendo Me um metal monovalente, predominantemente o sódio. Pertencem, assim, à série dos fosfatos condensados, ou polifosfatos, de fórmula geral  $\text{Men}+2\text{PnO}_{3n+1}$ , dos quais, além dos tripolifosfatos, são importantes os pirofosfatos ( $n=2$ ). Embora um grande número de tripolifosfatos seja conhecido, somente o sal pentassódico - tripolifosfato de sódio, ou trifosfato de sódio - tem importância tecnológica e é, praticamente, o único produzido em escala comercial. Forma-se por desidratação térmica de uma mistura de fosfatos dissódico e monossódico, que se obtém mediante reação de ácido fosfórico e uma base alcalina, que pode ser soda cáustica ou carbonato de sódio, com uma relação base/ácido,  $\text{Na}_2\text{O}/\text{P}_2\text{O}_5 = 1,67$ , equivalente a uma proporção molar de 2:1. O produto comercial apresenta-se como um sal anidro, na forma de pó branco ou granulado, ou como sal hidratado, ou hexaidrato, normalmente, em grânulos (BRASIL, 2003).

O tripolifosfato de sódio fabricado no Brasil é idêntico ao importado do Reino Unido, tanto em suas características físicas e químicas, quanto em sua aplicabilidade, sendo, portanto, considerado similar ao importado (BRASIL, 1995).

Segundo o Food Chemical Codex – FCC (1980), o tripolifosfato de sódio deverá atender aos padrões de qualidade especificados neste, universalmente, aceito e exigido pelos órgãos e agências controladoras da área de saúde pública, como referência para produtos químicos utilizados no processamento de produtos destinados ao consumo humano. Os parâmetros exigidos para o tripolifosfato de sódio são: pureza, (em  $\text{Na}_5 \text{P}_3 \text{O}_{10}$ ): 85% mínimo; arsênio (como As): 3 mg/kg, max.; flúor: 0,005% max.; chumbo: 5 mg/kg max.; metais pesados (como Pb): 10 mg/kg, max.; insolúveis em água: 0,1% max.

A Resolução Mercosul GMC/RES 31 (1992), determina que os aditivos alimentícios devem atender as normas e especificações estabelecidas pela Organização Mundial de Saúde - OMS, ou pelo Food Chemical Codex - IV. No caso do Brasil, a exigência é imposta pelo Ministério da Saúde, que adotou, por Portaria da Secretaria de Vigilância Sanitária, de 1997.

O tripolifosfato de sódio grau alimentício anidro é usado na indústria alimentícia de produtos processados, defumados e congelados de carne, frango, peixes e outros frutos do mar. Também é utilizado em vegetais enlatados e produtos de ovos. Sua

função é prevenir a perda de líquido da proteína durante o processamento desses produtos, através do aumento do pH local e da força iônica ao redor da proteína, permitindo que a proteína se desenrole expondo as áreas que aumentam sua capacidade de absorção de água. Dessa forma, as proteínas perdem quantidades de líquido significativamente menores durante o cozimento ou descongelamento, conservando suas propriedades originais (BRASIL, 2003).

### 2.3.2 Aspectos Tecnológicos

Os fosfatos atuam elevando o pH do meio, acentuando a capacidade de retenção de água e a conseqüente embebição da massa. Acarretam a diminuição da retração do produto por ocasião do cozimento, tendo em vista a menor perda da umidade. São ainda atribuídas aos polifosfatos as seguintes propriedades: melhoram a uniformidade e a estabilidade da cor do produto final; protegem contra o escurecimento durante a armazenagem e atuam sinergicamente com os ascorbatos contra a rancidez. Também, ao reagirem com os metais polivalentes, têm efeito seqüestrante ao inativá-los, impedindo, assim, que participem da oxidação das gorduras ou, ainda, que sirvam ao metabolismo microbiano (PARDI et al., 1993). Apresentam os fosfatos, função de quelar alguns íons como  $Fe^{+2}$  e  $Fe^{+3}$ , prevenindo, desta forma, o desenvolvimento da rancidez oxidativa e alterações na cor dos produtos (TEICHER, 1999).

A principal causa de deterioração de cor e “flavor” nos músculos de carne é a oxidação. A oxidação da mioglobina causa enfraquecimento da cor em carnes cruas e curadas. A oxidação dos lipídeos em carnes causa amarelamento. *Off flavors* em carnes são devido à oxidação das gorduras. Estes processos de oxidação requerem três condições: oxigênio, um substrato oxidável e um catalisador. A fonte de oxigênio é o ar, mas o oxigênio molecular no ar não reage indiscriminadamente. Antes de danificar o alimento, ele é convertido em peróxido. As gorduras encontradas em todo o tecido muscular estão susceptíveis à formação de peróxidos e são substratos, quando a oxidação começa. Os lipídeos reagem vagarosamente, se comparados à sua reação em presença de um catalisador. Calor e luz são catalisadores comuns, que não podem ser evitados (TROUT, 1983; PRÄNDL, 1994).

Outra propriedade dos polifosfatos apóia-se em sua função conservadora, pois impedem a decomposição bacteriana de determinados alimentos. A ação conservadora dos polifosfatos, incluídos o pirofosfato tetrassódico, tripolifosfato sódico e hexametáfosfato sódico, em determinados produtos cárneos e de pesca, melhoram o

sabor da carne fresca e prolongam seu tempo de conservação. Exercem influência positiva sobre a textura e homogeneidade da carne finamente picada. Os polifosfatos com cadeias longas são os de melhor ação bacteriana, quando adicionados na proporção de 0,5% a 2%. Os fosfatos são particularmente eficazes frente a microrganismos gram-positivos como o *Staphylococcus aureus* (PARDI, 1996).

Os polifosfatos apresentam atividade sequestrante de íons metálicos, que decrescem com o aumento do pH. A atividade sequestrante dos polifosfatos parece estar relacionada com a atividade antimicrobiana e antioxidante (MOLINS et al., 1987).

Segundo Pérez (1987), os polifosfatos apresentam as seguintes vantagens tecnológicas: retardam a oxidação; reduzem a perda de sucos nos enlatados; impedem a perda de água durante o descongelamento; quando adicionados à carne picada, misturada e moída com sal, as proteínas estruturais atuam como agente para unir as partículas e obter uma aparência agradável; oferecem boa textura e sensação de amolecimento.

Os polifosfatos agem desfazendo o complexo actomiosina formado após o início do *rigor mortis*, permitindo a formação de espaços entre os filamentos. Ao mesmo tempo, alteram a força iônica do sarcoplasma aumentando, com isso, a repulsão eletrostática entre os filamentos e posterior aumento na quantidade de espaço disponível para ligar água. Também atuam como sequestrantes de metais como cobre, ferro e magnésio, sendo responsáveis pelo aumento da vida-de-prateleira dos produtos (ARIMA; NETO, 1995; HENSON, 1992). A instalação do *rigor mortis* no músculo é ocasionada pela diminuição da solubilidade das proteínas miofibrilares e do poder de retenção de água, porém quando o estabelecimento do *rigor mortis* tem lugar em condições de pH baixo e de temperatura elevada, as propriedades das proteínas são muito mais acentuadas (GIRARD, 1991).

O rendimento dos produtos aumenta, com a maior capacidade de retenção de água, pois as superfícies destes tornam-se mais secas e firmes, e as emulsões mais estáveis a temperaturas mais elevadas. Os polifosfatos ajudam a solubilizar as proteínas musculares e a diminuir a acidez (elevam o pH) da carne, na qual incrementam o espaço ao redor das proteínas e, assim, maior quantidade de água pode manter-se entre as proteínas (ADITIVOS, 2004). As carnes para fabricação de produtos embutidos têm um pH compreendido, em geral, entre 5,4 e 5,8, a zona isoelétrica das proteínas constituintes destas carnes (ponto isoelétrico), se situa entre 5,1 e 5,2, pH para o qual seu poder de retenção de água é mínimo. As misturas comerciais de polifosfatos

utilizadas têm pH inferior a 9, alguns máximos a esse valor, podendo variar de 8,3 a 10,4. Portanto, a adição de polifosfatos à carne eleva o pH de 0,2 a 0,5 unidades, e por isso, aumenta seu poder de retenção de água deslocando o pH da zona isoelétrica (PARDI, 1996).

O tripolifosfato de sódio quando utilizado no processamento da carne de aves apresenta como funções a retenção de água, retenção de cor, melhora da maciez, protege o sabor, retarda a deterioração, além de efeitos múltiplos (CASSIDY, 1977).

### 2.3.3 Considerações Ligadas à Aplicação dos Polifosfatos no Processamento das Carnes

Os fosfatos são geralmente adicionados a carnes processadas devido à sua participação na retenção de água e na melhoria do rendimento no produto acabado. A adição de fosfatos a carnes cozidas tem mostrado retardamento ou prevenção de oxidação lipídica (SATO; HEGARTY, 1971).

O mecanismo de ação dos fosfatos sobre a capacidade retenção de água é duplo, aumentam o pH da carne e solubilizam as proteínas musculares. Ao aumentar a capacidade de retenção de água, aumenta por sua vez o rendimento. Os fosfatos são tanto mais eficazes em aumentar o rendimento quanto maior é a temperatura final do processado. Além de aumentar a capacidade de retenção de água, existem outros benefícios associados no seu uso: melhora o sabor da carne como resultado da retenção dos sucos, reduz o desenvolvimento da oxidação lipídica, e favorece a retenção da cor (PRICE; SCHWEIGERT, 1994).

A USDA (1973), permite o uso das seguintes misturas curantes: hidrogeno pirofosfato sódico, fosfato monosódico, hexametáfosfato sódico, fosfato dissódico, tripolifosfato sódico e pirofosfato sódico. O emprego de NaOH é permitido na relação 1:5 do fosfato associado, esta combinação de hidróxido de sódico com fosfatos proporciona aumento no pH. Em 1980, o Food Safety and Inspection Service (FSIS) da USDA permitiu além dos fosfatos anteriores, o uso dos seguintes: fosfato dipotássico, fosfato monopotássico, tiopolifosfato potássico e pirofosfato potássico. A regulamentação relativa ao uso de NaOH associado aos fosfatos foi modificada para permitir o emprego de uma parte de NaOH para quatro partes de fosfato. O uso destas combinações se limitou de 5% a 10% na salmoura resultando  $\leq 0,5\%$  no produto final.

Já que a carne contém 0,01% de fosfatos naturais, esta quantidade deve restar ao calcular o nível de fosfatos a empregar na cura.

Segundo Marques (1994), a utilização em excesso de polifosfatos atribui, ao produto final, sabor adstringente. Em contrapartida a insuficiência destes acarreta a perda da suculência, quebra durante o cozimento, perda da umidade, má formação da emulsão com, conseqüente perda de gordura, e redução da maciez do produto.

Conforme Price e Schweigert (1994), o tripolifosfato de sódio e suas combinações com hexametáfosfato são os fosfatos mais empregados na cura da carne, já que em muitos casos, possuem a associação de propriedades mais convenientes. Possuem o adequado pH básico, a compatibilidade com o cálcio e um significativo efeito modificador sobre as proteínas. O uso de alguns destes fosfatos tem gerado problemas que não existiam nas carnes curadas processadas. Os fosfatos não são facilmente solúveis na maioria das misturas curantes, sobre tudo tem-se empregado sal previamente. Recomenda-se dissolver os fosfatos primeiro. Se o nível de fosfatos na salmoura é demasiadamente alto, ou se a concentração de sal é elevada, podem precipitar, o que diminui sua efetividade. Outro problema é a presença de cristais de fosfato na superfície dos produtos curados. Como os produtos curados que contem fosfatos perdem umidade aparente no processado, os fosfatos podem precipitar na superfície, formando cristais de fosfatos. São cristais de fosfato dissódico que ocorrem devido a hidrólise dos polifosfatos pela fosfatase natural da carne. Esse defeito pode ser controlado reduzindo o nível de fosfato na carne, mantendo adequada umidade no processado e proporcionando apropriada proteção durante o armazenamento.

## **2.4 Características Gerais dos Microrganismos Indicadores e das Respectivas Doenças**

### **2.4.1 *Escherichia coli* Patogênica**

Segundo Leitão et al. (1988), a *Escherichia coli* está incluída na família Enterobacteriaceae, apresentando, portanto, em comum, as características morfológicas e bioquímicas desta família. No entanto, esta bactéria pertence ao grupo dos coliformes, juntamente com os gêneros Citrobacter, Klebsiela e Enterobacter.

*Escherichia coli* é a espécie predominante entre os diversos microrganismos anaeróbios facultativos que fazem parte da flora intestinal de animais de sangue quente.

Entre suas principais características destacam-se: bacilos gram-negativos, não-esporulados, capazes de fermentar glicose com produção de ácido e de gás, embora alguns sejam anaerogênicos. Apresentam antígenos somáticos O, relacionados com polissacarídeos da membrana externa; antígenos flagelares H, relacionados com proteínas dos flagelos, e ainda, antígenos K, relacionados com polissacarídeos capsulares. Foram, até o momento descritos 173 antígenos O, 56H e 100K diferentes. O significado da presença de *Escherichia coli* em um alimento deve ser avaliado sob dois ângulos. Inicialmente, *Escherichia coli*, por ser uma enterobactéria, uma vez detectada no alimento, indica que este tem contaminação ou recontaminação microbiana de origem fecal e, portanto, está em condições higiênicas insatisfatórias. O outro aspecto a ser considerado é que diversas linhagens de *Escherichia coli* são comprovadamente patogênicas para o homem e para os animais (FRANCO; LANDGRAF, 1996).

A maioria das *Escherichias* presentes no trato intestinal, são inócuas a menos que estejam distribuídas em outras partes do corpo humano, como o trato urinário ou meninges aonde elas podem causar doenças. O período de incubação das gastroenterites por *Escherichia coli* é de 12 horas a 3 dias, os sintomas consistem principalmente em diarreia, algumas vezes com presença de sangue e muco nas fezes os recém-nascidos são infectados por contato direto dentro das maternidades e por alimentos contaminados (HOBBS; ROBERTS, 1998).

As patogenias de *Escherichia coli* podem ser expressas por mecanismos diversos. Assim, conhecem-se cepas enterotoxigênicas, produtoras de toxinas que agem no intestino delgado, distinguindo-se a enterotoxina termolábil, semelhante à produzida por *Vibrio cholerae* e outra termoestável. Uma determinada cepa pode produzir uma ou ambas enterotoxinas, as quais, são gêneros determinados por plasmídios (LEITÃO *et al.*, 1988).

Diversos tipos de alimentos têm sido incriminados em casos e surtos infecciosos atribuídos à *Escherichia coli* enteropatogênica (GERMANO; GERMANO, 2001). Esta pode contaminar os alimentos por meios usuais como mãos, superfícies, recipientes e outros equipamentos também pode ocorrer na água (HOBBS; ROBERTS 1998).

### 2.4.2 *Salmonella* Spp.

Atualmente, mais de 2400 diferentes sorotipos de salmonelas já foram identificados no mundo, sendo a *Salmonella* Enteritidis e a *Salmonella* Typhimurium as mais isoladas em casos de toxinfecções alimentares. As bactérias do gênero *Salmonella* pertencem à família *Enterobacteriaceae*, são bacilos gram-negativos, não formadores de esporos, na maioria das vezes móveis devido à presença de flagelo em sua estrutura e anaeróbicos facultativos. As temperaturas de crescimento das salmonelas variam entre 5°C e 45°C, sendo valores ideais entre 35°C e 37°C. Temperaturas acima de 60°C durante 15-20 minutos são capazes de destruir o agente, e abaixo de 5 °C não permitem seu crescimento (DOYLE; CLIVER, 1990; HAYES, 1993; WORLD HEALTH ORGANIZATION, 1997; HOBBS; ROBERTS, 1998).

Em relação ao pH, as salmonelas crescem no intervalo de 4,5 a 9,0, com faixa ideal de 6,5-7,5. O pH mínimo para o desenvolvimento varia com o sorotipo, temperatura de incubação, tipo de ácido e composição do substrato, mas de modo geral, em valores de pH abaixo de 4,0 e acima de 9,0, as salmonelas são lentamente destruídas. Por serem microrganismos anaeróbios facultativos, são pouco afetadas pelas variações do potencial de oxirredução do substrato. Além disso, revelam pouca exigência em nutrientes disponíveis, sendo ainda fracas competidoras na presença de uma microbiota variada dos alimentos (BRYAN et al., 1979 apud LEITÃO, 1988).

Algumas cepas de salmonelas podem ser bastante halotolerantes, estando as carnes curadas, ainda que raramente, implicadas em alguns casos de salmonelose (PRICE; SCHWEIGERT, 1994).

O comportamento das salmonelas frente aos fatores intrínsecos e extrínsecos é de extrema importância nos aspectos tecnológicos e de saúde pública. Os alimentos envolvidos nas salmoneloses são todos aqueles com alto teor de umidade e alta porcentagem de proteína (GERMANO; GERMANO, 2001).

Segundo Hayes (1993), nas salmoneloses, o período de incubação varia consideravelmente, mas geralmente está compreendido entre 12 e 24 horas. Os principais sintomas são: náuseas, dor abdominal, sonolência, diarreia e febre moderada, podendo seguir desidratação.

O trato intestinal das aves é um dos principais reservatórios naturais de microrganismos patogênicos como a *Salmonella* spp. A partir do seu reservatório natural, por meio de inúmeros veículos, as salmonelas irão contaminar matérias-primas

e alimentos processados, tanto de origem vegetal como animal (HINTON; LINTON, 1966).

A carga microbiana das carcaças de frango e seus derivados são representados por uma microbiota oriunda, principalmente, das aves vivas e, outra parte, incorporada em qualquer uma das etapas do abate ou do processamento. A microbiota da ave viva se encontra essencialmente na superfície externa, espaço interdigital e tegumentos cutâneos, no trato digestivo e, em menor grau, no aparelho respiratório. Algumas espécies de salmonela são capazes de aderir-se firmemente a fibras de colágeno da superfície externa da pele do frango, após a imersão em água. A adesão não depende de fímbrias, ocorre apenas pelo contato da célula microbiana com a pele do frango, no contato com a água. Foram encontradas aderidas às carcaças, espécies flageladas como *Salmonella* singapore e não flageladas como *Salmonella* typhimurium, comprovando, assim, que a adesão desses microrganismos independe da presença de flagelos. Nas operações de abate ocorre a maior contaminação da carcaça, e a depenagem é uma das operações onde ocorre maior aumento da contaminação. A salmonelose é uma das mais prevalentes e mais sérias formas de doenças de origem alimentar, e é freqüentemente associada ao consumo da carne de aves (MAXCY, 1981).

### 2.4.3 *Staphylococcus aureus*

As bactérias do gênero *Staphylococcus* são cocos gram-positivos, pertencentes à família Micrococcaceae e por dividirem-se em planos diferentes, quando vistos ao microscópio aparecem na forma de cacho de uva. São facultativas anaeróbias com maior crescimento sob condições aeróbias, quando, então, produzem catalase. A espécie *Staphylococcus aureus* é a que está associada mais freqüentemente às doenças estafilocócicas, quer sejam de origem alimentar ou não (FRANCO; LANDGRAF, 1996).

De acordo com Sneath et al. (1986), 19 espécies fazem parte deste gênero. Destas, apresentam interesse potencial em microbiologia de alimentos: *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus hyicus*, *Staphylococcus chromogens* e *Staphylococcus intermedius*, sendo o *Staphylococcus aureus* o mais importante.

Segundo Price e Schweigert (1994), a intoxicação causada por *Staphylococcus aureus* é de interesse particular para indústria cárnica, especialmente, nas carnes curadas. Esta espécie é relativamente halotolerante e por isso produtos tais como, a

lingüiça curada oferece um meio seletivo para seu crescimento na superfície quando mantido em temperatura ambiente. O microrganismo cresce extensamente com a produção de uma enterotoxina termoestável sem produzir alterações no odor, sabor nem na cor do produto. A intoxicação é causada pela ingestão da toxina termoestável (enterotoxina), pré-formada pelo microrganismo no alimento. A toxina é de natureza protéica com peso baixo (26-30Kilodaltons). Um miligrama da toxina é suficiente para causar a enfermidade no homem. Devido à alta termoestabilidade das enterotoxinas estafilocócicas, um alimento pode apresentar altas doses da toxina apesar de não conter cocos viáveis após o tratamento. Dentre os alimentos mais freqüentemente implicados nas intoxicações estafilocócicas estão as carnes curadas e as carnes de aves.

#### 2.4.4 *Clostridium perfringens*

A intoxicação causada por *Clostridium perfringens* é extremamente freqüente. Ao redor de 10% de todas as intoxicações alimentares registradas na Inglaterra se atribuem a este microrganismo. Estão envolvidos todos os pratos já preparados, sobre tudo os elaborados a base de carne (HOOBS, 1969).

O requisito prévio para o desenvolvimento da enfermidade é de que os microrganismos se multipliquem no alimento e alcancem cifras de  $10^6$  a  $10^8$  UFC/g. O aquecimento a  $80^{\circ}\text{C}$  durante 10 minutos ativa os esporos, que germinam ao mesmo tempo em que morre a flora de acompanhamento. Se distinguem uma série de tipos diferenciados sorológica e bioquimicamente como:  $A_2$ ,  $C_4$  e  $C_5$  estes envolvidos em intoxicações alimentares (ESCOBAR, 1981).

A carne ao receber cozimento deficiente apresenta crescimento das células vegetativas durante a fase de aquecimento, mas se a temperatura supera  $60^{\circ}\text{C}$  permanecem latentes na superfície da carne e depois reiniciam o seu crescimento durante o período de esfriamento incontrolado (PEREZ, 1988).

Segundo o mesmo autor, a carne de mamíferos e aves, especialmente a cozida em grandes blocos para sua posterior distribuição, são os alimentos mais regularmente implicados em toxiinfecções causadas pelo *Clostridium perfringens*.

### 2.4.5 *Clostridium botulinum*

De acordo com Escobar (1981), é designada de botulismo a enfermidade produzida pela toxina do microrganismo anaeróbio esporógeno *Clostridium botulinum*, está presente no solo e na água. Ao homem são de importância as seguintes toxinas: A (Inglaterra, USA), B (Europa), E (América, Europa, Japão) e F (USA, Dinamarca).

A concentração salina é um dos fatores importantes no controle do botulismo. Em alimentos nos quais o sal (NaCl) é o principal redutor de Aa, sendo a mínima para a multiplicação do *Clostridium botulinum* de 0,94. 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 (FRANCO; LANDGRAF, 1996).

Um alimento não causará botulismo se todas as células vegetativas e esporos de *Clostridium botulinum* forem destruídos. Esta destruição normalmente é obtida através do tratamento térmico elevado. Deve-se levar em conta que a resistência térmica semelhante à de outros microrganismos patogênicos, os esporos deste microrganismo são bastante resistentes ao calor e a resistência térmica é influenciada por uma série de fatores como pH, Aa, composição do meio onde os esporos estão, entre outros (HAUSCHILD; DODDS, 1993).

Não se tem relato da ocorrência de intoxicações por *Clostridium botulinum* pelo consumo de alimentos crus. Entre os alimentos responsáveis por este tipo de intoxicação estão as conservas vegetais e em segundo lugar os produtos cárneos, pescado e frutas principalmente em conserva (LEWIS; CASSEL, 1964).

## 2.5 Oxidação Lipídica

### 2.5.1 Considerações sobre a Oxidação Lipídica

Segundo Price e Schweigert (1994), a reação dos compostos insaturados das gorduras com o oxigênio é uma das mais importantes na química lipídica. Esta reação é a responsável pelo desenvolvimento de sabores e aromas a ração nos alimentos.

Conforme Torres (1988), os lipídios se tornam rançosos como consequência de oxidação e esta rancidez é uma das causas de deterioração das carnes. A oxidação é causada principalmente pela oxidação de ácidos graxos insaturados, tais como: oléico, linoléico e linolênico. Outro importante componente na oxidação de carne é o colesterol

que como os outros derivados lipídicos, sofre oxidação catalisada pela ação da luz, ar, temperaturas elevadas, radicais livres ou uma combinação destes.

A oxidação lipídica é normalmente associada a carnes que são cozidas ou cujas membranas sofreram um processo de desintegração, como no caso da moagem. Os lipídios ligados às membranas são constituídos, na maioria das vezes, de fosfolipídios altamente insaturados, que são especialmente susceptíveis à oxidação lipídica (TORRES et al., 1998).

De acordo com Vieira (2003), os produtos industrializados elaborados com carne moída sofrem oxidação lipídica muito facilmente, pois aumenta a superfície de contato das gorduras com o oxigênio. Alguns pigmentos utilizados e a adição de sal em embutidos também catalizam a oxidação, que ocorre inclusive em condições de armazenamento congelado. A gordura de aves também sofre oxidação muito facilmente, sendo ainda mais pronunciado em produtos pré-cozidos ou pré-fritos. Como as gorduras animais “*in natura*” são desprovidas de antioxidantes naturais, a oxidação lipídica pode rapidamente degradá-las, causando sua rancidez. Os fatores que mais influenciam na oxidação são a presença de íons metálicos no produto (no sal ou em temperos), de calor ou luz, de enzimas, meio alcalino, moléculas com insaturações, disponibilidade de oxigênio para reagir.

A desnaturação também ocasiona a liberação de íons metálicos como o ferro e cobre que originalmente permaneciam associados às proteínas e quando livres tornam-se potentes catalisadores da acidez. O emprego de sal nos produtos cárneos é mais um fator que favorece fortemente a ocorrência da oxidação, estando seu efeito catalítico associado à sua capacidade de modificar a reatividade dos metais (Fe e Cu) estimulando suas atividades pró-oxidativas (TORRES et al., 1989).

A oxidação lipídica é normalmente associada a carnes que são cozidas ou cujas membranas sofreram um processo de desintegração, como no caso da moagem. Os lipídios ligados às membranas são constituídos, na maioria das vezes, de fosfolipídios altamente insaturados, que são especialmente susceptíveis à oxidação lipídica (PEARSON et al., 1977). Aquecer, moer ou emulsificar, expõe esses fosfolipídios lábeis não apenas ao oxigênio, mas também a outros componentes catalíticos como enzimas, pigmentos heme e íons metálicos (TORRES et al., 1998).

Segundo Gardini (2001), a oxidação lipídica pode desencadear várias reações secundárias com a formação de radicais livres. Além da formação de compostos “off-flavor”, outras reações podem afetar a segurança e a estabilidade do produto, resultando

em perda de nutrientes e promovendo mais reações oxidativas. Enquanto as reações deteriorativas (microbiológicas e enzimáticas) em alimentos podem ser inibidas com o emprego de baixas temperaturas, a oxidação lipídica ocorre normalmente a temperaturas de congelamento embora numa velocidade reduzida.

### 2.5.2 Processos de Oxidação Lipídica

Segundo Vieira (2003), a rancidez oxidativa pode ocorrer pelos processos auto-oxidativo, fotooxidativo (oxidação fotossensibilizada) e enzimático. Estes mecanismos levam à formação de compostos que podem ser desejáveis (cor, odor, sabor) ou indesejáveis (formação de compostos tóxicos, polímeros, compostos cíclicos). A auto-oxidação pode ser dividida em três partes: iniciação, propagação e término. Na iniciação, devido à instabilidade de algumas moléculas orgânicas e à atividade de um ou mais fatores catalizadores, ocorre a formação do primeiro radical livre.

Conforme Bobbio e Bobbio (1992), a etapa de propagação é propagada a partir da formação de um grande número de radicais livres formados na etapa anterior, assim o oxigênio reage com os radicais livres formando hidroperóxidos, considerados os produtos primários da oxidação. A terminação ocorre quando os radicais livres reagem entre si produzindo compostos inativos, não permitindo a continuidade da reação em cadeia (etapa de propagação).

Segundo Wong (1995), na fase de término grande parte do lipídio já foi oxidado não contribuindo para a formação de ranço. Os hidroperóxidos são instáveis e se decompõem formando aldeídos, cetonas e álcoois, produtos secundários da oxidação. Dentre os aldeídos formados encontram-se o pentanal, o heptanal e, principalmente, o hexanal, sendo que o mais conhecido como produto da oxidação lipídica é o malonaldeído, produzido durante a autooxidação de ácidos graxos poliinsaturados. (ADDIS et al., 1983 e PEARSON et al., 1983). O malonaldeído pode ser formado “in vivo” ou pré formado em alimentos (SCHAMBERGER et al., 1974). A maior parte dos produtos de oxidação lipídica, como o malonaldeído e óxidos de colesterol têm chamado a atenção da comunidade científica devido à sua provável relação com a formação de câncer (PEARSON et al., 1983 e ADDIS, 1986).

A fotooxidação ocorre quando há luz, lipídios e presença de certas substâncias naturais conhecidas como fotossensibilizadores ou cromóforos. Estas substâncias têm a capacidade de capturar e concentrar energia luminosa. A mioglobina, hemoglobina,

riboflavina, clorofila são exemplos de cromóforos. Neste processo de fotoxidação não há formação de radicais livres (ZAMBIAZI, 1999).

### 2.5.3 Inibidores da Oxidação Lipídica

Os antioxidantes retardam a rancidez das gorduras causada pela oxidação ao reagir com os radicais livres para formar produtos inertes em uma reação de determinação. Os radicais peroxi são os radicais predominantes nesta reação de terminação, já que os radicais livres hidrocarbonatos reagem rapidamente com o oxigênio molecular. Os antioxidantes, em sentido amplo, são substâncias capazes de tornar a velocidade da oxidação das substâncias autoxidáveis mais lenta (PRICE; SCHWEIGERT, 1994).

Segundo Vieira (2003), os antioxidantes são moléculas que inibem ou interferem no processo de formação de radicais livres, durante as etapas de iniciação e propagação.

A secretaria de vigilância sanitária descreve os antioxidantes como substâncias que retardam o surgimento de alterações oxidativas nos alimentos (BRASIL, 1997). Conforme Dziezak (1996), os antioxidantes são substâncias que, adicionadas aos alimentos, permitem prolongar a vida-de-prateleira destes, evitando a ocorrência de descoloração e o surgimento dos sabores desagradáveis ocasionados pela oxidação lipídica.

A ação dos antioxidantes é exercida devido à sua capacidade de doar átomos de hidrogênio aos radicais livres formados (antioxidantes primários) e também devido à sua capacidade quelante (antioxidantes secundários) sobre metais catalíticos.

De acordo com Price e Schweigert (1994), os antioxidantes usados na alimentação, tem a propriedade de sobreviver à operação de fritura e de melhorar a conservação dos alimentos preparados com gorduras estabilizadas. O uso de antioxidantes deve respeitar os limites máximos descritos na legislação a fim de que seja minimizada a ingestão destas substâncias pelo consumidor (GARCIA et al., 2002).

Os antioxidantes são divididos em naturais e sintéticos. Dentre os antioxidantes naturais, os mais utilizados são os tocoferóis ou popularmente conhecidos como vitamina E (VIEIRA, 2003). Os tocoferóis não podem ser sintetizados pelo organismo e a presença de vitamina E nos tecidos é reflexo da dieta (JENSEN et al., 1998).

Quanto aos antioxidantes sintéticos quatro deles são os mais utilizados pela indústria alimentícia o BHT (butil hidroxitolueno) é um dos antioxidantes mais utilizados no Brasil, por ser um dos mais antigos no mercado e possuir custo relativamente baixo (VIEIRA, 2003). Embora tenha boa permanência após processamento nos alimentos, não é tão efetivo quanto o BHA (butil-hidroxianisol) neste aspecto. O BHA e o BHT são largamente utilizados juntos numa relação de sinergismo que favorece a ação antioxidante (DORKO, 1994). O BHA apresenta boa capacidade de permanecer exercendo sua ação antioxidante mesmo após o produto ser submetido a processos como o cozimento (BRANEN et al., 1990).

Conforme Dziezak (1996), o galato de propila é um antioxidante sintético de uso difundido desde 1974. O ponto de fusão de 148°C contra-indica sua aplicação para produtos que sofrem processos de fritura, uma vez que este processo alcança temperaturas superiores à 190°C, ocasionando a perda de seu efeito antioxidante. Apresenta boa ação antioxidante quando usado em associado ao BHA e BHT. No Brasil, o emprego de TBHQ não é permitido em produtos cárneos, sendo seu uso restrito às gomas e bolachas (BRASIL,1999)

A legislação brasileira permite o emprego de nitritos e nitratos de sódio e potássio como aditivos com a função conservante (BRASIL, 1998). De acordo com Arendt et al. (1997), o nitrito exerce ação antioxidante quelando os metais catalíticos da oxidação, ligando-se às moléculas de mioglobina e, conseqüentemente, anulando seu efeito promotor da oxidação, e também atua diretamente sobre a gordura estabilizando seus constituintes. Segundo Garcia et al. (2002), a associação de nitritos e nitratos é usada com o intuito de prolongar os efeitos do nitrito, pois sob ação de algumas bactérias o nitrato sofre redução, funcionando como uma reserva de nitrito, que é o responsável pelos efeitos conservante, antioxidante e de coloração.

A adição de polifosfatos à carne eleva o pH de 0,2 a 0,5 unidades, e por isso, aumenta seu poder de retenção de água deslocando o pH da zona isoelétrica (PARDI, 1996).

#### 2.5.4 Método de Determinação da Oxidação Lipídica - TBA

Segundo Vieira (2003), o método de TBA é o mais utilizado na indústria da carne, onde produtos secundários da oxidação reagem com o ácido 2-tiobarbitúrico (TBA), formando um complexo colorido. Este método avalia a rancidez oxidativa das gorduras, principalmente, em produtos cárneos (RHEE et al., 1983). Este complexo é medido por um espectrofotômetro. O número de TBA é obtido por meio da quantidade em gramas de malonaldeído por Kilograma de carne, quanto menor o Número de TBA, melhor deverá ser o sistema antioxidante (VIEIRA, 2003).

O malonaldeído e outros produtos de oxidação lipídica, têm chamado a atenção da comunidade científica, devido a sua provável relação com a formação de câncer (PEARSON et al., 1983). No teste de TBA (ácido 2-tiobarbitúrico) ou TBARS (substâncias reativas ao ácido 2-tiobarbitúrico) o malonaldeído, após ser obtido por destilação, reage sob aquecimento, com ácido tiobarbitúrico, produzindo coloração rósea que pode ser medida espectrofotometricamente e comparada com a absorção da curva padrão (TORRES; OKANI, 1997).

#### 2.6 Carne e Potencial Hidrogeniônico (pH)

As carnes, em função do pH, são altamente susceptíveis à multiplicação dos microrganismos presentes. A carne proveniente de animais fatigados deteriora-se mais rapidamente do que a carne obtida de animais descansados. Esse fato ocorre porque o pH da carne obtida de animais fatigados é mais alto do que o observado em carnes de animais descansados. Após a morte, o glicogênio de reserva é transformado em ácido láctico, baixando o pH inicial do músculo de cerca de 7,4 para cerca de 5,6. O estresse ao qual o animal é submetido antes do abate provoca a metabolização do glicogênio antes de sua morte, reduzindo a quantidade de ácido láctico que pode ser produzida após a morte do animal, resultando em carne com pH mais elevado (FRANCO; LANDGRAF, 1996).

Admite-se que as carnes com reação ácida estão menos pré-dispostas ao ataque microbiano, isso se deve ao acúmulo de ácido láctico. Os produtos cárneos processados apresentam reação neutra devido principalmente ao emprego de polifosfatos que aumentam a capacidade de retenção de água dos produtos cárnicos, alguns fosfatos além

de atuar como agentes quelantes contribuem na conservação dos alimentos (PEREZ, 1988).

A instalação do “*rigor mortis*” no músculo é ocasionada pela diminuição da solubilidade das proteínas miofibrilares e do poder de retenção de água . Porém, quando o estabelecimento do “*rigor mortis*” ocorre em condições de pH baixo e de temperatura elevada, as propriedades das proteínas são muito acentuadas (PRICE; SCHWEIGERT, 1994). Os polifosfatos previnem a perda de líquido da proteína durante o processamento de produtos cárneos, por meio do aumento do pH local e da força iônica ao redor da proteína, permitindo que a proteína se desenrole expondo as áreas que aumentam sua capacidade de absorção de água (BRASIL, 2003).

### 3. MATERIAL E MÉTODOS

Para realização deste trabalho foram fabricadas lingüiças frescas de frango, elaboradas em três repetições e analisadas durante a vida-de-prateleira das mesmas. As análises realizadas foram: Pesquisa de *Salmonella* Spp., *Clostridium* sulfito redutores, Coliformes, *Staphylococcus aureus*, contagem de mesófilos aeróbios, psicrotróficos aeróbios, oxidação lipídica e pH.

#### 3.1 Fabricação das Lingüiças

Na fabricação das lingüiças a matéria-prima utilizada foi carne de frango (coxa, sobre-coxa, peito e recorte), adquirida de um matadouro frigorífico local com inspeção federal. A elaboração e constituição das lingüiças seguiram de forma idêntica às lingüiças fabricadas pelo frigorífico. Esta matéria-prima foi obtida após o abate e logo transportada sob refrigeração até ao Setor de Inspeção e Tecnologia de Produtos de Origem Animal, da Universidade Federal do Rio grande do Sul, para as análises necessárias (Figura 1).



Figura 1- Matérias-primas para fabricação das lingüiças frescas de frango.

A matéria-prima foi submetida à moagem em disco de 8mm (Figura 2), a massa cárnea resultante foi adicionada dos seguintes condimentos nas respectivas quantidades para bateladas de 10 Kg de carne de frango: 90g de sal refinado, 28g de açúcar cristal, 30g de sal de cura, 72g de condimento para lingüiça e 30g de fixador de cor, sendo, simultâneamente, homogeneizada manualmente (Figura 3). Após foi feita a divisão da massa ainda não embutida, em cinco diferentes tratamentos: Tratamento 0 (Controle) - lingüiça de frango sem adição de tripolifosfato de sódio -  $\text{Na}_5 \text{P}_3 \text{O}_{10}$  (*Tripolifosfato de sódio F.C.C.*, T1025.03.AG, *Synth<sup>®</sup> Ltda.*, Brasil) ; Tratamento 1 - lingüiça de frango adicionada de 0,125% de tripolifosfato de sódio -  $\text{Na}_5 \text{P}_3 \text{O}_{10}$ ; Tratamento 2 - lingüiça de frango adicionada de 0,25% de tripolifosfato de sódio -  $\text{Na}_5 \text{P}_3 \text{O}_{10}$ ; Tratamento 3 - lingüiça de frango adicionada de 0,375% de tripolifosfato de sódio -  $\text{Na}_5 \text{P}_3 \text{O}_{10}$ ; e Tratamento 4 - lingüiça de frango adicionada de 0,5% de tripolifosfato de sódio -  $\text{Na}_5 \text{P}_3 \text{O}_{10}$ .



Figura 2- Carne de frango sendo moída para elaboração das lingüiças.



Figura 3- Etapa de homogeneização da massa cárnea e adição dos ingredientes.

Depois de tratada, a massa cárnea foi deixada em repouso por 2 horas sob refrigeração. Concluído este período foi dado início ao embutimento da massa, em gomos de 75g (Figura 4), em tripas suínas higienizadas com ácido acético.



Figura 4- Etapa de embutimento das lingüiças frescas de frango.

As lingüiças foram acondicionadas em bandejas de polietileno protegidas por embalagens plásticas, analisadas microbiologicamente. Foi realizada determinada pressão nas embalagens no ato do embalamento para retirada de ar. As amostras foram armazenadas em blocos dispostos em ordem diferenciada para cada dia de análise, em refrigerador mantido com temperatura de 5°C, durante a vida-de-prateleira das amostras.

As análises foram realizadas nos dias 0, 8, 15 e 22 , sendo o experimento executado em três repetições totalizando o número de 60 amostras fabricadas e analisadas.

### **3.2 Análises Microbiológicas**

Para a realização das análises microbiológicas utilizou-se a metodologia descrita na Instrução Normativa Nº 62 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (BRASIL, 2003).

### 3.2.1 Pesquisa de *Salmonella*

#### 3.2.1.1 Etapa de Pré-Enriquecimento

As amostras para pesquisa de salmonelas foram submetidas ao pré-enriquecimento onde, inicialmente, foram pesados 25 gramas de cada amostra que foram adicionadas de 225 mL de água peptonada 1% tamponada, homogeneizadas em *stomacher* durante 60 segundos e deixadas por uma hora em temperatura ambiente. Estas amostras foram incubadas a 36°C por 20 horas.

#### 3.2.1.2 Etapa de Enriquecimento

Concluído o tempo de incubação da fase de pré-enriquecimento seguiu-se para a etapa de enriquecimento seletivo inoculando-se as amostras em dois tipos de meios líquidos seletivos, tais como: caldo tetrionato (*Tetrionate Broth Base*, 1.05285, *Oxoid*<sup>®</sup> *Ltd.*; *Hampshire, England*) e caldo Rappaport Vassiliadis (*Salmonella Enrichment-Broth rappaport and vassiliadis RVS-Broth*, 83300-320, *Merck*<sup>®</sup> *Ltd.*, *Germany*). Na inoculação das amostras em caldo tetrionato foram pipetadas alíquotas de 1mL das amostras pré-enriquecidas e transferidas para tubos contendo 10mL de caldo tetrionato, adicionados de 5 gotas de tintura de iodo, logo estes tubos foram homogeneizados e incubados em estufa a 41°C por 24 horas. Na inoculação em caldo Rappaport Vassiliadis inoculou-se 0,1mL das amostras pré-enriquecidas para tubos contendo 10mL de Caldo Rappaport Vassiliadis, em seguida homogeneizou-se e incubou-se os tubos em estufa a 41°C por 24 horas.

#### 3.2.1.3 Etapa de Isolamento

A partir dos caldos seletivos de enriquecimento procedeu-se a etapa de isolamento, onde repicou-se com alça de platina o caldo tetrionato e o caldo Rappaport Vassiliadis sobre a superfície de placas com meio sólido efetivo ágar XLT4 (*Agar Xilose-Lisina-Tergitol-4*, 1.13919, *Merk*<sup>®</sup> *Ltd.*, *Germany*) estriando-se as placas de Petry. Após foi feita a incubação das placas, invertidas em estufa a 36°C por 24 horas.

Foi realizada a confirmação das colônias, características ou não, em tubos com caldo uréia (*Urea Broth Base*, 2.28243, *Oxoid*® *Ltd*, *Hampshire, England*). Selecionou-se as colônias suspeitas e semeou-se com alça de platina maciçamente em caldo agar uréia, incubou-se em estufa a 36°C por 24 horas.

### 3.2.2 Contagem de *Staphylococcus aureus*

Para a execução da contagem de *Staphylococcus aureus* foram, inicialmente, pesados 25gramas de cada amostra e adicionados 225 mL de solução salina peptonada 0,1%. Homogeneizou-se cada amostra em *stomacher* por 60 segundos.

Efetuada as diluições ( $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$ ) procedeu-se a inoculação de 0,1mL das diluições de cada amostra na superfície seca do ágar *Baird-Parker* (*Baird-Parker Agar*, 1.05406, *Merck*® *Ltd.*, *Germany*) de placas de Petry, em duplicata para cada amostra. Com auxílio de uma alça de Drigalski espalhou-se o inóculo cuidadosamente por toda a superfície do meio, até sua completa absorção.

As placas foram incubadas invertidas em estufa a 36°C por 48 horas, após fez-se à leitura das placas.

### 3.2.3 Contagem de *Clostridium* Sulfito Redutores

Foram adicionados 225 mL de solução salina peptonada 0,1% a 25gramas de cada amostra pesada assepticamente e homogeneizadas por 60segundos em *stomacher*. Após feitas as diluições( $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$ ) partiu-se para a inoculação em placas de Petry em duplicata para cada amostra, semeou-se alíquotas de 1mL e adicionou-se cerca de 15mL de ágar SPS (*SPS-agar*, 1.10235, *Merck*® *Ltd.*, *Germany*) em temperatura de 46°C a 48°C. As placas foram homogeneizadas cuidadosamente e aguardou-se a solidificação, após foi adicionada a segunda camada de cerca de 10mL do mesmo meio. Imediatamente, após a solidificação do ágar, as placas foram incubadas não invertidas, em jarra de anaerobiose em estufa a 36°C por 24horas. Após foi feita a leitura das placas.

### 3.2.4 Contagem de Coliformes Totais e *Escherichia coli*

Na realização da contagem de coliformes totais e *Escherichia coli* foram inicialmente, pesadas 25gramas de cada amostra e adicionados 225 mL de solução salina peptonada 0,1%, submetidas às amostras a homogeneização por 60 segundos em *stomacher*.

Realizadas as diluições ( $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$ ) foram inoculados 0,1mL de cada diluição sobre a superfície seca do ágar Chromocult Coliform (*Chromocult coliformen-agar*, 46226-317, Merck<sup>®</sup> Ltd., Germany) em placas de Petri, em duplicata, para cada amostra. O inóculo foi espalhado cuidadosamente por toda a superfície do meio com uma alça de Drigalski.

Após completa absorção do inóculo nas placas, estas foram incubadas em posição invertida na estufa em temperatura de 36°C por 24horas. Concluído o tempo de incubação fez-se a leitura das placas.

### 3.2.5 Contagem de Microrganismos Mesófilos Aeróbios

Inicialmente, foram pesados 25gramas de cada amostra, que posteriormente foram adicionados de solução salina peptonada a 0,1% e homogeneizadas em *stomacher* pelo tempo de 60 segundos.

As diluições semeadas para a contagem dos microrganismos foram distintas nos dias de análise devido ao aumento significativo do número de colônias ao longo da vida-de-prateleira das amostras. O plaqueamento foi feito em profundidade. Inoculou-se 1mL das diluições escolhidas para cada dia de tratamento em placas de Petri em duplicata para cada uma das amostras, após adicionou-se 20 mL de ágar padrão (*Talte-Caount-agar*, 1.05463, Merck<sup>®</sup> Ltd., Germany) fundido em temperatura de 45°C, seguindo de homogeneização cuidadosa e circular das placas.

Concluída a etapa de solidificação do meio nas placas, estas foram incubadas invertidas em estufa na temperatura de 36°C por 48 horas. Após foi realizada a contagem das colônias das placas e os resultados foram expressos em UFC/g através da média aritmética das duas placas para cada amostra, multiplicada pela diluição utilizada.

### 3.2.6 Contagem de Microrganismos Psicotróficos Aeróbios

Foram retiradas alíquotas de 25 gramas de cada amostra, estas adicionadas de 225 mL de solução salina peptonada a 0,1% e submetidas à homogeneização em *stomacher* por 60 segundos. Da mesma forma que na contagem dos microrganismos mesófilos para a contagem dos psicotróficos as diluições tiveram que ser ajustadas nos diferentes dias de análise devido ao crescimento significativo das colônias no período de execução do experimento.

As diluições foram plaqueadas em superfície, ou seja, foram inoculados 0,1mL da diluição na superfície seca do ágar padrão (*Talte-Caount-agar*, 1.05463, *Merck*<sup>®</sup> *Ltd., Germany*) em placas de Petri duas para cada amostra e espalhadas com alça de Drigalsky.

Após absorção das culturas pelas placas, estas foram incubadas invertidas em refrigerador a 7°C por 10 dias e a contagem foi feita a partir da média aritmética das colônias entre duas placas da mesma diluição multiplicada pela diluição realizada.

## 3.3 Análises Físico-Químicas

### 3.3.1 Determinação da Oxidação Lipídica das Lingüiças Frescais de Frango

Para determinação da oxidação lipídica seguiu-se à metodologia descrita por Tarladgis, Watts e Younathan (1960) adaptado por Gonçalves (1998). Foi realizado o teste de recuperação do malonaldeído, a curva padrão do malonaldeído, o cálculo do valor de k e o número de TBA.

#### 3.3.1.1 Soluções Utilizadas na Determinação da Oxidação lipídica

Este método de análise teve as seguintes soluções elaboradas para sua execução:

Solução aquosa de TCA 7,5%, com 0,1% de EDTA e 0,1% de propilgalato; Solução aquosa de TBA 0,02M, sendo 2,883gramas de TBA em 1000 mL de água destilada; Solução estoque de TMP (tetrametoxipropano)  $4,85 \times 10^{-3}$ M, apresentando 0,08 mL de TMP em 100 mL de TCA 7,5%. A partir desta solução é feita a diluição para a solução

trabalho; e Solução trabalho de TMP (tetrametoxipropano)  $4,85 \times 10^{-5} \text{M}$ , ou seja, 0,1mL de solução estoque de TMP em 100 mL de TCA 7,5%.

### 3.3.1.2 Teste de Recuperação

Este teste foi realizado em seis etapas distintas:

1<sup>a</sup>) Absorbância (A) do extrato da carne das lingüiças de frango:

Foram pesados 10 gramas das amostras de cada um dos cinco tratamentos em copos de Becker, e em seguida adicionadas de 50 mL de TCA 7,5% (Tricloroacético). Estas amostras foram homogeneizadas por 1 minuto em homogeneizador, logo as mesmas foram filtradas em papéis filtro (Figura 5).



Figura 5- Etapa de filtragem dos extratos das amostras na análise de oxidação lipídica.

Em seguida foram retiradas alíquotas de 5 mL do filtrado do extrato da carne das amostras dos respectivos tratamentos e transferidos para tubos de ensaio, aos quais foram adicionados 5 mL de TBA 0,02M.

Após estes tubos foram fechados com tampa de borracha e levados ao banho-maria em temperatura de 100°C por 40 minutos (Figura 6). Concluída esta etapa resfriou-se os tubos em água corrente por 10 minutos e fez-se a leitura em espectrofotômetro calibrado a 538 nm. As análises foram realizadas em duplicata, ou seja, dois tubos para cada tratamento.



Figura 6- Tubos retirados do banho-maria para posterior leitura dos valores de TBA.

### 2ª) Absorbância (B) da solução de Tetrametoxipropano:

Foram introduzidos dentro de tubo de ensaio 1 mL da solução trabalho de TMP, 4 mL de TCA 7,5% e 5 mL da solução de TBA 0,02 M. Logo, este tubo foi vedado com tampa de borracha e aquecido no banho-maria a 100°C por 40 minutos. Em seguida, o mesmo foi resfriado sob água corrente por 10 minutos, com posterior leitura em espectrofotômetro a 538 nm. Esta etapa foi realizada em duplicata, dois tubos para cada dia de análise.

3ª) Absorbância (C) do extrato da carne das lingüiças de frango mais Tetrametoxipropano:

Foram pesados 10 gramas das amostras de cada um dos cinco tratamentos em copos de Becker, logo adicionadas de 10 mL da solução trabalho de TMP e 40 mL de TCA 7,5% e homogeneizadas por 1 minuto em homogeneizador.

Estas amostras foram filtradas em papéis filtro, retirou-se uma alíquota de 5 mL do filtrado de extrato da carne de cada uma das amostras e transferiu-se para tubos de ensaio, que foram submetidos a posterior adição de 5 mL de TBA 0,02 M. Estes tubos foram vedados por tampa e aquecidos em banho-maria a 100°C por 40 minutos e imediatamente, após resfriados em água corrente por 10 minutos. Estas análises foram executadas em duplicata, tendo dois tubos para cada tratamento, a leitura foi realizada em espectrofotômetro a 538 nm.

### 3.3.1.3 Curva Padrão

Para a obtenção da curva padrão utilizou-se a solução de tetrametoxipropano ( $4,85 \times 10^{-8}$  moles/mL) e a solução de Tricloroacético a 7,5% nas alíquotas descritas na Tabela 1.

Tabela 1 – Alíquotas das soluções de TMP e TCA introduzidas nos respectivos tubos

| Tubo | TMP ( $4,85 \times 10^{-8}$ moles/mL) | TCA 7,5% | Concentração ( $\times 10^{-8}$ moles/5mL) |
|------|---------------------------------------|----------|--|
| 0    | 0                                     | 5,0      | 0  |
| 1    | 0,5                                   | 4,5      | $2,425 \times 10^{-5}$                     |
| 2    | 0,7                                   | 4,3      | $3,395 \times 10^{-5}$                     |
| 3    | 1,0                                   | 4,0      | $4,850 \times 10^{-5}$                     |
| 4    | 1,2                                   | 3,8      | $5,820 \times 10^{-5}$                     |
| 5    | 1,5                                   | 3,5      | $7,275 \times 10^{-5}$                     |
| 6    | 2,0                                   | 3,0      | $9,700 \times 10^{-5}$                     |

TMP = Trimetoxipropano, TCA = Tricloroacético.

Imediatamente, após a distribuição destas alíquotas das soluções de TMP e TCA nos respectivos tubos de ensaio foi adicionado 5 mL da solução de TBA em cada

um destes tubos, e fechados com tampas de borracha e aquecidos no banho-maria a temperatura de 100°C por 40 minutos. Em seguida, os tubos foram resfriados sob água corrente por 10 minutos. Foi realizada leitura da curva padrão em espectrofotômetro calibrado a 538 nm, sendo primeiramente feita a leitura do tubo branco para ajustar o equipamento para as leituras seguintes.

#### 3.3.1.4 Cálculo de Recuperação do Malonaldeído (R):

A partir da obtenção dos resultados das absorvâncias A, B, C e da curva padrão efetuou-se o cálculo de recuperação e utilizou-se a seguinte equação:

$$R = \frac{C}{A + B} \times 100$$

A= Absorvância da carne de lingüiça de frango;

B=Absorvância da solução de TMP;

C=Absorvância da carne de lingüiça de frango mais a solução de TMP.

#### 3.3.1.5 Valor do Fator de Conversão (K):

Para calcular o N° de TBA foi necessário conhecer o valor de K anteriormente. Pois, através deste converteu-se os valores das absorvâncias extraídas das lingüiças de frango analisadas para número de TBA em mg MA/ Kg da amostra.

Os valores de K obtidos em cada um dos três experimentos realizados foi dado seguindo tal equação:

$$K = \frac{1}{d} \times \text{p.mol.} \times \frac{10^7}{\text{peso da amostra}} \times \frac{100}{R}$$

d = declividade da curva;

p.mol = peso molecular do malonaldeído (72g/mL);

R= porcentagem da recuperação

### 3.3.1.6 Valor do Número de TBA em mg MA/kg da Amostra:

Obtidos os valores de K multiplicou-se estes valores pelos resultados das absorvâncias das carnes das lingüiças de frango (Absorbância-A) conseqüentemente encontrou-se o n° de TBA para cada tratamento realizado em cada uma das três repetições.

### 3.3.2 Determinação do Potencial Hidrogeniônico (pH):

Na determinação do pH seguiu-se a metodologia descrita por Brewer et al. (1995), onde foram extraídas alíquotas de 10 gramas de cada amostra em copo de Becker, adicionadas de 75 mL de água destilada e homogeneizadas com auxílio de um bastão de vidro (Figura 7). Em seguida, calibrou-se pHmetro entre 4,0 e 7,0 com posterior leitura dos resultados.



Figura 7- Etapa de homogeneização dos extratos das amostras de lingüiças frescas de frango para posterior leitura do pH.

### 3.4 Análise Estatística

Para a contagem de coliformes utilizou-se o Teste Não-paramétrico Kruskal-Wallis para todos os dias de análise, ao nível de significância de 5%. Para as demais análises utilizou-se o Teste Não-paramétrico de Friedman, também ao nível de significância de 5%.

Foi realizada análise de variância utilizando o delineamento em parcelas subdivididas, complementada pelo Teste de Comparações Múltiplas de Tukey, ao nível de significância de 5% para todas as demais análises.

Nas análises microbiológicas de contagem de microrganismos mesófilos e psicrotróficos, os valores foram transformados em logaritmo base 10 [ $\log_{10}(y+1)$ ].

O programa estatístico que foi utilizado foi o SAS (Ver 8.0).

## 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 Pesquisa de *Salmonella* Spp.

Evidenciou-se ausência de *Salmonella* Spp. em 25gramas para cada amostra analisada de lingüiças de frango frescais nos grupos controles, e também nos tratamentos adicionados de tripolifosfato de sódio em distintas concentrações em todas as três repetições executadas.

Warburton et al. (1987), também não encontraram presença de *Salmonella* Spp. em amostras de lingüiças fermentadas cruas e cozidas obtidas de acordo com as boas práticas de fabricação. Concordam Cardonha et al. (1992), que observaram ausência de salmonelas em todas as amostras de caudas de lagostas processadas com tripolifosfato de sódio. Nunes (2003), também verificou ausência de *Salmonella* Spp. em amostras de carne mecanicamente separada submetidas a diferentes tratamentos durante todo seu período de estocagem.

Obafemi e Davies (1985), observaram o efeito antimicrobiano através do uso de polifosfatos, entre estes o tripolifosfato de sódio, contra a *Salmonella typhimurium* em amostras de carne moída congelada de frango, e verificaram o efeito antimicrobiano benéfico dos polifosfatos contra esta bactéria.

Discordam Hoffmann et al. (1996), que constataram e confirmaram a presença de *Salmonella* Spp. em todas as amostras de lingüiça de frango fabricadas artesanalmente, tanto no dia 0 como dia 15 de análise, as quais, apresentavam na sua formulação polifosfatos além dos demais ingredientes usados para elaboração das lingüiças. De acordo com a legislação federal as amostras foram classificadas como “produtos potencialmente capazes de causar toxinfecções alimentares” e, portanto produtos impróprios para o consumo.

Para Hoffmann et al. (1999), em onze amostras de produtos submetidos à análise, tais como: lingüiças calabresas, duas apresentaram presença de *Salmonella* Spp., as quais, foram posteriormente confirmadas. Chesca et al. (2004), verificaram presença de *Salmonella* Spp. em 12,5% do total das 48 amostras de lingüiças de frango analisadas.

Contreras et al. (2002), observaram que nas 300 amostras de carcaças de frango não tratadas com tripolifosfato de sódio foi detectada a presença de *Salmonella*

Spp. em 74 amostras, enquanto nas outras 300 amostras tratadas com tripolifosfato de sódio detectou-se presença desta bactéria em apenas 3 amostras.

Um dos maiores problemas da indústria avícola é a perda de lotes devido a contaminações microbianas (SANTOS et al., 2000). Segundo Kampelmacher (1983), pesquisas em vários países demonstraram que a carne de frango é a maior causadora de salmonelose. A contaminação da ração animal tem sido reconhecida como fonte primária de infecção dos animais, originando grande número de portadores de *Salmonella* Spp., potenciais disseminadores desse gênero de microrganismo e possíveis contaminantes de carcaças durante o abate. Dickson e Anderson (1992), observaram que agentes bactericidas utilizados na água de resfriamento são efetivos na redução de Salmonelas em níveis não detectáveis em carcaças. O polifosfato a 6%, utilizado previamente ao “chiller”, produziu pouco efeito na redução da contaminação por *Salmonella* Spp (CONTRERAS et al., 2002).

Jay (1994), explica que o aumento da elaboração de produtos em forma de massa favorece a disseminação da *Salmonella*; assim como os procedimentos inadequados de armazenamento.

Produtos cárneos embutidos, geralmente apresentam carga microbiana elevada, devido ao intenso manuseio, aos equipamentos e condimentos contaminados (SABIONI et al., 1999).

#### **4.2 Contagem de *Staphylococcus aureus***

Os valores para a contagem de *Staphylococcus aureus* foram menores que  $1,0 \times 10^3$  UFC/g tanto no grupo controle como nos demais tratamentos para as três repetições.

Nunes (2003), observou redução nas contagens para *Staphylococcus aureus* em amostras de carne mecanicamente separada, porém esta redução não foi significativa para todos os tratamentos com tripolifosfato de sódio.

Verificou-se em embutidos fermentados produzidos sob condições higiênicas que 9% dos três lotes do total de 70 amostras analisadas não estavam dentro dos padrões permitidos para contagem de *Staphylococcus aureus*, sendo que nas amostras tratadas por calor a contagem destes microrganismos reduziu, mas ficou ainda fora do padrão permitido (WARBURTON et al., 1987). Da mesma forma constataram Hoffmann et al. (1996), todas as 8 amostras analisadas apresentaram-se em desacordo com a legislação para *Staphylococcus aureus* no dia 0 de análise, sendo as amostras B ( $9,0 \times 10^3$  UFC/g),

C ( $2,0 \times 10^3$  UFC/g) e D ( $4,0 \times 10^3$  UFC/g) consideradas como produtos com condições higiênico-sanitárias impróprias, enquanto a amostra A ( $14,0 \times 10^3$  UFC/g) foi classificada como produto capaz de causar uma toxinfecção alimentar.

A presença de *Staphylococcus aureus* foi detectada em 20% das 75 amostras de caudas de lagosta processadas com tripolifosfato de sódio sendo que em 4% a contagem ultrapassou o padrão especificado na legislação vigente (CARDONHA, 1992). Concorda Vieira (1988), ao verificar a presença de *Staphylococcus aureus* em 5 amostras de caudas de lagostas, estocadas em gelo, estando acima do limite máximo permitido somente 3 amostras.

Hoffmann et al. (1999), observaram que nove das onze amostras analisadas de produtos, entre estes lingüiça calabresa, apresentaram-se fora do padrão estabelecido para contagem de *Staphylococcus aureus*.

De acordo com o ICMSF (1978), a presença de *Staphylococcus aureus* em alimentos na maioria das vezes, pode ser considerada como indicativo de contaminação por manipuladores, portadores dessa bactéria, tanto nas fossas nasais, boca, quanto na pele.

Gomes e Furlanetto (1987), relatam que a importância de patógenos como *Staphylococcus aureus* em alimentos crus está ligada ao seu poder enterotoxigênico com conseqüentes distúrbios gastrintestinais, quando da ingestão de alimentos contaminados, indicando também higiene inadequada. É importante ressaltar que o microrganismo é termolábil, podendo ser destruído após o processo normal de cocção; entretanto, a enterotoxina, produzida previamente no alimento, apresenta termorresistência, podendo permanecer ativa por vários dias.

Vasconcelos e Iaria (1991), preocupados em avaliar a qualidade das lingüiças frescas isolaram *Staphylococcus aureus* de 86,7% de 60 amostras, confirmando os achados de Hirooka et al. (1982), que também concordam quanto à variação da periculosidade das diferentes cepas dessa espécie, já que nem todas são produtoras de enterotoxinas.

Os fosfatos são particularmente eficazes frente a microrganismos gram-positivos como o *Staphylococcus aureus* (PARDI, 1996).

### 4.3 Contagem de *Clostridium* Sulfito Redutores

Não foram evidenciados *Clostridium* sulfito redutores, no grupo controle e nos diferentes tratamentos com tripolifosfato de sódio, logo apresentaram resultados menores que  $1,0 \times 10^3$  UFC/g nas três repetições.

Concordam Andrés et al. (2006), que observaram em lingüiças de peito de frango acrescentadas de 0%, 2% e 5% de sebo de boi, sob refrigeração, tratadas com tripolifosfato de sódio, ausência de *Clostridium* sulfito redutores em todas as amostras analisadas.

Em amostras de lingüiças de frango analisadas por Chesca et al. (2004), foi verificada ausência de *Clostridium* sulfito redutores, apresentando resultado  $<10$  UFC/g para todas as amostras.

Hoffmann et al. (1999), constataram que em todas as 11 amostras analisadas de produtos, incluindo lingüiças calabresa, os resultados para *Clostridium* sulfito redutores menores que 10 UFC/g.

Nunes (2003), verificou uma redução não significativa na contagem de *Clostridium perfringens* em amostras de carne mecanicamente separada submetidas a diferentes tratamentos com sais de cura.

Segundo Rudge et al. (1983), a contaminação das lingüiças pode se dar, pelo *Clostridium perfringens*, através da contaminação da matéria-prima.

Vasconcelos e Iaria (1991), isolaram em amostras de lingüiças frescas *Clostridium perfringens* e explicam que este microrganismo pode ser isolado com grande frequência nos produtos alimentícios, podem ter origem diversa, independente da manipulação dos alimentos.

### 4.4 Contagem de Coliformes Totais e *Escherichia coli*

Verificou-se que todas as amostras de lingüiças frescas de frango estavam dentro do padrão exigido pela RCD nº 12 (2001), nas quais não houve em nenhuma das amostras nas três repetições a confirmação de coliformes fecais.

Para todos os dias de análise, verificou-se através do Teste Não-paramétrico Kruskal-Wallis, ao nível de significância de 5%, que não houve diferença significativa na quantidade de coliformes totais nos diferentes tratamentos nas três repetições (Tabela 2).

Tabela 2 – Valores encontrados para contagem de coliformes totais (UFC/g) nos dias 0, 8, 15 e 22 das três repetições do experimento.

| Tratamento  | Dia                |                    |                    |                    |
|-------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|
|             | 0                  | 8                  | 15                 | 22                 |
| Controle    | $3,5 \times 10^2$  | $<1,0 \times 10^3$ | $<1,0 \times 10^3$ | $<1,0 \times 10^3$ |
|             | $<1,0 \times 10^3$ | $<1,0 \times 10^3$ | $<1,0 \times 10^3$ | $<1,0 \times 10^3$ |
|             | $<1,0 \times 10^3$ | $2,0 \times 10^2$  | $<1,0 \times 10^3$ | $<1,0 \times 10^3$ |
| 0,125% STPP | $5,0 \times 10^1$  | $<1,0 \times 10^3$ | $<1,0 \times 10^3$ | $<1,0 \times 10^3$ |
|             | $<1,0 \times 10^3$ | $<1,0 \times 10^3$ | $<1,0 \times 10^3$ | $<1,0 \times 10^3$ |
|             | $5,0 \times 10^1$  | $<1,0 \times 10^3$ | $<1,0 \times 10^3$ | $<1,0 \times 10^3$ |
| 0,25% STPP  | $2,0 \times 10^2$  | $<1,0 \times 10^3$ | $1,0 \times 10^3$  | $<1,0 \times 10^3$ |
|             | $5,0 \times 10^1$  | $<1,0 \times 10^3$ | $5,0 \times 10^2$  | $<1,0 \times 10^3$ |
|             | $1,0 \times 10^2$  | $<1,0 \times 10^3$ | $<1,0 \times 10^3$ | $<1,0 \times 10^3$ |
| 0,375% STPP | $2,0 \times 10^2$  | $<1,0 \times 10^3$ | $<1,0 \times 10^3$ | $<1,0 \times 10^3$ |
|             | $<1,0 \times 10^3$ | $<1,0 \times 10^3$ | $<1,0 \times 10^3$ | $<1,0 \times 10^3$ |
|             | $1,5 \times 10^2$  | $<1,0 \times 10^3$ | $4,0 \times 10^3$  | $<1,0 \times 10^3$ |
| 0,5% STPP   | $5,0 \times 10^1$  | $5,0 \times 10^1$  | $1,0 \times 10^3$  | $3,0 \times 10^3$  |
|             | $<1,0 \times 10^3$ | $<1,0 \times 10^3$ | $<1,0 \times 10^3$ | $<1,0 \times 10^3$ |
|             | $5,0 \times 10^1$  | $<1,0 \times 10^3$ | $4,0 \times 10^3$  | $4,5 \times 10^3$  |
| p           | 0,650              | 0,519              | 0,284              | 0,073              |

p= nível mínimo de significância do teste não-paramétrico Kruskal-Wallis; STPP= Tripolifosfato de sódio; UFC/g= Unidades formadoras de colônias por gramas.

Para todos os tratamentos, verificou-se através do Teste Não-paramétrico de Friedman, ao nível de significância de 5%, que não houve diferença significativa na quantidade de coliformes totais, nos diferentes dias, nas três repetições (Tabela 3).

Tabela 3 – Valores encontrados para contagem de coliformes totais (UFC/g) no grupo controle e nos tratamentos 1, 2, 3 e 4 das três repetições do experimento.

| Tratamento                   | Dia                  |                      |                      |                      | p     |
|------------------------------|----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|-------|
|                              | 0                    | 8                    | 15                   | 22                   |       |
| Controle                     | 3,5x10 <sup>2</sup>  | <1,0x10 <sup>3</sup> | <1,0x10 <sup>3</sup> | <1,0x10 <sup>3</sup> | 0,572 |
|                              | <1,0x10 <sup>3</sup> | <1,0x10 <sup>3</sup> | <1,0x10 <sup>3</sup> | <1,0x10 <sup>3</sup> |       |
|                              | <1,0x10 <sup>3</sup> | 2,0x10 <sup>2</sup>  | <1,0x10 <sup>3</sup> | <1,0x10 <sup>3</sup> |       |
| Tratamento- 1<br>0,125% STPP | 5,0x10 <sup>1</sup>  | <1,0x10 <sup>3</sup> | <1,0x10 <sup>3</sup> | <1,0x10 <sup>3</sup> | 0,112 |
|                              | <1,0x10 <sup>3</sup> | <1,0x10 <sup>3</sup> | <1,0x10 <sup>3</sup> | <1,0x10 <sup>3</sup> |       |
|                              | 5,0x10 <sup>1</sup>  | <1,0x10 <sup>3</sup> | <1,0x10 <sup>3</sup> | <1,0x10 <sup>3</sup> |       |
| Tratamento- 2<br>0,25% STPP  | 2,0x10 <sup>2</sup>  | <1,0x10 <sup>3</sup> | 1,0x10 <sup>3</sup>  | <1,0x10 <sup>3</sup> | 0,100 |
|                              | 5,0x10 <sup>1</sup>  | <1,0x10 <sup>3</sup> | 5,0x10 <sup>2</sup>  | <1,0x10 <sup>3</sup> |       |
|                              | 1,0x10 <sup>2</sup>  | <1,0x10 <sup>3</sup> | <1,0x10 <sup>3</sup> | <1,0x10 <sup>3</sup> |       |
| Tratamento- 3<br>0,375% STPP | 2,0x10 <sup>2</sup>  | <1,0x10 <sup>3</sup> | <1,0x10 <sup>3</sup> | <1,0x10 <sup>3</sup> | 0,284 |
|                              | <1,0x10 <sup>3</sup> | <1,0x10 <sup>3</sup> | <1,0x10 <sup>3</sup> | <1,0x10 <sup>3</sup> |       |
|                              | 1,5x10 <sup>2</sup>  | <1,0x10 <sup>3</sup> | 4,0x10 <sup>3</sup>  | <1,0x10 <sup>3</sup> |       |
| Tratamento- 4<br>0,5% STPP   | 5,0x10 <sup>1</sup>  | 5,0x10 <sup>1</sup>  | 1,0x10 <sup>3</sup>  | 3,0x10 <sup>3</sup>  | 0,120 |
|                              | <1,0x10 <sup>3</sup> | <1,0x10 <sup>3</sup> | <1,0x10 <sup>3</sup> | <1,0x10 <sup>3</sup> |       |
|                              | 5,0x10 <sup>1</sup>  | <1,0x10 <sup>3</sup> | 4,0x10 <sup>3</sup>  | 4,5x10 <sup>3</sup>  |       |

p= nível mínimo de significância do teste não-paramétrico de Friedman; STPP= Tripolifosfato de sódio; UFC/g=Unidades formadoras de colônias por gramas.

Hoffmann et al. (1996), encontraram coliformes totais em todas as quatro amostras de lingüiças analisadas. A amostra B, elaborada com carne, pele de frango, polifosfato e demais constituintes da formulação, apresentou valores para coliformes fecais (25%) acima do padrão exigido pela legislação no décimo quinto dia de análise, todas as outras amostras (75%) apresentaram-se de acordo com o padrão estabelecido pela legislação vigente.

O total da família *enterobacteriaceae* apresentou redução de uma média de 4,7 x 10<sup>2</sup> UFC/g nas amostras de carcaças de frango não tratadas para um valor de <1,0 x 10<sup>1</sup> UFC/g para as amostras tratadas com tripolifosfato de sódio. Em nenhuma amostra das séries tratadas foi detectada *Escherichia coli* (CONTRERAS et al., 2002).

Em salsichas de carne de peito de frango elaboradas com tripolifosfato de sódio em sua composição não foi verificada a presença de coliformes em todas as lingüiças submetidas a análises (ANDRÉS et al., 2006).

Segundo Varelzis et al. (1997), o número de coliformes totais na superfície de carcaças de frango tratadas com tripolifosfato de sódio e armazenadas sob refrigeração durante dez dias reduziu significativamente durante este período.

Concordam Hoffmann et al. (1999), pois das onze amostras de produtos analisados, entre essas lingüiças calabresa, todas apresentaram-se dentro do padrão estabelecido na legislação federal, constatando-se variação de  $<3$  a  $>1100$ NMP/g.

Para Conner e Hall (1994), a adição de polifosfato em concentrações de 0-5% em carne de peito de frango congelada não teve nenhum efeito na sobrevivência de *Escherichia coli* O157:H7, ou seja, as amostras adicionadas de polifosfatos não demonstraram recuperação. Concordam Cardonha et al. (1992), pois verificaram em 75 amostras de caudas de lagostas tratadas com tripolifosfato de sódio a presença destes microrganismos em 12% das amostras analisadas valores acima do padrão exigido pela legislação. Os números elevados encontrados deste grupo de bactérias podem estar relacionados às condições gerais de manipulação e do ambiente.

Chesca et al. (2004), observaram a confirmação para coliformes fecais em todas as amostras analisadas em lingüiças de frango frescas constatando condições higiênico- sanitárias insatisfatórias das mesmas.

O tempo de estocagem de amostras de carne mecanicamente separada indicou uma redução na contagem de *Escherichia coli*, sendo que esta redução não foi considerada significativa em nenhum dos tratamentos aplicados (NUNES et al., 2003).

Warburton et al. (1987), não evidenciaram *Escherichia coli* em amostras de embutidos fermentados produzidos conforme as boas práticas de fabricação. Franco e Landgraf (1996), explicam que a pesquisa de coliformes fecais ou de *Escherichia coli* nos alimentos fornece-nos, com maior segurança, informações sobre as condições higiênicas do produto e é a melhor indicação da eventual presença de enteropatógenos.

Leite et al. (1989), evidenciaram a participação dos manipuladores na contaminação alimentar de origem fecal, sendo a confirmação de tal ocorrência dada por vários autores, ao isolarem da família *Enterobacteriaceae* de amostras de lingüiça fresca coletadas em diferentes situações.

#### **4.5 Contagem de Microrganismos Mesófilos Aeróbios**

Não foram observadas diferenças significativas entre os tratamentos com tripolifosfato de sódio realizados nas amostras de lingüiças de frango para a contagem

de mesófilos aeróbios. No entanto, observa-se na Tabela 4, pequena redução nas médias das contagens do grupo controle em relação aos demais tratamentos.

Para os dias 8, 15 e 22, verificou-se aumento na contagem de microrganismos mesófilos aeróbios nas lingüiças a partir do dia “0”, sendo que no dia “22” a média foi maior quando comparada com os dias anteriores.

A média do dia “8” foi significativamente maior que a média do dia “0”, enquanto os dias “22” e “15” não apresentaram diferença significativa entre seus valores, porém estes demonstraram médias significativamente maiores que os dias “8” e “0” para a contagem de mesófilos aeróbios.

Tabela 4 – Média e desvio padrão dos valores das contagens de microrganismos mesófilos aeróbios ( $\log_{10}$ ) das amostras de lingüiças de frango das três repetições dos diferentes tratamentos nos dias 0, 8, 15 e 22 do experimento.

| Tratamento  | Dia               |               |                   |               |                   |               |                   |               | Total |               |
|-------------|-------------------|---------------|-------------------|---------------|-------------------|---------------|-------------------|---------------|-------|---------------|
|             | 0                 |               | 8                 |               | 15                |               | 22                |               |       |               |
|             | Média             | Desvio-padrão | Média             | Desvio-padrão | Média             | Desvio-padrão | Média             | Desvio-padrão | Média | Desvio-padrão |
| Controle    | 3,86              | ±0,26         | 4,69              | ±0,45         | 5,86              | ±0,34         | 6,00              | ±0,37         | 5,10  | ±0,96         |
| 0,125% STPP | 3,78              | ±0,31         | 4,59              | ±0,44         | 5,73              | ±0,22         | 5,83              | ±0,22         | 4,98  | ±0,91         |
| 0,25% STPP  | 3,73              | ±0,26         | 4,42              | ±0,31         | 5,65              | ±0,25         | 5,76              | ±0,18         | 4,89  | ±0,90         |
| 0,375% STPP | 3,70              | ±0,27         | 4,31              | ±0,25         | 5,59              | ±0,25         | 5,69              | ±0,20         | 4,82  | ±0,89         |
| 0,5% STPP   | 3,60              | ±0,25         | 4,35              | ±0,38         | 5,64              | ±0,24         | 5,79              | ±0,06         | 4,84  | ±0,96         |
| Total       | 3,74 <sup>c</sup> | ±0,27         | 4,47 <sup>b</sup> | ±0,38         | 5,69 <sup>a</sup> | ±0,26         | 5,81 <sup>a</sup> | ±0,24         | 4,93  | ±0,92         |

Médias seguidas de letras distintas diferem significativamente através da Análise de Variância, utilizando o delineamento em parcelas subdivididas, complementada pelo Teste de Comparações Múltiplas de Tukey, ao nível de significância de 5%; STPP= Tripolifosfato de sódio.

Para Vareltiz et al. (1997), durante a estocagem sob refrigeração a contagem dos microrganismos mesófilos aeróbios diminuiu nas carcaças de frango tratadas com tripolifosfato de sódio. Segundo Contreras et al. (2002), a contagem de bactérias aeróbicas foi de  $1,2 \times 10^4$  UFC/g nas amostras de carcaças de frango colhidas antes do tratamento com tripolifosfato de sódio e  $2,1 \times 10^3$  UFC/g nas amostras colhidas após tratadas com tripolifosfato de sódio.

Oliveira et al. (2002), não encontraram diferença significativa entre a contaminação por bactérias mesofílicas em carnes bovinas e suínas.

Para Nunes (2003), a avaliação da estabilidade microbiológica da carne mecanicamente separada no primeiro e no último dia de análise indicaram que não houve redução significativa nas contagens independente do tratamento aplicado.

Gomes e Furlanetto (1987), explicam que as bactérias mesofílicas são consideradas como um dos melhores indicadores da qualidade microbiológica dos alimentos, podendo fornecer indicações, tanto das condições higiênicas do seu preparo e armazenamento, como dos riscos potenciais de saúde que podem apresentar ao consumidor.

Segundo Franco e Landgraf (1996), a deterioração de alimentos pode ser causada pelo crescimento bacteriano mesofílico que levaria a alterações organolépticas. Nesse caso, números elevados são esperados e variam com o tipo de alimento e microrganismo presente. Conforme os autores acima citados, a maioria dos produtos alimentícios apresenta números superiores a  $10^6$  UFC/g quando essas alterações são detectáveis. No entanto, há aqueles em que são necessários  $10^7$  ou até mesmo  $10^8$  UFC/g do alimento.

Mossel e Tarr (1964), consideram que, de maneira geral, um alimento pode ser classificado potencialmente perigoso no ato do consumo, quando, não fermentado, obtiver uma contagem para bactérias mesofílicas superior a  $10^5$  UFC/g, indicador de que a temperatura de refrigeração do alimento não foi suficientemente baixa, a ponto de prevenir o crescimento de tais microrganismos.

#### **4.6 Contagem de Microrganismos Psicrotróficos Aeróbios**

Para todos os dias de análise as médias apresentaram-se significativamente diferentes entre si. Constatou-se aumento progressivo nas contagens de psicrotróficos aeróbios com o aumento da vida-de-prateleira das lingüiças de frango, a média do último dia de análise do experimento revelou-se maior que a média dos demais dias (Tabela 5).

Utilizou-se a análise de variância, com o delineamento em parcelas subdivididas, complementados pelo teste de comparações múltiplas de Tukey, ao nível de significância de 5%, através destes testes evidenciou-se a falta de interação significativa entre tratamento e dia, conforme a Tabela 5.

Tabela 5- Média e desvio padrão dos valores das contagens de microrganismos psicrotróficos aeróbios ( $\log_{10}$ ) das amostras de lingüiças de frango dos diferentes tratamentos nos dias 0, 8, 15 e 22 das três repetições do experimento.

| Tratamento  | Dia               |               |                   |               |                   |               |                   |               | Total |               |
|-------------|-------------------|---------------|-------------------|---------------|-------------------|---------------|-------------------|---------------|-------|---------------|
|             | 0                 |               | 8                 |               | 15                |               | 22                |               | Média | Desvio-padrão |
|             | Média             | Desvio-padrão | Média             | Desvio-padrão | Média             | Desvio-padrão | Média             | Desvio-padrão |       |               |
| Controle    | 3,22              | ±0,40         | 4,04              | ±0,14         | 5,19              | ±0,40         | 6,08              | ±0,25         | 4,63  | ±1,15         |
| 0,125% STPP | 3,01              | ±0,33         | 4,01              | ±0,13         | 5,08              | ±0,33         | 5,96              | ±0,19         | 4,52  | ±1,16         |
| 0,25% STPP  | 2,89              | ±0,40         | 3,92              | ±0,19         | 4,95              | ±0,32         | 5,85              | ±0,26         | 4,41  | ±1,17         |
| 0,375% STPP | 2,80              | ±0,47         | 3,83              | ±0,10         | 4,92              | ±0,30         | 5,81              | ±0,26         | 4,34  | ±1,19         |
| 0,5% STPP   | 2,93              | ±0,32         | 3,97              | ±0,11         | 5,17              | ±0,51         | 6,24              | ±0,10         | 4,58  | ±1,30         |
| Total       | 2,97 <sup>d</sup> | ±0,39         | 3,96 <sup>c</sup> | ±0,15         | 5,06 <sup>b</sup> | ±0,37         | 5,99 <sup>a</sup> | ±0,26         | 4,49  | ±1,18         |

Médias seguidas de letras distintas diferem significativamente através da Análise de Variância, utilizando o delineamento em parcelas subdivididas, complementada pelo Teste de Comparações Múltiplas de Tukey, ao nível de significância de 5%; STPP= Tripolifosfato de sódio.

Concorda Vieira (1988), que verificou um aumento gradual na contagem de microrganismos psicrotróficos aeróbios durante os dias de análise em caudas de lagostas tratadas com tripolifosfato de sódio a 35°C.

Discordam Andrés et al. (2006), que observaram a flora dominante nas amostras de lingüiças de frango, elaboradas com sebo bovino e tripolifosfato de sódio, era de bactérias aeróbias psicrotróficas nos primeiros vinte e oito dias de estocagem, após os cinquenta dias de estocagem das amostras a contagem destas bactérias apresentou-se reduzida.

Cardonha et al. (1992), detectaram uma variação nas contagens de microrganismos psicrotróficos, em amostras de caudas de lagostas tratadas com tripolifosfato de sódio, de  $3,0 \times 10^4$  a  $1,0 \times 10^4$  UFC/g, sendo que estas contagens não apresentaram tendência crescente da primeira à quarta fase do beneficiamento.

Este efeito pode ser atribuído a possível ação anti-microbiana do tripolifosfato de sódio que, na solução após preparo, encontrava-se mais concentrada. Considerando a ação antimicrobiana do tripolifosfato de sódio verificou-se diminuição da população bacteriana na superfície da cauda e no músculo de lagosta imersos nesta solução

(VIEIRA; 1988). Madden e Kingham (1987), observaram que camarões descascados e tratados com polifosfato apresentaram significativa redução na contagem de bactérias totais.

Nunes (2003), constatou em análises quinzenais de amostras de carne mecanicamente separada, redução na contagem das bactérias psicotróficas sendo que esta redução não foi significativa independentemente do tratamento aplicado nas amostras.

## **4.7 Análises Físico-Químicas**

### **4.7.1 Determinação da Oxidação Lipídica das Lingüiças Frescais de Frango**

Observou-se através da análise de variância, utilizando o delineamento em parcelas subdivididas, complementada pelo teste de comparações múltiplas de Tukey, ao nível de significância de 5%, que não houve interação significativa entre tratamento e dia para os valores de TBA das amostras de lingüiças de frango frescais, há a probabilidade de que esta ausência da interação entre estes dois fatores esteja relacionada ao número de repetições executadas no experimento.

Quanto aos efeitos principais, somente dia foi significativo, ou seja, independente do tratamento o dia 15 apresentou média de TBA significativamente maior do que no dia “0”, conforme os resultados mostrados na Tabela 6.

De acordo com estes achados verificou-se que dependendo do período de vida-de prateleira das lingüiças de frango os números de TBA foram influenciados, apresentando aumento significativo das médias do dia “0” para o dia “8” e para o dia “15”, evidenciando-se um pequeno decréscimo de valores no dia “22”, mantendo-se praticamente estabilizados os valores do número de TBA das lingüiças entre os dois últimos dias.

Tabela 6 - Média e desvio padrão ( $\times 10^{-2}$ ) dos números de TBA (mg MA/ Kg) das lingüiças de frango nos dias 0, 8, 15 e 22 das três repetições para os diferentes tratamentos realizados no experimento.

| Tratamento | Dia               |                   |                    |                   |                   |                   |                    |                   | Total |                   |
|------------|-------------------|-------------------|--------------------|-------------------|-------------------|-------------------|--------------------|-------------------|-------|-------------------|
|            | 0                 |                   | 8                  |                   | 15                |                   | 22                 |                   | Média | Desvio<br>-padrão |
|            | Média             | Desvio<br>-padrão | Média              | Desvio<br>-padrão | Média             | Desvio<br>-padrão | Média              | Desvio<br>-padrão |       |                   |
| Controle   | 1,41              | $\pm 0,43$        | 2,0                | $\pm 0,72$        | 2,58              | $\pm 1,2$         | 3,83               | $\pm 0,51$        | 2,45  | $\pm 1,15$        |
| 0,125%STPP | 0,98              | $\pm 0,14$        | 1,65               | $\pm 0,67$        | 2,25              | $\pm 1,05$        | 3,28               | $\pm 0,61$        | 2,04  | $\pm 1,07$        |
| 0,25%STPP  | 0,87              | $\pm 0,13$        | 1,43               | $\pm 0,63$        | 7,66              | $\pm 9,79$        | 3,12               | $\pm 0,52$        | 3,27  | $\pm 5,03$        |
| 0,375%STPP | 0,83              | $\pm 0,12$        | 1,07               | $\pm 0,34$        | 6,74              | $\pm 8,92$        | 2,77               | $\pm 0,65$        | 2,85  | $\pm 4,54$        |
| 0,5%STPP   | 0,58              | $\pm 0,22$        | 0,82               | $\pm 0,27$        | 1,23              | $\pm 0,50$        | 2,92               | $\pm 0,21$        | 1,39  | $\pm 0,99$        |
| Total      | 0,93 <sup>b</sup> | $\pm 0,34$        | 1,39 <sup>ab</sup> | $\pm 0,64$        | 4,09 <sup>a</sup> | $\pm 5,71$        | 3,18 <sup>ab</sup> | $\pm 0,59$        | 2,40  | $\pm 3,11$        |

Médias seguidas de letras distintas diferem significativamente através da análise de variância, utilizando o delineamento em parcelas subdivididas, complementada pelo teste de comparações múltiplas de Tukey, ao nível de significância de 5%; STPP= Tripolifosfato de sódio.

Melton (1983), explica que o número de TBARS praticamente dobrou o seu valor em relação à matéria-prima, em produtos cárneos de umidade intermediária e teores de cloretos entre 15 a 20%, demonstrando incremento na oxidação lipídica. Em seguida, estes números foram frequentemente reduzidos durante o armazenamento devido a reações de malonaldeído com proteínas tornando estas moléculas protéicas componentes insolúveis. Conseqüentemente, os compostos secundários originados da oxidação lipídica não podem ser detectados pelas técnicas empregadas e os valores de TBARS são relativamente baixos. O teste de TBA mede a concentração de malonaldeído somente na fase de iniciação e propagação da oxidação.

Em amostras de carne frango, submetidas à estocagem resfriadas por seis dias, verificou-se que os Números de TBA foram de 0.33-0.58 para 1.10-1.65 depois dos seis dias, caracterizando aumento dos valores durante a estocagem (PIKUL; LESZCZYNSKI; KUMMEROW, 1989). A través da adição de alho fresco e alho em pó combinados em lingüiças cruas de carne de frango verificou-se a potencialização do efeito antioxidante das amostras (SALLAM; ISHIOROSHI; SAMEJIMA, 2004).

Os resultados encontrados por Nunes et al. (2003), em lingüiças de frango com formulações “tradicionais” e “light” tratadas com diferentes antioxidantes e ácido ascórbico demonstraram os maiores valores de TBA nas amostras controles. Constatou-

se que os números de TBA encontrados nas lingüiças de frango recém-processadas em todas as doze formulações analisadas, variaram de “traços” a 0,16mg MA/Kg para amostra de lingüiças de frango “tradicionais” e de “traços” a 0,08mg/ MA/Kg para amostra de lingüiças “light” indicando, portanto, a boa qualidade das matérias-primas utilizadas na formulação das mesmas. Os números de TBA encontrados em lingüiças recém-processadas apresentaram-se extremamente baixos em todas as amostras, indicando, assim, a boa qualidade dos produtos. A estocagem sob congelamento apresentou melhores resultados no processo de controle da oxidação lipídica das lingüiças, comparada ao armazenamento sob refrigeração.

Entretanto, podem-se considerar satisfatórios os valores encontrados pelos autores acima citados quando comparados aos resultados demonstrados por Resurrección e Reynolds (1990), que encontraram valores de TBA situados entre 0,457 a 1,37 mg MA/kg para amostras de lingüiças de frango.

Mendes (1992), descreve valores de TBA entre 0 a 1,67 mg MA/Kg de amostras de “nuggets” de frango analisadas.

Quanto ao período de estocagem, observou-se que as lingüiças “tradicionais” e “light”, mantidas sob refrigeração, apresentaram teores crescentes de TBA até os vinte e dois dias, os quais apresentaram-se significativamente diferentes. Já nas amostras adicionadas de antioxidantes verificou-se redução bastante eficiente nos números de TBA em relação ao grupo controle (NUNES et al., 2003). Os resultados são semelhantes aos obtidos em pesquisa com lingüiças que reportam número de TBA bem maior no grupo controle armazenadas sob refrigeração por 4, 11, 18 e 35 dias, em comparação às formulações adicionadas de antioxidantes naturais e BHT (RESURRECCION; REYNOLDS, 1990).

Para Mielnik et al. (2002), o desenvolvimento de oxidação da lipídica medida em TBA foi relativamente lento na maioria das amostras de lingüiças de carne de frango. Os valores de TBARS variaram de 0,144 a 0,487 mg /Kg Malonaldeído, com exceção de uma amostra onde o valor era consideravelmente mais alto. A forma de armazenamento teve a maior influência nos resultados de TBARS, apresentando a matéria-prima resfriada armazenada durante 18 semanas TBARS mais elevado que o material congelado cru armazenado durante 6 semanas. A carne de aves foi classificada como o segundo fator mais importante que influenciou a estabilidade da oxidação das lingüiças.

De acordo com Dawson e Gartner (1983), a carne de peru é mais propensa a rancidez oxidativa do que a carne de galinha devido a maior quantidade de fosfolipídios e ao baixo teor de tocoferol natural.

Lira et al. (2000), observaram alterações significativas no número de TBARS da carne-de-sol em relação ao grupo controle, caracterizando um elevado número de TBARS para o grupo controle comparado com os demais tratamentos.

Para Jayasingh e Cornforth (2004), não houve decréscimo no número de TBA em carnes de porco cruas tratada com diferentes concentrações de tripolifosfato de sódio, porém nas carnes de porco cozidas tratadas com tripolifosfato de sódio houve uma redução significativa do número de TBA comparadas com as amostras do tratamento controle.

Zanardi et al. (2004), descreveram não haver diferença significativa na redução da oxidação lipídica de embutidos fermentados tratados com nitrito e ácido ascórbico, para o tratamento controle, sendo que o valor de TBA para as lingüiças frescas foi de 0,50mg MDA/Kg.

Constatou-se a manutenção da oxidação lipídica, em lingüiças estocadas durante dez meses congeladas, tratadas com antioxidante elaborado com extrato de alecrim como também no grupo controle. Suspeitou-se da ação antioxidante do eritorbato de sódio, o qual, estava presente na composição do produto (CORONADO, 2002).

A estabilidade lipídica em amostras de hambúrguer de frango tratadas com sal iodado apresentou diferença não significativa entre estas e aquelas não tratadas (TORRES et al., 1998). Kanner e Kinsella (1983), relatam que o iodo apresenta ação pró-oxidante.

Para Lai et al. (1991), a adição de ingredientes como cebola, alho e pimenta pode interferir positivamente na estabilidade lipídica dos produtos cárneos, uma vez que estes três compostos possuem atividade antioxidante.

Segundo Ferrari (1999), o teor de umidade de carnes e derivados também é relevante em fenômenos lipo-oxidativos. Ang (1988), relatou uma correlação positiva entre quantidade de água tecidual e oxidação lipídica e explica que a água é um solvente em que são dissolvidos o oxigênio e os metais catalíticos, ela apresenta um importante papel no desenvolvimento da oxidação lipídica. Concorda Awonorin (1993), o qual observou em lingüiças de frango defumadas analisadas à medida que aumentava a umidade relativa aumentavam também os valores de TBA.

Considerando a umidade e o teor de metais, a quantidade de sais em produtos cárneos representa outro fator tecnológico a ser observado no processo de oxidação lipídica (FERRARI,2000).

Rhee et al. (1983), demonstraram que a adição de NaCl aumentava os valores de TBA e diminuía a coloração da carne.

Os condimentos contém flavonóides, substratos para peroxidases que promovem a oxidação lipídica, levando à formação de radicais de fenoxil. Para Love (1983), baixas concentrações de nitrito promovem efeito antioxidante, ao passo que em elevadas concentrações o nitrito é pró-oxidante.

O tipo de músculo utilizado na fabricação de embutidos é um importante fator que influencia a oxidação lipídica (RIEDEL, 1992). Para Torres (1998), em produtos cárneos de umidade intermediária (Aw 0,75) e teores de cloretos de 15-20%, o número de TBARS praticamente dobra o seu valor em relação à matéria-prima, demonstrando incremento na oxidação lipídica. Ledward (1981), explica que estes números são freqüentemente reduzidos durante o armazenamento devido a reações de malonaldeído com proteínas, tornando essas moléculas protéicas componentes insolúveis.

Reagan et al. (1983), observaram que o número de TBA em lingüiças de carne suína após 28 dias de armazenamento refrigerado atingiu mais do que o dobro dos valores iniciais. Para Awonorin (1993), o número de TBA teve seus valores dobrados após 4 semanas de armazenagem refrigerada, em comparação com os valores iniciais.

Moerck e Ball (1973), sugeriram que as variações em valores de TBA em carnes de aves e outros produtos avícolas de acordo com a literatura, poderiam ser devido a um nível alto de microorganismos presentes devido às alterações da microflora na carne.

Ferrari (2000), explica que fatores como desossa mecânica, fatiamento, moagem, trituração e emulsificação de carnes, provocam o rompimento de células e organelas, resultando na liberação de ferro, cobre, outros metais de transição e enzimas, além da exposição das membranas celulares ao oxigênio e seus derivados, fenômenos que promovem aumento da oxidação lipídica.

#### 4.7.1.1 Teste de Recuperação

Nos resultados para “R” (recuperação de malonaldeído), verificou-se redução dos valores das médias do grupo controle (tratamento = 0) para o tratamento 3 nos dias 0, 8, 15 e 22, no entanto estes valores não foram diferentes significativamente.

A análise de variância usada juntamente com o delineamento em parcelas subdivididas complementada pelo teste de comparações múltiplas de Tukey, ao nível de significância de 5%, constatou que não houve interação significativa entre tratamento e dia, conforme dados expressos na Tabela 7.

Tabela 7 - Média e desvio padrão dos valores de “R” das amostras de lingüiças de frango para cada tratamento realizado nos dias 0, 8, 15 e 22 das três repetições do experimento.

| Tratamento | Dia   |               |       |               |       |               |       |               | Total |               |
|------------|-------|---------------|-------|---------------|-------|---------------|-------|---------------|-------|---------------|
|            | 0     |               | 8     |               | 15    |               | 22    |               | Média | Desvio-padrão |
|            | Média | Desvio-padrão | Média | Desvio-padrão | Média | Desvio-padrão | Média | Desvio-padrão |       |               |
| Controle   | 0,625 | ±0,192        | 0,767 | ±0,140        | 0,723 | ±0,216        | 0,739 | ±0,098        | 0,714 | ±0,154        |
| 0,125%STPP | 0,639 | ±0,179        | 0,734 | ±0,151        | 0,677 | ±0,196        | 0,733 | ±0,156        | 0,696 | ±0,152        |
| 0,25%STPP  | 0,607 | ±0,149        | 0,700 | ±0,202        | 0,648 | ±0,219        | 0,729 | ±0,150        | 0,671 | ±0,163        |
| 0,375%STPP | 0,553 | ±0,147        | 0,699 | ±0,173        | 0,619 | ±0,201        | 0,702 | ±0,134        | 0,643 | ±0,155        |
| 0,5%STPP   | 0,659 | ±0,252        | 0,804 | ±0,153        | 0,697 | ±0,197        | 0,666 | ±0,113        | 0,706 | ±0,170        |
| Total      | 0,617 | ±0,163        | 0,741 | ±0,146        | 0,673 | ±0,178        | 0,714 | ±0,115        | 0,686 | ±0,156        |

STPP= Tripolifosfato de sódio.

Segundo Sharon (1983), embora o malonaldeído seja um produto secundário da oxidação lipídica, necessariamente não significa que o número de TBA continue aumentando durante o armazenamento dos produtos.

Wilson et al. (1976), revelaram que os teores de Malonaldeído de carnes armazenadas sob refrigeração são significativamente maiores que os de carnes recém-cozidas que também são maiores que os das carnes cruas.

Amostras de charque revelaram recuperação do malonaldeído de 76,5% enquanto o valor de K foi igual a 6,32 (TORRES et al., 1989). Para Crackel et al. (1988), o valor da recuperação do malonaldeído em amostras de coxa e peito de frango foi de 68,6%.

Os números de TBA em produtos cárneos armazenados congelados apresentaram-se baixos (SEO, 1976). Avalia-se que estes números baixos são devido às reações do malonaldeído com as proteínas (L, 1967; GARDNER, 1979).

#### 4.7.1.2 Curva Padrão do Malonaldeído

Para a realização deste trabalho foram executados três experimentos, portanto foram obtidos três valores de declividade da curva padrão de malonaldeído (MA) e três resultados para o fator de correlação linear que consiste na medida do grau de associação linear entre as variáveis y (absorbância) e x (concentração de malonaldeído), encontrados em cada experimento.

Os valores para declividade da curva padrão de malonaldeído (MA) encontrados nos experimentos 1, 2 e 3 foram respectivamente: 0,0238; 0,021; 0,0223 (Figuras 8, 9 e 10).

Os resultados do fator de correlação linear ( $R^2$ ) para cada experimento foram os seguintes: experimento1  $R^2 = 0,578$ ; experimento2  $R^2 = 0,5582$ ; experimento3  $R^2 = 0,7225$  (Figuras 8, 9 e 10).

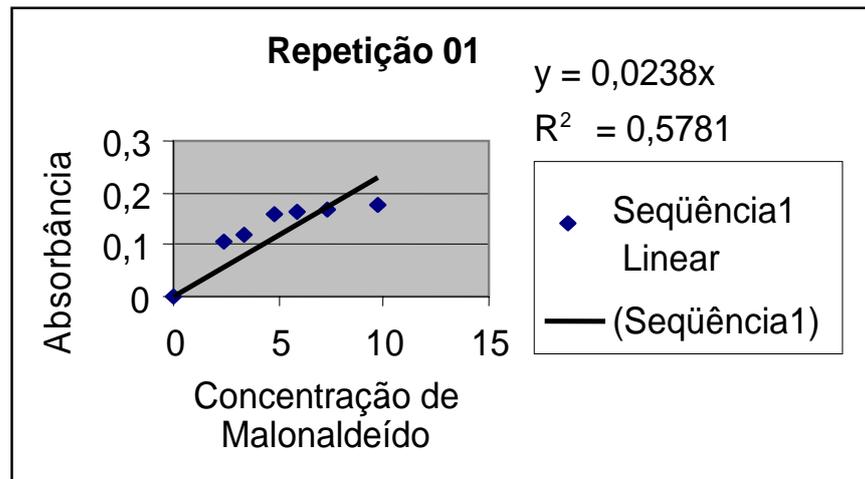


Figura 8 - Curva padrão do malonaldeído através da qual determinou-se o N° de TBA das amostras de lingüiças frescas de frango na primeira repetição do experimento.

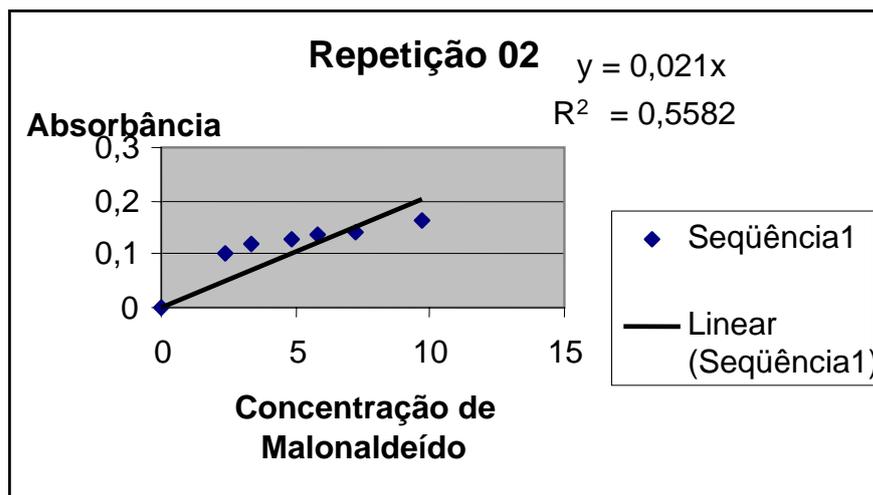


Figura 9 - Curva padrão do malonaldeído através da qual determinou-se o N° de TBA das amostras de lingüiças frescas de frango na segunda repetição do experimento.

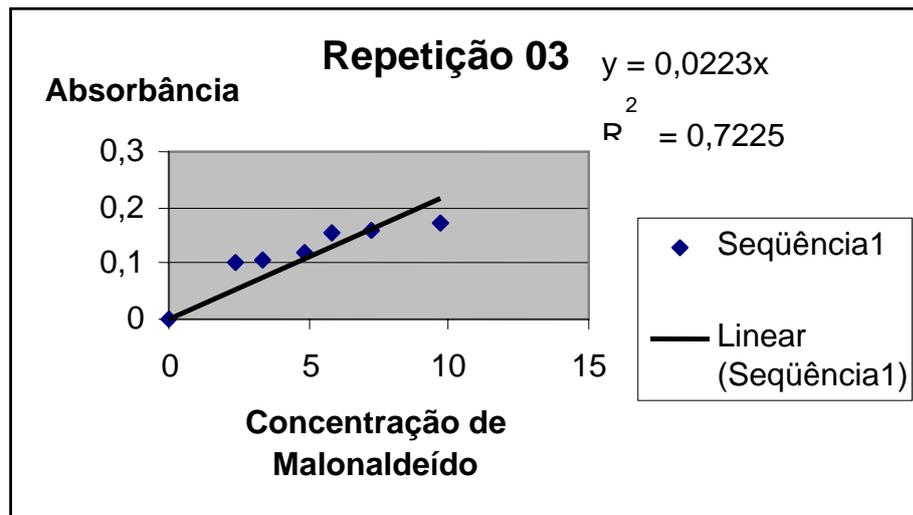


Figura 10 - Curva padrão do malonaldeído através da qual determinou-se o N° de TBA das amostras de lingüiças frescas de frango na terceira repetição do experimento.

#### 4.7.1.3 Valor do fator de correção (K):

Os valores dos efeitos principais como: tratamento e dia, não foram significativos para os valores de “K”. Observou-se que as médias de “K” não sofreram redução progressiva do grupo controle (tratamento = 0) para os demais tratamentos.

Constatou-se através dos resultados obtidos que os valores de “K” foram baixos quando comparados a outros trabalhos. Crackel et al. (1988), explica que resultados baixos para o fator de correção, geralmente, ocorrem devido a elevada recuperação do malonaldeído que é produto secundário da oxidação lipídica (Tabela 8).

Tabela 8 - Média e desvio padrão dos valores de “K” das lingüiças de frango para os diferentes tratamentos nos dias 0, 8, 15 e 22 das três repetições do experimento.

| Tratamento  | Dia   |               |       |               |       |               |       |               | Total |               |
|-------------|-------|---------------|-------|---------------|-------|---------------|-------|---------------|-------|---------------|
|             | 0     |               | 8     |               | 15    |               | 22    |               | Média | Desvio-padrão |
|             | Média | Desvio-padrão | Média | Desvio-padrão | Média | Desvio-padrão | Média | Desvio-padrão |       |               |
| Controle    | 0,553 | ±0,196        | 0,427 | ±0,093        | 0,473 | ±0,155        | 0,433 | ±0,035        | 0,472 | ±0,126        |
| 0,125%STPP  | 0,533 | ±0,191        | 0,450 | ±0,111        | 0,503 | ±0,156        | 0,443 | ±0,064        | 0,483 | ±0,125        |
| 0,25% STPP  | 0,557 | ±0,193        | 0,487 | ±0,172        | 0,540 | ±0,200        | 0,447 | ±0,059        | 0,508 | ±0,149        |
| 0,375% STPP | 0,620 | ±0,235        | 0,480 | ±0,144        | 0,560 | ±0,205        | 0,463 | ±0,057        | 0,531 | ±0,163        |
| 0,5% STPP   | 0,567 | ±0,315        | 0,410 | ±0,090        | 0,483 | ±0,142        | 0,487 | ±0,055        | 0,487 | ±0,165        |
| Total       | 0,566 | ±0,197        | 0,451 | ±0,111        | 0,512 | ±0,151        | 0,455 | ±0,050        | 0,496 | ±0,143        |

STPP= Tripolifosfato de sódio.

Os fatores de conversão em amostras de coxa e peito de frango foram de 7,1 (CRACKEL et al., 1988). Enquanto o valor de K foi igual a 6,32 em amostras de charque (TORRES et al., 1989).

Para o método do ácido TBA o fator de conversão K foi menor do que 7,8 (TARLADGIS; WATTS; YOUNATHAN, 1960). Os valores médios de K foram menores nas amostras de hambúrgueres tratadas com 2% de NaCl (RODRIGUES, 2005).

#### 4.8 Determinação de pH

A partir dos resultados expressos na Tabela 9, pode-se verificar que independente do tratamento empregado às amostras de lingüiças de frango, o dia “22” apresentou média de pH significativamente maior do que nos demais dias. Os dias “15” e “8” não diferiram entre si quanto à média de pH mas são significativamente maiores do que no dia “0”.

Constatou-se que com o aumento do tempo de vida útil das lingüiças de frango, nos diferentes tratamentos, os valores de pH sofreram aumento diretamente proporcional, os quais apresentaram-se mais alcalinos.

Não houve correlação significativa entre tratamento e dia para os valores de pH das amostras de lingüiças de frango. No entanto, explica Girard (1991), que a adição de polifosfatos na carne eleva o pH de 0,2 a 0,5, ficando fora do ponto isoelétrico.

Segundo Sheard et al. (1999), amostras de carnes suínas tratadas com concentrações entre 3-5% de polifosfatos apresentaram pH mais elevado (próximo da neutralidade) do que as amostras não tratadas com polifosfatos.

Tabela 9 - Média e desvio padrão dos valores de pH das lingüiças de frango, nos dias 0, 8, 15 e 22 das três repetições do experimento.

| Tratamento | Dia               |               |                   |               |                   |               |                   |               | Total |               |
|------------|-------------------|---------------|-------------------|---------------|-------------------|---------------|-------------------|---------------|-------|---------------|
|            | 0                 |               | 8                 |               | 15                |               | 22                |               | Média | Desvio-padrão |
|            | Média             | Desvio-padrão | Média             | Desvio-padrão | Média             | Desvio-padrão | Média             | Desvio-padrão |       |               |
| Controle   | 5,80              | ±0,27         | 5,93              | ±0,24         | 6,09              | ±0,13         | 6,20              | ±0,19         | 6,01  | ±0,26         |
| 0,125%STPP | 5,98              | ±0,29         | 6,21              | ±0,17         | 6,12              | ±0,16         | 6,40              | ±0,28         | 6,18  | ±0,27         |
| 0,25%STPP  | 6,01              | ±0,28         | 6,27              | ±0,13         | 6,29              | ±0,13         | 6,43              | ±0,21         | 6,25  | ±0,24         |
| 0,375%STPP | 6,31              | ±0,18         | 6,37              | ±0,17         | 6,44              | ±0,22         | 6,50              | ±0,22         | 6,41  | ±0,20         |
| 0,5%STPP   | 6,37              | ±0,18         | 6,49              | ±0,43         | 6,58              | ±0,33         | 6,82              | ±0,55         | 6,56  | ±0,42         |
| Total      | 6,09 <sup>c</sup> | ±0,32         | 6,25 <sup>b</sup> | ±0,30         | 6,30 <sup>b</sup> | ±0,27         | 6,47 <sup>a</sup> | ±0,37         | 6,28  | ±0,34         |

Médias seguidas de letras distintas diferem significativamente através da Análise de Variância, utilizando o delineamento em parcelas subdivididas, complementada pelo Teste de Comparações Múltiplas de Tukey, ao nível de significância de 5%; STPP= Tripolifosfato de sódio.

O comportamento do pH nos alimentos constitui outro fator que influencia a oxidação lipídica, tanto em carnes *in natura* quanto em produtos cárneos (FERRARI, 2000). Chen e Waimaleongora (1981), verificaram em peito e coxa de frango crus que quanto menor o valor do pH, maior era a oxidação lipídica, medida pelo valor de TBA.

Para Barbut e Mittal (1991), os tratamentos com 0-5% de tripolifosfato em amostras de massa de carne demonstraram pH alcalino e para as amostras de massa de carne tratadas com 0-5% de ácido pirofosfato de sódio o pH apresentou-se ácido.

Observou-se que o pH se manteve constante em lingüiças de peito de frango elaboradas com tripolifosfato de sódio durante os vinte e oito primeiros dias de estocagem sob refrigeração (ANDRÉS, 2006).

Foi verificado o pH de amostras de carne moída congelada de frango tratada com polifosfatos, incluso o tripolifosfato de sódio, e os valores de pH das amostras apresentaram-se alterados de acordo com as concentrações dos tratamentos com polifosfatos aplicados sendo que a atividade de água das amostras não foi alterada (OBAFEMI; DAVIES, 1985).

Para Udaeta e Terra (1995), os valores de pH de amostras de presunto “cook-in” elaborado com pernil suíno tratadas com distintas concentrações e diferentes tipos de polifosfato de sódio não apresentaram diferença significativa entre os tratamentos, tanto do pH da carne como do pH após tampleamento.

Foi constatado aumento dos valores do pH da carne de búfalo submetida à adição de diferentes fosfatos, entre estes: o tripolifosfato de sódio, o pirofosfato de sódio, o hexametafosfato de sódio e o ácido pirofosfato de sódio, em diferentes níveis de concentrações e verificou-se que quanto maior a concentração dos mesmos maiores os valores do pH. A ordem de efetividade dos fosfatos foi a seguinte pirofosfato de sódio (SPP) > tripolifosfato de sódio (STPP) > hexametafosfato de sódio, sendo que o SPP e STPP apresentaram um aumento significativo no pH da carne. Em contrapartida os efeitos dos SAPP e SHMF foram significativamente pobres comparados aos demais fosfatos testados (ANJANEYULU; SHARMA; KONDAIAH; 1989).

Os valores de pH no dia zero de estocagem para amostras de lingüiças de carne de frango “tradicionais” e “light” submetidas à adição de ácido ascórbico e diferentes antioxidantes naturais e sintéticos variaram de 6,03 a 6,15 e de 6,01 a 6,10, respectivamente, não se observando diferença significativa entre as formulações (NUNES et al., 2003).

Para Lima et al. (2004), os emulsificantes e estabilizantes testados em lingüiças caprinas não influenciaram o pH destas, porém os valores de pH sofreram variações não significativas nos seus valores de 5,99 a 6,70 para as lingüiças resfriadas e de 5,96 a 6,42 para as lingüiças congeladas. No período de quinze dias de estocagem refrigerada, observou-se um decréscimo dos valores de pH em todos os tratamentos, embora esta redução não tenha sido significativa.

Concorda Gouveia (2000), constatando que os valores de pH e  $A_w$  das lingüiças não apresentaram diferenças significativas ( $> 0,05$ ) entre os tratamentos, embora se tenha observado diferenças ( $P < 0,05$ ) quanto ao período de 8 dias de estocagem refrigerada.

Pino (2005), observou variação do pH entre 5,88 a 6,39 durante a realização do experimento em amostras de coxas de frango sendo que somente um dos tratamentos foi influenciado pelo tempo de armazenamento.

Sabe-se que o músculo de animais logo após o abate sofre uma série de reações bioquímicas que trazem como consequência variações de pH das carnes, variações cuja velocidade é extremamente influenciada pela temperatura de estocagem (HENDRICK et al. ,1994).

## 5. CONCLUSÕES

Quanto à qualidade microbiológica das lingüiças frescas de frango, pode-se concluir que as mesmas apresentaram-se dentro dos padrões exigidos pela legislação, pois não foi constatada presença de *Salmonella Spp.*, *Staphylococcus aureus*, e nem de *Clostridium sulfito redutores* em nenhuma das amostras analisadas.

A adição de tripolifosfato de sódio não teve efeito bactericida sobre os coliformes totais, para os quais as contagens nas lingüiças frescas de frango foram variadas, independentes do tratamento aplicado e/ou do dia de análise.

O tripolifosfato de sódio não apresentou efeito sobre os microrganismos aeróbios mesófilos nos primeiros dias do experimento, pois as bactérias apresentaram crescimento progressivo nestes, porém entre os dias de análise finais houve certa estabilização nas contagens destes microrganismos. Para as contagens dos psicrotóxicos, nas amostras tratadas com tripolifosfato de sódio, não foi verificada ação estabilizante do aditivo sobre estas bactérias, mas sim aumento progressivo do número das mesmas durante a vida-de-prateleira das lingüiças de frango.

Como antioxidante o tripolifosfato de sódio demonstrou, a partir das lingüiças frescas de frango tratadas com tal aditivo, números de TBA baixos, e aumento progressivo destes números durante a vida-de-prateleira das lingüiças. No período final, ou seja, no último dia de análise verificou-se pequeno decréscimo dos números de TBA das lingüiças.

Houve a influência do tripolifosfato de sódio sobre o pH das lingüiças frescas de frango. Os resultados comprovam que este aditivo promoveu elevação do pH nos tratamentos com maior concentração de tripolifosfato de sódio, embora a diferença entre os mesmos não tenha sido significativa. Durante o período de vida útil das amostras de lingüiças de frango o pH sofreu também elevação dos seus valores tornando-se mais alcalino e apresentou valores significativamente diferentes para os dias de análise.

Devem ser realizadas novas pesquisas para avaliar a qualidade sensorial de subprodutos cárneos adicionadas com diferentes concentrações de tripolifosfato de sódio à procura de correlações com as demais características dos produtos.

## REFERÊNCIAS

ADDIS, P.B. Occurrence of lipid oxidation products in foods. **Food Chemical Toxicologies** , v.24, p.10-21, 1986.

ADDIS, P.B.;CSALLANY, A.; KINDOM, S.E. Some lipid oxidation products as xenobiotics. In:FINLEY, J. W.; SCHWASS, D.E. (Eds.). **Xenobiotics in foods and feeds**. Washington: American Chemical Society, 1983. p. 85-234 (ACS Symposium Series).

ADITIVOS de uso em procesamiento de carnes. Universidade Nacional da Colômbia, 2004.

Disponível em:<<http://www.virtual.unal.edu.co/cursos/agronomia/2001819/lecciones>>  
Acesso em: 2 jul. 2004.

ALMEIDA, P. F.; SILVA, E. N.; ALMEIDA, R. C. C. Contaminação e disseminação bacterianas de carcaças de frangos em abatedouros. **Higiene Alimentar**, v. 7, p. 12-17,Ago. 1993.

ANDRÉS, S.C. et al. Storage stability of low-fat chicken sausages. **Journal of Food Engineering**, v. 72, n. 4, p. 311-319, Feb. 2006.

ANG, C.Y.W.Comparision of broiler tissues for oxidative changes after cooking and refrigerated storage. **Journal Food Science**, v.5, p. 53-1072,1988.

ANJANEYULU, A.S.R.; SHARMA, N.; KONDAIAH, N. Evaluation of salt, polyphosphates and their blends at different levels on physicochemical properties of buffalo meat and patties. **Meat Science**, v.25, n.4, p.293-306, 1989.

ARENDRT, B.; SKIBSTED, L. H.; ANDERSEN, H. J. Antioxidative activity of nitrite in metmyoglobin induced lipid peroxidation. **Z Lebensm Unters Forsch A**, v.204, p. 7-12, 1997.

ARIMA, H.K.; NETO, M.P. **Curso sobre qualidade e processamento de presunto cozido e apresetado**. Campinas: Instituto de Tecnologia de Alimentos, Centro de Tecnologia de Carnes, 1995. p. 10-35.

AWONORIN, S.O. Quality of smoked chicken-guinea – fowl sausage as affected by processing conditions and cold storage. **Food Science Technologie** , v.26, p. 90-285,1993.

BANWART, G. J. **Basic food microbiology**. 2 ed. New York: Van Nostrand Reinhold, 1989. p.371-392.

BARBUT, S.; MITTAL, G. S. Phosphates and antioxidants as cryoprotectants in meat batters. **Meat Science**, v.30, p. 279-291,1991.

BOBBIO, F. O.; BOBBIO, P. A. **Introdução à química dos alimentos**. São Paulo: Varela, 2 ed., 1992, 223p.

BOURGEOIS, C. M.; MESCLE, J. F.; ZUCCA, J. **Microbiologia alimentaria: aspectos microbiológicos de la sanidad y calidad alimentaria**. Zaragoza : Acribia, 1994. v.1, 437p.

BRANEN, A.L.; DAVIDSON, P.M.; SALMINEN, S. **Food Additives**. 1ª ed. New York: Marcel Dekker, 1990. p. 20-65.

BRASIL. **Câmara de Comércio Exterior**. Resolução camex nº 22 de 28 de julho de 2003, Art. 25 do Decreto nº 1602, de 1995. Brasília, D.O.U 2004. Disponível em: <<http://www.leonardibezerra.com.br/publique-se/leiamais.cfm?notícia=413>>. Acesso em: 17 nov. 2004.

BRASIL. Ministério da Agricultura. Instrução Normativa nº 62 de 26 de agosto de 2003. Brasília, DF, 2003. **Oficializa os Métodos Analíticos Oficiais para Análises Microbiológicas para controle de Produtos de Origem Animal e Água**. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br/agrolegis/imagem?codarquivo=6078>> Acesso em : 25 out. 2005.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Resolução nº 12, de 02 de janeiro de 2001. **Regulamento técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos**. Disponível em: <[http://www.anvisa.gov.br/legis/resol/12\\_01rdc.html](http://www.anvisa.gov.br/legis/resol/12_01rdc.html)>. Acesso em: 20 dez. 2004.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Resolução nº 179, de 17 de outubro de 2001. **Aprova a extensão de uso dos Aditivos INS 451i Tripolifosfato de sódio como estabilizantes em produtos cárneos, em complementação ao vigente na Portaria SVS/MS nº 1004 de 11 de dezembro de 1998**. Disponível em: <<http://e-legis.bvs.br/leisref/public/show/Act.php?id=3179>> Acesso em: 10 nov. 2004.

BRASIL. Ministério da Agricultura. **Regulamento técnico de identidade e qualidade de lingüiça**. Brasília, DF, 2000.

Disponível em: <<http://www.engetecno.com.br/nutri/lingüiça.htm>> Acesso em: 17 nov. 2004.

BRASIL. Resolução nº 387 de 05 de agosto de 1999. Regulamento Técnico **uso de aditivos alimentares para balas, confeitos, bombons, chocolates e similares**.

Disponível em:<<http://www.anvisa.com.br> > Acesso em: 10 jan. 2005.

BRASIL. Portaria nº 1004 de 11 de dezembro de 1998. **Atribuição para funções de aditivos para a categoria de carnes**. Disponível em: <<http://www.anvisa.com.br>>

Acesso em: 28 dez. 2004.

BRASIL. Portaria nº 540 – SVS/MS, de 27 de outubro de 1997. Regulamento técnico: **Aditivos alimentares e coadjuvantes de tecnologia de fabricação**. Disponível em

:<http://anvisa.com.br> > Acesso em: 14 nov. 2004.

BREWER, M.S. et al. Sodium lactate effects on shelf-life, sensory, and physical characteristics on fresh pork sausage. **Journal of Food Science**, v.56, n.5, p.58-62,1995.

BUTTKUS, H.A. The reaction of myosin with malonaldehyde. **Journal Food Science**. v.48, p.428-432, 1967.

CARDONHA, A.M.S.; VIEIRA, R.H.S.F.; CASIMIRO, A.R.S. Investigação sobre a microbiota de caudas de lagostas processadas com tripolifosfato de sódio. **Higiene Alimentar**, v.6, n. 21, p. 25-32, mar. 1992.

CASSIDY, J.P. How phosphates work in processed meats. **Meat Processing**, n.6, p.45-50, 1977.

CHEN, T.C.; WAIMALEONGORA, E.K.C. Effect of pH on TBA values of ground raw poultry meat. **Journal Food Science**, v.7, p. 46-1946, 1981.

CHESCA, A.C. et al. Avaliação higiênico-sanitária de produtos cárneos artesanais. **Higiene Alimentar**, v.18, n.118, p.71-75, mar. 2004.

CONNER, D.E.; HALL, G.S. Efficacy of selected media for recovery of *Escherichia coli* O157:H7 from frozen chicken meat containing sodium chloride, sodium lactate or polyphosphate. **Food Microbiology**, v.11, p. 337-344,1994.

CONTRERAS, C. C. et al. **Higiene e sanitização na indústria de carnes e derivados**. São Paulo: Varela, 2002. p. 51-159.

CORONADO, S.A. et al. Antioxidant effects of rosemary extract and whey powder on the oxidative stability of wiener sausages during 10 months frozen storage. **Meat Science**, v.62, n.2, Oct. 2002, p. 217-224.

CRACKEL, R. L. et al. Some further observations on the TBA test as an index of lipid oxidation in meats. **Food Chemistry**, v.2, p. 187-196, 1988.

DAWSON, L.E.; GARTNER, R. Lipid oxidation in mechanically deboned poultry. **Food Technology**. v.37, n. 7, p. 112-116, 1983.

DICKSON, J.S.; ANDERSON, M.E. Microbiological decontamination of food carcasses by washing and sanitizing systems: a review. **Journal of Food Protection, Moines**, v.55, n.2, p.133-140, Feb. 1992.

DOYLE, M.P.; CLIVER, D.O. Salmonella. In: CLIVER, D.O. (Ed.). **Foodborndiseases.**, San Diego: Academic Press 1990. cap. 11, p. 186-204.

DORKO, C. Antioxidants used in foods. **Food Technology**, v.48, n.4, p.22-33, 1994.

DZIEZAK, J.D. Preservatives: Antioxidants. The ultimate answer to oxidation. **Food Technology**, v. 40, n. 9, p. 94-102, 1996.

EGAN, A. F. **Microbiology and storage life of chilled fresh meats**. In: EUROPEAN MEETING OF MEAT RESEARCH WORKERS, 1984, Bristol. **Proceedings Bristol: Association** , 1984. p. 211-214.

ESCOBAR, J.E. **Introduccion a la higiene de los alimentos**. Zaragoza: Acribia, 1981. p. 35.

FERRARI, C.K.B. Fatores bioquímicos e físicos pró e anti-oxidantes, relacionados à oxidação lipídica dos alimentos. **Higiene Alimentar**. v.14, n. 78, p. 37-44, set./dez. 2000.

FERRARI, C.K.B. Oxidação lipídica em alimentos e sistemas biológicos: mecanismos gerais e implicações nutricionais e patológicas. **Revista Nutrição**, v.11, p.3-14,1999.

FOOD CHEMICAL CODEX – FCC SI N° 35 de 1980. **Emulsifiers, stabilisers, thickening and gelling agents in food.** Regulations, IV Edition, 1980.

FORSYTHE, S. J. **Microbiologia da segurança alimentar.** Porto alegre: Artmed, 2002. 424p.

FRANCO, B. D.G. de M.; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos Alimentos.** São Paulo: Atheneu, ,1996. p.27-28.

GARCIA, C.E.R. et al. Antioxidantes utilizados na indústria cárnea. **Revista Nacional da Carne**, v.299, p.37-49, jan. 2002.

GARDINI, C.H.C. Efeito da vitamina E na qualidade da carne de frango de corte. **Revista Nacional da Carne**, v.288, p.90-97,FeV. 2001.

GARDNER, H.W. Lipid hydroperoxide reactivity with proteins and aminoacids: a review. **Journal Food Chemistry**, v.27, p.220, 1979.

GERHART, U. **Aditivos e ingredientes.** Zaragoza: Acribia,1980. p. 89-100.

GERMANO, P.M.L.; GERMANO, M.I.S. **Higiene e vigilância sanitária de alimentos.** São Paulo: Varela, 2001. p. 236-246.

GILL, C. O.; NEWTON, K. G. The ecology of bacterial spoilage of fresh meat at chill temperatures. **Meat Science**, Barking, v. 2, n. 3, p. 207-217,1978.

GIRARD, J.P. **Tecnologia de la carne y de los productos cárnicos.** Zaragoza: Acribia, 1991. p.55-70.

GOMES, M.F.F.F.; FURLANETTO, S.M.P. Grupos de bactérias isoladas a partir de amostra de fígado de bovino. **Revista de Microbiologia**,v.18, n.4, p.335-343, out./dez. 1987.

GONÇALVES, A. A. **Estudo do processamento da anchova, pomatomus saltatrix (Pisces: Pomatomidae) utilizando aroma natural de fumaça.** Dissertação de Mestrado. Fundação Universidade do Rio Grande, 1998, 102p.

GOUVEIA, S.C. Avaliação de alguns emulsificantes e estabilizantes industriais nas propriedades funcionais e sensoriais de lingüiças caprinas. Disponível em: <[http://www.biblioteca.ufpb.br/catalogo\\_96\\_2000/campus1/c\\_tec\\_ali00.htm](http://www.biblioteca.ufpb.br/catalogo_96_2000/campus1/c_tec_ali00.htm)> Acesso em: 02 dez. 2005.

HAYES, P.R. **Microbiologia e higiene de los alimentos**. Zaragoza: Acribia,1993. p.17-102.

HAUSCHILD, A.H.W.; DODDS, K.L. *Clostridium botulinum*: ecology and control in foods. New York: Marcel Dekker, 1993. 412 p.

HENDRICK, H.B. et al. **Principles of meat science**. 3<sup>rd</sup> ed. Iowa: Hunt Publishing Company, 1994. p. 95-122.

HENSON, L.S.; KOWALEWSKI, J. Use of phosphates in seafood. **Infofish International**, v.5, 1992. p. 52-54.

HINTON, M.; LINTON, A. H. **Field and experimental investigations into the epidemiology of Salmonella infections in broiler chickens**. In: SMULDERS, F. J. M. Elimination of pathogenic organisms from meat and poultry: International Symposium. Prevention of Contamination and Decontamination in the Meat Industry Proceedings. Zeist, Elsevier Science, p. 27-38,1966.

HIROOKA, E.Y.; MULLER, E.E.; SANTO, A.E. Bacterimetria de *Staphylococcus aureus*, em produtos cárneos comercializados em Londrina, Paraná. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. v.2, n.2, p. 22-111, 1982.

HOBBS, B.C.; ROBERTS, D. **Toxinfecções e controle higiênico-sanitário de alimentos**. São Paulo: Varela, 1998. p. 26-31.

HOBBS, B.C. *Clostridium perfringens* and *Bacillus cereus* infections. In: RIEMANN, H. (Ed.). **Food-borne infections and intoxications**. New York : Academic Press, 1969. p.

HOFFMANN, F.L.; CRUZ, C.H.G.; VINTURIM, T.M. Estudo higiênico-sanitário de amostras de diferentes produtos cárneos. **Higiene Alimentar**. v.13, p. 43-47, jul./ago. 1999.

HOFFMANN, F.L. et al. Análise microbiológica e sensorial de lingüiça de frango produzida artesanalmente. **Boletim do Centro de Pesquisa e Processamento de Alimentos**.v.14, n.1, p. 49-58, jan./jun.1996.

INTERNATIONAL COMMISSION ON MICROBIOLOGICAL SPECIFICATION FOR FOODS. **Microorganisms in foods**. I. their significance and methods of enumeration. 2<sup>rd</sup> ed. Toronto: University of Toronto , 1978. p. 55-60.

JAY, J. M. **Microbiologia moderna de los alimentos**. Zaragoza: Acribia. 3.ed. 1994. 491p.

JAYASINGH, P.; CORNFORTH, D.P. Comparison of antioxidant effects of milk mineral, butylated hydroxytoluene and sodium tripolyphosphate in raw and cooked ground pork. **Meat Science**. v. 66, n. 1, p.83-89, Jan. 2004.

JENSEN, C.; LAURIDSEN, C.; C.; BERTELSEN, G. Dietary vitamin E: quality and storage stability of pork and poultry. **Trends in Food Science & Technology**, v.9, p.62-72, 1998.

KAMPELMACHER, E.H. Irradiation of control of *Salmonella* and other pathogens in poultry and fresh meats. **Food Technology**. Chicago, v.1, n.1, p. 117-119, 1983.

KANNER, J.; KINSELLA, J.E. Initiation of lipid peroxidation by a peroxidase/hydrogen peroxide/halide system. **Lipids**, v.18, n.3, p. 204-210, 1983.

LAI, S. et al. Effects of oleoresin rosemary, tertiary butylhydroquinone, and sodium tripolyphosphate on the development of oxidative rancidity in restructured chicken nuggets. **Journal Food Science**. v.56, n.3, 1991. 616p.

LECHOWICH, R. V. Microbiology of meat. In: PRICE, J. F.; SHWIGERT, B. S. (Eds.). **The science of meat and meat products**. San Francisco: WH Freeman and Company, 1971. p. 230-286.

LEDWARD, D.A. Intermediate moisture meats. In: LAWRIE, R.A. ed. **Developments in meat science**. 2<sup>nd</sup> ed. London: Elsevier Applied Science, 1981. p. 159-194.

LEE, S. H.; HAN, S., K. Effect of potassium sorbate on shelf-life and psychrotrophic flora of fresh poultry. **Korean Journal of Animal Science**, Suwon, v. 28, p. 742-746, 1986.

LEITÃO, M.F. de F. et al. **Tratado de microbiologia de alimentos sanitária e industrial**. São Paulo: Manole, 1988. p. 89-141.

LEITE, C.Q.F.; RADDI, M.S.G.; MENDONÇA, C.P. Bactérias entéricas nas mãos de manipuladores de alimentos da cidade de Araraquara-SP. **Alimentos e Nutrição**, v. 1, p. 8-23, 1989.

LEWIS, K.H.; KASSEL, Jr., (Hrsg.), **Botulism. Proc. Of Symp.** Cincinnati, Ohio., US Public Health Service Publ. N° 999-FP-1; Public Health Service, Cincinnati, Ohio, p.13-15, Jan. 1964.

LIMA, F.M.S. et al. Influência da refrigeração e do congelamento nas características funcionais e sensoriais de lingüiças frescas caprinas formuladas a partir de diferentes emulsificantes. **Revista Nacional da Carne**. v.329, Jul., 2004. Disponível em: <http://www.revistanacionaldacarne.com.br> . Acesso em :12 nov. 2005.

LIRA, G. M. et al. Avaliação da oxidação lipídica em carne-de-sol. **Higiene Alimentar**. v. 14, n. 68/69, p. 66-69, 2000.

LOVE, J.D. The role of heme iron in the oxidation of lipids in red meats. **Food Technologie**, v.37, p.20-117, 1983.

MADDEN, R.H.; KINGHAN, S. Changes in the microbial quality of *Nephrops norvegicus* during processing for retails packs. **Journal Food Protection**, v.6, n.50, p. 460-463, 1987.

MANHOSO, F. F. R. Aspectos químicos e microbiológicos das lingüiças tipo frescal no Brasil. **Revista Nacional da Carne**, v.230, p.90-92, 1996.

MARQUES, M.F. A função do uso de aditivos e condimentos na indústria de carnes e seus problemas relacionados à quantidade de uso. **Revista Nacional da Carne**. São Paulo, v. 208, p.13-21, jun. 1994.

MAXCY, R.B. Surface microenvironment and penetration of bacteria into meat. **Journal. Food Protection**, v.44, n.7, p.550-552, 1981.

MELTON, S.L.; Methodology for following lipid oxidation in muscle foods. **Food Technologie**. Chicago. v.37, n.7, p.105-111, 1983.

MENDES, A.A. Características de interesse industrial das principais linhagens de frango de corte criadas no Brasil. **In: INDUSTRIALIZAÇÃO de carne de frango.** Campinas: CTC-ITAL, 1992. p. 1-21.

MERCOSUL. GMC/RES N° 31 de 1992. **Definición técnica em el área de alimentos industrializados, ingredientes, aditivos...** Disponível em: <<http://cancilleria.gov.ar/comercio/normativa/resolucion/1992/res3192.html>>. Acesso em: 29 jan. 2005.

MIELNIK, M.B. et al. Quality of comminuted sausages formulated from mechanically deboned poultry meat. **Meat Science.** v.61, n.1, p. 73-84, Mai. 2002.

MOERCK, K. E.; BALL. H. R. Lipid autoxidation in mechanically deboned chicken meat. **Journal Food Science.** v. 39, p. 876, 1974.

MOLINS, R.A.; KRAFT A.A.; MARCY, J.A. Extension of the shelf-life of fresh ground pork with polyphosphates. **Food Science**, Chicago, v. 52, n. 2, p.513-514, 1987.

MOSSEL, D.A.A.; TARR, H.L.A. Significance of microorganisms in foods. **In: AYRES, J.C. Chemical and biological hazards in foods.** Iowa: The Iowa State Univewrsity Press ,1964. p.17-25.

NUNES, M.L.; FIGUEIREDO, M.J.; MADRUGA, M.S.; LIMA, F.M.S.; BISCOR, T.M. Efeito de antioxidantes e das condições de estocagem na oxidação lipídica de lingüiças de frango. **Revista Nacional da Carne**, p. 75-80, Set. 2003.

OBAFEMI, A.; DAVIES, R. Effect of polyphosphates on the survival of pre-stressed *Salmonella typhimurium* cells in frozen chicken meat. **Food Chemistry.** v.18, cap.3, p. 179-191, 1985.

OLIVEIRA, N.M.S.; NASCIMENTO, L.C.; FIORINI, J.E. Isolamento e identificação de bactérias facultativas mesofílicas em carnes frescas bovinas e suínas. **Higiene Alimentar.**v.16, n.94, p.68-74, 2002.

PARDI, M.C.; et al. **Ciência, higiene e tecnología da carne.**v.2, 1110p. Goiânia: CEGRAF-UFG/ Niterói: EDUFF,1993.

PARDI, H. S.; et al. **Ciência e tecnologia da carne.** Goiânia: CEGRAF-UFG, 1996.  
PEARSON, A.M.; LOVE, J. D.; SHORLAND, F. B. Warmed-over-flavor in meat, poultry and fish. **Adv Food Res.**, p.1-23, 1977.

PEARSON, A.M.; GRAY, I. J.; WOLZAK, A.M.; HORENSTEIN, N.A. Safety implications of oxidized lipids in muscle foods. **Food Technologie.**, p.37-121, 1983.

PEREZ, B.S. **Introducción a la microbiología moderna de los alimentos.** Zaragoza, España: Acribia, p.143, 1988.

PÉREZ, B.S. Curso a alunos e docentes do curso de Mestrado em Medicina veterinária, **Área de Higiene e Processamento Tecnológico de Produtos de Origem Animal.** Niterói, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal Fluminense, 1987.

PIKUL, J.; LESZCZYNSKI, D.E.; KUMMEROW, F.A. Evaluation of three modified TBA methods for measuring lipid oxidation in chicken meat. *Journal Agriculture. Food Chemistry.* v.37, p. 1309-1313. 1989.

PINO, L.M. **Estabilidade oxidativa da carne de frangos alimentados com diferentes fontes lipídicas, armazenada sob congelamento.** Disponível em: <[http://www.biblioteca.ufpb.br/catalogo\\_96\\_2000/campus1/c\\_tec\\_ali00.htm](http://www.biblioteca.ufpb.br/catalogo_96_2000/campus1/c_tec_ali00.htm)>. Acesso em: 14 nov. 2005.

POCHET-CAMPOS. Perspectivas do uso de Aditivos em Alimentos: Os Antioxidantes. **Revista Nacional da Carne**, n. 227, p. 32-38, 1996.

PRÄNDL, O. et al. **Tecnología e higiene de la carne.** Zaragoza (Espanha): Acribia, 1994.

PRICE, J. F.; SCHWEIGERT, B. S. **Ciência de la carne y de los productos cárnicos.** Zaragoza, España: Acribia, 581p., 1994.

PROUDLOVE, R. K. **Os alimentos em debate: Uma visão equilibrada,** São Paulo: Livraria Varela, 251 p., 1996.

REAGAN, J.O. et al. Effect of processing variables on the microbial, physical and sensory characteristics of pork sausage. **Journal Food Science.** v.48, p. 9-146, 1983.

RESURRECCION, A.V.A.; REYNOLDS, JR. Evaluation of natural antioxidants sausage Frankfurters containing chicken and pork. **Journal of Food Science**, n.55, v.3, p.631-654. 1990.

RHEE, K.S.; SMITH, G.C.; TERRELL, R.N. Effect of reduction and replacement of sodium chloride on rancidity development in raw and cooked ground pork. **Journal Food Protection**, v.46, p.578-584, 1983.

RIEDEL, G. **Controle sanitário dos alimentos**. 2 ed., São Paulo, Atheneu, p.34-224, 1992.

ROBERTS, D. **Factors contributing to outbreaks of food poisoning in England and Wales**. J. Hygiene (Cambridge), cap. 89; p. 491-498, 1983.

RODRIGUES, R.D. **Efeitos do cloreto de sódio, lactato de sódio e de suas combinações sobre as qualidades microbiológicas, sensoriais e físico-químicas da carne bovina moída**. Dissertação de mestrado. Grau de mestre em ciências veterinárias na especialidade de inspeção e tecnologia de produtos de origem animal. Faculdade de Veterinária. Porto alegre: UFRGS,113f., 2005.

RUDGE, A. C.; MORENO, G.; LOPES, C.A.M. Fagotipagem de *Staphylococcus aureus* isolados de lingüiça tipo frescal e de manipuladores de indústria. **Revista Ciências Biomédicas**, v.4, p. 29-35, 1983.

SABIONI, J.G. Avaliação microbiológica de lingüiça frescal comercializada em Ouro Preto-MG. **Higiene alimentar**. São Paulo, v.13, n.61, p. 110-113, 1999.

SALLAM, Kh. I.; ISHIOROSHI, M.; SAMEJIMA, K. Antioxidant and antimicrobial effects of garlic in chicken sausage. **Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie**. v.37, cap.8, p. 849-855, Dez. 2004.

SANTOS, J.I.; TALAMINI, D.J.D.; CHIUCHETTA, O. Panorama avícola. **Avicultura Industrial (anuário)**, São Paulo, p.38-42, Dez.1999/jan. 2000.

SATO, K.; HEGARTY, G. R. Warmed-over flavor in cooked meats. **Journal of food Science**, Chicago, v.36, p.1098-1102, 1971.

SEO, C. W. Hydrocarbon production from freeze dried meats. **Journal Food Science**, v.41, p.594, 1976.

SHAMBERGER, R.J., ANDREONE, T.L.; WILLIS, C.E. Antioxidants and cancer. IV. Malonaldehyde has imitating as a carcinogenic. **J. Natn. Cancer Inst**, v.53, p. 17-71, 1974.

SHARON, L.M. Methodology for following lipid oxidation in muscle foods. **Food Technology**, p.116, July 1983.

SHEARD, P.R. et al. Injection of water and polyphosphate into pork to improve juiciness and tenderness after cooking. **Meat Science**, v.51, p.371-376, 1999.

SNEATH, P.H.A. et al.. **Bergey's manual of systematic bacteriology**, v.2. Willians and Wilkins Co. Baltimore, p. 1235-1245, 1986.

TARLADGIS, B.G.; WATTS, B.M.; YOUNATHAN, M.T.A. A distillation method for the quantative determination of malonaldehyde in rancid foods. **The Journal of the American Oil Chemists Society**. v.37, p.44-48, 1960.

TEICHER, H. **Applications of phosphate um meats and seafood**. In: Ingredientes, n.5, ,37-40p., Nov./Dez. 1999.

TERRA, N. N. **Apontamentos de tecnologia de carnes**. São Leopoldo: Ed. UNISINOS, 216 p., 1998.

TORRES, E..F.S. et al. Papel do sal iodado na oxidação lipídica em hambúrgueres bovino e suíno (misto) ou de frango. **Ciência e Tecnologia de alimentos**. v.18, n.1, campinas Jan./Apr.1998.

TORRES, E.A.F.S.; OKANI, E.T. Teste de TBA: Ranço em alimentos. **Revista Nacional da Carne**, v.243, p.68-74, Mai. 1997.

TORRES, E.A.F.S.; K, U.P.K. Lipid oxidation in charqui (salted and dried beef). **Food Chemistry**, v.32, p.257-268, 1989.

TORRES, E.A.F.S. Oxidação lipídica em carnes-uma revisão. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. Campinas, v.22, n.1/2, p.53-71, jan./jun., 1988.

TROUT. G.R.; SCHMIDT, G.R. **Utilization of phosphates in meat products**. Reciprocal Meat Conference Proceedings Fort Collins. p. 24-27, 1983.

UDAETA, J.E.M.; TERRA, N.N. Influência dos polifosfatos no rendimento e qualidade do presunto "cook-in". **Higiene Alimentar**. v.9, n. 35, p. 20-23, Jan./Fev. 1995.

UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE (USDA). Food Safety and Inspection Service. Nitrates, nitrites, and ascorbates (or isoascorbates) in bacon. **Federal Register**: 40, No. 52614, 1973. Disponível em: <<http://www.fsis.usda.gov/OA/pubs/additive.htm>> Acesso em: 16 nov.2005.

VARELTZIS, K. et al. Antimicrobial effects of sodium tripolyphosphate against bacteria attached to the surface of chicken carcasses. **Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie**. v. 30, cap. 7, p. 665-669, Nov.1997.

VASCONCELOS, J.C.; IARIA, S.T. Condições microbiológicas (higiênico-sanitárias) das lingüiças frescas comercializadas em feiras livres no município de São Paulo-SP. II. Agentes etiológicos de toxiinfecções alimentares. **Boletim CEPPA**. v.9, n.2, p. 21-106, 1991.

VIEIRA, A. A oxidação lipídica e o uso de antioxidants sintéticos em produtos cárneos. **Aditivos & Ingredientes**, n.26, p.71-75, 2003.

VIEIRA, G.H.F. Influência do uso de solução de tripolifosfato de sódio na conservação de caudas de lagosta por congelamento. Tese de Doutorado. São Paulo. Faculdade de ciências Farmacêuticas-USP, 200f.,1988.

WARBURTON, D.W. et al. The microbiological quality of fermented sausage produced under good hygienic practices in Canada. **Food Microbiology**. v.4, cap. 3, p. 187-197, Jul. 1987.

WILSON, B.R.; PEARSON, A.M.; SHORLAND, F.B. Effect of total lipids and phospholipids on warmed-over flavor in red and white muscle from several species as measured by thiobarbituric acid analysis. **Food Chemistry**.24, p. 7-11, 1976.

WONG, D.W.S. **Química de los alimentos: mecanismos y teoría**. Zaragoza, Acribia, 476p., 1995.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Multi-drug resistant Salmonella Typhimurium**. Jan. 1997. Disponível em: <<http://www.who.int/inf-fs/en/fact139.html>>. Acesso em: 12 out. 04.

ZAMBLIAZI, C. Oxidation reactions of vegetable oils and fats. **Boletim SBCTA**, v. 33, n.1, p. 1-7, 1999.

ZANARDI, E.; GHIDINI, S.; BATTAGLIA, A.; CHIZZOLINI, R. Lipolysis and lipid oxidation in fermented sausages depending on different processing condition and different antioxidants. **Meat Science**. v.66, cap.2, p.415-423, Fev. 2004.