



INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E
TECNOLOGIA GOIANO – CÂMPUS RIO VERDE
DIRETORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

**USO DE FONTE DE NITRATO DE ORIGEM VEGETAL NO
PROCESSAMENTO DE LINGUIÇAS FRESCAIS DE CARNE
SUÍNA**

Autor: Maurício Nassau de Assis Júnior

Orientadora: Dr.^a Geovana Rocha Plácido

{

**RIO VERDE- GO
Agosto- 2013**



INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E
TECNOLOGIA GOIANO – CÂMPUS RIO VERDE
DIRETORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

USO DE FONTE DE NITRATO DE ORIGEM VEGETAL NO PROCESSAMENTO DE LINGUIÇAS FRESCAIS DE CARNE SUÍNA

Autor: Maurício Nassau de Assis Júnior

Orientadora: Dr.^a Geovana Rocha Plácido

Dissertação apresentada, como parte das exigências para obtenção do título de MESTRE EM ZOOTECNIA, no Programa de Pós-Graduação em Zootecnia do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano – Câmpus Rio Verde - Área de Concentração Zootecnia.

RIO VERDE- GO
Agosto- 2013

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação na (CIP)
Elaborada por Igor Yure Ramos Matos CRB 1 - 2819**

A865u Assis Júnior, Maurício Nassau de.
Uso de fonte de Nitrato de origem vegetal no processamento de linguiças frescas de carne suína / Maurício Nassau de Assis Júnior. - 2013.
xii, 20 f. : il., figs, tabs.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Geovana Rocha Plácido.
Dissertação (Mestrado) – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano, Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, Campus Rio Verde, 2013.
Biografia.
Inclui lista de figuras, símbolos, siglas e abreviaturas.

1. Linguiças frescas. 2. Carne Suína. 3. Nitrato. I. Assis Júnior. II. Título.

CDU: 637.523



INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E
TECNOLOGIA GOIANO – CÂMPUS RIO VERDE
DIRETORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

PRODUÇÃO DE NITRITO A PARTIR DE FONTE DE NITRATO VEGETAL NA CURA DE LINGUIÇA TIPO FRESCAL

Autor: Maurício Nassau de Assis Júnior

Orientadora: Dr.^a Geovana Rocha Plácido

TITULAÇÃO: Mestre em Zootecnia – Área de concentração Zootecnia –
Zootecnia/Recursos Pesqueiros

APROVADA em 02 de agosto de 2013

Dr. Daniel Cortes Beretta
Universidade de Rio Verde – Câmpus de - Rio Verde -GO
Membro externo

Dr. Marco Antônio Pereira da Silva
Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano – Câmpus Rio Verde
Membro Interno

Prof.^a Dr.^a Geovana Rocha Plácido
Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano – Câmpus Rio Verde
(Orientadora)

AGRADECIMENTOS

Quero externar meus profundos agradecimentos:

A minha família, em especial esposa e filhos, que em todos os momentos me apoiaram nesta etapa, em todas as etapas da minha vida.

A Professora Geovana Rocha Plácido, pela paciência, confiança e amizade, sempre incentivando em todos os momentos.

Ao Professor Marco Antonio, pela participação em minha defesa, sempre prestativo, exemplo de integridade.

A professora Priscila Alonso, pela convivência, ensinamentos e incentivo em vários momentos.

Ao Professor Frederico Loureiro, profissional sempre disponível.

Ao Professor Carlos Frederico, agradecimento por sua colaboração e ensinamentos.

Ao Professor Celso Martins Belisário, pela disponibilidade e presteza.

A Professora Kátia Cylene Guimarães, profundo agradecimento e admiração pela confiança, competência e dedicação.

A colega Maria Siqueira de Lima, sempre tão atenciosa e prestativa.

A colega de trabalho Ligiani Zonta Danielli, pelas orientações e incentivo.

A Thais Fragoso, sempre colaborando, seu apoio foi muito importante no projeto.

A Milena Silva Ataíde foi muito prestativa em um momento crucial do trabalho, possibilitando a execução do experimento.

Hugo, parceiro de empresa sempre colaborando, o meu agradecimento pela sua amizade e apoio.

Ao Dr. João Degenhardt, meu agradecimento pelas orientações e presteza e gentileza, uma colaboração inestimável em meu trabalho.

Ao parceiro Jesus Blanco Aguaya, pelas orientações e acompanhamento nas análises, grande profissional ao qual tive orgulho na participação no trabalho.

A Adriana Marques, pelos conhecimentos e orientações, e disponibilidade, confiança e apoio no trabalho, foi de suma importância na realização deste.

Aos Gerentes: Geraldo Rodrigues e Fernando Silvestre, que possibilitaram uma flexibilidade nos horários e materiais para o experimento de grande importância para este trabalho.

A empresa Brasil Foods S/A, pelo apoio no fornecimento do Laboratório Físico-Químico, e materiais necessários para a concretização deste sonho.

Ao Instituto Federal Goiano - Câmpus Rio Verde, onde conheci excelentes pessoas que sempre contribuíram para meu crescimento profissional, ambiente que respeito e me traz um grande bem-estar.

BIOGRAFIA DO AUTOR

Maurício Nassau de Assis Junior, filho de Maurício Nassau de Assis e Zarife Miguel de Assis, nasceu em 29 de setembro de 1960, na cidade de São Paulo – São Paulo. Em 1977, concluiu o ensino fundamental na Escola Estadual do Bairro Olímpico. Em 1982, concluiu o ensino médio na Escola Estadual Professor Aymoré do Brasil. Em 1988, graduou-se em Engenharia de Alimentos pela Faculdade de Ciências de Barretos – Fundação Educacional de Barretos. Em 2011, ingressou no Programa de Pós-Graduação em Zootecnia do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano - Câmpus Rio Verde, na área de concentração Zootecnia, concluindo o mesmo em 2013.

ÍNDICE

	Página
LISTA DE TABELAS	VIII
LISTA DE SÍMBOLOS, SIGLAS E ABREVIATURAS	IX
RESUMO.....	X
ABSTRACT.....	XI
INTRODUÇÃO GERAL.....	1
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	4
PRODUÇÃO DE NITRITO A PARTIR DE FONTE DE NITRATO VEGETAL NA CURA DE LINGUIÇA TIPO FRESCAL	6
RESUMO.....	6
ABSTRACT.....	6
1 INTRODUÇÃO	7
2 MATERIAL E MÉTODOS	8
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	10
4 CONCLUSÕES	12
5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	12

LISTA DE TABELAS

	Página
Tabela 1. Formulação dos diferentes tratamentos.....	16
Tabela 2. Valores médios dos teores de nitrito, nitrato, atividade de água (Aw), pH, parâmetros instrumentais de cor de linguiças frescas função da concentração de micro-organismo; concentração da fonte vegetal e tempo de cura.....	17
Tabela 3. Valores médios dos teores de nitrito, nitrato, atividade de água (Aw), pH e parâmetros instrumentais de cor de linguiças frescas função da concentração de vegetal x concentração de micro-organismo.....	18
Tabela 4. Valores médios dos teores de nitrito, nitrato, atividade de água (Aw), pH e parâmetros instrumentais de cor de linguiças frescas função da concentração de micro-organismo x tempo de cura.....	19
Tabela 5. Valores médios dos teores de nitrito, nitrato, atividade de água (Aw), pH e parâmetros instrumentais de cor de linguiças frescas função da concentração de vegetal x tempo de cura.....	20
Tabela 6. Valores médios dos teores de nitrito, nitrato, atividade de água (Aw), pH e parâmetros instrumentais de cor de linguiças frescas função da concentração de (micro-organismo) x (vegetal x tempo de cura).....	21

LISTA DE SÍMBOLOS, SIGLAS E ABREVIATURAS

M.O	Micro-organismo
pH	Potencial hidrogênico
DIC	Delineamento Inteiramente Casualizado
Aw	Atividade de água
IN	Instrução Normativa
Kg	Quilogramas
mg/dL	Miligramas por Decilitro
ppm	Partes por milhão

RESUMO

A crescente demanda dos consumidores por alimentos naturais e orgânicos está resultando em novas pesquisas e maior concorrência entre as empresas na busca de inovações em produtos para atender as tendências de mercado. A utilização de conservantes como nitrito e nitrato em produtos cárneos, garante a segurança alimentar, evitando a presença de micro-organismos causadores de doenças e enfermidades a exemplo do *Clostridium Botulinum* causador do botulismo, e também influenciando sensorialmente produzindo cor e sabor característico de alimentos curados. Os produtos curados têm sido alvo de estudos relacionando as substâncias carcinogênicas. O objetivo deste estudo foi propor a forma indireta de adição destes compostos, em que foi utilizado uma fonte vegetal de nitrato o espinafre em pó e um micro-organismo *Staphylococcus carnosus*, que foram adicionados a carne suína para obtenção de linguiça tipo frescal em doze tratamentos em delineamento interinamente casualizado em experimento fatorial, partindo de duas concentrações da bactéria 0,09% e 0,18%, duas concentrações do espinafre 0,26% e 0,50% em relação a massa de carne da amostra e três tempos de cura: 8 horas, 12 horas e 24 horas, sendo avaliados as variáveis de concentração de nitrato e nitrito, pH, atividade de água e cor. Não houve diferenças significativas nos tratamentos para o nitrato, já para o nitrito os resultados com tempo de cura de 24 horas apresentaram a redução do nitrato a nitrito. Não foi obtido diferença significativa no pH nos tratamentos, a atividade de água embora obtendo diferença nas médias se manteve em uma faixa considerada alta para alimentos, nos três parâmetros de cor L*(brilho), a*(-60 verde ao +60 vermelho), b*(-60 azul ao + 60 amarelo), houve diferença somente no parâmetro L*.

Palavras - chave: cura natural, linguiça frescal, espinafre em pó, carne suína.

ABSTRACT

The growing consumer demand for natural and organic foods is resulting in new research and increased competition between companies searching innovative products to meet market trends. The use of preservatives such as nitrite and nitrate in meat products , guarantee food security , avoiding the presence of micro- organisms that cause illness and disease such as the Clostridium botulinum which causes botulism , and also influencing sensory producing color and characteristic flavor of cured foods . The cured products have been the subject of studies relating to the carcinogens substances. The aim of this study was to propose an indirect way of adding these compounds, where a plant source of nitrate the spinach powder and micro-organismo Staphylococcus carnosus , that were adde to obtain pork sausage frescal type in twelve treatments in a totally randomized design and a factorial acheme, starting with two concentrations of the bacteria 0.09 % and 0.18 % , two concentrations of spinach 0.26 % and 0.50 % over the sample mass of meat and three times of cure : 8 hours, 12 hours and 24 hours, The were evaluated the variables concentration of nitrate nitrite , pH , water activity and color. There were no significant differences in the treatments for the nitrate however for nitrite there were results with the curing time of 24 h showed a reduction of the nitrate to nitrite. No significant difference was obtained in the pH treatments, although to the water activity was obtained difference in means it remained in a range considered high for food. The three color parameters L * (brightness) , a * (green to -60 +60 red) , b * (-60 to + 60 blue yellow) , there were differences only in the L * parameter .

Key words: Natural Cure, frescal sausage , spinach powder, pork.

INTRODUÇÃO GERAL

A conservação de derivados cárneos é fator importante não somente para preservação do alimento, mas também um assunto de segurança alimentar em relação à saúde pública.

A mudança nos hábitos dos consumidores fez com que a indústria de produtos cárneos buscasse novas tecnologias de processamento e novos ingredientes e sistemas. Isto vem acontecendo, porque a percepção positiva que os consumidores têm de carne e derivados cárneos, como boas fontes de minerais, vitaminas e proteínas está gradualmente dando espaço a uma visão mais negativa, principalmente relacionada à ingestão de nitrato e nitrito em relação com câncer (FERGUSON, 2010).

A cura de carnes que tem por finalidade conservar a carne por um tempo mais longo, conferindo propriedades sensoriais, sabor e aroma mais agradáveis e coloração atraente, possui efeito antioxidante e inibe o crescimento de *Clostridium botulinum* (WEISS, 2010).

A utilização de culturas starters proporciona segurança alimentar, controle de patógenos por competição, aumento da vida útil do produto e melhora as propriedades sensoriais. Os micro-organismos usados se dividem em dois grandes grupos, bactérias ácido lácticas (*Lactobacillus* e *Pediococcus*), e bactérias flavorizantes (*Micrococcaeae*) (FERNÁNDEZ et al., 2001).

A ação das culturas starters em produtos fermentados altera a microflora inicial, ocasionando decréscimo do pH, redução do nitrato para formação da mioglobina nitrosa, solubilização de proteínas, lipólise e fenômenos oxidativos (LIZASCO et al., 1999; ORDÓNEZ et al., 2005).

O aroma de produtos curados se deve a reações com os constituintes cárneos como

(álcoois, aldeídos, inosina, hipoxantina e compostos sulfurados) com o nitrito e o óxido nítrico. Sendo a quantidade requerida para produzir aroma característico de curado é de 20 a 40 mg/Kg (ORDÓÑEZ et al., 2005).

A cor é um dos fatores sensoriais mais importantes que influenciam o consumidor no momento da compra. Na carne existem vários pigmentos que conferem cor, os de maior relevância são: hemoglobina no sangue e a mioglobina no músculo, sendo este segundo o mais abundante (JAKXZYN & GONÇALEZ, 2006).

A adição de aditivos como ácido ascórbico, eritorbato de sódio e citrato de sódio em combinação com o nitrato e nitrito que atuam com agentes redutores favorecendo as reações de transformação (OLIVO, 2002).

MELLO et al.,(2004) ao pesquisarem os teores de nitrato e nitrito em salsichas produzidas no sul e nordeste brasileiro elucidaram duas situações, as deficiências no processo de higienização de equipamentos, higiene pessoal, falta de condições ideais no ambiente de preparo, faz com que os manipuladores utilizem quantidades excessivas, tentando suprir todas essas carências e causando grave dano a saúde de pessoas que consomem estes alimentos.

Estudos foram realizados para substituição parcial do nitrito de sódio por quitosana em presunto Visking com aplicação de 0,25% a 0,5% na massa cárnea para determinação da validade do produto, constataram que não houve diferenças significativas nas análises sensoriais, principalmente na cor e textura, e aumento na vida de prateleira do produto (GARCIA et al., 2011).

O uso de fontes vegetais com níveis elevados de nitrato adicionados à carne, como o suco concentrado de salsaõ 2,114 ppm e suco de espinafre 3,227 ppm, promoveram a redução do nitrato em nitrito pela ação de bactérias específicas (WEISS, 2010).

Independentemente dos benefícios tecnológicos, a redução no uso de nitrito se tornou uma questão chave para a indústria. O nitrito em pH alcalino e em alta temperatura reage com aminas formando as nitrosaminas, substância cancerígena (JAKSZYN & GONÇALEZ, 2006).

A concentração de nitrato é um importante índice da qualidade dos alimentos. Quando ingerido pelo homem, o nitrato sofre ação microbiana da saliva e é reduzido a nitrito, que reage com aminas e dá origem a compostos nitrosos, como as nitrosaminas, que são carcinogênicos (MANTOVANI et al., 2005).

A aplicação desses sais acima do limite máximo residual estabelecido pela legislação

vigente, máximo de 300 ppm para o nitrato de sódio e 150 ppm para o nitrito de sódio, pode acarretar sérios riscos à saúde humana, pela possibilidade de manifestações de efeitos tóxicos agudos e crônicos. O nitrato é reduzido a nitrito por enzimas produzidas por microorganismos (*micrococcus*) cuja proliferação é favorecida por manuseio e processamento inadequado dos alimentos (MELO FILHO & BISCONTINI, 2004).

Uma alta ingestão de nitrito representa risco para a saúde humana através dos possíveis efeitos alergênicos, efeitos vasodilatadores, produção de metamioglobina e a produção de nitrosaminas carcinogênicas (BIASI, 2010).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BIASI, V. **Produção de salame tipo italiano através de cura natural com extratos de aipo e acelga**. Dissertação de mestrado, Universidade Federal de Santa Maria, p. 141, 2010.

FERGUSON, L.R. Meat and cancer. **Meat Science**, v. 84, p.308–313, 2010.

FERNÁNDEZ, M.; ORDÓÑEZ, J.A.; BRUNA, J.M; HERRANZ, B.; HOZ, L. Accelerated ripening of dry fermented sausages. **Food Science & Technology**, v1, p.1-209, 2001.

GARCIA, M.; BELDARRAÍN, T.; FORNARIS, L.; DÍAS, R. **Partial substitution of nitrite by chitosan and the effect on the quality properties of pork sausages**, 2011.

JACKSZYN, P.; GONÇALEZ, C. A. Nitrosamine and related food intake and gastric and esophageal cancer risk: A systematic review of the epidemiological evidence. **World Journal of Gastroenterology**, 12 (27), 2006, 4226-4303, 2006.

LIZASCO, G., CHASCO, J., BERIAN, M.J., Microbiological and biochemical changes during ripening of salchichón, a Spanish dry cured sausage. **Food Microbiology**.v.16, p. 219-228, 1999.

MANTOVANI, J. R.; CRUZ, M. C. P.; FERREIRA, M. E.; BARBOSA, J. C. Comparação de procedimentos de quantificação de nitrato em tecido vegetal. **Pesquisa agropecuária**

brasileira, Brasília, v.40, n.1, p.53-59, jan. 2005.

MELO FILHO, A. B.; BISCONTINI; BARRETO, T. M; ANDRADE, CARDOSO, S. A. Níveis de nitrito e nitrato em salsichas comercializadas na região metropolitana do Recife. **Ciências e Tecnologia de Alimentos** [online], vol.24, n.3, pp. 390-392, 2004.

MELO FILHO, A. B.; BISCONTINI, T. M. B. Níveis de nitrito e nitrato em salsichas comercializadas na região metropolitana do recife. **Ciências e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, 24(3): 390-392, jul.-set. 2004.

OLIVO, R. Alterações oxidativas em produtos cárneos. **Aditivos e Ingredientes**, São Paulo, n. 20, p., 71-74, 2002.

ORDÓÑEZ, J. A.; RODRIGUEZ, M. I. C.; SANZ, M. L. G.; MINGUILLON, G. D. G. F.; PERALES, L. I. H.; CORTECERO, M. D. S. **Tecnologia de Alimentos: alimentos de origem animal**. Porto Alegre: Artmed, 2005.

WEISS, .J; GIBIS, M; SCHUH, V; SALMINEN, H. Advvarnces in ingredient and processing systems for meat and meat products. **Meat Science**, 2010.

PRODUÇÃO DE NITRITO A PARTIR DE FONTE DE NITRATO VEGETAL NA CURA DE LINGUIÇA TIPO FRESICAL

NITRITE PRODUCTION FROM PLANT NITRATE SOURCE IN HEALING OF SAUSAGE FRESICAL TYPE

RESUMO

Na elaboração de produtos cárneos, a adição direta de conservantes químicos, como o nitrato e o nitrito, é tratada com especial atenção, em razão dos riscos que podem ser atribuídos à ingestão de quantidades elevadas destes aditivos. O objetivo deste estudo foi desenvolver um método em que a adição de nitrito seja de forma indireta num derivado cárneo, a partir de uma fonte vegetal, utilizando de micro-organismos para realizar a transformação do nitrato, presente no vegetal, a nitrito que irá se incorporar na carne se ligando a mioglobina, mantendo os níveis aceitáveis seguros ao ser humano e garantindo a segurança alimentar. Neste trabalho foi utilizado espinafre como fonte de nitrato, em duas concentrações em relação à massa da amostra 0,26% e 0,50%, e com uma cepa de *Micrococcus (Staphylococcus carnosus)* em duas concentrações 0,09% e 0,18% em relação à massa da amostra, utilizando três tempos de cura, 8 horas, 12 horas e 24 horas, realizando 12 tratamentos em experimento com delineamento inteiramente casualizado fatorial a uma temperatura de 10 °C. As concentrações de nitrito e nitrato foram avaliadas pelo método de Stoya com reativo Griess. O desenvolvimento da cor, pH e atividade de água na linguiça frescal também foram avaliados. Foi possível a obtenção de uma cura orgânica para linguiça tipo frescal através da fonte vegetal espinafre, através da redução do nitrato em nitrito em quantidade suficiente para prevenir o desenvolvimento do *Clostridium Botulinum* nos tratamentos com tempo de cura de 24 horas embora a cor do produto não tenha sido satisfatória, não foi constatado diferença significativa nos tratamentos em relação ao pH, já na atividade de água houve diferença significativa ficando os resultados dentro de uma faixa considerada como alta atividade de água que é característica do produto avaliado.

Palavras-chave: Produtos cárneos, conservantes químicos, fonte vegetal.

ABSTRACT

In the preparation of meat products, the direct addition of chemical preservatives such as nitrate and nitrite, is treated with special attention because of the risks that can be attributed to the ingestion of high amounts of these additives. The objective of this study was to develop a method where the addition of nitrite in a meat derived from a vegetable source, using micro-organisms to carry out the transformation of the nitrate, present in the plant, to nitrite which will be incorporated into the meat by binding to myoglobin, maintaining

acceptable levels that are safe for human beings and ensuring food security. Spinach was used as the source of nitrate in two concentrations (0.26% and 0.50%) on the sample mass and *Micrococcus Strain* (*Staphylococcus carnosus*) at two concentrations 0.09% and 0.18% of the sample mass using three cure times 8 hours, 12 hours and 24 hours at a temperature of 10 °C. The concentrations of nitrite and nitrate were evaluated by Stoya method with Griess reagent. The color development, pH and water activity in fresh sausages were also evaluated. It was possible to obtain an organic cure for sausage frenal type using the spinach plant source through the reduction of nitrate to nitrite in an amount sufficient to prevent the growth of *Clostridium botulinum*, although the color of the product has not been satisfactory.

Key words: Meat products, chemical preservatives, vegetable source.

1 Introdução

Buscando evitar a perda de alimento excedente, o homem foi levado a desenvolver diferentes formas de conservação. Através da observação, verificou-se que o tempo de conservação da carne foi prolongado quando foi moída e misturada com sal e ervas aromática (MOORE, 2004).

Entende-se por Linguiça, segundo o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade (BRASIL, 2000), o produto cárneo industrializado, obtido de carnes de animais de açougue, adicionado ou não de tecidos adiposos, ingredientes, embutido em envoltório natural ou artificial e submetido ao processo tecnológico adequado.

Embutidos cárneos fermentados são fabricados com carnes cruas que não passam por cocção ao longo do processamento e nem previamente ao consumo. Desse modo, a inocuidade e preservação desses produtos são dependentes da associação de vários fatores, incluindo a baixa atividade de água, presença de cloreto de sódio e nitrito de sódio, baixo pH e presença de substâncias antimicrobianas adicionadas ou formadas durante a maturação (OLIVEIRA & MENDONÇA, 2004).

Nitrato e nitrito são também utilizados como aditivos na forma de sais de sódio ou potássio em produtos cárneos e queijos. A presença de nitrato nas águas ocorre pela elevada hidrossolubilidade, que aumenta consideravelmente sua concentração nas águas subterrâneas, rios e poços (ANDRADE, 2004).

A principal função do nitrito é inibir o crescimento de organismos patogênicos nos produtos alimentares à base de carne. A inibição das bactérias por nitrito foi atribuída a variedade de mecanismos diferentes, incluindo a inibição da captação de oxigênio, a fosforilação oxidativa e o transporte de prótons (DAVIDSON et al, 2004).

O termo "cura" em relação à carne processada é universalmente entendido para denotar a adição de nitrito ou nitrato de sal e outros ingredientes para a carne para a melhoria da conservação (PEGG & SHAHIDI, 2000). A cura tem sido usada durante séculos para preservar a carne e seus produtos (MOLER et al., 2003). Uma função primária do nitrito é atribuir à coloração rosa, característica de carnes curadas, o que

é desejado pelo consumidor, e é geralmente indicativa de qualidade dos produtos cozidos (SHAHIDI & PEGG, 1991).

O uso de nitrito preocupa a comunidade científica mundial em função dos riscos toxicológicos à saúde humana, que estão inteiramente ligados à quantidade ingerida e à susceptibilidade do organismo. Ao se combinar com a hemoglobina, transforma-a em metahemoglobina, reduzindo a eficiência no transporte de oxigênio, principalmente em crianças, e levando ao aparecimento de sintomas como cianose, fadiga, cefaleia e morte (OKAFOR & OGBONNA, 2003).

Apesar de todas as suas propriedades desejadas, o uso de nitrito para a saúde humana tem sido questionada (MORITA et al., 1998). Nitrito pode causar a formação de substâncias carcinogênicas, N-nitrosaminas em produtos curados, por causa da reação com aminas secundárias e aminoácidos das proteínas musculares. Além disso, os nitritos residuais nas carnes curadas podem formar N-nitrosaminas no trato gastrointestinal (SHAHIDI & PEGG, 1991). Assim, a indústria da carne continua a procurar métodos alternativos para produzir carnes que mantenham as características de produtos curados.

Uma alternativa para evitar a adição direta de nitrito na carne durante o processamento é adicionar ingredientes que tenham alto teor de nitrato natural. Este método é utilizado na produção de versões orgânicas de carnes curadas. Estudos relataram níveis de nitrato de 2.114 ppm em suco de aipo e 3.227 ppm em suco de espinafre (SEBRANEK & BACUS, 2007).

O uso de nitrito preocupa a comunidade científica mundial em função dos riscos toxicológicos à saúde humana, que estão inteiramente ligados à quantidade ingerida e à susceptibilidade do organismo. Ao se combinar com a hemoglobina, é transformada em meta-hemoglobina, reduzindo a eficiência no transporte de oxigênio, aparecimento de sintomas como cianose, fadiga, cefaleia e morte (OKAFOR & OGBONNA, 2003).

Diante do exposto o objetivo da presente pesquisa foi desenvolver e avaliar a qualidade de linguiças frescas, produzidas a partir da cura natural, utilizando extrato de espinafre como fonte de nitrato em substituição aos sais nitrato e nitrito de sódio.

2 Material e Métodos

A pesquisa foi realizada no Laboratório de Análises de Alimentos, Laboratório de Tecnologias de Carnes do Instituto Federal Goiano – Câmpus Rio Verde-GO e Laboratório da empresa Brasil Foods S/A, unidade de Rio Verde - GO.

A linguiça tipo frescal foi preparada em condições assépticas, não sendo adicionados aditivos condimentos como o sal, pimenta malagueta e noz-moscada, porque estes ingredientes possuem nitrato, como meio de assegurar que a única fonte vegetal de nitrato fosse o espinafre.

A carne foi moída em equipamento moedor marca CAF em disco de diâmetro de oito milímetros, acondicionada e misturada manualmente em vasilhas de material inoxidável. A formulação básica foi constituída na proporção de 77,58% de carne suína (Paleta), 13,33% de toucinho, e 9,09 % de água destilada e deionizada. Após a adição dos componentes a massa foi uniformizada e dividida em 13 partes

iguais de 550 gramas, sendo adicionada a fonte vegetal (espinafre) e micro-organismo.

O espinafre foi fornecido pela empresa Penina Alimentos LTDA, estando em conformidade com a indústria de alimentos com as seguintes características organolépticas: aspecto fino, odor e sabor característico, cor verde, umidade 6% e granulometria ASTM 30. Características microbiológicas: Salmonela ausente em 25 gramas, coliformes a 45°C < 10² NMP/grama.

A quantidade de espinafre foi pesada em balança analítica marca KN Waagen modelo N 2000, sendo diluída na metade do volume da água destilada para cada 550 gramas da formulação básica, adicionada e misturada manualmente a massa básica, conforme dosagem para cada tratamento (Tabela 1).

O micro-organismo utilizado foi cepa de *Staphylococcus carnosus*, SB61, fabricada pela empresa Christian Hansen S/A unidade de Valinhos-SP, fornecida pela empresa Brasil Foods S/A, caracterizada como uma bactéria catalase (+), sendo responsável pela conversão do nitrato a nitrito, adicionada a massa da linguiça em duas concentrações, 0,09% e 0,18% em peso da amostra. A quantidade utilizada foi um envelope de 25 gramas diluída em 100 mL de água destilada e deionizada. Desta solução de 0,25 gramas/mL foi retirada o volume de dois mL e completado o volume para 27,5 mL para os tratamentos que receberam a quantidade 0,5 grama do micro-organismo e 4 mL seguindo o mesmo procedimento de complementar o volume de 27,5 mL para os tratamentos que receberam a quantidade de 1,0 grama do micro-organismo. A cepa de bactéria se apresentou na forma liofilizada, a diluição favoreceu a dosagem e contribuiu para atividade da mesma.

Foram constituídos 12 tratamentos com uma testemunha (Tratamento 0), sendo que todos eles tinham 550 gramas de formulação básica, 55 mL água destilada e deionizada (Tabela 1).

Após o embutimento as amostras foram identificadas e submetidas ao período de cura por 8, 12 e 24 h, sendo mantidas a temperatura de 10°C, em refrigerador BOD modelo TE-37-1 marca Tecnal Equipamentos. Finalizado o período de cura determinado, as amostras foram congeladas a -18°C para sua conservação, permanecendo por cinco dias em congelador horizontal marca Metal Frio modelo DA550.

As amostras foram descongeladas em equipamento micro-ondas, marca Panasonic modelo Junior Smart capacidade 27 litros, por tempo de dois minutos na potência média, após processadas em um Cutter de bancada, marca Filizola modelo Sire e acondicionadas e identificadas em embalagens plásticas.

No espinafre em pó foi realizada a quantificação de nitrato e nitrito, conforme o método de Stoya com reativo Griess. As linguiças tipo frescal foram analisadas quanto às análises de pH em equipamento marca HANNA Instruments modelo pH 21 com sensor de eletrodo, atividade de água em aparelho marca Aqualab modelo 3TE, quantificação de nitrato e nitrito pelo método de Stoya com reativo Griess e cor em colorímetro (ColorQuest II, Hunter Lab Reston, Canadá). Os resultados de cor foram expressos em L*, a* e b*, em que os valores de L* (luminosidade ou brilho) podem variar do preto (0) ao branco (100), os de croma a* do verde (-60) ao vermelho (+60) e os de croma b* do azul (-60) ao amarelo (+60), conforme relatado por PAUCAR-MENACHO et al. (2008). Todas as análises foram realizadas em triplicata.

Os resultados das análises foram realizados através do delineamento inteiramente casualizado (DIC), em triplicata com três repetições para todas as análises. Foram avaliados em um esquema fatorial 2x2x3 (duas concentrações de micro-organismo; 2 concentrações de espinafre e três tempos de cura e 1 controle).

Submetidos a análise de variância (ANOVA) e teste de Tukey com um nível de significância de 5% para as variáveis analisadas em função da concentração de vegetal x concentração de micro-organismo, concentração de micro-organismo x tempo de cura, concentração de vegetal x tempo de cura e concentração de micro-organismo x (vegetal x tempo de cura), e teste de Dunnett a 5% de significância para variáveis analisadas em função da concentração de micro-organismos, concentração da fonte vegetal e tempo de cura, utilizando o programa ASSISTAT 7.6 Beta.

3 Resultados e Discussão

Os resultados da produção de nitrito, nitrato, atividade de água (A_w), pH e cor das linguiças frescas em função da concentração de micro-organismos, fonte vegetal e tempo de cura, estão apresentados na Tabela 2.

Na produção de Nitrito, as concentrações de micro-organismo apresentaram diferença significativa, ambas proporcionaram redução do nitrato a nitrito. Na concentração da fonte vegetal não houve diferença, indicando a não influência entre as concentrações trabalhadas. Nos tempos de cura somente às 24 horas ocorreu a transformação de nitrato a nitrito diferindo significativamente dos tempos de 8 e 12 horas.

A concentração de nitrato não apresentou diferença ao utilizar diferentes concentrações de micro-organismos, porém apresentou diferença significativa as diferentes concentrações da fonte vegetal, evidentemente pelo espinafre ser a única fonte. Doze horas de tempo de cura apresentou melhor resultado diferindo de oito e vinte e quatro horas por causa da transformação a nitrito.

Para o parâmetro A_w houve diferença significativa quando avaliado os diferentes tempos de cura, oito e doze horas apresentaram maiores valores diferindo de vinte e quatro horas.

Os valores de pH mostraram estáveis ao utilizar diferentes concentrações de micro-organismos, diferindo significativamente nas concentrações de fonte vegetal e tempo de cura doze horas em comparação a oito e vinte quatro horas. O valor de luminosidade das linguiças diferiu significativamente nas concentrações de micro-organismos e fonte vegetal. Para os parâmetros de cor a^* não houve diferença nas diferentes concentrações e cor b^* diferiu somente na concentração de fonte vegetal. Nascimento, 2010 ao estudar sobre a redução de cloreto de sódio e substituição de nitrito de sódio em produto cárneo embutido cozido evidenciou que os produtos com substituição de nitrito de sódio mostraram a tendência de aumento de intensidade de coloração amarela.

Os resultados dos teores de nitrito, nitrato, atividade de água, pH e parâmetros de cor das linguiças frescas em função da concentração de vegetal x concentração de micro-organismos, encontram-se na Tabela 3.

Quando avaliado a concentração de fonte vegetal em relação a diferente concentração de micro-organismo, as médias não apresentam diferença significativa indicando que a concentração da fonte vegetal não alterou os resultados de nitrito entre os tratamentos. Porém avaliando as diferentes concentrações de

vegetal na mesma concentração de micro-organismo foi verificada diferença significativa em ambas às proporções de micro-organismo.

A concentração de nitrato, Aw, pH e valores de croma b* não obtiveram resultados significativos em função da concentração de vegetal em relação à concentração de micro-organismo. A luminosidade e croma a* das linguiças frescas apresentaram diferença significativa apenas na concentração de 0,26% de vegetal em diferentes concentrações de micro-organismo. As diferentes concentrações de vegetal dentro da mesma concentração de micro-organismo diferiu na concentração de 0,18% para luminosidade e 0,09% para croma a*.

A Tabela 4 apresenta diferença na quantidade de nitrito obtido evidenciando que o tempo de cura e a concentração da bactéria foram significativos no experimento obtendo maior quantidade de nitrito no tratamento T6 (0,18% de *S. carnosus*, 0,50% fonte vegetal de espinafre e tempo de cura de 24 horas). Quantidade essa dentro dos padrões estabelecidos pela portaria nº 1.004 (BRASIL, 1998), que define como limite máximo 0,03 g/100 g (300 ppm) para nitrato e 0,015 g/100 g (150 ppm) para nitrito de sódio, e ou potássio em produtos cárneos curados industrializados ou frescos.

Os nitratos estão presentes nos vegetais, alface e espinafre são os vegetais que apresentam os teores mais elevados, sendo a principal fonte de nitratos na dieta humana (WEIGHTMAN et al., 2006). Mantovani et al., 2005 ao estudar sobre a comparação de procedimentos de quantificação de nitrato em tecido vegetal encontraram altos teores de nitrato em alface.

O fato da não produção de nitrito nos tempos de cura de oito e doze horas pode ser explicado pelas características da bactéria utilizada em que a temperatura ótima de crescimento está na faixa de 15° Celsius a 20°C. Casaburi et al., 2005 corrobora com a informação supracitada ao pesquisar sobre atividades de *Staphylococcus carnosus* e *Staphylococcus simulans* isolados de embutidos fermentados. A cultura de bactéria e a fonte vegetal utilizadas na pesquisa foram adicionadas sem processo de incubação prévia diferindo da proposta de Krause, et al 2011, que para encurtar o tempo de cura realizaram incubação prévia para ativação já misturada a fonte vegetal.

A temperatura utilizada nos tempos de cura foi de 10°C, temperatura máxima permitida para se manter a linguiça fresca no processo de cura, antes de ser armazenada em resfriamento em temperatura inferior a 4° Celsius, ou congelada a -18° Celsius, em que o *S. carnosus* não atingiu a fase estacionária nos tratamentos de oito e doze horas, conforme estudos anteriormente citados a atividade mais elevada de catalase para o *Staphylococcus carnosus* está na fase estacionária (BARRIERE, 2002). O aumento da fonte vegetal não proporcionou redução na produção de nitrito aos diferentes tratamentos justificado a não presença de substância inibidora ao *S. carnosus*.

Nas Tabelas 4 e 5, as interações duplas demonstraram a significância ao tempo de cura. Conforme demonstrado na Tabela 5, as concentrações de Nitrato diferiram em todos os tempos de cura em relação as diferentes concentrações de vegetal. Dentro de cada concentração de vegetal o tempo de 12 horas de cura apresentou maiores valores de nitrato.

Para variável Aw as linguiças frescas com 12 horas de cura e 0,26% de vegetal apresentou maior atividade de água. E na concentração de 0,5% de vegetal as linguiças com 8 horas de cura demonstraram os

maiores valores de atividade de água. O pH apresentou com significância na concentração do vegetal e tempo de cura, o tratamento com maior concentração de vegetal e maior tempo de cura foi que apresentou média diferenciada.

Os valores médios dos teores de nitrito, nitrato, atividade de água, pH e parâmetros de cor em função da concentração de micro-organismos x vegetal x tempo de cura estão apresentados na Tabela 6. As interações entre os três fatores não apresentaram diferença significativa, porém demonstraram um bom resultado porque os micro-organismos não desempenham ação fermentativa mantendo a característica do produto processado com cura, inserindo sais de nitrato e nitrito, com ação somente de catalase para redução do nitrato a nitrito. Embora a bactéria tenha ação fermentativa como relatado em experimento com salames em que o tempo de cura foi de 21 dias com pH inicial de 5,86 e final de 5,09 (GOTTERUP et al., 2008).

A atividade de água apresentou diferença significativa entre os tratamentos, mas em média um valor considerado alto, que é característica do produto, sendo os resultados não prejudiciais ao micro-organismo, não sendo motivo da não redução do nitrato a nitrito nos tratamentos com tempo de cura inferior a 24 horas, favorecendo na cor do produto no parâmetro L* referente a brilho.

Com relação à cor os fatores com diferença significativa foram concentração de micro-organismo e concentração da fonte vegetal no parâmetro L*. De maneira geral, observou-se que na interação dos três fatores demonstraram significância somente para o parâmetro de luminosidade.

4 Conclusões

A condução desse trabalho permitiu a elaboração de linguiça tipo frescal com substituição de nitrito de sódio por uma fonte natural de nitrato obtendo uma cura orgânica para linguiça tipo frescal, resultados que garantem a viabilidade tecnológica dessa reformulação promovendo apelos mais saudáveis para essa categoria de produto cárneo.

Devido à utilização de corantes no processamento industrial de linguiças, a cor obtida não satisfatória poderá ser alterada, não prejudicando o desenvolvimento das mesmas. O pH foi satisfatório pois a ação do micro-organismo não provocou grandes alterações. Novos estudos serão necessários para que se obtenha a transformação do nitrato a nitrito em um menor tempo de cura, pois a redução de estoques nas indústrias até mesmo durante o processamento é um fator de redução de custos. Outro fator importante a ser pesquisado é o teor dos sais de nitrito e nitrato após o produto ser descongelado durante o tempo de sua validade, deve-se estudar outras cepas de bactérias e também outros tipos de fontes vegetais, tornando possível a implementação do método para uma linha de produção.

5 Referências Bibliográficas

ANDRADE, R. **Desenvolvimento de métodos analíticos para determinação de nitrato e nitrito e N-**

nitrosaminas em produtos cárneos. Tese de (Doutorado em Ciências). Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2004.

BARRIERE, C., BRUCKNER, R., CENTENO, D., TALON, R. Characterisation of the katA gene encoding a catalase and evidence for at least a second catalase activity in *Staphylococcus xylosus*, bacteria used in food fermentation. **Fems Microbiology Letters** 216, 277–283, 2002.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE, AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Regulamento Técnico de Atribuição de Função de Aditivos e seus limites máximos para carne e produtos cárneos. **Portaria nº 1.004**, de 11 de dezembro de 1998.

BRASIL. MINISTÉRIO DA AGRICULTURA PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. Aprovar os Regulamentos Técnicos de Identidade e Qualidade de Carne Mecanicamente Separada, de Mortadela, de Lingüiça e de Salsicha. **Instrução Normativa Nº 4, DE 31 DE MARÇO DE 2000.**

CASABURI, A., BLAIOTTA, G., MAURIELLO, G., PEPE, O., & VILLANI, F. Technological activities of *Staphylococcus carnosus* and *Staphylococcus simulans* strains isolated from fermented sausages. **Meat Science**, 71,643–650, 2005.

DAVIDSON, P. M., SOFOS, J. N., & BRANEN, A. L. Antimicrobials in food. **Boca Raton:Taylor & Francis**, 2004.

GOTTERUP, J. et al. Colour formation in fermented sausages by meat-associated 14 staphylococci with different nitrite- and nitrate-reductase activities. **Meat Science**, v. 15 78, p. 492-501, 2008.

KRAUSE, B. L., SEBRANEK, J. G., RUST, R. E., & MENDONCA, A. Incubation of curing brines for the production of ready-to-eat, uncured, no-nitrite-or-nitrate-added,ground, cooked and sliced ham. **Meat Science**, 89, 507–513, 2011.

MANTOVANI, J. R.; CRUZ, M. C. P.; FERREIRA, M. E.; BARBOSA, J. C. Comparação de procedimentos de quantificação de nitrato em tecido vegetal. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.40, n.1, p.53-59, jan. 2005.

MØLER, J. K. S., JENSEN, J. S., SKIBSTED, L. H., & CHEL, S. K. Formation of nitrite-cured pigment, nitrosylmyoglobin, from metmyoglobin in model systems and smoked fermented sausages by *Lactobacillus fermentum* strains and a commercial starter culture. **European Food Research and Technology**, 216, 463–469, 2003.

- MOORE, J. E. Gastrointestinal outbreaks associated with fermented meats. **Meat Science**, v. 67, p. 565-568, 2004.
- MORITA, H., SAKATA, R., & NAGATA, Y. Nitric oxide complex of Iron (II) myoglobin converted from metmyoglobin by *Staphylococcus xylosum*. **Journal of Food Science**, 63, 352–355, 1998.
- NASCIMENTO, R., **Redução de cloreto de sódio e substituição de nitrito de sódio em produto cárneo embutido cozido: características físico-químicas, microbiológicas e sensoriais**. Dissertação de mestrado, Universidade Estadual de Campinas, 2010.
- OKAFOR, P. N.; OGBONNA, V. I. Nitrate and nitrite contamination of water sources and fruit juices marketed in south-eastern Nigeria. **Journal of Food Composition and Analysis**, v.16, p. 213-218, 2003.
- OLIVEIRA, K. A. M; MENDONÇA, R. C. S. Efeito da fermentação sobre a microbiota de embutidos cárneos. **Higiene Alimentar**, v.18, n. 123, 2004.
- PAUCAR-MENACHO, L. M.; SILVA, L. H. D.; BARRETTO, P. A. D. A.; MAZAL, G.; FAKHOURI, F. M.; STEEL, C. J.; COLLARES-QUEIROZ, F. P. Desenvolvimento de massa alimentícia fresca funcional com a adição de isolado protéico de soja e polidextrose utilizando páprica como corante. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 28, n. 4, p. 767-778, 2008.
- PEGG, R. B., & SHAHIDI, F. Nitrite curing of meat. The n-nitrosamine problem and nitrite alternatives. Trumbull, CT: **Food and Nutrition Press**, 2000.
- SEBRANEK, J. G., & BACUS, J. N. Cured meat products without direct addition of nitrate and nitrite: What are the issues? **Meat Science**, 77, 136–147, 2007.
- SHAHIDI, F., & PEGG, R. B. Novel synthesis of cooked cured-meat pigment. **Journal of Food Science**, 56, 1205–1208, 1991.
- WEIGHTMAN, R., DYER, C., BUXTON, J. & FARRINGTON, D. Effects of light level, time of harvest and position within field on the variability of tissue nitrate concentration in commercial crops of lettuce (*Lactuca sativa*) and endive (*Cichorium endiva*). **Food Additives & Contaminants: Part A**, 23 (5), 462-469, 2006

Tabela 1. Formulação dos diferentes tratamentos.

Tratamento	Formulação básica (gramas)	Água destilada (mL)	Micro- organismo (gramas)	Fonte vegetal (gramas)	Tempo de cura (horas)
T0 ₈	550	55	0,0	0,0	8
T0 ₁₂	550	55	0,0	0,0	12
T0 ₂₄	550	55	0,0	0,0	24
T1	550	55	0,5	1,417	8
T2	550	55	0,5	1,417	12
T3	550	55	0,5	1,417	24
T4	550	55	0,5	2,750	8
T5	550	55	0,5	2,750	12
T6	550	55	0,5	2,750	24
T7	550	55	1,0	1,417	8
T8	550	55	1,0	1,417	12
T9	550	55	1,0	1,417	24
T10	550	55	1,0	2,750	8
T11	550	55	1,0	2,750	12
T12	550	55	1,0	2,750	24

Tabela 2. Valores médios dos teores de nitrito, nitrato, atividade de água (Aw), pH, parâmetros instrumentais de cor de linguiças frescas função da concentração de micro-organismo; concentração da fonte vegetal e tempo de cura.

Parâmetros	S.Carnosus (%)		Vegetal (%)		Tempo de Cura (horas)		
	0,09	0,26	0,26	0,50 / 8	8	12	24
Nitrito (ppm)	0,9837 b	1,3684 a	1,3684 a	1,6262 a	0,0000 b	0,0000 b	4,4919 a
Nitrato (ppm)	39,0285 a	25,0700 b	25,0700 b	51,0829 a	41,6148 b	48,3907 a	24,2238 c
Aw	0,9902 a	0,9990 a	0,9990 a	0,9898 a	0,9905 a	0,9904 a	0,9888 b
pH	5,5375 a	5,5628 a	5,5628 a	5,5124 b	5,5128 b	5,5855 a	5,5180 b
L*	50,5980 b	1,8779 a	1,8779 a	50,4157 b	51,2252 a	50,4402 a	51,7750 a
a*	4,6151 a	4,5563 a	4,5563 a	4,3474 a	4,3417 a	4,6229 a	4,3908 a
b*	14,3545 a	13,9407 b	13,9407 b	14,6811 a	14,6044 a	14,1902 a	14,1381 a

Médias seguidas de letras distintas na linha diferem significativamente ao nível de 5% de probabilidade. L*: (luminosidade); a*, matiz do verde (-a) ao vermelho (+a); b*, matiz do azul (-b) ao amarelo (+b).

Tabela 3. Valores médios dos teores de nitrito, nitrato, atividade de água (Aw), pH e parâmetros instrumentais de cor de linguiças frescas função da concentração de vegetal x concentração de micro-organismo.

Parâmetros	Micro-organismo (%)	Vegetal (%)	
		0,26	0,50
Nitrito (ppm)	0,09	3,6018 aA	2,3004 aB
	0,18	4,6086 aB	7,4570 aA
Nitrato (ppm)	0,09	ns	ns
	0,18	ns	ns
Aw	0,09	ns	ns
	0,18	ns	ns
pH	0,09	ns	ns
	0,18	ns	ns
L*	0,09	50,0389 bA	51,1572 aA
	0,18	53,7170 aA	49,6742 aB
a*	0,09	4,9121 aA	4,3175 aB
	0,18	4,1997 bA	4,3772 aA
b*	0,09	ns	ns
	0,18	ns	ns

Médias seguidas de letras distintas maiúsculas na linha e minúsculas na coluna diferem significativamente ao nível de 5% de probabilidade, ns= não significativo. L*: (luminosidade); a*, matiz do verde (-a) ao vermelho (+a); b*, matiz do azul (-b) ao amarelo (+b).

Tabela 4. Valores médios dos teores de nitrito, nitrato, atividade de água (Aw), pH e parâmetros instrumentais de cor de linguiças frescas função da concentração de micro-organismo x tempo de cura.

Parâmetros	Micro-organismo (%)	Tempo de cura (horas)		
		8	12	24
Nitrito (ppm)	0,09	0,0000 aB	0,0000 aB	2,9511 bA
	0,18	0,0000 aB	0,0000 aB	6,0328 aA
Nitrato (ppm)	0,09	ns	ns	ns
	0,18	ns	ns	ns
Aw	0,09	ns	ns	ns
	0,18	ns	ns	ns
pH	0,09	ns	ns	ns
	0,18	ns	ns	ns
L*	0,09	50,2933 bB	48,8588 bB	52,6421 aA
	0,18	52,1571 aA	52,0217 aA	50,9079 aA
a*	0,09	4,9621 aA	4,5450 aA	4,3383 aA
	0,18	3,7213 bB	4,7008 aA	4,4433 aA
b*	0,09	ns	ns	ns
	0,18	ns	ns	ns

Médias seguidas de letras distintas maiúsculas na linha e minúsculas na coluna, diferem significativamente ao nível de 5% de probabilidade, ns= não significativo. L*: (luminosidade); a*, matiz do verde (-a) ao vermelho (+a); b*, matiz do azul (-b) ao amarelo (+b).

Tabela 5. Valores médios dos teores de nitrito, nitrato, atividade de água (Aw), pH e parâmetros instrumentais de cor de linguiças frescas função da concentração de vegetal x tempo de cura.

Parâmetros	Vegetal (%)	Tempo de cura (horas)		
		8	12	24
Nitrito (ppm)	0,26	ns	ns	ns
	0,50	ns	ns	ns
Nitrato (ppm)	0,26	22,6484 bB	32,3887 bA	20,1729 bB
	0,50	60,5813 aA	64,3927 aA	28,2748 aB
Aw	0,26	0,9894 bB	0,9912 aA	0,9893 aB
	0,50	0,9916 aA	0,9896 bB	0,9884 aB
pH	0,26	5,51 aB	5,59 aA	5,58 aA
	0,50	5,51 aB	5,58 aA	5,46 bC
L*	0,26	51,2742 aB	50,8158 aB	53,5438 aA
	0,50	51,1763 aA	50,0646 aA	50,0063 bA
a*	0,26	ns	ns	ns
	0,50	ns	ns	ns
b*	0,26	ns	ns	ns
	0,50	ns	ns	ns

Médias seguidas de letras distintas maiúsculas na linha e minúsculas na coluna, diferem significativamente ao nível de 5% de probabilidade, ns= não significativo. L*: (luminosidade); a*, matiz do verde (-a) ao vermelho (+a); b*, matiz do azul (-b) ao amarelo (+b).

Tabela 6. Valores médios dos teores de nitrito, nitrato, atividade de água (Aw), pH e parâmetros instrumentais de cor de linguiças frescas função da concentração de (micro-organismo) x (vegetal x tempo de cura).

Parâmetros	Micro-organismo (%)	Concentração vegetal (%) x tempo de cura (horas)					
		0,26 / 8	0,26 / 12	0,26 / 24	0,50 / 8	0,50 / 12	0,50 / 24
Nitrito (ppm)	0,09	0,0000 aB	0,0000 aB	3,6018 aA	0,0000 aB	0,0000 aB	2,3004 bA
	0,18	0,0000 aC	0,0000 aC	4,6086 aB	0,0000 aC	0,0000 aC	7,4570 aA
Nitrato (ppm)	0,09	ns	ns	ns	ns	ns	ns
	0,18	ns	ns	ns	ns	ns	ns
Aw	0,09	ns	ns	ns	ns	ns	ns
	0,18	0,9911 aA	0,9916 aA	0,9882 bB	0,9906 bAB	0,9906 aAB	0,9894 aAB
pH	0,09	0,9878 bCD	0,9908 aAB	0,9903 aABC	0,9926 aA	0,9886 bBCD	0,9873 bD
	0,18	ns	ns	ns	ns	ns	ns
L*	0,09	ns	ns	ns	ns	ns	ns
	0,18	49,5792 bBC	46,9017 bC	53,6358 aA	51,0075 aAB	50,8158 aAB	51,6483 aAB
a*	0,09	52,9692 aAB	54,7300 aA	53,4517 aA	51,3450 aABC	49,3133 aBC	48,3642 bC
	0,18	ns	ns	ns	ns	ns	ns
b*	0,09	ns	ns	ns	ns	ns	ns
	0,18	ns	ns	ns	ns	ns	ns

Médias seguidas de letras distintas maiúsculas na linha e minúsculas na coluna, diferem significativamente ao nível de 5% de probabilidade, ns= não significativo. L*: (luminosidade); a*, matiz do verde (-a) ao vermelho (+a); b*, matiz do azul (-b) ao amarelo (+b).