

**UNIVERSIDADE FEDERAL FLUMINENSE**

**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA  
ÁREA DE CONCENTRAÇÃO EM HIGIENE VETERINÁRIA E  
PROCESSAMENTO TECNOLÓGICO DE PRODUTOS DE ORIGEM  
ANIMAL**

**RAFAEL XAVIER ARAÚJO SILVA**

**AVALIAÇÃO DO EFEITO DO LACTATO DE SÓDIO,  
NISINA E SUA COMBINAÇÃO NA VALIDADE COMERCIAL  
E NA CARACTERIZAÇÃO SENSORIAL DA LINGUIÇA  
TOSCANA.**

**UNIVERSIDADE  
FEDERAL  
FLUMINENSE**

**NITERÓI  
2013**

RAFAEL XAVIER ARAÚJO SILVA

AVALIAÇÃO DO EFEITO DO LACTATO DE SÓDIO, NISINA E SUA COMBINAÇÃO  
NA VALIDADE COMERCIAL E NA CARACTERIZAÇÃO SENSORIAL DA LINGUIÇA  
TOSCANA

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária da Universidade Federal Fluminense, como requisito parcial para obtenção do Grau de Mestre. Área de concentração: Higiene Veterinária e Processamento Tecnológico de Produtos de Origem Animal

Orientador: Prof. Dr. TEÓFILO JOSÉ PIMENTEL DA SILVA

Co-orientador: Prof. Dr. ROBSON MAIA FRANCO

Niterói  
2013

RAFAEL XAVIER ARAÚJO SILVA

AVALIAÇÃO DO EFEITO DO LACTATO DE SÓDIO, NISINA E SUA COMBINAÇÃO  
NA VALIDADE COMERCIAL E NA CARACTERIZAÇÃO SENSORIAL DA LINGUIÇA  
TOSCANA

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária da Universidade Federal Fluminense, como requisito parcial para obtenção do Grau de Mestre. Área de concentração: Higiene Veterinária e Processamento Tecnológico de Produtos de Origem Animal

BANCA EXAMINADORA

---

Prof. Dr. Teófilo José Pimentel da Silva - Orientador  
Universidade Federal Fluminense - UFF

---

Prof. Dr. Robson Maia Franco – Co-orientador  
Universidade Federal Fluminense - UFF

---

Prof. Dr. Adriano Gomes Cruz  
Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia - IFRJ

Niterói  
2013

## **AGRADECIMENTOS**

Primeiramente agradeço a Deus por ter conseguido chegar até aqui.

Aos meus pais, Fátima Maria Xavier Silva e José Araújo Silva e minha avó por ficarem ao meu lado nos momentos difíceis, sempre me apoiando e incentivando nas minhas escolhas, sobretudo na dedicação e confiança que eles me proporcionam.

A Kelly Fernanda, o amor da minha vida, por ser essa pessoa incrível que me ajudou em todas as partes desse trabalho, passando por todas as dificuldades, bem como através do seu incentivo, amor e compreensão me fez enxergar que a vida não faz sentido sem a sua presença.

Ao meu orientador, Teófilo José Pimentel da Silva, pela sua dedicação e preocupação nas etapas desse trabalho, compartilhando seu conhecimento e sempre me apoiando nos meus experimentos.

Ao professor Robson Maia Fraco pela amizade, incentivo e sabedoria. Além de ser uma pessoa íntegra e um excelente profissional.

Ao professor Adriano Gomes da Cruz, pela paciência e ajuda nas análises estatísticas, sempre me motivando nas pesquisas, transmitindo conhecimento e segurança.

À Professora Mônica Queiroz de Freitas pela atenção, sendo sempre solícita com minhas dúvidas.

Ao pessoal do Laboratório de Físico-Químico da Faculdade de Veterinária e Farmácia pelo auxílio nas análises físico-químicas.

Aos alunos da pós-graduação pela ajuda nas análises sensoriais, disponibilizando tempo para que eu pudesse realizar tais análises.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – CAPES, pelo auxílio financeiro.

A todos da coordenação e Faculdade de Veterinária pelo apoio e oportunidade de completar mais uma conquista em minha vida.

*“Enquanto uma pessoa está subindo a montanha de helicóptero, eu estou escalando para chegar ao topo, mas tenha certeza que quando eu chegar lá no topo, a minha vista vai ser muito mais bela e gratificante do que a da pessoa que subiu de helicóptero. As dificuldades em nossas vidas servem para que possamos amadurecer e sermos pessoas melhores e acima de tudo ajudarmos o próximo.”*

**Provérbio Chinês.**

## SUMÁRIO

**LISTRA DE ILUSTRAÇÕES**, p. 8

**LISTA DE TABELAS**, p. 11

**LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS**, p. 13

**RESUMO**, p. 14

**1 INTRODUÇÃO**, p. 16

**2 REVISAO DE LITERATURA**, p. 18

2.1 **PRODUÇÃO E CONSUMO DA CARNE SUÍNA**, p. 18

2.2 **ELABORAÇÃO DE PRODUTOS FRESCAI**, p. 19

2.3 **PERFIL MICROBIOLÓGICO, FÍSICO-QUÍMICO E SENSORIAL DA LINGUIÇA DE CARNE SUÍNA**, p. 21

2.4 **LACTATO DE SÓDIO**, p. 23

2.4.1 **Aplicação do lactato de sódio e seu efeito antimicrobiano sobre produtos cárneos**, p. 24

2.4.2 **Aplicação do lactato de sódio e seu efeito sobre as características físico-químicas e sensoriais em produtos cárneos**, p. 25

2.4.3 **Mecanismo de ação do lactato de sódio**, p. 27

2.4.4 **Combinação do lactato de sódio com outros métodos e aditivos**, p. 28

2.5 **BACTERIOCINAS**, p. 28

2.6 **NISINA**, p. 30

2.6.1 **Aplicação da Nisina e seu efeito antimicrobiano em produtos cárneos**, p. 32

2.6.2 **Aplicação da Nisina sobre as características físico-químicas e sensoriais em produtos cárneos**, p. 33

2.6.3 **Mecanismo de ação da Nisina**, p. 34

2.6.4 **Combinação da Nisina com outros métodos e aditivos**, p. 35

2.7 **ANÁLISE SENSORIAL**, p.36

<b>3 MATERIAL E MÉTODOS</b>	p. 39
3.1 OBTENÇÃO DAS AMOSTRAS	p. 39
3.2 FORMULAÇÃO DAS AMOSTRAS DE LINGUIÇA TOSCANA	p. 39
3.3 ELABORAÇÃO DAS AMOSTRAS DE LINGUIÇA TOSCANA	p. 40
3.4 ANÁLISES BACTERIOLÓGICAS	p. 44
3.4.1 <b>Contagem de bactérias heterotróficas aeróbias psicrotróficas e mesófilas</b>	p. 44
3.4.2 <b>Contagem de Bactérias Ácido Lácticas</b>	p. 45
3.4.3 <b>Contagem de Enterobactérias</b>	p. 46
3.5 ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS	p. 46
3.5.1 <b>Potencial hidrogeniônico (pH)</b>	p. 47
3.5.2 <b>Teor de Substâncias Reativas ao Ácido Tiobarbitúrico (TBARS)</b>	p. 47
3.5.3 <b>Determinação da Atividade de água (Aa)</b>	p. 48
3.6 ANÁLISE SENSORIAL	p. 49
3.6.1 <b>Análise Descritiva Quantitativa (ADQ)</b>	p. 49
3.6.1.1 Recrutamento dos julgadores para a ADQ da linguiça toscana	p. 49
3.6.1.2 Preparação e apresentação das amostras	p. 50
3.6.1.3 Levantamento dos atributos sensoriais e treinamento de julgadores para a ADQ da linguiça toscana	p. 50
3.6.1.4 Avaliação Sensorial Descritiva Quantitativa (ADQ)	p. 51
3.6.2 <b>Testes de aceitação pelos consumidores</b>	p. 54
3.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA	p. 57
<b>4 RESULTADOS E DISCUSSÃO</b>	p.59
4.1 ANÁLISES DA QUALIDADE INICIAL DA LINGUIÇA TOSCANA	p. 59
4.2 ANÁLISES BACTERIOLÓGICAS	p. 59
4.2.1 <b>Contagem de Bactérias Heterotróficas Aeróbias Mesófilas</b>	p. 59
4.2.2 <b>Contagem de Bactérias Heterotróficas Aeróbias Psicrotróficas</b>	p. 61
4.2.3 <b>Contagem de Bactérias Ácido Lácticas</b>	p. 63
4.2.4 <b>Contagem de Enterobactérias</b>	p. 65
4.3 ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS	p. 67
4.3.1 <b>potencial Hidrogeniônico (pH)</b>	p. 67
4.3.2 <b>Atividade de água (Aa)</b>	p. 69

**4.3.3 Teor de Substâncias Reativas ao Ácido Tiobarbitúrico (TBARS), p. 71**

**4.4 ANÁLISE SENSORIAL, p. 73**

**4.4.1 Análise Descritiva Quantitativa (ADQ), p. 73**

**4.4.2 Teste dos consumidores pela escala hedônica com segmentação dos consumidores, p. 76**

**4.4.3 Relação entre os consumidores e os atributos sensoriais (ADQ), p. 79**

**4.4.4 Escala do Ideal com Logística Regressão e Análises de Penalidades, p. 82**

**5 CONCLUSÕES, p. 87**

**6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS, p. 88**

**7 ANEXOS, p. 99**

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

**Quadro 1** Material de referência e vocábulo descritivo utilizado na ADQ das linguiças toscanas tratadas com diferentes aditivos (Controle, F1, F2 e F3), p. 52

**Fig. 1** Perspectivas de crescimento da produção brasileira de carne suína 2006 – 2018. Fonte: MAPA, 2009, p. 18

**Fig. 2** Produção de bacteriocinas e seu efeito antimicrobiano, onde podemos evidenciar zonas de inibição nas camadas de células indicadoras sensíveis. Fonte: HILL, 2006, p. 29

**Fig. 3** Fluxograma de fabricação da linguiça toscana, p. 41

**Fig. 4** Carne submetida à cominuição, p. 42

**Fig. 5** Adição dos aditivos na amostra, p. 43

**Fig. 6** Processo de embutimento das linguiças toscanas, p. 43

**Fig. 7** Linguiças toscanas e suas respectivas formulações embaladas a vácuo, p. 43

**Fig. 8** Crescimento bacteriano no meio APC, p. 45

**Fig. 9** Aparelho da marca Quimis utilizado para realizar a destilação das linguiças toscanas (Controle, F1, F2 e F3), p. 48

**Fig. 10** Aparelho Aw43 – ETEC, utilizado para determinar a Aw das linguiças toscanas (Controle, F1, F2 e F3), p. 49

**Fig. 11** Julgadores realizando a Análise Descritiva Quantitativa (ADQ) das linguiças toscanas com diferentes aditivos (Controle, F1, F2 e F3), p. 51

**Fig. 12** Ficha de avaliação empregada na análise descritiva quantitativa das linguiças toscanas com diferentes aditivos (Controle, F1, F2 e F3), p. 53

**Fig. 13** Consumidora avaliando as linguiças toscanas experimentais em cabine individual na Faculdade de Veterinária – Niterói – RJ, p. 54

**Fig. 14** Ficha de avaliação para os testes de aceitação, ideal e de atitude das linguças toscanas com diferentes concentrações e tipos de aditivos, p. 56

**Fig. 15** Comportamento das amostras experimentais em relação a Contagem de Bactérias Heterotróficas Aeróbias Mesófilas (CBHAM) durante a estocagem. Controle (sem adição de aditivo); F1 (adição de 3% lactato de sódio); F2 (adição de 0,5% de nisina) e F3 (adição de 3% de lactato de sódio e 0,5% de nisina), p. 60

**Fig. 16** Comportamento das amostras experimentais em relação a Contagem de Bactérias Heterotróficas Aeróbias Psicotróficas (CBHAP) durante a estocagem. Controle (sem adição de aditivo); F1 (adição de 3% lactato de sódio); F2 (adição de 0,5% de nisina) e F3 (adição de 3% de lactato de sódio e 0,5% de nisina), p. 62

**Fig. 17** Comportamento das amostras experimentais em relação a Contagem de Bactérias Ácido Lácticas (BAL) durante a estocagem. Controle (sem adição de aditivo); F1 (adição de 3% lactato de sódio); F2 (adição de 0,5% de nisina) e F3 (adição de 3% de lactato de sódio e 0,5% de nisina), p. 64

**Fig. 18** Comportamento das amostras experimentais em relação a Contagem de Enterobactérias durante a estocagem. Controle (sem adição de aditivo); F1 (adição de 3% lactato de sódio); F2 (adição de 0,5% de nisina) e F3 (adição de 3% de lactato de sódio e 0,5% de nisina), p. 66

**Fig. 19** Comportamento do pH durante o período de estocagem das amostras de linguça toscana. Controle (sem adição de aditivo); F1 (adição de 3% lactato de sódio); F2 (adição de 0,5% de nisina) e F3 (adição de 3% de lactato de sódio e 0,5% de de), p. 68

**Fig. 20** Comportamento da Aa durante o período de estocagem das amostras de linguça toscana. Controle (sem adição de aditivo); F1 (adição de 3% lactato de sódio); F2 (adição de 0,5% de nisina) e F3 (adição de 3% de lactato de sódio e 0,5%), p. 70

**Fig. 21** Comportamento do TBARS durante o período de estocagem das amostras de linguça toscana. Controle (sem adição de aditivo); F1 (adição de 3% lactato de sódio); F2 (adição de 0,5% de nisina) e F3 (adição de 3% de lactato de sódio e 0,5%), p. 72

**Fig. 22** Análise do Componente Principal das amostras de linguças experimentais. Identificação das amostras na tabela 1, p. 76

**Fig. 23** Segmentação dos consumidores (n = 60) pela Análise de Cluster, p. 78

**Fig. 24** Média de aceitação para os três segmentos de consumidores, p. 79

**Fig. 25** Biplot correlação (PLS) de Cluster 1 (n = 7). Atributos que contribuíram significativamente ( $p < 0,05$ ) para a aceitabilidade são representados por barras sólidas, p. 80

**Fig. 26** Biplot correlação (PLS) de Cluster 2 (n = 41). Atributos que contribuíram significativamente ( $p < 0,05$ ) para a aceitabilidade são representados por barras sólidas, p. 81

**Fig. 27** Biplot correlação (PLS) de Cluster 3 (n = 12). Atributos que contribuíram significativamente ( $p < 0,05$ ) para a aceitabilidade são representados por barras sólidas, p. 81

**Fig. 28** Porcentagens da escala do ideal pelos consumidores para os atributos Cor(a), Gosto Salgado(b), Suculência(c) e Maciez(d) usando a escala de 9 – pontos (JAR) (1 = extremamente menos, 5 = ideal, 9 = extremamente mais). Ver tabela 1 com as formulações das linguiças, p. 84

## LISTA DE TABELAS

- TABELA 1** Representação das quatro formulações de linguiça toscana, p. 40
- TABELA 2** Valores médios em  $\log_{10}$  UFC/g de CBHAM das quatro formulações, p. 60
- TABELA 3** Valores médios em  $\log_{10}$  UFC/g de CBHAP das quatro formulações, p.62
- TABELA 4** Valores médios em  $\log_{10}$  UFC/g de BAL das quatro formulações, p. 64
- TABELA 5** Valores médios em  $\log_{10}$ UFC/g de enterobactérias das quatro formulações, p. 66
- TABELA 6** Valores médios de pH das quatro formulações, p. 68
- TABELA 7** Valores médios de Aa das quatro formulações, p. 70
- TABELA 8** Valores médios de TBARS (mg de malonaldeído/kg) das quatro formulações, p. 71
- TABELA 9** Análise bidimensional (ANOVA) dos dados dos atributos sensoriais da linguiça toscana sem adição de lactato e nisina (Controle), adicionada de 3% de lactato (F1), adicionada de 0,5% de nisina (F2) e sua combinação (F3) (9 avaliadores, 4 amostras, 4 repetições) “F ratio values<sup>a</sup>”, p. 73
- TABELA 10** Valores médios dos atributos sensoriais e diferença significativa correspondente para as amostras, p. 75
- TABELA 11** Valores da média da aceitabilidade e desvio padrão obtidos com a escala hedônica (n=60) das amostras de linguiça toscana experimentais: Coeficientes de Skewness e Kurtosis e valores de p do teste de Kolmogorov-Smirnov, p. 77
- TABELA 12** Aceitação sensorial das linguiças toscanas, p. 77

**TABELA 13** Penalidades dos consumidores pela escala do ideal (JAR) para os atributos avaliados: porcentagem e média de queda para cada pontuação de preferência de JAR, p. 86

**TABELA 14** Parâmetros estimados, probabilidade e estimativa de “odds ratio” para intenção de compra das lingüiças toscanas experimentais, p. 86

## LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

ADQ	Análise Descritiva Quantitativa
ANOVA	Análise de Variância
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
APC	Ágar Padrão para Contagem
ATP	Adenosina Trifosfato
A <sub>a</sub>	Atividade de água
BAL	Bactérias Ácido Láticas
cm	centímetro
cm <sup>2</sup>	centímetro quadrado
CBHAM	Contagem de Bactérias Heterotróficas Aeróbias Mesófilas
CBHAP	Contagem de Bactérias Heterotróficas Aeróbias Psicotróficas
°C	Grau Celsius
FDA	“Food Drug Administration”
g	gramas
JAR	“Just About Right”
kDa	quilodalton
kg	quilograma
µg	micrograma
log	logarítmico
log <sub>10</sub>	logaritmo decimal
MAPA	Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento
mg	miligrama
mL	mililitro
NaCl	cloreto de sódio
nm	nanômetro
NMP	Número Mais Provável
nº	número
N	normalidade
%	porcentagem
% p/p	porcentagem de peso de soluto por peso de solução
% v/v	porcentagem de volume de soluto por volume de solução
>	maior que
<	menor que
pH	potencial Hidrogeniônico
PLS	Mínimos Quadrados Parciais - “Partial Least Square”
ppm	parte por milhão
RDC	Resolução da Diretoria Colegiada
SIF	Serviço de Inspeção Federal
UFC	Unidade Formadora de Colônia
TBARS	Substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico - “ThioBarbituric Acid Reactive Substances”
UI	Unidade Internacional
UFF	Universidade Federal Fluminense

## RESUMO

O aumento do consumo e produção de carne suína vem ocorrendo nos últimos anos. Não obstante, os embutidos crus se destacam na preferência nacional, pois são produtos baratos, não exigem processos tecnológicos sofisticados para sua elaboração e possuem características sensoriais muito apreciadas. Nesse âmbito, por serem produtos frescos e conseqüentemente de fácil contaminação, torna-se importante a utilização de aditivos capazes de aumentar a validade comercial e manter e/ou melhorar as características sensoriais do produto. Objetivou-se neste estudo avaliar a validade comercial de quatro formulações de lingüiça toscana (Controle - sem adição de aditivo, F1 – adicionada de 3% de lactato de sódio, F2 – adicionada de 0,5% de nisina e F3 - adicionada de 3% de lactato de sódio e 0,5% de nisina) e as características sensoriais. Todas as amostras foram elaboradas no Laboratório de Tecnologia de Carne da UFF, onde foram divididas em sacos de polietileno contendo 200 gramas para cada formulação e dia de estocagem, para posteriores análises bacteriológicas e físico-químicas. Para a análise sensorial as amostras foram divididas em embalagens contendo 1 kg. Todas as formulações foram embaladas a vácuo e mantidas sob refrigeração a temperatura de 4°C. Em relação à validade comercial as amostras foram submetidas às seguintes análises bacteriológicas: contagem de bactérias heterotróficas aeróbias mesófilas e psicotróficas; contagem de bactérias ácido-láticas e contagem de enterobactérias. As análises físico-químicas realizadas foram: pH, atividade de água e teor de substância reativas ao ácido tiobarbitúrico. Interpretando-se os resultados obtidos no experimento concluiu-se que a utilização da combinação de 3% de lactato de sódio e 0,5% de nisina, aumentou a validade comercial quando comparada as demais amostras. Para a caracterização sensorial das lingüiças experimentais foi utilizado a Análise Descritiva Quantitativa (ADQ), teste de aceitação pela escala hedônica com segmentação dos consumidores e relação com os atributos sensoriais e, escala do ideal (JAR) pelas metodologias de regressão logística (RL) e análise de penalidades. Em todas as amostras os resultados foram satisfatórios nas análises sensoriais, evidenciando assim que os aditivos lactato de sódio e nisina, nas concentrações utilizadas, atuaram positivamente para a aceitação da lingüiça toscana no mercado.

Palavras chave: Lingüiça toscana. Validade comercial. Lactato de sódio. Nisina. Caracterização sensorial.

## ABSTRACT

The increased consumption and production of sausage pork has been occurring in recent years. However, the raw sausages stand out in national preference, because they are cheap products, do not require sophisticated technological processes and sensory characteristics have greatly appreciated. In this context, for being fresh products and consequently easily contaminated, becomes important to use additives that increase the shelf life and maintain and/or improve sensory characteristics. The objective of this study was to evaluate the shelf life of four formulations pork sausage (Control - no added additives, F1 - added 3% sodium lactate, F2 – added 0.5% nisin and F3 - added 3 % sodium lactate and 0.5% nisin) and sensory characteristics. All samples were prepared in the Laboratory of Meat Technology of UFF, which were divided into polyethylene bags containing 200 grams for each day and storage for subsequent bacteriological and physicochemical analysis. For sensory analysis, the samples were divided into packs of 1 kg. All formulations were vacuum packed and stored at refrigerator at 4°C. Concerning the shelf life, samples were subjected to the following tests bacteriological counts of heterotrophic bacteria aerobic mesophilic and psychrotrophic; count of lactic acid bacteria and enterobacteriaceae count. Analyses were carried out physico-chemical: pH, water activity and the content of thiobarbituric acid reactive substance. Interpreting the results obtained in the experiment it was concluded that the use of a combination of 3% sodium lactate and 0.5% nisin increased the shelf life compared to other samples. For the sensory characterization of experimental sausages was used to Quantitative Descriptive Analysis (QDA), acceptance testing by hedonic scale with consumer segmentation and relationship with sensory attributes and, the ideal scale (JAR) methodologies by logistic regression (LR) and analysis penalties. All results of samples were satisfactory in sensory analysis, thus evidencing that the additives lactate and nisin with concentrations used, acted positively for accepting pork sausage on the market.

Key-words: Pork sausage. Shelf life. Sodium lactate. Nisin. Sensory characterization.

## 1 INTRODUÇÃO

A demanda por proteína animal vem aumentando de forma expressiva no Brasil e no mundo. Nos últimos quarenta anos, o consumo per capita mundial de carnes mais do que dobrou, passando de 23 kg em 1961 para 46,6 kg em 2009 (ROPPA, 2007). O maior incremento na demanda vem ocorrendo em mercados emergentes, como China, Índia e Brasil, cujo aumento no poder aquisitivo das camadas mais pobres da população permitiu melhoria nas dietas alimentares, acompanhada de uma maior inserção de proteínas de origem animal.

Todavia, o consumo e a produção da carne suína vêm crescendo nos últimos anos. Apesar do consumo nacional ser baixo quando comparado ao contexto mundial, o mercado interno vem aumentando ao longo dos anos. Um dos motivos atrelados a este fato é a melhoria das características fenotípicas obtidas através do melhoramento genético dos suínos abatidos.

Dentre os produtos a base de carne suína, os embutidos estão em primeiro lugar na preferência nacional, sendo a linguiça frescal responsável por 60% do consumo dos embutidos no Brasil. Deste grupo, a principal representante é a linguiça toscana, produto este facilmente contaminado devido a diversos fatores, como: alta atividade de água, contaminação da tripa natural, alimento vendido cru, dentre outros.

Com a demanda da produção e consumo, cresce também a importância da segurança dos alimentos e qualidade sensorial. Considerando-se este aspecto, a utilização de substâncias como lactato de sódio e nisina, ambos com o intuito de manter a estabilidade microbiológica e inibir o crescimento de patógenos, tornam-se essenciais para a manutenção de um produto inócuo para a população. Tais substâncias podem não alterar a qualidade sensorial ou mesmo promover melhorias que acarretem em uma melhor aceitação do produto pelo consumidor.

A utilização do lactato de sódio (sal orgânico) como agente antimicrobiano tem sido preferencialmente empregado visando aumentar a validade comercial dos produtos cárneos em função de serem substâncias naturais facilmente encontradas em carnes, linguiças fermentadas e linguiça frescal suína, além de não apresentarem risco ao consumidor e manter ou melhorar a qualidade sensorial do alimento.

O uso da nisina como agente antimicrobiano também tem sido estudado em diversos países, sendo esta uma bacteriocina natural e reconhecidamente segura, “Generally Recognized As Safe” (GRAS), produzida por bactérias lácticas através da síntese ribossomal e com efeito antimicrobiano, principalmente contra bactéria Gram-positivas. São utilizadas em queijos; vegetais e produtos cárneos, a fim de promover um alimento inócuo para a população, porém poucos estudos relatam o efeito desse peptídeo nas características sensoriais dos alimentos (DELVES-BROUGHTON, 1990).

Tendo em vista a alta competitividade no setor cárneo, a análise sensorial torna-se um instrumento importante para avaliar os atributos sensoriais nos alimentos, sendo conseqüentemente essencial para a caracterização e direcionamento da aceitabilidade pelos consumidores, como por exemplo, suculência e sabor, atributos estes que não podem ser determinados por outras técnicas senão a análise sensorial. Nesse âmbito, a importância de realizar a Análise Descritiva Quantitativa (ADQ) por meio de uma equipe de provadores treinados, tem como intuito avaliar a intensidade dos atributos nos alimentos (ROMANELLI, 1995). Correlacionando com a ADQ, o teste de aceitação torna-se também peça fundamental na escolha do produto, onde a correlação de ambas as análises proporcionam as preferências ou não, para os atributos que foram relevantes na aceitabilidade.

Sendo assim, esta pesquisa foi conduzida visando à avaliação do efeito do lactato de sódio, nisina e sua combinação na validade comercial e na caracterização sensorial da linguiça toscana, com os seguintes objetivos: (1) Elaborar as amostras de linguiça toscana, resfriadas à 4°C controle e tratadas com 3% de lactato de sódio, 0,5% de nisina e sua combinação, nos períodos de estocagem (1, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35 e 40 dias); (2) Avaliar a eficácia do lactato de sódio e nisina sob o aspecto bacteriológico na conservação da linguiça toscana nos diferentes períodos de estocagem; (3) Realizar as análises físico-químicas de pH, reação ao ácido tiobarbitúrico (TBA) e Atividade de água (Aa) nos diferentes períodos de estocagem; (4) Caracterizar sensorialmente as linguiças toscanas controle e tratadas com os aditivos através da Análise Descritiva Quantitativa (ADQ), teste de aceitação, escala do ideal e intenção de compra e sua correlação para elucidar a preferência entre as amostras e (5) Definir qual amostra obteve melhor desempenho sob o ponto de vista bacteriológico, físico-químico e sensorial.

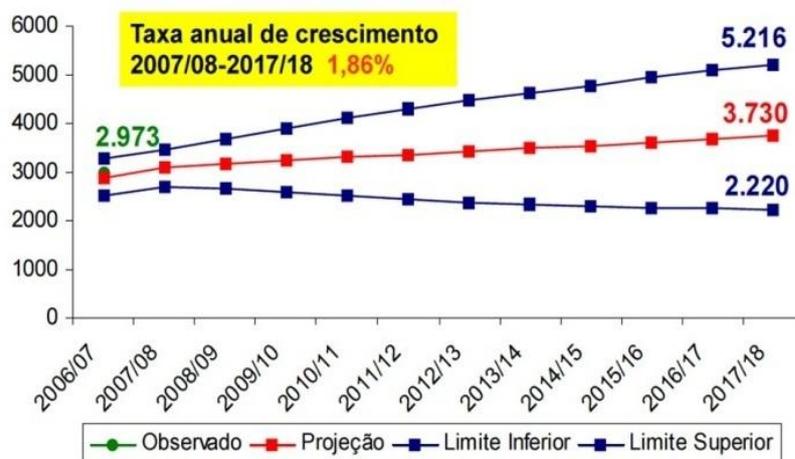
## 2 REVISAO DE LITERATURA

### 2.1 PRODUÇÃO E CONSUMO DA CARNE SUÍNA

A carne suína segundo dados do Departamento de Agricultura dos Estados Unidos (USDA, 2011) é a mais produzida no mundo. Em 2011 atingiu 101 milhões de toneladas, correspondendo a 40% de toda a produção de carnes anual. O Brasil ocupa o quarto lugar no “ranking” mundial, tendo produzido no ano de 2011 de acordo com dados da Associação Brasileira da Indústria Produtora e Exportadora de Carne Suína (ABIPECS, 2011), 3,2 milhões de toneladas, ficando atrás apenas da China, União Européia e Estados Unidos.

A produção brasileira de carne suína vem crescendo nos últimos anos, tal fato se deve a alguns fatores, tais como: baixos custos de produção entre os principais países produtores e exportadores; disponibilidade de grãos; tecnologias de abate e processamento; produção pecuária com avanços em genética; nutrição e medicamentos e, organização e coordenação da cadeia produtiva (GIROTTO; SANTOS FILHO, 2000).

Segundo dados do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (BRASIL, 2009) há uma perspectiva de crescimento da produção de carne suína até 2018, com uma taxa de crescimento anual de 1,86% (Figura 1).



**Figura 1:** Perspectivas de crescimento da produção brasileira de carne suína 2006 – 2018. Fonte: MAPA, 2009.

Em conformidade com os dados obtidos da ABIPECS (2011), o consumo “per capita” de carne suína no Brasil é de 15 kg/habitante/ano, muito abaixo da média dos países europeus e norte-americanos que apresentam consumo de 40 kg/habitante/ano e 24 kg/habitante/ano, respectivamente.

Devido à versatilidade do uso da carne suína na alimentação humana, seja no preparo de cortes *in natura* ou na fabricação de um grande número de embutidos, salgados e defumados, esta deverá garantir ao longo dos próximos anos a sua liderança mundial de consumo em relação às carnes de outras espécies (FÁVERO, 2002).

Apesar do baixo consumo de carne suína no Brasil em relação a outros países, tem-se notado um crescimento deste principalmente devido a mudanças do perfil nutricional da carne desses animais. Antigamente, o suíno apresentava uma conformação com mais gordura do que carne, contudo sofreu uma evolução tanto em aspectos genéticos como nutricionais, fazendo com que atualmente as proporções de carne e gordura tenham se invertido. Com isso, a carne suína passou a apresentar uma menor concentração de gordura, colesterol e calorias, além de ácidos graxos insaturados os quais são benéficos para a saúde, sendo também considerado como fonte de sódio e potássio (XAVIER et al., 2010). Entretanto, um dos principais fatores que ainda limita o consumo desse produto cárneo no Brasil está relacionado à questão sanitária. Já segundo Astiz (2008), além da qualidade da carne sob o ponto de vista sanitário, outros parâmetros como aspecto e odor também influenciam na escolha da carne a ser consumida.

## 2.2 ELABORAÇÃO DE PRODUTOS FRESCAIS

Pardi et al. (1994) relataram que os embutidos crus são produtos elaborados a partir de carne suína e/ou bovina com gordura suína, sendo as mesmas cruas e moídas grosseiramente, adicionadas de sal, nitrito e/ou nitrato, especiarias e outros aditivos, sendo embutidos em tripas de animais ou tripas artificiais conforme o tipo de produto em questão. Segundo os mesmos autores, os produtos frescais não são maturados ou dessecados e o uso de envoltórios plásticos sob refrigeração prolonga a validade comercial do produto.

Dentre os embutidos crus, a linguiça se sobressai como uma das mais produzidas, podendo apresentar uma composição variada, conforme com o tipo de carne utilizada na sua formulação (suína ou bovina), bem como a proporção de gordura presente. Além disso, os mesmos podem variar na sua composição, no emprego de determinados condimentos e no calibre das tripas utilizadas (GALLI, 1993; PARDI et al., 1994).

Um dos produtos cárneos mais produzidos no Brasil é a linguiça, tal fato se justifique devido a sua produção não exigir tecnologia sofisticada, além de utilizar poucos equipamentos que são de baixo custo (MILANI et al., 2003).

Para a elaboração dos produtos frescos a Portaria nº 1.004 (BRASIL, 1998) da Secretaria de Vigilância em Saúde contempla a utilização dos seguintes tipos de aditivos: acidulante, regulador de acidez, antioxidante, aromatizante/corante, conservante, estabilizador de cor, espessante, realçador de sabor e umectante.

Consta na Instrução Normativa nº 4 de 31 de março de 2000 (BRASIL, 2000) do Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA) a definição de que a linguiça é um produto cárneo industrializado, obtido de carnes de animais de açougue, adicionados ou não de tecidos adiposos, ingredientes, embutido em envoltório natural ou artificial, e submetido a processo tecnológico adequado.

A validade comercial da linguiça toscana crua e cozida foi avaliada por Toyohara (1989). Em relação à contagem de bactérias heterotróficas aeróbias mesófilas e psicotróficas as amostras possuíam conservação satisfatória por 12 e 30 dias de armazenamento (4°C e 2°C), respectivamente. Outros autores como Lopez et al. (1989), estabeleceram também a validade comercial de linguiças cruas e curadas chegando ao período de estocagem de 30 dias abrigadas da luz. Após o período de 45 dias de estocagem as linguiças possuíam perda de peso entre 31,9 a 45,9%, perda de umidade de 9,4 a 14,4% e aumento do índice de TBA de 0,2 para até 1,4mg de malonaldeído/kg. Siu e Drapper (1978), descreveram que a quantidade observada de malonaldeído em carne fresca variou de 1 a 6mg/kg.

## 2.3 PERFIL MICROBIOLÓGICO, FÍSICO-QUÍMICO E SENSORIAL DA LINGUIÇA DE CARNE SUÍNA

A linguiça frescal é um alimento exposto à contaminação, representando assim um excelente meio para desenvolvimento e multiplicação de microrganismos. As prováveis fontes de contaminação para esses produtos compreendem as carnes, os envoltórios, os temperos ou condimentos, bem como a água utilizada em todas as operações de limpeza e manutenção, manipulação, máquinas e utensílios (PANETTA, 1984). Além disso, a limpeza inadequada de equipamentos e utensílios, bem como a manipulação excessiva e, muitas vezes imprópria dos processadores, são fatores que contribuem para o aumento da carga microbiana desses produtos cujos principais agentes deteriorantes são bactérias e leveduras. Baseando-se nesses fatores, estas categorias de embutidos podem sofrer três tipos de alterações, conforme descrito por Delazari (1977):

- Presença de limo: observado no exterior do envoltório, podendo ser notado nos primeiros estágios como discretas colônias de microrganismos. Em estágios mais avançados confluirão, formando uma camada de limo cinza-esbranquiçado. Deste material podem ser isolados *Lactobacillus* spp. e *Streptococcus* spp.
- Acidificação: como resultado do crescimento de *Lactobacillus* spp, *Streptococcus* spp e organismos correlatos, devido à utilização de açúcares pelos microrganismos com formação de ácidos.
- Esverdeamento: espécies heterofermentativas de *Lactobacillus* spp e *Leuconostoc* spp que produzem peróxidos que agem sobre o pigmento da carne curada, causando essa alteração na cor.

Nesse âmbito, pode-se traçar um perfil microbiológico dos microrganismos responsáveis pela deterioração e transmissão de enfermidades por este produto, destacando a presença de bactérias aeróbias, anaeróbias facultativas, psicrótróficas e mesófilas (MATARAGAS et al., 2008).

Dentre os microrganismos patogênicos que potencialmente podem estar presentes no produto final destacam-se *Salmonella* spp., *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* e *Listeria monocytogenes*, que são carregadas para as plantas de abate a partir dos animais vivos e operários (BIRZELE et al., 2005).

Castagna et al. (2004) pesquisaram a prevalência de *Salmonella* spp. em frigorífico de abate de suínos e detectaram este microrganismo em 83,33% dos animais. A prevalência média encontrada no produto final (linguiça frescal) fabricado com matéria-prima oriunda destes animais foi de 93,94%, não havendo diferença estatística entre a prevalência de animais portadores e a encontrada no produto final.

ROSSI et al. (2011) analisaram a ocorrência de *Listeria monocytogenes* em quarenta amostras de linguiça frescal suína e em quarenta amostras de linguiça frescal de frango e isolaram este patógeno em 3,75% das amostras.

No âmbito internacional, Ferreira et al. (2007) em Portugal, realizaram um estudo para a pesquisa microbiológica de *Listeria monocytogenes* em emulsões cárneas, baseado na adição de aditivos como conservantes para a fabricação de salsichas onde constataram positividade em 100% das amostras analisadas.

Sob o aspecto físico-químico a linguiça frescal deve possuir como características, no máximo 70% de umidade, 30% de gordura e no mínimo 12% de proteína. Sendo proibida a adição de Carne Mecanicamente Separada (CMS), assim como a adição de amido (BRASIL, 2000).

Os produtos da oxidação lipídica são indesejáveis, não somente pela produção de odores e “flavours” ofensivos como resultado da decomposição de lipídios e produção de compostos voláteis, mas também pela destruição de constituintes essenciais, ocasionando o decréscimo do valor nutricional dos alimentos e a formação de compostos tóxicos durante o processamento (FRANKEL, 1996).

Outros parâmetros físico-químicos importantes na avaliação da qualidade do produto segundo Miyasaki et al. (2009) é o fato da linguiça frescal apresentar pH por volta de 6,0 e Atividade de água ( $A_a$ ) alta, maior que 0,98, sendo considerados fatores importantes para o desenvolvimento microbiano. Além disso, esse produto deve ser comercializado sob temperatura de refrigeração sendo necessário o tratamento térmico antes do consumo.

As características sensoriais da linguiça toscana são definidas conforme o processo de obtenção do produto, sendo a cor, o sabor, a textura e o odor, característicos da matéria-prima e dos ingredientes utilizados (BRASIL, 2000).

Na elaboração da linguiça toscana a variação de gordura e de substâncias empregadas na sua formulação, podem provocar alterações de sabor, textura, aparência e estabilidade, podendo influenciar também em outros atributos do alimento (CLARK, 1994).

Para Colmenero (1996) a cor rósea da linguiça se destaca devido a presença de sais de cura, como o nitrito. Porém, outros fatores como tipo de embalagem, percentual de gordura e substâncias que aceleram ou retardam o processo de cura, irão influenciar nas características visuais do produto.

## 2.4 LACTATO DE SÓDIO

O lactato de sódio é um sal natural sendo utilizado na indústria cárnea como flavorizante e extensor de validade comercial para produtos de carne bovina e de aves (PAPADOPOULOS et al.,1991). Comercialmente, o lactato de sódio tem a fórmula molecular  $\text{CH}_3\text{CHOHCOONa}$  e peso molecular 112,07, comercializado em solução aquosa à 60% com pH neutro (SHELEF, 1994).

A primeira lei usada para regulamentar o uso do lactato de sódio no Brasil foi a Resolução CNS/MS, de 24 de novembro de 1988 (BRASIL, 1988), permitindo a utilização do mesmo como umectante para balas, bombons, dentre outros. Em seguida, em 15 de janeiro de 1990 foi autorizada pela Secretaria de Inspeção de Produto Animal, através da SIPA-AUP nº 235/90 o emprego de lactato de sódio como coadjuvante tecnológico, na fabricação de produtos cárneos na proporção de 2% sobre o produto final (BRASIL, 1990). Em 1995 ocorreu a autorização pela Secretaria de Vigilância Sanitária, através da Portaria nº35 de 28 de abril de 1995, a utilização do lactato de sódio com função umectante em embutidos de carne, sem limite máximo de aplicação (BRASIL, 1995). A regulamentação definitiva sobre o uso do lactato de sódio como regulador de acidez foi em 1998 pela Portaria nº 1.004 (BRASIL, 1998), para produtos cárneos frescos embutidos ou não; produtos secos, curados e/ou maturados embutidos ou não; produtos salgados crus ou cozidos e conservas e semi-conservas de origem animal, sem limite de aplicação. Já a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) através da RDC nº386 de 5 de agosto de 1999, o lactato de sódio é classificado como regulador da acidez e como antioxidante, não exigindo limite de aplicação (BRASIL, 1999).

Segundo a “Food and Drug Administration” (FDA) o lactato de sódio é um alimento Geralmente Reconhecido como Seguro (GRAS) e utilizado para o controle do crescimento de certos microrganismos durante a validade comercial, além de controlar o pH e o sabor de produtos cárneos (STEKELENBURG; KANT-MUERMANS, 2001).

Vasavada et al. (2003) concluíram que a concentração de lactato de sódio a 2,7% foi a que apresentou maior eficácia no controle de bactérias aeróbias. Sallam e Samejima (2004) demonstraram também que o uso do lactato de sódio foi eficaz sobre bactérias aeróbias, aumentando a validade comercial em produto alimentício apresentando, no entanto, como fator limitante à sua utilização, a obtenção de um produto final mais salgado (SALLAM; SAMEJIMA, 2004).

Considerando o exposto acima, o lactato de sódio foi considerado um importante aditivo que influenciava principalmente no aumento da validade comercial, quando empregado em concentrações ideais (SALLAM, 2007).

#### **2.4.1 Aplicação do lactato de sódio e seu efeito antimicrobiano sobre produtos cárneos**

A aplicação do lactato de sódio em produtos cárneos foi estudada por diversos autores com o intuito de verificar se este aditivo influenciava na validade comercial e se atuava sobre bactérias patogênicas. Houtsma et al. (1993) e Shelef (1994) observaram que o lactato de sódio atuava principalmente em bactérias Gram-positivas. Em contrapartida, as leveduras foram mais resistentes, mesmo em grandes quantidades de lactato de sódio acima de 10%.

Segundo Maca et al. (1999) e Brewer et al. (1991) o lactato de sódio a 3% foi responsável por atuar predominantemente em bactérias lácticas e psicotróficas, inibindo estas microbiotas durante o período de estocagem de produtos cárneos embalados a vácuo e mantidos sob refrigeração. Na China, Lin e Lin (2002) realizaram estudos com linguiças frescas, utilizando concentração de lactato de sódio entre 1-3%, constatando baixo número na contagem de bactérias heterotróficas aeróbias mesófilas.

Justyna et al. (2008) realizaram experimento com três aditivos (lactato de sódio 3%, cloreto de sódio 3% e ácido láctico 0,5%) em carne moída visando

observar a influência do crescimento microbiano ao longo do tempo. Todos os aditivos utilizados inibiram o crescimento microbiano, com destaque para o lactato de sódio a 3%, que apresentou melhor efeito inibitório quando comparado aos demais. Marcela (2009) também constatou que o uso de lactato de sódio foi eficiente no controle microbiano de carne bovina embalada a vácuo.

Em estudo publicado no Congresso Nacional de Tecnologia de Alimentos no México, foi demonstrado por Lopes et al. (2010) que as concentrações de 1,8, 2,5 e 3% de lactato de sódio não aumentaram a validade comercial de carne de coelho sob temperatura de 4°C, não havendo diferença significativa entre a amostra controle e as amostras com aditivos, sob o ponto de vista microbiológico, físico-químico e sensorial.

Em relação às bactérias patogênicas, a grande preocupação em produtos cárneos enlatados ou embalados a vácuo é a produção da toxina botulínica pelo *Clostridium botulinum*. Nesse âmbito, Miller et al. (1993) demonstraram que a adição de lactato de sódio a 2% em carne de peru foi responsável por inibir o crescimento deste microrganismo bem como impedir a produção de toxina. A atividade antimicrobiana deste sal frente a *Listeria monocytogenes* também foi relatada em estudo realizado com lactato de sódio a 3% em presunto estocado à temperatura de 4°C (STEKELENBURG; KANT, 2001).

Juneja (2006) também constatou que o uso do lactato de sódio em diferentes concentrações inibia o crescimento do *Clostridium perfringens* em frangos estocados a temperatura de 4°C.

#### **2.4.2 Aplicação do lactato de sódio e seu efeito sobre as características físico-químicas e sensoriais em produtos cárneos**

Nnanna et al. (1994) relataram que a atividade antioxidante do lactato de sódio inibiu a oxidação lipídica em carne de porco durante sete dias de estocagem a 5°C, atuando no controle de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico. O provável mecanismo da atividade antioxidante é explicado através da complexação  $\text{Fe}^{3+}$  lactato ou pela redução do radical lactil do  $\text{Fe}^{3+}$  a  $\text{Fe}^{2+}$  e, subsequente quelatação do  $\text{Fe}^{2+}$  por espécies caborxiladas.

Outro estudo também correlacionando a atividade antioxidante foi direcionado por Calhoun et al. (1999), onde observou-se que a adição de 3,3% de lactato de sódio foi capaz de retardar a oxidação lipídica em hambúrguer acrescido de 15% de carne suína. Entretanto, Vasavada et al. (2003) ao pesquisarem a ação antioxidante entre amostras de linguiças de porco e peru com diferentes concentrações de lactato de sódio não foi comprovada em níveis do ácido tiobarbitúrico. Brewer et al. (2006) concluíram que a adição do lactato de sódio nas concentrações de 2 e 3% também não influenciou os resultados de TBA e que o aditivo foi apenas responsável por aumentar em sete dias a validade comercial da linguiça frescal suína durante o período de estocagem (28 dias a 4°C).

No quesito sensorial, salsichas do tipo frankfurt, com baixo teor de gordura, adicionadas de 2% de lactato de sódio, foram mais aceitas na análise sensorial para os atributos aroma, textura e coloração, quando comparadas as amostras controle - sem adição de lactato de sódio (BLOUKAS et al., 1997).

Segundo Bradley et al. (2011) na avaliação das linguiças formuladas com lactato de sódio a 2,5%, sem lactato e com lactato e ácido acético a 2,5%, foi constatado no teste de aceitação e análise descritiva quantitativa (ADQ) melhor aceitabilidade da amostra com lactato e ácido acético 2,5%, bem como manutenção dos atributos sensoriais desta amostra inalterados durante o período de estocagem. Entre 22 atributos avaliados na ADQ apenas dois (rancificação e ausência de sabor) foi encontrado diferença significativa ( $p < 0,05$ ), tendo sido essa diferença observada também na formulação com lactato e ácido acético. Nas demais formulações não houve diferença significativa nos atributos avaliados.

O efeito do lactato de sódio a 2,5% também foi estudado em presunto cozido sob o aspecto sensorial, tendo como resultado uma pequena diferença entre as amostras com lactato e sem lactato, nos atributos aparência; cor; estrutura e firmeza (STEKELENBURG; KANT, 2001).

Mancini et al. (2010) relataram que o efeito do lactato foi diferente entre produto cru e cozido. Descreveram que o efeito do lactato de sódio foi eficaz na estabilidade da cor em produtos crus, não ocorrendo nenhum efeito na coloração em produtos cozidos.

### 2.4.3 Mecanismo de ação do lactato de sódio

Existem vários mecanismos de ação propostos para o lactato de sódio, porém estes são considerados limitados. Os dois mecanismos mais aceitos são: o efeito bacteriostático através da formação de ácidos lipofílicos fracos que apresentam capacidade de atravessar a membrana celular em sua forma não dissociada e, penetrar pela membrana podendo dissociar-se e acidificar o interior da célula. O outro mecanismo seria a capacidade do lactato de sódio diminuir a atividade de água do alimento (SHELEF, 1994).

A primeira proposição de Shelef (1994) sobre o efeito bacteriostático do lactato de sódio se baseia na diminuição do pH interno dos microrganismos. Isso se deve ao fato de ácidos orgânicos lipofílicos na forma protonada, formados pelo lactato, apresentarem capacidade de penetrar livremente pela membrana citoplasmática, levando a diferença de pH entre o meio extracelular e intracelular. Não obstante, o microrganismo para regular essa diferença de pH desprende muita energia, diminuindo a sua taxa de crescimento. Além disso, a interferência do gradiente de prótons através da membrana citoplasmática leva a distúrbios nas funções celulares, como por exemplo, no transporte de aminoácidos.

A segunda proposição direcionada por Shelef e Chen (1992), atribui à diminuição da atividade da água como um possível efeito do lactato para o aumento da validade comercial, sendo essa diminuição caracterizada por estender a fase lag e diminuir a taxa de crescimento da fase logarítmica.

Alguns autores propuseram outros efeitos para a ação bacteriostática do lactato de sódio, como Mass et al. (1989) que observaram que o aumento dos íons lactato no meio leva a uma diminuição do piruvato e conseqüentemente inibição do principal mecanismo energético anaeróbico, essencial para tais microrganismos. Já para Shelef e Potluri (1995), um melhor efeito deste sal como inibidor do crescimento de microrganismos é obtido por reação termo-induzida, onde a quebra provocada facilita a ação do lactato. No entanto esses mesmos autores explicaram que a influencia dos componentes dos alimentos, tais como: grau de gordura, quantidade de proteína de soja utilizada, temperatura empregada e pH, são fatores que podem influenciar na eficácia deste regulador de acidez.

#### 2.4.4 Combinação do lactato de sódio com outros métodos e aditivos

Scannell et al. (2000) combinaram lactato de sódio a 2% com bacteriocina produzida por *Lactococcus lactis* promovendo um efeito inibitório para *Clostridium perfringens* em linguiça frescal suína.

A associação do lactato de sódio com diacetato de sódio proporcionou um efeito inibitório de *Salmonella enteritidis* em carne bovina (MBANDI; SHELEF, 2000). Grosulesco et al. (2011) relataram que o efeito inibitório desses aditivos também foi eficaz na inibição da *Listeria monocytogenes* em mortadela tipo Bologna, sendo neste caso o fator temperatura determinante para que esse efeito pudesse acontecer.

Nelisa (2005) demonstrou que a adição de 1,7% de lactato de sódio com 0,15% de diacetato de sódio em linguiças frescas suínas, ocasionou melhor aceitabilidade na análise sensorial. Além disso, permitiu diferenciar o gosto salgado entre as amostras tratadas com lactato, que apresentaram maior intensidade nesse atributo, em relação às amostras sem adição de lactato.

Seydim et al. (2006) concluíram que o lactato de sódio associado a embalagem a vácuo foi eficaz no controle microbiano durante o período de estocagem de carne de avestruz, mantendo também as características sensoriais do produto nesse período.

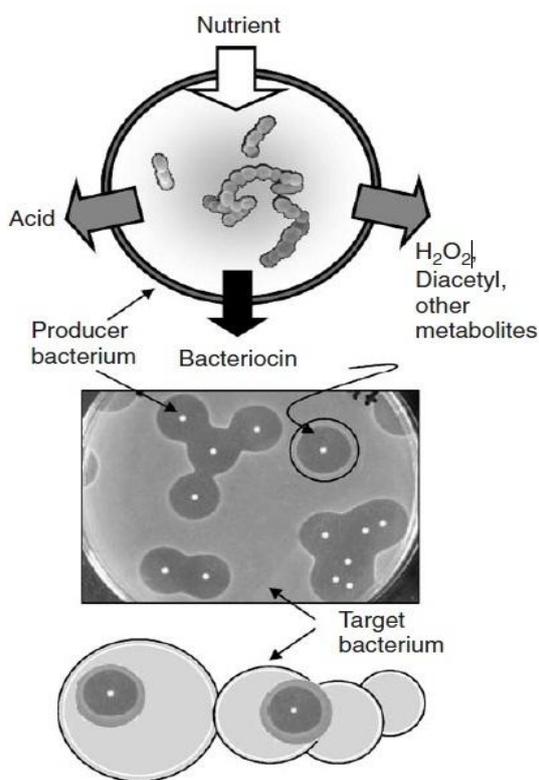
O efeito do lactato a 1,8% em linguiças, associado com nitrito de sódio, aumentou a validade comercial deste produto durante um período de 60 dias de armazenagem (BINGOL; BOSTAN, 2007).

## 2.5 BACTERIOCINAS

Bacteriocinas são peptídeos com ação antibacteriana que variam em seu espectro de atividade, modo de ação, peso molecular, origem genética e propriedades bioquímicas. Cada bacteriocina é produzida por uma espécie de bactéria e sua ação é ativa somente sobre outras espécies da mesma bactéria ou espécies relacionadas. Diferem dos antibióticos, pois apresentam um estreito espectro de ação e não induzem efeitos de resistência, uma vez que são inativadas por proteases presentes no sistema digestivo (ABEE et al., 1995; CASSENS, 1994).

Segundo Deegan et al. (2006) nos últimos anos o interesse em produzir bacteriocinas tem sido alvo de intensas investigações, por serem vantajosas na inibição ou eliminação de bactérias que competem pelo mesmo nicho ecológico ou mesmo “pool” de nutrientes, quando em quantidade suficiente (Figura 2). São ainda empregadas como recurso tecnológico na produção de alguns alimentos por serem consideradas conservantes naturais, pois são produzidas por bactérias lácticas, sendo estas consideradas como organismos seguros “Generally Recognized As Safe” (GRAS) (GUINANE et al., 2005).

Embora outras bactérias Gram-negativas e Gram-positivas também produzam bacteriocinas, apenas as provenientes de bactérias ácido-láticas possuem interesse para a indústria de alimentos (DEEGAN et al., 2006).



**Figura 2:** Produção de bacteriocinas e seu efeito antimicrobiano, onde evidenciam-se zonas de inibição nas camadas de células indicadoras sensíveis. Fonte: Deegan et al. (2006).

Segundo Nascimento et al. (2008) as bacteriocinas podem ser utilizadas de três formas no alimento: pela adição de culturas láticas bacteriocinogênicas no lugar das tradicionais culturas iniciadoras, pela adição dessas culturas como adjuntas ou pela adição direta de bacteriocinas purificadas.

A classificação das bacteriocinas foi proposta por Klaenhammer (1993) que se baseou para tal em sua estrutura primária, peso molecular, estabilidade ao calor e organização molecular, sendo as bacteriocinas produzidas por bactérias ácido-láticas, onde foram subdivididas em quatro classes:

- classe I - lantibióticas, caracterizadas pela presença de lantionina e b-metil lantionina e muito pequenas (<5kDa);
- classe II - pequenas (<10 kDa) e relativamente estáveis ao calor. São peptídeos de membrana ativa que não contêm lantionina,
- classe III - grandes (>30 kDa), proteínas termolábeis; e
- classe IV - bacteriocinas complexas que contêm porções lipídicas ou de carboidratos além da porção protéica.

Apesar do grande potencial das bacteriocinas, o uso em alimentos ainda é alvo de estudos, pois a atividade pode ser afetada por diversos fatores, como por exemplo: mudança na solubilidade e na carga eletrostática das bacteriocinas, ligação aos componentes dos alimentos, inativação por proteases, percentual de gordura no alimento, temperatura empregada, pH e mudanças na parede ou na membrana celular dos microrganismos alvos como resposta a fatores ambientais (GANZLE et al., 1999).

Dentre todas as bacteriocinas, as únicas produzidas comercialmente são: a nisina, produzida por *Lactococcus lactis* e, a pediocina produzida por *Pediococcus acidilactici*, sendo a nisina a mais utilizada (em mais de 48 países) e a única aprovada pela FDA (DEEGAN et al., 2006).

## 2.6 NISINA

A nisina é uma bacteriocina formada por anéis de lantionina e 34 aminoácidos, produzida por *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* cujo nome é derivado do termo “N-inhibitory substances” (NiS) adicionada do sufixo INA (CLEVELAN, 2001). Essa bacteriocina foi descoberta em 1930, como resultado da investigação dos

efeitos inibitórios de uma toxina presente no leite sobre culturas “starters” de queijo. Sua aplicação na conservação de alimentos teve início em 1951, com o emprego de culturas produtoras de nisina na produção de queijo. É um peptídeo atóxico, estável termicamente, não altera o sabor ou odor dos alimentos e é destruído pelas enzimas digestivas (DELVES-BROUGHTON et al., 1994).

Em 1969 esse peptídeo foi reconhecido como aditivo alimentar pelo FDA e “World Health Organization” (WHO), com limite máximo de ingestão de 33.000 Unidades Internacionais/kg de peso corpóreo. Diversos países permitem o uso da nisina em diferentes tipos de alimentos, podendo ser aplicada tanto em produtos vegetais quanto em produtos de origem animal (DE MARTINIS et al., 2002).

No Brasil, a aplicação da nisina é permitida em todos os tipos de queijos no limite máximo de 12 mg/kg (BRASIL, 1996) e na superfície externa de salsichas, na concentração máxima de 200 ppm em solução de ácido fosfórico (CASTRO, 2002).

Comercialmente, a nisina é produzida pela “Applin e Barrett”, sendo distribuída no Brasil pela empresa Danisco, com a denominação de Nisaplin, cuja composição é: nisina (1,026 UI/mg), cloreto de sódio (74,7%), proteína (17,12%), umidade (1,7%), carboidratos (59,3%), gorduras (traços), chumbo (0,15 ppm), arsênio (<0,5 ppm), zinco (9,2 ppm) e cobre (0,5 ppm). Segundo dados do fabricante, 100mg de Nisaplin possuem 2,5 mg de nisina (2,5%), ou seja, em 1mg de Nisaplin há  $10^4$  Unidades Internacionais (UI). Este mesmo fabricante recomenda o uso de 1-5 gramas de Nisaplin por quilo do produto final, dependendo da validade comercial desejada, bem como da condição microbiológica da matéria-prima (DELVES-BROUGHTON et al., 1990).

A nisina apresenta ação antimicrobiana sobre vários microrganismos gram-positivos, mas não é eficaz contra gram-negativos, leveduras e bolores (FRANCO et al., 2006). A resistência de bactérias gram-negativas à ação da nisina é atribuída a sua parede celular, que apresenta menor permeabilidade em relação às bactérias gram-positivas. Porém, a utilização de agentes quelantes, choque osmótico ou congelamento, pode tornar a parede celular permeável a esta bacteriocina (DELVES-BROUGHTON, 2005).

Segundo Aasen et al. (2003) a limitação do uso desta bacteriocina em produtos alimentícios ocorre devido à interação da nisina com constituintes do alimento, pois isso pode afetar sua atividade, tornando-a mais ou menos solúvel no alimento. Essa perda da atividade da nisina pode ser influenciada por alguns fatores,

tais como: estrutura e composição que constituem o alimento, pH, atividade de água, aditivos empregados nas formulações, tipo de embalagem e potencial redox.

A atividade da nisina foi mais eficaz em alimentos com baixo pH, entre 2-3 e, estocados a baixas temperaturas (4°C) ou processados termicamente a 120°C. Em alimentos mais gordurosos, com pH próximo da neutralidade e que possuem enzimas proteolíticas, há uma perda da solubilidade desse peptídeo, tornando-o ineficaz (DELVES-BROUGHTON, 2005).

A aplicação da nisina em carnes é um assunto bastante controverso. Segundo Davies et al. (1999) essa bacteriocina foi eficaz na concentração de 6,25 a 25 mg/g para o controle de bactérias deteriorantes em mortadela tipo Bologna. De Martinis et al. (2002) descrevem que o uso da nisina em carnes é muito limitado devido a sua baixa solubilidade e interação com componentes do alimento, não apresentando eficácia contra bactérias patogênicas e/ou deteriorantes em carne crua.

### 2.6.1 Aplicação da Nisina e seu efeito antimicrobiano em produtos cárneos

O efeito da nisina como agente antimicrobiano foi estudado em linguças de carne de búfalo estocadas em temperatura ambiente (35°C) por sete dias. Durante esse período as amostras tratadas com nisina obtiveram melhores resultados sob o ponto de vista microbiológico do que as que não sofreram tratamento pelo aditivo, além disso, mostraram-se eficaz também contra *Staphylococcus aureus* e bactérias anaeróbias (SURESHKUMAR et al., 2010).

Em salsichas cozidas embalada a vácuo e armazenadas sob refrigeração, a adição de 1,25 a 6,25 mg de nisina por quilo de produto ou imersão da salsicha cozida em uma solução de 5,0 a 25,0 mg de nisina por litro, aumentou a validade comercial das amostras (DELVES-BROUGHTON, 2005).

Cutter e Siragusa (1998) demonstraram que a adição de 10 µg/mL de nisina na superfície de carne para produção de produtos reestruturados foi efetivo na redução da população do microrganismo deteriorante *Brochothrix thermosphacta*.

Segundo Hampikyan e Ugur (2007), o efeito da nisina na concentração de 50 e 100 UI/g resultou na inibição da *Listeria monocytogenes* em salsichas fermentadas típicas da Turquia, pelo período de 20 e 25 dias de estocagem, respectivamente.

Outros estudos em questão apresentaram diferentes resultados acerca da eficácia da nisina como antimicrobiano. Tal como relatado por Pereira (2004), onde a nisina foi aplicada em salsichas na concentração de  $10^6$  UI/g e os resultados evidenciaram que embora não tenha ocorrido degradação da nisina durante o armazenamento, não houve inibição do crescimento de bactérias mesófilas.

Em estudo delineado por Castro (2002), observou-se que o tratamento superficial de salsichas com nisina (200 ppm de Nisaplin em solução de ácido fosfórico 0,1%) não ocasionou redução significativa na população de bactérias aeróbias mesófilas, psicrotróficas e bactérias lácticas, independente da temperatura de armazenamento utilizada (8 ou 12°C).

Em produtos cárneos embalados a vácuo há uma grande preocupação com o *Clostridium botulinum*. Nesse contexto, Delves-Broughton (1990), propôs a substituição parcial de nitrito por nisina e verificou que essa substituição seria economicamente inviável, pois apenas altas concentrações de nisina são eficientes no controle deste microrganismo.

### **2.6.2 Aplicação da Nisina sobre as características físico-químicas e sensoriais em produtos cárneos**

A ação da nisina nas características físico-químicas e sensoriais dos alimentos ainda é muito discutida e carece de estudos. Grande parte das alterações dessas características se deve indiretamente a alterações da microbiota do alimento que secundariamente leva a modificações de componentes e na percepção sensorial dos mesmos (DEEGAN et al., 2006).

Sureshkumar et al. (2010) concluíram que as amostras tratadas com nisina a 100 ppm não diferiram significativamente das amostras sem nisina, para substâncias reagentes ao ácido tiobarbitúrico, não havendo alteração significativa entre o processo de oxidação lipídica. Contudo, amostras contendo 100 ppm de nisina e di-terc-butilmetil possuíram melhor aceitabilidade para os atributos aparência, sabor e textura, onde o autor atribuiu essa melhor aceitabilidade ao sinergismo entre os dois aditivos presentes nas amostras.

O efeito da nisina sobre a atividade de água e pH também foi analisado por Wang (2000), onde não foi observado nenhuma diferença significativa entre as

amostras controle e adicionadas de 100 mg/kg de nisina, em linguiças tipo chinesa em temperatura de 20°C. As duas amostras tiveram diminuição do pH (6.5 para 5.25) ao longo de 25 dias de análise e a atividade de água ficou em torno de 0.935.

Gögus et al. (2006), verificaram que carne de peixe armazenada a 4°C e tratada com solução de nisina (40 mg/L), ácido láctico (5%) e cobertura (óleo vegetal, cera de abelha e água destilada), não evidenciaram nenhuma alteração na qualidade sensorial.

A influência da nisina na análise sensorial de linguiça de carne suína adicionada na proporção de 3:1 de nisina e lisoenzimas respectivamente, foi estudada ao longo de seis semanas a uma temperatura de 2°C. Os atributos sabor aceitável e odor desagradável possuíram diferença significativa. A linguiça controle (sem aditivo) apresentou odor mais desagradável, em contrapartida, às tratadas com os aditivos tiveram uma melhor aceitabilidade. Os provadores atribuíram tal fato ao odor pútrido que a linguiça controle apresentava e sabor mais característico de linguiça para àquelas tratadas com aditivos (NATRESS; BAKER, 2003).

### **2.6.3 Mecanismo de ação da Nisina**

Os estudos sobre o mecanismo de alguns lantibióticos e pequenos peptídeos termoestáveis revelam que a ação das bacteriocinas ocorre na membrana citoplasmática. Dependendo de sua concentração, as bacteriocinas são bactericidas ou bacteriostáticas e, atuam permeabilizando as membranas de células sensíveis por meio da formação de poros, o que causa desbalanço iônico e fluxo de íons fosfato (MONTVILLE; CHEN, 1998).

A consequência da formação de poros é a dissipação da força motriz protônica que está envolvida diretamente com a síntese de ATP, fosforilação de proteínas, síntese e rotação dos flagelos e, transporte de proteínas, podendo esse distúrbio primário ocasionar a lise celular. Com a dissipação da força protônica, 98,9% de ATP é hidrolisado na tentativa de manutenção desta força, o transporte ativo de aminoácidos cessa e os aminoácidos reserva são liberados da célula pelos poros formados (BRUNO; MONTVILLE, 1993).

Estudos detalhados das bacteriocinas da classe I observaram que esses componentes atuam no potencial de membrana independente da presença de um receptor (SAHL et al., 1987).

A nisina, embora não requeira um receptor de membrana, é mais ativa quando se encontra energizada. Moléculas de ligação, como lipídios II, presentes nas membranas de bactérias-alvo, podem servir como receptores de membrana nas bactérias sensíveis, aumentando a condutividade e a estabilidade de poros feitos por lantibióticos (BREUKINK et al., 1999).

Além do mecanismo de formação de poros, estudos recentes evidenciaram outro mecanismo de ação já reconhecido por diversos autores, que mostra a ligação da nisina com a biossíntese da parede celular microbiana, impedindo a formação da mesma (JOSALA et al., 2009).

Resumidamente, a ação da nisina se dá por dois mecanismos: I) Impede a síntese do peptidoglicano na parede celular. Neste processo a nisina se liga ao lipídeo II da membrana celular, responsável pelo transporte de peptidoglicano do citoplasma para a parede celular, impedindo a reconstrução da mesma. II) Formação de poro na parede celular. Neste processo a nisina se liga ao lipídeo II para iniciar a sua inserção na membrana celular e, conseqüentemente a formação do poro (COTTER et al., 2005).

#### **2.6.4 Combinação da Nisina com outros métodos e aditivos**

Diversos pesquisadores têm comprovado que a ação antimicrobiana da nisina é potencializada quando utilizada em sinergia com outros tratamentos. Entre os exemplos de tratamentos utilizados, podemos ter: adição de ácidos orgânicos, adição de outra bacteriocina ou mesmo adição de outros conservantes naturais (DEEGAN et al., 2006).

Samelis et al. (2005) observaram que a nisina junto com outros ácidos orgânicos foram eficazes contra *Listeria monocytogenes* em mortadela Bologna cozida e estocadas a 4°C por 120 dias, onde o autor não evidenciou atividade deste microrganismo durante o período de estocagem.

O tratamento em conjunto de nisina (500 UI/mL) e ácido láctico 1,5%, por aspersão em carcaças de carne bovina, reduziu em quase dois log UFC/cm<sup>2</sup> a

contagem total de bactérias mesófilas após 24 horas de sua aplicação. Tal resultado observado se deu devido a uma ação conjunta entre ácido lático e nisina, indicando que a condição ácida desta solução na qual a nisina foi utilizada potencializou o efeito antimicrobiano, pois os resultados utilizando somente ácido lático ou somente nisina não apresentaram a mesma eficiência (MARTINEZ et al., 2002).

Além da associação com outros aditivos, a nisina é bastante estudada associando-a com a alta pressão hidrostática. Um estudo recente realizado por Marcos et al. (2013), observaram a eficácia dessa associação em linguças fermentadas inoculadas com *Listeria monocytogenes*, onde o efeito antimicrobiano contra esta bactéria foi positivo.

Castillo et al. (2004) também constataram o efeito da alta pressão associado com a adição de nisina em carne de frango, observando a redução da contagem total de bactérias mesófilas em tal produto.

Os vários estudos evidenciaram que o uso de bacteriocinas como única barreira no crescimento microbiano em alimentos não é a melhor escolha, reforçando a concepção que métodos combinados de conservação podem ser usados como garantia de alimento seguro (DE MARTINIS et al., 2002).

## 2.7 ANÁLISE SENSORIAL

Minim (2006) constatou que a análise sensorial abrange vários aspectos, dentre os quais: identificar características de interesse na qualidade sensorial dos alimentos, determinar o método sensorial para quantificar e/ou qualificar a sensação pelo seres humanos e, selecionar e aplicar o método estatístico para avaliar os resultados.

Sua aplicação na indústria de alimentos e nas instituições de pesquisa podem alcançar as etapas de desenvolvimento de um novo produto, redução de custos, controle de qualidade, teste de mercado, avaliação do nível de qualidade do produto e validade comercial (DUTCOSKY, 2007).

Um fator fundamental nas análises sensoriais é a forma de preparo da amostra para o julgamento e, conforme Connel e Howgate (1968), o cozimento da amostra é a melhor forma para se diagnosticar e comparar diferenças.

Segundo Chaves e Sproesser (1996), os métodos sensoriais podem ser classificados em três grupos: métodos discriminativos, que indicam as diferenças percebidas entre os produtos; métodos descritivos que tem a finalidade de identificar e mensurar a intensidade de uma característica particular ou todas as características do produto; e métodos afetivos que buscam a opinião do consumidor, como aceitação ou preferência do produto, podendo ser analisados de forma individual ou relacionados à outros produtos.

O principal propósito dos testes afetivos é avaliar a resposta pessoal, preferência ou aceitação de um consumidor em potencial, ter uma idéia da aceitação ou avaliar uma característica em especial de um determinado produto. Os testes afetivos dividem-se em Ordenação, Comparação Pareada, Escalas de Atitude e Escala Hedônica, sendo as duas últimas as escalas mais empregadas para medida de aceitação de produtos (BERGARA-ALMEIDA; SILVA, 2002; CHAVES; SPROESSER, 2002).

Entretanto, para mensurar a aceitação de um produto, a escala hedônica de nove pontos é o método mais usual que, desde seu desenvolvimento tem sido usada extensivamente com uma grande variedade de produtos e com considerável sucesso, visto que a escala é facilmente entendida pelos julgadores, além dos resultados serem reprodutivos com diferentes grupos de consumidores (STONE; SIDEL, 1993).

Na escala hedônica, os provadores expressam a sua aceitação seguindo uma escala previamente estabelecida, que varia gradativamente desde “gostar” até “desgostar”. Esta escala é utilizada com o intuito de obter informações sobre a aceitação de produtos pelo consumidor nas fases iniciais de desenvolvimento, além de determinar a aceitação em caso de alteração nas formulações do produto, modificações nos processamentos, nas matérias-primas, embalagens, condições de estocagem e no tempo de conservação dos alimentos (CHAVES; SPROESSER, 1996).

Testes sensoriais descritivos estão entre as ferramentas mais sofisticadas utilizadas pelos cientistas sensoriais e envolvem a discriminação de descrição dos componentes sensoriais qualitativos e quantitativos. Existem vários métodos diferentes dentro das análises descritivas que refletem diferentes abordagens sensoriais, sendo a Análise Descritiva Quantitativa (ADQ) uma técnica

frequentemente utilizada na caracterização sensorial dos alimentos (GUÀRDIA et al., 2009).

Tal técnica é capaz de promover a descrição qualitativa e quantitativa do produto avaliado com precisão em termos matemáticos, baseado na percepção de um grupo de pessoas capacitadas. Os resultados obtidos incluem a descrição sensorial completa dos produtos e proporcionam uma base para determinar os atributos sensoriais que são importantes para a aceitabilidade (STONE; SIDEL, 2004).

Através da ADQ é possível identificar e quantificar, em ordem de preferência, as propriedades sensoriais dos produtos, assim como medir a intensidade percebida. Este teste possui a vantagem de fornecer um perfil sensorial completo do produto, onde são avaliados os atributos sensoriais presentes como aparência, aroma, cor, sabor, textura, além de permitir a análise estatística dos resultados (ABNT, 1998).

O objetivo a que se propõe a aceitação sensorial e a ADQ fica por conta do desenvolvimento, inovação, escolha de estratégia de marketing e aceitação do produto por parte do consumidor; uma vez que um produto que possua excelentes características químicas, físicas e microbiológicas para que tenha uma boa aceitação pelo consumidor, necessariamente precisa apresentar características sensoriais que atendam às suas necessidades (MINIM, 2006).

### 3 MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1 OBTENÇÃO DAS AMOSTRAS

A matéria-prima utilizada para a fabricação das linguiças foi obtida a partir de paleta de carne suína e toucinho, cedidas pela indústria Saudali localizada no Vale do Piranga S/A fiscalizada pelo Serviço de Inspeção Federal (SIF 1629). Essa matéria-prima foi resfriada, desossada e congelada a  $-18^{\circ}\text{C}$  na referida indústria, sendo posteriormente embaladas em sacos plásticos de polietileno a vácuo e transportadas em caixas isotérmicas devidamente isoladas com fita adesiva para o Laboratório de Tecnologia de Carnes e Derivados da Faculdade de Veterinária na Universidade Federal Fluminense - UFF em Niterói/RJ.

#### 3.2 FORMULAÇÃO DAS AMOSTRAS DE LINGUIÇA TOSCANA

O experimento baseou-se em três formulações teste e uma formulação controle. As diferenças entre as formulações teste consistem no tipo de aditivo adicionado em cada amostra e na sua combinação. Essas formulações foram realizadas no próprio Laboratório de Tecnologia de Carnes na UFF, e estão representadas na (Tabela 1).

**Tabela 1:** Representação das quatro formulações de linguiça toscana\*

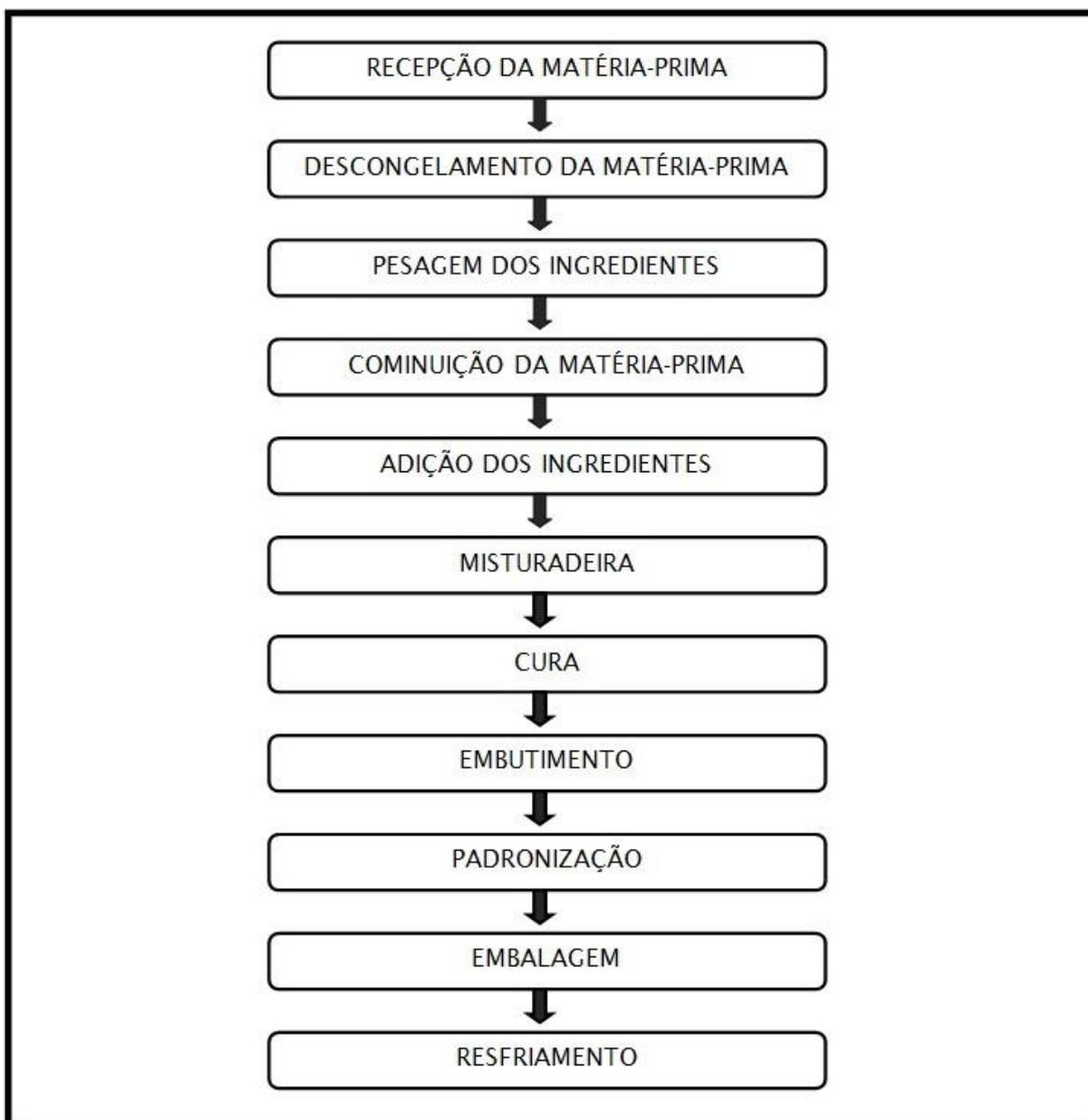
<b>Matéria-Prima</b>	<b>Controle</b>	<b>F1</b>	<b>F2</b>	<b>F3</b>
Carne suína	80,065	80,065	80,065	80,065
Toucinho	14,800	14,800	14,800	14,800
Sal	2,000	2,000	2,000	2,000
Açúcar	0,095	0,095	0,095	0,095
Mix Toscana	2,000	2,000	2,000	2,000
Água	1,000	1,000	1,000	1,000
Nitrito de Sódio	0,015	0,015	0,015	0,015
Eritorbato de Sódio	0,025	0,025	0,025	0,025
Lactato de Sódio	-----	3,000	-----	3,000
Nisina	-----	-----	0,500	0,500

\*Valores expressos em %

De acordo com a tabela acima é possível evidenciar as formulações elaboradas e seus respectivos ingredientes divididos em: Controle sem presença de lactato de sódio e nisina, F1 adicionada de 3% de lactato de sódio (60% v/v), F2 adicionada de 0,5% de nisina (2,5% p/p) e F3 combinando a adição de 3% de lactato de sódio (60% v/v) com 0,5% de nisina (2,5% p/p).

### 3.3 ELABORAÇÃO DAS AMOSTRAS DE LINGUIÇA TOSCANA

Após definida a formulação as amostras começaram a ser elaboradas separadamente. Para uma melhor visualização do processo, evidencia-se na (Figura 3) o fluxograma de preparação das amostras de linguiça toscana elaboradas no Laboratório de Tecnologia de Carne da UFF.



**Figura 3:** Fluxograma de fabricação da linguiça toscana

Para elaboração das linguiças a carne suína e o toucinho foram submetidos ao processo de descongelamento lento em refrigerador, a temperatura de 4°C em um período de 24-36 horas. Após tal procedimento, foi aferida a temperatura da matéria-prima através de termômetro digital tipo ponteira “Check Temp” para verificar se a temperatura estava entre 4°C, intervalo este considerado ideal para carnes resfriadas. A paramentação e higiene dos manipuladores também foram levadas em consideração visando minimizar os riscos de contaminação do produto.

As carnes e o toucinho foram cortados manualmente com auxílio de facas de aço inoxidável (uma para cada matéria-prima) em forma de cubos de tamanhos irregulares para facilitar o processo de moagem. Após isso, as carnes e os toucinhos foram cominuídos individualmente em máquina moedora (MCR 10), com disco de 1 cm (Figura 4).

Em seguida, foi realizada a mistura de forma manual do toucinho com a carne, para posteriormente serem adicionados os demais ingredientes da formulação e os aditivos utilizados no experimento (Figura 5). O processo de homogeneização durou em média 10 minutos para cada formulação. Passado esse período, a massa já pronta, foi acondicionada em temperatura de refrigeração, onde permaneceu em fase de repouso durante uma hora para que a cura ocorresse de forma eficiente.

A etapa seguinte foi o embutimento das linguiças, sendo realizada manualmente utilizando para tal a embutideira horizontal (EJ-08) com tripa natural de suíno (Figura 6). Cada gomo foi padronizado para ter em média 15 cm de comprimento pesando aproximadamente 100 g. As linguiças foram identificadas com suas respectivas formulações em sacos de polietileno, dividas para as análises bacteriológicas e físico-químicas, contendo 200 g para cada formulação e dia de estocagem. Para a análise sensorial as amostras foram divididas em embalagens contendo 1 kg. Todas as formulações foram embaladas a vácuo e mantidas sob refrigeração a temperatura de  $\pm 4^{\circ}\text{C}$ .



**Figura 4:** Carne submetida à cominuição.



**Figura 5:** Adição dos aditivos na amostra.



**Figura 6:** Processo de embutimento das linguiças toscanas.



**Figura 7:** Linguiças toscanas e suas respectivas formulações embaladas a vácuo.

### 3.4 ANÁLISES BACTERIOLÓGICAS

As análises bacteriológicas foram realizadas no Laboratório de Controle Microbiológico de Produtos de Origem Animal da Faculdade de Veterinária – UFF. De acordo com exposto na RDC nº 12 (BRASIL, 2001) e com o intuito de avaliar a qualidade inicial das linguças toscanas foram realizadas as seguintes análises bacteriológicas: enumeração de coliformes totais e termotolerantes, contagem de *Staphylococcus* coagulase positiva, contagem de *Clostridium* sulfito redutor e pesquisa de *Salmonella* spp. Os procedimentos analíticos foram realizados conforme a Instrução Normativa nº62, de 26 de agosto de 2003 (BRASIL, 2003).

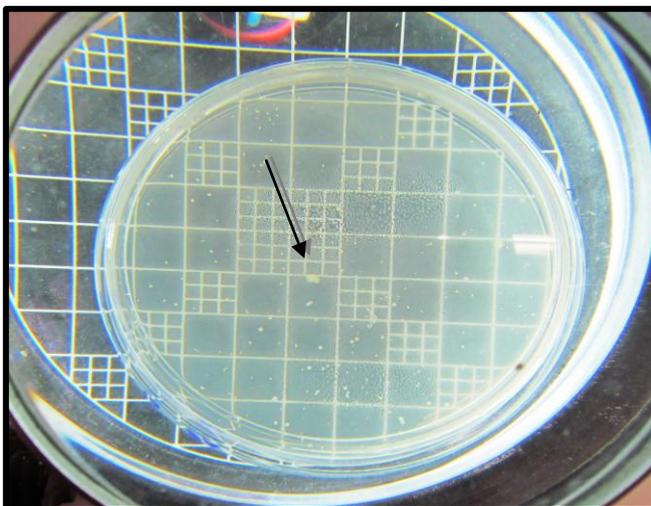
Para o acompanhamento do período de estocagem (Validade Comercial) das linguças toscanas as análises bacteriológicas realizadas foram: Contagem de Bactérias Heterotróficas Aeróbias Mesófilas (CBHAM), Contagem de Bactérias Heterotróficas Aeróbias Psicrótroficas (CBHAP), contagem de Bactérias Ácido Láticas (BAL) e enterobactérias.

#### 3.4.1 Contagem de bactérias heterotróficas aeróbias psicrótroficas e mesófilas

A contagem de CBHAM e CBHAP foi realizada em duplicata no 1º, 5º, 10º, 15º, 20º, 25º, 30º, 35º e 40º dias, seguindo a metodologia proposta pela Instrução Normativa nº62 (BRASIL, 2003) e “American Public Health Association” (APHA, 2001), respectivamente.

As embalagens a vácuo de cada amostra ou repetição foram assepticamente abertas e retiradas alíquotas em cinco pontos diferentes, totalizando 25g. Posteriormente foram homogeneizadas em envelopes plásticos esterilizados, no equipamento “stomacher” com 225 mL de solução salina peptonada a 0,1%, obtendo-se assim a diluição  $10^{-1}$ , a partir desta diluição foram transferidas alíquotas de 1 mL diluídas em tubos de ensaio com 9 mL de solução salina peptonada a 0,1%, formando assim a diluição de  $10^{-2}$  e assim sucessivamente. Cada diluição foi distribuída em quatro placas de Petri, e homogeneizada com 20 mL do meio Ágar Padrão para Contagem (APC) da marca Himedia (ref. M091). As placas referentes à contagem de bactérias mesófilas foram incubadas a  $36\pm 1^{\circ}\text{C}$  por 48 horas e as referentes às bactérias psicrótroficas foram incubadas na geladeira a  $4^{\circ}\text{C}$  por dez

dias. As placas referentes à diluição que apresentavam colônias entre 30 e 300 foram selecionadas para o resultado (Figura 8), ao serem contadas no contador do tipo Quebec.



**Figura 8:** Crescimento bacteriano no meio APC.

### 3.4.2 Contagem de Bactérias Ácido Láticas

A contagem de BAL foi realizada em duplicata no 1º, 5º, 10º, 15º, 20º, 25º, 30º, 35º e 40º dias. A partir das diluições realizadas, foi inoculado 1 mL em placas de Petri e, em seguida, adicionado o meio. “To De Man Rogosa e Sharpe” (MRS) da marca Himedia (ref. M641), previamente fundido. O meio Ágar MRS contém polisorbato, acetato, magnésio e manganês que agem como fatores de crescimento e nutriente base para as bactérias lácticas (MERCK, 1996). Para distribuição uniforme do crescimento das colônias, homogeneizou-se o inóculo com o meio formando uma primeira camada e, após a solidificação, foi vertido aproximadamente mais 10 mL do mesmo meio para formar uma segunda camada, propício para o desenvolvimento destas bactérias, sendo posteriormente incubados a 35-37°C por 48 horas.

Após a incubação, foi realizada a seleção e a contagem das placas com crescimento entre 20 e 200 UFC. Após a contagem, foram selecionadas duas colônias de cada placa, sendo uma para a prova da catalase e outra para observação das características morfo-tintoriais. Para a prova da catalase, uma colônia foi transferida para uma lâmina contendo uma gota de peróxido de

hidrogênio 3%. Foram consideradas negativas as amostras que não apresentaram formação de bolhas. Para a observação das características morfo-tintoriais foi realizado esfregaço, que em seguida foi corado pelo método de Gram e visualizado no microscópio óptico.

Os cultivos que apresentaram a prova da catalase negativa e presença de cocos ou bastonetes Gram-positivos foram considerados BAL. Para o cálculo do resultado final foi multiplicado o número de UFC contadas pela diluição da placa.

### 3.4.3 Contagem de Enterobactérias

A contagem de *enterobacteriaceae* foi realizada em duplicata no 1º, 5º, 10º, 15º, 20º, 25º, 30º, 35º e 40º dias, seguindo a metodologia preconizada pela Instrução Normativa nº 62, de 26 de agosto de 2003, do Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (BRASIL, 2003).

Em placas de petri esterilizadas, foram semeados 1 mL das diluições das amostras. Em seguida, foi vertido aproximadamente 10 mL do meio Ágar Cristal Violeta Vermelho Neutro Bile Glicose (VRBG) da marca Becton Dickson (ref. 218661). O meio e o inóculo foram homogeneizados e, após a solidificação da primeira camada, adicionou-se a segunda camada do meio de cultura, sendo este método denominado “pour plate” em dupla camada. As placas foram incubadas em estufa a 35-37°C por 48 horas.

Na composição do meio VRBG é evidenciada a habilidade dos microrganismos fermentarem a glicose com produção de ácido, reação sinalizada pela viragem do indicador a vermelho, e precipitarem sais biliares que absorvem o vermelho neutro, o que é observado pela formação de halo vermelho ao redor das colônias. A leitura das placas foi realizada em contador de colônias tipo Quebec.

## 3.5 ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS

As análises físico-químicas de pH e substância reativa ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) foram realizadas no Laboratório de Controle Físico-Químico do Departamento de Tecnologia dos Alimentos da Faculdade de Veterinária na UFF. A

análise de atividade de água foi realizada no Laboratório de Biotecnologia de Alimentos na Faculdade de Farmácia da UFF.

### 3.5.1 Potencial Hidrogeniônico (pH)

A análise de pH foi realizada em triplicata no 1º, 5º, 10º, 15º, 20º, 25º, 30º, 35º e 40º dias, utilizando a metodologia descrita na Instrução Normativa nº 20 de 21 de julho (BRASIL, 1999). Esta análise fundamenta-se na medida da concentração de íons hidrogênio na amostra. O peagômetro foi ajustado com as soluções tampões pH 4,0 e 7,0, sendo a sua mensuração feita introduzindo o eletrodo na solução do próprio saco de “stomacher” que foi utilizado para as análises bacteriológicas.

### 3.5.2 Teor de Substâncias Reativas ao Ácido Tiobarbitúrico (TBARS)

A análise de TBARS foi realizada em duplicata no 1º, 7º, 14º, 21º, 28º, 35º e 42º dias, seguindo a metodologia descrita por Tarladgis et al. (1960).

Foram pesados 5g da amostra em papel alumínio e colocados em béquer pequeno, ao que foram acrescentados 12,5 mL de água destilada. A mistura foi homogeneizada e, em seguida, transferida para um tubo de destilação do tipo Kjeldahl. Foram colocados 11,8 mL de água destilada no béquer, para retirada do resíduo, e transferidos para o tubo. Foram adicionados à mistura 0,630 mL de ácido clorídrico (HCl) da marca Casquímica (ref. 00453) quatro normal (4 N) para corrigir o pH para 1,5. Em seguida, o tubo foi conectado ao aparelho (Figura 9) e foi dado início a destilação. Foram recolhidos 20 mL do destilado. Posteriormente foram retirados 5 mL do destilado e colocados em tubo de ensaio com tampa de baquelite e adicionados 5 mL da solução de TBA. O tubo foi fechado e os conteúdos misturados. Realizou-se um branco. Os tubos foram imersos em banho de água fervente por 35 minutos. Retirados e esfriados em água corrente por 10 minutos. A leitura da absorbância da amostra foi realizada em espectrofotômetro a 538 nanômetros (nm) previamente calibrado com o branco. Para encontrar o nº de TBA, o valor encontrado na leitura da absorbância foi multiplicado por 7,8 que é o valor

determinado no experimento de Tarladgis et al. (1960), convertendo o resultado para mg de malonaldeído por 1000g do produto analisado.

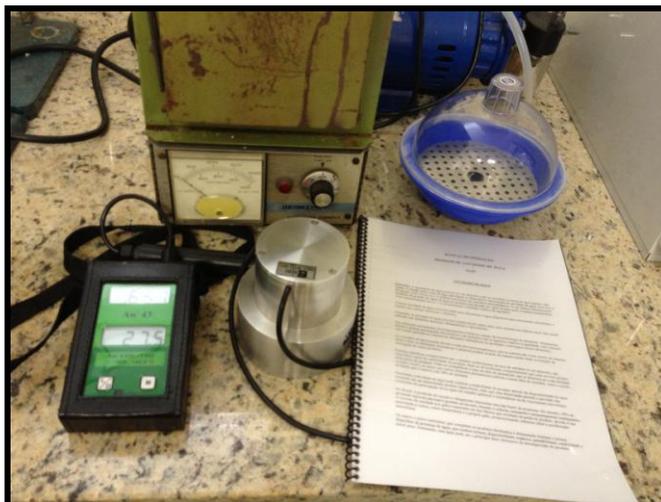
O branco foi preparado utilizando-se todos os reagentes menos a amostra, 5 mL de água destilada + 5 mL de TBA aquecidos em banho-maria e esfriados juntamente com as amostras.



**Figura 9:** Aparelho da marca Quimis utilizado para realizar a destilação das linguiças toscanas (Controle, F1, F2 e F3).

### 3.5.3 Determinação da Atividade de água (Aa)

A determinação da Aa foi realizada em duplicata no 1º, 7º, 14º, 21º, 28º, 35º e 42º dias, seguindo as instruções do aparelho Atividade de Água (Aa43 – ETEC). (Figura 10). O aparelho foi calibrado a temperatura de 20°C, sendo a inserção direta das amostras em cápsulas apropriadas do próprio equipamento.



**Figura 10:** Aparelho Aw43 – ETEC, utilizado para determinar a  $A_w$  das linguiças toscanas (Controle, F1, F2 e F3).

### 3.6 ANÁLISE SENSORIAL

#### 3.6.1 Análise Descritiva Quantitativa (ADQ)

A Análise Descritiva Quantitativa (ADQ) foi realizada segundo procedimentos descritos por Stone e Sidel (1998) no Laboratório de Análise Sensorial do Departamento de Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal Fluminense.

##### 3.6.1.1 Recrutamento dos julgadores para a ADQ da linguiça toscana

O recrutamento para compor a equipe sensorial foi realizado com auxílio de uma entrevista oral individual, com alunos já habituados com esse tipo de análise e consumidores desse tipo de carne. Participaram do teste, nove provadores, sendo cinco mulheres e quatro homens, com faixa etária de 20 a 30 anos (STONE; SIDEL, 1993), todos os alunos do Programa de Pós-Graduação em Higiene e Tecnologia de Produtos de Origem Animal da Universidade Federal Fluminense, previamente orientados e treinados para analisar as amostras controle e tratadas com os aditivos a serem analisados.

### 3.6.1.2 Preparação e apresentação das amostras

Para a realização da ADQ as amostras foram coccionadas em assadeira com grelha para fogão, da marca Fortaleza modelo 510000, durante 30 minutos. Nesse período a temperatura do centro geométrico foi controlada através de um termômetro digital marca Incoterm modelo 9795.02.2.00 com o objetivo de verificar se a temperatura no centro geométrico atingiu aproximadamente 70°C. Após esse processo, as mesmas foram cortadas com espessura de aproximadamente 0.5 cm e apresentadas aos julgadores de forma monádica, aleatória e dispostas em copos plásticos transparentes codificados com números aleatórios de três dígitos. Para avaliação do odor as amostras foram servidas na vidraria “becker” (100 mL), previamente acondicionadas em banho-maria, até o momento da avaliação. As fatias de linguiça foram servidas acompanhadas de água a temperatura ambiente e biscoito do tipo “craker”, ambos empregados visando a limpeza bucal entre as degustações.

### 3.6.1.3 Levantamento dos atributos sensoriais e treinamento de julgadores para a ADQ da linguiça toscana

Nessa etapa objetivou-se melhorar as habilidades naturais dos julgadores potenciais no reconhecimento e descrição dos atributos de aparência, sabor, odor e textura das amostras analisadas. Ao mesmo tempo objetivou-se familiarizá-los com as técnicas de degustação nas avaliações sensoriais.

O levantamento dos atributos realizado pelos nove provadores a partir de uma discussão aberta com os julgadores, que discutiram sobre quais os atributos de cor, sabor, odor e textura poderiam estar presentes na ADQ a partir de amostras de linguiças toscanas utilizadas no experimento.

Posteriormente ao levantamento dos atributos a equipe reuniu-se em dez sessões de pelo menos duas horas cada, para realizar o levantamento dos termos descritivos, sendo utilizado para essa finalidade as amostras de linguiças toscanas experimentais. Além disso, para provocar contrastes de intensidade das percepções sensoriais, também foram utilizadas linguiças comerciais obtidas no mercado.

Após estabelecer por consenso as definições e referências, foi elaborada uma ficha de avaliação contendo os atributos sensoriais dispostos na escala de 15 cm utilizando os pontos âncora nas extremidades por termos de intensidade (Figura 12). Os julgadores realizam a marcação com lápis na escala de 15 cm para os atributos em questão variando o grau de intensidade. O treinamento dos termos descritivos foi realizado utilizando a lista de definição dos atributos e suas referências ao longo de 30 dias (Quadro 1).

#### 3.6.1.4 Avaliação Sensorial Descritiva Quantitativa (ADQ)

Com a equipe treinada realizou-se a ADQ das amostras sob condições laboratoriais, em quatro repetições por julgador, sendo estas executadas durante dois dias de análises (Figura 11).



**Figura 11:** Julgadores realizando a Análise Descritiva Quantitativa (ADQ) das linguiças toscanas com diferentes aditivos (Controle, F1, F2 e F3).

**Quadro 1:** Material de referência e vocábulo descritivo utilizado na ADQ das linguiças toscanas tratadas com diferentes aditivos (Controle, F1, F2 e F3).

Terminologia Descritiva		
Atributos	Definição	Produtos de Referência
<b>Aparência</b>		
Cor rósea	Cor vermelho-rósea brilhante característica de linguiça Toscana	<b>Fraca:</b> linguiça de carne de frango comercial assada por 30 minutos <b>Intensa:</b> copa comercial fatiada
<b>Sabor</b>		
Característico de linguiça Toscana	Característico de linguiça Toscana obtida no comércio	<b>Pouco:</b> carré comercial assado por 30 minutos <b>Muito:</b> linguiça Toscana comercial assada por 30 minutos
Gosto salgado	Sabor associado ao NaCl	<b>Pouco:</b> linguiça Toscana comercial assada por 30 minutos <b>Muito:</b> linguiça Toscana acrescida de 0,5% de Nisina e 3% de lactato de sódio
Cítrico	Sabor cítrico devido à presença de ácido láctico	<b>Pouco:</b> linguiça Toscana comercial assada por 30 minutos <b>Forte:</b> linguiça Toscana comercial assada por 30 minutos, adicionada de duas gotas de vinagre
<b>Aroma</b>		
Característico de linguiça Toscana	Característico de linguiça Toscana obtida no comércio	<b>Pouco:</b> carré comercial assado por 30 minutos <b>Forte:</b> linguiça Toscana comercial assada por 30 minutos
Cítrico	Aroma cítrico devido à presença do ácido láctico	<b>Fraco:</b> linguiça Toscana comercial assada por 30 minutos <b>Forte:</b> linguiça Toscana comercial assada por 30 minutos, adicionada de duas gotas de vinagre
<b>Textura</b>		
Maciez	Força necessária para ruptura da fatia de linguiça na primeira mordida	<b>Pouca:</b> carré comercial assado por 30 minutos <b>Muita:</b> linguiça de carne de frango comercial assada por 30 minutos
Suculência	Quantidade de umidade liberada durante a mastigação	<b>Pouca:</b> carré comercial assado por 30 minutos <b>Muita:</b> linguiça Toscana comercial assada por 30 minutos
Coesividade	Grau com que as partículas das amostras se mantêm coesas	<b>Pouca:</b> linguiça de carne de frango comercial assada por 30 minutos <b>Muita:</b> carré comercial assado por 30 minutos

Degustador: \_\_\_\_\_ Código da amostra: \_\_\_\_\_ Data: \_\_\_\_\_

Por favor, faça um traço vertical na escala no ponto que melhor descreve a intensidade de cada característica da amostra.

### APARENCIA

- Cor rósea

Fraca

Intensa

|-----|

### SABOR

- Característico de linguiça Toscana

Pouco

Muito

|-----|

- Gosto salgado

Pouco

Muito

|-----|

- Sabor cítrico

Fraco

Forte

|-----|

### AROMA

- Característico de linguiça Toscana

Pouco

Muito

|-----|

- Cítrico

Fraco

Forte

|-----|

### TEXTURA

- Maciez

Pouca

Muita

|-----|

- Suculência

Pouca

Muita

|-----|

- Coesividade

Pouca

Muita

|-----|

**Figura 12:** Ficha de avaliação empregada na análise descritiva quantitativa das linguiças toscanas com diferentes aditivos (Controle, F1, F2 e F3).

### 3.6.2 Testes de aceitação pelos consumidores

Os testes de aceitabilidade pelos consumidores foram realizados no Laboratório de Análise Sensorial do Departamento de Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal Fluminense. O processo de preparo e apresentação das linguças toscanas para a realização da referida análise foi idêntico ao realizado para a ADQ.

Os testes realizados nas formulações Controle, F1, F2 e F3 (Tabela 1), foram: teste de aceitação com a utilização da escala hedônica estrutura em 9 pontos (9 – Gostei extremamente e 1 – Desgostei extremamente) (DELLA MODESTA, 1994), teste do ideal “Just About Right” (JAR) de 9 pontos (9 – Extremamente mais que e 1 – Extremamente menos que) (CERVANTES, et al., 2010) e teste de atitude utilizando a escala de 5 pontos (5 – certamente compraria e 1 – certamente não compraria) (LEE et al., 2011) (Figura 14).

Os atributos avaliados pela escala hedônica foram: aparência, cor, sabor, textura e impressão global. Enquanto a escala do ideal foi empregada visando avaliar a cor característica de embutido cárneo, gosto salgado, suculência e maciez.

As amostras foram avaliadas por 60 consumidores potenciais, sendo 35 mulheres e 25 homens, com faixa etária entre 20 e 55 anos. Os provadores foram recrutados de acordo como hábito de consumo de embutidos e interesse em participar do teste. Para a avaliação, os provadores foram instruídos em relação ao procedimento do teste e preenchimento da ficha de resposta (Figura 13).



**Figura 13:** Consumidora avaliando as linguças toscanas experimentais em cabine individual na Faculdade de Veterinária – Niterói - RJ.

Nome: \_\_\_\_\_ Idade: \_\_\_\_\_ Sexo: (F) (M) Data: \_\_\_\_\_

Por favor, avalie as amostras codificadas utilizando a escala hedônica abaixo para indicar o quanto você gostou ou desgostou de cada uma, em relação às características descritas no alto de cada escala.

1) **De uma forma geral**, marque por favor o quanto você gostou ou desgostou de cada amostra, de acordo com a escala ao lado:

<u>AMOSTRAS</u>	Aparência	Cor	Sabor	Textura	Impressão Global

9 - Gostei extremamente  
 8 - Gostei muito  
 7 - Gostei moderadamente  
 6 - Gostei ligeiramente  
 5 - Nem gostei/Nem desgostei  
 4 - Desgostei ligeiramente  
 3 - Desgostei moderadamente  
 2 - Desgostei muito  
 1 - Desgostei extremamente

2) Para avaliação dos atributos: cor, sabor e textura (suculência e maciez), utilize as respectivas escalas abaixo:

2.1) **COR CARACTERÍSTICA DE EMBUTIDO CÁRNEO**– Observe as amostras e utilizando a escala ao lado julgue o quão ideal se encontra.

<u>AMOSTRAS</u>	Cor

9 – Extremamente mais escuro que o ideal  
 8 – Muito mais escuro que o ideal  
 7 – Moderadamente mais escuro que o ideal  
 6 – Ligeiramente mais escuro que o ideal  
 5 - Ideal  
 4 – Ligeiramente menos escuro que o ideal  
 3 – Moderadamente menos escuro que o ideal  
 2 – Muito menos escuro que o ideal  
 1 – Extremamente menos escuro que o ideal

2.2) **GOSTO SALGADO**– Prove as amostras e utilizando a escala ao lado julgue o quão ideal se encontra.

<u>AMOSTRAS</u>	Salgado

9 – Extremamente mais salgado que o ideal  
 8 – Muito mais salgado que o ideal  
 7 – Moderadamente mais salgado que o ideal  
 6 – Ligeiramente mais salgado que o ideal  
 5 - Ideal  
 4 – Ligeiramente menos salgado que o ideal  
 3 – Moderadamente menos salgado que o ideal  
 2 – Muito menos salgado que o ideal  
 1 – Extremamente menos salgado que o ideal

2.3) **TEXTURA** – Prove as amostras e utilizando a escala ao lado, julgue o quão ideal se encontra em relação aos atributos abaixo:

a) **SUCULÊNCIA**

<u>AMOSTRAS</u>	Suculência

9 – Extremamente mais suculento que o ideal  
 8 – Muito mais suculento que o ideal  
 7 – Moderadamente mais suculento que o ideal  
 6 – Ligeiramente mais suculento que o ideal  
 5 - Ideal  
 4 – Ligeiramente menos suculento que o ideal  
 3 – Moderadamente menos suculento que o ideal  
 2 – Muito menos suculento que o ideal  
 1 – Extremamente menos suculento que o ideal

b) **MACIEZ**

<u>AMOSTRAS</u>	Maciez

9 – Extremamente mais macio que o ideal  
 8 – Muito mais macio que o ideal  
 7 – Moderadamente mais macio que o ideal  
 6 – Ligeiramente mais macio que o ideal  
 5 - Ideal  
 4 – Ligeiramente menos macio que o ideal  
 3 – Moderadamente menos macio que o ideal  
 2 – Muito menos macio que o ideal  
 1 – Extremamente menos macio que o ideal

3) **INTENÇÃO DE COMPRA** – Diante destes produtos no supermercado, você os compraria ?

<u>AMOSTRAS</u>	Intenção de Compra

5 – Certamente compraria.  
 4 – Possivelmente compraria.  
 3 - Talvez comprasse/ Talvez não comprasse.  
 2 – Possivelmente não compraria.  
 1 – Certamente não compraria.

Comentários:

---



---

**Figura 14:** Ficha de avaliação para os testes de aceitação, ideal e de atitude das linguças toscanas com diferentes concentrações e tipos de aditivos.

### 3.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Para a estatística dos dados bacteriológicos e físico-químicos foi utilizado a análise de variância (ANOVA), com nível de significância de 5% ( $p < 0,05$ ) e em modelo inteiramente casualizado. Para comparação entre as médias foi utilizado o teste de Tukey.

Para a realização das análises de dados da ADQ foi utilizado, conforme Bayarri et al. (2011), a análise bidimensional de variância (ANOVA) para cada amostra e julgador e, a interação entre ambos, para cada atributo. Para avaliação das diferenças individuais foi utilizado um modelo fixo. Na presença de diferença significativa ( $p < 0,05$ ) entre julgador e amostra foi aplicado um modelo misto (ANOVA) considerando o julgador como efeito aleatório e amostra como modelo fixo. Para as diferenças mínimas entre as médias das amostras foi utilizado o teste de Turkey. A Análise de Componentes Principais (ACP) foi realizada a partir das médias dos atributos avaliados.

Segundo Bayarri et al. (2011) os dados referentes à aceitação foram checados quanto a sua adequação e distribuição normal, para isso foram calculadas as médias, desvio padrão, "skewness", e coeficiente de kurtosis para cada amostra, bem como aplicado também o teste de Kolmogorov-Smirnov para calcular o "p-values". Caso os dados não atendessem a normalidade, foi executada a análise hierárquica de agrupamentos (AHC) para identificar diferentes subgrupos entre os consumidores com diferentes preferências (VIGNEAU; QANNARI, 2002). Para correlacionar os dados da aceitação com os atributos sensoriais da ADQ, identificando subgrupos com diferentes preferências foi utilizado o "Partial Least Square" (PLS) (WOLD et al., 2001).

O teste do ideal e com intuito de identificar direções potenciais para melhoria do produto, a análise de dados foi analisada pelo método de "penalty analysis". Para a aplicação de tal metodologia, são utilizados os dados de preferência que expressam a satisfação global do consumidor em relação a um produto; e aqueles obtidos pela escala JAR, que indicam o quão ideal um produto está em relação ao esperado pelo provador. O método baseia-se em comparações múltiplas e consiste em identificar a relação entre os valores obtidos no teste JAR aos valores obtidos na escala hedônica, para a aceitação global Para a escala de atitude foi realizada a

análise de regressão logística, onde o intuito era identificar atributos sensoriais que influenciaram a intenção de compra (5 pontos) pelo consumidor (LEE, et al., 2011).

Para todos os cálculos foi utilizado o programa XLSTAT Pro software versão 2013.

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 ANÁLISES DA QUALIDADE INICIAL DA LINGUIÇA TOSCANA

Na análise inicial das linguiças toscanas utilizadas no experimento, observou-se conformidade com os padrões microbiológicos estabelecidos pela legislação nacional, apresentando ausência de *Clostridium* sulfito redutor, *Salmonella* spp. e coliformes a 45°C, em 25 gramas de amostra. Na contagem de *Staphylococcus* coagulase positiva e enumeração de coliformes totais o resultado foi de  $2,0 \times 10^2$  UFC/g e  $2,4 \times 10^2$  NMP/g, respectivamente, estando condizente com os padrões de qualidade para embutidos cárneos (BRASIL, 2001). Portanto, a qualidade da matéria-prima utilizada para fabricação das linguiças possuía excelente qualidade, associada com uma efetiva higiene durante a manipulação e preparo das amostras, bem como a adição de sais de cura e aditivos utilizados.

### 4.2 ANÁLISES BACTERIOLÓGICAS

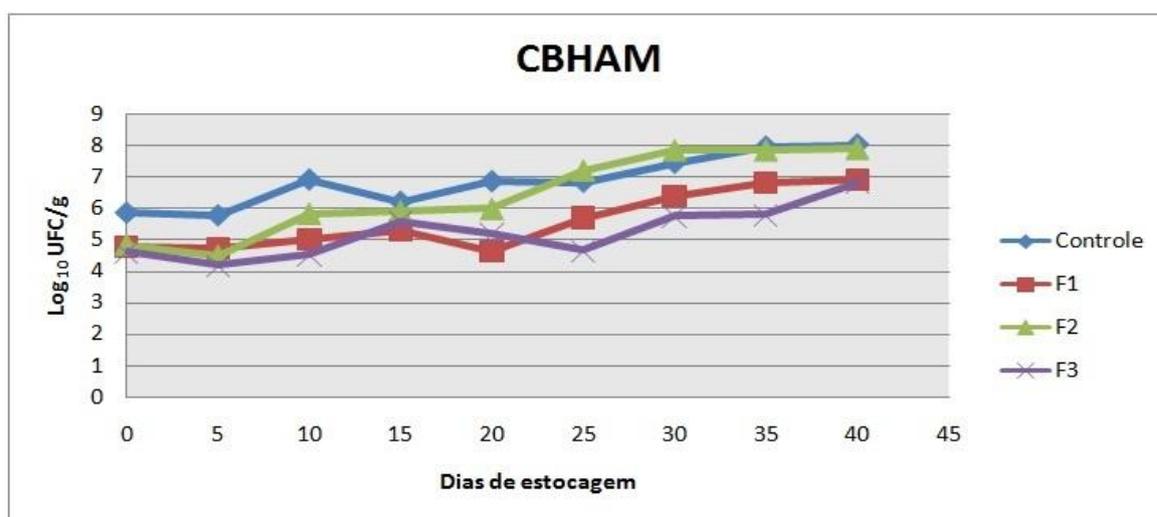
#### 4.2.1 Contagem de Bactérias Heterotróficas Aeróbias Mesófilas

Os resultados da Contagem de Bactérias Heterotróficas Aeróbias Mesófilas (CBHAM) durante o período de estocagem podem ser evidenciados na tabela 2, sendo o crescimento bacteriano representado graficamente na figura 15.

**Tabela 2:** Valores médios em  $\log_{10}$  UFC/g de CBHAM das quatro formulações

Amostras	Dias								
	1°	5°	10°	15°	20°	25°	30°	35°	40°
<b>C</b>	5,856 <sup>aA</sup>	5,776 <sup>aA</sup>	6,905 <sup>aA</sup>	6,203 <sup>aA</sup>	6,851 <sup>aA</sup>	6,835 <sup>aA</sup>	7,436 <sup>aA</sup>	7,941 <sup>aA</sup>	8,011 <sup>aA</sup>
<b>F1</b>	4,796 <sup>bB</sup>	4,732 <sup>bB</sup>	5,022 <sup>cC</sup>	5,316 <sup>cC</sup>	4,648 <sup>dD</sup>	5,703 <sup>bB</sup>	6,401 <sup>bB</sup>	6,815 <sup>cC</sup>	6,914 <sup>cC</sup>
<b>F2</b>	4,844 <sup>bB</sup>	4,492 <sup>bB</sup>	5,825 <sup>bB</sup>	5,902 <sup>abAB</sup>	5,979 <sup>bB</sup>	7,192 <sup>aA</sup>	7,835 <sup>aA</sup>	7,838 <sup>aA</sup>	7,983 <sup>aA</sup>
<b>F3</b>	4,612 <sup>cC</sup>	4,181 <sup>cC</sup>	4,529 <sup>dD</sup>	5,571 <sup>bcBC</sup>	5,139 <sup>cC</sup>	4,649 <sup>cC</sup>	5,758 <sup>cC</sup>	5,797 <sup>dD</sup>	6,821 <sup>dD</sup>

\*Diferença entre letras minúsculas na mesma coluna indica presença de diferença estatística ( $p < 0,05$ ) entre os tratamentos (Linguças). Diferença entre letras maiúscula na mesma coluna indica presença de diferença estatística ( $p < 0,05$ ) durante o período de estocagem. Controle (sem adição de aditivo); F1 (adição de 3% lactato de sódio); F2 (adição de 0,5% de nisina) e F3 (adição de 3% de lactato de sódio e 0,5% de nisina).



**Figura 15:** Comportamento das amostras experimentais em relação a Contagem de Bactérias Heterotróficas Aeróbias Mesófilas (CBHAM) durante a estocagem. Controle (sem adição de aditivo); F1 (adição de 3% lactato de sódio); F2 (adição de 0,5% de nisina) e F3 (adição de 3% de lactato de sódio e 0,5% de nisina).

Na contagem inicial bacteriana para as três formulações (F1, F2 e F3) foram encontrados menores que  $5 \log_{10}$  UFC/g, não havendo diferença estatística entre as formulações F1 e F2, enquanto na F3 foi detectada menor contagem inicial. Na amostra Controle a carga bacteriana foi maior do que as demais, ficando claro o efeito positivo inicial dos aditivos utilizados no experimento.

A contagem de CBHAM para as amostras Controle, desde a primeira contagem foram encontrados valores maiores em relação às demais amostras.

Contudo, a partir do 15º dia, a fase log de crescimento microbiano da amostra F2 e Controle não foi encontrada diferença estatística até o 40º dia de estocagem, estando em conformidade com os achados de Wang (2000), que também não evidenciou diferença entre linguiças do tipo Chinesa tratadas com nisina e sem nisina (controle) durante o período de estocagem. Esse fato pode ser explicado pela perda da solubilidade devido à interação da nisina com a matéria-prima (proteínas, lipídios dentre outros) e conseqüentemente perda do efeito desta bacteriocina a partir do 15º dia. Ambas as amostras, Controle no 30º dia e F2 no 25º dia, alcançaram o valor de  $7 \log_{10}$  UFC/g, apresentando perda da qualidade da matriz alimentar sob o ponto de vista microbiológico segundo “International Commission on Microbiological Specifications for Foods” (ICMSF, 1988).

As formulações F1 e F3 apresentaram as menores contagens ao longo do período de estocagem e não alcançaram valores iguais ou superiores a  $7 \log_{10}$  UFC/g até o 40º dia, sendo este valor o limite para validade comercial. Contudo, os resultados das amostras F1 e F3 diferiram estatisticamente. A formulação F3 apresentou menor contagem bacteriológica e alcançou a fase exponencial de crescimento microbiano apenas no 25º dia. As amostras F1 iniciou a fase exponencial mais rápido, a partir do 20º dia de estocagem. Esses resultados estão em conformidade com Lin e Lin (2002), onde evidenciaram que o uso do lactato de sódio teve um efeito bacteriostático nas amostras tratadas com 3% de lactato de sódio em linguiças tipo Chinesa enquanto que Justyna (2008) observou o mesmo resultado na contagem total em meio APC para carne moída.

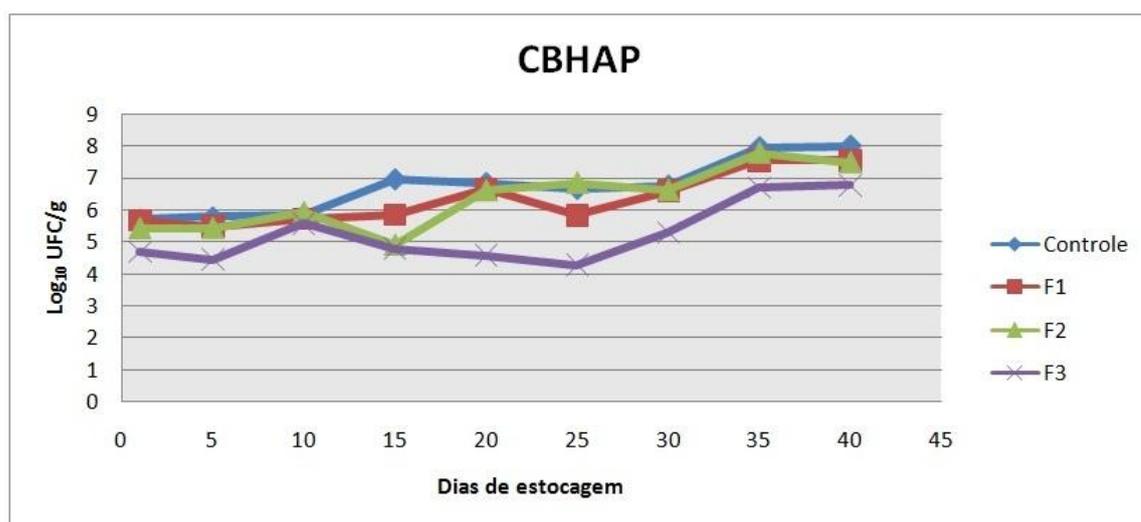
#### **4.2.2 Contagem de Bactérias Heterotróficas Aeróbias Psicotróficas**

A representação da Contagem de Bactérias Heterotróficas Aeróbias Psicotróficas (CBHAP) durante o período de estocagem pode ser evidenciada na tabela 3, sendo o crescimento bacteriano representado graficamente na figura 16.

**Tabela 3:** Valores médios em  $\log_{10}$  UFC/g de CBHAP das quatro formulações

Amostras	Dias								
	1°	5°	10°	15°	20°	25°	30°	35°	40°
<b>C</b>	5,702 <sup>aA</sup>	5,774 <sup>aA</sup>	5,851 <sup>aA</sup>	6,948 <sup>aA</sup>	6,838 <sup>aA</sup>	6,655 <sup>aA</sup>	6,759 <sup>aA</sup>	7,947 <sup>aA</sup>	7,990 <sup>aA</sup>
<b>F1</b>	5,662 <sup>aA</sup>	5,462 <sup>aA</sup>	5,706 <sup>bB</sup>	5,829 <sup>bB</sup>	6,638 <sup>bB</sup>	5,824 <sup>bB</sup>	6,573 <sup>aA</sup>	7,536 <sup>cC</sup>	7,531 <sup>bB</sup>
<b>F2</b>	5,426 <sup>bB</sup>	5,433 <sup>aA</sup>	5,918 <sup>aA</sup>	4,908 <sup>cC</sup>	6,606 <sup>bB</sup>	6,840 <sup>aA</sup>	6,607 <sup>aA</sup>	7,777 <sup>bB</sup>	7,482 <sup>bB</sup>
<b>F3</b>	4,676 <sup>cC</sup>	4,437 <sup>bB</sup>	5,570 <sup>cC</sup>	4,783 <sup>dD</sup>	4,581 <sup>cC</sup>	4,263 <sup>cC</sup>	5,277 <sup>bB</sup>	6,694 <sup>dD</sup>	6,774 <sup>cC</sup>

\*Diferença entre letras minúsculas na mesma coluna indica presença de diferença estatística ( $p < 0,05$ ) entre os tratamentos (Linguças). Diferença entre letras maiúscula na mesma coluna indica presença de diferença estatística ( $p < 0,05$ ) durante o período de estocagem. Controle (sem adição de aditivo); F1 (adição de 3% lactato de sódio); F2 (adição de 0,5% de nisina) e F3 (adição de 3% de lactato de sódio e 0,5% de nisina).



**Figura 16:** Comportamento das amostras experimentais em relação a Contagem de Bactérias Heterotróficas Aeróbias Psicrófilas (CBHAP) durante a estocagem. Controle (sem adição de aditivo); F1 (adição de 3% lactato de sódio); F2 (adição de 0,5% de nisina) e F3 (adição de 3% de lactato de sódio e 0,5% de nisina).

A contagem inicial para as bactérias psicrófilas foi maior quando comparada as bactérias mesófilas, contudo o valor de 7  $\log_{10}$  UFC/g foi obtido mais rápido para as bactérias mesofílicas, apresentando este valor no 25º dia. Nas bactérias psicrófilas, o limite máximo foi alcançado no 35º dia, evidenciando uma menor taxa metabólica dessas bactérias, que crescem em temperatura de refrigeração ( $\pm 4^{\circ}\text{C}$ ). As amostras Controle, F1 e F2 apresentaram comportamentos similares ao longo do período de estocagem, não evidenciando diferença estatística no 5º e 30º dias de estocagem. O valor de 7  $\log_{10}$  UFC/g foi alcançado pelas três

amostras no 35<sup>o</sup> dia de armazenamento. Estes resultados são controversos segundo Delves-broughton (2005) e Maca (1999), onde o primeiro autor avaliou o efeito de salsichas embaladas a vácuo sob refrigeração e adicionadas de solução de 6,25 mg nisina por litro, sendo constatado o aumento da validade comercial destas linguiças quando comparadas as amostras controle (sem nisina). Enquanto que, o segundo autor observou que a utilização de apenas 3% de lactato de sódio foi suficiente para aumentar a validade comercial de carne de porco embaladas a vácuo sob refrigeração.

O destaque foi para a formulação F3, a qual diferiu estatisticamente das demais formulações e para os todos os dias durante o período de estocagem, cuja a fase exponencial microbiana ocorreu apenas no 25<sup>o</sup> dia. Além disso, até o 40<sup>o</sup> dia de estocagem não alcançou o valor de 7 log<sub>10</sub> UFC/g. Esse fato pode ser explicado pelo sinergismo entre a nisina e o lactato de sódio sob refrigeração pois, ambos foram mais efetivos sob baixas temperaturas e atuaram melhor quando empregados concomitantemente com outros aditivos. Resultados semelhantes foram observados por Scannell et al. (2000) e Buncic et al (1995), onde a associação de bacteriocinas com lactato de sódio ocasionaram um decréscimo da contagem bacteriana quando comparados a adição dos aditivos separadamente.

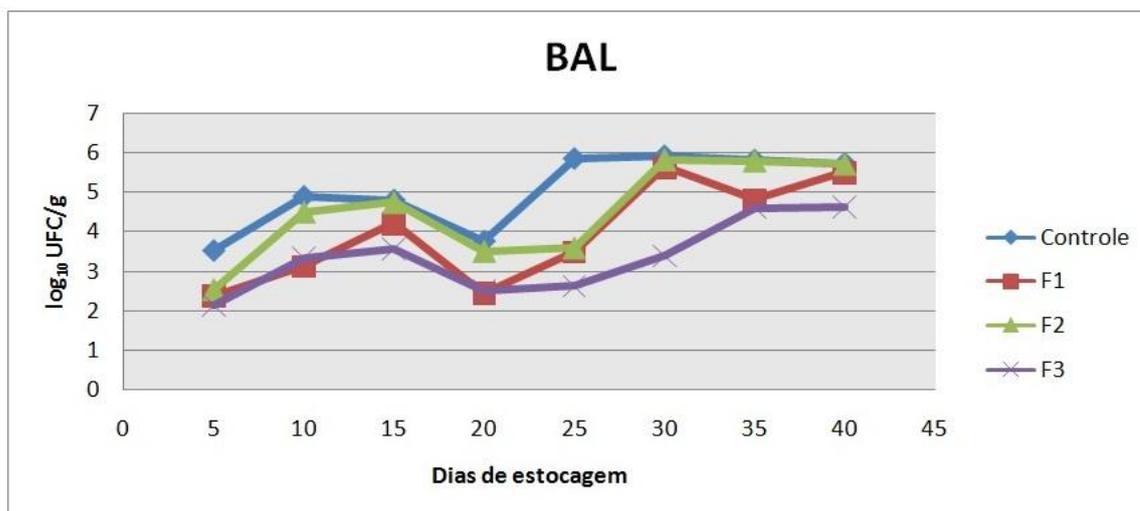
#### **4.2.3 Contagem de Bactérias Ácido Láticas**

A representação da Contagem de Bactérias Ácido Láticas (BAL) durante o período de estocagem pode ser evidenciada na tabela 4, sendo o crescimento bacteriano representado graficamente na figura 17.

**Tabela 4:** Valores médios em  $\log_{10}$  UFC/g de BAL das quatro formulações

Amostras	Dias								
	1°	5°	10°	15°	20°	25°	30°	35°	40°
C	---	3,524 <sup>aA</sup>	4,894 <sup>aA</sup>	4,802 <sup>aA</sup>	3,762 <sup>aA</sup>	5,854 <sup>aA</sup>	5,921 <sup>aA</sup>	5,819 <sup>aA</sup>	5,735 <sup>aA</sup>
F1	---	2,370 <sup>cC</sup>	3,127 <sup>cC</sup>	4,207 <sup>bB</sup>	2,444 <sup>cC</sup>	3,484 <sup>cC</sup>	5,638 <sup>cC</sup>	4,802 <sup>bB</sup>	5,498 <sup>aA</sup>
F2	---	2,544 <sup>bB</sup>	4,502 <sup>bB</sup>	4,746 <sup>aA</sup>	3,510 <sup>bB</sup>	3,595 <sup>bB</sup>	5,817 <sup>bB</sup>	5,792 <sup>aA</sup>	5,707 <sup>aA</sup>
F3	---	2,127 <sup>dD</sup>	3,321 <sup>cC</sup>	3,556 <sup>cC</sup>	2,489 <sup>cC</sup>	2,612 <sup>dD</sup>	3,378 <sup>dD</sup>	4,608 <sup>cC</sup>	4,627 <sup>bB</sup>

\*Diferença entre letras minúsculas na mesma coluna indica presença de diferença estatística ( $p < 0,05$ ) entre os tratamentos (Linguças). Diferença entre letras maiúscula na mesma coluna indica presença de diferença estatística ( $p < 0,05$ ) durante o período de estocagem. --- sem crescimento. Controle (sem adição de aditivo); F1 (adição de 3% lactato de sódio); F2 (adição de 0,5% de nisina) e F3 (adição de 3% de lactato de sódio e 0,5% de nisina).



**Figura 17:** Comportamento das amostras experimentais em relação a Contagem de Bactérias Ácido Láticas (BAL) durante a estocagem. Controle (sem adição de aditivo); F1 (adição de 3% lactato de sódio); F2 (adição de 0,5% de nisina) e F3 (adição de 3% de lactato de sódio e 0,5% de nisina).

O crescimento das bactérias ácido láticas só foi observado a partir do 5º dia de estocagem, isso pode ser explicado por essas bactérias não estarem adaptadas ao meio, provavelmente em função da presença de oxigênio residual presente na embalagem a vácuo. Além disso, outros fatores podem ter influenciado o não crescimento destas bactérias, como: pH do meio; quantidade de nutrientes disponíveis e/ou injúria celular devido ao processamento da matriz alimentícia.

As bactérias ácido láticas predominam no processo de deterioração de produtos cárneos estocados sob refrigeração e em condições de anaerobiose

(NICOLAI et al.,1993; VEIMEIREN, et al., 2004). Contudo, quando comparamos a contagem de bactérias ácido lácticas com as contagens de bactérias mesófilas e psicotróficas encontradas, observamos que as BAL não foram os principais microrganismos envolvidos no processo de deterioração, uma vez que a contagem apesar de crescente, apresentou valor máximo no 40º dia de estocagem de apenas 5 log<sub>10</sub> UFC/g.

Todas as amostras apresentaram diferenças significativas (p<0.05) ao longo de grande parte do período de estocagem, porém as amostras F1 e F3 não diferiram estatisticamente no 10º e 20º dias. Já as amostras Controle e F2 não diferiram estatisticamente no 15º, 35º e 40º dias, incluindo no último dia ausência de diferença significativa para formulação F1.

De forma geral as formulações com lactato de sódio (F1 e F3) apresentaram a menor contagem durante todo o período de estocagem. Contudo, a amostra F3 se mostrou mais eficaz obtendo limite máximo de 4 log<sub>10</sub> UCF/g no 40º dia. O sinergismo entre os dois aditivos utilizados (lactato de sódio e nisina) apresentou um efeito maior para as bactérias ácido lácticas quando comparada a sua utilização separadamente, corroborando com os estudos que relacionam o efeito da nisina a outros aditivos (lactato de sódio) visando potencializar seus efeitos antimicrobianos (DEEGAN et al., 2006).

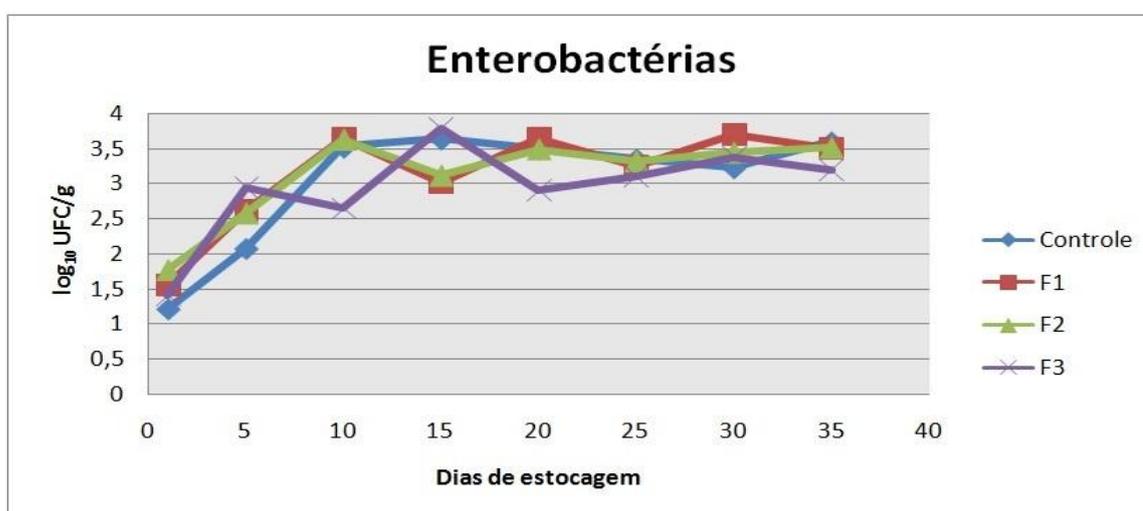
#### **4.2.4 Contagem de Enterobactérias**

Os resultados da Contagem de Enterobactérias durante o período de estocagem podem ser observados na tabela 5, sendo o crescimento bacteriano representado graficamente na figura 18.

**Tabela 5:** Valores médios em  $\log_{10}$ UFC/g de enterobactérias das quatro formulações

Amostras	Dias								
	1°	5°	10°	15°	20°	25°	30°	35°	40°
<b>C</b>	1,215 <sup>cC</sup>	2,076 <sup>cC</sup>	3,522 <sup>aA</sup>	3,638 <sup>bB</sup>	3,495 <sup>bB</sup>	3,531 <sup>aA</sup>	3,227 <sup>cC</sup>	3,596 <sup>aA</sup>	NR
<b>F1</b>	1,558 <sup>bB</sup>	2,626 <sup>bB</sup>	3,647 <sup>aA</sup>	3,020 <sup>cC</sup>	3,641 <sup>aA</sup>	3,252 <sup>bcBC</sup>	3,702 <sup>aA</sup>	3,504 <sup>aA</sup>	NR
<b>F2</b>	1,772 <sup>aA</sup>	2,579 <sup>bB</sup>	3,628 <sup>aA</sup>	3,115 <sup>cC</sup>	3,491 <sup>bB</sup>	3,321 <sup>bB</sup>	3,444 <sup>bB</sup>	3,511 <sup>aA</sup>	NR
<b>F3</b>	1,411 <sup>bcBC</sup>	2,941 <sup>aA</sup>	2,647 <sup>bB</sup>	3,791 <sup>aA</sup>	2,913 <sup>cC</sup>	3,108 <sup>cC</sup>	3,384 <sup>bB</sup>	3,193 <sup>bB</sup>	NR

\*Diferença entre letras minúsculas na mesma coluna indica presença de diferença estatística ( $p < 0,05$ ) entre os tratamentos (Linguças). Diferença entre letras maiúscula na mesma coluna indica presença de diferença estatística ( $p < 0,05$ ) durante o período de estocagem. NR – Não Realizado. Controle (Sem adição de aditivo); F1 (adição de 3% lactato de sódio); F2 (adição de 0,5% de nisina) e F3 (adição de 3% de lactato de sódio e 0,5% de nisina).



**Figura 18:** Comportamento das amostras experimentais em relação a Contagem de Enterobactérias durante a estocagem. Controle (sem adição de aditivo); F1 (adição de 3% lactato de sódio); F2 (adição de 0,5% de nisina) e F3 (adição de 3% de lactato de sódio e 0,5% de nisina).

Na legislação brasileira não consta limite para contagem de *enterobacteriaceae* em carnes, porém essas análises são importantes, pois indicam o estado higiênico-sanitário das amostras. Além disso, estas bactérias também podem estar envolvidas no processo de deterioração dos alimentos. Esta fundamentação também é aplicada para CBHAM, CBHAP e contagem de BAL, nas quais o limite para o grau de deterioração de  $7 \log_{10}$  UFC/g (ICMSF, 1988).

Conforme os dados da tabela 5 nota-se que a contagem de enterobactérias em todas as amostras variou de  $1,2 \log_{10}$  UFC/g a  $3,7 \log_{10}$  UFC/g, durante todo o período de estocagem.

Esses resultados estão em conformidade com as indicações da ICMSF (1985), onde consta que para embutidos crus com pH entre 5.8 e Aa maior que 0.95, contagem de enterobactérias de  $3 \log_{10}$  UFC/g a  $5 \log_{10}$  UFC/g em temperatura de 4-7°C.

Entre as amostras analisadas houve diferenças estatísticas, contudo foi possível observar que as formulações F1 e F2 possuíam um comportamento similar, pois no 5º, 10º, 15º, 25º e 35º dias não diferiram estatisticamente ( $p > 0.05$ ). Em contrapartida as amostras Controle e F3, possuíam diferenças estatísticas em todos os dias analisados.

Não obstante, devido à variação irregular da contagem em  $\log_{10}$  UFC/g observada na contagem das enterobactérias em todas as formulações durante o período de estocagem e, em função do seu comportamento representado no gráfico da figura 18, não foi possível determinar efeito significativo dos antimicrobianos sobre as enterobactérias. Conforme relatado por Papadopoulos et al. (2003) tal fato pode ser justificado provavelmente por ser uma família muito heterogênea, e os efeitos observados dependerem da dominância de uma determinada espécie.

### 4.3 ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS

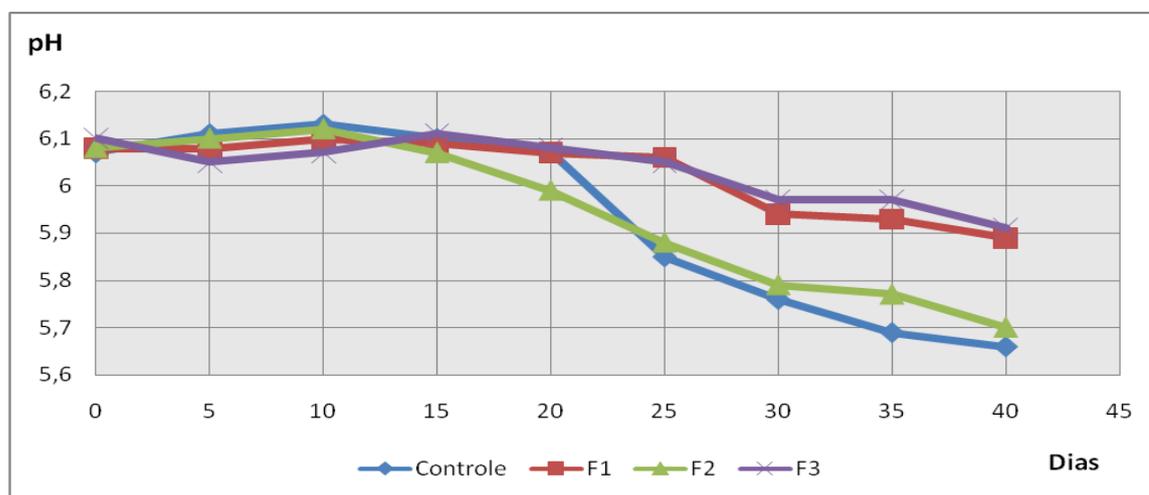
#### 4.3.1 potencial Hidrogeniônico (pH)

Os resultados e a projeção gráfica do pH durante o período de estocagem podem ser evidenciados na tabela 6 e figura 19, respectivamente.

**Tabela 6:** Valores médios de pH das quatro formulações

Amostras	Dias								
	1°	5°	10°	15°	20°	25°	30°	35°	40°
<b>C</b>	6,07 <sup>abB</sup>	6,11 <sup>aA</sup>	6,13 <sup>aA</sup>	6,10 <sup>abAB</sup>	6,07 <sup>aA</sup>	5,85 <sup>bB</sup>	5,76 <sup>cC</sup>	5,69 <sup>dD</sup>	5,66 <sup>dD</sup>
<b>F1</b>	6,08 <sup>abAB</sup>	6,08 <sup>abAB</sup>	6,10 <sup>abAB</sup>	6,09 <sup>abAB</sup>	6,07 <sup>aA</sup>	6,06 <sup>aA</sup>	5,94 <sup>bB</sup>	5,93 <sup>bB</sup>	5,89 <sup>bB</sup>
<b>F2</b>	6,08 <sup>abAB</sup>	6,10 <sup>abAB</sup>	6,12 <sup>abAB</sup>	6,07 <sup>bB</sup>	5,99 <sup>bB</sup>	5,88 <sup>bB</sup>	5,79 <sup>cC</sup>	5,77 <sup>cC</sup>	5,70 <sup>cC</sup>
<b>F3</b>	6,10 <sup>aA</sup>	6,05 <sup>bB</sup>	6,07 <sup>bB</sup>	6,11 <sup>aA</sup>	6,08 <sup>aA</sup>	6,05 <sup>aA</sup>	5,97 <sup>aA</sup>	5,97 <sup>aA</sup>	5,91 <sup>aA</sup>

\*Diferença entre letras minúsculas na mesma coluna indica presença de diferença estatística ( $p < 0,05$ ) entre os tratamentos (Linguças). Diferença entre letras maiúscula na mesma coluna indica presença de diferença estatística ( $p < 0,05$ ) durante o período de estocagem. Controle (sem adição de aditivo); F1 (adição de 3% lactato de sódio); F2 (adição de 0,5% de nisina) e F3 (adição de 3% de lactato de sódio e 0,5% de nisina).



**Figura 19:** Comportamento do pH durante o período de estocagem das amostras de linguça toscana. Controle (sem adição de aditivo); F1 (adição de 3% lactato de sódio); F2 (adição de 0,5% de nisina) e F3 (adição de 3% de lactato de sódio e 0,5% de nisina).

No valor de pH no primeiro dia de análise não foi evidenciada diferença estatística entre as amostras. Do 1° ao 10° dia de análise as amostras Controle, F1 e F2 mantiveram seu comportamento sob o ponto de vista estatístico, porém na formulação F3 ocorreram diferenças estatísticas nos dias 5 e 10 de análises, quando comparado a amostra Controle.

Observou-se queda de pH a partir do dia 15 e 20 de análise para a formulação F2 e Controle, respectivamente. A estabilidade do pH foi mais evidente nas amostras F1 e F3, onde uma pequena queda foi constatada a partir do 30° dia de análise, no entanto, até o último dia de análise ambas as amostras não

apresentaram pH inferior a 5,8, sendo este o limite mínimo ideal preconizado para o consumo de produtos cárneos segundo os Métodos Analíticos para Controle de Produtos de Origem Animal - LANARA (BRASIL, 1981). Estes resultados foram condizentes com Bewer et al. (1991), onde a adição de 3% de lactato de sódio em linguiça frescal suína retardou o declínio do pH por 7 dias a temperatura de 4°C. Resultados semelhantes foram observados por Lin e Lin (2002) em linguiças de carne suína do tipo Chinesa embaladas a vácuo e adicionadas de 3% de lactato de sódio, onde o pH variou de 6,2 a 6,0 durante 4 meses a temperatura de 4°C.

Na formulação F2 ocorreu um comportamento similar com a amostra Controle, porém foi possível notar uma menor queda estatística nos dias 35 e 40 de análise. Este fato pode ser explicado em função do desenvolvimento de bactérias ácido lácticas, responsáveis pela fermentação em meio anaeróbico e produção de ácido láctico acidificando assim o meio, corroborando com os dados obtidos pela contagem de BAL, onde estas bactérias foram mais evidentes nas formulações Controle e F2.

Esses resultados foram correlatos ao encontrado por Wang (2000) que comparou a validade comercial de linguiças tipo Chinesa embaladas a vácuo e estocadas a 20°C tratadas com 100 mg/kg de nisina e 3% de lactato de sódio. Nas amostras que continham lactato de sódio foram observadas melhor estabilidade do pH durante o período de estocagem quando comparadas às amostras tratadas com nisina.

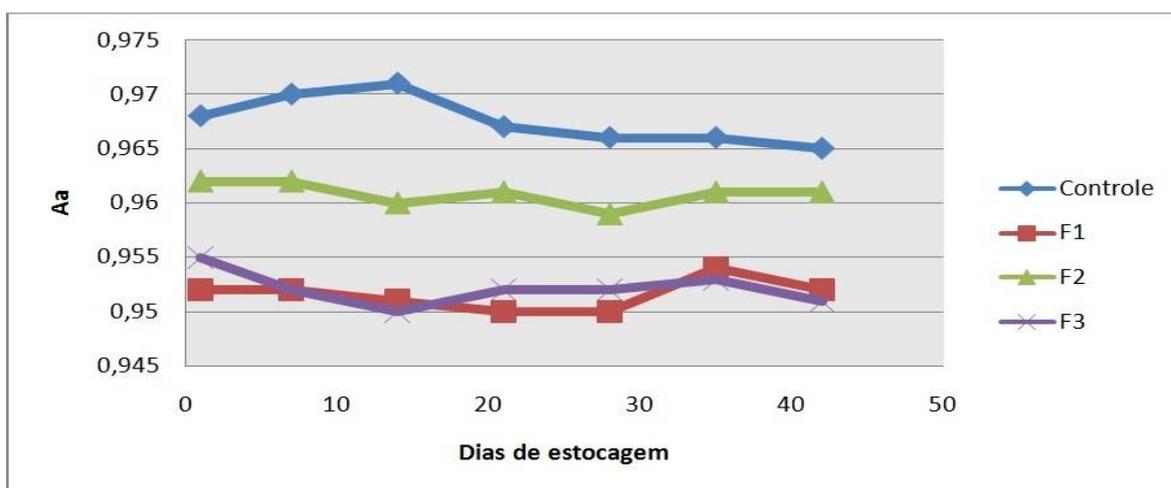
#### **4.3.2 Atividade de água (Aa)**

Os resultados e a projeção gráfica da Aa durante o período de estocagem podem ser evidenciados na tabela 7 e figura 20, respectivamente.

**Tabela 7:** Valores médios de Aa das quatro formulações

Amostras	Dias						
	1°	7°	14°	21°	28°	35°	42°
<b>C</b>	0,968 <sup>aA</sup>	0,970 <sup>aA</sup>	0,971 <sup>aA</sup>	0,967 <sup>aA</sup>	0,966 <sup>aA</sup>	0,966 <sup>aA</sup>	0,965 <sup>aA</sup>
<b>F1</b>	0,952 <sup>dD</sup>	0,952 <sup>cC</sup>	0,951 <sup>cC</sup>	0,950 <sup>dD</sup>	0,950 <sup>dD</sup>	0,954 <sup>cC</sup>	0,952 <sup>cC</sup>
<b>F2</b>	0,962 <sup>bB</sup>	0,962 <sup>bB</sup>	0,960 <sup>bB</sup>	0,961 <sup>bB</sup>	0,959 <sup>bB</sup>	0,961 <sup>bB</sup>	0,961 <sup>bB</sup>
<b>F3</b>	0,955 <sup>cC</sup>	0,952 <sup>cC</sup>	0,950 <sup>cC</sup>	0,952 <sup>cC</sup>	0,952 <sup>cC</sup>	0,953 <sup>cC</sup>	0,951 <sup>cC</sup>

\*Diferença entre letras minúsculas na mesma coluna indica presença de diferença estatística ( $p < 0,05$ ) entre os tratamentos (Linguças). Diferença entre letras maiúscula na mesma coluna indica presença de diferença estatística ( $p < 0,05$ ) durante o período de estocagem. Controle (sem adição de aditivo); F1 (adição de 3% lactato de sódio); F2 (adição de 0,5% de nisina) e F3 (adição de 3% de lactato de sódio e 0,5% de nisina).



**Figura 20:** Comportamento da Aa durante o período de estocagem das amostras de linguça toscana. Controle (sem adição de aditivo); F1 (adição de 3% lactato de sódio); F2 (adição de 0,5% de nisina) e F3 (adição de 3% de lactato de sódio e 0,5% de nisina).

A atividade de água no primeiro dia de análise variou entre as amostras, sendo as formulações F1 e F3 com as menores taxas 0,952 e 0,955, respectivamente, seguida da amostra F2 com 0,962 e Controle com 0,968. Esse comportamento permaneceu ao longo dos 42 dias de análise.

Na amostra F2 foi determinada atividade de água maior do que F1 e F3, porém ficou abaixo do valor encontrado para as linguças Controle, sob o ponto de vista estatístico ( $p < 0,05$ ). Já a Aa entre as amostras F1 e F3 foi similar, não obtendo diferenças significativas ( $p > 0,05$ ) no 7°, 14°, 35° e 42° dias. Apesar da formulação

F2 possuir diminuição da Aa quando comparada a amostra Controle. Na amostra F3 composta de nisina e lactato de sódio não reduziu de forma significativa a atividade de água quando comparada com a formulação F1, que continha apenas o lactato de sódio. Esses resultados estão condizentes com que encontramos na literatura, sendo a redução da Aa um dos possíveis efeitos da atividade antimicrobiana do lactato de sódio nos alimentos conforme citaram Houstma et al. (1993) e Shelef; Chen (1992).

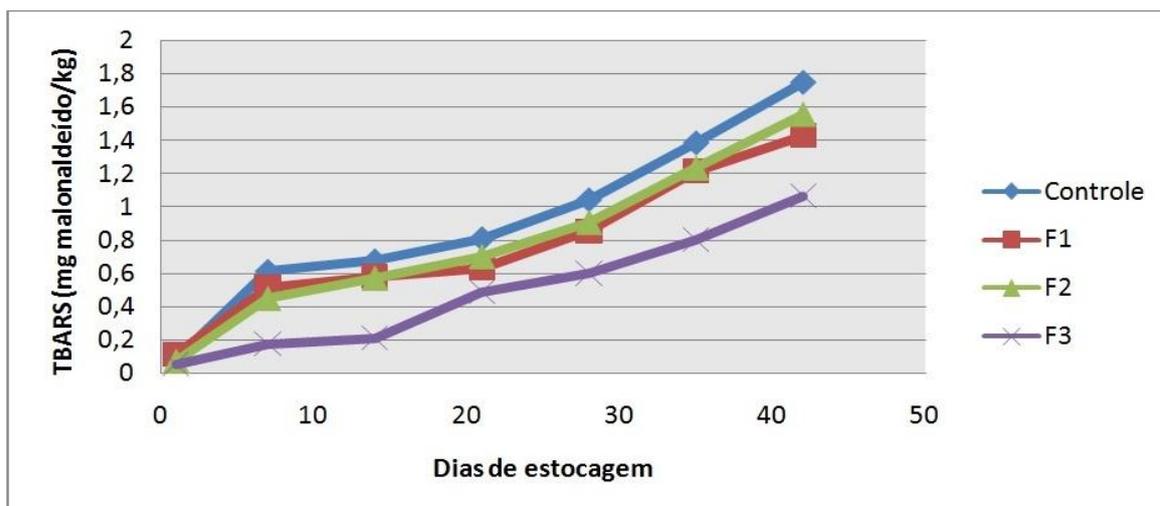
#### 4.3.3 Teor de Substâncias Reativas ao Ácido Tiobarbitúrico (TBARS)

Os resultados e a projeção gráfica do TBARS durante o período de estocagem podem ser evidenciados na tabela 8 e figura 21, respectivamente.

**Tabela 8:** Valores médios de TBARS (mg de malonaldeído/kg) das quatro formulações

Amostras	Dias						
	1°	7°	14°	21°	28°	35°	42°
<b>C</b>	0,086 <sup>bB</sup>	0,611 <sup>aA</sup>	0,674 <sup>aA</sup>	0,807 <sup>aA</sup>	1,041 <sup>aA</sup>	1,382 <sup>aA</sup>	1,745 <sup>aA</sup>
<b>F1</b>	0,114 <sup>aA</sup>	0,517 <sup>bB</sup>	0,580 <sup>bB</sup>	0,631 <sup>cC</sup>	0,853 <sup>bB</sup>	1,213 <sup>bB</sup>	1,427 <sup>bB</sup>
<b>F2</b>	0,074 <sup>cC</sup>	0,450 <sup>cC</sup>	0,571 <sup>cC</sup>	0,701 <sup>bB</sup>	0,905 <sup>cC</sup>	1,230 <sup>bB</sup>	1,552 <sup>cC</sup>
<b>F3</b>	0,055 <sup>dD</sup>	0,175 <sup>dD</sup>	0,212 <sup>dD</sup>	0,489 <sup>dD</sup>	0,598 <sup>dD</sup>	0,802 <sup>cC</sup>	1,062 <sup>dD</sup>

\*Diferença entre letras minúsculas na mesma coluna indica presença de diferença estatística ( $p < 0,05$ ) entre os tratamentos (Linguixas). Diferença entre letras maiúscula na mesma coluna indica presença de diferença estatística ( $p < 0,05$ ) durante o período de estocagem. Controle (sem adição de aditivo); F1 (adição de 3% lactato de sódio); F2 (adição de 0,5% de nisina) e F3 (adição de 3% de lactato de sódio e 0,5% de nisina).



**Figura 21:** Comportamento do TBARS durante o período de estocagem das amostras de linguiça toscana. Controle (sem adição de aditivo); F1 (adição de 3% lactato de sódio); F2 (adição de 0,5% de nisina) e F3 (adição de 3% de lactato de sódio e 0,5% de nisina).

Nos valores de TBARS foram encontradas diferenças estatísticas para todos os dias analisados, exceto no 35º dia nas formulações F1 e F2 que obtiveram o  $p < 0,05$ . A amostra Controle obteve a maior média de TBARS quando comparada as demais em todos os dias de análise. Apesar de apresentarem diferenças estatísticas durante os dias de estocagem, as formulações F1 e F2 tiveram um comportamento similar, conforme evidenciado na figura 21. Todavia, a amostra F3 obteve uma menor taxa de oxidação lipídica até o 42º dia de análise, indicando que a associação dos dois aditivos (nisina e lactato de sódio) foi mais eficaz na redução do processo oxidativo.

Alguns estudos relacionado à adição de lactato de sódio e seu efeito como antioxidante foram realizados por Maca et al. (1999) e Sallam (2007), onde constataram que a adição de lactato de sódio foi capaz de promover um retardo da oxidação lipídica em produtos cárneos em nível de TBARS. Contudo não foi encontrado nenhum estudo relacionando a associação de lactato de sódio e nisina com a diminuição da oxidação lipídica em carnes, indicando que mais estudos acerca desse assunto são necessários para determinar qual fator principal responsável por essas diferenças encontradas nesse estudo.

Não obstante, apesar das diferenças estatísticas entre as amostras, todas apresentaram valores inferiores a 2 mg malonaldeído/kg, ou seja, ainda apresentavam características de carne fresca sem sabor de ranço e/ou processo de

oxidação lipídica conforme descrito por Siu e Drapper (1978), que determinaram a quantidade de malonaldeído da carne fresca variando entre 1 a 6 mg malonaldeído/kg.

#### 4.4 ANÁLISE SENSORIAL

##### 4.4.1 Análise Descritiva Quantitativa (ADQ)

A partir dos nove atributos sensoriais obtidos por consenso da equipe de julgadores para lingüiça toscana foi realizada a análise bidimensional ANOVA, onde evidencia-se na tabela 9 diferenças significativas ( $p < 0.05$ ) entre as amostras.

**Tabela 9:** Análise bidimensional (ANOVA) dos dados dos atributos sensoriais da lingüiça toscana sem adição de lactato e nisina (Controle), adicionada de 3% de lactato (F1), adicionada de 0,5% de nisina (F2) e sua combinação (F3) (9 avaliadores, 4 amostras, 4 repetições) "F ratio values"<sup>a</sup>.

Atributos	Amostra <sup>b</sup>	Avaliadores	Amostra x Avaliadores	Amostra <sup>c</sup>
<b>Aparência</b>				
Cor característica	33,50*	0,66 <sup>ns</sup>	1,49 <sup>ns</sup>	
<b>Aroma</b>				
Característico de lingüiça Toscana	2,15 <sup>ns</sup>	1,78 <sup>ns</sup>	0,72 <sup>ns</sup>	
Cítrico	2,87 <sup>ns</sup>	16,39*	5,05*	1,65 <sup>ns</sup>
<b>Sabor</b>				
Característico de lingüiça Toscana	6,42 <sup>ns</sup>	17,45*	1,11 <sup>ns</sup>	
Gosto salgado	11,40*	1,27 <sup>ns</sup>	0,63 <sup>ns</sup>	
Cítrico	44,08*	8,23*	2,48*	34,74*
<b>Textura</b>				
Maciez	17,68*	5,97*	1,37 <sup>ns</sup>	
Suculência	5,72 <sup>ns</sup>	1,95 <sup>ns</sup>	2,32*	7,97*
Coesividade	7,45 <sup>ns</sup>	8,54*	0,64 <sup>ns</sup>	

<sup>a</sup> Asterístico (\*) Indicando significância  $\alpha < 0,05$ ; ns= não significativo

<sup>b</sup> Calculado usando a media do quadrado.

<sup>c</sup> Calculado usando a média do quadrado da interação.

Os atributos em que não ocorreram diferença significativa foram: aroma característico de lingüiça toscana, aroma cítrico, sabor característico de lingüiça

toscana, suculência e coesividade. Quando os julgadores foram avaliados evidenciou-se que estes não entraram em concordância ( $p < 0.05$ ) em cinco atributos, tais como: aroma cítrico, sabor característico de lingüiça toscana, sabor cítrico, maciez e coesividade. Tal fato pode ser justificado, pois mesmo com o treinamento da equipe, diferenças individuais entre os julgadores podem aparecer ou mesmo a falta de interesse ou motivação dos mesmos no dia da ADQ. Nesse âmbito, o uso da interação entre o julgador e as amostras foi importante, pois verificou se essa variação entre os julgadores poderia influenciar na estimativa da análise. Sendo assim, dos nove atributos avaliados seis não apresentaram diferenças significativas, verificando com isso uma boa concordância entre os julgadores (BAYARRI et al., 2011). Para os demais atributos que possuíram diferença significativa, foi realizado um modelo misto, utilizando o julgador de forma aleatória.

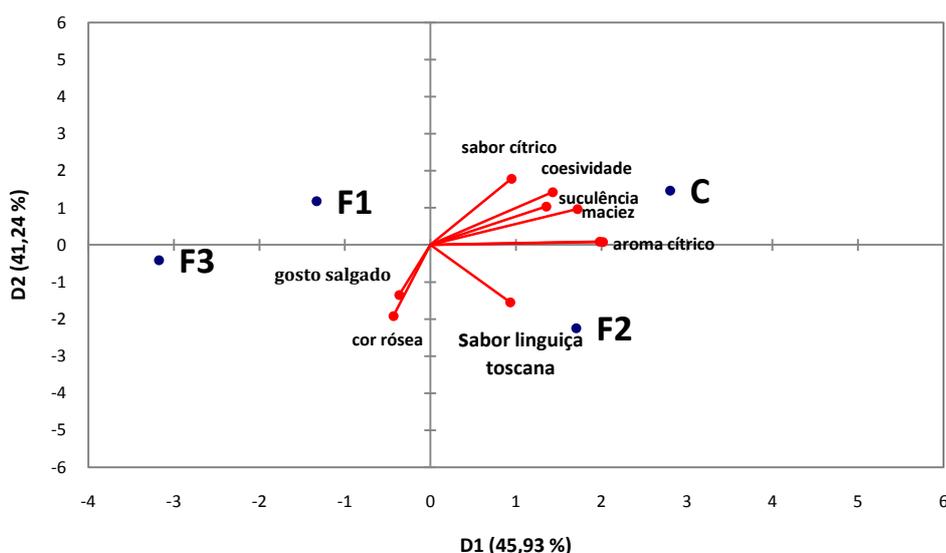
Os valores das médias e as diferenças mínimas dos atributos analisados podem ser evidenciados na tabela 10, onde é possível constatar que, o único atributo que não apresentou diferença significativa entre as amostras foi o aroma característico de lingüiça toscana. Para o atributo sabor cítrico F2 e F3 apresentaram valores baixos ( $< 0,8$ ), contudo as amostras C e F1 apresentaram valores acima deste, o que justifica a sua inclusão na Análise de Componentes Principais (ACP).

**Tabela 10:** Valores médios dos atributos sensoriais e diferença significativa correspondente para as amostras<sup>a</sup>.

Atributos	Amostras			
	C	F1	F2	F3
<b>Aparência</b>				
Cor característica	7,68 <sup>B</sup>	7,72 <sup>B</sup>	9,49 <sup>A</sup>	9,15 <sup>A</sup>
<b>Aroma</b>				
Característico de lingüiça Toscana	11,40 <sup>A</sup>	10,77 <sup>A</sup>	11,19 <sup>A</sup>	10,55 <sup>A</sup>
Cítrico	1,74 <sup>A</sup>	1,50 <sup>AB</sup>	1,68 <sup>AB</sup>	1,26 <sup>B</sup>
<b>Sabor</b>				
Característico de lingüiça Toscana	11,45 <sup>B</sup>	11,60 <sup>B</sup>	12,45 <sup>A</sup>	11,31 <sup>B</sup>
Gosto salgado	11,29 <sup>BC</sup>	10,43 <sup>C</sup>	11,93 <sup>AB</sup>	12,40 <sup>A</sup>
Cítrico	1,53 <sup>A</sup>	1,03 <sup>AC</sup>	0,56 <sup>C</sup>	0,62 <sup>C</sup>
<b>Textura</b>				
Maciez	11,18 <sup>A</sup>	9,84 <sup>B</sup>	9,97 <sup>B</sup>	9,44 <sup>B</sup>
Suculência	9,90 <sup>A</sup>	9,53 <sup>B</sup>	9,56 <sup>B</sup>	9,57 <sup>B</sup>
Coesividade	7,09 <sup>A</sup>	6,37 <sup>AB</sup>	5,94 <sup>B</sup>	5,57 <sup>B</sup>

<sup>a</sup> Identificação das amostras descritas na Tabela 1. Média com letras diferentes são diferentes significativamente ( $\alpha < 0,05$ ).

A análise de componentes principais pode ser visualizada na figura 22. Os resultados do ACP evidenciaram 87.17% de variabilidade dos dados em duas dimensões. O primeiro componente representa 45.93% apresentando como principal atributo o sabor de lingüiça toscana. Na parte negativa evidenciou-se que as amostras F1 e F3 apresentaram baixo sabor característico de lingüiça toscana, quando comparado com F2 com intensidade maior neste atributo. O segundo componente foi responsável por 41.24% da variabilidade, apresentando como principais atributos o sabor cítrico, maciez, suculência e coesividade, onde o quadrante superior direito é possível observar que a amostra C, é caracterizada pelo sabor cítrico e os atributos de textura, porém esta amostra apresentou intensidade menor para cor rósea e gosto salgado.



**Figura 22:** Análise do Componente Principal das amostras de linguiças experimentais. Identificação das amostras na tabela 1.

#### 4.4.2 Teste dos consumidores pela escala hedônica com segmentação dos consumidores.

Com o intuito de saber se os dados dos 60 consumidores que realizaram o teste de aceitação pela escala hedônica evidenciaram distribuição normal, assimetria e homogeneidade, foi realizado o teste de Kolmogorov-Smirnov (Tabela 11). Nessa tabela é possível evidenciar os dados de “skewness” e Kurtosis, que representam a simetria e forma da distribuição dos dados, respectivamente. Os valores do desvio padrão encontrados revelam que houve certa homogeneidade dos dados, representando assim uma homocedasticidade, ou seja, os dados estão menos dispersos. Contudo, as amostras Controle, F2 e F3 não exprimiram distribuição normal dos dados, diferente da amostra F1 ( $p > 0,05$ ). As médias dos atributos para o teste de aceitação dos consumidores não evidenciaram diferença significativa entre as amostras tratadas com aditivos e controle (Tabela 12). Resultados semelhantes foram observados por Brewer et al. (1991), Natress e Baker (2003) e Bradley et al. (2011).

**Tabela 11:** Valores da média da aceitabilidade e desvio padrão obtidos com a escala hedônica (n=60) das amostras de linguiça toscana experimentais: Coeficientes de Skewness e Kurtosis e valores de p do teste de Kolmogorov-Smirnov

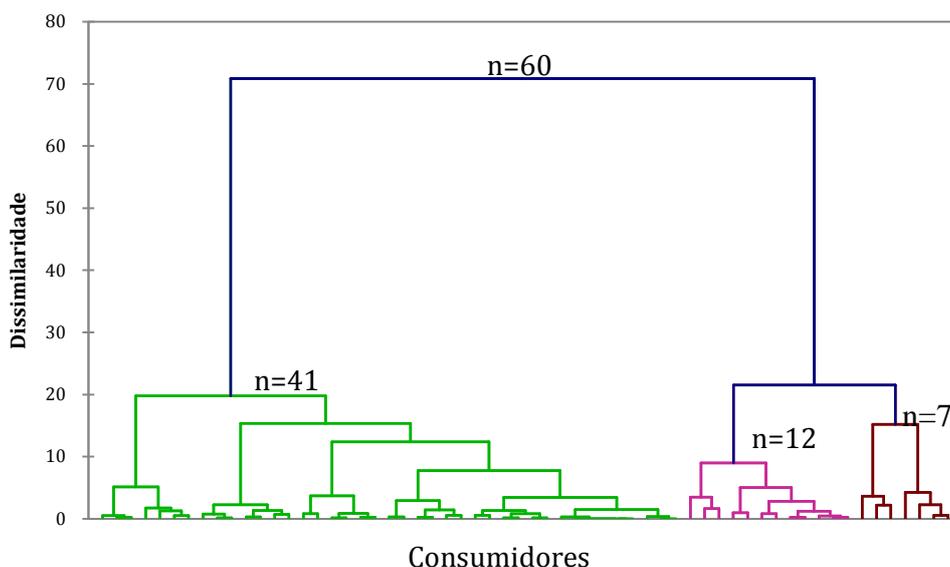
Amostra	Média	Desvio Padrão	Skewness	Kurtosis	Kolmogorov-Smirnov test p-values
C	6,6	1,41	-1.009	0.382	0,001
F1	6,6	1,40	-0.458	-0.457	0,054
F2	6,3	1,76	-0.637	-0.574	0,011
F3	6,6	1,28	-0.640	0.044	0,007

**Tabela 12:** Aceitação sensorial das linguiças toscanas\*

Linguiças	Aparência	Cor	Sabor	Textura	Impressão Global
C	6,267 <sup>a</sup>	6,050 <sup>a</sup>	7,050 <sup>a</sup>	6,767 <sup>a</sup>	6,617 <sup>a</sup>
F1	6,467 <sup>a</sup>	6,217 <sup>a</sup>	6,917 <sup>a</sup>	6,567 <sup>a</sup>	6,583 <sup>a</sup>
F2	6,233 <sup>a</sup>	6,050 <sup>a</sup>	6,583 <sup>a</sup>	6,533 <sup>a</sup>	6,317 <sup>a</sup>
F3	6,583 <sup>a</sup>	6,417 <sup>a</sup>	6,733 <sup>a</sup>	6,667 <sup>a</sup>	6,717 <sup>a</sup>

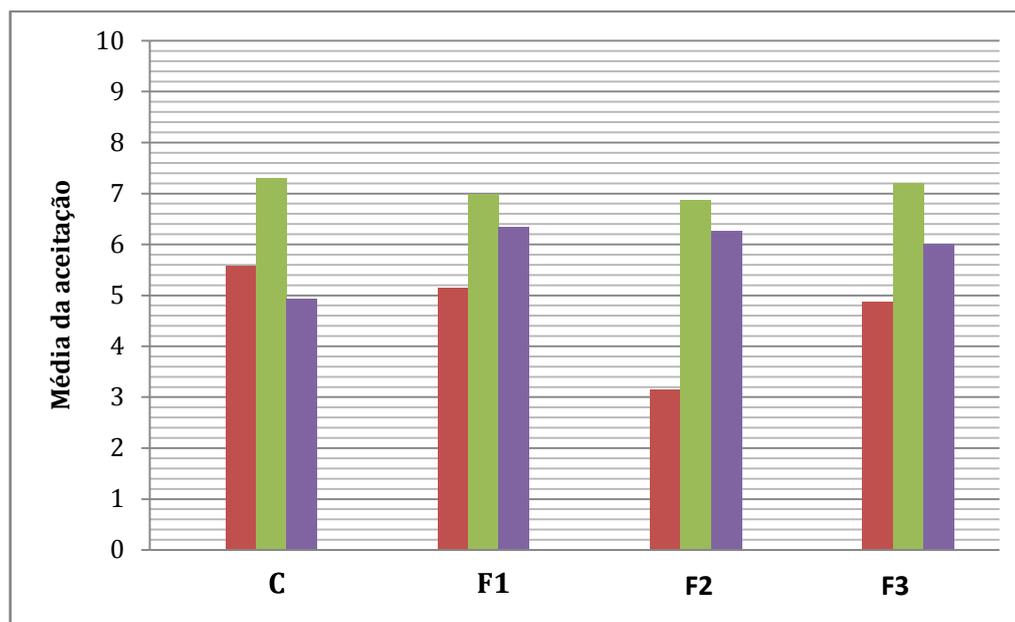
\*Dados da média dos 60 consumidores baseado na escala hedônica de 9 pontos (1 = Desgostei extremamente; 5 = Nem gostei ou desgostei; 9 = Gostei extremamente). Valores da média na mesma coluna não seguidos pela mesma letra são diferentes significativamente ( $p < 0,05$ ).

A análise de clusters (HCA) foi realizada com intuito de verificar se existiam segmentos de consumidores com preferências distintas para os produtos, conforme níveis obtidos na escala hedônica. Não obstante, foram identificados três clusters (Figura 23), o primeiro com sete consumidores (n=7) correspondendo a 11.7%, o segundo com quarenta e um (n=41) correspondendo a 68.3% e o terceiro com doze (n=12) correspondendo a 20% dos consumidores.



**Figura 23:** Segmentação dos consumidores (n =60) pela Análise de Cluster.

As médias de aceitação dos consumidores baseados nos diferentes clusters estão dispostas na figura 24. Os clusters obtidos apresentaram diferenças significativas entre eles. No cluster 1 evidencia-se que a aceitação da amostra C foi maior quando comparada as demais amostras - 5,6 em detrimento a valores de 5,2, 3,2 e 4,8 para as amostras F1, F2 e F3 respectivamente. No cluster 2, que representa mais de 68% dos consumidores, as médias entres as amostras C e F3 não possuíam diferença (7.2), contudo houve uma diferença das formulações F1 com média 7,0 e F2 com 6,8. No cluster 3 a amostra F1 (média 6,4) e F2 (média 6,2) foram as que apresentaram melhor aceitação, seguida da amostra F3 com média 6,0 e C com 4,8.



**Figura 24:** Média de aceitação para os três segmentos de consumidores (Cluster 1 = ■ ; Cluster 2=■ ; Cluster 3=■ )

#### 4.4.3 Relação entre os consumidores e os atributos sensoriais (ADQ)

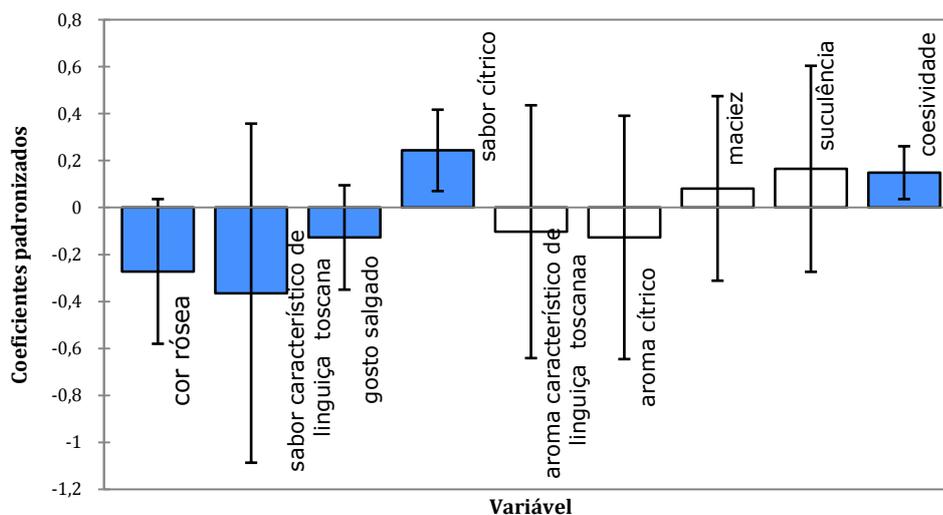
A relação entre a aceitação e os atributos sensoriais da ADQ foi realizada utilizando o “Partial Least Square” (PLS), visando determinar quais foram os atributos sensoriais que direcionam a preferência dos consumidores em cada grupo.

No PLS do Cluster 1 obteve-se uma regressão de 100% das pontuações nas médias da aceitação (Y-dados) e de 85,6% na média das pontuações dos atributos sensoriais (X-Dados) com um  $Q^2$  acum = 0.979. Apenas os atributos sensoriais obtidos pelo PLS que manifestaram Importância Variável na Projeção (VIP) maior que 0.8 foram considerados significativos (BAYARRI et al., 2011).

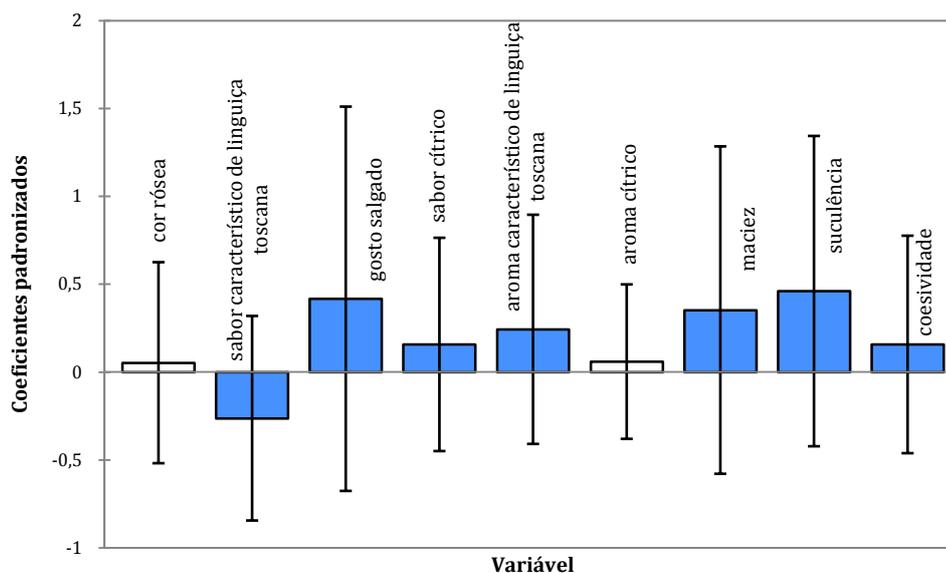
Nesse contexto, a preferência dos consumidores do Cluster 1 (Figura 25) foi direcionada para o sabor cítrico e coesividade, sendo os atributos cor rósea, sabor característico de lingüiça toscana e gosto salgado, os que não contribuíram para a preferência do produto pelos consumidores. O cluster 2 evidenciou uma regressão de 99% das médias das pontuações da aceitação (Y-dados) e 73,8% na média das pontuações dos atributos sensoriais (X-dados) com um  $Q^2$  acum = 0.513. Com isso, foi possível evidenciar o direcionamento da preferência dos consumidores do cluster 2 para os atributos gosto salgado, sabor cítrico, aroma característico de lingüiça toscana, maciez, suculência e coesividade com VIPs de valores 1.208, 0.950, 0.929,

1.317, 1.290 e 0.96, respectivamente (Figura 26). Em contrapartida, o atributo sabor característico de lingüiça toscana influenciou negativamente para preferência da amostra.

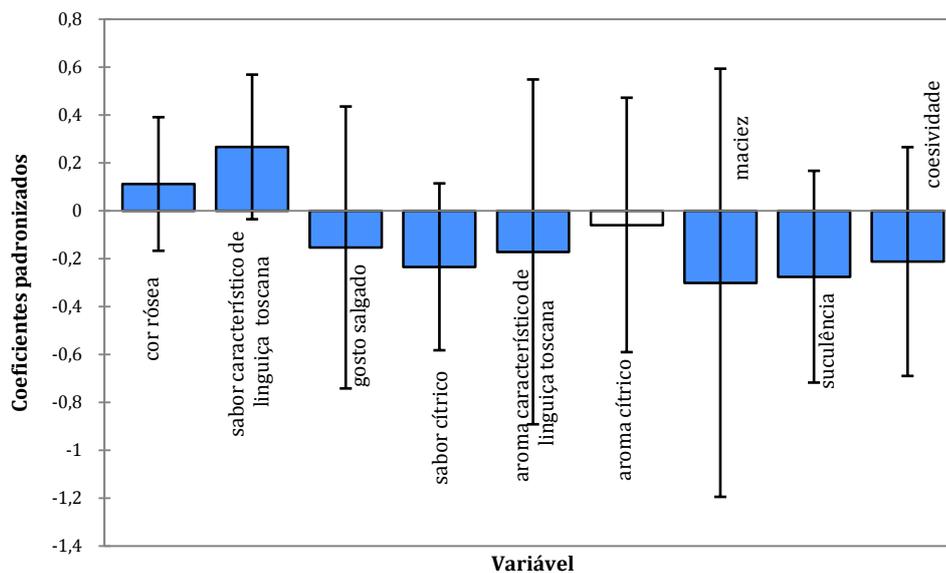
No cluster 3 alcançou-se uma regressão de 98,2% das pontuações nas médias da aceitação (Y-dados) e 77,5% na média das pontuações dos atributos sensoriais (X-Dados) com um  $Q^2$  acum = 0,811. Como nos clusters anteriores, considerando apenas os VIPs maiores que 0.8, o cluster 3 evidenciou apenas dois atributos responsáveis pelo direcionamento da preferência pelos consumidores, sendo estes: sabor característico de lingüiça toscana e cor rósea. Os atributos gosto salgado, sabor cítrico, aroma característico de lingüiça toscana, maciez, suculência e coesividade não contribuíram para a aceitação nesse grupo de consumidores (Figura 27).



**Figura 25:** Biplot correlação (PLS) de Cluster 1 (n = 7). Atributos que contribuíram significativamente ( $p < 0,05$ ) para a aceitabilidade são representados por barras sólidas.



**Figura 26:** Biplot correlação (PLS) de Cluster 2 (n = 41). Atributos que contribuíram significativamente ( $p < 0,05$ ) para a aceitabilidade são representados por barras sólidas.



**Figura 27:** Biplot correlação (PLS) de Cluster 3 (n = 12). Atributos que contribuíram significativamente ( $p < 0,05$ ) para a aceitabilidade são representados por barras sólidas.

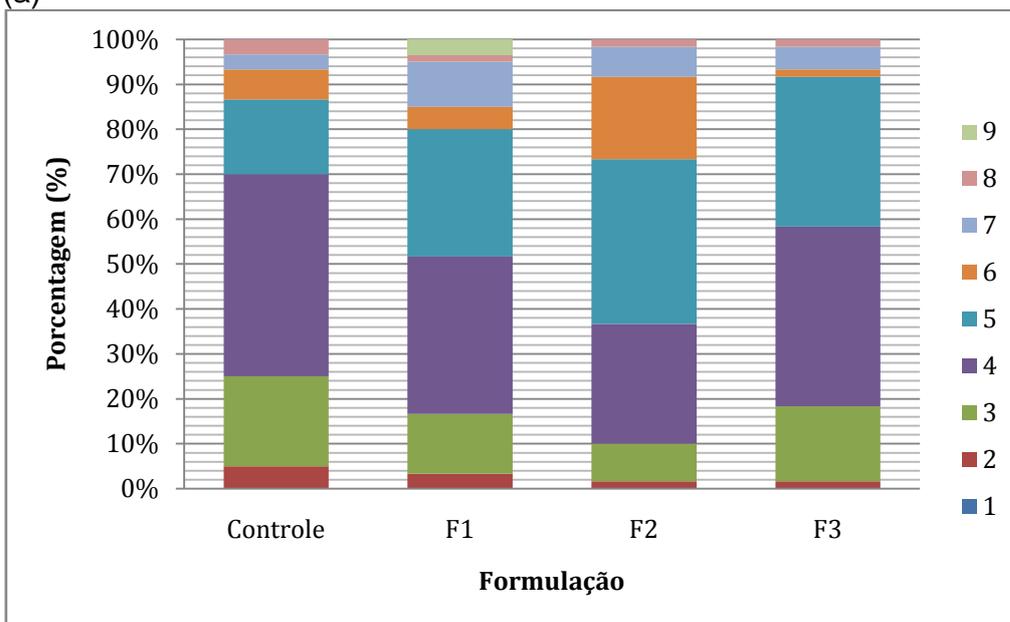
#### 4.4.4 Escala do Ideal com Logística Regressão e Análises de Penalidades

Na Figura 28 é possível evidenciar as porcentagens dos quatro atributos avaliados na escala do ideal “Just About Right” (JAR). Nenhuma das amostras foi considerada excelente para os atributos em questão, pois não alcançaram o mínimo de 70% de respostas consideradas ideais pela escala de 9 pontos (MEULLENET et al., 2007). No atributo cor, Figura 28(a) a amostra Controle mostrou-se com a menor porcentagem na escala do ideal para este atributo, quando comparada às outras amostras, com cerca de 16% dos consumidores que consideraram a cor ideal. Em contrapartida, aproximadamente 70% consideraram esse atributo menos escuro que o ideal. Relacionando esse dado com a escala de aceitação constatou-se que a utilização dos aditivos na amostra melhorou de uma forma geral esse atributo nas linguças toscanas. Resultados semelhantes utilizando apenas lactato de sódio e/ou sua combinação com outros aditivos foi demonstrado por Bloukas et al. (1997).

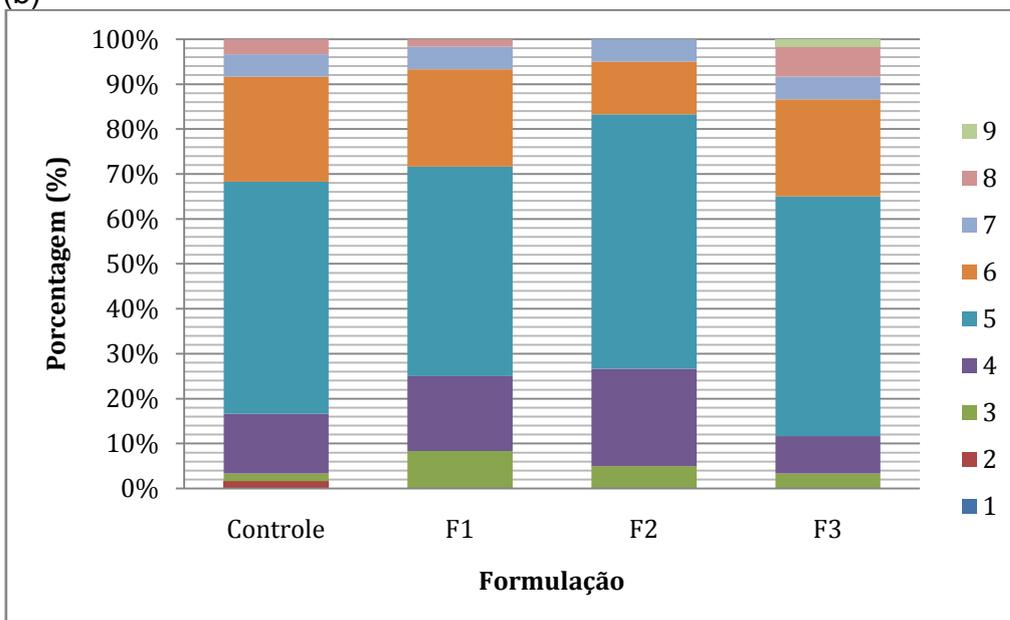
Com relação ao gosto salgado as amostras apresentaram resultados semelhantes nas porcentagens consideradas ideais pelos consumidores, figura 28(b). Entretanto, F3 foi a que evidenciou maior porcentagem de consumidores que detectaram gosto mais salgado que o ideal. Tal fato foi corroborado com os dados apresentados pelos julgadores da ADQ (Tabela 10). Esses resultados foram evidenciados por O’connor et al. (1993), onde observaram que a adição de lactato de sódio combinado com cloreto de sódio intensificou o gosto salgado de carne de porco moída.

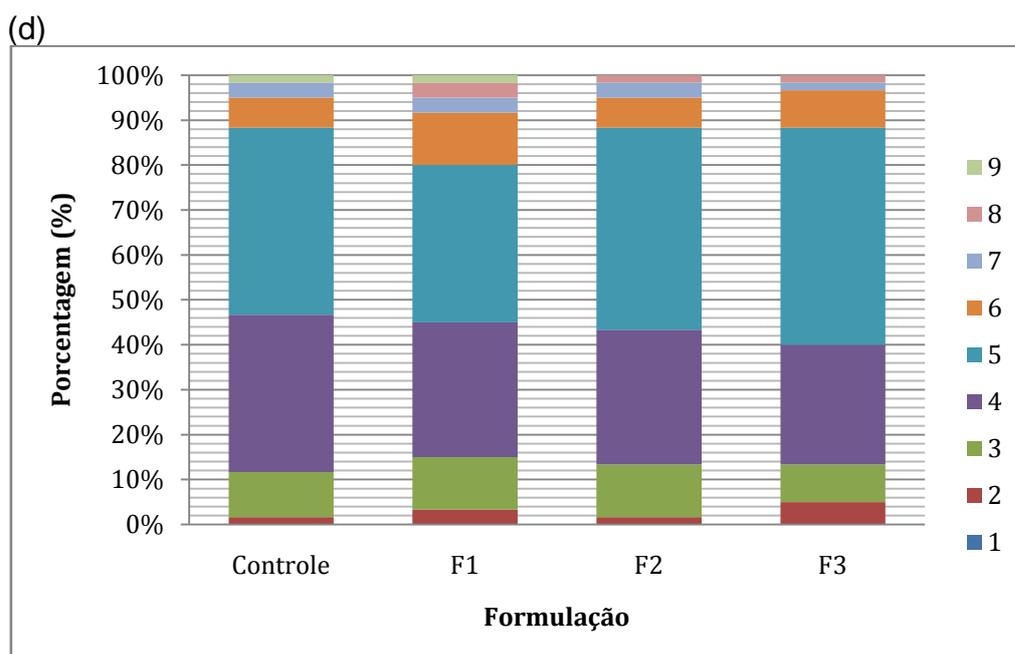
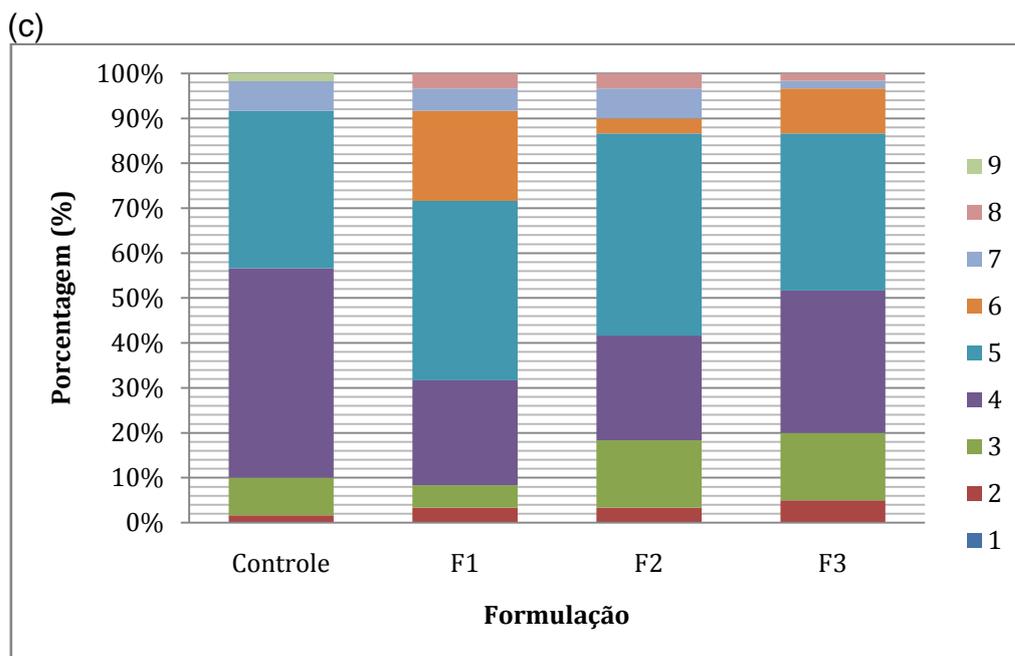
No atributo suculência a amostra Controle evidenciou uma grande porcentagem, onde aproximadamente 57% dos consumidores a consideraram menos suculenta do que o ideal, seguida das amostras F3, F2 e F1 Figura 28(c). Para o atributo maciez as amostras não exprimiram grande variação entre os consumidores, sendo considerada a formulação F3 com maior porcentagem na escala do ideal Figura 28(d). Esses resultados denotam a necessidade do aperfeiçoamento para todos os atributos avaliados, objetivando a porcentagem na escala ideal maior que 70% dos consumidores.

(a)



(b)





**Figura 28:** Porcentagens da escala do ideal pelos consumidores para os atributos Cor(a), Gosto Salgado(b), Suculência(c) e Maciez(d) usando a escala de 9 – pontos (JAR) (1 = extremamente menos, 5 = ideal, 9 = extremamente mais). Ver tabela 1 com as formulações das linguças.

Na tabela 13 são evidenciados os valores médios de queda, análise de penalidade, bem como a porcentagem de consumidores que consideraram os atributos de cor; gosto salgado; suculência e maciez, com intensidades maiores e menores de acordo com cada atributo. No atributo cor foi obtida uma maior penalidade (1,70) na amostra F2, ao contrário da F3, que evidenciou menor penalidade (0,35). No gosto salgado a maior penalidade ficou para F3 (0,60) e menor para F1 (0,17). Em relação a suculência a maior penalidade foi para F2 (1,17) e menor para F3 (0,29) e, a maciez, obteve a maior penalidade para F2 (0,63) e menor para F3 (0,35).

Constatou-se que nos atributos onde foram obtidos a maior penalidade para cada amostra devem ser melhorados a fim de se conseguir um produto de melhor aceitabilidade. Portanto, a amostra F3 de uma forma geral foi a que sofreu as menores penalidades para os atributos avaliados, revelando-se com isso mais próximo do ideal do que as demais. Em contrapartida, a amostra F2 de forma geral foi a mais penalizada, sendo necessário um melhor direcionamento para melhoria dos atributos cor, suculência e maciez.

Na tabela 14 os resultados da análise de regressão logística, podem ser evidenciados pelos atributos sensoriais que influenciaram na compra da lingüiça toscana experimental. Nenhum atributo possuiu diferença significativa ( $p < 0,05$ ) para a intenção de compra das lingüiças toscanas, porém a aceitação global obteve o maior valor (odds ratio = 4,246 e  $p = 0,067$ ). Na regressão logística foram confirmados os dados da análise de penalidades, principalmente para os atributos de cor (JAR) (odds ratio = 0,581) e textura (odds ratio = 0,562) na aceitação, pois foram os atributos que menos influenciaram na intenção de compra.

**Tabela 13:** Penalidades dos consumidores pela escala do ideal (JAR) para os atributos avaliados: porcentagem e média de queda para cada pontuação de preferência de JAR.

Linguiça	Cor JAR		Gosto Salgado JAR		Suculência JAR		Maciez JAR		Total de penalidades***			
	Pouco	Muito	Pouco	Muito	Pouco	Muito	Pouco	Muito	Cor JAR	Salgados JAR	Suculência JAR	Maciez JAR
C	---	70*(0.67)**	31(0.04)	---	---	56(0.72)	---	46(0.34)	0,70	0,46	0,66	0,38
F1	20(0.79)	51(1.06)	28(0.03)	25(0.34)	28(0.02)	31(0.63)	20(0.17)	45(0.79)	0,99	0,17	0,35	0,49
F2	26(1.58)	36(1.45)	---	26(0.84)	---	41(1.20)	---	43(0.74)	1,50	0,49	1,17	0,63
F3	---	58(0.43)	35(0.33)	---	---	51(0.35)	---	40(0.52)	0,35	0,60	0,29	0,35

. \* Porcentagem dos consumidores que consideraram cada produto como “Pouco” ou “Muito” para os atributos cor JAR, gosto salgado JAR, suculência JAR e maciez JAR. \*\*Média de queda, calculada como a diferença entre a média de preferência das respostas de JAR e a média das pontuações das não respostas de JAR. \*\*\* Calculado entre a média de queda e porcentagem das respostas de JAR dos consumidores. --- Indicando que menos que 20% dos consumidores selecionados corresponderam às categorias de JAR.

**Tabela 14:** Parâmetros estimados, probabilidade e estimativa de “odds ratio” para intenção de compra das linguiças toscanas experimentais.

Variáveis	Coefficiente	Pr >χ <sup>2</sup>	Odds ratio
Aparência	0.866	0,152	2,377
Cor	-0.434	0,488	0,648
Sabor	-0.152	0,719	0,859
Textura	-0.577	0,210	0,562
Impressão Global	1.446	0,067	4,246
JAR Cor	-0.543	0,162	0,581
JAR Gosto Salgado	0.269	0,452	1,309
JAR Suculência	0.400	0,331	1,491
JAR Maciez	0.057	0,906	1,059

## 5 CONCLUSÕES

Segundo os resultados obtidos neste experimento, foi possível concluir que:

- Sob o ponto de vista bacteriológico e físico-químico a adição de 3% lactato de sódio e 0,5% de nisina (F3) foi responsável pelos melhores resultados, aumentando em pelo menos cinco dias a validade comercial da amostra, quando comparada as demais. Na utilização isolada do aditivo lactato de sódio (F1) evidenciou-se mais eficaz contra as bactérias mesófilas quando comparado as demais bactérias. Em relação às análises físico-químicas a mesma apresentou boa estabilidade do pH e diminuição da Aa. Porém Na amostra que continha apenas nisina (F2), não verificou-se aumento da validade comercial, evidenciando um comportamento similar a amostra Controle (sem aditivo).

- A análise descritiva quantitativa foi uma ferramenta fundamental para a caracterização das amostras, sendo possível diferenciar a maior parte dos atributos avaliados, com exceção do aroma característico de linguiça toscana, que não evidenciou diferença significativa entre as amostras analisadas.

- Na média da aceitação da escala hedônica não foram expressadas diferenças significativas entre as formulações. Contudo, ao ser aplicada a análise de cluster evidenciou-se três subgrupos com diferentes preferências. O cluster 2, representado por mais de 68% dos consumidores, externou preferência para os atributos de gosto salgado, aroma característico de linguiça, sabor cítrico, maciez, suculência e coesividade.

- Na escala do ideal foi possível identificar direções para melhoria do produto, sendo a adição de lactato de sódio 3% e nisina 0,5% (F3) a formulação menos penalizada e mais próxima do ideal. Na regressão logística, o atributo que contribuiu para a melhor intenção de compra foi a impressão global.

- Na análise sensorial todas as amostras apresentaram resultados satisfatórios, sendo a utilização dos aditivos lactato de sódio e nisina uma forma promissora para a manutenção ou melhoria da aceitação da linguiça toscana no mercado, no entanto são necessários mais estudos sobre os efeitos desses aditivos nas características sensoriais dos produtos cárneos.

## 6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AASEN, I. M.; MARKUSSEN, S.; MORETRO, T.; KATLA, T.; AXELSSON, L.; NATERSTAD, K. Interactions of the bacteriocins sakacin P and nisin with food constituents. *International Journal of Food Microbiology*, v. 87, p. 35-43, 2003.

ABEE, T.; KROCKEL, L.; HILL, C. Bacteriocins: modes of action and potentials in food preservation and control of food poisoning. *International Journal of Food Microbiology*, v. 28, p. 169-185, 1995.

ABIPECS - Associação Brasileira da Indústria Produtora e Exportadora de Carne Suína. *Estatísticas da produção suína, 2011*. Disponível em: <<http://www.abipecs.org.br>>. Acesso em: 09 ago. 2012.

ABNT - ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. *Alimentos e Bebidas - Análise sensorial – Teste de análise descritiva quantitativa (ADQ)*. Terminologia: NBR 14140. Rio de Janeiro. 5p. 1998.

APHA – AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION. *Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods*. 4ª ed. Washington, p. 1219, 2001.

ASTIZ, C. S. Qualidade da carcaça e da carne ovina e caprina em face ao desenvolvimento da percepção do consumidor. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.37, p.143-160, 2008.

BAYARRI, S.; CARBONELL, I.; BARRIOS, E. X.; COSTELL, E. Impact of sensory differences on consumer acceptability of yoghurt and yoghurt-like products. *International Dairy Journal*, v. 21, p. 111-118, 2011.

BERGARA, S.; SILVA, A. P. Hedonic scale with reference: performance in obtaining predictive models. *Food Quality and Preference*, v. 13, n. 1, p. 57-64, 2002.

BINGOL, E.; BOSTAN, K. Effect of Sodium Lactate on the Microbiological Quality and Shelf Life of Sausages Turk. *Journal of Veterinary*, v. 31, n. 5, p. 333-339, 2007.

BIRZELE, B.; DJORDJEVIC, S.; KRAMER, J. A study of the role of different nitrite concentrations on human pathogenic bacteria in fresh spreadable ham and onion sausage. *Food Control*, v. 16, p. 695-699, 2005.

BLOUKAS, J. G.; PANERAS, E. D.; FOURNITZIS, G. C. Sodium lactate and protective culture effects on quality characteristics and shelf life of low fat frankfurters produced with olive oil. *Meat Science*, v.45, n. 2, p. 223-233, 1997.

BRADLEY, E.M.; WILLIAMS J.B.; SCHILLINGA, M.W.; COGGINS, P.C.; CRIST, C.; YODER, S.; CAMPANO, S.G. Effects of sodium lactate and acetic acid derivatives on the quality and sensory characteristics of hot-boned pork sausage patties. *Meat Science*, v. 88, p. 145-150, 2011.

BRASIL. Ministério da Agricultura. Secretaria Nacional de Defesa Agropecuária. Laboratório Nacional de Referência Animal. Métodos analíticos oficiais para controle de produtos de origem animal e seus ingredientes: II – Métodos físicos e químicos. Carne bovina "in natura". *Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil*, Brasília, DF, Cap.1, p.2, 1981.

\_\_\_\_\_. Ministério da Saúde. Resolução CNS/MS nº4, de 24 de novembro de 1988. Aprova o uso do lactato de sódio como umectante em balas, doces, bombons e recheios de chocolate na proporção de 2,4 g/100 g ou 100ml. *Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil*, Brasília, DF, 24 nov. 1988.

\_\_\_\_\_. Secretaria de Inspeção de Produto Animal. Ministério da Agricultura e Abastecimento. Ofício nº AUP 235/90, de 15 de janeiro de 1990. Autoriza o emprego do lactato de sódio como coadjuvante tecnológico na preparação de carnes destinadas a fabricação de produtos à base de carnes em geral na proporção de 2% sobre o produto final. *Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil*, Brasília, DF, 15 jan.1990.

\_\_\_\_\_. Ministério da Saúde - Secretaria da Vigilância Sanitária. Portaria nº35 de 28 de abril de 1995. Conceder a extensão do uso do aditivo lactato de sódio, com a função umectante, código U.V, ano alimento relacionado (embutido de carne), obedecendo ao limite máximo focado. *Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil*, Brasília, DF, 03 mai. 1995.

\_\_\_\_\_. Ministério da Saúde. Portaria nº 29, de 22 de janeiro de 1996. Aprovar a extensão de uso da nisina com a função de conservador para queijos pasteurizados no limite máximo de 12,5mg/kg. *Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil*, Brasília, DF, 22 jan.1996.

\_\_\_\_\_. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 1.004, de 11 de dezembro de 1998. Aprovar o Regulamento Técnico: "Atribuição de Função de Aditivos, Aditivos e seus Limites Máximos de uso para a Categoria 8 - Carne e Produtos Carneos". *Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil*, Brasília, DF, p. 28,14 dez.1998, Seção 1.

\_\_\_\_\_. Ministério da Agricultura, Pecuária e do Abastecimento. Instrução Normativa nº 20 de 21 de julho de 1999. Métodos analíticos oficiais para controle de produtos de origem animal e seus ingredientes. *Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil*, Brasília, DF, p.10, 27 jul. 1999, Seção 1.

\_\_\_\_\_. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. RDC nº 386, de 5 de agosto de 1999. Aprovar o Regulamento Técnico: "Regulamento Técnico sobre Aditivos Utilizados Segundo as Boas Práticas de Fabricação e suas Funções". *Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil*, Brasília, DF, 5 ago.1999, Seção 1.

\_\_\_\_\_. Ministério da Agricultura, Pecuária e do Abastecimento. Instrução Normativa nº4, de 31 de março de 2000. Aprova os Regulamentos Técnicos de Identidade e Qualidade de Carne Mecanicamente Separada, de Mortadela, de Linguiça e de Salsicha. *Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil*, Brasília, DF, p. 6, 05 abr. 2000.

\_\_\_\_\_. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 12, de 02 de janeiro de 2001. Aprova o Regulamento Técnico sobre os Padrões Microbiológicos para Alimentos. *Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil*, Brasília, DF, 10 jan. 2001.

\_\_\_\_\_. Ministério da Agricultura, Pecuária e do Abastecimento. Instrução Normativa nº 62, de 26 de agosto de 2003. Aprova os métodos analíticos oficiais para análises microbiológicas para controle de produtos de origem animal e água. *Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil*, Brasília, DF, p.14, 18 set. 2003, Seção 1.

\_\_\_\_\_. Ministério do Planejamento do Brasil. *Perspectiva de crescimento da produção brasileira de carne suína, 2009*. Disponível em <<http://clipping.planejamento.gov.br>>, Acesso em: 05 jan. 2013.

BREWER, M. S.; KEITH, F.; MARTIN, S. E.; DALLMIER, A. W.; MEYER, J. Sodium lactate effects on shelf life, sensory and physical characteristics of fresh pork sausage. *Journal of Food Science*. v.56, n.5, p.1176-1178, 1991.

BREUKINK, E.; WIEDEMANN, I.; VAN KRAAIJ, C.; KUIPERS, O.P.; SAHL, H.G.; KRIJFF, B. Use of the cell wall precursor lipid II by a pore-forming peptide antibiotic. *Science*, v. 228, p. 2361-2364, 1999.

BREWER, M. S.; MCKEITH, F.; MARTIN, S. E.; DALLMIER, A. W.; MEYER, J. Sodium lactate effects on shelf-life, sensory and physical characteristics of fresh pork sausage. *Journal of Food Science*, v. 56, n. 5, 2006.

BUNCIC, S.; FITZGERLD, C. M.; BELL, R. G.; HUDSON, J. A. Individual and combined listericidal effects of sodium lactate, potassium sorbate, nisin and curing salts at refrigeration temperature. *Journal of Food Safety*, Trumbull, v. 15, n. 3, p. 247-264, 1995.

BRUNO, M. E. C.; MONTVILLE, T. J. Common mechanistic action of bacteriocins from lactic acid bacteria. *Applied Environmental Microbiology*, Washington, v. 59, n. 9, p. 3003-3010, 1993.

CALHOUN, C. M.; GAEBLER, D. M.; MANDIGO, R. W. Storage stability of ground pork containing meat from an advanced meat recovery system. *Journal of Food Science*, Chicago, v. 64, n. 1, p. 69-75, 1999.

CASSENS, R. G. *Preventing losses and assuring safety. Meat Preservation*, p.125 1994.

CASTAGNA, S. M. F.; SCHWARZ, P.; CANAL, C. W.; CARDOSO, M. R. I. Prevalência de suínos portadores de *Salmonella* spp. ao abate e contaminação de embutidos tipo frescal. *Acta Scientiae Veterinariae*, v. 32, p.141-147, 2004.

CASTILLO, A.; MÉSZÁROS, L. A.; KISS, I. F. Effect of high hydrostatic pressure and nisin on microorganism in minced meats. *Acta Alimentaria*, v. 33, n. 2, p. 183-190, 2004.

CASTRO, A. P. *Sobrevivência de bactérias aeróbias mesófilas, psicrotróficas, bactérias lácticas e Listeria monocytogenes em salsichas submetidas a tratamento com nisina*. São Paulo, 2002. 91p. Dissertação (Tecnologia de Alimentos) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas – USP, São Paulo, 2002.

CERVATNTES, B, G.; AOKI, N, A.; ALMEIDA, C, P, M. Aceitação sensorial de biscoito de polvilho elaborado com farinha de okara e análise de dados com metodologia de *penalty analysis*. *Brazilian Journal of Food Technology*, p. 3-10, 2010.

CHAVES, J. B. P.; SPROESSER, R. L. Caderno didático 60: *Prática de laboratório de análise sensorial de alimentos e bebidas*. Viçosa, UFV, p. 81, 1996.

CHAVES, J. B. P.; SPROESSER, R. L. Caderno Didático 66: *Prática de Laboratório de Análise Sensorial de Alimentos e Bebidas*. Viçosa, UFV, p. 81, 2002.

CLARK, D. Fat replacers and fat substitutes. *Food Technology*, v. 48, n. 12,p. 86, 1994.

CLEVELAND, J. et al. Bacteriocins: safe, natural antimicrobials for food preservation. *Int. J. Food Microbiology*, v. 71, p. 1-20, 2001.

COLMENERO, F. J. Technologies for developing low-fat meat products. *Trends in Food Science & Technology*, v. 7, p. 41- 48, 1996.

CONNELL, J. J.; HOWGATE, P. F. Sensory and objective measurement of the quality of frozen stored cod of different initial freshness. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, v. 19, n. 6, p. 342-354, 1968.

COTTER, P. D.; HILL, C.; ROSS, R. P. Bacteriocins: Developing innate immunity for food. *Nature Reviews Microbiology*, v. 3, p. 777-778, 2005.

CUTTER, C. N.; SIRAGUSA, G. R. Incorporation of nisin into a meat binding system to inhibit bacteria on beef surface. *Letters in Applied Microbiology*, v. 27, p. 19-23, 1998.

DAVIES, E. A.; MILNE, C. F.; BEVIS, H. E.; POTTER, R. W.; HARRIS, J. M.; WILLIAMS, G. C.; THOMAS, L. V.; DELVES-BROUGHTON, J. Effective use of nisina to control lactic acid bacterial spoilage in vacuum-packed bologna-type sausage. *Journal of Food Protection*, v. 62, n. 9, p. 1004-1010, 1999.

DEEGAN, L. H.; COTTER, P. D.; HILL, C.; ROSS, P. Bacteriocins: Biological tools for bio-preservation and shelf-life extension. *International Dairy Journal*, v.16 p. 1058–1071, 2006.

DELAZARI, I. Microbiologia de carnes. *Boletim do Instituto de Tecnologia de Alimentos*, Campinas, n.52, p.25-60, julho/agosto. 1977.

DELLA MODESTA, R. C. *Manual de análise sensorial de alimentos e bebidas*. Tomo I. Tomo II e Tomo III. Rio de Janeiro: EMBRAPA (Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária) – CTAA, p. 245, 1994.

DE MARTINIS, E. C. P.; ALVES, V. F.; FRANCO, B. D. G. M. Fundamentals and perspectives for the use of bacteriocins produced by lactic acid bacteria in meat products. *Food Reviews International*, v. 18, n. 2, p. 191-208, 2002.

DELVES-BROUGHTON, J. Nisin and its application as a food preservative. *Journal of Dairy Technology*, v. 43, n. 3, p. 73-76, 1990.

DELVES-BROUGHTON, J.; GASSON, M. J.; DILLON, V. M.; BOARD, R.G. Natural Antimicrobial Systems and Food Preservation. *Centre for Agricultural Bioscience International*, p. 99-131, 1994.

DELVES-BROUGHTON, J. Nisin as a food preservative . *Food Australia*, v. 57, p. 525-527, 2005.

DUTCOSKY, S. D. *Análise Sensorial de Alimentos*. 2. ed. rev. e ampl. – Curitiba: Champagnat, p. 239, 2007.

FÁVERO, J. A. Carne suína de qualidade: Uma exigência do consumidor moderno. Anais do I Congresso Latino Americano de Suinocultura. I Congresso Latino Americano de Suinocultura, Foz do Iguaçu, p. 56-66, 2002.

FERREIRA, M. C.; FRAQUEZA, M. J.; BARRETO, A. S. Avaliação do prazo de vida útil da salsicha fresca. *Revista portuguesa de Ciências veterinárias*, Lisboa, v. 102, n. 561-562, p.141-143, 2007.

FRANCO, B. D. G. M.; DE MARTINIS, E. C. P.; ALVES, V. F. *Bacteriocinas de bactérias lácticas e suas aplicações em produtos cárneos*. Atualidades em Ciência e Tecnologia de Carnes. São Paulo, Varela, p. 63-71, 2006.

FRANKEL, E, N. Antioxidants in lipid foods and their impact on food quality. *Food Chemistry*, v. 57, p. 5155, 1996.

FRATA, M. T. *Análise Descritiva Quantitativa e Mapa de Preferência Externo de Suco de Laranja*. Paraná, 2002, 228 p. Tese (Doutorado em Ciência dos Alimentos), Universidade Estadual de Londrina, 2002.

GALLI, F. Como fabricar linguiças. *Revista Nacional da Carne*, São Paulo, v. 197, p. 37-45, 1993.

GÄNZLE, M. G.; WEBER, S.; HAMMES, W. P. Effect of ecological factors on the inhibitory spectrum and activity of bacteriocins. *Journal of Food Microbiology*, Amsterdam, v. 46, n. 3, p. 207-217, 1999.

GIROTTTO, A. F.; SANTOS FILHO, J. I. *Custo de produção de suínos*. Embrapa Suínos e Aves, 2000. 36 p. (Embrapa Suínos e Aves. Documentos), 2000.

GÖGÜS, U.; BOZOGLU, F.; YURDUGUL, S. Comparative effects of lactic acid, nisin, coating combined and alone applications on some postmortem quality criteria of refrigerated sardine *pilchardus*. *Journal of Food Quality*, v. 29, p. 658-671, 2006.

GROSULESCU, C.; JUNEJA, V. K.; RAVISHANKAR, S. Effects and interactions of sodium lactate, sodium diacetate, and pediocin on the thermal inactivation of starved *Listeria monocytogenes* on bologna. *Food Microbiology*, v. 28, n. 3, p. 440-446, 2011.

GUÀRDIA, M. D.; AGUIAR, A. P. S.; CLARET, A.; ARNAU, J.; GUERRERO, L. Sensory characterization of dry-cured ham using free-choice profiling. *Food Quality and Preference*, Article in Press, 2009.

GUINANE, C. M.; COTTER, P. D.; HILL, C.; ROSS, R. P. A Review: Microbial solution to microbial problems, lactococcal bacteriocins for the control of undesirable biota in food. *Journal of Applied Microbiology*, v. 98, p.1316-1325, 2005.

HAMPIKYAN, H.; UGUR, M. The effect of nisin on *L. monocytogenes* in Turkish fermented sausage (sucuks). *Meat Science*, v. 76, p. 327-332, 2007.

HOUTSMA, P. C.; WIT, J. C.; ROMBOUTS, F. M. Minimum inhibitory concentration of sodium lactate for pathogens and spoilage organisms occurring in meat products. *International journal of Food Microbiology*, Amsterdam, v. 20, n. 4, p. 247-257, 1993.

ICMSF - *International Commission on Microbiological Specifications for Foods*. Ecología Microbiana de los Alimentos. II. Productos Alimenticios. Zaragoza, Acribia, p.143-152, 1985.

ICMSF - *International Commission on Microbiological Specifications for Foods*. Microorganisms in foods: Application of hazard analysis critical point (HACC P) system to ensure microbiological safety and quality Blackwell, London, v 4, p. 4, 1988.

JOSALA, A. F.; ARAUZ, L. J.; MAZZOLA, P. G.; PENNA, T. C. V. Nisin biotechnological production and application: a review. *Trends in Food Science and Technology*, v. 20, p. 146-154, 2009.

JUNEJA, V. K.; Delayed *Clostridium perfringens* growth from a spore inocula by sodium lactate in *sous-vide* chicken products. *Food Microbiology*, v. 23, n. 2, p. 105-111, 2006.

JUSTYNA, K.; AGNIESZKA, B.; KRYSZYNA, K.; WALDEMAR, U. The effect of selected technological additives on improvement of shelf life of ground meat. *Scientiarum Polonorum Technologia Alimentaria*, v. 7 p. 51-6, 2008.

KLAENHAMMER, T. R. Genetics of bacteriocins produced by lactic acid bacteria. *Federation of European Microbiology*, Amsterdam, v. 12, n. 1-3, p. 39-86, 1993.

LEE, Y. S.; YOUM, G.; OWENS, C. M.; MEULLENET, J. F. Optimization of consumer Acceptability and Sensory Characteristics for Marinated Broiler Breasts Meat. *Journal of Food Science*, v. 76, n. 8, 2011.

LIN, K. W.; LIN, S. N. Effects of sodium lactate and trisodium phosphate on the physicochemical properties and shelf life of low-fat Chinese-style sausage. *Meat Science*, v. 60, p. 147-154, 2002.

LOPEZ, F.; JAY, J. M.; KIM, N. M. *Microbiologia Moderna de los Alimentos*. Zaragoza, Acríbia, v. 1, p. 804, 1989.

LÓPEZ, S. E. M.; JIMÉNEZ, S. P.; SÁNCHEZ, O. I.; CASTRO, R. J.; ZÚNIGA, E. A. Aplicación de Sales de ácidos orgánicos en La conservación de carne de conejo. Congreso Nacional de Ciencia y Tecnología de Alimentos. Guanajuato, v. 28, 2010.

MACA, J. V.; MILLER, R. K.; BIGNER, M. E.; LUCIA, L. M.; ACUFF, G. R. Sodium lactate and storage temperature effects on shelf life of vacuum package beef top rounds. *Meat Science*, v. 53, p. 23-29, 1999.

MANCINI, R. A.; RAMANATHAN, R.; SUMAN, S. P.; KONDA, M. K. R.; JOSEPH, P.; DADY, G. A.; NAVEENA, B. M. Effects of lactate and modified atmospheric packaging on premature browning in cooked ground beef patties. *Meat science*, v. 85 fas. 2 p. 339-346, 2010.

MARCELA, P. U. B. *Efecto de la adición de lactato de sodio sobre la conservación de la carne de bovino de corte oscuro envasada al vacío, almacenada a 4°C*. Dissertação (Ciência dos Alimentos). Universidad Austral de Chile, Chile, 2009.

MARTINEZ, E. C. P.; ALVES, V. F.; FRANCO, B. D. G. M. Fundamentals and perspectives for the use of bacteriocins produced by lactic acid bacteria in meat products, *Brazilian Journal of Microbiology*, v. 32, p. 32-37, 2002.

MATARAGAS, M.; SKANDAMIS, P. N.; DROSINOS, E. H. Risk profiles of pork and poultry meat and risk ratings of various pathogen/product combinations. *International Journal of Food Microbiology*, v. 126, n. 1-2, p.1-12, 2008.

MBANDI, E.; SHELEF, L. A. Enhanced inhibition of *Salmonella enteritidis* in meat by combination of sodium lactate and diacetate. *Journal of Food Protection*, Des Moines, v. 64, n. 5, p. 640-644, 2000.

MERCK. *Microbiology Manual*. Darmstadt, Germany, 1996. 405p.

MEULLENET, J. F.; XIONG, R.; FINDLAY, C. *Multivariate and Probabilistic Analyses of Sensory Science Problems*. New York: IFT Press, 2007.

MILANI, L. I. G.; FRIES, L. L. M.; PAZ, P. B.; BELLÉ, M.; TERRA, N. N. Bioproteção de linguiça de frango. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v. 23, n. 2, p. 161-166, 2003.

MILLER, A. J.; CALL, J. E.; WHITING, R. C. Comparison of organic acid salts for *Clostridium botulinum* control in an uncured turkey product. *Journal of Food Protection*, Des Moines, v. 56, n.11, p. 958-962, 1993.

MINIM, V. P. R. *Análise sensorial: estudos com consumidores*. Viçosa: Ed. UFV, p. 225, 2006.

MIYASAKI, K.N.; CHIARINI, E.; SANTÁNA, A. D. S.; DESTRO, M. T.; LANDGRAF, M.; FRANCO, B. D. G. D. M. High prevalence, low counts and uncommon serotypes of *Listeria monocytogenes* in linguiça, a Brazilian fresh pork sausage. *Meat Science*, v. 83, n. 3, p. 523-527, 2009.

MONTVILLE, T. J.; CHEN, Y. Mechanistic action of pediocin and nisin: recent progress and unresolved questions. *Application Microbiology Biotechnology*, v. 50, p. 511-519, 1998.

NASCIMENTO, M. S.; MORENO, I.; KUAYE, A. Y. Bacteriocinas em alimentos: uma revisão. *Brazilian Journal of Food Technology*, v. 11, n. 2, p.120-127, 2008.

NATRESS, F. M.; BAKER, L P. Effects of treatment with lysozyme and nisin on the microflora and sensory properties of commercial pork. *International Journal of Food Microbiology*, v. 85 p. 259-267, 2003.

NELISA, L. S. *Efeito da combinação de sal com lactato e diacetato de sódio nas características sensoriais, físico-químicas, cor e textura de um produto similar a carne de sol*. Dissertação (Tecnologia de Alimentos) na Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), 2005.

NICOLAI, B. M. Predictive modelling of surface growth of lactic acid bacteria in vacuum-packed meat. *Food Microbiology*, v. 10, p. 229-238, 1993.

NNANNA, L. A.; UKUKU, D. O.; MACVANN, K. B.; SHELEF, L. A. Antioxidant activity of sodium lactate in meat and models systems. *Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie*, London, v. 27, n.1, p. 78-85, 1994.

O'CONNOR, O. L.; BREWER, M. S.; MCKEITH, F. K.; NOVAKOFSKI, J. E., CARR, T. R. Sodium lactate/sodium chloride effects on sensory characteristics and shelf life of fresh ground pork. *Journal of Food Science*, v. 58, n. 5, p. 978-980, 1993.

PANETTA, J. C. Controle higiênico e sanitário dos alimentos de origem animal. Importância social, econômica e de saúde pública. *Higiene Alimentar*, v. 3, n. 4, p. 27-33, 1984.

PAPADOPOULOS, L. S.; MILLER, R. K.; ACUFF, G. R.; VANDERZANT, A. C.; CROSS, H. R. Effect of sodium lactate on microbial and chemical composition of cooked beef during storage. *Journal of Food Science*, v. 56, p. 341- 347, 1991.

PAPADOPOULOS, V.; CHOULIARA, I.; BADEKA, A.; SAVVAIDIS I. N.; KONTOMINAS, M. G. Effect of gutting on microbiological, chemical, and sensory properties of aquacultured sea bass (*Dicentrarchus labrax*) stored in ice. *Food Microbiology*, v. 20, p. 411–420. 2003.

PARDI, M. C.; SANTOS, L. F.; SOUSA, E. R.; PARDI, H. R. *Ciência, higiene e tecnologia da carne*, Goiânia. Ed. CEGRAF, v. 2, p. 1110, 1994.

PEREIRA, D. B. *Estabilidade da nisina durante o armazenamento e seu papel na vida de prateleira de salsichas*. Rio de Janeiro, Dissertação (Tecnologia de Alimentos) Departamento de Tecnologia de Alimentos – UFRRJ, p. 42, 2004.

ROMANELLI, P. F. *Propriedades tecnológicas da carne do jacaré do pantanal caiman Crocodilus Yacare (Daudin, 1802)*. Campinas, 1995. 110 f. Tese (Doutorado em Tecnologia de Alimentos) – Departamento de Tecnologia de Alimentos Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 1995.

ROPPA, L. *Perspectivas da produção mundial de carnes*, 2007. Disponível em: <[http://pt.engormix.com/member\\_login.aspx?referer=yes](http://pt.engormix.com/member_login.aspx?referer=yes)>. Acesso em: dez. 2012.

ROSSI, L. P. R.; ALMEIDA, R. C. C.; LOPES, L. S.; FIGUEIREDO, A. C. L.; RAMOS M. P. P.; ALMEIDA, P. F. Occurrence of *Listeria* spp. in Brazilian fresh sausage and control of *Listeria monocytogenes* using bacteriophage P100. *Food Control*, Guildford, v. 22, n. 6, p. 954-958, 2011.

SAHL, H. G.; KORDEL, M.; BENZ, R. Voltage-dependent depolarization of bacterial membranes and artificial lipid bilayers by the peptide antibiotic nisin. *Arch Microbiology* v.149, p.120-124, 1987.

SALLAM, K. H. I.; SAMEJIMA, K. Microbiological and chemical quality of ground beef treated with sodium lactate and sodium chloride during refrigerated storage. *Food Science Technology*, v. 37, n.8, p. 865–871, 2004.

SALLAM, K. H. I. Antimicrobial and antioxidant effects of sodium acetate, sodium lactate, and sodium citrate in refrigerated sliced salmon. *Food Control*, v. 18, n. 5, p. 566–575. 2007.

SAMELIS, J.; BEDIE, G. K.; SOFOS, J. N.; BELK, K. E.; SCANGA, J. A. SMITH, G C. Combinations of nisin with organic acids or salts to control *Listeria monocytogenes*. *International Journal of Food Technologic*, v. 38, p. 21-28, 2005.

SANTOS LÓPEZ, E. M.; JIMÉNEZ S.; CASTRO, J. A. Aplicacion de Sales de Acidos Organicos en la Conservacion de Carne de Conejo. XII Congreso Nacional de Ciencia y Tecnologia de Alimentos, v. 28, 2010.

SCANNELL, A. G. M.; ROSS, R. P.; HILL, C.; ARENDT, E. K. An effective lacticin biopreservative in fresh pork sausage. *Journal of Food Protection*, Des Moines, v. 63, n. 3, p.370-375, 2000.

SEQUEIRA-MUNOZ, A.; CHEVALIER, D.; LEBAIL, A.; RAMASWAMY, H. S.; SIMPSON, B. K. Physicochemical changes induced in carp (*Cyprinus carpio*) fillets by high pressure processing at low temperature. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, v. 7, p. 13–18, 2006.

SEYDIM, A. C.; GUZEL, B.; ACTON, J. C.; DAWSON, P. L. Effects of rosemary extract and sodium lactate on quality of vacuum-packaged ground ostrich meat. *Journal of Food Science*, v. 71, n. 1, p. 71-76, 2006.

SHELEF, L. A.; CHEN, F. Behavior of sodium lactate in sausages. *Food Microbiology*, London, v. 12, n. 3, p. 221, 1992.

SHELEF, L. A. Antimicrobial effects of lactates: a review. *Journal Food Protection*, v. 57, p. 445 – 450. 1994.

SHELEF, L. A.; ADDALA L. Inhibition of listeria monocytogenes and other bacteria bt sodium diacetate. *Journal of Food Safety*, Trumbull, v. 14, n. 2, p. 103-115, 1995.

SIU, G. M.; DRAPPER, H. H. A survey of malonaidehyde content of retail meats and fish. *Journal of Food Science*, Chigago. v. 43, n. 4, p. 1147-1149, 1978.

STEKELENBURG F. K.; KANT-MUERMANS M. L. T. Effects of sodium lactate and other additives in a cooked ham product on sensory quality and development of a strain of *Lactobacillus curvatus* and *Listeria monocytogenes*. *International Journal of Food Microbiology*, v. 66, p. 197-203, 2001.

STONE, H.; SIDEL, J. L. *Sensory evaluation practices*. 2. ed. London: Academic Press, Inc., 338p, 1993.

STONE. H.; SIDEL, J. Quantitative descriptive analisis: developments, applications and the future. *Food Technology*, v. 52, n. 8, p. 48-52, 1998.

STONE. H., SIDEL, J. *Sensory Evaluation Practices*, Academic Press: New York, 2004.

SURESHKUMAR, S.; KALAIKANNAN, A.; DUSHYANTHAN, K.; VENKATARA, M. V. Effect of nisin and butylatedhydroxy anisole on storage stability of buffalo meat sausage. *Journal of Food SciTechnol*, v. 47, n. 3, p. 358-363, 2010.

TARLADGIS, B. G.; WATTS, B. M.; YOUNATHAN, M. T.; DUGAN, L. A distillation method for the quantitative determination of malonaldehyde in rancid foods. *The Journal of the American Oil Chemists' Society*, v. 37, 1960.

TOYOHARA, D. Q. K. *Determinação de nitrato, nitrito e N-nitrosaminas em linguiças*. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) Faculdade Engenharia de Alimentos, UNICAMP. Campinas, 1989.

USDA - United States Department of Agriculture. *Pork production in 2011*. Disponível em: <<http://www.fas.usda.gov>>. Acessado em 09 de setembro de 2012.

VASAVADA, M.; CARPENTER, C. E.; CORNFORTH, D. P.; GHORPADE, V. sodium levulinate and sodium lactate effects on microbial growth and stability of fresh pork and turkey sausages. *Journal of Muscle Foods*, v.14, n. 2, p.119-129, 2003.

VERMEIREN, L.; DEVLIEGHIERE, F.; DEBEVERE, J. Evaluation of meat born lacto acid bacteria as protective cultures for the biopreservation of cooked meat products. *International Journal of Food Microbiology*, v. 96, p. 149-164, 2004.

VIGNEAU, E.; QANNARI, E. M. Segmentation of consumers taking account external data a clustering of variables approach. *Food Quality and Preference*, v. 13, p. 515-521, 2002.

XAVIER, E. G.; LOPES, D. C. N.; VALENTE, B. S.; ROLL, V. F. B. *Cadernos Didáticos Suínos: Produção*. 1ªed. Pelotas: Editora UFPEL, p. 164, 2010.

WANG, F. S. Effects of three preservative agents on the shelf life of vacuum packaged Chinese-style sausage stored at 20°C. *Meat Science*, v. 56 p. 67-71, 2000.

WOLD, S.; SJÖSTROM, M.; ERIKSSON, L. PLS-regression: a basic tool of chemometrics. *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems*, v. 58, p. 109, 2001.

## 7 ANEXOS

### Submission Confirmation

Thank you for submitting your manuscript to *Ciência Rural*.

Manuscript ID: CR-2013-0456
Title: Effect of sodium lactate, nisin and their combination in the shelf life of pork sausage vacuum packed and stored at 4 ° C
Authors: Silva, Rafael José, Kelly Franco, Robson Silva, Teófilo
Date Submitted: 03-Apr-2013

 Print  Return to Dashboard

ScholarOne Manuscripts™ v4.11.0 (patent #7,257,767 and #7,263,655). © ScholarOne, Inc., 2013. All Rights Reserved.  
ScholarOne Manuscripts is a trademark of ScholarOne, Inc. ScholarOne is a registered trademark of ScholarOne, Inc.

 Follow ScholarOne on Twitter

[Terms and Conditions of Use](#) - [ScholarOne Privacy Policy](#) - [Get Help Now](#)

Elsevier Editorial System(tm) for Meat Science  
Manuscript Draft

Manuscript Number:

Title: Effect of sodium lactate, nisin and their combination on sensory properties of Tuscan sausage

Article Type: Research Paper

Keywords: sodium lactate, nisin, sensory profiling, Tuscan sausage.

Corresponding Author: Prof. Adriano Cruz,

Corresponding Author's Institution: UNICAMP

First Author: Adriano Cruz

Order of Authors: Adriano Cruz; Rafael Xavier; Kelly Silva; Teofilo Silva

Abstract: The effect of sodium lactate, nisin and their combination on sensory properties of Tuscan sausage was investigated. Tuscan sausages without additives, added with sodium lactate, nisin and containing both sodium lactate and nisin were subjected to descriptive sensory analysis (Quantitative Descriptive Analysis (QDA)), hedonic test (acceptance using a 9-point scale, the just about right scale (JAR)) and purchase intent test. All attributes generated by the QDA were able to differentiate the samples, except for the aroma of Tuscan sausage. The sausages did not present any significant difference using the hedonic test, and scores ranged from 6.0 (slightly liked) to 7 (moderately liked). By using penalty analysis, sample F3 showed the lowest values (0.35-0.60) when compared to all the other attributes (color, salty taste, tenderness and juiciness), while F2 was responsible for presenting the highest penalties (0.49 to 1.50). When the logistic regression was applied to the experimental data, no significant difference among samples was attained,

Suggested Reviewers: Amir Mortazavian

mortazvn@sbmu.ac.ir

This author has papers about meat products and additives.

Tatiana Pimentel

tatipimentel@hotmail.com

This author has a recent paper in Meat Science about sensory and quality.