



11º Congresso Interinstitucional de Iniciação Científica – CIIC 2017  
02 a 04 de agosto de 2017 – Campinas, São Paulo  
ISBN 978-85-7029-141-7

**IMPACTO DA ADIÇÃO DE NITRITO E ERITORBATO NA ESTABILIDADE  
MICROBIOLÓGICA EM MORTADELA DE BAIXO CUSTO INOCULADA COM  
*CLOSTRIDIUM SPOROGENES* E CONSERVADA EM TEMPERATURA AMBIENTE**

Wiliene Camila de Lima<sup>1</sup>; Ana Lúcia da Silva Corrêa Lemos<sup>2</sup>; Miriam Gonçalves Marquezini<sup>3</sup>;  
Suzana Eri Yotsuyanagi<sup>4</sup>; Marcia Mayumi Harada Hagiwara<sup>5</sup>

Nº 17231

**RESUMO** – A mortadela de baixo custo estável em temperatura ambiente recebeu destaque no Brasil, no ano de 2015, a partir do momento em que o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) alertou sobre o risco de toxinfecções causadas pelo *Clostridium botulinum* proteolítico. O presente estudo avaliou o efeito da adição de nitrito e eritorbato sobre a estabilidade microbiológica de mortadelas com atividade de água (aw) de 0,95 conservadas em temperatura ambiente e inoculadas com *Clostridium sporogenes*. Foram realizadas as análises físicas, químicas e microbiológicas, nos tempos 1, 15, 30, 60 e 90 dias, dos seguintes tratamentos: sem nitrito e sem eritorbato (SNSE), sem nitrito e com eritorbato (SNCE), com nitrito e sem eritorbato (CNSE) e com nitrito e eritorbato (CNCE). O tratamento CNSE apresentou maior teor de nitrito em comparação ao CNCE, o que indica que a presença de eritorbato pode acelerar a depleção do nitrito. Em relação à análise de cor objetiva, pode-se observar que os tratamentos com nitrito (CNSE e CNCE) apresentaram menores valores de L\* na área externa, maiores valores de a\* nos tratamentos com nitrito (CNSE e CNCE) e maiores valores de b\* nos tratamentos sem nitrito (SNSE e SNCE) na parte interna e externa do produto. A contagem inicial e ao longo do período de estocagem de *Cl. sporogenes* foi de aproximadamente 3 log UFC/g, o que demonstra que a aw a 0,950 inibi a germinação de esporos de tal forma que o efeito antimicrobiano do eritorbato e nitrito não são evidenciadas, o que reforça a importância do efeito da aw do produto em estudo.

**Palavras-chaves:** clostridio, vida-útil, eritorbato de sódio, nitrito de sódio

1 Autor, Bolsista CNPq (PIBIC): Graduação em Engenharia de Alimentos, UNICAMP, Campinas-SP; wli.cvl@gmail.com

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

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

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

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



**11º Congresso Interinstitucional de Iniciação Científica – CIIC 2017**  
**02 a 04 de agosto de 2017 – Campinas, São Paulo**  
**ISBN 978-85-7029-141-7**

**ABSTRACT** – The shelf stable low-cost mortadella was highlighted in Brazil in the year 2015, when the Ministry of agriculture, livestock and supply warned about the risk of toxoinfections caused by proteolytic *Clostridium botulinum*. The present study evaluated the effect of the addition of nitrite and erythorbate on the microbiological stability of mortadella with water activity ( $a_w$ ) of 0.95 preserved at ambient temperature and inoculated with *Clostridium sporogenes*. Physical, chemical and microbiological analyzes of the following treatments were carried out at the times 1, 15, 30, 60 and 90 days: without nitrite and without erythorbate (SNSE), without nitrite and with erythorbate (SNCE), with nitrite and without erythorbate (CNSE) and with nitrite and erythorbate (CNCE). The CNSE treatment showed a higher nitrite content in comparison to the CNCE, indicating that the presence of erythorbate can accelerate nitrite depletion. Regarding the objective color analysis, it can be observed that the treatments with nitrite (CNSE and CNCE) presented lower values of  $L^*$  in the external area, higher values of  $a^*$  in the treatments with nitrite (CNSE and CNCE) and higher values of  $B^*$  in the treatments without nitrite (SNSE and SNCE) in the internal and external part of the product. The initial count and over the storage period of *Cl. sporogenes* was approximately 3 log CFU / g, which demonstrates that water activity at 0.950 inhibits spore germination in such a way that the antimicrobial effect of erythorbate and nitrite is not evidenced, which reinforces the importance of the effect of  $a_w$  of the product under study.

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

## 1 INTRODUÇÃO

Segundo o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade da Instrução Normativa nº4 de 31/03/2000 anexo 2 (Brasil, 2000) entende-se por mortadela, o produto cárneo industrializado, obtido de uma emulsão de carnes de animais de açougue, acrescido ou não de toucinho, adicionado de ingredientes, embutido em envoltório natural ou artificial, em diferentes formas, e submetido ao tratamento térmico adequado. Quando definida apenas como “Mortadela” na embalagem pode conter até 60% CMS e 10% de miúdos comestíveis de diferentes espécies de animais de açougue (estômago, língua, rim, fígado, miolo e coração), pele e tendões (Brasil, 2000). Quando formulada com estas porcentagens máximas, caracterizamos o produto usualmente como “mortadela de baixo custo”.

A produção de mortadela no Brasil foi de 430.940,48 toneladas em 2015, movimentando mais de um milhão de dólares e, estima-se que a produção de mortadela em 2016 foi de 456.817,92 toneladas no país (DATAMARK, 2017). Dentro desta categoria de produtos, está incluída a mortadela conservada em temperatura ambiente, que recebeu destaque no país, no ano



**11º Congresso Interinstitucional de Iniciação Científica – CIIC 2017**  
**02 a 04 de agosto de 2017 – Campinas, São Paulo**  
**ISBN 978-85-7029-141-7**

de 2015, a partir do momento em que o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) alertou sobre o risco de botulismo vinculado ao produto.

O ITAL (Instituto de Tecnologia de Alimentos) realizou um protocolo de estudo que avaliou a segurança microbiológica do produto, em parceria com a atual ABPA (Associação Brasileira de Proteína Animal). Diante dos resultados desses estudos, o MAPA estabeleceu o valor da atividade 0,95 (BRASIL, 2015) para a mortadela comercializada em temperatura ambiente no país. Devido à severidade do botulismo, em pesquisas científicas é utilizado no lugar do *Clostridium botulinum* o *Clostridium sporogenes*, pois ele é um parente próximo não patogênico e substituto para o de *Clostridium botulinum* Grupo I (proteolítico) produtores de neurotoxina (JANGANAN et al., 2016).

O nitrito de sódio ( $\text{NaNO}_2$ ), em combinação com o cloreto de sódio ( $\text{NaCl}$ ), tem sido usado por décadas em carnes processadas, como um conservante inibidor de *C. botulinum* (KOLODZIEJSKA et al., 1990). O teor a ser adicionado para se atingir este efeito, que varia entre 50 a 150 ppm, é dependente de inúmeros fatores, tais como: pH do produto, teor de nitrito residual, abuso de temperatura, teor de eritorbato ou ascorbato, teores de ferro disponíveis no produto, tipo de carne e outros ingredientes adicionados, dentre outros (TOMPKIN, 1986). A utilização do eritorbato associado ao nitrito não só acelera e estabiliza a cor característica das carnes curadas, como possui um efeito sequestrante no cátion do ferro aumentando a eficiência antibotulínica do nitrito (TOMPKIN et al., 1979).

Diante dos fatos apresentados, o objetivo do estudo foi avaliar o impacto da adição de nitrito de sódio e eritorbato de sódio em mortadela de baixo custo inoculada com *Clostridium sporogenes*, com atividade de água de 0,95 e conservada em  $26 \pm 1^\circ\text{C}$  (temperatura ambiente).

## **2 MATERIAL E MÉTODOS**

### **2.1 Processamento das amostras**

As amostras de mortadela foram processadas na Planta Piloto do Centro de Tecnologia de Carnes (CTC) do Instituto de Tecnologia de Alimentos (ITAL) localizado em Campinas-SP. Os tratamentos foram: SNSE (sem nitrito e sem eritorbato), SNCE (sem nitrito e com eritorbato), CNSE (com nitrito e sem eritorbato) e CNCE (com nitrito e com eritorbato).

As matérias-primas cárneas foram moídas, colocadas no cutter e homogeneizadas. Uma amostra foi retirada para análise de Clostridio Sulfito Redutor (CRS) antes da inoculação. Prosseguiu-se com inoculação do *Clostridium sporogenes* na proporção de 1 ml de inóculo, a



11º Congresso Interinstitucional de Iniciação Científica – CIIC 2017  
02 a 04 de agosto de 2017 – Campinas, São Paulo  
ISBN 978-85-7029-141-7

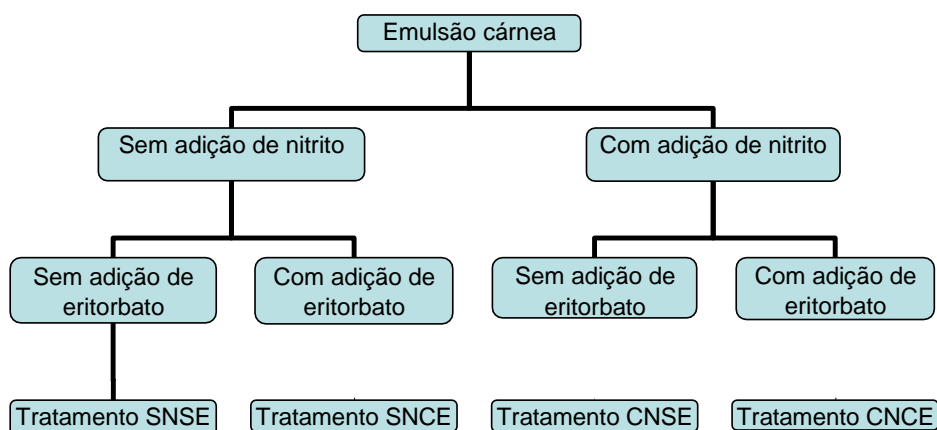
10<sup>7</sup> Unidade Formadora de Colônia (UFC) por mililitros, a cada 1 kg de emulsão, uma amostra foi retirada para análise de CSR depois da inoculação.

A **Tabela 1** apresenta a formulação da emulsão básica dos tratamentos.

**Tabela 1.** Formulação da emulsão básica dos tratamentos.

Ingredientes	Porcentagem
Carne mecanicamente separada	60,00
Gel pele suína (4:1)	12,00
Fígado suíno	1,00
Rim	1,00
Carne suína	16,25
Proteína texturizada de soja	3,50
Fécula de mandioca	5,00
Açúcar	0,60
Tripolifosfato de sódio	0,35
Pirofosfato ácido de sódio	0,15
Sal cura (90% NaCl / 10% nitrito de sódio)	0,15
<b>TOTAL</b>	<b>100,00</b>

Para obtenção dos quatro tratamentos, a emulsão foi dividida da seguinte forma:



**Figura 1.** Esquema de elaboração dos tratamentos.

A seguir foi adicionada a proteína texturizada de soja, a fécula e o açúcar em cada um dos quatro tratamentos. A massa foi retirada do *cutter* com 10-12°C, foi determinada a umidade da emulsão por metodologia rápida (micro-ondas) para possibilitar os cálculos para ajustar a atividade de água conforme o tratamento.

O cálculo aplicado foi a equação de Krispien, Rodel e Leistner (1979) modificado para ajuste da atividade de água:



$$Aw = [0,99918 + (-0,00726 * CS)] \quad \text{Equação (1)}$$

Onde: CS – Concentração salina no produto (%NaCl/%NaCl + % Umidade)

Foram adicionados 4,45% de NaCl nos tratamentos sem nitrito (SNSE e SNCE). Nos tratamentos com nitrito foram descontados 0,135% de NaCl, pois foram utilizados 0,15% de nitrito de sódio (90% de nitrito) na formulação, deste modo a adição de NaCl nos tratamentos CNSE e CNCE foi de 4,31%.

A quantidade de cloreto de sódio calculada para cada tratamento foi adicionada e 0,04% de eritorbato de sódio foram adicionadas nos tratamentos SNCE e CNCE, que foram mantidas no *cutter* refrigerado durante a realização dos cálculos. Após a homogeneização da emulsão, a mesma foi embutida em tripa plástica impermeável. O regime de cozimento foi de 85°C com vapor direto em estufa, até que o interior do produto tenha atingido 75°C. Após o cozimento o produto foi mantido durante 15 minutos em chuveiro com água em temperatura ambiente.

As amostras foram estocadas em câmaras a 26±1 °C. As análises de composição centesimal, aw e caracterização microbiológica (*Listeria monocytogenes*, *Salmonella* sp., estafilococos coagulase positivo, *Escherichia coli* e clostrídio sulfito redutor a 46°C) foram realizadas 1 dia após o processamento. O estudo de vida útil foi realizado nos dias 1, 15, 30, 60 e 90, as análises realizadas foram: nitrito, nitrato, pH, mesófilos aeróbios, clostrídio sulfito redutor (esporos e células vegetativas), bactérias lácticas e enterobactérias.

## 2.2 Análises Físico-Químicas

As determinações de umidade, proteína, gordura e cinzas nas mortadelas foram realizadas segundo as metodologias descritas pela AOAC (2005) e os resultados foram expressos em g/100g de amostra. A umidade por micro-ondas foi realizada segundo PETTINATI (1975) na emulsão crua. As análises para quantificação dos teores de nitrato e nitrito nas emulsões cruas e nas mortadelas foram realizadas em triplicata, de acordo com Brasil (2005) e expressos em mg/kg. O pH foi determinado utilizando o pHmetro marca Digimed modelo DM21 (Digimed, Brasil) com eletrodo para perfuração.

A cor objetiva foi determinada em duas amostras de cada tratamento com 5 leituras na parte externa e 5 leituras na parte interna das amostras. A cor foi mensurada utilizando espectrofotômetro portátil Minolta Chroma Meter 508D (Minolta Camera Co., Japan). Foram avaliados o sistema CIE (L\*a\*b\*), com fonte D65 e padrão de observação a 10º e abertura de 8 mm de diâmetro, especular inclusa (COMMISSION INTERNATIONALE DE L'ECLAIRAGE, 1978).



### 2.3 Análises microbiológicas da mortadela

Esporos e células vegetativas de clostridio sulfito redutor: O método utilizado para realização das análises foi o descrito por Labbe (2015). Amostras de 25 g foram diluídas em 225 ml de água peptonada a 0,1%, homogeneizadas em *stomacher* e diluídas para análise de esporos e células vegetativas. As mesmas amostras diluídas foram submetidas à temperatura de 75°C em água por 20 minutos e banho de gelo por 5 minutos, para análise de esporos de clostrídio sulfito redutor. As diluições decimais selecionadas foram inoculadas em placas de Ágar Triptose Sulfito Cicloserina (TSC) com sobrecamada do mesmo meio. As placas foram incubadas em jarros de anaerobiose (Merck, Alemanha) com sistema de anaerobiose com indicador (GasPak™ EZ) a  $35 \pm 1^\circ\text{C}$  por 48 horas em anaerobiose. Os resultados foram expressos em UFC/g.

Detecção de *Salmonella* sp.: a análise foi realizada conforme a ISO 6579 (2007), os resultados foram expressos como presença ou ausência em 25 g.

*Estafilococcus coagulase positivo:* A metodologia foi realizada conforme descrito por Bennett et al. (2015), na qual a formação de coágulo indica reação positiva.

*Escherichia coli:* A análise foi realizada conforme a ISO 7251 (2005) utilizando a técnica de número mais provável (NMP), os resultados foram expressos em NMP/g.

*Listeria monocytogenes:* A análise foi realizada conforme a ISO 11290-2 (1998). As colônias típicas foram submetidas aos testes de confirmação (teste de catalase, coloração Gram, teste de motilidade, teste de verificação de hemólise e teste de fermentação da xilose e rhamnose).

Contagem de Bactérias lácticas: A metodologia foi realizada conforme descrito por Njongmeta et al (2015), os resultados foram expressos em UFC/g.

Contagem de enterobactérias: A metodologia foi realizada conforme descrito por Salfinger e Tortorello (2015), após leitura das placas, o resultado foi expresso em UFC/g.

Contagem de mesófilos aeróbios: A metodologia foi realizada conforme descrito por Salfinger e Tortorello (2015), os resultados foram expressos em UFC/g.

### 2.4 Análise Estatística

Os resultados foram analisados por Análise de Variância (ANOVA) e teste de Tukey para comparação entre as médias dos tratamentos ao nível de 5% de significância ( $P < 0,05$ ). As variáveis fixas foram a adição de nitrito (com ou sem) e a adição de eritorbato (com e sem).



### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A **Tabela 2** apresenta composição centesimal das amostras de mortadelas processadas. A umidade dos quatro tratamentos está dentro do limite máximo permitido de 65%, o teor de proteína atende ao mínimo estabelecido de 12%, o teor de gordura atende ao máximo permitido de 30 %, a presença de carboidratos (açúcares totais) é devido à adição de fécula de mandioca e açúcar, totalizando menos de 10%, o que atende aos requisitos estabelecidos pela legislação brasileira (Brasil, 2000).

**Tabela 2.** Composição centesimal.

	Umidade %	Proteína %	Gordura %	Carboidrato %	Cinzas %
<b>SNSE</b>	59,3 ± 0,1	14,2 ± 0,0	13,6 ± 0,1	7,4 ± 0,1	6,2 ± 0,0
<b>SNCE</b>	59,1 ± 0	13,8 ± 0,0	13,8 ± 0,2	8,4 ± 0,0	6,1 ± 0,0
<b>CNSE</b>	59,7 ± 0,2	14,2 ± 0,1	13,3 ± 0,3	7,3 ± 0,1	5,8 ± 0,0
<b>CNCE</b>	59,5 ± 0,2	14 ± 0,1	13,9 ± 0,3	7,2 ± 0,2	5,6 ± 0,0

Valores são a média ± desvio padrão

SNSE: sem nitrito; sem eritorbato, SNCE: sem nitrito; com eritorbato, CNSE: com nitrito; sem eritorbato, CNCE: com nitrito; com eritorbato

A atividade de água é indicador de como a água afeta processos bioquímicos e outros fatores, como a disponibilidade de nutrientes para os micro-organismos (SILVA, 2008). A atividade de água nos quatro tratamentos foi de 0,95±0,0, o que comprova a eficácia da equação de Krispien, Rodel e Leistner (1979) modificada.

**Tabela 3.** Análise de Nitrito da emulsão crua e mortadela ao longo da estocagem.

Tempo	SNSE	SNCE	CNSE	CNCE	Valor de P
Emulsão crua	***	***	114,7 ± 1,9	98,6 ± 1,1	-
1	***	***	92,9 ± 0,1 Aa	73,9 ± 1,4 Ab	0,0028
15	***	***	37,1 ± 0,0 Ba	21,0 ± 0,3 Bb	0,0002
30	***	***	5,3 ± 0,4 Ca	4,8 ± 1,3 Ca	0,6540
60	***	***	4,6 ± 0,2 Ca	5,0 ± 0,2 Ca	0,1515
90	***	***	4,7 ± 0,3 Ca	3,7 ± 0,1 Ca	0,0574
Valor de P	-	-	<0,0001	<0,0001	

\*\*\*Abaixo do limite de detecção

Letras minúsculas diferentes na linha indicam diferença significativa entre os tratamentos ( $p < 0,05$ )

Letras maiúsculas diferentes na coluna indicam diferença significativa entre os tempos ( $p < 0,05$ ) Valores

são a média ± desvio padrão

SNSE: sem nitrito; sem eritorbato, SNCE: sem nitrito; com eritorbato, CNSE: com nitrito; sem eritorbato, CNCE: com nitrito; com eritorbato

Nas amostras sem nitrito (SNSE e SNCE) a quantificação deste composto foi abaixo do limite de detecção (**Tabela 3**), comprovando que não houve adição do mesmo nos tratamentos citados. Nos tratamentos com adição de nitrito, pode-se inferir que a presença de eritorbato acelerou a depleção do nitrito, uma vez que o tratamento CNSE apresentou valores maiores do composto em comparação ao CNCE.



11º Congresso Interinstitucional de Iniciação Científica – CIIC 2017  
02 a 04 de agosto de 2017 – Campinas, São Paulo  
ISBN 978-85-7029-141-7

**Tabela 4.** Análise de Nitrato.

Tempo	SNSE	SNCE	CNSE	CNCE	Valor de P
<b>Emulsão</b>	13,2 ± 0,9	6,5 ± 0,4	18,3 ± 1,5	36,2 ± 0,4	-
<b>1</b>	5,3 ± 0,5 Ab	5,3 ± 0,3 Ab	22,5 ± 1,3 Aa	24,4 ± 0,1 Aa	<0,0001
<b>15</b>	4,7 ± 0,2 Ac	2,5 ± 0,3 Bd	19,7 ± 0,1 Bb	25,4 ± 0,6 Aa	<0,0001
<b>30</b>	0,5 ± 0,2 Bb	0,2 ± 0,3 Cb	4,1 ± 0,0 Ca	3,7 ± 1,4 Ba	0,0118
<b>60</b>	0,6 ± 0,1 Bb	0,4 ± 0,5 Cb	3,9 ± 0,2 Ca	3,7 ± 1,0 Ba	0,0063
<b>90</b>	0,0 ± 0,0* Bb	0,0 ± 0,0* Cb	3,3 ± 0,1 Ca	3,1 ± 0,0 Ba	<0,0001
<b>Valor de P</b>	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	

\*Abaixo do limite de detecção

Letras minúsculas diferentes na linha indicam diferença significativa entre os tratamentos ( $p < 0,05$ )

Letras maiúsculas diferentes na coluna indicam diferença significativa entre os tempos ( $p < 0,05$ )

Valores são a média ± desvio padrão

SNSE: sem nitrito; sem eritorbato, SNCE: sem nitrito; com eritorbato, CNSE: com nitrito; sem eritorbato, CNCE: com nitrito; com eritorbato

Nos tratamentos sem adição de nitrito (SNSE e SNCE) houve quantificação de nitrato, demonstrando sua presença mesmo na ausência da adição de nitrito (**Tabela 4**). Nestes tratamentos após 30 dias de estocagem observa-se que os teores são menores que 1 mg/Kg. Nos tratamentos com adição de nitrito nota-se uma redução significativa do teor de nitrato após os 30 dias de estocagem.

Observa-se na **Tabela 5** que houve diferença significativa ( $p < 0,05$ ) entre os tratamentos e ao longo do tempo, porém os valores variaram de 5,9 a 6,1, o que para a estabilidade do produto em estudo não alteraria as características de qualidade.

**Tabela 5.** Análise de pH.

Tempo	SNSE	SNCE	CNSE	CNCE	Valor de P
<b>1</b>	6,1 ± 0 Ab	6,1 ± 0 Ab	6,1 ± 0 Aa	6,1 ± 0 Aa	0,0002
<b>15</b>	6,1 ± 0,0 ABb	6,0 ± 0,0 Bc	6,1 ± 0,0 Aa	6,1 ± 0,0 ABa	0,0004
<b>30</b>	5,9 ± 0,0 Ca	5,9 ± 0,0 Ca	5,9 ± 0,0 Ba	5,9 ± 0,1 Ca	0,5373
<b>60</b>	6,1 ± 0,0 Aa	6,1 ± 0,0 Aa	6,1 ± 0,0 Aa	6,1 ± 0,0 Aa	0,0436
<b>90</b>	6,0 ± 0,0 BCa	6,0 ± 0,0 Ba	6,0 ± 0,0 Ba	6,0 ± 0,0 BCa	0,9557
<b>Valor de P</b>	0,0012	0,0004	<0,0001	0,0071	

\*Abaixo do limite de detecção

Letras minúsculas diferentes na linha indicam diferença significativa entre os tratamentos ( $p < 0,05$ )

Letras maiúsculas diferentes na coluna indicam diferença significativa entre os tempos ( $p < 0,05$ )

Valores são a média ± desvio padrão

SNSE: sem nitrito; sem eritorbato, SNCE: sem nitrito; com eritorbato, CNSE: com nitrito; sem eritorbato, CNCE: com nitrito; com eritorbato.

A mensuração da cor é um importante parâmetro a ser analisado em produtos cozidos. Observando a **Tabela 6** pode se inferir que os tratamentos sem nitrito (SNSE e SNCE) apresentam maiores valores de  $L^*$  externo. Em relação ao  $L^*$  interno, no ponto de caracterização (dia 1) os tratamentos não diferem entre si, e o tratamento SNSE apresenta maiores valores em relação aos demais tratamentos, ao longo do período de estocagem.





**11º Congresso Interinstitucional de Iniciação Científica – CIIC 2017**  
**02 a 04 de agosto de 2017 – Campinas, São Paulo**  
**ISBN 978-85-7029-141-7**

**Tabela 6.** Cor objetiva dos tratamentos.

Parâmetro	Tempo	SNSE	SNCE	CNSE	CNCE	Valor de P
L* Externo	1	54,4 Ba	54,5 Ca	52,9 Cb	52,7 ABb	<0,0001
	15	58,3 Aa	55,9 Bb	53,8 BCc	53,2 ABc	<0,0001
	30	56,6 Aa	57,2 Aa	54,7 ABb	53,1 ABb	<0,0001
	60	57,7 Aa	57,5 Aa	55,8 Ab	54,1 Ac	<0,0001
	90	57,1 Aa	57,3 Aa	55,6 Aa	50,9 Bb	<0,0001
Valor de P		<0,0001	<0,0001	<0,0001	0,0507	
L* Interno	1	55,8 Ca	55,0 Ba	55,4 ABa	54,9 ABa	0,3413
	15	55,7 Cab	56,7 ABa	54,6 Bb	54,8 Bb	0,0003
	30	58,9 Ba	57,2 Ab	55,9 Ab	56,2 Ab	<0,0001
	60	60,7 Aa	58,2 Ab	55,6 ABc	54,8 Bc	<0,0001
	90	60,8 Aa	58,6 Ab	55,0 ABc	54,6 Bc	<0,0001
Valor de P		<0,0001	0,0001	0,0540	0,0159	
a* Externo	1	7,7 Bc	7,9 Ac	12,8 Ab	13,2 Aa	<0,0001
	15	9,0 Ac	8,0 Ab	12,6 Aa	12,9 ABa	<0,0001
	30	7,4 BCb	7,9 Ab	12,7 Aa	13,0 ABa	<0,0001
	60	7,0 BCd	8,1 Ac	10,1 Bb	12,2 Ba	<0,0001
	90	6,8 Cc	7,3 Bbc	8,4 Ca	7,8 Cab	<0,0001
Valor de P		<0,0001	0,0004	<0,0001	<0,0001	
a* Interno	1	9,4 Bb	11,7 Ec	11,7 Da	12,4 Ba	<0,0001
	15	7,4 Cc	8,5 Db	12,2 Ca	12,6 Ba	<0,0001
	30	8,7 BCb	9,4 Cb	12,5 BCa	12,7 Ba	<0,0001
	60	11,9 Ab	11,7 Bb	12,7 Bab	13,3 Aa	0,0020
	90	12,8 Ab	13,3 Aab	13,2 Aab	13,4 Aa	0,0245
Valor de P		<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	
b* Externo	1	15,2 Aba	14,8 Aa	11,8 Cb	11,9 Bb	<0,0001
	15	13,0 Cb	14,4 Aa	12,5 BCbc	12,3 Abc	<0,0001
	30	14,3 Ba	14,5 Aa	13,1 Bb	12,6 ABb	<0,0001
	60	14,8 Aba	14,9 Aa	14,6 Aa	13,6 Ab	<0,0001
	90	15,8 Aa	14,8 Aa	14,3 Aa	11,9 Bb	<0,0001
Valor de P		<0,0001	0,4011	<0,0001	0,0140	
b* Interno	1	13,1 Ba	14,5 Aa	14,5 Bb	11,5 Cb	<0,0001
	15	14,2 Aa	13,7 Aa	11,4 Bb	11,6 Cb	<0,0001
	30	14,3 Aa	13,5 Aa	11,7 Bb	12,0 BCb	<0,0001
	60	14,3 Aa	13,8 Aa	12,6 Ab	12,6 ABb	<0,0001
	90	14,4 Aa	14,5 Aa	13,1 Ab	13,1 Ab	<0,0001
Valor de P		0,0012	0,1663	<0,0001	<0,0001	

Letras minúsculas diferentes na linha indicam diferença significativa entre os tratamentos ( $p < 0,05$ )  
 Letras maiúsculas diferentes na coluna indicam diferença significativa entre os tempos ( $p < 0,05$ ) Valores  
 são a média,  $n=10$

SNSE: sem nitrito; sem eritorbato, SNCE: sem nitrito; com eritorbato, CNSE: com nitrito; sem eritorbato, CNCE: com  
 nitrito; com eritorbato



**11º Congresso Interinstitucional de Iniciação Científica – CIIC 2017**  
**02 a 04 de agosto de 2017 – Campinas, São Paulo**  
**ISBN 978-85-7029-141-7**

A intensidade da cor vermelha representada pelo parâmetro  $a^*$ , de forma geral, foi mais significativa nos tratamentos com adição de nitrito (CNSE e CNCE), e mais evidente no tratamento CNCE. Os valores de  $b^*$  (interno e externo), de forma geral são maiores nos tratamentos sem nitrito (SNSE e SNCE).

Os resultados da caracterização microbiológica indicaram que as amostras estariam dentro dos padrões de exigência dos órgãos fiscalizadores de produtos de origem animal. A contagem de *E. coli* foi  $<3,0$  NMP/g, estafilococcus coagulase negativo  $<1,0$  log UFC/g, *Salmonella* sp. ausente em 25 g,  $<1,0$  log UFC/g e clostridio sulfito redutor a 46°C  $<1,0$  log UFC/g.

Valores de bactérias lácticas e enterobactérias estiveram abaixo do limite de detecção ao longo da vida útil ( $<1,0$  log UFC/g). Observa-se na **Tabela 7** que até aos 15 dias de estocagem não houve contagem de mesófilos aeróbios. A partir dos 30 dias de armazenamento os tratamentos sem nitrito (SNSE e SNCE) apresentaram maiores contagens em relação aos tratamentos CNCE e CNSE, o que indica que a adição de nitrito tem efeito sobre a estabilidade microbiológica do produto e que há um efeito sinérgico do nitrito com o eritorbato sobre a inibição de micro-organismos mesófilos aeróbios.

**Tabela 7.** Análise de mesófilos Aeróbios das mortadelas armazenadas.

Tempo	SNSE	SNCE	CNSE	CNCE	Valor de P
1	$< 1,0 \pm 0,0$ Ca	$< 1,0 \pm 0,0$ Ba	$< 1,0 \pm 0,0$ Ba	$< 1,0 \pm 0,0$ Ba	1,0000
15	$< 1,0 \pm 0,0$ Ca	$< 1,0 \pm 0,0$ Ba	$< 1,0 \pm 0,0$ Ba	$< 1,0 \pm 0,0$ Ba	1,0000
30	$4,6 \pm 0,2$ Bb	$5,8 \pm 0,1$ Aa	$4,6 \pm 0,2$ Ab	$1,5 \pm 0,1$ Bc	$<0,0001$
60	$6,2 \pm 0,5$ Aa	$5,7 \pm 0,6$ Aa	$4,9 \pm 0,7$ Aa	$4,5 \pm 0,8$ Aa	0,0787
90	$5,7 \pm 0,9$ ABab	$6,0 \pm 0,5$ Aa	$5,3 \pm 0,9$ Aab	$2,9 \pm 1,7$ ABb	0,0298
Valor de P	$<0,0001$	$<0,0001$	$<0,0001$	0,0018	

Letras minúsculas diferentes na linha indicam diferença significativa entre os tratamentos ( $p < 0,05$ )

Letras maiúsculas diferentes na coluna indicam diferença significativa entre os tempos ( $p < 0,05$ ) Os

valores são a média  $\pm$  desvio padrão de três amostras por tratamento

SNSE: sem nitrito; sem eritorbato, SNCE: sem nitrito; com eritorbato, CNSE: com nitrito; sem eritorbato, CNCE: com nitrito; com eritorbato

A emulsão antes da inoculação apresentou  $<1,0$  log UFC/g e depois da inoculação foi de  $3,9$  log UFC/g de células vegetativas e esporos, e a contagem apenas de esporos foi de  $3,5$  log UFC/g de Clostridio Sulfito Redutor.

Os resultados das análises de células vegetativas e esporos de clostrídios sulfito redutores variaram de  $2,7$  a  $3,2$  log UFC/g e a contagem de esporos variou de  $2,6$  a  $3,2$  log UFC/g ao longo dos 90 dias de estudo. Estes dados nos indicam que não houve germinação



**11º Congresso Interinstitucional de Iniciação Científica – CIIC 2017**  
**02 a 04 de agosto de 2017 – Campinas, São Paulo**  
**ISBN 978-85-7029-141-7**

dos esporos, devido, provavelmente, a atividade de água de 0,950 estabelecida no estudo, podendo-se inferir que é um valor seguro para a estabilidade microbiológica frente ao *C. botulinum*, pois neste estudo foi utilizado o *C. sporogenes* como substituto das bactérias patogênicas.

#### **4 CONCLUSÕES**

O efeito do nitrito e eritorbato sobre a análise de clostrídios não foi evidenciado, provavelmente devido ao valor da atividade de água 0,95. Porém, a adição de nitrito auxilia em uma menor contagem total de mesófilos aeróbios.

#### **5 AGRADECIMENTOS**

Ao CNPq pela bolsa concedida e ao CTC (Centro de Tecnologia de Carnes) pela oportunidade de desenvolvimento do projeto de Iniciação Científica.

#### **6 REFERÊNCIAS**

AOAC (2005). Official methods of analysis. Washington, DC: Association of Official Analytical Chemists.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução normativa n.º 4 de 31 de março de 2000. Regulamento técnico para fixação de identidade e qualidade de carne mecanicamente separada, de mortadela, de linguiça e de salsicha. **Diário Oficial da União**. Brasília, DF, 5 abr. 2000, seção 1, 2000.

BRASIL. (2015). Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Ofício-circular nº 005/2015/CGI/DIPOA/SDA. Informações sobre registro do produto mortadela conservada em temperatura ambiente. Brasília, 27 de julho de 2015.

Brasil (2005). Métodos físico-químicos para análise de alimentos. **Adolfo Lutz**.

COMMISSION INTERNATIONALE DE L'ECLAIRAGE. Recommendations on uniform color spaces - Color differences equations, psychrometric color terms. Commission International' de l'eclairage, Paris, n. 15, suppl. 2. 1978, 100 p.

DATAMARK. Mortadela 2012 a 2020. Disponível em: <http://www.datamark.com.br/>. Acessado em 09 de setembro de 2017.

ISO. ISO 11290-2:1998/Amd 1:2004. Microbiology of food and animal feeding stuffs. Horizontal method for the detection and enumeration of *Listeria monocytogenes*. Part 2: Enumeration method, 1º ed. 1998. The International Organization for Standardization, Amendment 1:15/10/2004, 1998.



**11º Congresso Interinstitucional de Iniciação Científica – CIIC 2017**  
**02 a 04 de agosto de 2017 – Campinas, São Paulo**  
**ISBN 978-85-7029-141-7**

ISO (2005). ISO 7251:2005. Microbiology of food and animal feeding stuffs – horizontal method for the detection and enumeration of presumptive *Escherichia coli* – most probable number technique. International Organization for Standardization.

ISO (2007). ISO 6579:2002/Amd 1:2007. Detection of *Salmonella* spp. in animal feces and in environmental samples from the primary production stage, amendment 1, annex D. Microbiology of food and animal feeding stuffs. Horizontal method for the detection of *Salmonella* spp.

JANGANAN T.K, MULLIN N., TZOKOV S.B., et al. Characterization of the spore surface and exosporium proteins of *Clostridium sporogenes*; implications for *Clostridium botulinum* group I strains. *Food Microbiology*. 2016;59:205-212. doi:10.1016/j.fm.2016.06.003.

KOŁODZIEJSKA, I; SKONIECZNY, S.; RUBIN, L. J. Malondialdehydenitrite interactions in meat and model systems. *Journal of Food Science*, Chicago, v. 55, n. 4, p. 925-928, 946, 1990.

KRISPIEN, K.; RÖDEL, W.; LEISTNER, L. Vorschlag zur Berechnung der Wasseraktivität ( $a_w$  – Wert) von Fleischerzeugnissen aus den Gehalten von Wasser und Kochsalz. *Fleischwirtsch*, v. 59, n. 8, p. 1173-1177, 1979.

PETTINATI, T.D. Microwave oven method for rapid determination of moisture in meat. *Journal of AOAC*, v. 58, n. 6, p. 1188-1193, 1975.

LABBE, R. G. *Clostridium perfringens*. Chapter 33, p. 403-410. In: SALFINGER, Y.; TORTORELLO, M. L. *Compendium of methods for the microbiological examination of foods*. American Public Health Association, Washington, 2015, 995p.

NJONGMETA, N. A.; HALL, P. A.; LEDENBACH, L.; FLOWERS, R. S. Acid-producing microorganisms. Chapter 19, p. 229-236. In: SALFINGER, Y.; TORTORELLO, M. L. *Compendium of methods for the microbiological examination of foods*. American Public Health Association, Washington, 2015, 995p.

SALFINGER, Y.; TORTORELLO, M. L. (2015). *Compendium of methods for the microbiological examination of foods*. **American Public Health Association**, 2015.

SILVA, A.M.L. *Apostila de aulas práticas de análise físico-química de alimentos*. Goiânia: PUC Goiás, 2008.

TOMPKIN, R. B. Microbiology of ready-to-eat meat and poultry products. In: PEARSON, A. M.; DUTSON, T. R. *Advances in Meat Research*, v. 2, Westport, AVI Publishing Co. 1986, p. 89-118.

TOMPKIN, R. B., L. N. CHRISTIANSEN, A. B. SHAPARIS. "Iron and the antibotulinal efficacy of nitrite." *Applied and environmental microbiology* 37.2 (1979): 351-353.