

**INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA DO SUL DE
MINAS GERAIS - IFSULDEMINAS**

Leilane Lima Gomes

**QUALIDADE MICROBIOLÓGICA E CONCENTRAÇÃO DE CONSERVADORES
QUÍMICOS EM LINGUIÇAS DO TIPO FRESCAL PRODUZIDAS E
COMERCIALIZADAS NO MUNICÍPIO DE POUSO ALEGRE – MG**

Pouso Alegre – MG

2019

Leilane Lima Gomes

**QUALIDADE MICROBIOLÓGICA E CONCENTRAÇÃO DE CONSERVADORES
QUÍMICOS EM LINGUIÇAS DO TIPO FRESCAL PRODUZIDAS E
COMERCIALIZADAS NO MUNICÍPIO DE POUSO ALEGRE – MG**

Dissertação apresentada ao IFSULDEMINAS, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação *Stricto Sensu* em Ciência e Tecnologia de Alimentos, para a obtenção do título de Mestre.

Orientador: Prof. Dr. João Paulo Martins

**Pouso Alegre – MG
2019**

G615q

Gomes, Leilane Lima

Qualidade microbiológica e concentração de conservadores químicos em linguiças do tipo frescal produzidas e comercializadas no município de Pouso Alegre - MG / Leilane Lima Gomes. -- Pouso Alegre: [s.n.], 2019.

50 p.

Orientador: Prof^o. Dr. João Paulo Martins.

Trabalho de Conclusão de Curso (pós-graduação) – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Sul de Minas Gerais.

Inclui bibliografia

1.Linguiça frescal. 2. Nitrato. 3. Nitrito. I Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Sul de Minas Gerais. II. Título.

CDD: 614.3

Leilane Lima Gomes

**QUALIDADE MICROBIOLÓGICA E CONCENTRAÇÃO DE CONSERVADORES
QUÍMICOS EM LINGUIÇAS DO TIPO FRESCAL PRODUZIDAS E
COMERCIALIZADAS NO MUNICÍPIO DE POUSO ALEGRE – MG**

Dissertação apresentada ao IFSULDEMINAS, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação *Stricto Sensu* em Ciência e Tecnologia de Alimentos, para a obtenção do título de Mestre.

APROVADA em 19 de setembro de 2018.

Prof. Dr. Olímpio Gomes da Silva Neto
IFSULDEMINAS – Campus Pouso Alegre

Prof. Dr. Manoel Araújo Teixeira
UNIVÁS

Prof. Dr. João Paulo Martins

IFSULDEMINAS

A minha filha Liz, luz da minha vida.
Ao meu esposo Leandro, pelo apoio incondicional e
constante incentivo.

DEDICO

AGRADECIMENTOS

Ao Mestrado Profissional em Ciência e Tecnologia de Alimentos – Gestão da Qualidade na Cadeia Produtiva dos Alimentos, IFSULDEMINAS – Campus Machado e Campus Pouso Alegre, pela oportunidade.

Ao meu orientador Prof. Dr. João Paulo, pela paciência e empatia.

A colega de mestrado Flávia Andrade Ribeiro, pela grande ajuda.

As acadêmicas do 8º período do Curso de Ciência e Tecnologia de Alimentos, IFSULDEMINAS – Campus Machado, Letícia Almeida Rodrigues e Tainy Morais Cardoso, pelo auxílio na parte prática das análises microbiológicas.

A acadêmica Jacqueline da Silva Ribeiro, do curso de Engenharia Química, IFSULDEMINAS – Campus Pouso Alegre, pelo auxílio nas análises químicas.

A todos os colegas da 1ª turma do Mestrado Profissional, pelos momentos compartilhados.

Aos professores doutores, Olímpio e Manoel, que aceitaram participar desta banca.

“Por vezes sentimos que aquilo que fazemos não é senão uma gota de água no mar. Mas o mar seria menor se lhe faltasse uma gota”.

(Madre Teresa de Calcutá)

RESUMO

O processo de fabricação da linguiça do tipo frescal apresenta fatores de risco microbiológicos, devido às suas características intrínsecas e variáveis no processamento. Dentre os micro-organismos patogênicos que podem contaminar o produto, pode-se citar os coliformes termotolerantes, clostrídios sulfito-redutores, *Salmonella spp* e *S. aureus*, grandes responsáveis por doenças de origem alimentar. Os conservadores químicos (“sais de cura”) nitrito e nitrato de sódio são muito utilizados em produtos cárneos, pois além de exercerem função conservante, conferem sabor, cor, aroma e textura. Porém, o uso em excesso traz danos ao organismo, já que pode haver a formação das substâncias tóxicas denominadas nitrosaminas e nitrosamidas, além de ter efeito cancerígeno, teratogênico e mutagênico. O objetivo da presente pesquisa foi avaliar a qualidade microbiológica e o uso de conservadores químicos nas linguiças frescas produzidas no município de Pouso Alegre - MG. E também a contagem de coliformes termotolerantes, clostrídios sulfito-redutores, *Salmonellas pp* e estafilococos coagulase positiva, além de determinar a quantidade de nitrato e nitrito de sódio, utilizando o método espectrofotométrico. Observando os resultados obtidos neste trabalho, verificou-se que todas as amostras apresentaram crescimento de coliformes termotolerantes e clostrídio sulfito-redutor, porém nenhuma ultrapassou o limite permitido pela legislação. Não houve crescimento de *Salmonella* em nenhuma das amostras. Já na determinação de estafilococos coagulase-positiva, oito das doze amostras apresentaram crescimento no teste confirmativo – meio coagulase, porém nenhuma ultrapassou o limite estabelecido, podendo considerá-las aptas ao consumo. Para os testes de conservadores químicos, todas as amostras permaneceram dentro do permitido previsto em legislação em relação à quantidade de nitrato de sódio. Entretanto, duas amostras apresentaram quantidade de nitrito acima do permitido pela legislação, com valores de 0,036808 g/ 100 g e 0,031040 g/100 g, respectivamente.

Palavras-chave: Nitrito. Nitrato. Micro-Organismos. Linguiça Frescal.

ABSTRACT

The aim of this study was to verify the microbiological quality and quantify the curing salts levels (nitrate and nitrite) of fresh sausage produced and sold in the Town of Pouso Alegre. The manufacturing process of fresh sausage can present a lot of microbiological contamination during manipulation, because the fabrication of this product involves a lot of stages with different machines and human contact. The National Health Surveillance Agency (ANVISA) of Brazil establishes the microbiological and chemical analysis to verify the quality of fresh sausage to be commercialized for the population. The ANVISA defines the types of microorganisms that must be checked to guarantee the quality parameters control. The microorganisms analysed in this work were: Coliforms at 45°C; positive coagulase *Staphylococcus*, sulfite-reducing *Clostridium* and *Salmonella* spp. The concentration of curing salts were measured to check if the quantities of these substances are in the range permitted by the regulation of ANVISA. Twelve samples were appropriately collected with a refrigerated box storage in the Pouso Alegre Town. The results indicate a microorganisms growth as thermotolerant coliforms and sulfite-reducing *Clostridium*s. The *Salmonella* were not detected in any sample with the official tests. Approximately 2/3 of the samples show a growth for the positive coagulase *Staphylococcus*. It's important to express that the results of the microbiological analysis reveals that all samples collected do not exceed the ANVISA parameters for microorganisms. The concentration of nitrate salts under 0,0300g/100g for all samples is in agreement with the ANVISA. The concentration limit for the nitrite salt is 0,0150g/100g, however the levels of nitrite salt were exceeded for two samples (0,0368g/ 100g e 0,0310g/100g).

Key-words: nitrite, nitrate, microorganisms, fresh sausage.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	12
1.1 USO DE CONSERVADORES NITRATO E NITRITO DE SÓDIO	12
1.2 MICRO-ORGANISMOS EM ALIMENTOS	15
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	17
2.1 LINGUIÇA FRESCAL	17
2.2 PROCESSO DE FABRICAÇÃO	19
2.2.1 PREPARO CARNE E TRIPA	19
2.2.2 PESAGEM E MOAGEM	20
2.2.3 MISTURA E CONDIMENTAÇÃO	21
2.2.4 EMBUTIMENTO E AMARRIO.....	21
2.2.5 DEFUMAÇÃO E ARMAZENAMENTO.....	22
2.3 BOAS PRÁTICAS DE FABRICAÇÃO	22
2.3.1 CONTAMINAÇÃO QUÍMICA E FÍSICA.....	24
2.3.2 CONTAMINAÇÃO MICROBIOLÓGICA	24
2.3.3 PROCEDIMENTOS OPERACIONAIS PADRONIZADOS (POP).....	25
2.4 MICRO-ORGANISMOS CONTAMINANTES	25
2.5 HISTÓRICO DE PRODUÇÃO DE LINGUIÇAS EM POUSO ALEGRE – MG.....	27
3 OBJETIVOS.....	28
3.1 OBJETIVO GERAL	28
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	28
4 MATERIAIS E MÉTODOS.....	29
4.1 AMOSTRAGEM	29
4.2 ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS	29
4.2.1 PREPARO DE AMOSTRAS	29
4.2.2 CONTAGEM DE COLIFORMES A 45 C (TERMOTOLERANTES).....	30
4.2.3 CONTAGEM DE ESTAFILOCOCOS COAGULASE POSITIVA	30

4.2.4 CONTAGEM DE CLOSTRÍDIO SULFITO REDUTOR.....	30
4.2.5 CONTAGEM DE <i>SALMONELLA</i> SPP/ 25 G.....	31
4.3 CONCENTRAÇÃO DE NITRATO E NITRITO DE SÓDIO.....	31
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	34
5.1 ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS.....	34
5.2 QUANTIFICAÇÃO DE NITRATO E NITRITO.....	38
6 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	39
7 ASPECTOS ÉTICOS.....	41
REFERÊNCIAS.....	41

1 INTRODUÇÃO

O Brasil é um grande produtor de carnes, conforme indicam os dados do estudo de projeções do agronegócio (BRASIL, 2018), feito em 2016/17, onde a produção de carnes em 2017/ 18 foi estimada em 27 milhões de toneladas, com projeção para o final da próxima década de 34,2 milhões de toneladas de carne de frango, suína e bovina.

A necessidade de fornecer ao consumidor um produto de qualidade em um curto período de tempo faz com que o complexo agroindustrial invista em inovações tecnológicas, associando aspectos qualitativos e quantitativos, além de garantir a viabilidade econômica do setor. Ainda assim, muitas são as variações do processo produtivo, que vai desde as técnicas de abate até o processamento. Essas variáveis devem ser minimizadas com o intuito de assegurar os aspectos de qualidade da carne, dentre eles: toxicológico, nutricional, higiênico e sensorial (ANDRADE, 2004).

A linguiça é um dos produtos mais consumidos no país, devido à praticidade no preparo e preço acessível e, embora os conservantes utilizados no processo de fabricação favoreçam a sua conservação, suas características são atrativos para a multiplicação bacteriana, como a atividade de água (A_w) e potencial hidrogeniônico (pH) próximo a neutralidade (CORTEZ *et al.*, 2004).

As características destes produtos dependem, ainda, da região onde foram produzidos, gerando grande diversificação na composição, apresentação e valor nutricional (FERRÃO, 1999). A grande procura traz um aumento na fabricação, muitas vezes sem critérios de higiene e qualidade (MELO FILHO, 1998).

A região do Sul de Minas é uma grande fabricante de linguiças artesanais, que podem ser encontradas no comércio em geral e feiras livres. O controle de aditivos químicos utilizados, bem como o padrão microbiológico destes produtos é fiscalizado pelo Serviço de Inspeção devidamente credenciado.

1.1 Uso de conservadores nitrato e nitrito de sódio

Os sais de nitrato e nitrito de sódio são utilizados como conservantes químicos em embutidos devido à praticidade e facilidade de manuseio. Na presença de acidez, o nitrito libera ácido nitroso, decompondo-se em óxido nítrico e fixando na mioglobina, gerando a cor rósea, típica dos produtos curados (ADAMI, 2015).

Já o nitrato se reduz a nitrito ainda na cavidade bucal. Quando a substância chega ao estômago, encontra o pH ideal para a formação de nitrosaminas, que estão associadas à atividade

carcinogênica, teratogênica e mutagênica (CRADDOCK, 1992). Conforme ilustrado na Figura 1, após ser absorvido pelo trato gastrointestinal, o nitrato é excretado pela via renal. Já os nitritos combinam com a hemoglobina, formando a metaemoglobina (Methb), que é incapaz de fazer o transporte adequado do oxigênio (SOUZA, 2009).

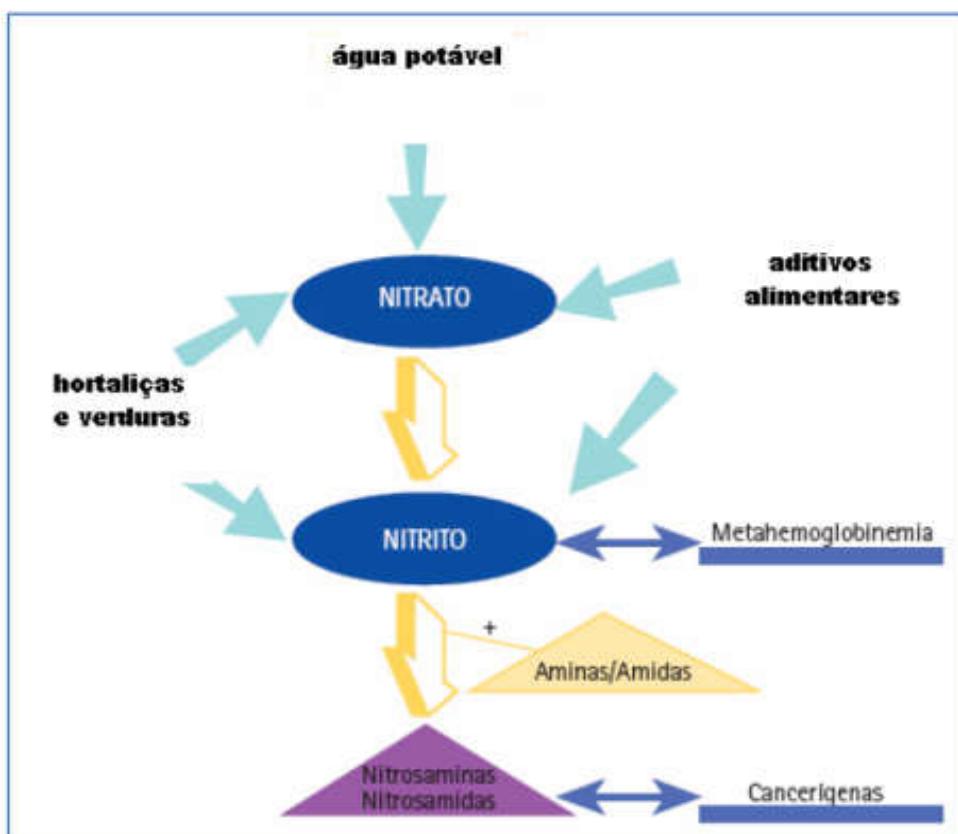


Figura 1: Efeitos tóxicos do nitrito e nitrato de sódio.

Fonte: Antón e Lizaso (2003).

A formação de Methb é reversível quando os níveis de exposição ao nitrito são baixos. Em uma exposição excessiva, o sistema fica saturado, resultando em um aumento da substância na corrente sanguínea, além do aparecimento de sinais e sintomas como cianose, cefaléia, taquicardia e inconsciência. Vários estudos apontam outras variedades de efeitos do consumo excessivo do nitrato, tais como hipertrofia, hipertensão e aumento da tireóide (ANDRADE, 2004).

Os sais de nitrato são adicionados intencionalmente nos alimentos para conferir sabor e cor, mas podem estar naturalmente presentes na natureza, como nas águas rasas, profundas ou de abastecimento (AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION- APHA, 1992).

Algumas substâncias podem catalisar e/ou inibir a reação de nitrosação. Como catalisadores destacam-se: tiocianato, ácidos, haletos e formaldeído. Já os inibidores são: ascorbato, ∞ -tocoferol e SO_2 / bissulfito, no qual se destacam o ácido ascórbico e o ∞ -tocoferol, por estarem naturalmente presentes em alguns alimentos (POTTER, 1996).

Para Ahnet *al.* (2003), uma outra forma satisfatória de reduzir a formação de nitrosaminas em carnes curadas é o uso da radiação gama. Os autores indicam resultados satisfatórios com a irradiação de 5kg em anchovas salgadas fermentadas.

A exposição da população ao nitrato e nitrito, está diretamente ligada a hábitos culturais, estilo de vida e localização geográfica. Com isso, são necessárias pesquisas frequentes a fim de avaliar se a Ingestão Diária Aceitável (IDA), não está sendo ultrapassada (ANDRADE, 2004).

O Comitê FAO/ WHO, em sua 59ª Reunião, reavaliou os limites de IDA dessas substâncias com base nos últimos estudos tecnológicos existentes. Para o nitrito, o IDA é de 0 -0,07 mg Kg⁻¹ de peso corpóreo, expresso como íon nitrito. Para o nitrato, os níveis foram mantidos na Ida de 0 -3,7 mg Kg⁻¹ de peso corpóreo, expresso como íon nitrato(WORLD HEALTH ORGANIZATION-WHO, 1996).

No Brasil a adição destes conservantes é oficialmente regulamentada pela Portaria Nº 1.004, de 11 de dezembro de 1998, do Ministério da Saúde, com limites máximos de 150 mg Kg⁻¹ e 300 mg Kg⁻¹ de peso corpóreo, respectivamente para nitrito e nitrato de sódio, para carnes e produtos cárneos (BRASIL, 1998).

Segundo Robach (1980), uma opção que vem sendo estudada é a substituição, mesmo que parcial do nitrito por outros compostos, como a combinação de 20 ppm de nitrito associado a 0,2% de ácido ascórbico para inibição do crescimento do *Clostridium botulinum*, que tem eficácia comparada a 156 ppm de nitrito. Ainda neste estudo, observou-se que a combinação de 40 ppm de nitrito associado a 0,2% de ácido ascórbico, teve eficácia superior ao uso isolado de 156 ppm de nitrito e foi eficaz contra o crescimento de *Clostridium perfringens*.

Existe ainda a possibilidade da completa substituição do conservante nitrato de sódio pelo sorbato de sódio, porém este último não detém de todas as características e funções do nitrato, dentre elas o desenvolvimento da cor rósea (AL-SHUIBI; AL-ABDULLAH, 2002).

Em relação às nitrosaminas, não existe uma regulamentação específica. Nos EUA, a Food and Drugs Administration (FDA), estabelece valores de no máximo 10 μg de nitrosaminas voláteis totais por Kg, para produtos cárneos curados (HAVERY; FAZIO, 1985).

Estudos realizados por Bartsch e Montesano (1984), associam a exposição às nitrosaminas com a indução de tumores em diferentes órgãos, dependendo da estrutura química do composto,

dose e via de exposição, já que podem ser absorvidas tanto pelo trato gastrointestinal, como pela pele.

Para exercerem a ação carcinogênica, as nitrosaminas são ativadas metabolicamente, onde há a hidroxilação do carbono α do grupo alquila, catalisada pela monooxigenase, dando origem a um aldeído ou cetona (MAGEE; BARNES, 1967). Para definir os limites seguros de ingestão de substâncias químicas, a toxicologia estuda os alimentos que podem ser consumidos, bem como a quantidade segura de ingestão (TEIXEIRA *et al.*, 2014).

1.2 Micro-organismos em alimentos

A grande ocorrência de doenças de origem alimentar e seus agravos à saúde, está intimamente ligada ao estilo de vida e hábitos alimentares da população, bem como no processo produtivo do alimento e na adaptação dos micro-organismos em relação às adversidades ambientais (SILVA *et al.*, 2010). Segundo a World Health Organization (WHO - 2007), em todo o mundo, mais que 30% da população é atingida por doenças transmitidas por alimentos em um ano, podendo resultar em internações e até óbitos. Conforme descreve Silva Junior (2010), dentre os principais fatores que favorecem a contaminação do alimento por patógenos, pode-se citar as práticas inadequadas de manipulação, matéria-prima contaminada e manipulador contaminado. Já entre os fatores que influenciam a proliferação do micro-organismo, citam-se a falta de controle de temperatura do alimento, como os deixados à temperatura ambiente.

A perecibilidade dos produtos cárneos deu origem a novas formas de conservação, dentre elas, a fabricação de embutidos, produzidos a partir de carnes e outros tecidos, que passam pelo processo de moagem, podendo ser curados ou defumados, adicionados de condimentos e aditivos, envoltos por membrana natural ou artificial (LEITE, 1989).

Uma das formas de conservação de embutidos é a utilização de sais de cura no processamento, como o nitrito e nitrato de sódio que, além de aumentarem a vida de prateleira, conferem sabor, aroma, textura, cor rósea avermelhada, característica de produtos curados, e inibem o crescimento de bactérias como o *Clostridium botulinum* (OLIVEIRA, 2014).

Entre os principais patógenos contaminantes de alimentos, pode-se citar o *Staphylococcus aureus*, encontrado na cavidade nasal dos seres humanos, a *Escherichia coli*, indicadora de contaminação de origem fecal, clostrídios sulfito-redutores, presentes no solo, e *Salmonella*, presente no trato gastrointestinal do homem (LANDGRAF, 2008).

De acordo com a Resolução da Diretoria Colegiada (RDC) nº 12, de 02 de janeiro de 2001, que regulamenta os padrões microbiológicos para alimentos, descrita na Tabela 1, as análises

microbiológicas destes micro-organismos são indispensáveis para a avaliação das boas práticas de fabricação e para elucidação de doenças transmitidas por alimentos.

Tabela 1: Padrões microbiológicos para produtos cárneos crus – ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária).

Micro-organismo	Tolerância em Amostra Indicativa
Coliformes a 45 C	$5 \times 10^3 / \text{g}$
Estafilococos coagulase positiva	$5 \times 10^3 / \text{g}$
Clostrídio sulfito redutor a 46 C	$3 \times 10^3 / \text{g}$
<i>Salmonella spp</i>	Ausência/ 25 g

Fonte: Brasil, 2001.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Linguiça frescal

O método de preparo de linguiças foi introduzido no Brasil no século XVIII, através de junção de culturas dos imigrantes alemães e italianos na região sul do país, que produziam este tipo de alimento durante a escassez de carnes frescas, armazenando no porão de suas casas, juntamente com outros produtos de fabricação própria, como queijos e vinhos (AHLERT, 2001).

A linguiça é um produto obtido através do processamento de carne bovina, suína ou de aves. Sua aceitação pelo consumidor está diretamente ligada ao sabor e economicidade (DIAS; DUARTE, 2007). De acordo com a tecnologia de fabricação, é classificada como produto fresco, seco ou cozido. Já pela matéria-prima, é denominada como linguiça calabresa, portuguesa, toscana ou paio. Carne e sal são ingredientes obrigatórios. A umidade deve variar entre 55-70%, teor de gordura de 30-35%, proteína 12-15%, cálcio 0,1-0,3%. Em linguiças frescas o uso de carne mecanicamente separada (CMS) é proibido.

A linguiça do tipo frescal se destaca entre os embutidos pela sua aceitação. Possui elevada atividade de água e não sofre nenhum tratamento térmico no processo produtivo, reduzindo sua vida útil (MILANI, 2003). Desta forma, para manutenção da umidade máxima permitida são utilizados os sais de cura no seu processamento, como o nitrito e nitrato de sódio que auxiliam na conservação, aumentam a vida de prateleira, confere sabor, aroma, textura, cor e inibe principalmente o crescimento da bactéria *Clostridium botulinum*. Quando utilizados em altas concentrações, também inibem o crescimento de *Staphylococcus aureus* (OLIVEIRA, 2014).

O emprego destes sais, permite que o produto atinja os parâmetros de qualidade necessários em uma escala industrial, sendo que sua eficácia está diretamente ligada ao pH do alimento (TAKAHASHI, 1993).

Além de conferir cor e sabor ao produto curado, os sais de nitrato e nitrito previnem o aparecimento do sabor “requeimado”, usual em carnes cozidas. Sua ação antioxidante também inibe a rancidez, já que impede a oxidação de gorduras ao formar complexo estável com o íon ferro II, impedindo que este se oxide a ferro III (LEMOS *et al.*, 2008).

Nos queijos, por exemplo, os sais de nitrato são adicionados a fim de inibir a proliferação de bactérias esporuladas, principalmente o *Clostridium butyricum* e *Clostridium tyrobutyricum*, que causam o estufamento tardio em queijos. Na presença destas bactérias, o lactato é fermentado e gera ácido butírico, gás carbônico e hidrogênio, produzindo deformações como olhaduras grandes e

irregulares no interior da peça, trincas na casca e alteração no sabor, gerando prejuízos ao produtor (FURTADO, 1999).

A ingestão diária aceitável (IDA) de nitrato e nitrito preconizados no Brasil e no Mercosul são os mesmos da FAO/OMS, que é de até 0,06 mg/ Kg/dia de nitrito (íon), e de até 3,7mg/ Kg/dia para nitrato. Esta recomendação não se aplica a crianças menores de 6 meses de vida (WHO, 1996).

Já o limite máximo regulamentado para adição em carnes e produtos cárneos é de 0,0150 g/100 g e 0,0300 g/100 g, respectivamente para nitrito e nitrato de sódio (BRASIL, 1998).

O uso do nitrito acima do permitido pela legislação traz riscos à saúde, já que pode haver a formação das substâncias tóxicas como nitrosaminas e nitrosamidas, que estão associadas à atividade carcinogênica, teratogênica e mutagênica, e agem sobre a hemoglobina impedindo o transporte de oxigênio devido à formação da substância metahemoglobina. No trato gastrointestinal, o nitrato é reduzido a nitrito, gerando as mesmas consequências (HILL, 1999).

Segundo estudo de Bruning-Fann e Kaneene (1993), realizado na Itália, a incidência de câncer gástrico obteve correlação positiva entre o consumo de água potável com alto teor de nitrato ($> 4,5 \text{ mg L}^{-1}$). Em comunidades que ingeriram água com alto teor de nitrato, a incidência de câncer estomacal foi treze vezes maior. Kilfoy *et al.* (2011) citam que o nitrato impede que a tireóide absorva iodo, levando a baixa produção de hormônios tireoidianos T4 e T3 e consequente aumento na produção do hormônio tireoestimulante (TSH), sendo este o estímulo que pode ter efeito carcinogênico, caso ocorra em excesso.

Em contrapartida, baixas concentrações de conservadores também podem trazer danos ao consumidor, já que reduzem a vida de prateleira do produto e o torna mais suscetível à contaminação por micro-organismos, conforme citado por Turra e Ayub (1999).

Outro aditivo empregado na fabricação de embutidos é o sorbato (ácido sórbico e seus sais de sódio, potássio e cálcio). Assim como o nitrato e nitrito, sua utilização é normatizada pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), podendo ser empregado como antioxidante, conservador e estabilizante em uma série de produtos (BRASIL, 1998). Além da indústria alimentícia, o sorbato é largamente utilizado em ração animal, de produtos farmacêuticos e cosméticos (SOFOS, 1989).

Toda a carne utilizada na fabricação da linguiça deverá ter sido submetida aos processos de inspeção prescritos no RIISPOA - "Regulamento de Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal" (BRASIL, 2000).

Devido aos riscos relacionados ao uso indiscriminado destes aditivos, seu emprego deve ser constantemente inspecionado, a fim de mapear possíveis situações em desacordo com a legislação e orientar produtores para adequação do produto.

A embalagem deve ter as seguintes informações: denominação de venda do alimento, lista de ingredientes, conteúdo líquido, temperatura de armazenamento, identificação da origem, identificação do lote, data de validade e instruções sobre o preparo e uso do alimento (BRASIL, 1997).

A falta de um controle rigoroso em relação ao uso de aditivos alimentares e o processamento caseiro de alimentos típicos, como linguiças, favorece o uso destes sais acima do permitido pela legislação, trazendo riscos à saúde, já que a reação entre o íon nitrito e as aminas e amidas presentes no produto formam substâncias tóxicas (HILL, 1999).

Segundo Souza, Faleiros e Souza (1990), os derivados da carne fabricados no Brasil utilizam, em grande parte das vezes, nitrato e nitrito além do permitido. A alta temperatura e umidade, típicas do país, favorecem o crescimento microbiano. Desta forma, o emprego destes aditivos contribui consideravelmente para a conservação dos alimentos.

A exposição da população a estes conservantes está diretamente ligada a hábitos culturais, estilo de vida e localização geográfica. São necessárias pesquisas frequentes a fim de avaliar se a IDA (Ingestão Diária Aceitável) não está acima do permitido, para garantir a segurança do consumidor (ANDRADE, 2004).

2.2 Processo de fabricação

A escolha da matéria-prima (carne suína) é fundamental para a qualidade do produto final, a linguiça. Algumas características são desejáveis na carne suína:

- 1- Aspecto: uniforme, sem manchas e limo, com aparência marmórea e sem exsudação do suco.
- 2- Coloração: mais clara que a bovina, variando do rósea (carnes frescas) até o vermelho escuro (carnes duras e secas). A gordura tem coloração branca.
- 3- Consistência: firme e compacta.
- 4- Odor: agradável, sendo mais intenso em animais velhos. Em adultos machos aparece, às vezes, odor hormonal desagradável. Esse odor surge, com frequência, quando a carne é aquecida (BRASIL, 1999).

2.2.1 Preparo Carne e Tripa

As carnes utilizadas no preparo da linguiça devem estar resfriadas em temperatura de até 4 C, sem a presença de nervos, cartilagens e gânglios. Como envoltório para as linguiças frescas,

podem ser usadas tripas artificiais ou naturais de suínos, bovinos ou ovinos, com calibre médio (28-32 mm) previamente umedecidas. Simultaneamente ao enchimento da tripa com a massa, são realizadas as torções na tripa para o posterior amarrão. Normalmente as torções são feitas a cada 10 cm. No caso de envoltório natural, a pressão da massa não deve ser grande, pois esse tipo de envoltório pode encolher após o processo (OLIVEIRA *et al.*,2005).

O preparo da tripa natural passa por 3 processos: operações de limpeza do intestino, raspagem e salga seca. A limpeza inicial das tripas deve ser iniciada logo após a evisceração, pela retirada dos anexos e gorduras aderidas a essa estrutura. A seguir, as tripas são esvaziadas, por compressão da mesma entre os dedos, num único sentido em toda sua extensão. Em seguida, procede-se à lavagem interna e externa das tripas com água corrente e a raspagem da mucosa (lado interno do intestino) que é feita com rasque de madeira. Uma vez terminado esse processo, as tripas devem ser lavadas com vinagre para eliminar o cheiro desagradável. A salga a seco é realizada esfregando-se o sal grosso moído diretamente nas tripas que foram previamente reunidas em maços. Essas peças devem ser colocadas sobre uma superfície inclinada por 24 horas. Após esse período, as tripas são esfregadas com sal refinado e podem então ser armazenadas até o momento do uso.

No momento de embutir, as tripas devem ser colocadas em água aquecida, pois este procedimento facilitará o embutimento e amoldamento da massa ao envoltório, após o recheio (BRESSAN *et al.*, 2017).

2.2.2 Pesagem e Moagem

A carne utilizada (carne, toucinho) deve ser cortada em pedaços pequenos para facilitar o trabalho do moedor, mostrado na figura 2 (EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA- EMBRAPA, 2008). As carnes mais moles e as gorduras devem ser passadas por discos de maior calibre, já as carnes mais duras, no de menor calibre, para que fiquem suficientemente macias. A temperatura da carne durante a moagem deve estar entre 0 e 4° C (BRESSAN *et al.*, 2017).



Figura 2: Moedor de carnes industrial.

Fonte: Elaborada pela autora.

2.2.3 Mistura e Condimentação

Os temperos utilizados na formulação devem ser previamente separados e dissolvidos em água gelada. Após a moagem, os componentes da formulação (carne, toucinho, outros ingredientes e os temperos diluídos) devem ser transferidos a um recipiente próprio e misturados de forma homogênea para que essa massa obtenha uma boa liga (EMBRAPA, 2008). O uso da água gelada, além de facilitar a diluição dos condimentos e a homogeneização do tempero à massa, contribui para a redução da temperatura do material. A pesagem de aditivos requer cuidados, pois se operada de forma incorreta, representa um perigo de contaminação química, principalmente no caso do nitrato e nitrito, considerados de alta toxicidade (OLIVEIRA *et al.*, 2005). A seguir, recomenda-se um descanso da massa por 18 horas com temperatura de até 5 C (EMBRAPA, 2008).

2.2.4 Embutimento e amarrio

A massa (carne, toucinho e condimentos previamente misturados) deve ser embutida como uma massa compacta, sem espaço de ar. As bolhas de ar podem causar oxidação (ranço) e escurecimento nas regiões circunvizinhas a elas, comprometendo a apresentação do produto final. Nessa operação, pode ser usada uma “embutideira”, mostrada na figura 3. As extremidades dos envoltórios e regiões de torção devem ser amarradas com fio de algodão (barbante). Esse fio não deve ser muito fino e a pressão dos nós não deve ser excessiva para não causar corte na tripa e extravasamento da massa. Entretanto, em alguns tipos de linguiças, os gomos podem ficar soltos sem o amarrio (BRESSAN *et al.*, 2017).



Figura 3: Fotografia de uma “Embutideira.”

Fonte: Elaborada pela autora.

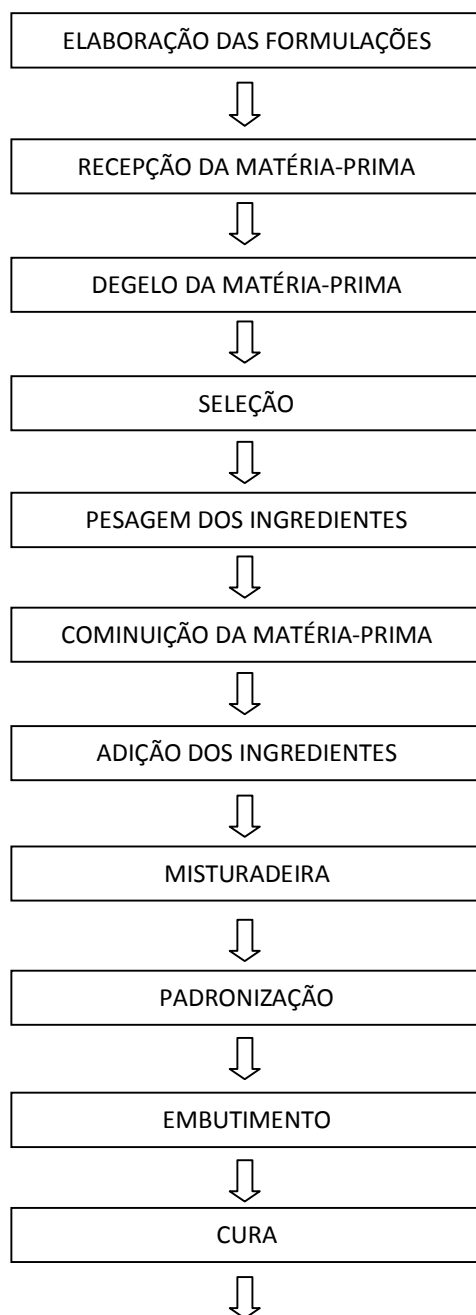
2.2.5 Defumação e armazenamento

As linguiças que serão defumadas devem ser levadas ao defumador logo após o preparo. No defumador, as peças são mantidas afastadas umas das outras por espaços pequenos. Isso vai permitir o contato perfeito das peças com o calor e a fumaça. A distância entre as linguiças e a fonte de aquecimento não deve ser inferior a 50 cm. As peças devem ser submetidas a calor seco, sem fumaça (chaminé aberta), por uma ou duas horas, à temperatura de 40° a 45° C, de forma que ocorra a secagem superficial das linguiças e a distribuição homogênea do sabor. Uma vez iniciada a defumação, mantenha a operação por mais seis a sete horas (chaminé fechada), não permitindo que a temperatura do defumador ultrapasse 45° C. O produto pode sofrer uma quebra por desidratação na ordem de 10 a 20%. Essa variação depende do tempo de defumação (BRESSAN *et al.*, 2017).

Depois de pronta a linguiça frescal deve ser mantida refrigerada a 4 C por até cinco dias e congeladas a -18° C por até seis meses, porém deve-se observar a circulação do ar frio, de modo a evitar diferentes faixas de temperatura, com conseqüente proliferação de micro-organismos e/ou deterioração do produto (OLIVEIRA *et al.*, 2005).

2.3 Boas Práticas de Fabricação

A qualidade da linguiça frescal está diretamente ligada à escolha da matéria-prima, equipamentos utilizados e das práticas de higiene adotadas no processo. Os utensílios e equipamentos usados tais como faca, tábua e moedor, devem ser previamente lavados. O manipulador deve estar devidamente paramentado, com cabelos presos (touca), uniforme limpo e unhas curtas. Também é recomendado que não se utilize adornos. O processo de fabricação deste embutido possui várias etapas de manipulação, conforme demonstra a figura 4, o que aumentam as possibilidades de contaminação, sejam elas químicas, físicas ou microbiológicas (CHEVALLIER *et al.*, 2006).



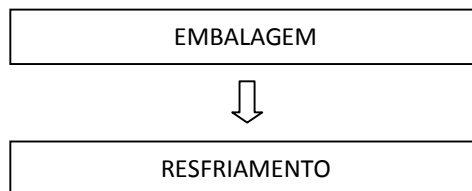


Figura 4: Fluxograma de produção de linguiça em escala industrial.

Fonte: PAULINO, 2005.

A carne é o terceiro maior produto de exportação do Brasil, ficando atrás apenas da soja e do minério de ferro, e ganhou destaque na mídia devido a Operação “Carne Fraca”, realizada pela Polícia Federal no ano de 2017, onde mais de 30 Frigoríficos foram investigados por adulteração de produto. Cerca de 80% de toda a produção é consumida pela população brasileira, que se atentou ainda mais para questões de boas práticas de fabricação, a fim de evitar o consumo de carnes adulteradas e/ou impróprias para consumo (SILVA, 2016).

2.3.1 Contaminação Química e física

Os aditivos nitrato e nitrito de sódio são usados para impedir a contaminação microbiológica da linguiça, além de dar a cor característica. Porém, as dosagens destes aditivos devem estar claramente especificadas nos Procedimentos Operacionais Padronizados (POP’s) e dentro do que é permitido pela legislação. Na moagem, o perigo consiste na presença de contaminantes físicos, principalmente por fragmentos metálicos (parafusos, pregos) provenientes desta etapa ou das anteriores, que deverão ser eliminados por meio do uso de detector de metais e/ou inspeção visual (OLIVEIRA *et al.*, 2005).

2.3.2 Contaminação Microbiológica

As várias etapas no processo de fabricação expõem a linguiça frescal a uma série de micro-organismos, patogênicos ou deterioradores, podendo comprometer a qualidade do produto final. Essa contaminação pode ocorrer desde o abate e evisceração, nas quais as carcaças podem ser contaminadas por enterobactérias presentes no trato gastrointestinal, por isso a escolha da matéria-prima é de suma importância (TUTENEL *et al.*, 2003).

2.3.3 Procedimentos Operacionais Padronizados (POP)

De acordo com Silva Junior (2010), os POP são documentos que devem conter instruções sequenciais das operações, bem como sua frequência de execução, especificando o nome e a função de quem a executou, com o objetivo de garantir a uniformidade dos procedimentos, facilitarem o monitoramento e as ações corretivas e manter as condições higiênico-sanitárias adequadas.

Quatro POP são obrigatórios na produção de alimentos (BRASIL, 2004):

- 1) Higienização das instalações, equipamentos, móveis e utensílios;
- 2) Controle da potabilidade da água (higienização reservatório);
- 3) Higiene e saúde dos manipuladores;
- 4) Controle integrado de vetores e pragas urbanas.

2.4 Micro-organismos contaminantes

A composição dos produtos cárneos torna-se um atrativo para a multiplicação de micro-organismos, devido à alta atividade de água (A_w), nutrientes, minerais e pH favorável. Entre as alterações que podem ocorrer no alimento devido à presença de micro-organismos, podem-se citar as que ocorrem em condições de aerobiose, como a limosidade superficial, alteração na cor dos pigmentos da carne (hemepigmentos), rancificação, odores e sabores estranhos. Já em condições de anaerobiose pode ocorrer à acidificação, putrefação (LANDGRAF, 2008a).

Segundo dados do Ministério da Saúde (2013), entre os anos de 2000 e 2013 foram registrados quase nove mil casos de surtos de doenças de origem alimentar no Brasil.

As doenças de origem alimentar são divididas em duas classes:

- a) Intoxicação alimentar, ocasionada pelo consumo de alimentos contendo toxinas microbianas.
- b) Infecção alimentar, ocasionada pelo consumo de alimentos contendo bactérias invasivas em um número viável, que depois de ingeridas aderem à mucosa intestinal, colonizando-a.

Conforme descreve o CDC (Centro de Controle e Prevenção de Doenças), surto é a ocorrência de dois ou mais casos de doença de origem alimentar associados a apenas um alimento, que são identificadas através de um inquérito epidemiológico realizado entre as pessoas que tenham ingerido o mesmo alimento, apresentando ou não os sintomas usuais, avaliando amostras destes e realizando exames laboratoriais em amostras clínicas dos possíveis infectados (LANDGRAF, 2008a).

Os coliformes a 45 C (termotolerantes) são bactérias Gram-negativas pertencentes à família *Enterobacteriaceae*, não esporuladas, anaeróbias facultativas e indicam contaminação fecal em

alimentos. Possui linhagens patogênicas e são capazes de fermentar glicose com produção de ácido e gás. A pesquisa deste gênero em alimentos pode indicar as condições higiênicas do produto e possíveis falhas em sua manipulação e armazenamento (SILVA; CAVALI e OLIVEIRA, 2006).

Os estafilococos são bactérias Gram-positivas que se apresentam na forma de cocos, anaeróbias facultativas, não formadoras de esporos, produtoras de catalase. Encontradas principalmente na mucosa e pele de seres humanos. Causam diferentes enfermidades que varia desde infecções benignas até doenças sistêmicas, que podem causar a morte, como a septicemia. Quando ingeridas através dos alimentos, podem causar sintomas como náuseas, vômitos, diarreia, cólica abdominal e dor de cabeça, surgindo de trinta minutos a duas horas após a ingestão (JORDA *et al.*, 2012). A presença de estafilococos coagulase positiva em alimentos- *S. aureus*, indica perigo potencial à saúde pública, devido à toxina que o mesmo produz, além de indicar falhas no processo de sanificação envolvendo a produção de alimentos (LANDGRAF, 2008b). Toleram concentrações de 10% a 20% de NaCl e a nitratos, tornando os alimentos que passam pelo processo de “cura” suscetíveis à contaminação por estes micro-organismos, além de desenvolverem-se com Aw abaixo do considerado usual, que é de 0,86. A intoxicação alimentar dá-se pela ingestão de enterotoxinas pré-formadas (A,B,C₁,C₂,C₃,D,E), com um tempo médio de incubação de duas a quatro horas, apresentando sintomas como náuseas, vômitos, diarreia, sudorese e câibras abdominais. Acredita-se que seja necessário entre 10⁵ e 10⁶ unidades formadoras de colônias (UFC) de *S. aureus* por grama de alimento para que a toxina seja formada e provoque a intoxicação (FRANCO; LANDGRAF, 2008).

Os clostrídios sulfito-redutores fazem parte do grupo de bacilos Gram-positivos, produtores de esporos, que são estruturas contendo o material genético da bactéria formado por cápsula de material protéico. Devido à complexidade desta estrutura, não podem ser destruídas por calor, congelamento, desidratação, compostos químicos e radiação, podendo resistir nos alimentos e serem importantes em toxinfecções de origem alimentar. São anaeróbios estritos e catalase-negativos, encontrados principalmente no solo, trato gastrointestinal de animais e do homem e alimentos (FRANCO, 2008). São indicadores de contaminação fecal, porém inespecíficos para fezes humanas. Quando isolados, formam colônias com precipitado preto, ocasionada pela redução do sulfito a sulfeto em meio de cultura seletivo específico (FRANCO; LANDGRAF, 2008).

A *Salmonella* é uma bactéria entérica. Pode estar presente em pequenos números e está frequentemente acompanhada por outras enterobactérias (FLORES; MELO, 2015). De acordo com a Secretaria de Vigilância em Saúde (2008), a salmonelose foi à principal causadora de surto de doença de origem alimentar entre 1999 e 2004, representando 34,7% dos casos notificados. Sua presença em alimentos torna-os impróprios para o consumo, não sendo tolerado nem em pequenas

quantidades, devido a sua patogenicidade. A presença deste patógeno em determinado alimento, mesmo que em quantidade mínima, torna-o impróprio ao consumo (SALVATORI, 2003), sendo o principal agente causador de surtos no Brasil, entre 1999 e 2008 (BRASIL, 2001). Muitos autores descrevem sua prevalência em embutidos, observando um índice de contaminação que varia de 0 a 9,1% entre as amostras analisadas (MATTICK, 2002).

2.5 Histórico de produção de produtos cárneos em Pouso Alegre – MG

O Serviço de Inspeção Municipal (SIM) da cidade de Pouso Alegre-MG foi criado em julho de 2006, diretamente subordinado à Secretaria Municipal do Meio Ambiente e Agricultura. O órgão é constituído por quatro fiscais, um diretor e um médico veterinário, e fiscaliza os estabelecimentos industriais e entrepostos de produtos de origem animal, dentre eles os produtores de linguiça, que somente poderão funcionar mediante registro. Entre outras demandas de fiscalização, podemos citar a verificação da higiene dos estabelecimentos, inspeção “*ante*” e “*post mortem*” de animais para abate, inspeção das fases de produção, industrialização, comercialização e transporte, aprovação de padrões e fórmulas de produtos de origem animal (POUSO ALEGRE, 2006). A venda dos produtos fiscalizados é permitida dentro das limitações geográficas do município e somente se constar o selo de inspeção (SIM / PA), também denominado “Chancela de serviço de Inspeção Municipal” (POUSO ALEGRE, 2007). A produção mensal de produtos cárneos pode ser vista na Tabela 2.

Tabela 2: Volume de produção (Kg) de produtos cárneos fabricados em Pouso Alegre – MG, no período de junho/2017 a Janeiro/2018.

Produtor	Junho/ 2017	Julho/ 2017	Agosto/ 2017	Setembr o/ 2017	Outubro/ 2017	Novembr o/ 2017	Dezembro/ 2017	Janeiro/ 2018	TOTAL
	Total em kg								
1	0	50	80	110	440	220	640	1.100	2.640
2	633	590	907	723	722	770	725	737	5.807
3	0	5.380	6.961	36.026	32.700	11.715	28.215	34.067	155.064
4	343	283	309	257	390	520	460	408	2.970
5	413	294	355	589	537	672	626	457	3.943
6	1.947	2.360	2.007	2.435	1.845	2.189	1.954	1.957	16.694
7	1.020	960	1.020	1.010	736	905	856	0	6.507
8	14.265	15.320	14.770	14.190	12.980	26.500	22.600	16.100	136.725
9	1.419	1.461	1.540	0	0	1.811	1.521	1.528	9.280
10	1.983	1.952	1.980	2.164	2.566	2.575	2.002	2.005	17.227
11	342	347	289	342	0	387	306	409	2.422
12	3.428	3.914	3.241	4.095	4.411	5.165	3.316	1.501	29.071

388.350

Fonte: SIM (Serviço de Inspeção Municipal – Pouso Alegre/ MG).

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Desta forma, o objetivo do presente trabalho foi avaliar a qualidade microbiológica e o uso de conservadores nitrato e nitrito de sódio nas linguiças frescas produzidas no Município de Pouso Alegre – MG.

3.2 Objetivos específicos

- Realizar a contagem de micro-organismos de acordo com o estabelecido pela legislação - RDC nº 12 (02/01/2001) em linguiças frescas;
- Analisar quantidade de nitrato e nitrito de sódio e comparar com o recomendado pela Instrução Normativa Nº 20 de 21.07.99, que define a adição de conservadores químicos em alimentos, publicada no Diário Oficial da União - DOU de 09.09.99 - Métodos Analíticos Físico-Químicos para Controle de Produtos Cárneos e seus Ingredientes - Sal e Salmoura - SDA – do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, Brasil – MAPA.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Amostragem

No mês de julho/2018 foram coletadas amostras de linguiça frescal dos 12 produtores de linguiça do município de Pouso Alegre – MG, totalizando 24 amostras (n=24), sendo os testes realizados em duplicata. Pouso Alegre está localizada no sul do Estado de Minas Gerais e, de acordo com o último Censo Demográfico realizado em 2010, possui cerca de 130 mil habitantes, sendo o 2º município mais populoso do sul de Minas e o 17º do Estado (CENSO DEMOGRÁFICO, 2010). Para cada produtor foram coletadas duas amostras com peso de 500 gramas cada de linguiça frescal. As amostras coletadas foram acondicionadas em sacos de amostra estéreis com identificação. Em seguida, foram colocadas em caixas isotérmicas contendo placas de gelo recicláveis, para conservação durante o transporte até o laboratório, onde aconteceram as análises. As análises microbiológicas foram realizadas no Laboratório de Microbiologia do IFSULDEMINAS – *Campus* Machado. As análises de conservantes foram realizadas no IFSULDEMINAS – *Campus* Pouso Alegre - MG. Para manter o sigilo das informações, as amostras foram codificadas.

4.2 Análises microbiológicas

4.2.1 Preparo de amostras

As análises microbiológicas foram realizadas de acordo com a Organização Internacional de Padronização - ISO 6888-1, 1999; ISO 15213, 2003 e ISO 6579-1, 2017.

Inicialmente foram retirados os invólucros das linguiças, das 24 amostras de 12 produtores. Após, coletou-se pequenos pedaços de pontos diferentes do interior da amostra, com o auxílio de bisturi e lâminas estéreis. Alíquotas de 25 g de cada amostra de linguiça foram assepticamente pesadas em sacos estéreis e homogeneizadas com 225 mL de água peptonada 0,1% durante 1 minuto no *stomacher*. A água peptonada utilizada no preparo foi previamente esterilizada a 121 C durante 15 minutos. Foram feitas diluições decimais a partir da diluição 10^{-1} , em tubos contendo 9,0 mL de água peptonada 0,1%. Após a primeira diluição, obtiveram-se as diluições 10^{-2} e 10^{-3} .

4.2.2 Contagem de Coliformes a 45 C (Termotolerantes)

Foi realizada a semeadura de 1,0 mL da amostragem inicial (25 gramas) em placas de Petri contendo o meio de cultura VRBA (*Violet Red Bile Agar*) através da técnica de cultivo *pour plate*, em duplicata. As placas foram levadas para estufa bacteriológica a uma temperatura de 35 C, onde permaneceram por 48 horas, até a leitura e contagem das colônias (coloração rósea). Para confirmação dos resultados obtidos nas placas onde observou o crescimento das colônias, foi feita a confirmação em caldo EC (*Escherichia coli*), encubando os tubos a 45 C em banho-maria com agitação. A presença de gás dentro do tubo de Durham confirma a fermentação da lactose do meio, salientando a presença dos coliformes termotolerantes (FRANCO, 2008).

4.2.3 Contagem de Estafilococos Coagulase positiva

Foi realizada a semeadura de 1,0 mL da amostragem inicial (25 gramas) em placas de Petri contendo o meio de cultura BHI (caldo infusão de cérebro e coração) através da técnica de cultivo *spread plate*. Para confirmação dos resultados obtidos, empregou-se o plaqueamento em agar *Baird-Parker* (BP), suplementado com emulsão de gema de ovo 50% e telurito de Potássio 1%, com incubação a 37°C e leitura após 48 horas, observando o aparecimento de colônias típicas (pretas, pequenas, lisas, com halo de degradação de lecitina) e colônias atípicas (pretas, sem halo). Para teste confirmativo do gênero coagulase-positiva, 0,5 mL de cada amostra foi adicionada a tubos de ensaio contendo 0,3 mL de plasma de coelho, posteriormente encubados em estufa a 37 C por 48 horas, considerando coagulase-positiva as amostras que apresentaram formação de coágulo (INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARTIZATION- ISO 6888-1, 1999).

4.2.4 Contagem de Clostrídio Sulfito Redutor

Foi realizada a semeadura de 1,0 mL da amostragem inicial (25 gramas) em placas de Petri contendo o meio de cultura agar sulfito ferroso através da técnica de cultivo *pour plate*. Após a solidificação, foram incubadas em jarra de anaerobiose em estufa a 37°C por 48 horas, para confirmação de colônias características do gênero: pretas com zonas circundantes devido à formação de sulfeto de ferro (ISO 15213, 2003).

4.2.5 Contagem de *Salmonella* spp/ 25 g

Para a pesquisa de *Salmonella* spp. procedeu-se a etapa de pré-enriquecimento em água peptonada tamponada, com incubação a 37°C por 18 horas. Após confirmação do crescimento, inocularam-se as colônias em meio Rappaport e levou-se para incubação em estufa bacteriológica, a 41,5°C por 24 horas. Colônias suspeitas foram transferidas para tubos contendo ágar XLD (xilose lisina desoxicolato) e incubadas a 37°C por 24 horas (ISO 6579-1, 2017).

4.3 Concentração de nitrato e nitrito de sódio

A determinação de nitrato e nitrito foi baseada no método Oficial Físico-Químico para Controle de Produtos Cárneos e seus Ingredientes – Sal e Salmoura, descrita pelo MAPA (Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento), através da Instrução Normativa Nº 20, de 21 de Julho de 1999, também recomendada pela ISO. O método utiliza reagentes com o objetivo de certos grupos amino-aromáticos sofrerem reação de diazotação, com formação de azo-compostos, demonstrado na Figura 5 (GARDOLINSKI; DAVID; WORSFOLD, 2002).

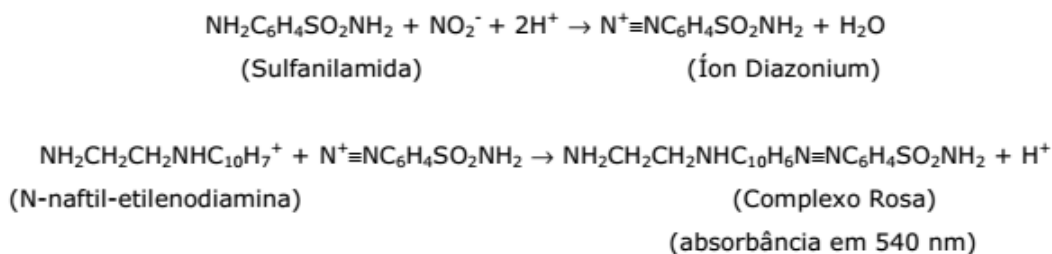


Figura 5: Reação de formação do azo composto.

Fonte: GARDOLINSKI; DAVID; WORSFOLD, 2002.

Pesou-se 10 g de amostra homogeneizada em béquer de 50 mL. Transferiu-se para Erlenmeyer de 500 mL com o auxílio de 100 mL de água quente. Adicionou-se 5 mL de solução de tetraborato de sódio a 5%. Deixou-se em banho-maria por 15 minutos, agitando frequentemente. Esfriou-se à temperatura ambiente. Com o auxílio de um funil e bastão de vidro, passou-se o conteúdo do Erlenmeyer, quantitativamente para balão volumétrico de 250 mL. O Erlenmeyer foi

lavado com aproximadamente 50 mL de água quente (60°C). Deixou-se esfriar e foram adicionados 5 mL de solução de ferrocianeto de potássio a 15 % e 5 mL de solução de sulfato ou acetato de zinco a 30 %. Agitou-se por rotação após a adição de cada reagente e completou-se o volume com água. Foi realizada a filtração em papel de filtro qualitativo. Transferiu-se uma alíquota de 20 mL do filtrado desproteínizado para um Erlenmeyer de 125 mL, adicionando 5 mL da solução tampão pH 9,6-9,7, levando a amostra posteriormente para a coluna de cádmio (este processo adicional com tampão se faz necessário para quantificação de nitrato). Aferiu-se o filtrado da coluna em balão volumétrico de 100 mL. Pipetou-se 10 mL para balão volumétrico âmbar de 50 mL. Adicionou-se 5 mL da solução tampão pH 9,6-9,7 e mais 5 mL da solução de sulfanilamida a 0,5 % com agitação. Após 3 minutos, acrescentou-se 3 mL da solução de cloreto de alfa-naftiletilenodiamina na a 0,5 % e completou-se o volume com água. Após 15 minutos, foi feita a leitura a 540 nm com um espectrofotômetro modelo Cary 60, Agilent. O resultado obtido refere-se ao teor de nitritos totais. O nitrato é obtido pela diferença de nitritos totais e solução de filtrado desproteínizado sem passar pela coluna de cádmio. As análises foram feitas em duplicata. A coluna, exibida na Figura 6, exibiu um grau de recuperação superior a 97%.



Figura 6: Coluna de cádmio esponjoso para determinação de nitrato e nitrito.

Fonte: Elaborada pela autora.

O método é baseado na diazotização dos nitritos com ácido sulfanílico e copulação com cloridrato de alfa-naftilamina em meio ácido, formando o ácido alfa-naftilamino-p-azobenzeno-sulfônico de coloração rósea. O produto resultante é determinado espectrofotometricamente a 540 nm. O nitrato é reduzido a nitrito por ação do cádmio esponjoso em meio alcalino e assim

quantificado como nitrito. Conforme demonstrado na Figura 7, cada ponto da curva analítica corresponde à média de valores de nitrito obtido nas análises.

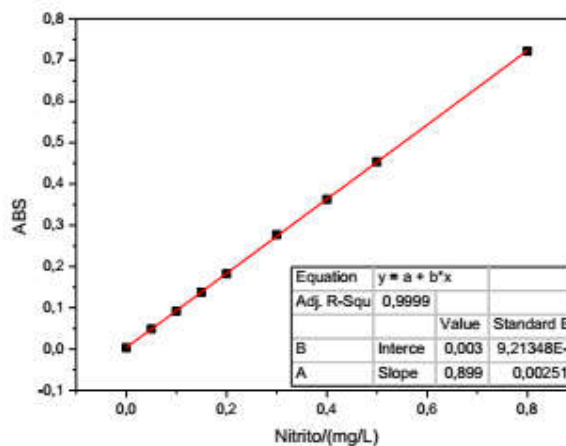


Figura 7: Curva analítica obtida para determinação de nitrito com coeficiente de correlação acima de 0,9999.

Fonte: Elaborada pela autora.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Análises microbiológicas

Foram avaliadas 24 amostras de linguiças do tipo frescal de 12 produtores (coletada 500 gramas de cada amostra), produzidas e comercializadas dentro do município de Pouso Alegre – MG. A temperatura das amostras foi aferida durante a coleta utilizando termômetro digital infravermelho, sendo que a média encontrada foi de 5,5 C, dentro do limite recomendado pela Resolução CNNPA N° 16, de 28/06/78. As salas de manipulação/ indústria são climatizadas, conforme exigência do Serviço de Inspeção Municipal (SIM). Após moagem da carne e adição de sal de cura e condimentos, a massa é levada para refrigeração a uma temperatura de até 6 C, com tempo variando entre os produtores de 1 a 12 horas. A maior parte destes comercializa a linguiça “a granel” - 58%, enquanto 42% embalam o produto com auxílio de seladora para revenda no comércio da cidade.

Os coliformes a 45° C representam os coliformes fecais que fermentam a lactose com produção de gás, a 44,5° C, como a bactéria *Escherichia coli*, que habita o intestino de humanos e animais (SILVA; CAVALI e OLIVEIRA, 2006). As análises demonstram que todas as amostras apresentaram crescimento de coliformes termotolerantes, porém nenhuma ultrapassou o limite permitido pela RDC n° 12 (02/01/2001), podendo sugerir falhas no processamento como equipamentos sujos e deficiência na higiene do manipulador, segundo Landgraf (2008b). Além do que, algumas cepas de *E.coli* produtoras de toxinas são conhecidas pelo alto grau de infectividade ainda que em contagens baixas ($1,0 \times 10^1$ UFC), como é o caso da *E. coli* produtora da toxina *Shiga*, trazendo grande risco ao consumidor (MACHADO *et al.*, 2014). No estudo apresentado por Tessmann *et al* (2001), foi observado que cerca de 3% das amostras de linguiça apresentavam contagem de coliformes acima do permitido. Já na pesquisa realizada por Marques *et al.* (2006) nas cidades de Três Corações e Lavras (MG), os resultados obtidos mostraram contaminação por coliformes termotolerantes acima do permitido, em 14 das 40 amostras analisadas. Os resultados encontrados neste trabalho podem ainda ser confrontados com os obtidos por Barbosa *et al.* (2003), que avaliaram a qualidade microbiológica de linguiças comercializadas na cidade de Sete Lagoas - MG e verificaram que 68% das amostras apresentavam contaminação por coliformes termotolerantes acima do recomendado pela legislação em vigor.

Segundo Rantsiou *et al.* (2005), produtos cárneos que permanecem sob temperatura recomendada de refrigeração (4 C) são menos suscetíveis à contaminação por *Staphylococcus aureus*. Os principais reservatórios são os homens e os animais, principalmente a cavidade nasal dos

mesmos. Segundo Lundgren *et al.* (2009), a contaminação de carnes por *S. aureus* indica falhas no processo de manipulação. Conforme descreve Silva *et al.* (2010), o principal micro-organismo responsável por casos de toxinfecção alimentar na cidade de Ribeirão Preto- SP entre os anos de 2005-2008 foi o *S. aureus*, sendo que os produtos cárneos foram citados como o tipo de alimento mais frequentemente envolvido nos surtos.

Observando os resultados obtidos neste trabalho, verificou-se que todas as amostras apresentaram crescimento em meio de cultura seletivo (Agar Baird Parker). Já no teste confirmativo, utilizando o método da coagulase, oito das doze amostras (66,7%) mostraram resultados positivos. A contagem final de Estafilococos Coagulase Positiva, apresentada na Tabela 4, variou de $< 1,0 \times 10^2$ a $2,9 \times 10^3$ UFC / g, demonstrando que nenhuma amostra ultrapassou o recomendado pela RDC N° 12, podendo considerá-las aptas ao consumo.

Tabela 4: Contagem de Estafilococos Coagulase Positiva em linguiças frescas produzidas no município de Pouso Alegre – MG, em Julho de 2018.

Contagem de Estafilococos Coagulase	
Amostras	positiva/ g
1	$2,9 \times 10^3$ UFC / g
2	$6,0 \times 10^2$ UFC /g
3	$< 1,0 \times 10^2$ UFC /g
4	$7,2 \times 10^2$ UFC /g
5	$< 4,0 \times 10^2$ UFC /g
6	$3,8 \times 10^2$ UFC /g
7	$9,6 \times 10^2$ UFC /g
8	$2,0 \times 10^3$ UFC /g
9	$< 1,0 \times 10^2$ UFC /g
10	$< 1,0 \times 10^2$ UFC /g
11	$2,4 \times 10^3$ UFC /g
12	$< 1,0 \times 10^2$ UFC /g

Fonte: Elaborada pela autora.

Tessmann *et al.* (2001) descreveram resultado parecido com o obtido neste trabalho, já que todas as 25 amostras de linguiça frescal comercializadas na cidade de Pelotas (RS) estavam dentro dos padrões recomendados. Em contrapartida, estudo divulgado por Pereira *et al.*(2014) na cidade

do Paraná, demonstrou que a concentração destes conservantes não teve influência significativa sobre o controle de *S. aureus* em linguiças frescas.

Conforme sugere Franco e Landgraf (2008), os surtos de intoxicação alimentar envolvendo estafilococos coagulase positiva ocorrem, na maioria das vezes, quando os alimentos ficam expostos sem controle de temperatura (como refrigeração e aquecimento) por tempo variável. Portanto, pode-se dizer que controlando os fatores que interferem no crescimento do patógeno, a produção da sua enterotoxina também será inibida.

As bactérias do gênero *Clostridium* são bastonetes Gram-positivos, anaeróbios, esporulados e imóveis, encontrados principalmente no intestino de animais e solo, tendo como principal representante o *Clostridium perfringens*, grande causador de contaminações em alimentos (CATO *et al.*, 1986). Conforme descreve Silva Junior (2010), este patógeno está associado à contaminação de superfícies da cozinha, como bancadas e equipamentos, mão do manipulador, contaminação cruzada entre alimentos crus e cozidos. Dentre os principais alimentos envolvidos em surtos, podem-se citar as carnes, feijão e legumes cozidos. As cepas de *C. perfringens* são divididas em cinco grupos: A, B, C, D e E, no qual quatro toxinas extracelulares são produzidas: alfa, beta, épsilon e iota, sendo que todos os grupos fabricam a toxina alfa, que tem característica hemolítica, responsável por grande parte dos casos descritos de toxinfecção alimentar. São grandes produtores de enzimas hidrolíticas em alimentos e capazes de fermentar um grande número de carboidratos. Tem o crescimento ótimo entre 40-45 C, pH 6,0-7,0 e Aw entre 0,95-0,97 (FRANCO; LANDGRAF, 2008). No estado de São Paulo, por exemplo, o patógeno foi responsável pela notificação de dois surtos, perfazendo um total de 28 casos, aonde um indivíduo veio a óbito (SILVA JUNIOR, 2010). Avaliando os resultados obtidos nas análises de Clostrídio sulfito redutor do presente trabalho, verificou-se que todas as amostras de linguiça apresentaram a contagem deste, dentro do limite permitido pela legislação vigente.

Tabela 5: Contagem de Clostrídio Sulfito Redutor em linguiças frescas produzidas no município de Pouso Alegre – MG, em Julho de 2018.

Amostras	Contagem de Clostrídio Sulfito
	Redutor a 46° C/ g
1	< 1,0 x 10 UFC /g
2	< 1,0 x 10 UFC /g
3	< 1,0 x 10 UFC /g
4	5,3 x 10 ² UFC /g
5	< 1,0 x 10 UFC /g

6	< 1,0 x 10 ² UFC /g
7	2,0 x 10 ² UFC /g
8	< 1,0 x 10 ² UFC /g
9	1,3 x 10 ² UFC /g
10	< 1,0 x 10 ² UFC /g
11	1,3 x 10 ² UFC /g
12	2,1 x 10 ² UFC /g

Fonte: Elaborada pela autora.

Apesar de atender aos padrões da legislação RDC nº 12, pode-se observar que algumas amostras apresentaram quantidades consideráveis do micro-organismo. Em um estudo realizado na cidade de Campinas-SP, observou-se a presença deste contaminante em apenas duas das 376 amostras de linguiça frescal analisadas (BROMBERG *et al.*, 2001). De acordo com o relatado por Silva (2010), das 116 amostras de alimentos variados analisados, nove estavam contaminadas por clostrídio sulfito redutor, tornando este patógeno o terceiro maior causador de toxinfecções alimentares na cidade de Ribeirão Preto-SP, entre 2005 e 2008. Em estudo semelhante realizado por Ristori *et al.* (2006) observou-se a incidência de contaminação de clostrídio em pratos prontos, no estado de São Paulo, entre 2002 e 2004.

Conforme descreve Franco e Landgraf (2008), *Salmonella spp.* são bactérias Gram-negativas não produtoras de esporos, aeróbias facultativas, sendo a maioria móvel, com flagelos peritríquios. Podem ser classificadas em seis grupos: A,B,C¹,C²,D¹,E¹, de acordo com a produção de antígenos. Tem o crescimento ótimo entre 35-37 C, pH próximo de 7,0. São inibidas em concentrações de sal acima de 9% e pelo conservante nitrito de sódio. A intoxicação por *Salmonella* pode causar três tipos de doenças: febre tifóide, representando a forma mais grave, febres entéricas e as enterocolites, também denominadas salmoneloses. Os principais alimentos envolvidos em surtos são: leite, carne de aves e vegetais crus. A forma mais eficaz de prevenção de salmoneloses é o aquecimento adequado e manutenção da temperatura do alimento (FRANCO; LANDGRAF, 2008).

Em relação aos resultados obtidos neste trabalho, observou-se a ausência de *Salmonella spp.* em todas as 12 amostras de linguiça, atendendo os padrões estabelecidos pela RDC nº 12. Em estudo divulgado por Alves e Ueno (2010), também obteve-se resultado semelhante, onde todas as amostras de alimentos preparados e coletados de restaurantes tipo *self service* na cidade de Taubaté-SP, apresentaram ausência da bactéria.

Em contrapartida, Silva *et al.* (2010) descreveram a contaminação de duas das 116 amostras

de alimentos analisadas na cidade de Ribeirão Preto-SP, considerando-as impróprias ao consumo, sendo que os resultados foram obtidos de linguiça caseira e bolo confeitado. Em estudo divulgado por Souza *et al.* (2014) observaram resultado parecido, onde 30% das amostras de linguiça estavam contaminadas pelo patógeno. Cortez *et al.* (2004) também descreveram a presença de *Salmonella* em 8 das 106 amostras de linguiça coletadas na cidade de Jaboticabal-SP.

5.2 Quantificação de nitrato e nitrito

Os resultados obtidos na análise para quantificação de nitrato e nitrito de sódio, variaram entre 0,000016- 0,036808 para nitrito e 0,000062- 0,018845 para nitrato, conforme Tabela 6.

Tabela 6: Quantificação de nitrato e nitrito em linguiças frescas produzidas no município de Pouso Alegre-MG, em Julho de 2018.

Amostras	Nitrito (g/100 g)	Nitrato (g/100 g)
1	0,000016	0,000337
2	0,006322	0,000062
3	0,036808	0,000963
4	0,004594	0,001766
5	0,012972	0,001279
6	0,031040	0,005236
7	0,004418	0,000675
8	0,008776	0,015689
9	0,008307	0,015318
10	0,006000	0,005774
11	0,007576	0,012649
12	0,008162	0,018845

Fonte: Elaborada pela autora.

Os valores da Tabela 6 referem-se à média entre as análises, com desvio de no máximo \pm 6,0%. A legislação vigente limita a 0,015g/100g para nitrito de sódio e 0,030g/100g para nitrato de sódio.

É interessante frisar que a amostra 1 apresentou baixos teores de nitrito e nitrato. Em relação às quantidades de nitrato, todas as amostras permaneceram dentro do permitido previsto em legislação.

Observa-se que as amostras 3 e 6 excedem os limites de nitrito estabelecidos pela Instrução Normativa Nº 20 de 21.07.99, representando 16,7% das amostras. Resultado semelhante foi apresentado por Ferrão *et al.* (1999), que após análise de 60 amostras de linguiça fresca na cidade de Belo Horizonte-MG, verificou que 13,3% ultrapassaram o teor de nitrito recomendado pela legislação.

Tabela 7: Quantificação de nitrito de sódio (NaNO₂) em 12 amostras de linguiça fresca produzidas e comercializadas no município de Pouso Alegre-MG, segundo estabelecido pela Instrução Normativa Nº 20 de 21 de julho de 1999.

Conservador	Parâmetro	Total de amostras	Nº amostras em desacordo
Nitrito de sódio (NaNO ₂)	0,015g/100g	12	2
Nitrato de sódio (NaNO ₃)	0,030g/100g		-

Fonte: Elaborada pela autora.

No estudo descrito por Oliveira *et al.* (2017), onde analisaram produtos cárneos na cidade de Avaré-SP, 2 entre as 270 amostras de linguiça apresentaram teores de nitrito acima da média. Já no estudo de Souza *et al.* (2009), de 110 amostras, 3 estavam com teor de conservadores além do permitido.

A variação nas concentrações de conservadores químicos utilizados em embutidos foi descrita por Oliveira *et al.* (2005) e pode indicar uma falta de controle por parte das indústrias, ocasionando prejuízos à saúde do consumidor. O uso indiscriminado destes aditivos pode trazer vários problemas aos que fazem uso regular destes produtos, tendo em vista que estes aditivos apresentam efeitos cancerígenos, teratogênicos e mutagênicos (SOUZA, 2014).

Um fato interessante que pode ser observado, é que as amostras com maior índice de contaminação por *Estafilococos* Coagulase positiva, são as que obtiveram o menor teor de conservadores nitrato e nitrito de sódio obtido através de análise química, podendo sugerir que a utilização dos níveis recomendados dos sais de cura previne o crescimento deste patógeno, conforme já relatado por (OLIVEIRA, 2014).

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Todas as amostras de linguiça fresca apresentaram crescimento de coliformes termotolerantes, estafilococos e clostrídio sulfito-redutor. Apesar de atender aos padrões exigidos pela RDC nº 12, é importante uma fiscalização mais ampla, uma vez que a legislação permite limites altos para a contagem destas espécies.

Nas análises de conservadores, 16,7% das amostras excederam o limite máximo permitido para nitrito de sódio. Em relação ao nitrato de sódio, todas as amostras estão dentro do limite estabelecido pela Instrução Normativa nº 20, de 21/07/99. Podemos observar que não há um padrão na adição dos conservadores durante o processamento da linguiça, demonstrado pela variação nos teores apresentados na Tabela 6.

7 ASPECTOS ÉTICOS

Os responsáveis pelas indústrias e salas de manipulação, foram esclarecidos em relação ao objetivo da coleta, bem como o total sigilo e confidencialidade das informações obtidas.

REFERÊNCIAS

ADAMI, F.S., GIOVANAZ, L.S., ALTENHOFEN, G., BOSCO, S.M.D., MARCADENTIA, A., OLIVEIRA, E.C. Análise microbiológica e de nitrito e nitrato em linguiça. **Scientia Plena**, Sergipe, v. 11, n. 05, 2015.

AHN, H.J.; KIM, J.H; JO, C.; YOOK, H.S; LEE, H.J.; BYUN, M.W. N-nitrosamine reduction in salted and fermented anchovy sauce by ionizing radiation. **Food Control**, v. 14, n.8, p. 553-557, 2003.

AHLERT, L. **Estratégias para a pequena produção agropecuária com base no mercado consumidor do Vale do Taquari**. 2001. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Produção) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2001.

ALVES, M.G.; UENO, M. Restaurantes self-service: Segurança e Qualidade Sanitária dos Alimentos servidos. **Revista de Nutrição**, Campinas, v. 23, n.4, p.573-580, 2010.

AL-SHUIBI, A.M., AL-ABDULLAH, B.M. Substitution of nitrit by sorbat nad effect on properties of mortadella. **Meat Science**, v. 62, p. 473-478, 2002.

ANDRADE, R. **Desenvolvimento de Métodos Analíticos para determinação de Nitrato, Nitrito e N-nitrosaminas em Produtos Cárneos**. 2004. 201 f. Tese (Doutorado em Química) – Departamento de Química Analítica, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2004.

AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION. **Standard methods for the examination of water and wast e water**. 17. ed. Washington: [s.n.], 1992. p.4-75/ 4-93.

ANTÓN, A.; LIZASO, J. **II Seminário Internacional FUNDISA: Seguridad alimentaria de la carne y los productos cárnicos: Nitritos, Nitratos y Nitrosaminas**. [S.l.]: [s.n.], 2003.

BARBOSA, M.B.C.; THIAGO, M.S.; SANTOS, W.L.M.; MARTINS, N.E. Avaliação da qualidade microbiológica de linguiças frescas de carne suína no município de Sete Lagoas. **Revista Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 17, n. 104/105, p.20-21, 2003.

BARTSCH, H.; MONTESANO, R. Relevance of nitrosamines to human cancer. *Carcinogenesis*, v.5, p. 1381-1393, 1984.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **RDC nº 12, de 02 de janeiro de 2001**. Regulamento Técnico sobre Padrões Microbiológicos para Alimentos. Disponível em: www.anvisa.gov.br. Acesso em: 02 dez. de 2015.

_____. **Portaria nº 1004, de 11 de dezembro de 1998**. Aprova o Regulamento Técnico: "Atribuição de Função de Aditivos, Aditivos e seus Limites Máximos de uso para a Categoria 8 - Carne e Produtos Cárneos", constante do Anexo desta Portaria. Disponível em: www.anvisa.gov.br. Acesso em: 01 dez. de 2015.

_____. Ministério da Agricultura e do Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. **Instrução Normativa nº 4, de 31 de março de 2000**. Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Linguiça. Disponível em: www.anvisa.gov.br. Acesso em: 01 de dez. de 2015.

_____. **Instrução Normativa nº 20, de 21 de julho de 1999**. Métodos Analíticos Físico-químicos para Controle de Produtos Cárneos e seus Ingredientes – Sal e Salmoura. Disponível em: www.anvisa.gov.br. Acesso em 05 de jan. de 2017.

_____. Ministério da Agricultura. Secretaria Nacional de Defesa Agropecuária. **Portaria nº 371, de 04 de setembro de 1997**. Regulamento Técnico para Rotulagem de Alimentos Embalados. Disponível em: www.anvisa.gov.br. Acesso em: 02 dez. de 2015.

_____. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Política Agrícola. **Projeções do Agronegócio: Brasil 2017/ 18 a 2027/ 28: Projeções de longo prazo**. Brasília: MAPA, 2018. Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br/assuntos/politica-agricola/todas-publicacoes-de-politicaagricola/projecoes-do-agronegocio>. Acesso em: 22/12/2018.

_____. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância Sanitária. **Portaria RDC nº 216, de 15 de setembro de 2004**. Regulamento Técnico de Boas Práticas para Serviços de Alimentação. Disponível em: www.anvisa.gov.br. Acesso em: 06 jan. 2017.

BRESSAN, M.C.; PRADO, O.V.; MENEGATTI, D.V.; JARDIM, N.S.; CONCEIÇÃO, A. **Fabricação de Linguiças Caseiras**. Lavras: UFLA, [200-]. Disponível em: <http://www.editora.ufla.br/index.php/boletins-tecnicos-e-de-extensao/boletins-de-extensao>. Acesso em: 19 fev. de 2017.

BROMBERG, R.; YAMADA, E.A.; MIYAGUSKU, L. Estudos da qualidade microbiológica de carnes e produtos cárneos crus resfriados. *In*: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS, 17., 2000, Fortaleza. **Resumos [...]**.Fortaleza: SBCTA, Universidade Federal do Ceará. 2000. v.1, p.122.

BRUNING-FANN, C.S., KANEENE, J.B. The effects of nitrate, nitrite, and n-nitroso compounds on human health: a review. **Veterinary and Human Toxicology**, v. 35, p. 521-538, 1993.

CATO, E. P.; LANCE GEORGE, W.; FINEGOLD, S. M. Genus *Clostridium*. *In*: **Bergey's Manual of Systematic Bacteriology**, USA, p. 1141-1200, 1986.

CENSO demográfico 2010. **Sinopse do Censo demográfico 2010**: Minas Gerais.[S.l.]: IBGE, 2010. Disponível em: <https://censo2010.ibge.gov.br/sinopse/index.php?dados=29&uf=31>. Acesso em: 06 jan. 2019.

CHEVALIER, T.W., Inan, U.S. and Bell, T.F. Characterization of terminal impedance and radiation properties of a horizontal VLF antenna over Antarctic ice. **Radio Science**, n. 41, 2006.

CORTEZ L.L.;CARVALHO A.C.F.B.;AMARAL,L.A.;SALOTTI B.M.; VIDAL-MARTINS A.M.C. Coliformes fecais, estafilococos coagulase positiva (ECP), *Salmonella* spp. e *Campylobacter* spp. em linguiça frescal. **Alim. Nutr.**, n. 15, p. 215-220, 2004.

CRADDOCK, V.M. A etiology of oesophageal câncer: some operative fators. **Europeun Journal of Cancer Prevention**, v.1, p. 89-103, 1992.

DIAS, R. P.; DUARTE, T. F. **Processamento de Linguiça Frescal e Defumada de Caprinos e Ovinos**: Prática/Processo Agropecuário Embrapa: Comunicado Técnico 78. [S.l.]: [s.n.], 2007. Disponível em: http://www.cnpc.embrapa.br/admin/pdf/0134440012154_cot78.pdf. Acesso em: 23 set. 2017.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. Embrapa Caprino e Ovinos. **Passo a passo para a elaboração industrial da linguiça**. Sobral: CE, 2008.

FERRÃO, S.P.B.; SANTOS, W.L.M.; VERSIANI, C.V. Determinação de nitritos em linguiças frescas comercializadas em Belo Horizonte – M.G. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 13, n. 61, abr./maio, 1999.

FLORES, A. M. P. C.; MELO, C. B. Principais Bactérias Causadoras de Doenças de Origem Alimentar: Artigo de revisão. **Rev. Bras. Med. Vet.**, v. 37, n. 1, p. 65-72, jan./mar. 2015. Disponível em: http://www.rbmv.com.br/pdf_artigos/18-05-2015_18-26RBMV105.pdf. Acesso em: 14 jul. 2018.

FRANCO, B.D.G.M. Importância dos micro-organismos nos alimentos. *In: Microbiologia dos Alimentos*. São Paulo: Editora Atheneu, 2008. p. 11-196.

_____; LANDGRAF, M. Micro-organismos patogênicos de importância em alimentos. *In: Microbiologia dos Alimentos*. São Paulo: Editora Atheneu, 2008. p. 39-41.

FURTADO, M. M. **Principais problemas dos queijos: causas e prevenção**. São Paulo: Fonte Comunicação e Editora; 1999.

GARDOLINSKI, P.C.F.C.; DAVID, A.R.J.; WORSFOLD, P.J. Miniature flow injection analyser for laboratory, shipboard and in situ monitoring of nitrate in estuarine and coastal Waters. **Talanta**, n. 58, p. 1015, 2002.

HIVERY, D.C.; FAZIO, T. Human exposure to nitrosamines from feeds. **Food Technology**, v.79, p. 80-83, 1985.

HILL, M.J. Nitrate toxicity: myth or reality. **British Journal of Nutrition**, v. 81, p. 343-344, 1999.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Pesquisa industrial: produto 2009**. Disponível em: <http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/economia/industrial/pia/produtos/produto2009/defaulttabp df.shtm>. Acesso em: 13 jun. 2016.

INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARTIZATION. **ISO 6888-1**. Microbiologia de alimentos e de produtos de alimentação animal: Métodos Horizontais para enumeração de estafilococos coagulase-positivos (*Staphylococcus aureus* e outras espécies): Parte 1: Técnicas usando meio Agar Baird- Parker. [S.l.]: ISO, 1999.

_____. **ISO 15213**. Microbiologia de alimentos e de produtos de alimentação animal: Método horizontal para enumeração de bactérias sulfito-redutoras crescendo em condições anaeróbias.[S.l.]: ISO, 2004.

_____. **ISO 6579-1**. Microbiology of the food chain: Horizontal method for the detection, enumeration and serotyping of *Salmonella*: Part 1: Detection of *Salmonella* spp. [S.l.]: ISO, 2017.

_____. **ISO 6579**. Microbiologia de alimentos e alimentação de animais: Método horizontal para a detecção de *Salmonella* spp.4. ed. [S.l.]: ISO, 2002

JORDA, G. B.; MARUCCI, R. S.; GUIDA, A. M.; PIRES, P. S.; MANFREDI, E. A. Portación y caracterización de *Staphylococcus aureus* en manipuladores de alimentos. **Argentina Journal of Microbiology**, Buenos Aires, v. 44, n. 2, 2012.

KILFOY, B. A.; ZHANG, Y.; PARK, Y.;HOLFORD,T. R.;SCHATZKIN, A.; HOLLENBECK, A. *et al.* Dietary nitrate and nitrite and the risk of thyroid cancer in the NIH-AARP Diet and Health Study. **Int J Cancer**, v. 1, n. 129, 2011, p. 160-72.

LANDGRAF, M. Deterioração microbiana dos Alimentos. *In: Microbiologia dos Alimentos*. São Paulo: Editora Atheneu, 2008a.

_____. Microrganismos indicadores. *In: Microbiologia dos Alimentos*. São Paulo: Editora Atheneu, 2008b.

LEITE, O.A. **Aspectos físico-químicos de interesse higiênico-sanitário e tecnológico de linguiças frescas**. 1989. 67 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) - Faculdade de Veterinária, Universidade Federal Fluminense, 1989.

LEMOS, A. L. S. C.; YAMADA, E. A.; HAGUIWARA, M. M. H. **Processamento de Embutidos Cárneos**. Campinas: ITAL: Centro de Tecnologia de Carnes, 2008.

LUNDGREN, P.U.; SILVA, J.A.; MACIEL, J.F.; FERNANDES, T.M. Profile of the hygienic-sanitary quality of bovine meat market ed at free markets and public markets of João Pessoa/PB-Brasil. **Alimentos e Nutrição**, Araraquara, v.20, n.1, p.113-119, 2009.

MACHADO, L.A.P, LUCCA, F., ALVES, J., POZZOBON, A., BUSTAMANTE-FILHO, I.C. Prevalência e genotipagem de *Escherichia coli* patogênica em carcaças de suínos abatidos em frigoríficos comerciais na Região Sul do Brasil. **Rev. Bras. Hig. Sanid. Anim**, 2014; n. 8, p. 129-146.

MAGEE, P.N.; BARNES, J.M. The production of malignant primary hepatic tumors in the rat by feeding dimethyl nitrosamine. **British Journal of Cancer**, v.10, p.114-122, 1967.

MARQUES, S.C.; BOARI, C.A.; BRCKO, C.C.; NASCIMENTO, A.R.; PICCOL, R.H. Avaliação higiênico-sanitária de linguiças tipo frescal comercializadas nos municípios de Três Corações e Lavras-MG. **Ciência Agrotécnica**, Lavras, v.30, n.6, p.1120-1123, 2006.

MATTICK, K.L; BAILEY, R.A.; JORHENSEN, F.; HUMPHREY, T.J. The prevalence and number of *Salmonella* in sausage and their destruction by frying, grilling or barbecuing. **J Appl Microbiol**, n. 93, p. 541-7, 2002.

MELO FILHO, A.B.; GUERRA, N.B. Avaliação da qualidade nutricional de produtos cárneos: salsichas e mortadelas comercializadas na Região Metropolitana do Recife. *In*: CONGRESSO LATINOAMERICANO DE NUTRICIONISTAS-DIETISTAS, 1998, Montevideo. **Anais [...]**. 1998. p. 186.

MILANI, L.I.G. Bioproteção em linguiças Brasil. Universidade Federal de Santa RS. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, v. 23, n. 2, p. 161-166, 2003. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0101-20612003000200010. Acesso em: 25 set. 2017.

OLIVEIRA, M.J.; ARAÚJO, W.M.C.; BORGIO, L.A. Quantificação de nitrato e nitrito em linguiças do tipo frescal. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 25, n. 4, p. 736-742, 2005.

OLIVEIRA, E.M.D. **Nitrato, nitrito e sorbato em produtos cárneos consumidos no Brasil**. Araraquara. 2014.41 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Ciências Farmacêuticas) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas. Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – UNESP, São Paulo, 2014.

OLIVEIRA, J.F.; SILVA, U.R.; PASTORE, V.A.A.; AZEVEDO, E.C.; CAMPOS, G.M.; RAGHIANTE, F.; MARTINS, O.A. Determinação espectrofotométrica de nitrito em produtos cárneos embutidos. **Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal**, v.11, n.1, p. 19-31, jan – mar. 2017. Acesso em: 15 ago. 2018.

OLIVEIRA, C.J., BARBOSA, F.B., SÁ, G.A.F., DOMINGUES, J.S., ZALESKI, M., SILVA, N.R., CÂMARA, S.A.V., COSTA, T.C.S. **Guia para Gerenciamento de Riscos Sanitários em Alimentos**. Disponível em: http://bvs.panalimentos.org/local/File/Cap7_Linguica_Frescal_Mato_Grosso_do_Sul_Guias_para_gerenciamento_riscos_sanitarios_em_alimentos.pdf. Acesso em: 06 jan. 2017.

PAULINO, F. de O. **Efeito da redução de gordura e substituição parcial de sal em linguiça suína tipo toscana**. 2005. Dissertação (Mestrado em Higiene Veterinária e Processamento Tecnológico de Produtos de Origem Animal) - Universidade Federal Fluminense, Niterói, 2005.

PEREIRA, J.G; CORREIA, L.M.M; PINTO, J.P.A.N; BARCELLOS, V.C.; BERSOT, L.S. Comportamento de *Staphylococcus aureus* e microbiota autóctone frente à ação de nitrito de sódio em linguiças frescas estocadas sob refrigeração. **Cienc. Rural**, Santa Maria, v. 44, n. 10, 2014.

POUSO ALEGRE (MG). **Lei ordinária nº 4493, de 21 de julho de 2006**. Dispõe sobre a inspeção e a fiscalização de produtos de origem animal do município de Pouso Alegre e dá outras providências. *Jornal O Município*, Pouso Alegre, nº 228, 2006. Página 11.

_____. **Decreto nº 2920, de 08 de janeiro de 2007**. Dispõe sobre o regulamento da inspeção sanitária e industrial dos produtos de origem animal do município de Pouso Alegre – MG. *Jornal O Município*, Pouso Alegre, nº 233, 2007. Página 15.

POTTER, J.D., Nutrition and colorectal câncer. **Cancer Causes Control**. v.7, n.1, p. 127-146, 1996.

RANTSIOU, K.; IACUMIN, L.; COMI, G. Characterisation of naturally fermented sausages produced in the North East of Italy. **Meat Science**. v. 69, p. 381-392, 2005.

RISTORI, C.A.; SAKUMA, H.; PAULA, A.M.R.; ROWLANDS, R.E.G.; LOPES, G.I.L.; PISANI, B. et al. Elucidação de Surtos de Doenças Transmitidas por Alimentos, no Estado de São Paulo, no período de julho de 2002 a dezembro de 2004. **Bol. Inst. Adolfo Lutz**, v. 16, n. 1, p. 14-15, 2006.

ROBACH, M.C., TO, E.C., MEYDAV, S. COZEIRO, C.F. Efeito dos sorbatos sobre o crescimento microbiológico em produtos cozidos da Turquia. **Food Science**, v.45, p. 638-640. 1980.

SALVATORI, R.V.; BESSA, M.C.C.; ITAPEMA, M.R. Qualidade sanitária de embutidos coletados no mercado público central de Porto Alegre – RS. **Ciênc. Rural**, v. 33, n. 4, p. 771-3, 2003.

SECRETARIA DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE. Vigilância epidemiológica das doenças transmitidas por alimentos no Brasil, 1999-2004. **Boletim Eletrônico Epidemiológico**, ano 5, n. 6, [2004]. Disponível em: <http://portalarquivos2.saude.gov.br/images/pdf/2014/julho/15/Ano05-n06-ve-dta-brasil-completo.pdf>. Acesso em: 19 ago. 2018.

SILVA JUNIOR, E. A. **Manual de Controle Higiênico-sanitário em Serviços de Alimentação**. São Paulo. Ed. Varela, 2010.

SILVA, E., P.; BERGAMINI, A.M.M.; OLIVEIRA, M.A. Alimentos e agentes etiológicos envolvidos em toxinfecções na região de Ribeirão Preto, SP, Brasil - 2005 a 2008: BEPA, **Bol. Epidemiol (online)**, São Paulo, v. 7, n. 7, 2010.

SILVA, M. P.; CAVALLI, D. R.; OLIVEIRA, T. C. R. M. Avaliação do Padrão Coliformes a 45°C e Comparação da Eficiência das Técnicas dos Tubos Múltiplos e Petrifilm EC na detecção de coliformes totais e *Escherichia coli* em Alimentos. **Ciênc. Technol. Aliment.**, Campinas, v. 26, n. 2, p. 352-359, abr./jun. 2006.

SILVA, D.R. Os Efeitos da Operação Carne Fraca na Imagem do Brasil. **Revista Estratégia Organizacional**, v. 5, n. 1-2, p. 49-58, 2016.

SOFOS, J. N. **Sorbate Food Preservatives**. Florida: CRC Press, 1989.

SOUZA, M., PINTO, F.G.S., BONA, E.A.M., MOURA, A.C. Qualidade higiênico-sanitária e prevalência de sorovares de *Salmonella* em linguiças frescas produzidas artesanalmente e inspecionadas, comercializadas no oeste do Paraná, Brasil. **Arq. Inst. Biol.**, n. 81, p. 107-112, 2014.

SOUZA, P.A.; FALEIROS, R.R. S.; SOUZA, H.B.A. Dosagem de nitrito e nitrato em produtos embutidos de carne. **Alimentação e Nutrição**, São Paulo, v. 2, p. 27- 34, 1990.

TEIXEIRA, A.L., NASCIMENTO, A.P., SOUZA, D.F.F., MAIA, P.P. **Avaliação dos Níveis de Nitrato e Nitrito em amostras de bebidas lácteas comercializadas na cidade de Lavras/MG**. Revista da Universidade Vale do Rio Verde, Três Corações, v.12, n. 1, p. 85-89, jan/jul. 2014.

TESSMANN, C; LIMA, A.S.; DUVAL, E.H.; MACEDO, M.R.P.; SILVA, W.P. Prevalência de *Salmonella SP* e *Sthapylococcus aureus* em linguiças do tipo frescal derivadas de carne suína. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MICROBIOLOGIA. 21. 2001. **Anais [...]**. [S.l.: s.n.], 2001.p. 390.

TAKAHASHI, G. Ingredientes e suas funções na fabricação de produtos cárneos. **Revista Nacional da Carne**, São Paulo, n. 199, p. 14-18, 1993. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_nlinks&ref=000073&pid=S15168913199900020000800018&lng=pt. Acesso em: 20 set.2017.

TURRA, M.; AYUB, M.A.Z. Estudo da variação do teor de nitritos e nitratos em embutidos coloniais: possíveis implicações para a saúde pública. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, São Paulo, v.58, n. 2, p. 113- 120, 1999.

TUTENEL, A. V.; PIERAD, D.; HOFF, J. V.; CORNELIS, M.; ZUTTER, L. Isolation and molecular characterization of *Escherichia coli* O157 isolated from cattle pigs and chickens at slaughter. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v. 84, n. 1, p. 63-69, 2003.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Food additives Series No 35:** Toxicological Evaluation of Certain Food Additives:Forty-fourth Reportof the Joint FAO/WHO Commiittee on Food Additives. Geneva, [s. n.], 1996.

_____.**Food safety and food borne illness.** [S. l.]: [s. n.], 2007. Disponível em:
<http://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/food-safety>. Acesso em: 19 ago. 2018.