

UNIVERSIDADE REGIONAL INTEGRADA DO ALTO URUGUAI E DAS MISSÕES
URI ERECHIM
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA DE ALIMENTOS

ADRIANE PEGORARO BRUSTOLIN

**Validação da vida útil de mortadela tipo Bologna e avaliação da estabilidade a
22°C em Unidade Industrial**

ERECHIM, RS – BRASIL

2017

ADRIANE PEGORARO BRUSTOLIN

Validação da vida útil de mortadela tipo Bologna e avaliação da estabilidade a 22°C em Unidade Industrial

Tese de Doutorado submetida ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos da URI Erechim, como requisito parcial a obtenção do Grau de Doutor em Engenharia de Alimentos, Área de Concentração: Engenharia de Alimentos, da Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões – URI Erechim.

Orientadoras: Dr^a. Eunice Valduga

Dr^a. Geciane Toniazzo Backes

ERECHIM, RS – BRASIL

2017

ADRIANE PEGORARO BRUSTOLIN

Validação da vida útil de mortadela tipo Bologna e avaliação da estabilidade a 22°C em Unidade Industrial

Tese de Doutorado submetida ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos da URI Erechim, como requisito parcial a obtenção do Grau de Doutor em Engenharia de Alimentos, Área de Concentração: Engenharia de Alimentos, da Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões – URI Erechim.

Erechim, 12 de dezembro de 2017.

BANCA EXAMINADORA

Prof^a. Dr^a. Eunice Valduga
URI Erechim

Prof^a. Dr^a. Geciane Toniazco Backes
URI Erechim

Dr. Jean Carlos Brustolin
Aurora Alimentos - Chapecó

Prof^a. Dr^a. Rosa Cristina Prestes Dornelles
UFSM –Santa Maria

Prof. Dr^a. Rosicler Colet
URI Erechim

Prof. Dr. Rogério Luis Cansian
URI Erechim

Dedico ao meu esposo Giovani e aos meus queridos filhos Helena e João.

AGRADECIMENTOS

A Deus, pelo dom da vida, pela graça de poder compartilhar da companhia de pessoas tão especiais, por possibilitar mais esse avanço na minha formação profissional.

A AURORA ALIMENTOS, pelo apoio, cooperação e incentivo à minha atualização profissional.

As professoras Eunice Valduga e Geciane Toniazzi Backes, as quais me ajudaram muito no decorrer desta tese e tenho grande admiração pessoal e profissional.

Aos bolsistas e demais professores do URI que contribuíram na execução desse trabalho.

Aos membros da banca pela compreensão e colaboração através das correções, sugestões e comentários tão pertinentes.

Aos funcionários da Aurora Alimentos: Gerente Adriano Tomalok ao Pesquisador Roberto Verlindo, a Coordenadora de Produtos – P&D Lisiane Neves Barbosa Lourenço, aos membros da equipe do controle de qualidade e da produção que contribuíram na execução dos trabalhos.

Aos meus pais e irmãos pelo incentivo sempre.

A todas as pessoas que colaboraram de alguma forma, na realização deste projeto.

Aos meus filhos Helena e João que foram o meu incentivo e inspiração.

Por fim, agradecer ao meu esposo Giovani Emerson Brustolin, pelo incentivo, pela ajuda, pelo apoio em todos os momentos.

Tenho em mim todos os sonhos do mundo.

(Fernando Pessoa)

RESUMO

O tratamento térmico representa uma etapa importante no processamento de produtos cárneos visando a segurança alimentar. Neste sentido, o objetivo do estudo foi avaliar o controle de *Streptococcus* D no tratamento térmico, elaborar e caracterizar formulações de mortadela tipo Bologna em unidade industrial. O controle físico foi efetuado em estufa industrial com a distribuição de sensores de temperatura em pontos geometricamente distribuídos em oito posições diferentes da estufa e do núcleo do produto. Foram elaboradas duas formulações (Formulação 1 e Formulação 2), caracterizadas e avaliadas a estabilidade ao armazenamento a 22°C, quanto a características físico-químicas (pH, aw, umidade, proteína, gordura, oxidação lipídica: TBARs e índice de peróxidos, nitrito/nitratos, textura e análise térmica: TG), sensoriais (aceitabilidade), microbiológicas (*Clostridium* sulfito redutor, *Streptococcus*, *Salmonella* sp, mesófilos e coliformes termo intolerante), histológica (organização e distribuição tecidual). As temperaturas de ponto frio da estufa Brusinox foram de 71,87 e 71,80°C, na região próxima a porta de acesso dos produtos. Para uma redução teórica de 8 ciclos logarítmicos (8D) do micro-organismo de referência *Streptococcus* D no processo de cozimento de 7 h atingindo-se 73°C no interior do produto no ponto frio da estufa, o valor letal obtido (F_{cal}) foi de 101,52 min. superior ao valor letal de referência (F_{ref}) de 23,6 min, garantindo a inocuidade do produto. Em relação a atividade de água (aw) a Formulação 2 apresentou 0,948, menor índice de TBARS (0,18 mg MDA/Kg), menor dureza (33877 gf), 85% de índice de aceitação e maior perda de massa pela análise térmica aos 60 dias de armazenamento. A análise multivariada demonstrou que a dureza apresenta correlação negativa ($>0,72$) em relação a adesividade, coesividade, resiliência e aw. Há, também, forte correlação positiva ($>0,85$) da coesividade em relação a resiliência e aw, bem como, do TBARs em relação ao pH e aw e, também, da cor L^* em relação a cor a^* , b^* , índice de peróxido, aw e pH. No entanto, o teor de nitrito/nitrato tem correlação negativa ($>0,67$) em relação aos índices de cor a^* e b^* , gordura, TBARs e pH. Assim, ressalta-se a importância da otimização do tratamento térmico, bem como do processo de elaboração de produtos cárneos emulsionados, visando agregar valor e garantir a segurança alimentar, atendendo os aspectos legais vigentes.

Palavras-chave: Segurança; *Enterococcus faecalis*, Cozimento; Estufas; Estabilidade.

ABSTRACT

Heat treatment represents an important step in the processing of meat products for food safety. In this sense, the objective of the study was to evaluate the predictive control of *Streptococcus* D in the thermal treatment, to elaborate and characterize formulations of mortadella type Bologna in industrial unit. The physical control was carried out in an industrial stove with the distribution of temperature sensors in points geometrically distributed in eight different positions of the stove and the center of the product. Two formulations were elaborated (Formulation 1 and Formulation 2), characterized and evaluated the storage stability at 22°C for physicochemical characteristics (pH, aw, humidity, protein, fat, lipid oxidation: TBARs and peroxide index, nitrite/nitrates, texture and thermal analysis: TG), sensorial (acceptability), microbiological (*Clostridium* sulfite reductant, *Streptococcus*, *Salmonella* ssp, mesophiles and coliform thermosensitive), histological (organization and tissue distribution). The cold point temperatures of Brusinox stove were 71,87 and 71,80°C, located in the region near the access door of the products. For a theoretical reduction of 8 log cycles (8D) of the reference microorganism *Streptococcus* D in the 7 h cooking process reaching 73 °C inside the product at the cold point of the stove, the lethal value obtained (F_{cal}) was of 101.52 min. higher than the reference lethal value (F_{ref}) of 23.6 min, guaranteeing the safety of the product. In relation to the activity of (aw) Formulation 2 presented 0.948 and also had lower TBARS (0.18 mg MDA/kg) and lower hardness (33877 gf), 85% acceptance index and greater mass loss by thermal analysis at 60 days of storage. The multivariate analysis showed that the hardness presents negative correlation (> 0.72) in relation to adhesiveness, cohesiveness, resilience and aw. There is also a strong positive correlation (> 0.85) of the cohesiveness in relation to the resilience and aw, as well as of the TBARs in relation to the pH and aw and also of the color L* in relation to color a*, b*, peroxide index, aw and pH. However, the nitrite/nitrate content has a negative correlation (> 0.67) in relation to the color indices a* and b*, fat, TBARs and pH. Thus, the importance of the optimization of the heat treatment, as well as the process of elaboration of emulsified meat products, is emphasized, aiming to add value and guarantee food safety, taking into account the current legal aspects.

Keywords: Safety; *Enterococcus faecalis*, Cooking; Stove; Stability.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1: Fluxograma de produção de mortadela.	20
Figura 2: Valor de Z (destruição térmica dos micro-organismos).	23
Figura 3: Reação de redução do NaNO_3 a NaNO_2 por ação de bactérias.	27
Figura 4: Descrição das etapas do processamento de mortadela tipo Bologna.	38
Figura 5: Aspecto da massa emulsionada da mortadela no cutter em unidade industrial.	39
Figura 6: Distribuição das mortadelas na estufa antes de cozimento em unidade industrial.	39
Figura 7: Esquema de distribuição dos sensores e distribuição de calor nas estufas de cozimento.	41
Figura 8: Distribuição da temperatura em diferentes regiões da estufa (Brusinox) de cozimento de mortadela.	48
Figura 9: Evolução da temperatura de cozimento do núcleo do produto Estufa (Brusinox).	50
Figura 10: Faixas de temperatura de estabilidade térmica das formulações de mortadela tipo Bologna.	58
Figura 11: Análise dos Componentes Principais (ACP) das formulações de mortadela no 60º dia de armazenamento a 22°C. (a) Parâmetros avaliados; (b) Distribuição das formulações (Formulação 1 e Formulação 2).	61
Figura 12: Fotomicrografia da mortadela tipo Bologna Formulação 1 (A-F) e Formulação 2 (G-L). ..	64

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Valor Z de diversos micro-organismos relacionados na literatura.	30
Tabela 2: Programação do tempo e temperatura de cozimento mortadela na estufa.	40
Tabela 3: Distribuição da temperatura média em diferentes regiões da estufa (Brusinox).	49
Tabela 4: Valor letal para o <i>Streptococcus</i> D, obtido para a mortadela tipo Bologna no cozimento a 73°C e dados da literatura.	50
Tabela 5: Atividade de água, pH, nitrito e nitratos, índices de cor, TBARs e índice de peróxidos para as formulações de mortadela tipo Bologna.	53
Tabela 6: Teores de umidade, proteína e gordura das formulações de mortadela tipo Bologna (Formulação 1 e 2) armazenadas a 22°C por 60 dias.	56
Tabela 7: Perfil de textura das formulações de mortadela tipo Bologna.	56
Tabela 8: Análise microbiológica das formulações de mortadela tipo Bologna armazenadas a 22°C por 60 dias.	59
Tabela 9: Aceitabilidade das formulações de mortadela tipo Bologna no 60º dia de armazenamento a 22°C.	59
Tabela 10: Matriz de correlação de Pearson com as variáveis umidade, proteína, gordura, dureza, adesividade, elasticidade, L*, a*, b*, T, índice de peróxido, coesividade, gomosidade, resiliência, mastigabilidade, nitritos, aw, pH e aceitabilidade das formulações de mortadela no 60º dia de armazenamento à 22°C.	62

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	12
2	OBJETIVO GERAL	14
	2.1 Objetivos Específicos.....	14
3	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	15
	3.1 Industrialização de Carnes	16
	3.2 Mortadela.....	17
	3.3 Processamento na Indústria.....	19
	3.3.1 Formulação do produto.....	20
	3.3.2 Emulsão Cárneas.....	20
	3.3.3 Embutimento	21
	3.3.4 Envoltório (tripa) artificial.....	21
	3.3.5 Tratamento Térmico	22
	3.3.6 Armazenamento.....	26
	3.4 Aspectos que afetam a qualidade dos produtos cárneos	26
	3.4.1 Microbiológicos	26
	3.4.2 Atividade de água (A_w)	32
	3.4.3 Cor.....	34
	3.4.4 pH.....	34
	3.4.5 Reações de oxidação de lipídios	35
	3.5 Estudo da Arte - Considerações Finais.....	35
4	MATERIAL E MÉTODOS	37
	4.1 Elaboração de Formulações de Mortadela.....	37
	4.2 Avaliação do Tratamento Térmico	40
	4.2.1 Controle Físico	40
	4.2.2 Controle Biológico	41
	4.3 Caracterização e avaliação da estabilidade do produto.....	42
	4.3.1 Determinações Físico-Químicas	43
	4.3.2 Determinação microbiológica	45
	4.3.3 Análise Sensorial	46
	4.3.4 Análise Histológica.....	46
	4.3.5 Análise Estatística.....	47
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	48
	5.1 Análise do Tratamento Térmico	48
	5.1.1 Temperatura Crítica da Estufa – Ponto Frio	48
	5.1.2 Resistência Térmica do <i>Streptococcus D</i> no Produto	49
	5.2 Caracterização e Estabilidade das Formulações de Mortadela	51

5.2.1	Caracterização histológica	63
6	CONCLUSÕES	65
6.1	Sugestões	66
7	BIBLIOGRAFIA.....	67
	APÊNDICE A – Ficha de Avaliação	78
	APÊNDICE B – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido	79

1 INTRODUÇÃO

A legislação brasileira define a mortadela como um produto cárneo industrializado, obtido de uma emulsão das 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. As características do produto tido como mortadela variam de acordo com a classificação. Para mortadela da linha popular, ou seja, a mais simples, existem padrões diferenciados das mortadelas do tipo Bologna e Italiana. Na formulação da mortadela do tipo Bologna empregam-se carnes bovina e/ou suína e/ou ovina e carnes mecanicamente separadas (CMS) até o limite máximo de 20%, miúdos comestíveis de bovino e/ou suíno e/ou ovino (estômago, coração, língua, rins, miolo, medula, tendões e pele) e gorduras (BRASIL, 2000).

O grande desafio das indústrias alimentícias, que elaboram produtos cárneos cozidos, é a validação dos processos térmicos, de forma a promover a inocuidade microbiológica dos mesmos. Sendo assim, para assegurar a conservação de produtos cárneos devem ser realizadas combinações de fatores que envolvem diversos controles e boas práticas durante o processo produtivo (autocontroles), ajuste de matéria-prima (percentual de gordura), tratamento térmico (cozimento), embalagem (barreira) e ingredientes, que influenciam diretamente nos fatores intrínsecos do produto.

Em termos de tratamento térmico, a primeira informação necessária é a definição do micro-organismo alvo ou mais resistente do processo em questão (SHUXIANG et al., 2018). Os estreptococos pertencentes ao grupo sorológico D podem ser divididos em dois grupos fisiologicamente diferentes, *Streptococcus faecalis* e *Streptococcus faecium*. O grupo de micro-organismos *Streptococcus* D são considerados mais resistentes, citados como indicadores da eficiência do tratamento térmico (STUMBO, 1965; REICHERT, 1988; JAY, 2005; KNIPE & RUST, 2009, SHUXIANG et al., 2018) e os de maior importância em produtos cárneos pasteurizados. Segundo Marcotte et al. (2008) e Reichert (1988) os *Enterococcus* são mais resistentes que a *Salmonella*, *Listeria* e *Staphylococcus* e estão diretamente relacionados com a contagem bacteriana total (PITTIA et al., 2008). Entretanto, em condições industriais, não é possível inocular micro-organismos patogênicos para a validação do processo térmico.

Para a categoria de produtos “Mortadelas Estáveis a Temperatura Ambiente”, o Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal - DIPOA (BRASIL, 2015), através dos Ofícios-Circulares 005/2015 e 006/2015 (CGI/DIPOA/SDA), estabeleceu como sendo estas barreiras, alguns parâmetros fundamentais para o controle de *Clostridium* que são

atividade de água no produto final de no máximo 0,955, processo de cozimento validado que assegura redução mínima de 6 ciclos Log (6D) para o micro-organismo alvo (*Streptococcus* D), prazo de validade não superior a 60 dias e plano de Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle (APPCC) que inclua na análise de perigos o *Clostridium* nas etapas do processo, com o estabelecimento de medidas de controle adequadas. Na literatura, raros são os estudos referentes ao controle do micro-organismo *Streptococcus* D em produtos cárneos (fermentados ou não fermentados) após o cozimento (FRANZ et al., 2003; FOULQUIÉ-MORENO et al., 2006).

Devido a alguns casos de intoxicação alimentar, se levantou o questionamento sobre a temperatura de conservação a 22°C, onde as empresas alegaram que não haveria necessidade de conservar o produto em temperaturas menores, por se tratar de um produto cozido e por existir previsão no RTIQ sobre a temperatura de conservação e garantias de temperatura aplicada no Brasil ao produto. Dessa forma MAPA e empresas discutiram formas de garantir a inativação microbiológica durante o tratamento térmico, sendo então realizado um estudo conduzido pelo ITAL, sobre a avaliação da segurança microbiológica de mortadela comercializada no país sob temperatura ambiente, com base nos resultados e entendimento técnico da DICAIO, DICS e DICAR/CGI/DIPOA a coordenação-geral autorizou a avaliação e aprovação de registro de mortadela, conservadas em temperatura ambiente, desde que apresentem as garantias citadas Ofícios-Circulares 005/2015 e 006/2015 (CGI/DIPOA/SDA).

Neste sentido, este trabalho teve por objetivo avaliar o controle de *Streptococcus* D no tratamento térmico de mortadela tipo Bologna, elaborar formulações e avaliar a estabilidade a 22°C em unidade industrial.

2 OBJETIVO GERAL

Elaborar, caracterizar formulações de mortadela tipo Bologna e avaliar o controle de *Streptococcus* D no tratamento térmico em unidade industrial visando a segurança alimentar do produto sob condições de armazenamento a 22°C.

2.1 Objetivos Específicos

- ✓ Elaborar as formulações de mortadela;
- ✓ Realizar o controle de *Streptococcus* D no tratamento térmico;
- ✓ Avaliar o comportamento das formulações e a estabilidade a 22°C mediante análises físico-químicas (pH, aw, cor, nitritos e nitratos, oxidação de lipídios), térmica (TG - Termogravimetria), histológica, reológica (textura), microbiológicas (*Clostridium* sulfito redutor, *Streptococcus*, *Salmonella* sp, mesófilos e coliformes termo intolerantes) e sensorial (aceitabilidade).

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

O setor de carnes no Brasil tem se destacado pela evolução da produção, bem como das exportações. De acordo o Ministério da Agricultura Planejamento e Abastecimento – MAPA (2016) o país ocupa a terceira posição na produção de frangos, além de ter o segundo maior rebanho bovino e apresentar a quarta maior produção de suínos no mundo. A importância da produção de suínos para economia nacional vem crescendo nos últimos anos, dado ao maior acesso da população a informações acerca do produto.

Com relação ao mercado interno, verifica-se que a população vem mudando seu padrão de consumo ao longo dos anos, reconstruindo a antiga percepção que aliava o consumo da carne suína como um hábito que poderia trazer malefícios a saúde. Com a realização de investimentos para melhorar a qualidade da carne, tais como redução de gordura, colesterol e calorias, a percepção do consumidor foi modificada, refletindo no consumo *per capita* que vem evoluindo aos poucos, chegando a 14,4 quilogramas por habitante no ano de 2016 de acordo com Associação Brasileira de Proteína Animal – ABPA (2017).

O mercado de embutidos tem apresentado grande expansão e alta competitividade na última década, uma vez que o consumo de produtos cárneos como salsichas, linguiças e mortadelas tem se tornado cada vez mais presente no hábito alimentar da população brasileira (HUE, 2011).

A segurança alimentar é um assunto de extrema importância com impacto na opinião pública. É um direito de todos os consumidores, que querem garantias de que os alimentos ou refeições que ingerem são aptos para consumo (KLETER & MARVIN, 2009).

A qualidade dos produtos do setor alimentício é um fator fundamental para que os consumidores continuem adeptos as suas marcas de preferência. A constituição fundamental da qualidade no processo industrial vai desde o recebimento de matérias-primas, estocagem, formulação de produtos, embalagem e expedição, não podendo esquecer dos parâmetros desejados e principais para uma indústria permanecer atuante com o mercado, bem como parâmetros de inspeção federal e laboratoriais de análise.

No Brasil uma parte significativa da população tem menor acesso a carne *in natura*, tendo uma maior possibilidade de aquisição de derivados cárneos (BARBOSA et al., 2006). Por isso, é alto o consumo de produtos embutidos.

A mortadela é um dos produtos cárneos processados de maior aceitabilidade mundialmente. No Brasil, o consumo se popularizou, especialmente por ser um produto

elaborado a partir de carnes de várias espécies de animais e por possuir uma legislação que permite a sua vasta classificação (GUERRA, 2010).

Os derivados cárneos consistem em produtos alimentícios preparados total ou parcialmente com carnes, com miúdos ou com gorduras, e subprodutos comestíveis procedentes dos animais de abate e, eventualmente, ingredientes de origem vegetal, como também condimentos, especiarias e aditivos autorizados (ORDÓÑEZ, 2005). Dentre os produtos cárneos comercializados no Brasil, ressalta-se a mortadela, que é amplamente produzida especialmente por ser um produto elaborado a partir de carnes de várias espécies de animais permitindo diferentes classificações, segundo a legislação (BRASIL, 2000), o que possibilita disponibilizar ao mercado uma grande variedade de formulações (BORTOLUZZI, 2009).

Neste item é apresentada uma breve revisão da literatura sobre industrialização de carne, produção de mortadela, processos de industrialização, tratamento térmico e armazenamento.

3.1 Industrialização de Carnes

A industrialização consiste na transformação das carnes em produtos cárneos. Realiza integralmente um ciclo que tem o seu início na produção de carnes com qualidade (TERRA, 1998). A industrialização da carne entre os seus objetivos maiores visa aumentar a sua vida útil, desenvolver diferentes sabores e utilizar partes do animal de difícil comercialização quando no estado fresco. A carne devido, ao seu elevado valor nutricional e à sua grande quantidade de água disponível, torna-se uma presa muito fácil tanto dos micro-organismos deterioradores como dos micro-organismos capazes de ocasionar danos à saúde do consumidor.

Os empregos dos aditivos, do calor e do frio, bem como o uso de boas práticas de fabricação possibilitam a obtenção de produtos cárneos saudáveis e seguros (TERRA, 1998). Para Evangelista (2001) o produto industrializado apresenta vantagens como: maior aproveitamento das matérias primas, facilidade de armazenamento e consumo, melhorias nas qualidades organolépticas e aumento na vida de prateleira.

Entendem-se como produtos cárneos processados ou preparados, aqueles em que as propriedades originais da carne fresca foram modificadas através de tratamento físico, químico ou biológico, ou ainda, através da combinação destes métodos que visam o prolongamento da vida útil dos produtos, procurando manter as propriedades nutritivas e organolépticas (PARDI et al., 1996). Além disso, visam desenvolver diferentes sabores através de condimentação específica e utilização de diferentes partes do animal de difícil comercialização, *in natura* (TERRA, 2003).

O setor de produtos cárneos cresceu muito com o desenvolvimento de novos produtos, mas os produtos clássicos continuaram sempre no mercado, como: mortadela, linguiça, salsicha, presunto, apresuntado, salame, hambúrguer, charque, entre outros. O que mudou, na verdade, foi a variedade de matérias primas envolvidas, além de novos ingredientes, e novos processos, com o objetivo de melhorar a qualidade dos produtos neste setor. Em um mercado cada vez mais competitivo e com o aumento das exigências dos consumidores por qualidade, o melhoramento contínuo dos produtos torna-se imperativo para a sobrevivência das empresas no setor.

A conservação de alimentos pelo emprego de agentes químicos é muito utilizada para prevenir ou retardar a deterioração por micro-organismos. O número de compostos químicos utilizados como conservadores é relativamente pequeno e suas quantidades adicionadas nos alimentos são regulamentadas através de uma legislação específica. Garantir a vida útil dos alimentos e a sua segurança microbiológica, implica em minimizar níveis de contaminação, limitando ou impedindo a taxa de crescimento microbiano. Muitas estratégias são adotadas pelas indústrias processadoras de alimentos e estas têm contribuído para tal finalidade, como a implantação de programas de qualidade, novas tecnologias, novas embalagens, além de inúmeros métodos de conservação. Em toda cadeia de produção, a temperatura é um fator extremamente importante para assegurar a vida útil dos alimentos (McMEEKIN et al., 1997).

3.2 Mortadela

A legislação brasileira define a mortadela como um produto cárneo industrializado, obtido de uma emulsão das 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 (BRASIL, 2000).

A mortadela é um embutido que demonstra claramente como o advento da tecnologia dos produtos cárneos possibilitou o acesso à proteína cárnea de um contingente populacional que não tinha condições de suprir a quantidade mínima diária recomendada de proteína consumindo carne *in natura*. Ao longo dos anos a tecnologia aliou a essa funcionalidade da proteína cárnea propriedades sensoriais, que fizeram da mortadela um produto apreciado por todas as classes sociais, a ponto de em alguns lugares serem realizadas confrarias para a degustação deste embutido (YUNES, 2010).

Originária de Bologna, na Itália, a mortadela é apreciada por todas as classes sociais sendo um produto de alta popularidade e demanda no mercado. Segundo estudo feito pelo

Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, no Brasil, há um consumo alimentar médio per capita de 1,4 gramas por dia, o que nos dá uma estimativa de aproximadamente cem mil toneladas e meia de consumo anual de mortadela no Brasil (IBGE, 2011).

Os produtos cárneos, incluindo as mortadelas, apresentam grande aceitação pelos consumidores, devido às gorduras presentes nestes produtos, que conferem aroma, sabor, textura e suculência desejáveis constituindo-se em um importante mercado para as indústrias do setor (TRINDADE et al, 2010). Como existe uma grande padronização na produção da mortadela é possível emprega-la em grande escala e, por este motivo pode ser considerado como um sistema de produção em massa (TUBINO, 2007).

As características do produto tido como mortadela variam de acordo com a classificação. Para mortadela da linha popular, ou seja, a mais simples, existem padrões diferenciados das mortadelas do tipo Bologna e Italiana. De acordo com o padrão de identidade e qualidade (PIQ) os padrões físico-químicos da mortadela popular são: - Carboidratos Totais (máx.) - 10%; Amido (máx.) - 5,0%; Umidade (máx.) - 65%; Gordura (máx.) - 30%; Proteína (mín.) - 12%; Teor de cálcio em base seca - 0,9%. Sendo que a somatória entre carboidratos e amido não deverá ultrapassar 10%, pois pode sofrer problemas como perda do tempo de vida de prateleira (BRASIL, 2000).

De acordo com a composição da matéria-prima e das técnicas de fabricação, estes podem ser classificados como:

Mortadela:

Carnes de 10 diferentes espécies de animais de açougue, carnes mecanicamente separadas (CMS), até o limite máximo de 60%, miúdos comestíveis de diferentes espécies de animais de açougue (estômago, coração, língua, rins, miolo, medula, tendões e pele) e gorduras (BRASIL, 2000);

Mortadela Tipo Bologna:

Carnes Bovina e/ou suína e/ou ovina e carnes mecanicamente separadas (CMS), até o limite máximo de 20%, miúdos comestíveis de bovino e/ou suíno e/ou ovino (estômago, coração, língua, rins, miolo, medula, tendões e pele) e gorduras (BRASIL, 2000);

Mortadela Italiana:

Porções musculares de carnes de diferentes espécies de animais de açougue e toucinho (BRASIL, 2000);

Mortadela Bologna:

Porções musculares de carne bovina e/ou suína e toucinho, embutida na forma arredondada (BRASIL, 2000);

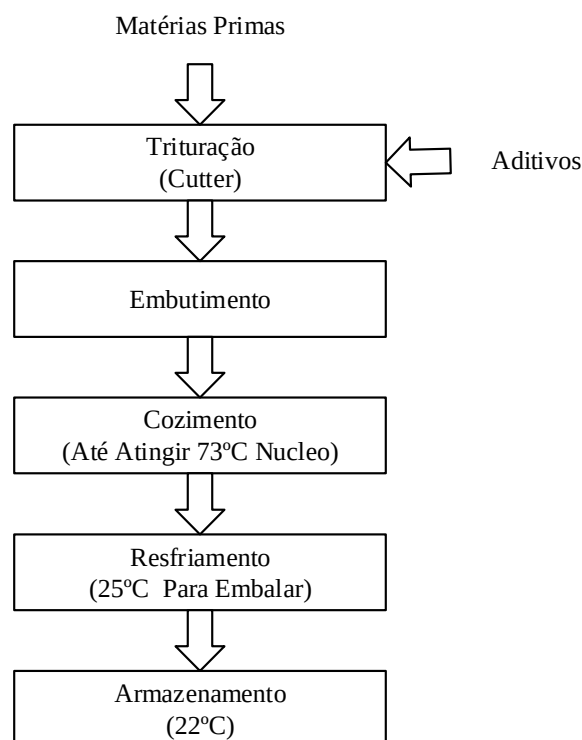
Mortadela de Carne de Ave:

Carne de ave, carne mecanicamente separada (CMS), no máximo de 40% e gordura (BRASIL, 2000).

Em relação aos aditivos químicos, devem ser respeitados os limites estabelecidos na portaria 1004/98, nada além de conservantes como o nitrato e nitrito de sódio que atuam sobre os pigmentos naturais da carne (mioglobina), desenvolvendo a coloração rosada, além de agirem como conservantes ao inibir o crescimento de *Clostridium botulinum*; polifosfatos de sódio, que estabilizam o pH da massa e agem sobre a retenção de água nas proteínas, reduzindo as perdas de umidade; antioxidantes como o eritorbato de sódio, que acelera o processo de cura e evita a oxidação dos pigmentos naturais da carne; lactato de sódio, usado como regulador de acidez/umectante para inibição do crescimento de micro-organismos em decorrência da diminuição da atividade de água.

3.3 Processamento na Indústria

O processamento de mortadela pode variar de uma fábrica para outra em função das diferentes tecnologias disponíveis no mercado. Basicamente os processos compreendem as etapas de pesagem e seleção de ingredientes e matérias primas, moagem e cominuição das carnes, pré-mistura das matérias primas e ingredientes, emulsificação, mistura de toucinho (se houver), embutimento, cozimento e defumação (se houver), resfriamento e embalagem. Um aspecto importante é referente a emulsificação, a qual pode ser feita de duas formas, sendo emulsificação com *cutters* ou com emulsificadores, dependendo do tipo de mortadela a ser produzida. Geralmente para produtos com menor qualidade utilizam-se os emulsificadores e para mortadelas de qualidade superior, utilizam-se os *cutters* (OLIVO, 2006). Na Figura 1 está apresentado o fluxograma de produção da mortadela.

Figura 1: Fluxograma de produção de mortadela.

Fonte: Sarmento (2006).

3.3.1 Formulação do produto

A formulação é feita de acordo com o produto que será produzido, sendo então pesados os aditivos, ingredientes e condimentos em balanças específicas. O controle das quantidades deve ser rígido para evitar a toxicidade do produto devido aos aditivos, que devem sempre estar dentro das concentrações permitidas pela legislação. Os tipos de carne que serão processados também são pesados. A carne chega da câmara fria em blocos congelados ou recém descongelados e passa pelo quebrador de blocos, passando em seguida no moedor (em discos com furos de 4mm a 12mm), com exceção da CMS (passa somente no quebrador de blocos) (ODERICH, 2007).

3.3.2 Emulsão Cárneo

De acordo com Terra (1998) e Ordóñez (2005), uma emulsão cárneo pode ser considerada uma mistura na qual os constituintes da carne, são finamente divididos e dispersam-se de modo análogo a uma emulsão de gordura em água, sendo o processo de emulsão da gordura o precursor do sabor e textura do produto cárneo.

A emulsão cárnea é constituída de duas fases, uma delas descontínua representada pelas gotículas de gordura, e a outra a fase contínua constituída por uma solução aquosa de sais e proteínas, com proteínas insolúveis em suspensão, porções de fibras musculares, ainda dentro do sarcolema e restos de tecido conjuntivo. Essas duas fases, apesar de imiscíveis, são estabilizadas por meio da ação de um agente estabilizante, que recobre integralmente as gotículas de gordura (TERRA, 1998; ORDÓÑEZ, 2005).

Ainda cabe ressaltar, que as proteínas miofibrilares, fundamentalmente a miosina, devido ao seu caráter polar, atuam como ponte de ligação entre a água e a gordura; tendem a colocar-se na interfase água/gordura com sua parte hidrofóbica voltada para a gordura e a parte hidrófila para a água; associando-se umas às outras formando na superfície de gota de gordura uma matriz proteica ou película dotada de viscoelasticidade que lhe confere resistência mecânica. A área limite para que exista essa resistência é conhecida com o nome de área superficial crítica, onde acima desta, a membrana perde sua resistência mecânica (ORDÓÑEZ, 2005).

Assim, as proteínas miofibrilares solúveis em presença de sal, são consideradas agentes emulsificantes eficientes na estabilização da emulsão, dentre estas a miosinas e as proteínas sarcoplasmáticas são as que colaboram na formação da matriz proteica (SHIMOKOMAKI e OLIVO, 2006).

3.3.3 Embutimento

O processo de embutimento consiste em introduzir a massa já preparada na tripa previamente selecionada e disposta para esse fim. Para isso, utilizam-se embutidoras que podem trabalhar de forma descontínua (a pistão) ou contínua (a vácuo), dependendo das necessidades. Sem dúvida nenhuma, as mais utilizadas são as embutidoras contínuas que, em geral, trabalham a vácuo. Devido à extração de ar, consegue-se melhor formação e conservação de cor, consistência mais firme e, além disso, retardam-se as reações de oxidação da gordura e evita-se presença de ar entre a massa e a tripa, o que dá à superfície do produto cárneo um aspecto pouco agradável (ORDÓÑEZ, 2005).

3.3.4 Envoltório (tripa) artificial

Os envoltórios artificiais, de uso mais correntes em embutidos, também empregados em produtos curados empacotados e mesmo em carnes frescas, são constituídos de celulose, de

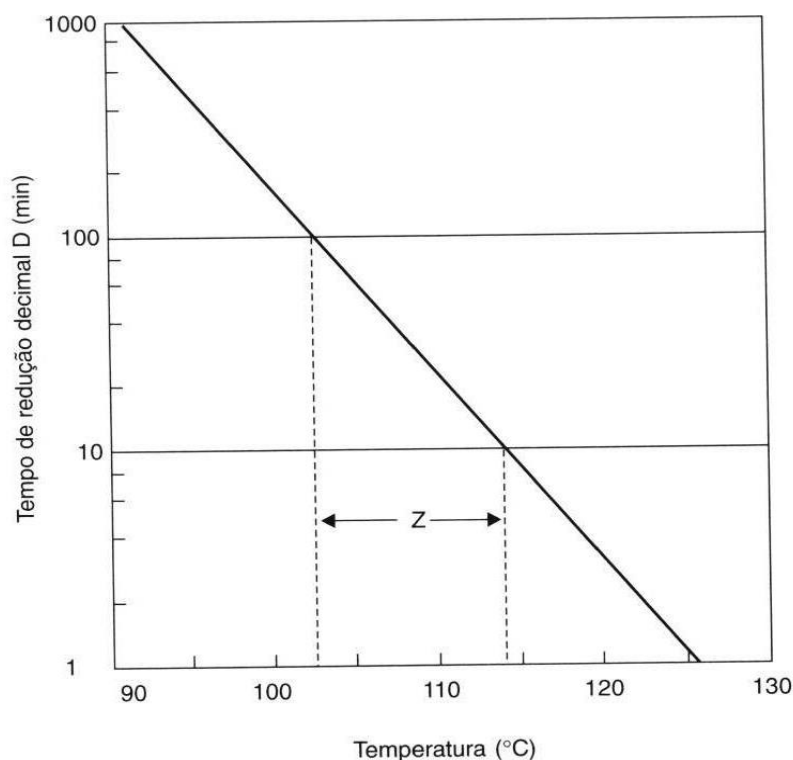
colágeno comestível, de colágeno não comestível e de plástico. Originando-se, assim, dos reinos vegetal, animal e mineral, devem obedecer a características bem definidas, de acordo com suas finalidades. De um modo geral, ao avaliar-se um envoltório, devem ser levadas em conta as seguintes propriedades: inocuidade sanitária e toxicológica; permeabilidade aos gases (especialmente O_2 e CO_2); ao vapor d'água e aos odores; resistência química, mecânica e térmica; propriedades óticas; proteção em relação à perda de umidade; proteção contra as alterações oxidativas; resistência às gorduras e óleos; neutralidade e estabilidade (PARDI et al., 1996).

3.3.5 Tratamento Térmico

O tratamento térmico dos produtos cárneos tem por objetivo o atingimento das características sensoriais desejadas para o produto (sabor, cor e textura), a segurança microbiológica e manutenção destas características durante a vida útil (ORDÓÑEZ *et al.*, 2006; REICHERT, 1988; MARCOTTE et al., 2008).

Basicamente as duas modalidades mais empregadas para o tratamento térmico de produtos cárneos são a pasteurização (temperaturas $< 100^\circ C$) e a esterilização ($100^\circ C$ a $140^\circ C$). A pasteurização pode ser realizada em estufas (calor seco ou vapor) ou em tanques com água (vapor direto ou indireto) e a esterilização em autoclaves, sendo que para produtos cárneos, como no caso em questão, mortadelas, o processo utilizado é a pasteurização de forma a assegurar também a estabilidade do produto em relação as suas características sensoriais.

Na destruição dos micro-organismos, que ocorre em ordem logarítmica, mantendo-se as condições térmicas constantes, a mesma porcentagem de células será destruída, em um determinado intervalo de tempo, independentemente do número de células sobreviventes. A partir da curva de destruição térmica pode ser conhecido o valor de z (Figura 2) que é o F_0 ou F necessário para a destruição de 90 % de uma população conhecida de micro-organismos, ou seja, é o número de graus requeridos para atravessar um ciclo logarítmico na curva de destruição térmica (SILVA, 2004; FELLOWS, 2006; REICHERT, 1988; KNIPE & RUST, 2009; STUMBO, 1965).

Figura 2: Valor de Z (destruição térmica dos micro-organismos).

Fonte: Fellows (2006).

Uma questão importante que surge com o tempo de redução decimal é que, quanto maior for o número de micro-organismos presentes na matéria-prima, mais tempo leva-se para reduzi-los ao nível especificado.

Na prática o micro-organismo mais resistente é utilizado como base para cálculo das condições de processo e presume-se que algumas espécies menos resistentes também serão destruídas (FELLOWS, 2006; REICHERT, 1988; KNIPE & RUST, 2009; STUMBO, 1965).

O processo de cozimento de produtos alimentícios ocorre, em sua maioria, por aquecimento escalonado, ou seja, na medida em que o processo evolui a temperatura irá aumentando. Ao final desse escalonamento de temperatura de cozimento, o produto entra em processo de resfriamento até atingir a temperatura final desejada. O aquecimento escalonado depende de uma série de fatores, como o tipo de equipamento ou método de cozimento utilizado, tamanho das peças a serem cozidas, a transferência de calor no produto, além de outros fatores que devem ser levados em consideração de acordo com cada projeto de cozimento. Aqui vale ressaltar que todas as medidas de temperatura do produto durante o processo de cozimento devem ser efetuadas no seu ponto mais frio. Assim, é importante para

cada produto e embalagem utilizada efetuar a determinação do ponto frio (GERMER et al., 1995).

Quando o calor é aplicado ao alimento, a porção próxima a superfície alcança mais rapidamente a temperatura desejada quando comparada aquela mais interna. O ponto que alcança por último a temperatura de aquecimento é chamado ponto frio. Em alimentos sólidos, nos quais o calor é transmitido por condução, o ponto frio está localizado no centro geométrico da peça.

A fim de melhorar o entendimento sobre a destruição térmica de micro-organismos relacionados à conservação de alimentos e a esterilização é necessário entender certos conceitos (FORSYTHE, 2010).

O valor de redução decimal (D) é o tempo necessário, a uma condição constante, (por exemplo, temperatura), para alcançar uma redução de 1 log (90 %) na população microbiana inicial (KNIPE & RUST, 2009).

A constante de resistência térmica ou valor Z é utilizado na determinação da letalidade do processo. Na avaliação do tratamento térmico é necessário calcular o valor D em diferentes temperaturas. A variação experimental de D com a temperatura é uma relação exponencial. O valor Z ou constante de resistência térmica, é um fator que descreve resistência térmica dos esporos bacterianos, ou seja, representa o aumento de temperatura necessário para aumentar a taxa de morte em 10 vezes, ou reduzir o valor de D 10 vezes (FORSYTHE, 2010).

O valor F é o tempo equivalente, em minutos de todo calor considerado com relação a sua capacidade de destruir esporos ou células vegetativas de um organismo em particular (FORSYTHE, 2010). O valor F é uma medida do efeito letal total sobre os micro-organismos que sofrem um determinado tratamento térmico.

Em termos de tratamento térmico, a primeira informação necessária é a definição do micro-organismo alvo ou mais resistente do processo em questão. Os *Enterococcus* e *Streptococcus D (faecalis e faecium)* são os micro-organismos mais resistentes e com maior número de citações destes como sendo indicadores da eficiência do tratamento térmico e os de maior importância em produtos cárneos pasteurizados (REICHERT, 1988; STUMBO, 1965; JAY, 2005; KNIPE & RUST, 2009). Segundo Marcotte et al. (2008) e Reichert (1988) os *Enterococcus* são mais resistentes que a *Salmonella*, *Listeria* e *Staphylococcus* e estão diretamente relacionados com a contagem bacteriana total (PITTIA et al., 2008).

3.3.5.1 Cozimento

O objetivo desta etapa do processo é cozinhar a massa da mortadela na estufa, dando características de paladar adequado (cor, sabor e consistência), além de estabilizar a mistura e melhorar a conservação. A textura firme do produto cozido é devido à coagulação das proteínas e a desidratação parcial do embutido. A fixação da cor ocorre pela desnaturação da mioglobina e formação de nitrosohemocromo (ODERICH, 2007). Segundo Guerreiro (2006) apud Oderich (2007), o cozimento também exerce uma função importante na destruição dos micro-organismos eventualmente presentes na matéria prima.

A redução da população contaminante depende da magnitude do tempo e da temperatura utilizada no processo de cocção. Geralmente, quando o objetivo principal é desenvolver as características organolépticas, a temperatura utilizada é inferior a 100°C, e o cozimento equivale a um tratamento térmico brando, como na pasteurização. Deste modo o produto não é esterilizado e o efeito do calor permite apenas o prolongamento da sua vida de prateleira. O cozimento, em estufas automáticas dotadas de controle eletrônico, é feito pela elevação gradual da temperatura até 80°C, temperatura que no interior da massa deve atingir um mínimo de 71°C, pelo menos por 30 minutos (PARDI et al., 1996).

3.3.5.2 Resfriamento

As temperaturas mais altas, utilizadas nos processos bactericidas, podem ser utilizadas para reduzir os níveis de contaminação microbiológica a níveis considerados seguros, já as temperaturas mais baixas inibem o metabolismo de muitos microrganismos patogênicos. Portanto, este processo não é considerado um processo bactericida, pois a refrigeração não tem ação esterilizante sobre microrganismos, apenas retarda o crescimento bacteriano (EVANGELISTA, 2001; SILVA JUNIOR, 2005).

Entende-se por refrigeração, a redução e a manutenção da temperatura dos alimentos acima de seu ponto de congelamento, sendo mais usuais as temperaturas compreendidas entre -1 e 8°C, o que implica apenas em mudanças no calor sensível do produto (ORDÓÑEZ, 2005).

Assim, a refrigeração e o armazenamento são considerados métodos suaves de conservação. Os alimentos refrigerados geralmente são considerados frescos e de boa qualidade, sendo essa a razão de sua grande aceitação pelos consumidores (ORDÓÑEZ, 2005).

As mortadelas após o tratamento térmico são conduzidas ao resfriamento rápido das peças de preferência em banhos ou duchas de água fria (0 a 4°C), seguido de armazenamento em temperatura de até 10°C (MULLER, 1990).

3.3.6 Armazenamento

De acordo com a EMBRAPA (2000), “o armazenamento compreende a manutenção de produtos e ingredientes em um ambiente que proteja sua integridade e qualidade”.

Deste modo, podemos definir a armazenagem, segundo Moura (1998), como “a denominação genérica e ampla, que inclui todas as atividades de um ponto destinado à guarda temporária e a distribuição de materiais (depósitos, centros de distribuição e etc.)”. Vale destacar também, que o objetivo do armazenamento correto é manter a qualidade original do alimento até o ato de sua ingestão, transporte, transformação industrial, ou submissão a outros processos de conservação.

3.4 Aspectos que afetam a qualidade dos produtos cárneos

A carne é um alimento perecível, apresentando condições de processamento e armazenamento variável. A qualidade microbiológica da carne e derivados é influenciada por diversos fatores intrínsecos como (A_w), acidez (pH), potencial de oxido redução (Eh), composição química a presença de fatores antimicrobianos naturais e as interações entre os micro-organismos presentes nos alimentos, bem como aqueles tidos como extrínsecos, estes relacionados com o ambiente em que os produtos se encontram como umidade, temperatura e a composição química da atmosfera que envolve os mesmos (FRANCO & LANDGRAF, 2013).

3.4.1 Microbiológicos

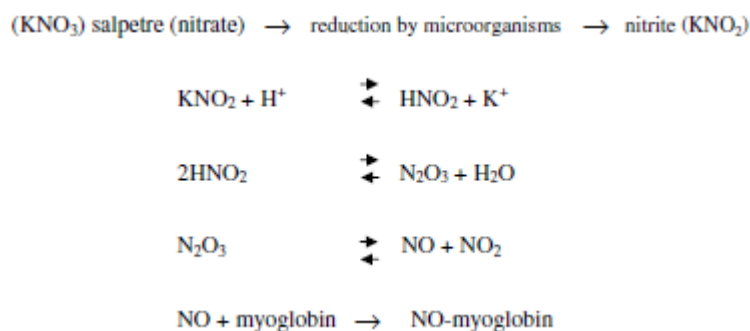
O crescimento microbiano depende de parâmetros inerentes aos tecidos animais, nomeadamente parâmetros intrínsecos como o pH, a atividade da água, o potencial de oxidação-redução e os nutrientes disponíveis, bem como de parâmetros extrínsecos como a temperatura e a concentração de gases (nomeadamente presença ou ausência de oxigênio). Assim sendo, a carne e os produtos cárneos são alimentos muito perecíveis, a menos que sejam devidamente conservados e/ou armazenados em condições que retardem a atividade microbiológica (EFSA, 2003; JAY, 2005; LIDON & SILVESTRE, 2007).

Uma forma de conservar os produtos cárneos é o recurso à adição de aditivos alimentares, como por exemplo conservantes como o nitrito, pois desta forma consegue-se suprir a necessidade de os transportar a grandes distâncias, de os armazenar durante períodos de tempo mais longos e de os expor ao consumidor de uma forma mais atraente (LIDON & SILVESTRE, 2008).

O nitrito é um forte agente inibidor de bactérias anaeróbias como o *Clostridium botulinum*, contribuindo ainda para o controle do crescimento de outros micro-organismos como a *Listeria monocytogenes*. O *Clostridium botulinum* é uma bactéria anaeróbia produtora de gás que se pode encontrar na água ou nos alimentos, com capacidade para formar esporos e produzir toxinas, algumas delas capazes de provocar botulismo (toxinfecção alimentar grave) no homem. As condições que favorecem o crescimento do *Clostridium botulinum*, bem como a produção das respectivas toxinas, incluem um baixo teor de NaCl, um elevado teor de umidade, um valor de pH superior a 4,6 (pH ótimo igual a 7,0), produtos alimentares armazenados em condições restritas de oxigênio e uma temperatura acima da mínima necessária ao seu crescimento (EFSA, 2003; JAY, 2005).

Os relatos efetuados ao longo da história sugeriram ser o nitrato, inicialmente aplicado a partir de sal contaminado com nitrato de sódio (NaNO_3) ou nitrato de potássio (KNO_3), o principal responsável pela cura de produtos cárneos. No entanto, no século XIX, descobriu-se que o nitrato se reduzia a nitrito mediante um processo bacteriano (envolvendo bactérias como *Micrococcus epidermidis*, *Micrococcus nitrificans* e *Achromobacter dendriticum*) (Figura 3), e que na realidade era o nitrito o grande responsável pela cura dos produtos cárneos (SEBRANEK & BACUS, 2007).

Figura 3: Reação de redução do NaNO_3 a NaNO_2 por ação de bactérias.



Fonte: Honikel (2008).

Uma vez que a redução de nitrato a nitrito é um processo lento, para que a quantidade de nitrato reduzida seja significativa, é necessário um número razoavelmente elevado de bactérias, fato que poderia tornar-se prejudicial para a saúde do consumidor (ROÇA, 2000). No entanto, no final dos anos 50 os investigadores verificaram que o nitrato não tem qualquer efeito antibacteriano e que na realidade é o nitrito que desempenha um papel importante na conservação dos produtos cárneos curados (EFSA, 2003). Como consequência deste fato, o nitrato tem sido eliminado da maioria dos processos de cura de carnes, com exceção para os produtos tradicionais curados a seco como o presunto da pá, cuja cura é muito longa e na qual o nitrato constitui um reservatório de nitrito. Desta forma, o nitrato coadjuva na conservação destes alimentos e contribui para o desenvolvimento das suas características sensoriais (DL33/2008; SEBRANEK & BACUS, 2007).

O botulismo é uma enfermidade que resulta da ação de uma potente neurotoxina de origem proteica, produzida pelo *Clostridium botulinum*, normalmente decorrente da ingestão de alimentos, em que a toxina foi previamente elaborada pela bactéria (POLAQUINI et al., 1997; GELLI et al., 2002).

A toxina causa quatro tipos reconhecidos de enfermidades em humanos, incluindo botulismo alimentar, botulismo por feridas, colonização intestinal em adultos e botulismo infantil. O botulismo alimentar ocorre pela ingestão da toxina pré-formada, enquanto que, nos outros três tipos, a enfermidade ocorre pela infecção, multiplicação e produção de toxinas por micro-organismos clostridiais em feridas ou no trato gastrointestinal (CARDOSO et al., 2004; KEET & STROBER, 2005). A absorção da toxina aerossolizada através do trato respiratório é outra via de intoxicação, mas somente oferece riscos em situações de guerra biológica ou bioterrorismo (FREAN et al., 2004).

O *Clostridium botulinum* é um bacilo Gram positivo, que se desenvolve em meio anaeróbio, produtor de esporos, encontrado com frequência no solo, em legumes, verduras, frutas, sedimentos aquáticos e fezes humanas. O agente aparece também como habitante normal do trato intestinal de equinos, bovinos e aves, onde se multiplica e é excretado em grandes quantidades nas fezes por mais de oito semanas após a primoinfecção (EDUARDO et al., 2002; FREAN et al., 2004).

Os esporos do *C. botulinum* são as formas mais resistentes que se têm encontrado entre os agentes bacterianos, podendo sobreviver por mais de 30 anos em meio líquido e, provavelmente, mais tempo ainda em estado seco (RADOSTITS et al., 2002). Podem tolerar temperaturas de 100°C por horas. Para destruir os esporos, os alimentos contaminados devem ser aquecidos a 120°C por 30 minutos. Além disso, os esporos do tipo E são capazes de

germinar em temperaturas inferiores a 3°C e frequentemente estão associados com frutos do mar refrigerados (KETCHAM & GOMEZ, 2003).

Os esporos contidos nos alimentos inadequadamente preparados podem germinar e o *C. botulinum* passar a se multiplicar e produzir toxinas. Inúmeros fatores extrínsecos e intrínsecos podem afetar o desenvolvimento do microrganismo nos alimentos: o *C. botulinum* não é um bom competidor na presença de outros micro-organismos; pH inferior a 4,5 impede sua multiplicação; atividade de água menor que 0,93 é limitante; concentrações de NaCl maiores que 8 % impedem a produção da toxina (GELLI et al., 2002). É importante lembrar que nem sempre ocorrem alterações aparentes nos alimentos, como odor, sabor, cor e textura, bem como nem sempre as latas contendo alimentos contaminados estão estufadas (JAY, 2005).

O desenvolvimento do *C. botulinum* em alimentos é condicionado por vários fatores de natureza física e/ou química aos quais chamamos de barreiras. O controle da atividade de água - (Aw) (limitando o teor de água disponível no alimento), a acidez, a utilização de temperaturas elevadas de processamento, a estocagem em baixa temperatura, o uso de cloreto de sódio e de nitritos ou outros conservadores são algumas das barreiras mais comumente utilizadas. Algumas destas barreiras que controlam isoladamente o desenvolvimento de *C. botulinum*, (HAUSCHILD, 1989; LEISTNER, 1986).

Outro micro-organismo que também pode contaminar matéria-prima e consequentemente produtos acabados durante o próprio processamento é o *Enterococcus* spp. A presença de *Enterococcus* no trato gastrointestinal de animais pode levar à contaminação da carne durante o abate. *E. faecalis* e *E. faecium* são as espécies predominantes em diversos tipos de produtos cárneos fermentados ou não (FRANZ et al., 2003; FOULQUIÉ-MORENO et al., 2006). A alta resistência térmica apresentada por *Enterococcus* também favorece a persistência destes micro-organismos em produtos cárneos processados (FRANZ et al., 1999; FOULQUIÉ-MORENO et al., 2006) e pode contribuir para o desenvolvimento de aromas pela ação glicolítica, proteolítica e lipolítica (HUGAS et al., 2003).

O aumento da severidade das infecções nosocomiais causadas por cepas de *Enterococcus* multirresistentes a antimicrobianos e a falta de conhecimento sobre seus fatores de virulência geram insegurança na utilização de cepas deste gênero na produção de alimentos, como culturas fermentadoras e probióticas (GIRAFFA et al., 1997; FRANZ et al., 1999; GIRAFFA 2002; FRANZ et al., 2003). As várias aplicações de *Enterococcus* spp. em alimentos, bem como os riscos associados com sua presença.

Eaton e Gasson (2001) afirmaram que a diferença entre uma cepa de *Enterococos* com potencial patogênico e outra aparentemente segura para uso em processamento de alimentos

não é clara, e a probabilidade de que esta última adquira fatores de virulência merece maior investigação.

Estes micro-organismos crescem normalmente no trato digestivo de animais, no solo, na água, etc. As infecções causadas por determinados tipos de *Streptococcus* D podem causar uma reação autoimune no qual o organismo ataca seus próprios tecidos e é frequentemente identificado em casos de septicemia e infecções hospitalares. Em caso de contaminação de ambientes e utensílios a desinfecção é bem complicada devido à alta resistência destes micro-organismos, conforme descrito na Tabela 1 a constante de resistência térmica ou valor Z é utilizado na determinação da letalidade do processo. (JAY, 2005).

A classificação taxonômica dos membros do gênero *Streptococcus* e *Enterococcus* passou por alterações significativas nos últimos anos. A partir do início do século vinte Thiercelin e Jouhaud propuseram, pela primeira vez, a criação do gênero *Enterococcus* para designar diplococos Gram-positivos de origem intestinal (MORRISON et al., 1997). Entretanto, estes micro-organismos foram agrupados, por similaridade, no gênero *Streptococcus*, sendo denominados *S. faecalis*. Posteriormente, em função das suas características antigênicas foram classificados como *Streptococcus* do grupo D de Lancefield (HARDIE & WHILEY, 1997).

Tabela 1: Valor Z de diversos micro-organismos relacionados na literatura.

Micro-organismo	Alvo Indicado por	T _{ref} (°C)	D (min.)	Z (°C)	P	Referência D, Z
<i>Salmonella</i> ssp	1,2,3,4	65,6	0,02 – 0,25	4,5 – 5,6	>12D	1
<i>Salmonella</i> ssp	1,2,3,4	65,6	0,172	5,6	>7D	4
<i>E. faecalis</i>	2	70	2,95	10	>6D	2
<i>L. monocytogenes</i>	3	65	1,67	8	>6D	3
<i>S. aureus</i>	2,3	65,5	0,2 – 2,0	4,5 – 6,7		2
<i>E. coli</i> O157:H7	3,4	60	*0,38–0,55	4,4 – 4,8	>5D	5
<i>E. coli</i> O157:H7	4	62,8	0,4	4,65	>5D	6

(1) Stumbo, 1973 (2) Feiner, 2006; (3) NZFSA (4) FSIS/EUA (5) Ahmed, N. M.; Conner, D. E. e Huffman, D. L. Heat-Resistance of Escherichia Coli O157:H7 in Meat and Poultry as Affected by Product Composition. Journal of Food Science, v.60, n.3, p.606-610, 1995 (* Referência de D e z para aves) (6) The Microbiology of safe food. 2nd edition, Stephen J. Forsythe. Wiley-Blackwell, 2010.

Em 1937, Sherman propôs a criação de quatro subgrupos neste gênero: “piogênico”, “viridans”, “lático” e “. Além disso, este autor afirmou que o grupo dos *Enterococcus* apresentava características notoriamente distintas em relação aos outros subgrupos (HARDIE & WHILEY, 1997). Posteriormente, estudos detalhados de caracterização molecular baseados

em critérios como, sequência nucleotídica do DNA ribossômico 16S e hibridização de DNA:DNA e DNA:RNA de diferentes cepas, forneceram bases para reorganização do gênero *Streptococcus* em três grupos geneticamente distintos: *Streptococcus* sensu stricto, *Enterococcus* e *Lactococcus* (STILES & HOLZAPFEL, 1997; FACKLAM et al., 1999).

A criação do gênero *Enterococcus* para agrupar as espécies de *S. faecalis* e *S. faecium* foi então proposto por KALINA (1970), baseando-se em diferenças morfológicas, biológicas e sorológicas. Entretanto, essa classificação só foi aceita a partir das evidências genéticas fornecidas por estudos moleculares e quimiotaxonômicos, conduzidos por Schleifer & Kilpper-Bälz (1984). Estes autores confirmaram que as espécies de *Streptococcus faecalis* e *Streptococcus faecium*, agrupadas no grupo D de Lancefield, deveriam ser transferidas para o gênero *Enterococcus* por apresentarem características marcadamente distintas dos demais *Streptococcus*.

Segundo Facklam et al. (1999), o gênero *Enterococcus* compreende 16 espécies: *E. avium*, *E. malodoratus*, *E. raffinosus*, *E. pseudoavium*, *E. saccharolyticus*, *E. faecalis*, *E. faecium*, *E. casseliflavus*, *E. mundtii*, *E. gallinarum*, *E. durans*, *E. hirae*, *E. dispar*, *E. sulfureus*, *E. cecorum* e *E. columbae*. Entretanto, alguns pesquisadores aceitam a existência de até 28 espécies de *Enterococcus* (FOULQUIÉ-MORENO et al. 2006). Dentre essas espécies, *E. faecalis* e *E. faecium* são as mais frequentemente isoladas de amostras clínicas (MOELLERING, 1992; VANCANNEYT et al., 2002).

Os *Enterococcus* estão amplamente distribuídos na natureza, estando presentes em solos, águas, plantas, vegetais, e microbiota autóctone de vários alimentos (HARDIE & WHILEY, 1997; EATON & GASSON, 2001; GIRAFFA, 2002; IVERSEN et al., 2002). Este gênero compreende cocos Gram-positivos que ocorrem isolados, aos pares ou em pequenas cadeias. São anaeróbios facultativos, alguns são móveis e a temperatura ótima de crescimento é de 35 a 37°C, sendo que muitas cepas apresentam capacidade de multiplicação entre 10 e 45°C. Estes micro-organismos não requerem atmosfera contendo elevada concentração de CO₂ para sua multiplicação embora, algumas cepas o façam melhor sob esta condição. O metabolismo fermentativo resulta em L (+) ácido lático como produto principal da fermentação da glicose (HARDIE & WHILEY, 1997; DOMIG et al., 2003).

A natureza ubíqua dos *Enterococcus* faz com que seja comum o seu isolamento de uma ampla variedade de alimentos (KLEIN et al., 1998; ROBREDO et al., 2000; CHINGWARU et al., 2003). Além disso, processamentos tecnológicos de alguns alimentos como, salga e defumação, expõem os micro-organismos a extremos de temperatura, pH e salinidade. Nestas

condições, os *Enterococcus*, que são altamente resistentes, podem se multiplicar e até provocar a deterioração do produto (GIRAFFA, 2002; FOULQUIÉ- MORENO et al., 2006).

3.4.2 Atividade de água (A_w)

A atividade de água (A_w), o pH e a composição química do alimento são fatores que determinam o tipo de deterioração microbiana no produto. O limite máximo de água disponível para o desenvolvimento microbiano é condicionado pelo A_w do alimento. O limite mais baixo para o crescimento de micro-organismos nos alimentos está em torno de A_w 0,60. Na escala entre um e 0,60 de A_w um grande número de micro-organismos podem crescer, dentre eles alguns patógenos (RAHMAN et al., 2004).

A umidade é um componente importante na maioria dos alimentos comuns. A redução do teor de umidade leva a preservação desses alimentos. Mais importante do que o conteúdo total de umidade é o conceito de atividade de água ou umidade livre dos alimentos (LAL DAR et. al, 2014).

A A_w é um dos fatores intrínsecos dos alimentos que influencia na seleção da microflora e que permitem sua multiplicação (LAL DAR et. al, 2014). A influência da A_w depende de outros fatores, como a adição de sal, que altera a A_w bem como pode ser controlada pela adição de solutos. Os solutos utilizados para tal são: propileno glicol, 1,3 butileno glicol, sulfito de cálcio, sal, cloreto de potássio e açúcar (MASSAGUER, 2005).

Entre os parâmetros que permitem o atendimento de uma atividade de água segura (0,955), destaca-se principalmente o teor de gordura e sólidos solúveis, conforme citado por Fennema, 2010.

Para que se obtenha a A_w desejada, costuma ser necessária a adição de um umectante que ligue a água, mantendo uma textura suave e palatável. Poucas substâncias, principalmente glicerol, sacarose, glicose, propileno glicol e cloreto de sódio, são efetivas o suficiente para diminuir a atividade de água, enquanto são sensorialmente aceitáveis, assumindo importância na preparação de alimentos (FENNEMA, 2010).

Estudo realizado por Lal Dar & Light (2014), demonstra que a propriedade de multi-textura em alimentos é frequentemente um resultado direto das diferenças de atividades de água ou umidade livre em alimentos. Os autores constataram que para superar esse desafio, a maioria dos produtos comerciais disponíveis no mercado são elaborados com altos níveis de gordura para reduzir a A_w e suavizar a textura com altos níveis de sólidos, altos níveis de açúcar (mono

e dissacarídeos) e de sal, umectantes, e assim por diante para aumentar a concentração do soluto e reduzir A_w .

No entanto, é importante destacar que o conceito dos obstáculos, que refere-se a uma teoria elaborada por Leistner, indica que a utilização simultânea de mais de uma barreira é fundamental para controle microbiano nos alimentos, para obtenção de produtos estáveis, de prolongada vida de prateleira e seguros à saúde dos consumidores (MASSAGUER, 2005).

A estabilidade e a segurança da maioria dos alimentos são baseadas em muitos fatores, os quais visam a destruição total ou parcial dos micro-organismos capazes de alterar o alimento, ou na modificação ou eliminação de um ou mais fatores, denominados fatores intrínsecos e extrínsecos, que são essenciais para sua multiplicação (SENAI, 2000). A combinação de fatores extrínsecos e intrínsecos pode servir como obstáculo ao ataque dos micro-organismos, às alterações químicas e às alterações físicas, originando o conceito dos obstáculos de Leistner. A atuação sinérgica destes fatores melhora a estabilidade, e consequentemente, a qualidade do alimento, tornando-o inócuo à saúde do consumidor (CASTRO et al., 2008, FRANCO & LANDGRAF, 2013; SENAI, 2000).

A teoria dos obstáculos deu origem à tecnologia dos obstáculos, que se baseia na utilização de uma ou mais formas de controle microbiano nos alimentos, como a salga, acidificação, processamento térmico, adição de conservantes, entre outros. Além disso, com o avanço da informática foi possível empregar modelos matemáticos para prever a vida útil dos produtos. Estes modelos são baseados em equações de regressão que calculam a probabilidade de crescimento de micro-organismos ou de produção de toxinas em determinado alimento, em função dos fatores intrínsecos e extrínsecos que apresenta (FRANCO & LANDGRAF, 2013).

A maioria dos alimentos apresenta uma A_w acima de 0,95 e a maioria das bactérias, leveduras e bolores crescerá acima deste ponto. Os esporos de *C. botulinum* são geralmente inibidos em uma A_w ao redor de 0,93 ou menos. Assim, se reduzirmos o teor de água disponível aos esporos até um ponto onde eles são inibidos e aplicarmos um tratamento térmico moderado para destruir células vegetativas, teremos um método de preservação para produtos cuja qualidade é sensível ao calor intenso (ITAL, 1990).

A atividade de água limitante para o crescimento de determinado microrganismo depende ainda de outros fatores intrínsecos, como pH, potencial de oxido-redução, entre outros, que podem agir simultaneamente. E quando esses fatores provocam um afastamento das condições ótimas para a multiplicação de determinado microrganismo, mais alto será o valor de A_w necessária (FRANCO & LANDGRAF, 2013).

3.4.3 Cor

A cor tem papel de destaque entre as propriedades funcionais e um importante atributo de qualidade, pois é um dos primeiros aspectos a serem avaliados na linha de fabricação e pelos consumidores nas gondolas de supermercados (OLIVO & SHIMOKOMAKI, 2002).

Para um produto cárneo, a tonalidade de cor é um indicativo da sua condição, permitindo a avaliação, de forma direta, da sua condição de frescor, influenciando na sua aquisição e no seu consumo. E, para as matérias-primas destinadas ao processamento, a cor é indicadora das condições das demais propriedades funcionais (OLIVO, 2006).

Para a determinação objetiva da cor é usado um colorímetro programado com o sistema L^* . a^* . b^* de acordo com a CIALAB (Commission International for Illumination). O uso de $*$ caracteriza os padrões determinados por esta comissão. O colorímetro fornece três variáveis, de acordo com o Diagrama de Hunter: Valor de L^* , situado no eixo vertical do diagrama, mede a luminosidade ou a porcentagem de refletância, variando de 0 (preto) para 100 (branco). Com esta informação é possível determinar objetivamente a cor da carne entre os padrões de qualidade determinados em Pálidas (PSE), Normal ou Escura (DFD).

O valor de a^* , situado no eixo horizontal, mede a variação entre a cor vermelha a verde. O valor de b^* mede a variação entre o amarelo e o azul. A razão a^*/b^* pode ser utilizada para estimar o teor de mioglobina em uma amostra (OLIVO & OLIVO, 2005).

3.4.4 pH

O pH do músculo de um animal sadio e devidamente descansado no momento imediatamente posterior ao abate varia de 7 a 7,3. Após o sacrifício do animal, o pH diminui devido a degradação do ATP até chegar ao chamado pH final, entre 5,5 e 5,8 (LAWRIE, 2005).

A velocidade de decréscimo do pH é influenciada por muitos fatores, como a espécie do animal, o tipo de músculo, a temperatura em que ocorre o processo *post-mortem* e fatores de estresse. Nos músculos em que predominam as fibras de contração rápida ou fibras brancas, o pH final atinge valores de 5,5 a 5,8, já nos músculos de contração lenta (principalmente fibras vermelhas) o pH atinge valores entre 6,1 a 6,4 (ORDONEZ et al., 2005).

No momento do abate, o músculo é mole e extensível, mas em poucas horas converte-se em uma estrutura inextensível e relativamente rígida, o que é conhecido como *rigor mortis* ou rigidez cadavérica. A maturação da carne ou resolução do *rigor mortis* compreende as mudanças posteriores ao desenvolvimento da rigidez cadavérica que determinam o relaxamento

lento do músculo provocando amolecimento da carne após 3 a 4 dias de armazenamento em refrigeração (HONKAVAARA, 1998).

3.4.5 Reações de oxidação de lipídios

A oxidação dos lipídios inicia-se nas ligações insaturadas dos ácidos graxos. Nos alimentos, as reações de oxidação podem ser divididas em duas categorias. Na primeira ocorre a oxidação das gorduras altamente insaturadas, particularmente as poliinsaturadas, e poderá resultar na formação de produtos poliméricos. A segunda categoria relaciona-se com a oxidação de gorduras moderadamente insaturadas, e leva ao aparecimento de ranço acompanhado de odores estranhos (CASTRO, 2002).

A oxidação lipídica acarreta modificações nas características organolépticas dos produtos cárneos, como por exemplo, alterações de coloração da carne e da gordura, desenvolvimento de sabor e aroma desagradáveis e um decréscimo no valor nutritivo do produto, devido à diminuição no conteúdo de ácidos graxos poliinsaturados, cujo efeito benéfico na saúde dos consumidores é bem documentado (ALEXANDER, 1998; ROSE e CONNOLLY, 1999; BERRA, MONTORFANO e RIZZO, 2005).

Os produtos da oxidação lipídica são indesejáveis tanto pelo resultado da decomposição dos lipídios e pela produção de compostos voláteis, mas também, pela destruição dos constituintes essenciais, ocasionando o decréscimo do valor nutricional dos alimentos, e a formação de compostos tóxicos durante o processamento (KAHL e HILDEBRANDT, 1986; FRANKEL, 1996; YANG et al. 2002). Além disso, alguns produtos intermediários e finais da reação de oxidação são potencialmente tóxicos à saúde humana, tal como os compostos originados na oxidação do colesterol (KUBOW, 1990; PANIANGVAIT et al., 1995), e da polimerização dos triglicerídeos (ALEXANDER, 1978; CHANG, PETERSON e HO, 1978), além dos aldeídos com α e β insaturações, incluindo o malonaldeído, que é reconhecido por seus efeitos tóxicos, mutagênicos e carcinogênicos (NEWBURG e CONCON, 1980).

3.5 Estudo da Arte - Considerações Finais

Com o aumento da demanda no consumo de carnes, fez-se necessário que as indústrias cada vez mais invistam em tecnologias alternativas na industrialização das matérias primas, objetivando ampliar a vida útil dos produtos, bem como otimizando o seu valor agregado.

Atualmente são oferecidos para o consumidor uma gama de produtos embutidos industrializados, como presuntos, apresetados, salsichas e mortadelas, entre outros.

A qualidade da mortadela é fundamental para sua aceitabilidade no mercado e depende diretamente de seus processos, como o de cozimento que é importante para o desenvolvimento da cor, coagulação das proteínas, bem como a redução ou eliminação da carga microbológica.

Com base na revisão da literatura, foi possível verificar que não existem trabalhos que tratam especificamente da mortadela em temperatura ambiente (temperatura de armazenamento a 22°C), com medidas de controle como a atividade de água e estudo do tratamento térmico empregando como micro-organismo de referência *Streptococcus* D. Principalmente avaliando as características físico-químicas, sensoriais e microbiológicas, A cor é um importante atributo de qualidade, pois é um dos primeiros aspectos a serem avaliados na linha de fabricação e pelos consumidores nas gôndolas de supermercados, bem como as análises de TG e Histologia tem função importante para a avaliação da estabilidade de emulsão no produto final, avaliação dos tecidos conjuntivos e tecido adiposo . Assim após as considerações apresentadas, verifica-se que o presente estudo tem grande relevância para a indústria e vem a contribuir com a literatura, além de atender aspectos legais vigentes, como Ofício-Circular 005/2015 e 006/2015.

Salientando ainda que a empresa tem implantado o plano APPCC para a mortadela e em suas etapas estão incluídas a análise do *Clostridium* nas etapas do processo e estabelecido as medidas de controle.

4 MATERIAL E MÉTODOS

Neste item serão apresentadas as metodologias das etapas realizadas de preparo das formulações de mortadela, avaliação do controle de *Streptococcus* D no tratamento térmico, comportamento das formulações e a estabilidade a 22°C mediante análises físico-químicas (pH, aw, cor, nitritos e nitratos, oxidação de lipídios), térmica (TG - Termogravimetria), histológica, reológica (textura), microbiológicas (*Clostridium* sulfito redutor, *Streptococcus*, *Salmonella* ssp e coliformes termo tolerante) e sensorial (aceitabilidade).

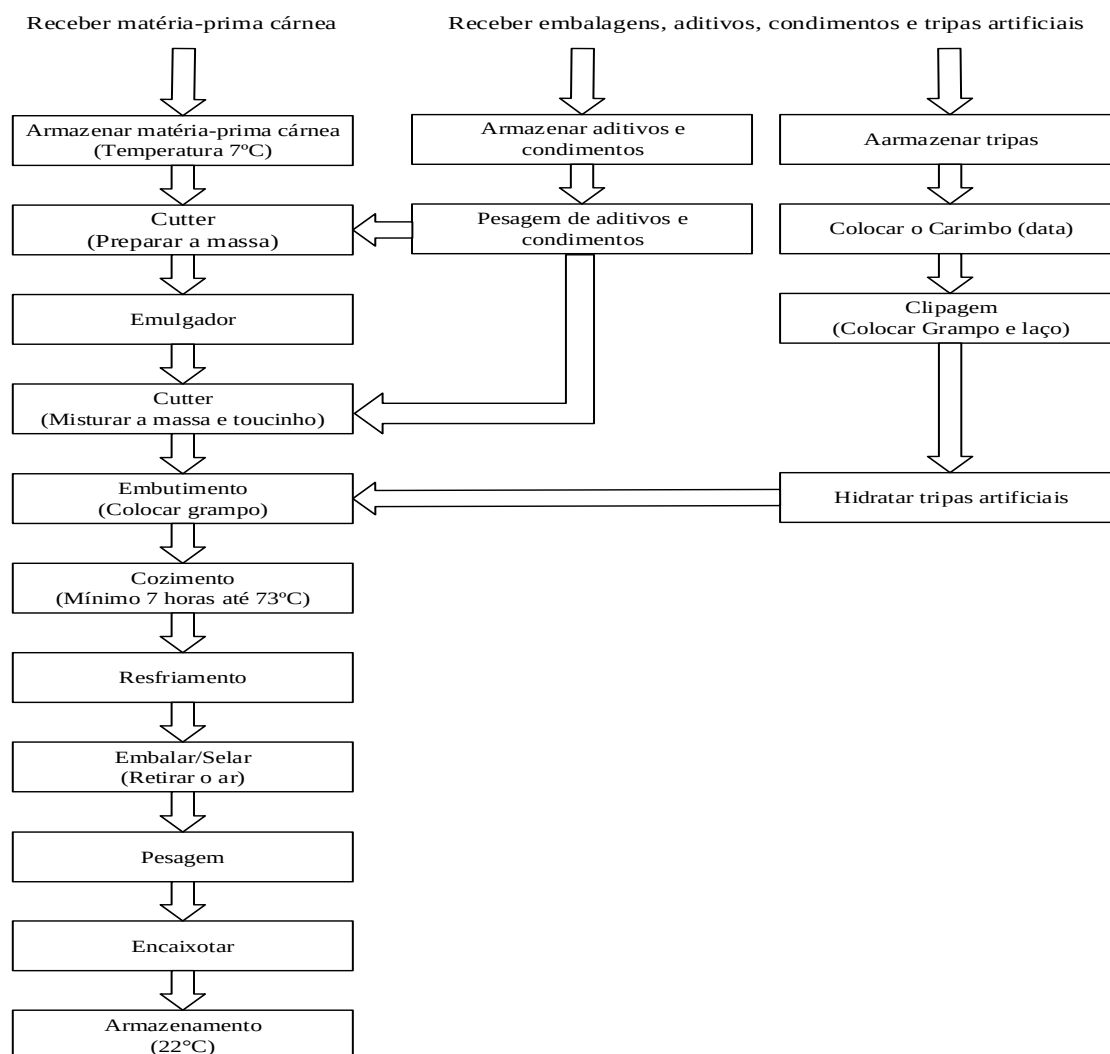
4.1 Elaboração de Formulações de Mortadela

As formulações de mortadela tipo Bologna foram elaboradas em uma agroindústria, situada no Alto Uruguai do RS. Nas formulações foram utilizados os seguintes constituintes: carne bovina, carne suína, carne mecanicamente separadas de ave, toucinho suíno, água, amido, proteína de soja, açúcar, glicose, dextrose, especiarias (alho, pimenta preta, coentro e cebola), regulador de acidez (lactato de sódio), estabilizante (tripolifosfato de sódio, pirofosfato dissódico, hexametáfosfato de sódio), realçador do sabor (glutamato monossódico, espessante (carragena, goma guar), antioxidante (eritorbato de sódio), corante natural carmin de cochonilha), acidulante (glucono-delta-lactona), conservante (nitrito de sódio e nitrato de sódio) e aromas naturais (cebola, coentro, gengibre e pimenta preta) (quantidades não declaradas). A Figura 4 apresenta a descrição das etapas de elaboração da mortadela. As formulações foram realizadas em escala industrial em bateladas com peso médio de 419 kg de massa por batelada, para atendimento a legislação, preconizadas nos Ofício-Circulares 005/2015 e 006/2015.

Na elaboração das formulações (Formulação 1 – F1; Formulação 2 – F2), inicialmente foram realizados testes preliminares, variando a quantidade de alguns ingredientes (aumento do percentual de carne mecanicamente separada - CMS, gordura, especiarias e aditivos/coadjuvantes: pimenta preta, regulador de acidez, açúcar, realçador de sabor, mix de estabilizantes, conservantes, antioxidantes e condimentos), diminuindo o percentual de carne, água e sal, dentro dos limites estabelecidos pela legislação e mantendo fixo os demais ingredientes: amido, proteína de soja e corante natural. Com a alteração dos ingredientes da formulação referência (Formulação 1) obteve-se uma nova formulação (Formulação 2, formulação proposta para atendimento da aw conforme legislação) na qual foi alterada a

concentração de cloreto de sódio, lactado de sódio, açúcares, proteína de soja funcional, espessantes e gordura, onde a Formulação 2 teve por objetivo atender a legislação já citada.

Figura 4: Descrição das etapas do processamento de mortadela tipo Bologna.



Fonte: Autor (2017).

As formulações foram preparadas em cutter com velocidade controlada, onde são adicionadas as matérias primas (carnes e gordura) e os condimentos que fazem parte da formulação, a massa passa pelo emulgador melhorando a estabilidade da mesma, retornando para o cutter para a finalização do preparo da formulação, onde são adicionados o toucinho em cubos restante e a pimenta preta, conforme Figura 5. A temperatura da massa é de no máximo 10°C.

Após o preparo a massa segue para a embutidora, onde foram embutidas em tripa artificial fibrosa, previamente hidratada em água a temperatura de 25°C a 35°C, de 30 a 40 minutos e com um dos lados já grampeado, cada peça é embutida com peso de

aproximadamente 5 kg, com diâmetro médio de 150 mm e comprimento médio de 40 cm, após isso é feito o grampeamento e colocação do laço de nylon no outro lado das peças para colocação das peças na varas, estas foram colocadas em varas de alumínio, sendo no máximo 5 peças por vara e distribuídas em carros de cozimento específicos, sendo no máximo 24 varas por carro, conforme Figura 6, seguindo para as estufas de cozimento por no mínimo 7 h.

Figura 5: Aspecto da massa emulsionada da mortadela no cutter em unidade industrial.



Fonte: Autor (2017).

Figura 6: Distribuição das mortadelas na estufa antes de cozimento em unidade industrial.



Fonte: Autor (2017).

Após a formulação das amostras de mortadela, estas foram submetidas ao cozimento na estufa (Brusinox) disponível na indústria, com capacidade para 10 caros de cozimento, onde a mesma é com ventilação forçada e com vapor indireto, conforme programação de temperatura e tempo especificados na Tabela 2. O cozimento foi realizado e acompanhado através de um programa de cozimento específico para a estufa, para acompanhamento da curva de cozimento. O controle do cozimento é feito pelo acompanhamento da temperatura da estufa e do produto, através de termômetro tipo PT100, o termômetro é colocado no centro da peça (ponto frio) de forma aleatória em algumas peças, ficando em cozimento até o produto atingir 73°C internamente.

Tabela 2: Programação do tempo e temperatura de cozimento mortadela na estufa.

Fase	Tempo (min)	Temperatura (°C)	
		Estufa	Produto
Estufa (Brusinox)			
Início	60	55	
1º	60	60	
2º	30	65	
3º	60	65	
4º	60	70	
5º	30	75	
6º	90	80	72
7º	Até o produto atingir 73°C internamente		73

Após essa etapa as formulações foram encaminhadas para o resfriamento em sala específica, embalada em embalagem termoencolhível, acondicionadas em caixas de papelão e armazenadas a 22°C.

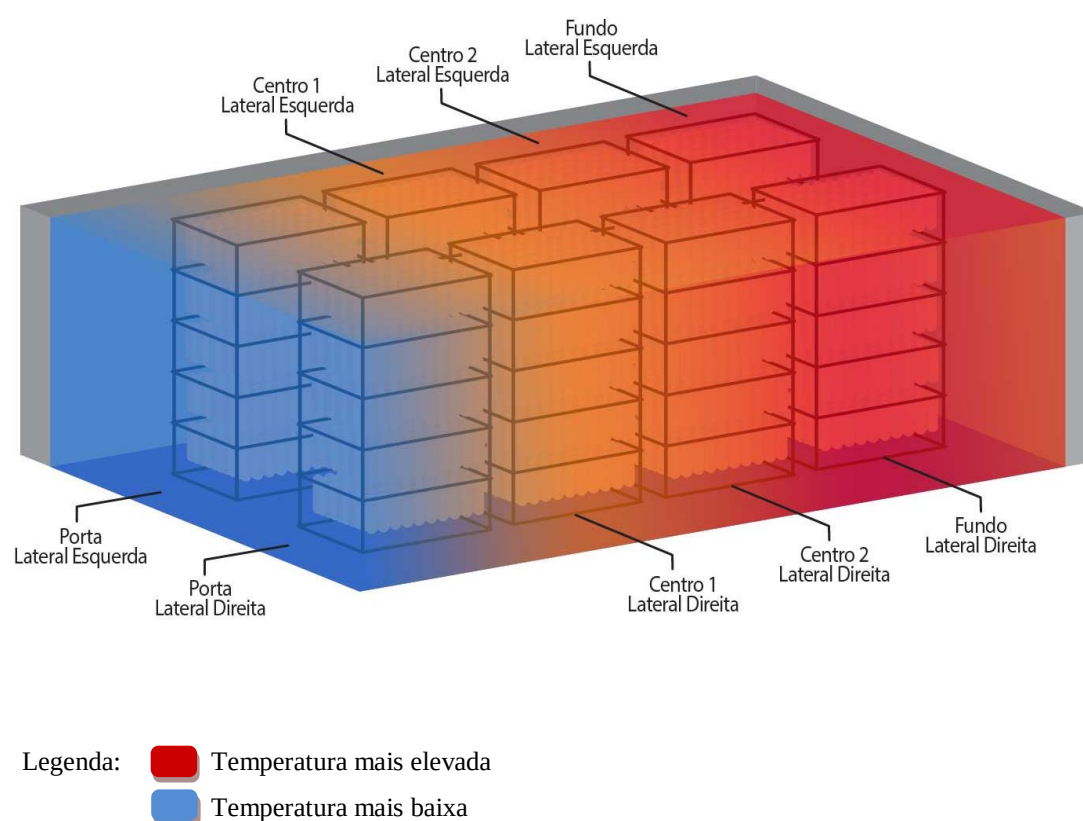
4.2 Avaliação do Tratamento Térmico

4.2.1 Controle Físico

Após a formulação das amostras de mortadela, estas foram submetidas ao cozimento em estufa disponível na indústria. Para o acompanhamento do processo de cozimento, primeiramente, avaliou-se a distribuição de calor na estufa para a determinação do ponto frio,

conforme programação de temperatura e tempo especificados nas Tabelas 2 e 3. A avaliação do ponto frio das estufas foi realizada com auxílio de Data Logger T176T4 (Texto, Campinas/Brasil, faixa de trabalho de -100 a 1000°C) de acordo com metodologia descrita por Santos Filho e Penna (2003), adaptada, com sensor de 4 canais/sondas, coletando informações da temperatura de 2 em 2 min durante o cozimento, distribuídos em 8 posições na estufa (Figura 7) de forma suspensa, sem estabelecer com a superfície da mesma, durante os estudos de distribuição e penetração de calor.

Figura 7: Esquema de distribuição dos sensores e distribuição de calor nas estufas de cozimento.



4.2.2 Controle Biológico

A Equação 1 foi utilizada para calcular a taxa letal teórica levando em consideração os valores de D_{ref} (Value-D) e T_{ref} (temperatura de referência), onde D_{ref} e T_{ref} são os dados teóricos do micro-organismo alvo, o *Streptococcus D* (pertencente à família *Enterococcus*), ou seja, T_{ref} de 70°C, valor de D de 2,95 min; valor de z de 10°C para mortadela (FEINER, 2006; BRASIL, 2015).

$$\frac{D_{T2}}{D_{T1}} = 10^{(T1-T2)/Z} \quad (1)$$

Onde: $D_{T2}/D_{T1} = L$

A Equação 2 foi utilizada para o cálculo do tempo de destruição do micro-organismo alvo. O F_{ref} foi calculado para o micro-organismo referência, levando em consideração o número inicial e final de micro-organismos existentes na amostra bem como valor de D_{ref} .

$$F_{ref} = D_{ref} (\log N_0 - \log N) \quad (2)$$

Onde, N_0 é número inicial de micro-organismos presentes na matéria prima e N é o número final de micro-organismos.

Para que possa ser avaliado se o processo térmico proposto atende a letalidade mínima necessária, deve-se calcular o valor de F_{cal} para o processo total de cozimento, o qual deve ser no mínimo igual ou superior ao valor de F_{ref} obtido a partir dos dados de referência do micro-organismo alvo.

A Equação 3 relaciona o valor F_{cal} e a variação de temperatura do produto com o tempo de processo (valor de L).

$$F_{cal} = (L_1 + L_2 + L_3 + \dots + L_{n-1}) * \Delta t \quad (3)$$

Com isso, pode-se dizer que o valor de F_{cal} corresponde ao somatório das contribuições letais ($L \times \Delta t$) de cada temperatura a cada pequeno intervalo de tempo (Δt). Sendo assim, o valor de F_{cal} pode ser representado também pela Equação 3.

4.3 Caracterização e avaliação da estabilidade do produto

Após definida a melhor condição do cozimento realizou-se a caracterização e avaliação da estabilidade ao armazenamento a 22°C das formulações de mortadelas, mediante avaliações físico-químicas (pH, umidade, proteína, gordura, atividade de água, análise de nitrito/nitrato, oxidação lipídica, cor, textura, análise térmica (TG)), sensoriais (aceitabilidade), microbiológicas (*Clostridium* sulfito redutor, *Streptococcus*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* sp, Coliformes termotolerantes) e histológica.

Para a avaliação da estabilidade foram realizadas análises de atividade de água, pH, nitrito/nitrato, cor e oxidação de lipídeos a cada 15 dias, durante 60 dias de armazenamento. As análises microbiológicas foram realizadas aos 60 dias armazenada a 22°C para posterior avaliação sensorial. A textura, TG e a histologia juntamente com as demais análises físico-químicas foram realizadas no primeiro dia de armazenamento, visando a caracterização do produto.

4.3.1 Determinações Físico-Químicas

4.3.1.1 Umidade

A umidade foi determinada de acordo com as normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz (BRASIL, 2005), que consiste em secagem a 105°C até peso constante.

4.3.1.2 Proteína

O teor de proteína foi verificado através do método de Jaffe, descrito na norma 991.20, da Association of Official Analytical Chemists - AOAC (2005).

4.3.1.3 Gordura

A gordura foi analisada de acordo com a Norma 963.15 descrita pela AOAC (2005), pelo método de Soxhlet, que consiste na extração de gordura a quente por solvente específico com posterior evaporação do solvente residual e pesagem da amostra.

4.3.1.4 Nitrito/Nitratos

O teor de nitrito das amostras foi determinado segundo metodologia descrita pelas normas do Instituto Adolfo Lutz (BRASIL, 2005), utilizando o método de Griess-Ilosvay. Após a desproteínização das amostras, os filtrados obtidos foram submetidos à reação de cor com alfa-naftol e leitura em espectrofotômetro Parkin Elmer modelo Lambda EZ150 a 474nm em relação a uma curva padrão (2 a 100 µg/L).

4.3.1.5 Atividade de Água (aw)

A atividade de água (aw) foi determinada pelo procedimento do Aqualad models Series 3 and 3TE, efetuando-se a calibração do aparelho com água deionizada e solução de NaCl com 0,819 de aw até sua estabilização, e em seguida feita a leitura da aw/T°C da amostra.

4.3.1.6 pH

Foi utilizado um potenciômetro de pH DIGIMED DM-20 calibrado com solução a pH 3,0 e 7,0. O eletrodo de pH foi inserido na mortadela cozida previamente moída e diluída em 100 mL (BRASIL, 2005).

4.3.1.7 Cor

A cor objetiva foi determinada em calorímetro CR-400 Minolta Chromameter (Minolta Cia Ltda.), no espaço CIE $L^*a^*b^*$, onde L^* = luminosidade, a^* = intensidade da cor vermelha e b^* = intensidade da cor amarela (STEWART; ZIPSER e WATTS, 1965). As determinações foram realizadas diretamente na superfície dos produtos com remoção do líquido superficial com absorção em papel antes da leitura.

4.3.1.8 Oxidação de lipídios

Para avaliar a extensão da oxidação lipídica ocorrida nos tratamentos realizou-se o teste das substâncias reativas ao ácido 2 tiobarbitúrico (TBARS) de acordo com RAHARJO, SOFOS & SCHIMIDT (1992), modificado por WANG et al. (2002) em relação a interferência do açúcar na reação e seguindo recomendações de Shahidi et al. (1997) no que se refere a adição de sulfanilamida para as amostras que contem nitrito. A concentração foi calculada por espectrofotometria (Parkin Elmer modelo Lambada EZ150) a 531 nm usando uma curva padrão com TEP (1×10^{-8} a 1×10^{-7} mol/mL). Os resultados foram expressos em miligramas de malonaldeído por quilograma de amostra (MDA mg/ Kg de amostra).

4.3.1.9 Análise térmica de TG (Termogravimetria)

Para análise da TG foi utilizado um analisador termogravimétrico (TG-DTG 60H, Marca SHIMADZU). A faixa de temperatura foi de 25 a 800 °C, com razão de aquecimento de 10 °C/min, atmosfera inerte (nitrogênio), fluxo de gás 50 mL/min e mortadela cozida de 10 mg.

4.3.1.10 Textura

As formulações serão avaliadas quanto a textura, em temperatura ambiente, através de Texturômetro TA XT (Stable Micro Systems LTDA.), amostras preparadas com cubos de 20 mm e Compressão de 40,0 % da amostra.

4.3.2 Determinação microbiológica

As determinações microbiológicas das amostras foram avaliadas no 60º dia de armazenamento a 22°C. As amostras foram selecionadas aleatoriamente, sendo consideradas para as determinações triplicadas de amostras.

As análises de microbiologia de *Salmonella* ssp, *Clostridium* sulfito redutor, *Staphyococcus aureus* e Coliformes termotolerantes foram realizadas conforme a recomendação e exigências da RDC 12 de janeiro de 2001 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (BRASIL, 2001).

Para a avaliação do *Streptococcus* D, foi utilizada a metodologia descrita na Instrução Normativa nº 62, de 26 de agosto de 2003.

Para a avaliação de *Salmonella* sp. foi utilizada a metodologia descrita na Instrução Normativa n. 62, do MAPA (BRASIL, 2003a), através do enriquecimento seletivo, capaz de favorecer a recuperação das células estressadas e promover a multiplicação celular para níveis detectáveis pelas metodologias. A seleção e o isolamento de colônias foram realizados em meio sólido contendo substâncias impiedentes de crescimento para a maioria dos microrganismos interferentes.

Os *Clostridium* sulfito redutores foram determinados pelo método descrito na Instrução Normativa n. 62, do MAPA (BRASIL, 2003a), na qual a contagem baseia-se na incubação da amostra ou na diluição da mesma em meio de cultura seletivo. Após incubação em anaerobiose, os *Clostridium* formam colônias negras, devido à redução de sulfito em sulfeto, que reage com citrato de amônio e ferro III, formando um precipitado negro.

Staphylococcus coagulase positivo foi determinado através do método descrito na Instrução Normativa n. 62, do MAPA (BRASIL, 2003a), utilizando a placa Petrifilm Staph Express, que é um sistema de meio de cultura pronto para uso, que contém um agente geleificante solúvel em água fria. O meio cromogênico modificado de Baird Parker na placa é seletivo e diferencial para *Staphylococcus aureus*. O disco Petrifilm Staph Express contém azul de O-toluidina, facilitando a visualização da reação de desoxirribonuclease (Dnase).

Coliformes termotolerantes foram analisados de acordo com método 991.14 da AOAC (1991), utilizando a placa Petrifilm para a contagem de coliformes que é um sistema pronto de meio de cultura que contém nutriente do vermelho violeta bile (VRB), um agente geleificante solúvel em água fria e um indicador tetrazólio que facilita a enumeração de colônia.

4.3.3 Análise Sensorial

Antes da realização das análises sensoriais o projeto foi submetido ao Conselho de Ética, sendo aprovado pelo comitê sob o número 1.640.169. Os participantes assinaram um Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (Apêndice B), no qual aceitaram em participar voluntariamente das avaliações sensoriais e autorizaram a divulgação dos resultados da avaliação sensorial.

As avaliações sensoriais das amostras foram realizadas ao final de 60 dias de armazenamento com equipe composta por 25 provadores não treinados, de ambos os sexos, faixa etária de 20 a 50 anos. As amostras de mortadela foram fracionadas em pedaços de aproximadamente 2 cm, distribuídas de forma balanceada, em recipientes plásticos codificados com números aleatórios de três dígitos, juntamente com a ficha de avaliação, expressando a aceitabilidade – Teste de Escala Hedônica, empregando escala mista estruturada de 9 pontos (1 – desgostei muitíssimo e 9 – gostei muitíssimo) (QUEIROZ, 2006). No apêndice A é apresentado o modelo da ficha de avaliação empregado no Teste de Escala Hedônica.

4.3.4 Análise Histológica

O processamento histológico e a análise das lâminas foram realizados no Laboratório de Histologia da Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões – URI Campus de Erechim - RS. Foram encaminhadas as amostras no tempo zero dias para avaliação da histologia das mortadelas. Com o objetivo de avaliar a estabilidade das mortadelas a 22°C

em relação a Formulação 2, devido as alterações da formulação, por apresentar maior quantidade de gordura e menor quantidade de água.

As amostras de mortadela de cada formulação foram fixadas em formol a 10 % com posterior técnica histológica de rotina segundo (JUNQUEIRA & CARNEIRO 2008), incluindo as etapas de desidratação gradativas, diafanização, infiltração e emblocamento em parafina das amostras. A partir de cada bloco de parafina obteve-se lâminas histológicas com cortes de 4 μ m de espessura de cada grupo para posterior coloração pela técnica de Hematoxilina-Eosina. As lâminas foram numeradas de acordo com o grupo a que pertencia.

As análises dos cortes histológicas foram realizadas em microscópico (Lambda Lqt – 3) e as imagens foram fotografadas no *software Motic Images Plus 2.0*. O campo histológico de cada lâmina foi avaliado, utilizando-se as objetivas de 10 e 25 vezes de aumento e ocular de 10 vezes, as avaliações das amostras foram realizadas em temperatura ambiente.

4.3 5 Análise Estatística

Os dados de temperatura coletados foram submetidos à análise estatística descritiva geral e individual por profundidade das estufas de cozimento utilizando o procedimento PROC MEANS do SAS®. As médias de temperatura foram ajustadas pelo método dos quadrados mínimos ordinários com o comando LSMEANS (*Least Squares Means*) do SAS® e comparadas pelo teste de Tukey ao nível de 5 % de significância. As análises estatísticas foram realizadas no aplicativo SAS® *System for Windows™* versão 9.4 (SAS Institute Inc., Cary - NC, USA).

Os resultados da caracterização e da estabilidade do produto foram tratados estatisticamente pela análise de variância (ANOVA) e comparação das médias pelo teste de Tukey (t-student), análise de Pearson e análise dos componentes principais (ACP), com 5 % de significância, utilizando o *software Statistica* versão 5.0 (Statsoft Inc, USA).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

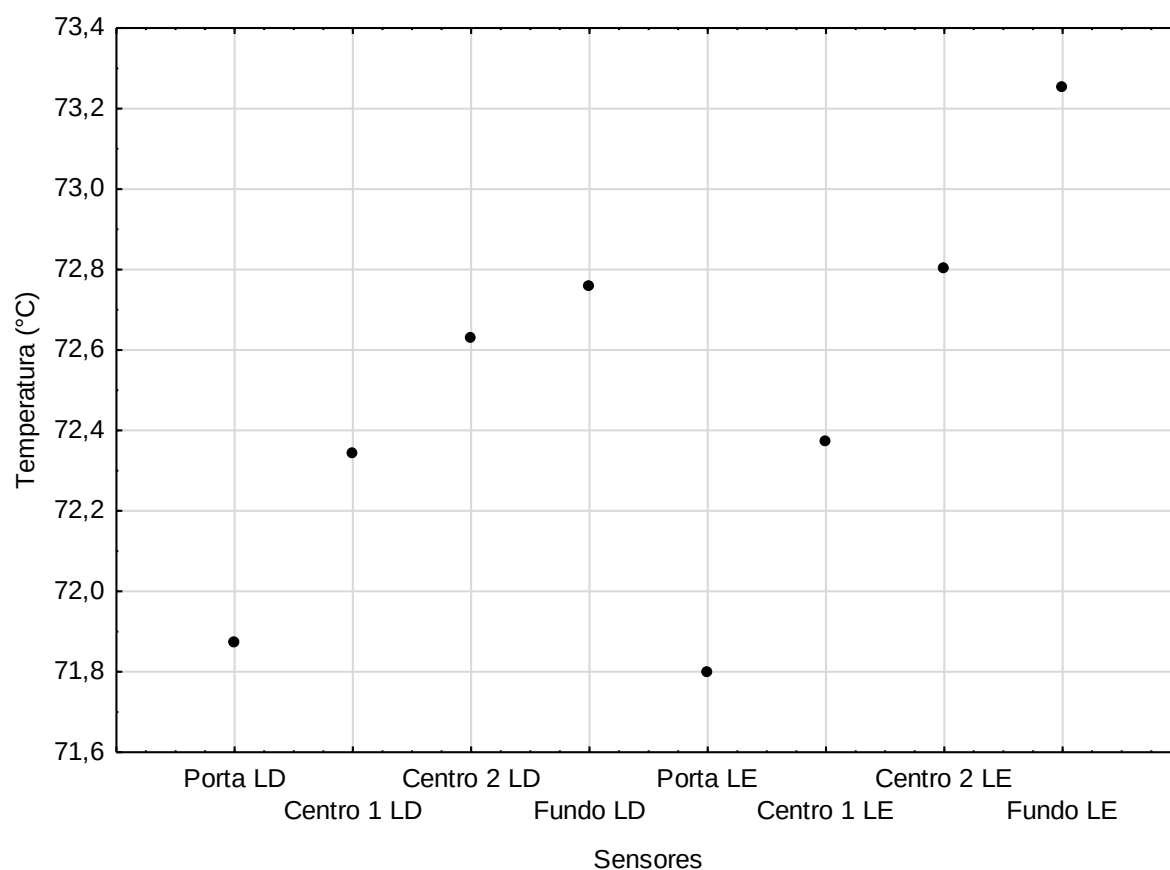
Neste item serão apresentados e discutidos os resultados obtidos no decorrer deste estudo, constando do acompanhamento da validação do cozimento, estabilidade físico-química, microbiológica e sensorial da mortadela tipo Bologna durante 60 dias a 22°C.

5.1 Análise do Tratamento Térmico

5.1.1 Temperatura Crítica da Estufa – Ponto Frio

Na Figura 8 e na Tabela 3 são apresentados a relação da distribuição da temperatura na estufa de cozimento conforme programação de tempo previsto para o produto, mostrando onde encontra-se o ponto frio da estufa Brusinox, onde a estufa estava vazia (sem produto) durante o período de cozimento, foram realizadas três repetições.

Figura 8: Distribuição da temperatura em diferentes regiões da estufa (Brusinox) de cozimento de mortadela.



Os dados de temperatura coletados foram submetidos à análise estatística descritiva geral e individual por profundidade da estufa de cozimento e os resultados indicaram, com 95% de certeza, que a região fria/ponto frio da estufa (Brusinox) é a região localizada na porta de entrada dos carros e, portanto, concluiu-se que a validação do cozimento precisa ser realizada nesta posição. A metodologia apresentou $R^2 > 0,960$ e mostrou-se segura, reprodutível e representativa para as estufas. Conforme citado anteriormente, as médias de temperatura foram ajustadas pelo método dos quadrados mínimos ordinários, sendo estes dados da distribuição da temperatura da estufa (Brusinox) apresentados na Tabela 3.

Tabela 3: Distribuição da temperatura média em diferentes regiões da estufa (Brusinox).

Região da Estufa	Temperatura Média (°C)
Porta LD	71,87 ^d ± 0,04
Centro 1 LD	72,34 ^c ± 0,10
Centro 2 LD	72,63 ^{bc} ± 0,08
Fundo LD	72,76 ^{bc} ± 0,10
Porta LE	71,80 ^d ± 0,11
Centro 1 LE	72,37 ^{bc} ± 0,12
Centro 2 LE	72,80 ^b ± 0,06
Fundo LE	73,25 ^a ± 0,21

Média ± (desvio padrão) seguidas de letras minúsculas iguais não diferem estatisticamente a nível de 5% (Teste de Tukey). Legenda: Lado Direito (LD); Lado Esquerdo (LE)

O ponto frio da câmara de cozimento da estufa variou entre 71,87°C e 71,80°C, na região próxima a porta de entrada dos produtos, sendo que este difere significativamente ($p < 0,05$) das demais temperaturas da estufa.

A informação do ponto frio é um dado importante para a definição da distribuição do sensor na estufa para verificar se o produto atingiu 73°C no seu interior durante a etapa de cozimento. Além disso, estes resultados poderão auxiliar no dimensionamento do projeto de construção de estufas pelos fabricantes e de operação da mesma.

5.1.2 Resistência Térmica do *Streptococcus D* no Produto

Após a coleta de temperaturas de núcleo do produto, foi calculado o valor letal teórico para o micro-organismo termorresistente *Streptococcus D*, onde pode-se comparar os valores de F_{cal} com o F_{ref} para o produto. A Figura 09 demonstra o perfil de temperatura e tempo do

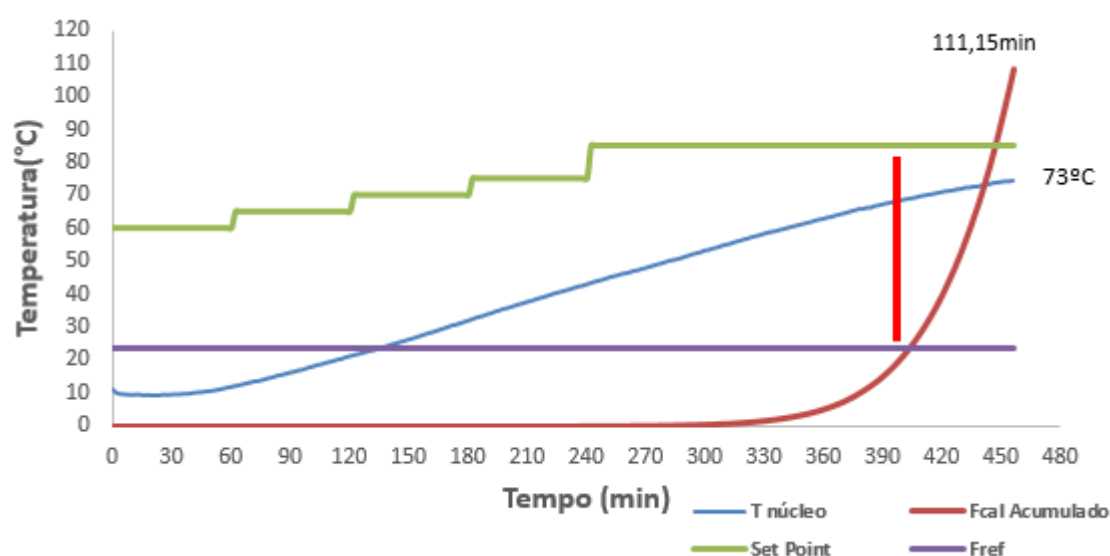
núcleo do produto durante o tratamento térmico na estufa. Observa-se que, quando assegurados um tempo de cozimento da mortadela de no mínimo 7 h, com atingimento da temperatura de núcleo do produto de no mínimo 73°C, o valor letal teórico (F_{ref}) para a redução de 8 ciclos logarítmicos do *Streptococcus D* é de 23,6 min. Desta forma, demonstrando que o tratamento térmico aplicado ao produto é adequado e garante a segurança alimentar onde o valor de $F_{cal} > F_{ref}$ (Tabela 4).

Tabela 4: Valor letal para o *Streptococcus D*, obtido para a mortadela tipo Bologna no cozimento a 73°C e dados da literatura.

Especificação	Valores
D (min), T_{Ref} 70°C*	2,95
Z (°C), T_{Ref} 70°C*	10
F_{Ref} 6D (min), T_{Ref} 70°C*	17,70
Contagem inicial (UFC/g)	10^7
Contagem Final (UFC/g)	10^{-1}
L_{Cal} (min)	101,52
F_{cal} 8D (min)	23,6

* Feiner (2006).

Figura 9: Evolução da temperatura de cozimento do núcleo do produto Estufa (Brusinox).



De acordo com a Figuras 09 observa-se que nos minutos iniciais da coleta no núcleo do produto ocorre uma pequena redução da temperatura, sendo este referente a equalização térmica

do produto, visto que o sensor está numa temperatura ambiente e ao ser posicionado no centro frio do produto tem um tempo para equalização da temperatura, ou seja, há ΔT do núcleo do produto em relação a temperatura ambiente. Porém, esta diminuição da temperatura não influenciou no F_{cal} .

Este monitoramento ocorreu de forma a avaliar a permanência do produto a um tempo mínimo de 7 h na estufa de cozimento, atingindo temperatura de núcleo ao final do cozimento igual ou acima de 73°C. Mesmo levando-se em consideração que a temperatura mínima requerida pela legislação para processos de cozimento é de 71°C (Brasil, 2015), o binômio tempo *versus* temperatura de 7 h e 73°C foi estabelecido de forma a assegurar o atendimento ao valor letal requerido (F_{cal}) de 23,6 min (8 ciclos log).

Para a letalidade, além dos valores de D (tempo em min a uma certa temperatura de referência constante requerida para eliminar 90% da população inicial do micro-organismo de referência) e Z (diferença necessária para reduzir ciclo logarítmico no valor de D, diferença está sempre em relação a temperatura de referência para o micro-organismo de interesse) é necessário o cálculo da taxa letal (L) que relaciona a variação da temperatura no processo, e o valor de F é propriamente a letalidade do processo equivalente a tempo em minutos a uma certa temperatura de referência (STUMBO, 1965; REICHERT, 1988; FELLOWS, 2006; KNIPE; RUST, 2009).

5.2 Caracterização e Estabilidade das Formulações de Mortadela

Com a alteração dos ingredientes da formulação referência (Formulação 1) obteve-se uma nova formulação (Formulação 2) na qual foi alterada a concentração de cloreto de sódio, lactado de sódio, açúcares, proteína de soja funcional, menor quantidade de água adicionada, espessantes e gordura. A amostra da Formulação 2 (Tabela 5) apresentou uma redução significativa na atividade de água a partir de 30 dias de armazenamento ($p < 0,05$). Além disso, diferiu significativamente da Formulação 1 nos dias de armazenamento. Porém, na Formulação 1 não se observou diferença significativa no período de armazenamento. No entanto, as amostras do 0 e 15 dias de armazenamento não atendem ao valor preconizado pela legislação (BRASIL, 2015) que é de no máximo de 0,955 para A_w , onde a Formulação 2 obteve o resultado esperado para a redução da atividade de água, conforme preconizado no Ofício-Circular 005 e 006 de 2015.

Ao comparar os resultados obtidos no presente estudo com Orsolin (2015), que no acompanhamento dos valores da a_w ao longo da vida útil da mortadela de carne suína obteve

valores de 0,969 a 0,975, constatou-se que foram superiores aos encontrados no presente estudo (Tabela 5). Viuda-Martos et al. (2010) estudaram o efeito da adição de fibras de laranja (1 %), óleo essencial de alecrim (0,02 %) e óleo essencial de tomilho (0,02 %) na aw, quando comparadas com mortadela padrão de carne suína e verificaram que a mortadela padrão apresentou valor de 0,89, enquanto que as adicionadas de fibra de laranja e óleo essencial de alecrim e tomilho de 0,87, valores estes inferiores aos encontrados no presente estudo. Fiorda e De Siqueira (2009), ao elaborar mortadela com carne mecanicamente separada de ave e suíno encontraram valores de aw de 0,957, superiores aos encontrados neste estudo, o que provavelmente pode estar associado à composição da mortadela. Durante o armazenamento há pouca variação na aw e são considerados normais para este tipo de produto (FIORDA & DE SIQUEIRA, 2009; BRASIL, 2015).

De acordo com Wilson & Demmig-Adams (2007) a quantidade de água presente no alimento também pode afetar a estabilidade oxidativa dos lipídios. Segundo Dewi & Ismail (2010), a oxidação lipídica reduz o tempo de vida do produto e a qualidade nutritiva.

Em relação ao pH (Tabela 5) não há diferença significativa ($p > 0,05$) entre as formulações e entre os dias, durante o armazenamento. Estes valores de pH são considerados normais para as mortadelas (BRASIL, 2000). O pH de um alimento não exerce apenas influência sobre a velocidade de multiplicação dos micro-organismos, mas também interfere na qualidade dos alimentos, durante o armazenamento, tratamento térmico, dessecação, ou durante qualquer outro tipo de tratamento, ou seja, é também responsável direto pela deterioração de produtos alimentícios (SILVA, 2000).

Em relação ao nitrito/nitrato (Tabela 5) verifica-se que não houve diferença significativa entre as formulações, porém observou-se uma pequena redução com o armazenamento, mas não significativa ($p > 0,05$). No presente estudo, os valores obtidos no somatório de nitrito e nitrato estão dentro dos limites previstos na legislação, que estabelece um máximo de 150 ppm (BRASIL, 2006).

Guerreiro et al. (2012) avaliaram os teores de nitrito e nitrato em presunto, salsicha e mortadela comercializados na cidade de Salvador usando a espectroscopia do UV/Vis. Para a mortadela, as concentrações obtidas variaram entre 39,0 a 74,0 mg/kg e 12,2 a 61,2 mg/kg de NaNO_2 e NaNO_3 , respectivamente, e de 72,2 a 124,9 mg/kg na soma dos dois compostos.

Segundo a Elaboração do Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade (RTIQ) do produto mortadela, segundo Instrução Normativa nº 04 (BRASIL, 2000), nitrato e nitrito não estão listados entre os itens obrigatórios que devem estar presentes na formulação.

Tabela 5: Atividade de água, pH, nitrito e nitratos, índices de cor, TBARs e índice de peróxidos para as formulações de mortadela tipo Bologna.

Determinações		Período de Armazenamento (dias)				
		0	15	30	45	60
Aw	Formulação 1	0,957 ^{aA} (±0,0009)	0,956 ^{aA} (±0,0004)	0,955 ^{aA} (±0,0017)	0,952 ^{aA} (±0,003)	0,955 ^{aA} (±0,004)
	Formulação 2	0,946 ^{bA} (±0,0002)	0,948 ^{bA} (±0,0014)	0,939 ^{bB} (±0,004)	0,939 ^{bB} (±0,001)	0,925 ^b (±0,015)
pH	Formulação 1	6,42 ^{aA} (±0,0294)	6,60 ^{aA} (0,0634)	6,39 ^{aA} (±0,0653)	6,39 ^{aA} (±0,021)	6,39 ^{aA} (±0,012)
	Formulação 2	6,396 ^{aA} (±0,049)	6,566 ^{aA} (±0,128)	6,480 ^{aA} (±0,055)	6,4 ^{aA} (±0,010)	6,396 ^{aA} (±0,025)
Nitrito/Nitrato (ppm)	Formulação 1	93,90 ^{aA} (±7,057)	93,435 ^{aA} (±20,435)	92,598 ^{aA} (±20,435)	92,333 ^{aA} (±10,143)	98,75 ^{aA} (±3,75)
	Formulação 2	94,563 ^{aA} (±7,475)	94,563 ^{aA} (±7,475)	93,663 ^{aA} (±7,475)	92,667 ^{aA} (±9,741)	100,07 ^{aA} (±2,71)
Cor	L*	54,96 ^{aC} (±4,76)	53,50 ^{aA} (±2,26)	56,42 ^{aA} (±1,40)	61,33 ^{aA} (±3,86)	48,51 ^{aB} (±4,61)
		22,39 ^{aA} (±2,94)	18,95 ^{bA} (±0,40)	22,23 ^{aA} (±0,56)	18,46 ^{aA} (±2,70)	16,61 ^{aA} (±1,08)
	b*	11,36 ^{aA} (±0,55)	11,05 ^{aA} (±1,23)	10,86 ^{aA} (±0,33)	11,58 ^{aA} (±0,84)	9,85 ^{aA} (±0,65)
		54,85 ^{aA} (±1,50)	54,66 ^{aA} (±1,16)	51,09 ^{bA} (±2,11)	50,43 ^{bA} (±2,39)	44,13 ^{aB} (±1,35)
	a*	20,09 ^{aA} (±1,20)	22,12 ^{aA} (±0,92)	20,90 ^{aA} (±0,66)	18,48 ^{aCB} (±1,32)	16,11 ^{aB} (±1,40)
		10,46 ^{aA} (±0,13)	10,89 ^{aA} (±0,34)	10,64 ^{aA} (±0,39)	10,10 ^{aA} (±0,65)	10,31 ^{aA} (±1,96)
	b*	10,46 ^{aA} (±0,13)	10,89 ^{aA} (±0,34)	10,64 ^{aA} (±0,39)	10,10 ^{aA} (±0,65)	10,31 ^{aA} (±1,96)
		10,46 ^{aA} (±0,13)	10,89 ^{aA} (±0,34)	10,64 ^{aA} (±0,39)	10,10 ^{aA} (±0,65)	10,31 ^{aA} (±1,96)
Índice de Peróxido (mEq/100g)	Formulação 1	19,077 ^{aD} (±1,044)	50,438 ^{aB} (±3,242)	60,778 ^{aA} (±2,516)	52,979 ^{aB} (±3,405)	40,622 ^{aC} (±2,263)
	Formulação 2	25,197 ^{aC} (±1,335)	40,195 ^{aBA} (±2,739)	49,137 ^{bA} (±2,209)	50,054 ^{aA} (±2,532)	44,139 ^{aBA} (±2,529)
TBARs (mg MDA/Kg)	Formulação 1	0,077 ^{aB} (±0,033)	0,068 ^{aB} (±0,010)	0,068 ^{aB} (±0,005)	0,081 ^{aB} (±0,017)	0,275 ^{aA} (±0,066)
	Formulação 2	0,058 ^{aC} (±0,016)	0,054 ^{aC} (±0,006)	0,058 ^{aC} (±0,015)	0,074 ^{aB} (±0,002)	0,185 ^{bA} (±0,002)

M(DP): Média (Desvio Padrão) seguidas de letras minúsculas/maiúsculas iguais nas colunas/linhas indicam não haver diferença significativa a nível de 5 % (Teste t Student/Teste Tukey).

Em relação aos índices de cor objetiva, o parâmetro "**L**" mensura a luminosidade e/ou brilho do produto e quanto menores forem tais valores, mais escura e a cor da amostra. O parâmetro "**a**" representa a coloração vermelha da carne e o valor "**b**" indica a variação da cor na tonalidade amarela. Assim, para que a coloração dos produtos cárneos permaneça com o tom de vermelho desejado, é esperado que os valores de "**b**" na amostra sejam baixos e "**a**" elevados. Na Tabela 5 são apresentados os valores médios da luminosidade (L^*), cor vermelha (a^*) e cor amarela (b^*) na superfície de amostras de mortadela. Observa-se que não houve diferença significativa entre as amostras em relação a luminosidade (L^*) nos primeiros quinze dias. No entanto, no 30º e 45º dia houve um aumento no valor de L^* para a Formulação 1e reduzindo no 60º dia. Em relação a Formulação 2 verifica-se que há uma perda de luminosidade com o armazenamento, sendo mais perceptível aos 60 dias, diferindo estatisticamente dos demais dias ($p < 0,05$)

Para a cor vermelha (a^*) há uma oscilação no decorrer dos dias, com um aumento no 30º dia, e com redução para ambas as formulações nos demais dias de armazenamento. A cor amarela (b^*) não apresentou diferença significativa durante o período de armazenamento, para ambas formulações.

Faria (2001), explica que oscilações da cor dos produtos armazenados, podem estar relacionadas a oxidação do pigmento nitrosohemocromo por agentes químicos como o oxigênio, ou agentes microbiológicos, associados a luz, o que resultam na formação de porfirinas verdes, amarelas ou incolores.

Em relação ao índice de peróxido (Tabela 5), de maneira geral não há diferença significava ($p > 0,05$) entre as formulações, exceto no 30º dia de armazenamento. Para a ambas as formulações observa-se um aumento no índice de peróxido com o armazenamento até 30 dias para Formulação1 e 45 dias para a Formulação 2, A redução do índice de Peróxido ao final do período de armazenamento está correlacionada ao aumento dos valores de TBARs. O índice de peróxido (IP) é um indicador muito sensível no estágio inicial da oxidação, sua presença é indício de que a deterioração do sabor e odor, em função de sua instabilidade, está por acontecer. Quando sua concentração atinge certo nível, mudanças complexas ocorrem, formando compostos de baixo peso molecular, oriundo de sua degradação, sendo que estes compostos são aldeídos (como o MDA), cetonas, ácidos, álcoois e hidrocarbonetos, sendo responsáveis pelo sabor e odor característico de ranço (ARAÚJO, 1999).

Em relação a oxidação lipídica – TBARs (Tabela 5) não há diferença significava ($p > 0,05$) entre as formulações até os 45 dias. No entanto, no 60ºdia observa-se que a Formulação 2 apresenta menor oxidação em relação a Formulação 1. Também, foi verificado pequenas

flutuações nos valores de TBARS durante ao armazenamento. Fato observado por outros autores (GRAU et al., 2001; GATELLIER et al., 2007; SCHWERT et al., 2011), os quais relataram que as flutuações nos valores de TBARS se devem ao fato que o malonaldeído reage com uma larga escala de compostos ou pode formar dienos ou trienos, o que diminui a quantidade de MDA disponível para reagir com o ácido tiobarbitúrico, em consequência, os valores de TBARS avaliados são reduzidos ao longo do período.

Almeida (2005) sugeriu que as flutuações, com redução nos valores de TBARS observados em função do tempo de armazenamento, estão associadas provavelmente com o aumento das concentrações de produtos altamente polares, resultantes da polimerização dos produtos de oxidação secundária.

Como não há descrito na legislação brasileira limites máximos de malonaldeído/kg de amostras de produtos cárneos, associa-se o aparecimento de odor desagradável (ranço) e limosidade característicos de deterioração, a valores superiores a 1 mg malonaldeído/kg (TERRA et al., 2006; CHOI et al., 2010; MERCADANTE et al., 2010; TRINDADE et al., 2010; MORAIS et al., 2013), a depender das características de cada produto. Existem relatos que valores superiores a 1,59 mg de malonaldeído/kg podem causar danos à saúde do consumidor (TERRA et al., 2006).

Assim, os valores encontrados no presente estudo ficaram abaixo de 0,5mg malonaldeído/kg da amostra, na faixa de 0,054 a 0,27 mg malonaldeído/kg (Tabela 5), sendo considerados baixos para serem percebidos por análise sensorial (Tabela 9) ou indicar qualquer ocorrência de oxidação lipídica (TERRA et al., 2006; CHOI et al., 2010; MERCADANTE et al., 2010; TRINDADE et al., 2010).

Rodrigues (2016) em seu estudo utilizando extrato antioxidante encontrou valores na faixa 0,29 e 0,84 mg, acima dos valores encontrado no presente estudo, não sendo observado alterações em relação a oxidação.

A Tabela 6 apresenta os resultados de umidade, proteína e gordura das formulações de mortadela (Formulações 1 e 2) realizadas aos 60 dias de armazenamento a 22°C. Observa-se que não houve diferença significativa ($p > 0,05$) entre as formulações quanto ao teor de umidade, proteína e gordura. As formulações estão dentro dos padrões estabelecidos pela legislação em vigor (BRASIL, 2000).

Tabela 6: Teores de umidade, proteína e gordura das formulações de mortadela tipo Bologna (Formulação 1 e 2) armazenadas a 22°C por 60 dias.

	Umidade* (%)	Proteína* (%)	Gordura+ (%)
Formulação 1	51,41 ^a ± 0,29	13,19 ^a ± 0,12	24,78 ^a ± 0,91
Formulação 2	50,97 ^a ± 1,32	13,47 ^a ± 0,16	24,85 ^a ± 0,29
Legislação**	< 65	> 12	< 30

* Médias ± desvio padrão seguidas de letras iguais/columa indicam não haver diferença significativa à nível de 5 % (Teste “t-student”); ** Brasil (2000).

A Tabela 7 apresenta os resultados das análises de dureza, coesividade, adesividade, elasticidade e mastigabilidade para as formulações de mortadela, sendo que as mesmas não apresentaram diferença estatística ($p > 0,05$) entre si. De acordo com a literatura os parâmetros de textura como dureza, elasticidade e coesividade estão relacionados com a composição centesimal dos produtos cárneos formulados, variando com o teor de umidade, gordura e proteína (COFRADES et al., 2000)

Tabela 7: Perfil de textura das formulações de mortadela tipo Bologna.

Perfil Textura*	Formulação 1	Formulação 2
Dureza (gf)	3667,81 ^b ± 59,19	3897,59 ^a ± 88,89
Adesividade (gf.mm)	-40,62 ^a ± 2,68	-43,41 ^a ± 4,95
Elasticidade (mm)	1,08 ^a ± 0,16	1,0 ^a ± 0,002
Coesividade	0,80 ^a ± 0,02	0,79 ^a ± 0,01
Gomosidade (gf)	2953,05 ^a ± 49,0	3033,42 ^a ± 17,25
Mastigabilidade (gf.mm)	3118,12 ^a ± 409,27	958,97 ^b ± 61,86

* Médias ± desvio padrão seguidas de letras iguais/linhas indicam não haver diferença significativa à nível de 5 % (Teste “t-student”).

A textura de um alimento poderá influenciar na aceitação perante o consumidor. Assim, no desenvolvimento de produtos alimentícios é de suma importância estudar as características reológicas, pois as mesmas demonstram instrumentalmente as características texturais que serão percebidas pelos consumidores (SMEWING, 2001; PEREIRA et al., 2011). Ao comparar os resultados obtidos neste estudo com os apresentados na literatura verifica-se que há uma distinção no perfil textura, influenciado principalmente pelas características dos produtos, como composição da matéria prima e demais ingredientes, bem como o processamento.

Norte et al. (2016) avaliaram a cor e a textura em mortadelas adquiridas no comércio local de Janaúba, onde o maior valor encontrado para dureza foi de 106,09 gf, para a elasticidade o maior valor foi de 0,94 mm, para a mastigabilidade foi de 6558,86 gf.mm, gomosidade o valor foi 7310,26 e para a resiliência a valor foi de 0,42 J/m² para a marca A em relação a coesividade o maior valor encontrado foi para a marca B de 0,70.

Li (2006) avaliou o emprego de 6% de colágeno proveniente de galinhas de descarte em presunto cozido. A adição deste ingrediente conferiu maior dureza, sugerindo que as proteínas de pequeno tamanho quando adicionadas afetaram a textura dos presuntos, o que foi verificado pelo aumento da dureza de 11,96 para 16,91 N. A adição deste extrato não provocou diferença nas propriedades de adesividade, elasticidade, coesividade e mastigabilidade.

Meullenet et al. (1994) relataram que a adição de fibras de colágeno aumenta a resistência e diminui a suculência de salsichas de frango e aumenta a tensão de cisalhamento, o qual está altamente correlacionada com a dureza.

Orsolin (2015) demonstrou em seu estudo sobre a otimização do cozimento de mortadelas que, a faixa de variação da força de cisalhamento entre os diferentes tratamentos de mortadela de frango, em função da temperatura da massa e do tempo de cozimento, ao longo da vida de prateleira foi de 0,24 a 0,30 kgf. As tensões de cisalhamento encontradas pelo autor são menores devido as dimensões (amostras de mortadelas) utilizadas para avaliação da força de cisalhamento foi de 1,0 x 1,0 x 2,0 cm (altura, largura, comprimento).

Cenci (2013), em seus estudos para avaliar a influência de variáveis do processo de emulsificação de mortadela de frango obteve valores entre a faixa de 0,344 a 0,432 N sendo que, as dimensões (amostras de mortadelas) utilizadas para avaliação da força de cisalhamento foi de 1,2 x 1,2 x 2,0 cm (altura, largura, comprimento).

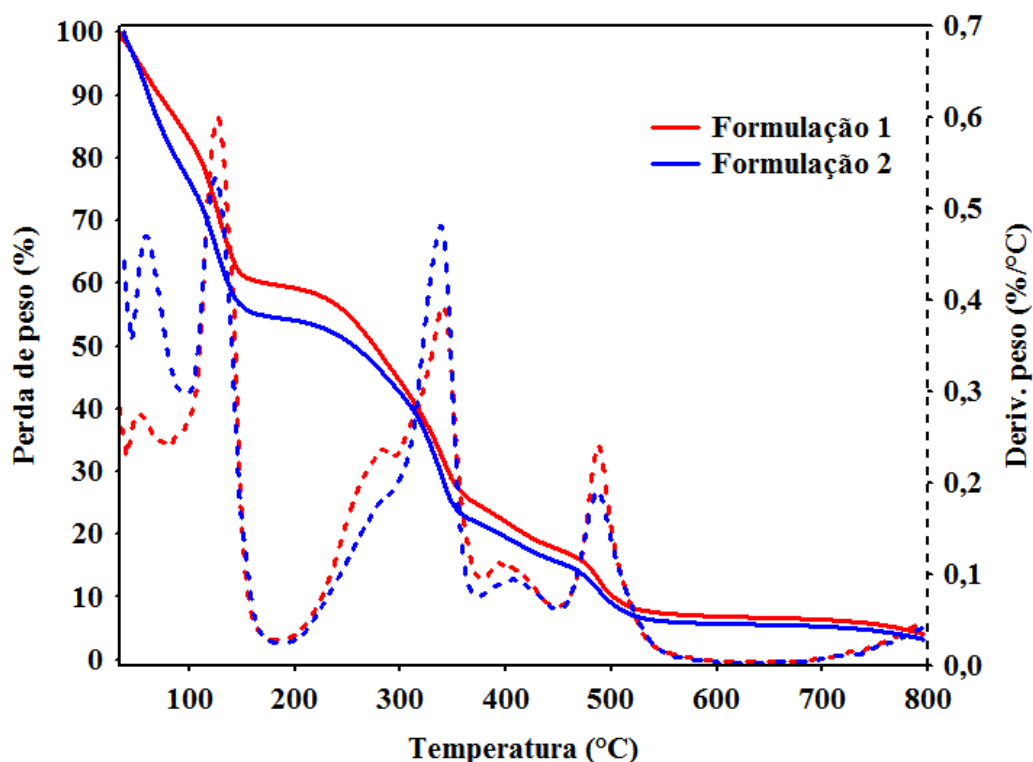
Souza (2014), no estudo de elaboração de mortadela fabricada com carne de jacaré do pantanal com adição de 0,9% de corante de urucum encontrou valores nos parâmetros de dureza (1,80 kg), fraturabilidade (1,40 kg), adesividade (0,34 kg/mm). Para a mortadela sem adição de corante os resultados médios encontrados de coesividade (2,56) e mastigabilidade (23,21 kg/mm) em relação aos demais tratamentos estudados, enquanto que a média mais elevada de elasticidade (5,05mm/g) foi encontrado para a mortadela com 0,3% de corante urucum.

A Figura 10 apresenta a análise térmica (TG) das formulações de mortadela tipo Bologna, observa-se que a instabilidade térmica ocorreu em diferentes faixas de temperatura. A primeira perda ocorre até 100°C, e demais nas faixas de 100 a 200°C, de 200 a 400°C e por fim de 400 a 600°C. O comportamento foi semelhante para as duas formulações, sendo que na Formulação 2 houve perda de massa superior que na Formulação 1. Isto deve-se provavelmente

pela Formulação 2 apresentar em sua composição maior quantidade de CMS e de gordura e menor quantidade água. Estas perdas de peso podem ser devido à remoção de água absorvida, decomposição térmica de proteínas, gorduras, polissacarídeos e outros ingredientes presentes nas formulações, sendo que este comportamento também é relatado por outros autores (AFOAKWAH et al., 2015; TAMILMANI & PANDEY, 2016).

As proteínas, a gordura e suas interações contribuem para mudanças na aparência, estrutura e atributos funcionais de carne quando submetido a variações de temperatura. Estudos empregando análise térmica são utilizados para monitorar mudanças destes dois componentes da carne para entender efeito de processamento na funcionalidade e estabilidade da carne produtos e outros ingredientes adicionados. Além disso, a análise térmica pode ser usada para diferenciar matérias-primas antes do processamento e auxiliar na redução do desperdício e custos de produção (TAMILMANI; PANDEY, 2016).

Figura 10: Faixas de temperatura de estabilidade térmica das formulações de mortadela tipo Bologna.



Na Tabela 8 estão apresentados os dados das análises microbiológicas realizadas nas amostras de mortadela da Formulação 1 e Formulação 2 armazenadas a 22°C por 60 dias.

Tabela 8: Análise microbiológica das formulações de mortadela tipo Bologna armazenadas a 22°C por 60 dias.

Tratamento	<i>Clostridium Sulfito</i> <i>reductor</i> (UFC/g)	Estreptococos D (UFC/g)	<i>S. aureus</i> (UFC/g)	<i>Salmonella spp</i> (Ausência/25g)	<i>Coliformes</i> Termolerantes (UFC/g)
Formulação 1	<1,0 x 10	< 1	<1,0 x 10	Ausência	<1,0 x 10
Formulação 2	<1,0 x 10	< 1	<1,0 x 10	Ausência	<1,0 x 10

As amostras analisadas apresentaram-se com contagens dentro dos padrões legais vigentes, de acordo com a RDC nº 12 de 02 de janeiro de 2001 (BRASIL, 2001), estando assim adequadas para consumo humano.

A Tabela 9 apresenta os resultados da avaliação sensorial (aceitabilidade) das formulações de mortadela no 60º dia de armazenamento a 22°C. Verifica-se que não houve diferença significativa ($p>0,05$), correspondendo na escala de pontuação ao “gostei moderadamente/gostei muito”, com índices de aceitação superiores a 79 %.

Tabela 9: Aceitabilidade das formulações de mortadela tipo Bologna no 60º dia de armazenamento a 22°C.

Tratamentos	Aceitabilidade (60º dia)	Índice de aceitação (%)
Formulação 1	7,16 ^a	79,55
Formulação 2	7,64 ^a	84,88

* Médias (desvio padrão) seguido de letra iguais minúsculas na coluna não diferem estatisticamente a nível de 95 % (Teste “*t-student*”).

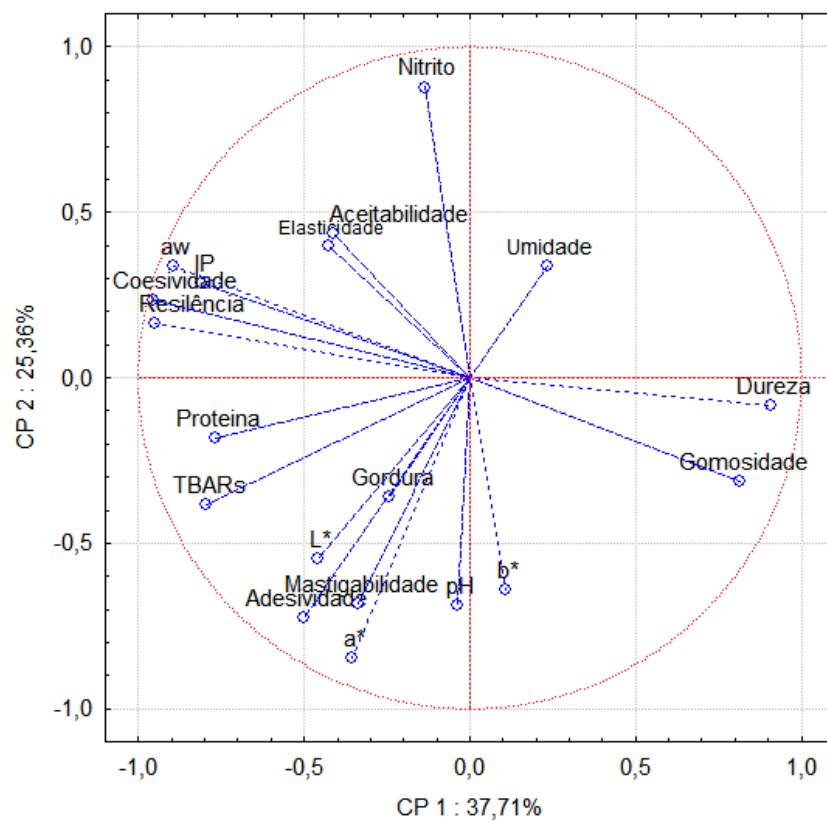
A Tabela 10 e Figura 11 apresentam a correlação de Pearson e análise dos componentes principais (ACP) das variáveis físico-químicas e sensoriais das formulações de mortadela no 60º dia de armazenamento a 22°C, respectivamente.

Pela análise da Figura 11, a primeira (CP1) e segunda (CP2) dimensão explicaram 63,07 % da variância total. O componente principal 1 (CP1) respondeu por 37,71 %, enquanto ao componente principal 2 (CP2) por 25,36 %. Na Análise dos Componentes Principais (ACP), as variáveis são representadas como vetores, os quais caracterizam as amostras/formulações que se localizam próximas a eles. Quanto mais longo o vetor, melhor a explicação da variabilidade entre as amostras/formulações. As amostras (formulações) são representadas por triângulos,

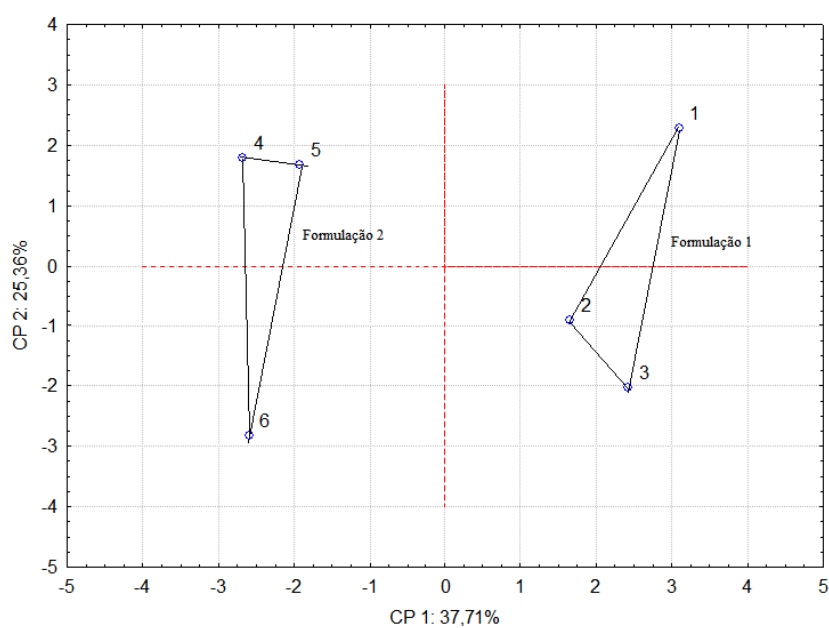
sendo cada vértice uma repetição. Observa-se que houve discriminação entre as formulações (Formulação 1 e Formulação 2) de mortadela tipo Bologna.

Os valores obtidos por meio de correlação de Pearson (Tabela 10) confirmam a relação entre os parâmetros observados na análise de componentes principais (Figura 11), demonstrando correlações entre algumas variáveis estudadas. Ressalta-se, a dureza que apresenta correlação ($>0,72$) negativa em relação a adesividade, coesividade, resiliência e a_w . Há, também, forte correlação ($>0,85$) positiva da coesividade em relação a resiliência e a_w , bem como, do TBARs em relação ao pH e a_w e, também, da cor L^* em relação a cor a^* , b^* , índice de peróxido, a_w e pH. No entanto, o teor de nitrito/nitrato tem correlação ($>0,67$) negativa em relação aos índices de cor a^* e b^* , gordura, TBARs e pH.

Figura 11: Análise dos Componentes Principais (ACP) das formulações de mortadela no 60º dia de armazenamento a 22°C. (a) Parâmetros avaliados; (b) Distribuição das formulações (Formulação 1 e Formulação 2).



(a)



(b)

Resultados e Discussão

Tabela 10: Matriz de correlação de Pearson com as variáveis umidade, proteína, gordura, dureza, adesividade, elasticidade, L*, a*, b*, T, índice de peróxido, coesividade, gomosidade, resiliência, mastigabilidade, nitritos, aw, pH e aceitabilidade das formulações de mortadela no 60º dia de armazenamento à 22°C.

	UM	PT	GT	D	A	E	L*	a*	b*	T	IP	C	G	R	M	N	aW	pH	Ac
UM	1,000																		
PT	-0,737	1,000																	
GT	0,083	0,144	1,000																
D	0,198	-0,609	-0,224	1,000															
A	-0,536	0,811	0,628	-0,732	1,000														
E	0,862	-0,308	0,101	-0,217	-0,204	1,000													
L*	0,071	0,618	0,235	-0,595	0,509	0,541	1,000												
a*	-0,596	0,798	0,682	-0,529	0,965	-0,328	0,434	1,000											
b*	0,223	0,395	0,757	-0,497	0,637	0,523	0,800	0,612	1,000										
T	-0,307	0,825	0,106	-0,440	0,552	0,154	0,896	0,553	0,607	1,000									
IP	0,511	0,128	0,200	-0,702	0,261	0,847	0,741	0,064	0,667	0,381	1,000								
C	-0,023	0,529	0,047	-0,954	0,548	0,424	0,703	0,325	0,485	0,507	0,830	1,000							
G	-0,405	-0,181	-0,035	0,770	-0,246	-0,766	-0,698	-0,020	-0,528	-0,367	-0,976	-0,902	1,000						
R	-0,222	0,659	-0,155	-0,898	0,516	0,255	0,689	0,314	0,330	0,606	0,680	0,957	-0,792	1,000					
M	-0,564	0,777	0,056	-0,037	0,433	-0,274	0,553	0,557	0,321	0,855	-0,147	0,039	0,168	0,215	1,000				
N	0,145	-0,521	-0,718	0,101	-0,609	-0,054	-0,602	-0,736	-0,800	-0,670	-0,121	-0,030	-0,033	0,009	-0,702	1,000			
AW	-0,117	0,565	-0,377	-0,719	0,274	0,346	0,707	0,090	0,223	0,646	0,653	0,862	-0,769	0,949	0,275	0,075	1,000		
pH	0,013	0,398	0,197	0,150	0,159	0,230	0,670	0,289	0,555	0,780	0,118	-0,047	-0,004	0,016	0,814	-0,794	0,150	1,000	
Ac	0,321	0,013	-0,683	-0,081	-0,417	0,552	0,463	-0,521	-0,063	0,388	0,455	0,367	-0,527	0,468	0,140	0,259	0,716	0,302	1,000

UM – umidade; Proteína – PT; Gordura – GT; D -Dureza – D; A – Adesividade; E – Elasticidade; L, a*, b*, T – TBARS; Índice de Peróxidos – IP; C – Coesividade; G – Gomosidade; R – Resiliência, M – Mastigabilidade; N – Nitritos/Nitratos, AW, pH; Ac – Aceitabilidade; ** Correlações em realce são significativas

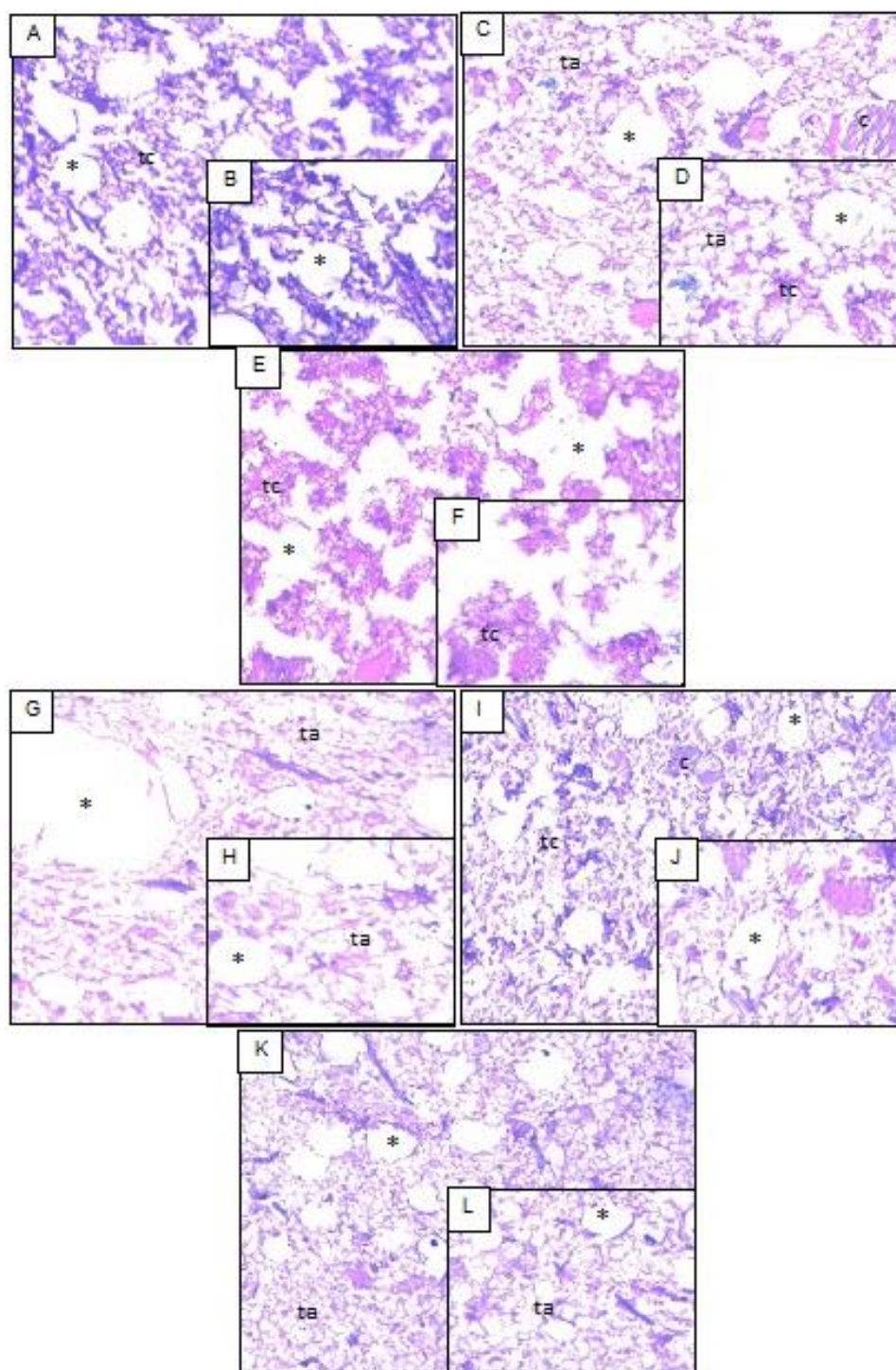
5.2.1 Caracterização histológica

Através da utilização dos métodos histológicos foi possível a análise qualitativa da presença de tecido muscular, tecido adiposo e tecido conjuntivo. Pode-se visualizar na Figura 12 as fotomicrografias obtidas pelo método de Hematoxilina-Eosina das formulações de mortadela aos 60 dias de armazenamento. A Formulação 1 (A,F) para o grupo teste A (A,B) apresenta desorganização do tecido adiposo (tc), presença de bolhas de ar (*) ao longo das áreas; grupo teste B (C,D) observa-se tecidos organizados (tc) ao lado de tecidos adiposo bem aparente (ta) e com presença de cartilagem (c); e para o grupo Teste C (E, F), desestruturação do tecido adiposo intenso (tc) e desorganização das bolhas de ar (*), sendo sua classificação caracterizada como “ruim”.

Nas amostras da Formulação 2 - grupo A (G - H) foi observado bastante tecido adiposo organizado (tc), com presença de bolhas de ar organizadas (*), ao lado de tecidos bem distribuídos, sendo considerado resultado “muito bom” quanto a distribuição; para o grupo B (L, J) foi verificado tecido desestruturado e sem muita distinção considerado “ruim” (tc); no grupo C (k, L) observa-se organização tecidual (tc), mostrando tecido adiposo (*), também foi observado pedaços de cartilagem (c), sendo caracterizado como “bom” neste critério.

Na literatura são escassos estudos que avaliaram a caracterização histológica de mortadela. Teixidor (2006) e Prestes et al. (2013c), abordaram a técnica Hematoxilina-Eosina para verificar a estrutura tecidual de presuntos suínos e de frangos, respectivamente. De acordo com Prestes et al. (2013c) a avaliação histológica dos presuntos mostrou a existência do colágeno natural presente na própria carne e o aumento da quantidade de colágeno distribuído no produto final quando este ingrediente foi adicionado na formulação.

Figura 12: Fotomicrografia da mortadela tipo Bologna Formulação 1 (A-F) e Formulação 2 (G-L).



Legenda: Formulação 1 (A-F) e Formulação 2 (G-L). A,B) Grupo Teste A: desorganização tecidual (tc); presença de bolhas de ar (); C,D) Grupo Teste B: tecidos organizados (tc) tecido adiposo bem aparente (ta); peças de cartilagem (c). E,F) Grupo Teste C: desestruturação tecidual intensa (tc); desorganização das bolhas de ar (*); G,H) Grupo padrão A: tecidos (tc); bolhas de ar bem organizado (*), tecido adiposo bem distribuído (ta); I,J) Padrão B: tecido desorganizado (tc); K,L) Grupo Padrão C: organização tecidual (tc), tecido adiposo (*), peças de cartilagem (c). Amplitude de 4 e 10x, respectivamente. H.E.

6 CONCLUSÕES

Em função dos resultados obtidos no presente estudo, concluiu-se que a elaboração da Formulação 2 de mortadela atendeu os requisitos previstos nos Ofícios-Circulares 005/2015 e 006/2015, onde a alteração da formulação não afetou as características físico-químicas, sensoriais e microbiológicas do produto. Onde o tratamento térmico aplicado foi adequado para o controle do *Streptococcus* D e as reduções logarítmicas foram maiores do preconizado na legislação.

A mortadela apresentou ótima estabilidade a 22°C, mediante aos acompanhamentos físico-químicos, microbiológicos e sensorial.

A nova Formulação (Formulação 2) obteve o resultado esperado para a atividade de água, onde o maior resultado encontrado foi de 0,948 no décimo quinto dia de armazenamento.

Para o pH as formulações tiveram um comportamento semelhante para ambos os tratamentos, não tendo diferença significativa entre as formulações e entre os dias de armazenamento.

A Formulação 2 apresentou menor tonalidade coloração amarela e luminosidade/brilho. Indicando que a mesma proporcionou um aspecto visual levemente mais escuro, quando comparado com a Formulação 1.

Quanto a oxidação lipídica as formulações apresentaram valores relativamente baixos, não sendo observadas alterações de odor e sabor em relação ao ranço. O maior valor de TBARs, foi na Formulação 1 nos 60 dias de armazenamento sendo de 0,275 mg MDA/Kg.

Em relação a avaliação sensorial (aceitabilidade), observou-se que não teve diferença significativa entre as amostras, com índices superiores a 79% na escala de pontuação.

Em relação a análise térmica (TG) a Formulação 2 apresentou uma maior perda de massa em relação a Formulação 1, em função da Formulação 2 apresentar maior percentual de gordura e menor percentual de água.

Em relação a análise dos componentes principais, observa-se que ocorreu correlação entre algumas variáveis estudadas, onde para a dureza apresentou correlação negativa em relação a adesividade, a coesividade, a resiliência e a atividade de água. Já para a coesividade em relação a resiliência e a_w , bem como, do TBARs em relação ao pH e atividade de água e, também, da cor L^* em relação a cor a^* , cor b^* , índice de peróxido, a_w e pH a correlação foi positiva. No entanto, o teor de nitrito tem correlação negativa em relação aos índices de cor a^* e b^* , TBARs e pH.

A avaliação histológica mostrou a existência de tecido adiposo e bolhas de ar, de forma mais estruturada e conectadas para a Formulação 2, mostrando que ela apresentou uma estrutura mais estável do que a Formulação 1.

6.1 Sugestões

A partir deste trabalho algumas sugestões são indicadas para trabalhos futuros:

- ✓ Avaliar a quebra do produto no processo de cozimento em relação a Formulação 2;
- ✓ Fazer estudo de *shelf life* visando prolongar o prazo de validade da mortadela tipo Bologna.

7 BIBLIOGRAFIA

ABPA. Associação Brasileira de Proteína Animal. **Relatório Anual 2017**. Disponível em: www.abpa-br.org – Acessado em: 20/09/2017

AFOAKWAH, N.A, DONG, Y., ZHAO, Y., XIONG, Z., OWUSU, J., WANG, Y., ZHANG, Y., **Characterization of Jerusalem artichoke (*Helianthus tuberosus* L.) powder and its application in emulsion-type sausage**, LWT - Food Science and Technology, v 64, n. 1, p. 74-81, 2015.

ALEXANDER, J. C. **Biological effects due to changes in fats during heating**. Journal of the American Oil Chemists' Society, v. 55, n. 10, p. 711–717, 1978.

ALEXANDER, J. W. Immunonutrition: The role of ω -3 fatty acids. **Nutrition**, v. 14, n. 7-8, p. 627–633, 1998.

ALMEIDA, Cleide Oliveira de. **Avaliação físico-química e microbiológica de linguiça toscana porcionada e armazenada em diferentes embalagens, sob condições de estocagem similares as praticadas em supermercado**. Dissertação, Unicamp, Campinas, SP, p. 603-603, 2005.

ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Métodos químicos e físicos para análises de alimentos**. 4. ed. São Paulo: Ministério da Saúde, Instituto Adolfo Lutz, 2005. V.1, 1018p. (Série A. Normas e Manuais Técnicos).

AOAC. Association of Official Analytical Chemists. **Official methods of Analysis of AOAC international**. 16.ed. Arlington: AOAC International, 1991.

AOAC. Association of Official Analytical Chemists. **Official methods of Analysis of AOAC international**. 18. ed. Gaithersburg: AOAC International, 2005.

ARAÚJO, Júlio M. A. **Química de Alimentos: Teoria e Prática**. Editora Universidade Federal de Viçosa, MG, 2ª edição, p. 45 1999.

BARBOSA, L.N.; GARCIA, L. V.; TOLOTTI, K. D.; GOELLNER, T.; AUGUSTO-RUIZ, W.; ESPÍRITO SANTO, M. L. P. **Elaboração de embutido tipo mortadela com farinha de arroz**. **Vetor – Revista de Ciências Exatas e Engenharias**, v. 16, n. 1, p. 11-20, 2006.

BERRA, B.; MONTORFANO, G.; RIZZO, A. M. Omega-6 e omega-3: rationale per lo studio del loro rapporto. **Progress in Nutrition**, v. 7, n. 1, p. 24–33, 2005.

BORTOLUZZI, R. C. **Aplicação da fibra obtida da polpa da laranja na elaboração de mortadela de frango**. Tese Doutorado – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo – USP, 2009.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e do Abastecimento. **Instrução Normativa nº 4 de 31 de março de 2000**. Institui Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Carnes Mecanicamente Separada, de Mortadela, de Linguiça e de Salsicha.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução RDC n.12, de 02 de janeiro de 2001**. Regulamento Técnico Sobre os Padrões Microbiológicos para Alimentos. Brasília, DF, 2001.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instrução Normativa n. 62 de 26 de agosto de 2003a**. Métodos Analíticos Oficiais para Análises Microbiológicas para Controle de Produtos de Origem Animal e Água.

BRASIL, Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Métodos Físico-Químicos para Análises de Alimentos, Ministério da Saúde, Agência Nacional de Vigilância Sanitária**, Brasília, Ministério da Saúde, 2005, 1018p.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instrução Normativa Nº 51, de 29 de dezembro de 2006**. Adota o Regulamento Técnico de Atribuição de Aditivos, e seus Limites das seguintes Categorias de Alimentos 8: Carne e Produtos Cárneos.

BRASIL, **Ofícios Circulares 005/2015 e 006/2015 (CGI/DIPOA/SDA)**, Informações sobre registro de produto mortadela conservada em temperatura ambiente, 2015.

CARDOSO, T.; COSTA, M.; ALMEIDA, H. C.; GUIMARAES, M. **Botulismo alimentar: estudo retrospectivo de cinco casos**. ACTA Médica Portuguesa, Lisboa, v.17, p.54–58, 2004.

CASTRO, A. G. **Química e a reologia no processamento dos alimentos**. 1. ed. Instituto Piaget 295 p. 2002.

CASTRO, P. S.; COBUCCI, R. M. A.; GALERA, J. S. **Determinação de vida útil de alimentos**. In: Semana de Engenharia de Alimentos da Universidade Católica de Goiás, 11. Goiânia, 2008.

CENCI, F. D. **Estudo da influência de variáveis do processo emulsificação de mortadela de frango**. Dissertação de Mestrado. Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões – URI, Campus Erechim, 2013.

CHANG, S. S.; PETERSON, R. J.; HO, C. T. Chemical reactions involved in the deep-fat frying of foods. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 55, n. 10, p. 718–727, 1978.

CHOI, Y. S.; CHOI, J. H.; HAN, D. J.; KIM, H. Y.; LEE, M. A.; JEONG, J. Y.; CHUNG, H. J.; & KIM, C. J. Effects of replacing pork back fat with vegetable oils and rice bran fiber on the quality of reduced-fat frankfurters. **Meat Science**, v. 84, 557–563, 2010.

CHINGWARU, W.; MPUCHANE, S. F.; GASHE, B. A. *Enterococcus faecalis* and *Enterococcus faecium* isolates from milk, beef, and chicken and their antibiotic resistance. **Journal of Food Protection**, v. 66 n. 6, p. 931-936, 2003.

COFRADES, S.; GUERRA, M. A.; CARBALLO, J.; MARTÍN-FERNANDEZ, F.; COLMENERO, F. J. Plasma protein and soy fiber content effect on Bologna sausage properties as influenced by fat level. **Journal of Food Science**, v. 65, n.2, p.281-285, 2000.

DEWI, M.; HUDA, N.; ISMAIL, N. Use of fresh garlic and garlic powder in duck sausage during refrigerated storage. **J. Food and Ag-Ind.** 3(5): 526-524, 2010.

DL. **Decreto-Lei 33/2008**. Estabelece as condições a que deve obedecer a utilização dos aditivos alimentares, com excepção dos corantes e edulcorantes. Diário da República nº39, I Série de 25 de fevereiro de 2008, p.1215-1221.

DOMIG, K. J.; MAYER, H. K.; KNEIFEL, W. Methods used for the isolation, enumeration, characterisation and identification of *Enterococcus* spp. 1. Media for isolation and enumeration. **International Journal of Food Microbiology**, v. 88, p. 147-164, 2003.

EATON, T. J.; GASSON M. J. **Molecular screening of *Enterococcus* virulence determinants and potential for genetic exchange between food and medical isolates**. *Applied and Environmental Microbiology*, v. 67, p.1628-1635, 2001.

EDUARDO, M. B. P.; MELLO, M. L. R.; KATSUYA, E. M.; CAMPOS, J. C.; IMENTA, N. B.; KITAGAWA, B. Y. **Manual das doenças transmitidas por alimentos e água: *Clostridium botulinum*/Botulismo**. São Paulo: Secretaria de Saúde do Estado de São Paulo, 2002. 41p.

EFSA. **Opinion of the Scientific Panel on Biological Hazards on a request from the Commission related to the effects of nitrites/nitrates on the microbiological safety of meat products**. *EFSA Journal*, vol. 14, p 1-34, 2003.

EMBRAPA. **Boas Práticas de Armazenagem na Indústria de Alimentos**. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, Rio de Janeiro: 2000.

EVANGELISTA, José. **Tecnologia de Alimentos**. São Paulo. Atheneu, 2ª Edição, 2001. 652p.

FACKLAM, R.; SAHM, D. F.; TEIXEIRA, L. M. *Enterococcus*. In: MURRAY, P.R., BARON, E.J., PFALLER, M.A, TENOVER, F.C., YOLKEN, R.H. **Manual of Clinical Microbiology**. 7 ed. Washington D. C.: ASM Press, 1999, p.297-305.

FARIA, J.A.F.; FELÍCIO, P.E.; NEVES, M.A.; ROMANO, M.A. **Formação e Estabilidade da Cor de Produtos Carneos Curados** (Revisão). *Revista de Tecnologia de Carnes*, Campinas, 2001, v.3, n.2, p.16-22.

FEINER, G. **Predictive microbiology for meat products**. Cambridge - England, 2006.

FELLOWS, P. J. **Tecnologia do processamento de alimentos**. Porto Alegre: Artmed. 2006. 602p.

FENNEMA, O.R. **Química de alimentos**. 4ªed. – Editora Artmed, 2010

FIORDA, F. A.; DE SIQUEIRA, M. I. D. **Avaliação do pH e atividade de água em produtos cárneos**, *Estudos*. 2009, 36 (5): 817-826

FORSYTHE, S. J. **The Microbiology of safe food**. 2nd edition. Wiley-Blackwell, 2010.

FOULQUIÉ-MORENO, M. R.; SARANTINOPOULOS, P.; TSAKALIDOU, E.; DE VUYST, L. **The role and application of enterococci in food and health**. *International Journal of Food Microbiology*, v. 106, p. 1-24, 2006.

FRANCO, B. D. G. M.; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos alimentos**. São Paulo: Editora Atheneu, 2013.

FRANKEL, E. N. Antioxidants in lipid foods and their impact on food quality. **Food Chemistry**, v. 57, p. 51-55, 1996.

FRANZ, C. M. A. P.; HOLZAPFEL, W. H.; STILES, M. E. **Enterococci at the crossroads of food safety?** International Journal of Food Microbiology, v. 47, p. 1-24, 1999.

FRANZ, C. M. A. P.; STILES, M. E.; SCHLEIFER, K. H.; HOLZAPFEL, W. H.; **Enterococci in foods – a conundrum for food safety**. International Journal of Food Microbiology, v. 88, p.105-122, 2003.

FREAN, J. ARNTZEN, L.; HEEVER, J. V. D.; PEROVIC, O. **Fatal type A botulism in South Africa, 2002**. Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene, London, v.98, p.290-295, 2004.

GATELLIER, P.; GOMEZ, S.; GIGAUD, V.; BERRI, C.; BIHAN -DUVAL, E.L.; SANTE´ - LHOUTELLIER, V. Use of a fluorescence front face technique for measurement of lipid oxidation during refrigerated storage of chicken meat. **Meat Science**, v.76, n. 3, p. 543-547, 2007.

GELLI, D.S. JAKABI, M.; SOUZA, A. **Botulism: a laboratory investigation on biological and food samples from cases and outbreaks in Brazil (1982-2001)**. Revista do Instituto de Medicina Tropical, São Paulo, v.44, n.6, p.321-324, 2002.

GERMER, S. P. M.; MOURA, S. C. S R.; LEITÃO, M. F. F.; JUNQUEIRA, V. C. A.; TEIXEIRA NETO, R. O.; GONÇALVES, J. R.; JARDIM, D. C. P.; VITALI, A. A. **Princípios de Esterilização de Alimentos**. 2. ed. Campinas: ITAL, 1995. 123p.

GIRAFFA, G., CARMINATI, D., NEVIANI, E. Enterococci isolated from dairy products: a review of risks and potential technological use. **Journal of Food Protection**, v. 60, p. 732-738, 1997.

GIRAFFA, G. **Enterococci from foods**. FEMS Microbiology Reviews, v.26, p.163-171, 2002.

GRAU, A.; GUARDIOLA, F.; GRIMPA, S.; BARROETA, A. C.; CODONY, R. **Oxidative Stability of Dark Chicken Meat Through Frozen Storage: Influence of Dietary Fat and α -Tocopherol and Ascorbic Acid Supplementation**. Poultry Science, v. 80, n. 11, p. 1630-1642, 2001.

GUERRA, I. C. C. D. **Efeito do teor de gordura na elaboração de mortadela utilizando carne de caprinos e de ovinos de descarte**. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2010. 87 p.

GUERREIRO, L. **Dossiê Técnico: Boas Práticas de Fabricação em Serviços de Alimentação**. Serviço Brasileiro de Respostas Técnicas, Rede de Tecnologia do Rio de Janeiro, Setembro de 2006.

GUERREIRO, Renata de Souza; SÁ, Matheus Santos de; RODRIGUES, Letícia de Alencar Pereira. **Avaliação do teor de nitrito e nitrato em alimentos cárneos comercializados em Salvador**. RevInter Revista Intertox de Toxicologia, Risco Ambiental e Sociedade, v. 5, n. 1, p. 77-91, fev. 2012.

HARDIE, J. M.; WHILEY, R.A. **Classification and overview of the genera Streptococcus and Enterococcus**. Journal of Applied Microbiology, v. 83, p. 1S-11S, 1997.

HAUSCHILD, A. H. W. **Clostridium botulinum**. In: DOYLE. Foodborne Bacterial Pathogens. U.S.A., Marcel Dekker, 1989. p. 111-189.

HONIKEL, Karl-Otto. The use and control of nitrate and nitrite for the processing of meat products. **Meat Science** v. 78 p. 68 - 76, 2008.

HONKAVAARA, M. Influence of PSE pork on the quality and economics of cooked, cured ham and fermented dry sausage manufacture. **Meat Science**, v. 24, p.201-207, 1998.

HOWELL, N. K.; HERMAN, H.; LI-CHAN, E. C. Y. Elucidation of protein-lipid interactions in lysozyme – Corn oil system by fourier transform raman spectroscopy. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 49, p. 1529-1533, 2001.

HUE, C.K. **O mercado de frios no Brasil: uma estimação da demanda a partir de um modelo aids em três estágios**. 62 f. Dissertação (Mestrado) - Fundação Getúlio Vargas, São Paulo, 2011.

HUGAS, M.; GARRIGA, M.; AYMERICH, M. T. Functionalty of enterococci in meat products. **International Journal of Food Microbiology**, v. 88, p. 223- 233, 2003.

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Pesquisa de orçamentos familiares 2008-2009: Análise do consumo alimentar pessoal no Brasil**. 2011.

ITAL - CARVALHO, C.R.L.; MANTOVANI, D.M.B.; CARVALHO, P.R.N.; MORAES, R.M.M. Análises químicas de alimentos. Campinas: ITAL, 1990. 121 p. Manual Técnico.

IVERSEN, A.; KÜHN, I.; FRANKLIN, A.; MÖLLBY, R. **High prevalence of vancomycin-resistant enterococci in Swedish sewage**. Applied and Environmental Microbiology, v.68, p. 2838-2842, 2002.

JAY, J. M. **Microbiologia de alimentos**. 6 ed., Porto Alegre: Artmed, 2005, 711p.

JOHNS, A. M., BIRKINSSAW, L. H., LEDWARD, D.A. Catalysts of lipid oxidation in meat products. **Meat Science**, v. 25, p. 209-220, 1989.

JUNQUEIRA, L. C., J. CARNEIRO. Histologia e seus métodos de estudo. In Histologia Básica. Guanabara Koogan, São Paulo, Brasil, p. 1-23, 2008.

KAHL, R.; HILDEBRANDT, A.G. Methodology for studying antioxidant activity and mechanisms of action of antioxidants. **Food Chemical Toxixology**, v.24, n.10-11, p.1007-1014, 1986.

KALINA, A. P. **The taxonomy and nomenclature of enterococcus**. International Journal of Systematic Bacteriology, v.20, p.185-189, 1970 apud MORRISON, D., WOODFORD, N., COOKSON, B. **Enterococci as emerging pathogens of humans**. Journal of Applied Microbiology, v. 83, p. 89S-99S, 1997.

KANNER, J. Oxidative processes in meat and meat products: quality implications. **Meat Science**, v. 36, p. 169-189, 1994.

KAREL, M.; SCHAICH, K.; ROY, R. B. Interaction of peroxidizing methyl linoleate with some proteins and amino acids. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 23, p. 159-163, 1975.

KEET, C.A.; STROBER, J.B. **Recent advances in infant botulism**. Pediatric Neuroscience, Basel, v.32, p.149-154, 2005.

KETCHAM, E. M.; GOMEZ, H. F. **Infant botulism: a diagnostic and management challenge pediatric perspective**. Air Medical Journal, Orlando, v.22, n.5, p.6-11, 2003.

KLEIN, G.; PACK, A.; REUTER, G. **Antibiotic resistance patterns of enterococci and occurrence of vancomycin-resistant enterococci in raw minced beef and pork in Germany**. Applied and Environmental Microbiology, v. 64, p.1825- 1830, 1998.

KLETER, G. A.; MARVIN, H. J. P. Indicators of emerging hazards and risks to food safety. **Food and Chemical Toxicology**, v. 47, p. 1022–1039, 2009.

KNIFE, C. L.; RUST, R. E. **Thermal processing of ready-to-eat meat products**. Columbus: Wiley-Blacwell, 2009.

KUBOW, S. Toxicity of dietary lipid peroxidation products. Trends in **Food Science and Technology**, v. 1, p. 67–71, 1990.

LAL DAR, Yadunandan; LIGHT, Joseph M. **Food Texture Design and Optimization**. 1 ed. John Wiley Professio, EUA, 2014

LAWRIE, R. A. **Ciência da Carne**. 6.ed. Porto Alegre, Artmed, 2005, 384p.

LEAVER, J.; LAW, A. J. R.; BRECHANY, E. Y.; MCCRAE, C. H. Chemical changes in α -Lactoglobulin structure during ageing of protein-stabilized emulsions. **Journal of Food Science & Technology**, v. 34, p. 503-508, 1999.

LEISTNER, L. **Nitrate (salpetre) and meat products. Situation in West Germany**. Die Fleischerel, Germany, v.37, n.4, p. XIV-XVI, 1986.

LI, C. T. Myofibrillar protein extracts from spent hen meat to improve whole muscle processed meat. **Meat Science**, v. 72, p. 581-583, 2006.

LIDON, F.; SILVESTRE, M. M. **Indústrias Alimentares. Aditivos e Tecnologia**. Escolar Editora, 1ª edição, Lisboa, 2007.

LIDON, F.; SILVESTRE, M. M. **Conservação de Alimentos. Princípios e Metodologias**, Escolar Editora, 1ª edição, Lisboa, 2008.

MAPA. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento: Suínos. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br/animal/especies/suinos>>. Acesso em: 20 de Setembro de 2017.

MARCOTTE, M.; CHEN, C.R.; GRABOWSKI, S.; RAMASWANY, H. S.; PIETTE, J.G. Modelling of cooking-cooling processes for meat and poultry products. **International Journal of Food Science and Technology**, v.43, p.673-684, 2008.

MASSAGUER, P. R. **Microbiologia dos processos alimentares**. São Paulo: Varela, 2005.

McMEEKIN, T. A.; BROWN, J.; KRIST, K.; MILES, D.; NEUMEYER, K.; NICHOLS, D. S.; OLLEY, J.; PRESSER, K.; RATKOWSKY, D. A.; ROSS, T.; SALTER, M.; SOONTRANON, S. **Quantitative Microbiology: A Basis for Food Safety**. *Emerging Infectious Diseases*, v. 3, n° 4, 1997.

MERCADANTE, A. Z.; CAPITANI, C. D.; DECKER, E. A.; & CASTRO, I. A. **Effect of natural pigments on the oxidative stability of sausages stored under refrigeration**. *Meat Science*, 84, 718–726, 2010.

MEULLENET, J. F., CHANG, H. C., CARPENTER, J. A.; RESSURRECCION, A. V. A. Textural properties of chicken Frankfurters with added collagen fibers. **Journal of Food Science**, v. 59, n. 4, p. 729–733, 1994.

MOELLERING Jr., R. C. **Emergence of Enterococcus as a significant pathogen**. *Clinical Infectious Diseases*, v. 14, p.1173-1176, 1992.

MORAIS, C. S. N.; MORAIS JUNIOR, N. N.; VICENTE-NETO, J.; RAMOS, E. M.; ALMEIDA, J.; ROSEIRO, C.; SANTOS, C.; GAMA, L. T.; & BRESSAN, M. C. **Mortadella sausage manufactured with Caiman yacare (*Caiman crocodilus yacare*) meat, pork backfat, and soybean oil**. *Meat Science*, 95, 403–411, 2013.

MORRISON, D.; WOODFORD, N.; COOKSON, B. Enterococci as emerging pathogens of humans. **Journal of Applied Microbiology**, v. 83, p. 89S-99S, 1997

MOURA, R. A. **Sistemas e Técnicas de Movimentação e Armazenagem de Materiais**. São Paulo: Imam, 1998.

MULLER, W. D. Tecnologia de los productos curados cocidos. **Fleischwirtsch**, v.1, p. 66-70, 1990.

NEWBURG, D. S.; CONCON, J. M. Malonaldehyde concentrations in food are affected by cooking conditions. **Journal of Food Science**, v. 45, n. 6, p. 1681–1687, 1980.

NORTE, Alexandre Ribeiro; INÁCIO, Andréia Braga; CANO-CHAUCA, Milton; SOUZA, Thaís Inês Marques de; SILVA, Jéssica Ferreira Costa Matias da. **Avaliação de Parâmetros de Qualidade de Mortadelas Adquiridas no Comércio Local de Janaúba**. *Revista Brasileira de Produtos Agronidustriais*, Campina Grande, v18, n.1, p. 49-54 2016.

ODERICH, C. A. L. **Tecnologia de alimentos - Industrialização de carnes: produção da salsicha**. Trabalho de conclusão de curso em engenharia química. Universidade Federal do Rio Grande do Sul. 61 p. Porto Alegre, 2007.

OLIVO, R., SHIMOKOMAKI, M. **Carnes: no caminho da pesquisa**. 2 ed. Cocal do Sul: Imprint, 2002. 155p.

OLIVO, R. **O Mundo das Carnes: ciência, tecnologia & Mercado**. 2 ed. Criciúma, 214 p. 2005.

OLIVO, R.; SHIMOKOMAKI, M. Emulsões Cárneas. In: SHIMOKOMAKI, M.; OLIVO, R.; TERRA, N. N.; FRANCO, B. D. G. M. (Ed.). **Atualidades em ciência e tecnologia de carnes**. São Paulo, SP: Varela, 2006, cap. 9, p. 95-113.

ORDÓÑEZ PEREDA, J. A., ÁLVAREZ, L.F., CORTECERO, M.D.S., MINGUILLÓN, G.D.G.F., PERALES, L.H., RODRÍGUEZ, M.I.C. **Tecnologia de alimentos, alimentos de origem animal**. Porto Alegre, vol. 1, Editora Artmed, 2005.

ORDÓÑEZ, J. A. (coord.) **Tecnologia de Alimentos**. Porto Alegre: Artmed, 2006.

ORSOLIN, Diones. **Redução do Tempo no Processo de Cozimento de Mortadela e Avaliação da Qualidade Final do Produto**. Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos, Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões (URI), Erechim, RS, Brasil 2015.

PANIANGVAIT, P.; KING, A. J.; JONES, A. D.; GERMAN, B. G. Cholesterol oxides in foods of animal origin. **Journal of Food Science**, v. 60, n. 6, p. 1159–1174, 1995.

PARDI, H. S.; PARDI, M. C.; SANTOS, I.F.; SOUZA, E.R. **Ciência, Higiene e Tecnologia da carne**. Goiânia, 1ª Ed., Vol II, Editora UFG. Pags. 594-595, 606, 639- 640, 645, 663-664, 677, 681, 692, 700, 704-705, 825. 1996.

PEREIRA, A. G. T.; RAMOS, E. M.; TEIXEIRA, J. T.; CARDOSO, G. P.; RAMOS, A. L. S.; FONTES, P. R. Effects of the addition of mechanically deboned poultry meat and collagen fibers on quality characteristics of frankfurter-type sausages. **Meat Science**, v. 89, p. 519–525, 2011.

PITTIA, P.; FURLANETTO, R.; MAIFRENI, M.; MANGINA, F.T.; DALLA ROSA, M. **Safe cooking optimisation by F-value computation in a semi-automatic oven**. **Food Control**, v.19, p.688-697, 2008.

POLAQUINI, L. E. M. et al. **Estudo de toxina botulínica e esporos de *Clostridium botulinum* em amostras de cama de frangos, coletadas em aviários**. In: Reunião da Sociedade Brasileira de Zootecnia, 34., 1997, Juiz de Fora, MG. Anais... Juiz de Fora: SBZ, 1997. p.48.

PRESTES, R. C.; GRABOSKI, A.; ROMAN, S. S.; KEMPKA, A. P.; TONIAZZO, G., DEMIATE, I.; DI LUCCIO, M. Effects of the addition of collagen and degree of comminution in the quality of chicken ham. **Journal Applied Poultry Research**, v.22. n.4, p. 885-903, 2013c.

QUEIROZ, M. I. **Análise sensorial para a avaliação da qualidade dos alimentos**. Rio Grande: Ed. Da FURG, 2006. 268 p.

RADOSTITS, O.M. et al. **Clínica veterinária: um tratado de doenças dos bovinos, ovinos, suínos, caprinos e equinos**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002. 1737p.

RAHARJO, S., SOFOS, J.N., SCHMIDT, G.R. Improved speed, specificity, and limit of determination of an aqueous acid extraction thiobarbituric acid-C18 method for measuring lipid peroxidation in beef. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 40, n. 11, p. 2182-2185, Nov., 1992.

RAHMAN, M. S.; GUIZANI, N. G.; AL-RUZEIKI, M. H. **D- and Z- values of microflora in tuna mince during moist and dry heating**. Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie, v. 37, p. 93-98, 2004.

REICHERT, J. E. **Tratamiento térmico de los productos cárnicos: fundamentos de los cálculos y aplicaciones**. Zaragoza: Acribia, 1988, 174p.

ROBREDO, B., SINGH, K.V., BAQUERO, F., MURRAY, B.E., TORRES, C. Vancomycin-resistant enterococci isolated from animals and food. **International Journal of Food Microbiology**, v. 54, p. 197-204, 2000.

ROÇA, Roberto de Oliveira. **Cura de carnes**. Faculdade de Ciências Agronômicas. UNESP, Botucatu, 2000. <http://fca.unesp.br>.

RODRIGUES, Angela Souza. **Atividade antioxidante e antibacteriana de extrato de Ora-Pro-Nóbis (*Pereskia aculeata* Mill) e sua aplicação em mortadela**. Dissertação Mestrado – Ciência e Tecnologia em Alimentos. Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria. 2016.

ROSE, D. P.; CONNOLLY, J. M. **Omega 3 fatty acids as cancer chemopreventive agents**. Pharmacology & Therapeutics, v. 83, n. 3, p. 217–244, 1999.

SANTOS G.; PENNA T. C. V. Validação do processamento térmico de um produto protéico vegetal enlatado. Departamento de Tecnologia Bioquímico-Farmacêutica, Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences** vol. 39, n. 4, out./dez., 2003.

SARMENTO, C. M. P. **Modelagem do Crescimento Microbiano e Avaliação Sensorial no Estudo da Vida de Prateleira da Mortadela e da Linguça Defumada em Armazenamento Isotérmico e não Isotérmico**. Tese Doutorado, Programa de Pós-Graduação Engenharia Química, Centro Tecnológico, Universidade Federal de Santa Catarina - UFSC, 2006.

SEBRANEK, J. G.; BACUS, J. N. Cured meat products without direct addition of nitrate or nitrite: what are the issues?, **Meat Science**, 77, p 136-147, 2007.

SENAI. **Elementos de apoio para o sistema APPCC**. Serviço Nacional de Aprendizagem Industrial, Rio de Janeiro, 2000.

SHUXIANG, L.; SAMET, O.; JIE, X.; FANBING, K.; PETER, G.; MEI-JUN, Z.; SHYAM S. S.; JUMING T. Microbial validation of radio frequency pasteurization of wheat flour by inoculated pack studies, **Journal of Food Engineering**, 217, p 68-74, 2018.

SILVA, J.A. **Tópicos da tecnologia de alimentos**. São Paulo: Varela, 2000.

SILVA JUNIOR, E. A. **Manual de Controle Higiênico-Sanitário em Alimentos**. 6.ed. São Paulo: Varela, 2005. 623 p.

SILVA, M.L. **Efeito de dois métodos de cocção – água e vapor – nos parâmetros de qualidade do músculo *Semitendinosus***. Dissertação de Mestrado, Piracicaba, 2004, 102f.

SOUZA, Marcia Oliveira de. **Desenvolvimento de Embutido Emulsionado Tipo Mortadela Com Carne de Jacaré do Pantanal (*Caiman yacare*) e Diferentes Corantes Naturais**. Dissertação Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Mato Grosso (IFMT), 2014

SCHLEIFER, K.H., KILPPER-BALZ, R. Transfer of *Streptococcus faecalis* and *Streptococcus faecium* to the genus *Enterococcus* nom. rev. as *Enterococcus faecalis* comb. nov. and *Enterococcus faecium* comb. nov. **International Journal of Systematic Bacteriology**, v. 34, p. 31-34, 1984.

SCHWERT, R.; VERLINDO, R.; CICHOSKI, A. J.; OLIVEIRA, D.; VALDUGA, E. Comparative evaluation of liquid and traditional smoke on oxidative stability, color and 123 sensory properties of Brazilian calabrese sausage. **CYTA - Journal of Food**, 9:2, 131-134, 2011.

SHAHIDI, F; SYNOWIECKI, J. Protein hydrolyzates from seal meat as phosphate alternatives in food processing applications. **Food Chemistry**, v. 60, n.1, p.29-32, 1997.

SHIMOKOMAKI, M.; OLIVO, R.; TERRA, N. N.; FRANCO, B.D.C.M. **Atualidades em ciência e tecnologia de carnes**. Editora Varela, São Paulo, 2006. p. 18 – 21, 123-133 e 236.

SMEWING, J. Hidrocoloides. In: ROSENTHAL, A. **Textura de los alimentos**. Zaragoza: Ed. Acribia, p. 273 – 290, 2001.

STEWART, M. R.; ZIPSER, M. W.; WATTS, B. M. The use of reflectance spectrophotometry for the assay of raw meat pigments. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 30, n. 3, p. 464-469, 1965.

STILES, M.E., HOLZAPFEL, W.H. Lactic acid bacteria of foods and their current taxonomy. **International Journal of Food Microbiology**, v. 36, p. 1-29, 1997.

STUMBO, C.R. **Thermobacteriology in food processing**. London: Blackie Academic Press, 1965.

TAMILMANI, P., PANDEY, M. C. **Thermal analysis of meat and meat products**. J Therm. Anal. Calorim. (2016) 123:1899–1917

TEIXIDOR, M.X. Metalquimia, v.22, 2006, 120p.

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

TERRA, N. Particularidades na fabricação do salame. **Revista Nacional da Carne**, edição n 317, 2003.

TERRA, N. N.; CICHOSKI, A. J. & FREITAS, R. J. S. **Valores de nitrito e TBARS durante o processamento e armazenamento da paleta suína curada, maturada e fermentada**. *Ciência Rural*, 36, 965–970, 2006.

TRINDADE, M. A.; THOMAZINE, M.; OLIVEIRA, J. M.; BALIEIRO, J. C. C. & FAVARO-
Trindade, C. S. Estabilidade oxidativa, microbiológica e sensorial de mortadelas contendo óleo de soja, armazenada a 0°C durante 60 dias. **Brazilian Journal of Food Technology**. 13, 165–173, 2010.

TUBINO, D. F. **Planejamento e controle da produção: teoria e prática**. São Paulo: Atlas, 2007.

VANCANNEYT, M.; LOMBARDI, A.; ANDRIGHETTO, C.; KNIJFF, E.; TORRIANI, S.; BJÖRKROTH, K.J.; FRANZ, C. M. A. P.; MORENO, M. R. F.; REVETS, H.; VUYST, L.; SWINGS, J.; KERSTERS, K.; DELLAGLIO, F., HOLZAPFEL, W.H. Intraspecies genomic groups in *Enterococcus faecium* and their correlation with origin and pathogenicity. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 68, p. 1381-1391, 2002.

VIUDA-MARTOS M.; RUIZ-NAVAJAS Y.; FERNÁNDEZ-LÓPEZ J.; PÉREZ-ÁLVAREZ J. A. Effect of added citrus fibre and spice essential oils on quality characteristics and shelf-life of mortadella, **Meat Science**. 2010; 85(3): 568-576.

WANG, B.; PACE, R. D.; DESSAI, A. P.; BOVELL-BENJAMIN, A.; PHILLIPS, B. Modified extraction method for determining 2-Thiobarbituric acid values in meat with increased specificity and simplicity. **Journal of Food Science**, v. 67, n. 8, p. 2833- 2836, 2002.

WILSON EA, DEMMIG-ADAMS B. ANTIOKSIDANT, Anti-inflammatory and antimicrobial properties of garlic and onions. **Nutritive and Food Science**, 2007; 37(3):178-183.

YUNES, J.F.F. **Avaliação dos efeitos da adição de óleos vegetais como substitutos de gordura animal em mortadela**. 2010. 103f. Dissertação Mestrado – Ciência e Tecnologia dos Alimentos - Universidade Federal de Santa Maria – Faculdade de Tecnologia de Alimentos, Santa Maria, 2010.

YANG, A.; BREWSTER, M. J.; BEILKEN, S. L.; LANARI, M. C.; TAYLOR, D. G.; TUME, R. K. Warmed-over flavor and lipid stability of beef: effects of prior nutrition. **Food Chemical Toxicology**, v. 67, n. 9, p. 3309-3313, 2002.

ZAMORA, R.; ALAIZ, M.; HIDALGO, F. J. Modification of histidine residues by 4,5-epoxy-3-alkenals. **Chemical Research in Toxicology**, v. 12, p. 654-660, 1999.

APÊNDICE A – Ficha de Avaliação**FICHA DE AVALIAÇÃO**

Por favor, avalie a amostra utilizando a escala abaixo para indicar o quanto você gostou ou desgostou do produto. Marque a posição que melhor reflita seu julgamento.

Código da amostra: _____

- () Gostei extremamente
- () Gostei muito
- () Gostei moderadamente
- () Gostei ligeiramente
- () Indiferente
- () Desgostei extremamente
- () Desgostei muito
- () Desgostei moderadamente
- () Desgostei ligeiramente

Comentários: _____

APÊNDICE B – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido**Termo de Consentimento Livre e Esclarecido**

Eu, **Adriane Pegoraro Brustolin**, aluna do Doutorado Engenharia de Alimentos da Universidade Regional Integrada – URI Erechim estou desenvolvendo uma pesquisa intitulada **“Validação da vida útil de mortadela tipo Bologna e avaliação da estabilidade a 22°C em Unidade Industrial”**. O objetivo deste estudo é realizar a atendimento de alguns parâmetros fundamentais para o controle de *Clostridium* que são atividade de água no produto final de no máximo 0,955, processo de cozimento validado que assegura redução mínima de 6 ciclos Log (6D) para o micro-organismos alvo (*Streptococcus D*); prazo de validade não superior a 60 dias, armazenado a 22°C.

Esta pesquisa constará de uma etapa onde os provadores serão convidados a participar do teste sensorial das amostras de mortadela. Os dados serão coletados individualmente através de questionário, de análise sensorial utilizando o Teste de aceitabilidade – Escala Hedônica. Cada participante será conduzido a uma cabine individual onde receberá 2 amostras de mortadela juntamente com uma ficha de avaliação. Após provar os produtos os participantes preencherão a ficha, pontuando as amostras em escala de 9 pontos (1 – desgostei muitíssimo e 9 – gostei muitíssimo). As amostras não representam riscos à saúde dos participantes, pois foram submetidas a análises microbiológicas, antes das avaliações sensoriais.

No decorrer e após a pesquisa será mantido o sigilo das informações obtidas e/ou qualquer dado que possa permitir identificação do participante, garantindo-lhes o anonimato. Posteriormente estes dados poderão ser utilizados para elaboração de artigos e divulgação nos meios científicos e apresentação em eventos.

Fica claro que não existirão despesas ou compensações pessoais para os participantes em qualquer fase de estudo e ocorrendo alguma dúvida em relação ao mesmo, poderão entrar em contato pelo telefone (54) 3712-0349 ou pelo e-mail adrianepegoraro@gmail.com.

Eu, Nome do Provador, RG 111111111111, fui esclarecido (a) sobre a pesquisa **“Validação da vida útil de mortadela tipo Bologna e avaliação da estabilidade a 22°C em Unidade Industrial”**. Aceito participar voluntariamente e concordo que meus dados sejam utilizados na realização e publicação da mesma.

Erechim, ____ de _____ de 20__.

Assinatura do Participante

Eunice Valduga/Geciane Toniazzi
Pesquisadores/Orientadores

Adriane Pegoraro Brustolin
Doutoranda
RG: 9062563573