



MONALISA PEREIRA DUTRA ANDRADE

**EFEITO DA RADIAÇÃO GAMA E NITRITO NA
INIBIÇÃO DO *Clostridium botulinum* E NA
QUALIDADE DE MORTADELAS**

LAVRAS - MG

2013

MONALISA PEREIRA DUTRA ANDRADE

**EFEITO DA RADIAÇÃO GAMA E NITRITO NA INIBIÇÃO DO
Clostridium botulinum E NA QUALIDADE DE MORTADELAS**

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos, para a obtenção do título de Doutor.

Orientador

Dr. Eduardo Mendes Ramos

Coorientador

Dr. Alcinéia de Lemos Souza Ramos

LAVRAS - MG

2013

**Ficha Catalográfica Elaborada pela Divisão de Processos Técnicos da
Biblioteca da UFLA**

Andrade, Monalisa Pereira Dutra.

Efeito da radiação gama e nitrito na inibição do *Clostridium botulinum* e na qualidade de mortadelas / Monalisa Pereira Dutra

Andrade. – Lavras : UFLA, 2013.

152 p. : il.

Tese (doutorado) – Universidade Federal de Lavras, 2013.

Orientador: Eduardo Mendes Ramos.

Bibliografia.

1. Produtos cárneos. 2. Parâmetros de qualidade. 3. Esporo bacteriano. 4. Redução de nitrito. 5. Nitrosaminas. 6. Bactérias patogênicas. I. Universidade Federal de Lavras. II. Título.

CDD – 664.9297

MONALISA PEREIRA DUTRA ANDRADE

**EFEITO DA RADIAÇÃO GAMA E NITRITO NA INIBIÇÃO DO
Clostridium botulinum E NA QUALIDADE DE MORTADELAS**

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos, para a obtenção do título de Doutor.

APROVADA em 21 de fevereiro de 2013.

Profa. Alcinéia de Lemos Souza Ramos	UFLA
Profa. Roberta Hilsdorf Piccoli	UFLA
Prof. Maurício Henriques Louzada Silva	IFSUDESTEMG
Prof. José Luís Contado	UFLA

Dr. Eduardo Mendes Ramos
Orientador

LAVRAS - MG

2013

AGRADECIMENTOS

A Deus, por iluminar a minha vida;

Ao meu orientador, Prof. Eduardo Mendes Ramos e à minha coorientadora, Profa. Alcinéia de Lemos Souza Ramos, por todo aprendizado e, principalmente, amizade, apoio e incentivo, meus mais sinceros agradecimentos;

À Profa. Roberta Hilsdorf Piccoli; pela disponibilidade em todos os momentos de que precisei e pela confiança depositada em mim;

Aos membros da banca examinadora, Prof. Maurício Henriques Louzada Silva e Prof. José Luís Contado, pelas valiosas e imprescindíveis contribuições ao trabalho;

Em especial, agradeço aos meus pais, Carolino e Maria, que sempre me deram toda força de que precisei em todos os momentos da minha vida;

Ao meu esposo, Cássio Andrade e Sousa, por ser meu companheiro sempre e ter sido uma pessoa de fundamental importância na concretização deste sonho. Obrigada por todo apoio e compreensão, meu amor. Meus mais sinceros agradecimentos;

Aos meus amigos que acompanharam-me e ajudaram-me muito nesta jornada: Élide, Cecília, Cristiane, Giselle, Carolina, Glécia, Érika, Ítalo, Abel, Andressa, Robledo, Henrique, Douglas, Gabriela, Aline, Ligiane, Taís e Bruna, meus eternos agradecimentos;

Em especial à Giselle e Carolina, pela valiosa e imprescindível ajuda durante a execução do experimento;

A todos do Laboratório de Irradiação Gama do Centro de Desenvolvimento da Tecnologia Nuclear (CDTN/CENEN), em especial ao pesquisador Márcio Tadeu Pereira;

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Capes), pela concessão da bolsa de estudos, viabilizando financeiramente a minha permanência no curso;

À Universidade Federal de Lavras e ao Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos, por me proporcionarem esta experiência;

A todos que, de alguma forma, participaram deste trabalho e da minha vida, meus sinceros agradecimentos.

RESUMO

Um delineamento composto central rotacional (DCCR) foi conduzido para estudar simultaneamente os efeitos da aplicação de diferentes doses de radiação gama (0 a 20 kGy) e níveis adições de nitrito (0 a 300 ppm), bem como o efeito da ordem do processo de cozimento e irradiação, sobre a resistência de esporos de *Clostridium botulinum* e a qualidade de mortadelas. Em todas as amostras irradiadas, antes ou depois do cozimento, não foi observado crescimento de nenhuma colônia após 48 horas e 30 dias de armazenamento (4 °C). Crescimento foi observado apenas nas mortadelas não-cozidas e contendo menos que 150 ppm de nitrito. Para as amostras cozidas e irradiadas, modelos de regressão significativos ($P < 0,05$) foram estabelecidos para o potencial redox (Eh), atividade de água (Aa), nitrito residual (NO₂R), pigmento heme totais (PHT), índices de peróxido (IP) e de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS), índice de vermelho (a*), tonalidade (h*), coesividade e flexibilidade. Os valores Eh aumentaram linearmente com maiores doses de irradiação, não sendo afetados pela adição de nitrito. Maiores efeitos foram observados para os níveis de nitrito nos valores de NO₂R, PHT, a* e h*, sendo que o índice de TBARS não foi afetado pela irradiação. Os efeitos da irradiação gama sobre os parâmetros de textura foi dependente do nível de nitrito adicionado, sendo o comportamento distinto para amostras com níveis de adição menores que 150 ppm de nitrito daquelas com níveis de adição maiores. Para as amostras irradiadas e cozidas, modelos de regressão significativos ($P < 0,05$) foram estabelecidos para pigmento heme nitrosos (PHN), IP índice de TBARS, índice de amarelo (b*) e tonalidade (h*). Maiores efeitos foram observados para a irradiação nos valores de PHN e b*, sendo o IP e o índice de TBARS fortemente afetados pela interação com os níveis de nitrito. Conclui-se que doses de irradiações acima de 10 kGy ou adições de nitrito acima de 150 ppm associado ao cozimento são suficientes para inibir a multiplicação do *C. botulinum* em mortadelas. Os modelos ajustados permitem ainda concluir que as maiores alterações nos parâmetros de qualidade das mortadelas foram oriundas da adição do nitrito, sendo os efeitos da irradiação dependentes do nível desta adição. Apesar de menores alterações terem sido observadas nas amostras irradiadas e cozidas, os efeitos no tratamento cozido e irradiado foram considerados aceitáveis para adições de 75 ppm de nitrito e doses de irradiação de até 10 kGy.

Palavras chave: Produto cárneo emulsionado, segurança alimentar, textura e cor objetiva, nitrito residual.

ABSTRACT

A central composite rotational design (DCCR) was conducted to study simultaneously the effects of different doses of gamma radiation (0 to 20 kGy) and nitrite additions (0 to 300 ppm), as well as the effect of the order of the cooking and irradiation process, on the resistance of spores of *Clostridium botulinum* and quality of bologna-type sausages. In all irradiated samples, before or after cooking, no growth was observed after 48 hours and 30 days of storage (4 ° C). Growth was observed only in the uncooked samples and in the bologna containing less than 150 ppm nitrite. For samples irradiated and cooked, significant regression model ($P < 0.05$) were established for the redox potential (Eh), water activity (Aw) residual nitrite (NO₂R), total heme pigment (PHT), indices of peroxide (IP), thiobarbituric acid reactive substances (TBARS), redness (a*), hue (h*), cohesiveness and flexibility. Eh increased linearly with higher doses of radiation, not being affected by the addition of nitrite. Greater effects were observed for the levels of nitrite in the values of NO₂R, PHT, a* and h*, while TBARS values was unaffected by irradiation. The effects of gamma irradiation on the texture parameters were dependent on the level of nitrite added. For samples irradiated and cooked, significant regression model ($P < 0.05$) were established for nitrous heme pigment (PHN), IP, TBARS values, yellowness (b*) and h*. Greater effects were observed for irradiation in PHN and b* values, and the IP and TBARS values were strongly affected by the interaction with nitrite levels. It is concluded that irradiation doses above 10 kGy or additions of above 150 ppm nitrite associated with cooking is sufficient to inhibit the growth of *C. botulinum* in bologna-type sausage. The adjusted models also allow the conclusion that the biggest changes in quality parameters were derived from the addition of nitrite, being the effects of radiation dependent on the level of this addition. Despite minor changes were observed in samples irradiated and cooked, the effects of cooking and irradiation treatment were considered acceptable for additions of 75 ppm nitrite and radiation doses up to 10 kGy.

Keywords: Emulsified meat product, food safety, instrumental texture and color, residual nitrite.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	10
2	REFERENCIAL TEÓRICO.....	13
2.1	Nitrito em produtos curados.....	13
2.1.1	Formação da cor característica.....	13
2.1.2	Sabor e aroma.....	16
2.1.3	Ação bacteriostática.....	19
2.1.4	Ação antioxidante.....	21
2.2	Riscos da utilização de nitrito.....	22
2.3	Mortadelas.....	24
2.4	Produtos cárneos com menores teores de nitrito.....	25
2.5	Radiação de alimentos.....	28
2.5.1	Legislação de produtos irradiados.....	30
2.5.2	Irradiação de produtos cárneos.....	31
2.5.3	Efeitos da irradiação sobre a qualidade de produtos cárneos.....	33
3	CONSIDERAÇÕES GERAIS.....	36
	REFERÊNCIAS.....	37
	ARTIGO 1	
	Utilização da radiação gama na inibição do Clostridium botulinum em mortadelas formuladas com diferentes níveis de nitrito.....	48
	ARTIGO 2	
	Efeito da radiação gama na qualidade de mortadelas formuladas com diferentes níveis de nitrito.....	66
	ARTIGO 3	
	Efeito da radiação gama na textura de mortadelas formuladas com diferentes níveis de nitrito.....	111
	ANEXOS.....	131

1 INTRODUÇÃO

Os sais de nitrito e nitrato são aditivos essenciais para o desenvolvimento de parâmetros característicos de produtos curados, como cor, sabor e aroma. Além de conferir tais atributos, o nitrito possui ação importante como conservante, atuando contra a rancidez oxidativa e microrganismos patogênicos, especialmente contra o crescimento e produção de toxina de *Clostridium botulinum* (CAMMACK et al., 1999; CASSENS, 1995, 1997).

O *C. botulinum* é um microrganismo anaeróbio obrigatório, esporulado, responsável pela doença conhecida como botulismo. Este microrganismo produz potente neurotoxina que interfere na liberação da acetilcolina no sistema de transmissão e ampliação do estímulo nervoso para os músculos, danificando-o e, desta forma, provoca paradas cardíacas e, principalmente, respiratórias, levando à morte se ingerida em concentrações de 1 µg. Por se encontrar amplamente distribuído no solo, o *C. botulinum* é um dos principais patógenos vinculados a intoxicações alimentares, principalmente aquelas oriundas de produtos cárneos cujo armazenamento foi conduzido sob temperaturas acima da de refrigeração (TOMPKIN, 1986).

Um grande número de produtos cárneos curados e emulsionados (ou de massa fina) são amplamente consumidos no Brasil e no mundo, dentre eles as mortadelas possuem grande aceitação nas diferentes classes econômicas. Estes produtos possuem pH maior que 4,6, atividade de água relativamente alta e são embalados em condições anaeróbias, conferindo condições adequadas para o desenvolvimento do *C. botulinum* e produção de sua toxina quando mantidos sob temperaturas maiores que 8 °C, motivo pelo qual o uso de nitrito é imprescindível.

Embora estudos tenham mostrado que cerca de 40 ppm de nitrito sejam suficientes para conferir a cor, aroma e sabor de produtos curados, valores

inferiores a 150 ppm têm sido relatados como insuficientes para prevenir o crescimento e produção de toxina por *C. botulinum*, motivo pelo qual as autoridades sanitárias de diversos países, entre eles o Brasil, permitem valores residuais máximos de 150 mg de nitrito/kg em produtos curados (BRASIL, 1998).

No entanto, existe crescente preocupação com o emprego de nitritos em produtos cárneos curados, devido ao risco da formação de N-nitrosaminas, compostos comprovadamente cancerígenos, com propriedades mutagênicas e teratogênicas, formados pela reação de derivados do nitrito com aminas secundárias em alimentos protéicos, como a carne. Durante décadas, vários trabalhos têm relatado a presença consistente de N-nitrosaminas em produtos curados.

Tentativas, como o uso de adições máximas de agentes redutores, como ascorbatos e eritorbatos, comumente usados no processo de cura, ou a adição de outros agentes, como α -tocoferol, tem implicado em drástica redução dos valores residuais de nitrito e, conseqüentemente, na formação de N-nitrosaminas. No entanto, esta redução também implica em menor efeito antibotulínico, de forma que a preocupação com o botulismo continua sendo extremamente relevante. Além disso, os níveis de N-nitrosaminas em produtos curados ainda são considerados elevados, especialmente por se tratar de compostos acumulativos.

Devido à possibilidade de riscos à saúde, pela formação de N-nitrosaminas, substitutos para o nitrito têm sido pesquisados, mas até o momento não se encontrou nenhum que seja satisfatoriamente efetivo, seja devido a ação antibotulínica insatisfatória ou a efeitos adversos na qualidade sensorial. Neste sentido, alguns trabalhos têm demonstrado que a irradiação gama pode causar a radiólise do nitrito residual e, em sistemas modelos, das N-nitrosaminas, o que permite não apenas aumentar a vida-útil do produto pela ação antimicrobiana,

mas também reduzir os compostos mutagênicos formados durante o seu processamento e, ou, armazenamento.

A irradiação gama é reconhecida como o melhor método para a destruição de microrganismos patogênicos e deterioradores, uma vez que não compromete as propriedades nutricionais e sensoriais do alimento, e seu uso vem aumentando, gradualmente, em todo o mundo. Até pouco tempo, por questões de segurança, era aconselhada a aplicação de doses de irradiação menores do que 10 kGy, mas, atualmente, sabe-se que qualquer dose aplicada que não altere as propriedades funcionais e, ou, sensoriais dos alimentos são consideradas seguras.

A irradiação de alimentos é um método de conservação absolutamente seguro, não tendo ainda sua utilização disseminada devido ao medo e à rejeição por parte dos consumidores em algumas partes do mundo. No entanto, alguns países importadores de alimentos já exigem o uso da irradiação como forma de conservação dos produtos comercializados e a procura do consumidor por alimentos conservados desta forma têm aumentado nos últimos anos.

Com a realização deste trabalho objetivou-se estudar os efeitos da aplicação de diferentes doses de irradiação gama (0 a 20 kGy) sobre os atributos microbiológicos e de qualidade de mortadelas elaboradas com níveis crescentes de nitrito (0 a 300 ppm), bem como o efeito do processo de cozimento e irradiação isoladamente e em combinação. Com esse propósito, os produtos elaborados foram caracterizados quanto a parâmetros microbiológicos e físico-químicos de importância tecnológica, sendo avaliados 48 horas após o processamento e após trinta dias de armazenamento sob refrigeração.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Nitrito em produtos curados

A adição de nitrito, de sódio ou de potássio, nas carnes curadas tem três finalidades básicas: contribuir para o desenvolvimento de sabor e cor característicos de carnes curadas, inibir o desenvolvimento de *Clostridium botulinum* e outros microrganismos e atuar como antioxidante (CASSENS, 1995).

2.1.1 Formação da cor característica

A mioglobina (Mb) é o principal pigmento na carne associado com a cor, sendo a hemoglobina (Hb), o pigmento do sangue, o segundo em importância. O componente cromóforo responsável pela absorção de luz e cor destes pigmentos é o grupo heme e, uma vez que esta porção é idêntica na molécula de mioglobina e de hemoglobina, ambos os pigmentos sofrem as mesmas reações de cor, embora, às vezes, em taxas diferentes (RAMOS; GOMIDE, 2007).

O grupo heme das moléculas de mioglobina e hemoglobina tem estrutura tetrapirrólica cíclica, denominada anel de porfirina. Trata-se de uma estrutura plana com uma molécula de ferro firmemente ligada ao centro do anel por ligações covalentes ordinárias com os átomos de nitrogênio dos quatro grupos pirrólicos. O átomo de ferro encontra-se ligado à globina por meio de um resíduo de histidina proximal (His F8) da cadeia polipeptídica, possuindo seis valências de coordenação, sendo encontrado na forma ferrosa (Fe^{+2} , reduzido) ou férrica (Fe^{+3} , oxidado). A sexta valência, perpendicular, é livre quando o

estado do ferro é reduzido e serve como sítio de ligação para vários átomos ou pequenas moléculas, permitindo a geração de derivados da hemoglobina ou mioglobina, de colorações e estabilidades diversas (NELSON; COX, 2000; XIONG, 1997). Na presença de altas concentrações de oxigênio, por exemplo, este se liga à molécula de ferro na sexta posição, formando o pigmento de oximioglobina ($MbFe^{+2}O_2$), responsável pela cor vermelho-brilhante da carne fresca (ABERLE et al., 2001).

O nitrito (NO_2), tanto de potássio quanto de sódio, é o agente ativo de cura responsável pela formação da cor, sabor e aroma característicos de produtos cárneos. Em contraste, o nitrato (NO_3) não é um agente ativo no processo de cura, sendo convertido a nitrito pela ação de bactérias nitrato redutora, naturalmente presentes na carne, durante o processamento (VARNAN; SUTHERLAND, 1995).

Uma vez que o nitrito é um agente oxidante muito eficaz, a reação inicial na cura consiste na conversão da formas químicas da mioglobina em metamioglobina ($MbFe^{+3}$), pigmento de mioglobina com o ferro heme na forma oxidada e sem ligante na sexta posição e que confere uma coloração marrom à carne (RAMOS; GOMIDE, 2007). No entanto, nas condições presentes na carne (pH entre 5,5 e 6,0), o nitrito é convertido a ácido nitroso (HNO_2) e a óxido nítrico (NO), presentes em equilíbrio. O NO formado se combina com a porção heme da metamioglobina para originar o pigmento de nitrosometamioglobina ($MbFe^{+3}NO$), altamente instável e que é rapidamente reduzido à forma química de nitrosomioglobina ($MbFe^{+2}NO$), pigmento de cor vermelho-rosado característica de produtos curados crus (MOHLER, 1982; MOLLER; SKIBSTED, 2002). O processo de redução de $MbFe^{+3}NO$ a $MbFe^{+2}NO$, bem como do NO_2 a NO, é realizado por um sistema redutor (NADH, glutatona, etc.) naturalmente presente no músculo (O'KEEFE; HOOD, 1982).

Embora, na ausência de oxigênio, o pigmento de nitrosomioglobina seja muito estável, na presença de oxigênio a estabilidade do complexo $\text{MbFe}^{+2}\text{NO}$ é altamente dependente da taxa de dissociação do NO, uma vez que o oxigênio apenas reage com o NO livre, oxidando-o rapidamente a NO_2 . Dessa forma, o pigmento de nitrosomioglobina é considerado instável, uma vez que a concentração de oxigênio, geralmente, é muito maior, substituindo o NO assim que este se dissocia da mioglobina (LIVINGSTON; BROWN, 1981). Além disso, outros oxidantes reagem com o NO, convertendo-o novamente a nitrato (NO_3), que deverá ser convertido a nitrito (NO_2) e deste novamente a NO, para então reagir com a mioglobina, ilustrando a natureza cíclica de oxirredução das reações de cura (MOHLER, 1982).

Uma forma de estabilização do complexo $\text{MbFe}^{+2}\text{NO}$ é a desnaturação da molécula de globina pelo aquecimento (50-60 °C), formando o pigmento nitrosoemocromo, que apresenta cor rósea, característica de produtos curados cozidos (RAMOS; GOMIDE, 2007). Quando a globina é desnaturada, a sua ligação com o grupo heme (sítio His F8) é rompida e substituída por outra molécula de NO ou por outro ligante nitrogenado. Essa nova ligação forma um complexo com maior estabilidade à oxidação e à dissociação do NO (LIVINGSTON; BROWN, 1981).

Entretanto, os complexos mioglobina-NO nitrosomioglobina e nitrosoemocromo são fotossensíveis, ocorrendo a dissociação do NO da molécula de mioglobina na presença da luz. Assim, se nas condições de armazenamento o produto curado for exposto à luz e ao oxigênio, o NO dissociado será rapidamente oxidado a nitrito (NO_2) e o produto apresentará uma descoloração, conhecida como *fading*. Se, no entanto, não houver oxigênio presente, o NO não é oxidado e pode recombinar com o grupamento heme (RAMOS; GOMIDE, 2007). Por isso, produtos curados exigem embalagens apropriadas que conferem proteção à luz e ou ao oxigênio embaladas a vácuo.

Uma vez que o nitrito interage com outros compostos na carne além da mioglobina (MOHLER, 1982), o teor de nitrito residual é extremamente importante no produto para exercer suas funções. Segundo o mesmo autor, em sistemas modelos com carne suína, cerca de 65% do nitrito adicionado permanece na forma residual, embora esses valores dependam das condições do produto. Entretanto, segundo Cassens (1997), apenas 10% a 20% do nitrito adicionado podem ser detectado analiticamente após o processamento de produtos curados e este nível gradualmente reduz-se com o armazenamento. Segundo Pardi et al. (1995), após sete dias de armazenamento, menos de 10% do nitrito permanece no produto. Em linguiça bovina, no entanto, Amin e Oliveira (2006) observaram que, após seis dias de armazenamento, cerca de 26% de nitrito ainda permanecia no produto.

Para que haja efetiva fixação da cor curada, quantidades suficientes de NO devem estar presentes. Dessa forma, a concentração de nitrito necessária para se obter a coloração característica de produtos cárneos curados varia de 30 a 50 ppm (HERSOM; HULLAND, 1984; MÜLLER, 1991).

2.1.2 Sabor e aroma

O efeito sobre o sabor e o odor característico de produtos curados foi primeiramente pesquisado em 1940, quando foi documentado que o desenvolvimento desses atributos em bacon e presunto se devia à adição de nitrito à massa cárnea. Embora se saiba desta relação, as tentativas de se identificar os componentes específicos responsáveis pelo sabor da carne curada resultante da adição do nitrito não são conclusivas (SINDELAR et al., 2007).

O sabor e o aroma da carne curada são, em parte, derivados dos mesmos compostos responsáveis pelo sabor e aroma da carne *in natura*, cuja sensação global é fortemente favorecida pelo cozimento. Acredita-se que o sabor da carne

cozida seja oriundo de uma pequena quantidade de compostos, embora a quantidade total de compostos voláteis liberados com o cozimento seja superior a 1000 (VARNAN; SUTHERLAND, 1995).

Os compostos voláteis da carne que surgem com o aquecimento derivam de um grande número de reações entre compostos não-voláteis, tanto hidrossolúveis quanto lipossolúveis. Os principais precursores responsáveis pelo aroma e sabor da carne são compostos de baixo peso molecular que incluem glicoproteínas, açúcares redutores, aminoácidos e seus produtos de degradação (GRAY et al., 1981). Segundo Herz e Chang (1970), a ação do calor sobre a carne torna o seu sabor e aroma mais pronunciado, devido, entre outros fatores, à liberação dos precursores de sabor presentes na gordura, por acelerar a reação entre aminoácidos e açúcares redutores Reação de Maillard e por permitir uma mistura mais íntima de componentes hidro e lipossolúveis.

As substâncias sápidas da carne fresca permanecem íntegras com o calor ou formam novas substâncias sápidas não-voláteis e ou substâncias aromáticas voláteis. De forma similar, o processo de cozimento tanto pode conservar as substâncias odoríferas voláteis da carne fresca, como formar novas substâncias aromáticas voláteis e ou substâncias sápidas não-voláteis. Se a carne é adicionada de nitrito, pode-se pensar em outras tantas transformações com o aquecimento, podendo originar substâncias tanto ativas como inativas para o sabor e aroma (MOHLER, 1982).

Embora o nitrito esteja intimamente relacionado com o sabor e o aroma da carne curada, as mudanças químicas responsáveis por suas características únicas ainda não são completamente conhecidas. Dessa forma, inúmeros pesquisadores têm tentado identificar os compostos voláteis produzidos durante o cozimento da carne. Nesse sentido, Cross e Ziegler (1965) reportaram que os compostos voláteis isolados de carnes curadas e não-curadas cozidas são qualitativamente similares, mas há diferenças quantitativas. Pentanal e hexanal,

por exemplo, estão presentes em quantidades apreciáveis na carne cozida não-curada, enquanto a carne curada apresenta quantidades bem baixas.

Por cromatografia gasosa tem sido isolado um grande número de compostos voláteis, porém, é sempre difícil interpretar este tipo de resultados, uma vez que as diferenças de sabor poderiam ser simplesmente devido à presença de um determinado composto formado ou sua ausência ou, ainda, a simples modificação das proporções relativas de alguns compostos (MOHLER, 1982).

Embora o nitrito não esteja, até o momento, diretamente associado a nenhum componente de sabor ou aroma específico, é reconhecido que sua ação antioxidante exerce forte contribuição benéfica, embora de forma indireta, no sabor do produto (GRAY et al., 1981; VARNAN; SUTHERLAND, 1995), uma vez que evita ou retarda a sua deterioração pela oxidação lipídica e consequente formação de compostos voláteis indesejáveis *off-flavor* (SHAHIDI; PEGG, 1991).

De forma geral, para se obter o sabor e o aroma característicos de produtos cárneos curados são necessárias concentrações de nitrito entre 20 a 50 ppm (GRAY et al., 1981; HERSOM; HULLAND, 1984; MÜLLER, 1991). MacDonald, Gray e Gibbins (1980) reportaram que 50 ppm de nitrito é suficiente para que julgadores não treinados detectem o sabor de curado, sendo esta concentração suficiente para retardar a presença de sabores e odores desagradáveis em produtos curados armazenados por 7 dias, a 4 °C.

No entanto, Hadden et al. (1975), em seu experimento com testes triangulares, mostraram que os julgadores preferiram amostras de produtos curados elaborados com teores de 156 e 200 ppm àquelas elaboradas com 20 ppm. Seus dados são consistentes com a constatação de que a cor, o aroma, o sabor e a aceitação global de produtos curados aumentam à medida que se aumenta a concentração de nitrito utilizada (GRAY et al., 1981).

2.1.3 Ação bacteriostática

Vários estudos têm demonstrado a efetividade do nitrito como agente bacteriostático, inibindo o crescimento de diferentes bactérias, inclusive patogênicas. Microrganismos do gênero *Pseudomonas* e *Achromobacter*, por exemplo, são os principais responsáveis pela deterioração da carne fresca. Em carnes curadas, por outro lado, essa microbiota predominantemente gram-negativa de saprófitas aeróbicas é substituída por bactérias ácido lácticas gram-positivas anaeróbicas aerotolerantes (SHANK; SILLIKER; HARPER, 1962).

Em produtos curados, o nitrito previne a germinação dos esporos de *Clostridium botulinum* e inibe o crescimento das células vegetativas que sobreviverem ao processamento térmico (MÜLLER, 1991). Esta ação bacteriostática do nitrito sobre o *C. botulinum*, observado em vários produtos cárneos, é o principal efeito conservante atribuído a este composto.

Clostridium botulinum é um bacilo gram-positivo, anaeróbio obrigatório, esporulado e que produz potente neurotoxina que pode levar à morte. Seus esporos são as formas mais resistentes que se têm encontrado entre os agentes bacterianos, podendo tolerar temperaturas de 100 °C por horas. A germinação dos esporos nos alimentos é promovida por condições anaeróbicas e, uma vez que a produção de toxina ocorre em alimentos com pH maior que 4,5 e elevada atividade de água durante o armazenamento, este microrganismo é especialmente importante em produtos cárneos (CERESER et al., 2008). De fato, o nome botulismo e, por conseguinte, do *C. botulinum*, deve-se a inúmeros casos de intoxicação alimentar botulínica em produtos cárneos embutidos em latim, *botulus* significa salsicha (MOHLER, 1982).

As neurotoxinas botulínicas são as mais potentes toxinas conhecidas. Um grama é capaz de matar 30 milhões de camundongos, sendo 70 µg a dose letal (via oral) da toxina A estimada para um homem adulto de 70 kg. A

neurotoxina atua nas junções neuromusculares, principalmente nos nervos periféricos, os quais possuem a acetilcolina como neurotransmissora, provocando paralisia funcional motora, sem a interferência da função sensorial. A toxina se liga na membrana nervosa, bloqueando a liberação de acetilcolina, causando paralisia flácida que evolui para a morte, devido à paralisia dos músculos respiratórios, sem desenvolvimento de lesões histológicas (CERESER et al., 2008).

O nitrito adicionado reage com a mioglobina e outros compostos presentes na carne e, dessa forma, boa parte da quantidade de nitrito adicionada é consumida por estas reações. Para que haja o controle eficaz sobre *C. botulinum*, alguns autores consideram necessários cerca de 10 ppm de nitrito residual no produto final. Valores de adição inferiores a 150 ppm são insuficientes para se alcançar este nível residual e, portanto, não previnem o desenvolvimento deste microrganismo (CASSENS, 1997). No entanto, Müller (1991) e Townsend e Olson (1984) citam valores de adição entre 75 a 150 ppm de nitrito para ação conservante, sendo a ação contra *C. botulinum* garantida apenas com a adição combinada de 1,5% a 2,0% de sal (NaCl) e cozimento até temperatura de 71 °C. Na ausência de sal, o efeito inibitório do nitrito de sódio contra microrganismos diminui, visto que foram necessários níveis de nitrito acima 400 a 800 ppm para a obtenção da ação protetora do nitrito contra microrganismos. Segundo os mesmos autores, o processo de cura contendo sal e nitrito de sódio a 3,5% e 150-170 ppm, respectivamente, foi muito mais eficaz do que o processo que contém um único composto atuando contra os microrganismos. Silliker e Taylor (1958) relataram que somente a adição de sal não garante a estabilidade microbiológica de produtos cárneos e sugeriram adição de sal e de nitrito de sódio no nível de 78 ppm em conjunto com a aplicação do tratamento térmico. Os mesmos autores concluíram que a estabilidade de carnes curadas *shelf-stable* deve-se ao efeito combinado do

nitrito, do sal e do tratamento térmico, numa intensidade de aplicação que seja suficiente para impedir a formação de esporos.

O efeito essencial do nitrito é impedir a germinação dos esporos que ficaram injuriados pelo calor. Christiansen et al. (1973) relataram que a taxa de produção de toxina é dependente do nível de nitrito adicionado inicialmente à carne. Além disso, o nível de nitrito necessário para inibir a produção da toxina é dependente da concentração de esporos. Somente em 8 das 280 amostras foram observados crescimento botulínico nas carnes curadas. Entre os fatores que influenciaram o crescimento do *C. botulinum* estão a concentração da salmoura, o pH, o nitrito residual, a concentração de esporos e a temperatura de armazenamento.

Embora os esporos de *C. botulinum* estejam presentes em níveis bastante baixos em alimentos, quando se avalia o risco de botulismo, o problema potencial remanesce. Fatores como probabilidade de esporos estarem presente no produto antes do tratamento são menos importantes do que a eficiência na remoção do microrganismo e ou na inibição da produção de toxina, particularmente em produtos que sofrerem abuso na temperatura de armazenamento.

2.1.4 Ação antioxidante

Outra participação importante do nitrito nos produtos cárneos parece ser o de retardar o aparecimento da rancidez oxidativa. Shahidi e Pegg (1991) relataram que o uso de 150 ppm de nitrito eliminou a oxidação lipídica em produtos cárneos por cerca de cinco semanas, tendo a adição de 50 e 25 ppm de nitrito reduzido os valores de Substâncias Reativas ao Ácido Tiobarbitúrico (TBARS) índice analítico utilizado para medir o grau de oxidação, sendo que

quanto maior o valor de TBARS maior a oxidação lipídica em 44% e 25%, respectivamente.

A ação antioxidante do nitrito se deve, provavelmente, à mesma reação responsável pelo desenvolvimento da cor. Os íons férricos (Fe^{+3}) da metamioglobina são catalisadores ativos da oxidação lipídica. Na reação dos pigmentos com o nitrito, o íon férrico é reduzido à forma ferrosa (Fe^{+2}), que não funciona como catalisador (TOWNSEND; OLSON, 1984). Essa contribuição do nitrito aumenta a estabilidade do produto durante a estocagem, aumentando a vida de prateleira, além de reduzir o problema de sabor de requentado (*warmed-over-flavor*) em produtos pré-cozidos (ARAÚJO, 2004). Trabalhos recentes têm demonstrado, no entanto, que esse fenômeno é bastante complexo e nem todo ele está bem elucidado (AHN et al., 1999; BYUN et al., 2002; CAVA et al., 2005; JO; AHN, 2000b; JO; AHN; BYUN, 2002; JO et al., 2003; JO; LEE; AHN, 1999; SOMMERS et al., 2001; SOMMERS; FAN, 2002).

2.2 Riscos da utilização de nitrito

Embora os conservantes permitidos em alimentos sejam considerados seguros, o nitrito em altas concentrações é indubitavelmente tóxico ao ser humano e, em doses de aproximadamente um grama, passa ser letal (CASSENS, 1997). Os maiores riscos toxicológicos decorrentes da ingestão de nitratos e nitritos são a ocorrência de metaemoglobinemia no sangue e a formação de compostos N-nitrosos (WALTERS, 1984).

Em adultos saudáveis, os nitratos e os nitritos são absorvidos pelo trato gastrointestinal, sendo o nitrato rapidamente excretado pela via renal. Os nitritos, por sua vez, podem combinar-se com a hemoglobina, transformando-a em meta-hemoglobina, por processo de oxidação do íon ferroso a íon férrico no complexo porfirínico. A metaemoglobina (HbFe^{+3}) é incapaz de transportar oxigênio

(CORTAS; WAKID, 1991). Níveis de HbFe⁺³ de 10% podem produzir cianose assintomática e, com níveis entre 20% e 30%, há o aparecimento de cianose com sinais de hipoxia, astenia, dispneia, cefaleia, taquicardia e inconsciência. Concentrações em níveis superiores a 50% podem ser fatais (BORONAT; PADROS; ALONSO, 1982).

Embora a metaemoglobinemia seja, a princípio, o mais ameaçador efeito da exposição a nitrito, vários estudos sobre a alta exposição de nitrito têm sido relacionados a compostos N-nitrosos, alguns dos quais são específicos e potencialmente carcinogênicos (EICHHOLZER; GUTZWILLER, 2003; RYWOTYCKI, 2002).

Compostos N-nitrosos e, em particular, as N-nitrosaminas são potentes carcinógenos, além de apresentarem ação teratogênica e mutagênica em animais de laboratório. As N-nitrosaminas podem ser formadas durante o processamento de alimentos, bem como *in vivo*, no trato gastrointestinal, pela nitrosação de aminas secundárias, as quais podem estar associadas com alto risco de câncer gástrico, hepático e de esôfago (ANDRADE, 2004; REYES, 1985; SILVESTRE; GLORIA, 1989; WALTERS, 1984).

As N-nitrosaminas podem ser formadas no alimento a partir de precursores nitrosáveis do próprio alimento e de agentes nitrosantes. Entre os precursores nitrosáveis, se destacam as aminas, naturalmente presentes, principalmente em alimentos que possuem alto teor de proteínas, como a carne (ANDRADE, 2004).

O agente nitrosante mais importante na formação de N-nitrosaminas em alimentos é, provavelmente, o anidrido nitroso (N₂O₃), formado facilmente a partir do nitrito em solução aquosa e pH ácido. O N₂O₃ reage com aminas secundárias, por meio do par de elétrons não compartilhado do nitrogênio, para formar N-nitrosaminas (REYES, 1985), numa reação denominada nitrosação.

A concentração residual de nitrito controla a formação de N-nitrosaminas em alimentos, visto que a velocidade de sua formação é diretamente proporcional ao quadrado da concentração de nitrito (HILL, 1988; REYES, 1985). Além disso, a reação de nitrosação é favorecida em pH ácido, entre 2,5 e 3,5 e, uma vez que esta faixa de pH é semelhante àquela observada no estômago humano após a ingestão de alimentos, a formação de N-nitrosaminas *in vivo* torna-se um assunto de extrema importância (REYES, 1985).

De modo geral, os alimentos crus tais como vegetais, carnes, peixes, frutas, cereais e produtos lácteos contêm baixos teores de N-nitrosaminas, muitas vezes próximos ao limite de detecção da metodologia analítica empregada. No entanto, o processo de cura, no qual se adiciona nitrito e ou nitrato pode elevar consideravelmente o nível de N-nitrosaminas (CASSENS, 1997).

2.3 Mortadelas

Apesar de ser bastante popular, antigamente, a mortadela tinha um conceito de produto barato e consumido por pessoas de baixa renda. Contudo, com o passar dos anos, o produto ganhou muita credibilidade e adeptos em todas as camadas sociais do Brasil, tornando-se um produto requintado. Embora não exista nenhum levantamento oficial com índice de produção e vendas nacionais, estimativas de analistas do setor de alimentos apontam para uma produção que ultrapassa a 100 mil toneladas anuais no país.

De acordo com o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Mortadela, este é um produto cárneo industrializado, obtido de uma emulsão das carnes de uma ou mais espécies de animais de açougue, adicionado ou não de toucinho, ingredientes, embutido em envoltório natural ou artificial de diferentes

formas, submetido ao tratamento térmico adequado, defumado ou não (BRASIL, 2000).

O limite máximo estabelecido para adição de Carne Mecanicamente Separada (CMS) é de 60% para mortadelas sem denominação, de 40% para mortadelas de ave e de 20% para mortadelas tipo bologna. O valor estabelecido para teor de cálcio em base seca para mortadelas é de 0,9%, para mortadelas tipo bologna é de 0,3% e para mortadelas de ave é de 0,6%. O teor de cálcio nas mortadelas possui estreita relação com a quantidade de CMS adicionada em sua composição (BRASIL, 2000).

A umidade é um requisito extremamente importante na classificação da mortadela, pois está diretamente relacionada com suas condições higiênico-sanitárias, já que, acima do recomendado, pode proporcionar a proliferação de microrganismos patogênicos (FRANCO; LANDGRAF, 2003). De acordo com o Ministério da Agricultura, o teor máximo é de 65%; gordura, máximo 30%; amido, máximo 5%; proteínas não-cárneas, máximo 4%; miúdos comestíveis, máximo 10% para o tipo bologna e mortadela convencional e máximo de 5% para mortadela de aves (BRASIL, 2000).

2.4 Produtos cárneos com menores teores de nitrito

O uso de aditivos alimentares, como o nitrito e nitrato, não é rigorosamente fiscalizado no Brasil, como acontece em outros países, como os Estados Unidos. Além disso, e talvez o mais importante, o Brasil tem inúmeros alimentos típicos, assim como situações diferenciadas de processamento de alimentos, que propiciam a formação de N-nitrosaminas, como na produção, industrial ou caseira, de bacon, presuntos, salsichas e mortadelas.

No Brasil, os sais de cura comerciais são constituídos de uma mistura de cloreto de sódio (sal carreador) com nitrato e nitrito, de sódio ou potássio, ou

apenas um deste. Qualquer que seja o sal utilizado (sódio ou potássio), a quantidade de nitrito residual no produto não pode passar de 150 ppm (expressa como nitrito de sódio). A quantidade de nitrato residual também é legislada, não podendo passar de 300 ppm (também expressa como nitrito de sódio) no produto (BRASIL, 1998, 2007).

Devido à possibilidade de formação de compostos cancerígenos em produtos curados, pesquisadores têm buscado, nos últimos anos, formas alternativas para substituir ou, pelo menos, reduzir a quantidade de nitrito adicionada no processo de cura.

Esforços para reduzir os níveis de N-nitrosaminas em produtos curados têm incluído a descontinuação do uso de pré-mix contendo nitrito e condimentos (GLÓRIA; BARBOUR; SCANLAN, 1997). A aplicação de altas temperaturas, como na fritura, em produtos cárneos curados, resulta na formação de compostos cancerígenos, o que explica os altos níveis desses compostos observados em bacon. Devido ao fato de o processo de fritura ser comum em bacons, a *United States Department of Agriculture* (USDA) estabeleceu exigências especiais para este produto, reduzindo, por meio do *Code of Federal Regulations* (CFR), os níveis de nitrito no produto para 120 ppm, com exclusão do uso de nitrato, e aumento dos níveis de ascorbatos ou isoascorbato (eritorbatos) para 550 ppm. Recentemente, dois processos adicionais foram adicionados ao CFR da USDA para utilização na elaboração de bacons: o primeiro diz respeito ao uso combinado de 100 ppm de nitrito de sódio e 550 ppm de ascorbatos ou isoascorbato e o segundo, ao uso combinado de 40 a 80 mg/g de nitrito de sódio, mínimo de 0,7% de glicose e o uso de culturas iniciadoras produtoras de ácido láctico (ex. *Pediococcus acidilactici*) (TOMPKIN, 1986).

O ácido ascórbico (vitamina C), seu isômero ácido eritórbito e outros compostos redutores, como o α -tocoferol (vitamina E), têm sido relatados como principais inibidores da reação de nitrosação (WALTERS, 1984). Entretanto,

Fiddler et al. (1981), avaliando o efeito do ascorbato e isoascorbato na formação de N-nitrosodimetilamina (NDMA) em salsichas, observaram que, embora o uso desses inibidores, na faixa de 550 ppm, tenha resultado em menores níveis de N-nitrosaminas, eles não foram capazes de evitar a formação de NDMA em salsichas. Dessa forma, outros substitutos têm sido estudados na tentativa de reduzir o teor de nitrito em produtos cárneos.

Vários compostos preservativos têm sido propostos, incluindo a nisina, o ácido sórbico e os sulfitos. Entretanto, nenhum destes foi considerado completamente satisfatório. O uso de sulfitos (SO₂) em produtos cárneos não parece ser provável, devido aos seus efeitos adversos, como reações alérgicas e destruição de vitaminas B₁ presentes no produto. Efetivamente, os sulfitos impedem o desenvolvimento de bactérias na carne, estabilizando, inclusive, a sua cor, o que pode causar a falsa impressão do real estado de conservação do produto. Devido a isso, o uso de sulfitos em produtos cárneos é considerado fraude em vários países, dentre eles o Brasil. Já o uso de ácido sórbico e seus sais é considerado promissor no controle do *Clostridium botulinum* em produtos curados, desde que o nitrito esteja presente em níveis acima de 40 ppm (VARNAN; SUTHERLAND, 1995), uma vez que seu uso isolado em produtos cárneos emulsionados favorece a oxidação lipídica e altera os atributos sensoriais (AL-SHUIBI; AL-ABDULLAH, 2002). Além disso, alguns consumidores apresentam alergia ao ácido ascórbico, quando adicionado em produtos como bacon, o que faz com que este aditivo não seja reconhecido como substâncias GRAS (*Generally Recognized as Safe*) (VARNAN; SUTHERLAND, 1995), sendo permitida a sua adição apenas na superfície de produtos cárneos, no intuito de controlar o crescimento de fungos e leveduras.

Enquanto as pesquisas não apontam um substituto satisfatório, especialmente como um agente antibotulismo, o nitrito tem sido o ingrediente

mais aceitável ainda disponível, pela excelente segurança observada nos produtos cárneos comercialmente fabricados.

2.5 Radiação de alimentos

A radiação de alimentos tem sido cada vez mais reconhecida como um método eficaz na redução de perdas pós-colheita de alimentos e na garantia da qualidade higiênica dos alimentos, facilitando a comercialização mais ampla de certos itens alimentares. Segundo Molins, Motarjemi e Käferstein (2001), cerca de quarenta países permitem a utilização da radiação para o tratamento de alimentos, tendo doze países aprovado a sua utilização no controle de patógenos em carne de aves, oito para uso em carnes e treze para uso em pescados e frutos do mar. Condimentos e temperos vegetais secos são os produtos mais irradiados, especialmente após o banimento, em 1991, na Comunidade Europeia, da fumigação de alimentos com óxido de etileno.

O termo radiação de alimentos é empregado para designar processamento com um número limitado de energias radiantes, as quais são escolhidas com base no seu poder de penetração e inabilidade de produzir significativa radioatividade nos alimentos tratados. Uma das vantagens de sua utilização é a de apresentar redução da carga de microrganismos, sem, contudo, gerar calor no alimento, o que levou o processo a ser denominado de esterilização a frio. A pequena elevação de temperatura no produto, devido ao processo de radiação, apresenta a vantagem de permitir maior retenção de nutrientes e menor alteração em características, como sabor, odor, cor e textura, o que permite que o alimento mantenha as características do alimento fresco. Outra vantagem da radiação é a sua flexibilidade, permitindo a sua aplicação em uma grande diversidade de alimentos de formas e tamanhos diferentes (POTTER, 1986).

Alguns dos tipos de energia posteriormente indicados são utilizados, em nível limitado, na preservação de alimentos. A luz ultravioleta tem pequeno poder de penetração nos alimentos, o que restringe o seu uso ao tratamento superficial ou a líquidos alimentares que podem ser expostos em camadas muito delgadas. Os raios X, embora tenham maior poder de penetração do que a luz ultravioleta, apresentam dificuldades em ser focados, levando a uma baixa eficiência de uso com os equipamentos atuais. As emissões mais apropriadas para a radiação de alimentos são aquelas que apresentam bom poder penetrante, de modo a permitir a inativação de enzimas e microrganismos no interior do alimento, e não apenas na sua superfície. Dentre estas se destacam, e são mais usados, os raios beta (raios de elétrons de alta energia) e gama produzido a partir de cobalto 60 (^{60}Co) (BARBOSA-CÁNOVAS et al., 1999).

Vários termos têm sido empregados para expressar quantitativamente a dose de radiação. A medida de energia ionizante absorvida mais comumente usada é a “rad” e seus múltiplos krad = 1000 rads; Mrad = 10^6 rads). Além da “rad”, outra unidade bastante utilizada na área de alimentos é o “Gray” (Gy), que equivale a 10^2 rads (POTTER, 1986).

Nos processos de radiação, a dose de radiação que um substrato (alimento) recebe é importante. Diferentes materiais absorvem energia radiante em níveis diferentes. Em outras palavras, a quantidade de energia absorvida por diferentes alimentos depende da sua composição e forma de apresentação, além das características da fonte de radiação (BARBOSA-CÁNOVAS et al., 1999; POTTER, 1986).

2.5.1 Legislação de produtos irradiados

A radiação de alimentos vem sendo estudada há vários anos, tendo seu emprego regulamentado pelo *Food and Drug Administration* (FDA) desde 1963, para farinha de trigo e trigo, sendo suas aplicações guiadas sob as regras de Boas Práticas de Fabricação (BPF) (LAGUNAS-SOLAR, 1995). Em 1981, um comitê mundial de cientistas, patrocinado pela *Food and Agriculture Organization* (FAO), pela *Organização Mundial da Saúde* (WHO) e pela *Agência Internacional de Energia Atômica* (IAEA) avaliou os dados científicos disponíveis sobre a irradiação de alimentos e concluiu que o uso de doses de irradiação de 10 kGy (1 Mrad) era seguro (BOISSEAU, 1994), circulando as suas recomendações para todos os governos participantes da Comissão do *Codex Alimentarius* (CAC). Porém, somente em 1990 o FDA aprovou a irradiação de frango para controlar patógenos de origem alimentar (PAULI; TARANTINO, 1995). Em 1997, esse mesmo órgão aprovou o uso da irradiação em carnes vermelhas refrigeradas e congeladas.

Em 1999, um grupo de estudo das mesmas agências (FAO/AIEA/OMS) concluiu que alimentos irradiados com qualquer dose são seguros para o consumo, ou adequados nutricionalmente, se a dose aplicada for inferior àquela que comprometeria as propriedades funcionais e ou os atributos sensoriais do alimento.

No Brasil, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária-ANVISA publicou em 26 de janeiro de 2001, a RDC 21, aprovou o Regulamento Técnico para Irradiação de Alimentos e estabelecendo as diretrizes para aplicação do processo. Segundo o Regulamento, a irradiação pode ser aplicada a qualquer alimento, com a condição de que a dose máxima absorvida seja inferior àquela que comprometa as propriedades funcionais e ou os atributos sensoriais do alimento. Também por meio da RDC 21 ficou estabelecido que no rótulo de

todo produto tratado por energia ionizante deve constar a frase: Alimento tratado por processo de irradiação (BRASIL, 2001). O símbolo internacional do uso da irradiação ionizante, a radura, encontra-se ilustrado na Figura 1.



Figura 1 Radura: símbolo utilizado em produtos irradiados

Durante cerca de duas décadas, os trabalhos de pesquisa em irradiação de alimentos ficaram restritos ao Centro de Energia Nuclear na Agricultura da Universidade de São Paulo (CENA/USP). Atualmente, diversos centros de pesquisas realizam estudos em alimentos, como cereais, frutas, hortaliças, carnes, pescados e especiarias. Entretanto, o comércio de alimentos irradiados no Brasil ainda não despontou e a única experiência comercial aconteceu em meados dos anos 1980, com a exportação de especiarias irradiadas.

2.5.2 Irradiação de produtos cárneos

A carne pode ser contaminada por diversos tipos de patógenos e isso ocorre, geralmente, por problemas no manejo durante a criação, com a falta de

cuidados higiênicos nas operações de abate dos animais e posterior manipulação das carcaças. A maioria dos microrganismos deterioradores, assim como praticamente todas as bactérias patogênicas, são eliminados com doses subesterilizantes de radiações ionizantes (mecanismo semelhante ao da pasteurização), o que prolonga o tempo de conservação (CARVALHO; CORTEZ, 2005).

Para Lee et al. (2005), à medida que ocorre aumento da dose de irradiação, também aumenta a quantidade de hidrocarbonetos e compostos sulfurosos voláteis durante a armazenagem, principalmente na presença de oxigênio, sendo responsáveis pelo sabor desagradável (*off-flavor*). Neste contexto, a dose de irradiação de carnes deve ser limitada.

A irradiação de filés e carne moída bovina com 1,5 e 2,5 kGy em temperatura ambiente causou alterações em vários atributos sensoriais, como odor, sabor e cor, elevando os danos de forma proporcional à dose de irradiação, além de intensificar a coloração dos alimentos (THAKUR; ARYA, 1993). Os precursores de aroma da carne são hidrossolúveis, as proteínas sarcoplasmáticas e fibrilares intactas não contribuem para o aroma da carne, enquanto os precursores de sabor da carne incluem compostos não-voláteis, como os peptídeos, alguns ácidos orgânicos, açúcares, metabólitos de nucleotídeos, tiamina, lipídeos e alguns voláteis, como hidrocarbonetos, aldeídos, cetonas, alcoóis e sulfetos. Contudo, foi atribuída às substâncias voláteis originadas da oxidação lipídica a responsabilidade de conferir aroma característico de carnes irradiadas de bovinos (ORDÓÑEZ, 2005).

Em alimentos, doses excessivas podem afetar negativamente os seus componentes (proteínas, carboidratos, gorduras, vitaminas, pigmentos, sabor e sistema enzimático), alterando as suas características sensoriais e funcionais (cor, sabor, textura, capacidade emulsionante e de retenção de água). A sensibilidade a este excesso de dosagem é dependente do tipo de alimento em

consideração, existindo aqueles mais ou menos sensíveis que outros. Bacon, por exemplo, pode suportar uma dose de radiação de 5,6 Mrad (56 kGy) que o torna estéril e, ainda, reter, satisfatoriamente, as suas qualidades sensoriais. Lombo de porco, frango, camarão e vários vegetais suportam uma dose de até 4,8 Mrad, enquanto várias frutas suportam até 2,4 Mrad. Algumas vezes, há o aparecimento de sabores e odores desagradáveis imediatamente após a aplicação da radiação, os quais não são mais percebidos após a sua estocagem (POTTER, 1986). Dessa forma, na determinação da aplicação de irradiação em alimentos, principalmente naqueles ricos em gorduras, como a carne e seus produtos, as mudanças na qualidade também devem ser levadas em consideração.

2.5.3 Efeitos da irradiação sobre a qualidade de produtos cárneos

A irradiação pode promover a formação de radicais livres, resultando na possibilidade de mudanças da cor, de oxidação dos lipídios e a geração de odor estranho, implicando em respostas negativas para o consumidor quanto à qualidade do produto (AHN et al., 2000; DU et al., 2002; JO; AHN, 2000a; PATTERSON; STEVENSON, 1995). Além disso, o armazenamento pode aumentar o efeito da irradiação, como também promover a oxidação dos lipídios. Os radicais livres provenientes da radiólise, tais como os radicais hidróxil (OH), elétrons hidratados e H⁺ (MERRIT, 1972) atacam os componentes do alimento (proteínas, aminoácidos, lipídios etc.), conduzindo, principalmente, a um aumento na taxa de oxidação dos lipídios. A irradiação foi relatada como responsável pelo aumento de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) em carnes sob condições diferentes de empacotamento e armazenamento (DU et al., 2000; HAMPSON et al., 1996). Outros estudos mostraram que a irradiação pode induzir a deterioração oxidativa de ácidos graxos, gerando aromas anormais que implicam na aceitabilidade dos

consumidores. Os compostos derivados de lipídios, como os aldeídos, em especial o hexanal, são os principais compostos voláteis relacionados às mudanças oxidativas na carne e nos produtos cárneos. Estudos precedentes (CARRASCO et al., 2005) em lombo seco curado mostraram que a irradiação aumentou o índice do hexanal, responsável pela formação de aroma indesejável, o que aumentou durante o armazenamento, reduzindo aceitabilidade dos consumidores para esses produtos.

Há correlação entre a descoloração e a oxidação dos lipídios devido ao fato de que os processos da oxidação de pigmentos do músculo podem catalisar a oxidação dos lipídios (AKAMITTATH; BREKKE; SCHANUS, 1990). Os radicais livres gerados pela irradiação podem reagir com o mioglobina ou a hemoglobina e modificar a cor das amostras irradiadas (JO; JIN; AHN, 2000; KAMAREI; KAREL; WIERBICKI, 1979). A cor da carne e dos produtos cárneos é um atributo importante de qualidade, pois ela influencia na aceitação dos consumidores, que preferem as carnes frescas vermelho-brilhantes, as carnes cozidas marrom-acinzentadas e as carnes curadas na cor rósea. A suscetibilidade de tecidos musculares irradiados à oxidação lipídica e a intensidade das mudanças dependem de características endógenas, como tipo de tecido, que inclui índice de gordura, perfil de ácido graxo, composição dos fosfolipídios na membrana e concentrações de antioxidantes no músculo, bem como das características exógenas como dose da irradiação, tipo de embalagem e condições de armazenamento (AHN et al., 1999; GRAY et al., 1981; MORRISSEY et al., 1997; NANKE; SEBRANEK; OLSON, 1999).

A radiação da carne é reconhecida como um método seguro e eficaz entre as tecnologias existentes para a descontaminação da carne (O'BRYAN et al., 2008). Entretanto, o tratamento por irradiação é capaz de induzir a oxidação dos lipídios em carnes, embalada sem vácuo (KANATT; CHANDER; SHARMA, 2006), em carne de frango (DU et al., 2000), em peito de peru

(NAM; AHN, 2003), em carne de porco (AHN et al., 2000; AHN; JO; OLSON, 2000) e em salsicha suína cozida (JO; AHN; BYU, 2002; JO et al., 2003). Nos últimos anos, os produtores italianos de carnes de porco curadas expressaram um interesse crescente na prática da tecnologia da irradiação, a fim de melhorar a segurança de produtos de carne, em particular daquelas pretendidas para a exportação em alguns mercados onde a saúde pública e as entidades regulares estabeleceram tolerância zero em alimentos prontos para o consumo, para alguns microrganismos patogênicos, como a *Listeria monocytogenes* (SHANK et al., 1996).

Embora a irradiação tenha grande importância para a indústria da carne, a maior parte dos estudos aborda seu impacto na qualidade de produtos cárneos (CAVA et al., 2005). Ainda há pouca informação sobre as mudanças da qualidade de produtos cárneos irradiados durante o armazenamento.

A disponibilidade do oxigênio durante o armazenamento parece ser mais importante do que a irradiação na oxidação de lipídios (AHN et al., 1998). Logo após a irradiação, bifes de carne crua, armazenados aerobicamente, desenvolveram mais odores desagradáveis do que aqueles armazenados em condições anaeróbicas (MONTGOMERY; PARRISH JÚNIOR; OLSON, 2000). Isso pode ser devido à oxidação do lipídio iniciada durante a irradiação que progrediu durante o armazenamento por causa da disponibilidade do oxigênio. Ohene-Adjei et al. (2004) relataram aumento no ranço de salsichas e costelas de carne de porco irradiadas. Esses odores desagradáveis aumentaram nas amostras irradiadas durante o armazenamento, mesmo sob refrigeração. A irradiação promoveu maior aumento no valor do TBARS das salsichas, quando comparadas às costelas, o que reflete os efeitos da cominuição dos tecidos e a incorporação do oxigênio antes da irradiação.

3 CONSIDERAÇÕES GERAIS

Pretende-se avaliar os efeitos da aplicação de radiação gama em produtos adicionados com diferentes níveis de nitrito sobre a resistência do *Clostridium botulinum* e parâmetros de qualidade das mortadelas, de forma a ser possível determinar as melhores condições para que se possa, efetivamente, reduzir os níveis de adição de nitrito sem alterar suas características sensoriais, físicas e químicas, ao mesmo tempo em que permanece seguro microbiologicamente e com menores riscos de ingestão de compostos cancerígenos.

REFERÊNCIAS

ABERLE, E. D. et al. **Principles of meat science**. 4th ed. New York: Kendall/Hunt, 2001. 354 p.

AHN, C. et al. Quality characteristics of pork patties irradiated and stored in different packaging and storage conditions. **Meat Science**, Oxford, v. 56, n. 2, p. 203-209, Oct. 2000.

AHN, C.; JO, M.; OLSON, D. G. Analysis of volatile components and the sensory characteristics of irradiated raw pork. **Meat Science**, Oxford, v. 54, n. 3, p. 209-215, Mar. 2000.

AHN, D. U. et al. Effect of muscle type, packaging, and irradiation on lipid oxidation, volatile production, and color in raw pork patties. **Meat Science**, Oxford, v. 49, n. 1, p. 27-39, May 1998.

AHN, D. U. et al. Volatiles production and lipid oxidation in irradiated cooked sausage as related to packaging and storage. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 64, n. 2, p. 226-229, Mar. 1999.

AKAMITTATH, J. G.; BREKKE, C. J.; SCHANUS, E. G. Lipid oxidation and color stability in restructured meat systems during frozen storage. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 55, n. 6, p. 1513-1517, Nov. 1990.

AL-SHUIBI, A. M.; AL-ABDULLAH, B. M. Substitution of nitrite by sorbate and the effect on properties of mortadella. **Meat Science**, Oxford, v. 62, n. 4, p. 473-478, Dec. 2002.

AMIN, M.; OLIVEIRA, J. V. Efeito do uso do nitrato e nitrito na inibição de *Clostridium perfringens* tipo A em linguiça bovina curada. **Boletim CEPPA**, Curitiba, v. 24, n. 1, p. 13-24, jun. 2006.

ANDRADE, R. **Desenvolvimento de métodos analíticos para determinação de nitrato, nitrito e N-nitrosaminas em produtos cárneos**. 2004. 172 p. Tese (Doutorado em Química) – Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2004.

ARAÚJO, J. M. A. **Química de alimentos: teoria e prática**. 3. ed. Viçosa, MG: Ed. UFV, 2004. 475 p.

BARBOSA-CÁNOVAS, G. V. et al. **Conservación no térmica de alimentos**. Zaragoza: Acribia, 1999. 280 p.

BOISSEAU, P. Irradiation and the food industry in France. **Food Technology**, Chicago, v. 48, n. 5, p. 138-140, May 1994.

BORONAT, M. D. C. T.; PADROS, R. B.; ALONSO, M. I. Nitratos y nitritos en la alimentacion infantil: riesgos de su ingesta. **Alimentaria: revista de tecnologia e higiene de los alimentos**, Madrid, v. 138, p. 31-35, 1982.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Portaria nº 1004, de 11 de dezembro de 1998. Aprova o Regulamento técnico “Atribuição de função de aditivos, aditivos e seus limites máximos de uso para a categoria 8 - carne e produtos cárneos”. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Poder Executivo, Brasília, DF, 14 dez. 1998, nº 239-E. Seção 1, p. 28.

BRASIL. Ministério da Agricultura e do Abastecimento. Instrução Normativa nº 4, de 31 de março de 2000. Aprova os regulamentos técnicos de identidade e qualidade de carne mecanicamente separada, de mortadela, de lingüiça e de salsicha. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Poder Executivo, Brasília, DF, 5 abr. 2000. Seção 1, p. 6.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução nº 21, de 26 de janeiro de 2001. Aprova o “Regulamento técnico para irradiação de alimentos”. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Poder Executivo, Brasília, DF, 29 jan. 2001.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 51, de 29 de dezembro de 2006. Adotar o “Regulamento técnico de atribuição de aditivos, e seus limites das seguintes categorias de alimentos 8: carne e produtos cárneos”. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Poder Executivo, Brasília, DF, 4 jan. 2007. Seção 1, p. 14.

BYUN, M. W. et al. Improvement of shelf stability and processing properties of meat products by gamma irradiation. **Radiation Physics and Chemistry**, Oxford, v. 63, n. 3/6, p. 361-364, Mar. 2002.

CAMMACK, R. et al. Nitrite and nitrosyl compounds in food preservation. **Biochimica et Biophysica Acta**, Amsterdam, v. 1411, n. 2/3, p. 475-488, 1999.

CARRASCO, A. et al. Colour and lipid oxidation changes in dry-cured loins from free-range reared and intensively reared pigs as affected by ionizing radiation dose level. **Meat Science**, Oxford, v. 69, n. 4, p. 609-615, Apr. 2005.

CARVALHO, A. C. F. B.; CORTEZ, A. L. L. *Salmonella* spp. em carcaças, carne mecanicamente separada, lingüiças e cortes comerciais de frango. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 35, n. 6, p. 1465-1468, nov./dez. 2005.

CASSENS, R. G. Residual nitrite in cured meat. **Food Technology**, Chicago, v. 51, n. 2, p. 53-55, Feb. 1997.

CASSENS, R. G. Use of sodium-nitrite in cured meats today. **Food Technology**, Chicago, v. 49, n. 7, p. 72-80, July 1995.

CAVA, R. et al. Effect of irradiation on colour and lipid oxidation of dry-cured hams from free-range reared and intensively reared pigs. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, Amsterdam, v. 6, n. 2, p. 135-141, June 2005.

CERESER, N. D. et al. Botulismo de origem alimentar. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 38, n. 1, p. 280-287, jan. 2008.

CHRISTIANSEN, L. N. et al. Effect of nitrite and nitrate on toxin production by *Clostridium botulinum* and on nitrosamine formation in perishable canned comminuted cured meat. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 25, n. 3, p. 357-362, Mar. 1973.

CORTAS, N. K.; WAKID, N. W. Pharmacokinetics aspects of inorganic nitrate ingestion in man. **Pharmacology & Toxicology**, Copenhagen, v. 68, n. 3, p. 192-193, Mar. 1991.

CROSS, C. K.; ZIEGLER, P. A comparison of the volatile fractions from cured and uncured meats. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 30, n. 4, p. 610-614, July 1965.

DU, M. et al. Influence of dietary conjugated linoleic acid on volatile profiles, color and lipid oxidation of irradiated raw chicken meat. **Meat Science**, Oxford, v. 56, n. 4, p. 387-395, Dec. 2000.

DU, M. et al. Quality characteristics of irradiated ready-to-eat breast rolls from turkeys fed conjugated linoleic acid. **Poultry Science**, Champaign, v. 81, n. 9, p. 1378-1384, Sept. 2002.

EICHHOLZER, M.; GUTZWILLER, F. Dietary nitrates, nitrites, and N-nitroso compounds and cancer risk with special emphasis on the epidemiological evidence. In: D'MELLO, J. P. F. **Food safety: contaminants and toxins**. Edinburgh: Scottish Agricultural College, 2003. p. 217-234.

FIDDLER, W. et al. Investigations on nitrosamines in irradiation-sterilized bacon. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 29, n. 3, p. 551-554, 1981.

FRANCO, B. D. G. M.; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos alimentos**. São Paulo: Atheneu, 2003. 182 p.

GLÓRIA, M. B. A.; BARBOUR, J. F.; SCANLAN, R. A. Volatile nitrosamines in fried bacon. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 45, n. 5, p. 1816-1818, May 1997.

GRAY, J. I. et al. Role of nitrite in cured meat flavor: a review. **Journal of Food Protection**, Ames, v. 44, n. 4, p. 302-312, Apr. 1981.

HADDEN, J. P. et al. Influence of sodium nitrite on the chemical and organoleptic properties of comminuted pork. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 40, n. 3, p. 626-630, May 1975.

HAMPSON, J. W. et al. Effect of low dose gamma radiation on lipids in five different meats. **Meat Science**, Oxford, v. 42, n. 3, p. 271-276, Mar. 1996.

HERSOM, A. C.; HULLAND, E. D. **Conservas alimenticias**. Zaragoza: Acibia, 1984. 451 p.

HERZ, K. O.; CHANG, S. S. Meat flavor. **Advances in Food Research**, New York, v. 18, p. 1-83, June 1970.

HILL, M. J. (Ed.). **Nitrosamines: toxicology and microbiology**. Chichester: J. Wiley, 1988. 200 p.

JO, C.; AHN, D. U.; BYUN, M. W. Irradiation-induced oxidative changes and production of volatile compounds in sausages prepared with vitamin E-enriched commercial soybean oil. **Food Chemistry**, Oxford, v. 76, n. 3, p. 299-305, Mar. 2002.

JO, C.; AHN, D. U. Production of volatile compounds from irradiated oil emulsion containing amino acids of proteins. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 65, n. 4, p. 612-616, May 2000a.

JO, C.; AHN, D. U. Volatiles and oxidative changes in irradiated pork sausage with different fatty acid composition and tocopherol content. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 65, n. 2, p. 270-275, Mar. 2000b.

JO, C. et al. Packaging and irradiation effect on lipid oxidation, color, residual nitrite content, and nitrosamine formation in cooked pork sausage. **Food Control**, Oxford, v. 14, n. 1, p. 7-12, Jan. 2003.

JO, C.; JIN, S. K.; AHN, D. U. Color changes in irradiated cooked pork sausage with different fat sources and packaging during storage. **Meat Science**, Oxford, v. 55, n. 1, p. 107-113, May 2000.

JO, C.; LEE, J. I.; AHN, D. U. Lipid oxidation, color changes and volatiles production in irradiated pork sausage with different fat content and packaging during storage. **Meat Science**, Oxford, v. 51, n. 4, p. 355-361, Apr. 1999.

KAMAREI, A. R.; KAREL, M.; WIERBICKI, E. Spectral studies on the role of ionizing radiation in color changes of radappertized beef. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 44, n. 1, p. 25-32, Jan. 1979.

KANATT, S. R.; CHANDER, R.; SHARMA, A. Effect of radiation processing of lamb meat on its lipids. **Food Chemistry**, Oxford, v. 97, n. 1, p. 80-86, July 2006.

LAGUNAS-SOLAR, M. C. Radiation processing of foods: an overview of scientific principles and current status. **Journal of Food Protection**, Ames, v. 58, n. 2, p. 186-192, Feb. 1995.

LEE, J. W. et al. Combined effects of gamma irradiation and rosemary extract on the shelf-life of a ready-to-eat hamburger steak. **Radiation Physics and Chemistry**, Oxford, v. 72, n. 1, p. 49-56, Jan. 2005.

LIVINGSTON, D. J.; BROWN, W. D. The chemistry of myoglobin and its reactions. **Food Technology**, Chicago, v. 35, n. 5, p. 244-252, May 1981.

MACDONALD, B.; GRAY, J. I.; GIBBINS, L. N. Role of nitrite in cured meat flavor: antioxidant role of nitrite. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 45, n. 4, p. 893-897, July 1980.

MERRIT, C. Quantitative and qualitative aspects of trace volatile components in irradiated foods and food substances. **Radiation Research Review**, Amsterdam, v. 3, n. 4, p. 353-368, 1972.

MOHLER, K. **El curado**: ciência y tecnología de la carne: teoría y práctica. Zaragoza: Acribia, 1982. 116 p.

MOLINS, R. A.; MOTARJEMI, Y.; KÄFERSTEIN, F. K. Irradiation: a critical control point in ensuring the microbial safety of raw foods. **Food Control**, Oxford, v. 12, n. 6, p. 347-356, Sept. 2001.

MOLLER, J. K. S.; SKIBSTED, L. H. Nitric oxide and myoglobins. **Chemical Reviews**, Easton, v. 102, n. 4, p. 1167-1178, 2002.

MONTGOMERY, J. L.; PARRISH JÚNIOR, F. C.; OLSON, D. G. Irradiation and storage effects on aroma and color of raw beef patties in anaerobic or aerobic packaging. **Journal of Muscle Foods**, Trumbull, v. 11, n. 1, p. 19-33, Apr. 2000.

MORRISSEY, P. A. et al. Tissue content of α -tocopherol and oxidative stability of broilers receiving dietary α -tocopheryl acetate supplement for various periods pre-slaughter. **British Poultry Science**, London, v. 38, n. 1, p. 84-88, Mar. 1997.

MÜLLER, W. D. Curing and smoking: are they healthier processes today than used to be? **Fleischwirtschaft**, Frankfurt, v. 71, n. 1, p. 61-65, Jan. 1991.

NAM, K. C.; AHN, D. U. Combination of aerobic and vacuum packaging to control lipid oxidation and off-odor volatiles of irradiated raw turkey breast. **Meat Science**, Oxford, v. 63, n. 3, p. 389-395, Mar. 2003.

NANKE, K. E.; SEBRANEK, J. G.; OLSON, D. G. Color characteristics of irradiated aerobically packaged pork, beef, and turkey. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 64, n. 2, p. 272-278, Mar. 1999.

NELSON, D. L.; COX, M. M. **Lehninger: principles of biochemistry**. 3rd ed. New York: Worth, 2000. 1232 p.

O'BRYAN, C. A. et al. Impact of irradiation on the safety and quality of poultry and meat products: a review. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, Boca Raton, v. 48, n. 5, p. 442-457, May 2008.

OHENE-ADJEI, S. et al. Effect of vitamin E, low dose irradiation, and display time on the quality of pork. **Meat Science**, Oxford, v. 68, n. 1, p. 19-26, Sept. 2004.

O'KEEFE, M.; HOOD, D. E. Biochemical factors influencing metmyoglobin formation on beef from muscles of differing color stability. **Meat Science**, Oxford, v. 7, n. 3, p. 209-228, Nov. 1982.

ORDÓÑEZ, J. A. **Alimentos de origem animal**. Porto Alegre: Artmed, 2005. v. 2, 279 p.

PARDI, M. C. et al. **Ciência, higiene e tecnologia da carne**. Goiânia: CEGRAF/UFG, 1995. v. 1, 586 p.

PATTERSON, R. L.; STEVENSON, M. H. Irradiation-induced off-odour in chicken and its possible control. **British Poultry Science**, London, v. 36, n. 3, p. 425-441, July 1995.

PAULI, G. H.; TARANTINO, L. M. A regularity aspects of food irradiation. **Journal of Food Protection**, Ames, v. 58, n. 2, p. 209-212, Feb. 1995.

POTTER, N. N. **Food science**. 4th ed. New York: AVI, 1986. 735 p.

RAMOS, E. M.; GOMIDE, L. A. M. **Avaliação da qualidade de carnes: fundamentos e metodologias**. Viçosa, MG: Ed. UFV, 2007. 599 p.

REYES, F. G. R. N-nitrosaminas em alimentos. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 4, n. 2, p. 71-77, set. 1985.

RYWOTYCKI, R. The effect of selected functional additives and heat treatment on nitrosamine content in pasteurized pork ham. **Meat Science**, Oxford, v. 60, n. 4, p. 335-339, Apr. 2002.

SHAHIDI, F.; PEGG, R. B. Encapsulation of the pre-formed cooked cured-meatpigment. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 56, n. 6, p. 1500-1504, Nov. 1991.

SHANK, F. R. et al. US position on listeria monocytogenes in foods. **Food Control**, Oxford, v. 7, n. 4/5, p. 229-234, Aug./Oct. 1996.

SHANK, J. L.; SILLIKER, J. H.; HARPER, R. H. The effect of nitric oxide on bacteria. **Applied Microbiology**, Washington, v. 10, n. 3, p. 185-189, May 1962.

SILLIKER, J. H.; TAYLOR, W. I. Isolation of *Salmonellae* from food samples. II: the effect of added food samples upon the performance of enrichment broths. **Applied Microbiology**, Washington, v. 6, n. 4, p. 228-232, July 1958.

SILVESTRE, M. P. C.; GLORIA, M. B. A. N-nitrosaminas não voláteis em alimentos: uma revisão. **Boletim SBCTA**, Campinas, v. 23, n. 3, p. 208-219, jul./dez. 1989.

SINDELAR, J. J. et al. Investigating quality attributes and consumer acceptance of uncured, no-nitrate/nitrite-added commercial hams, bacons, and frankfurters. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 72, n. 8, p. 551-559, Oct. 2007.

SOMMERS, C. H. et al. Effect of ionizing radiation on beef bologna containing soy protein concentrate. **Journal of Food Safety**, New Brunswick, v. 21, n. 3, p. 151-165, Nov. 2001.

SOMMERS, C. H.; FAN, X. Antioxidant power, lipid oxidation, color, and viability of listeria monocytogenes in beef bologna treated with gamma radiation and containing various levels of glucose. **Journal of Food Protection**, Ames, v. 65, n. 11, p. 1750-1755, Nov. 2002.

THAKUR, B. R.; ARYA, S. S. Effect of sorbic acid on irradiation induced sensory and chemical changes in sweetened orange juice and mango pulp. **International Journal Food Science Technology**, Oxford, v. 28, n. 4, p. 371-376, Aug. 1993.

TOMPKIN, R. B. Microbiology of ready-to-eat meat and poultry products. In: PEARSON, A. M.; DUTSON, T. R. (Ed.). **Advances in meat research**. Westport: AVI Publishing, 1986. v. 2, p. 89-121.

TOWNSEND, W. E.; OLSON, D. G. Las carnes curadas y su procesamiento. In: LAWRIE, R. (Ed.). **Advances de la ciencia de la carne**. Zaragoza: Acribia, 1984. p. 393-414.

VARNAN, A. H.; SUTHERLAND, J. P. **Bebidas**: tecnología, química y microbiología. Zaragoza: Acribia, 1995. 487 p.

WALTERS, C. L. Nitrosamineas en productos carnicos. In: LAWRIE, R. (Ed.). **Advances de la ciencia de la carne**. Zaragoza: Acribia, 1984. p. 240-266.

XIONG, Y. L. Structure-function relationships of muscle proteins. In:
DAMODARAN, S.; PARAF, A. (Ed.). **Food proteins and their applications**.
New York: M. Dekker, 1997. p. 341-392.

ARTIGO 1**Artigo redigido conforme a norma da revista Food Control
“Versão Preliminar”****Utilização da radiação gama na inibição do *Clostridium botulinum* em mortadelas
formuladas com diferentes níveis de nitrito**

Monalisa Pereira Dutra^a, Eduardo Mendes Ramos^{a*}, Alcinéia de Lemos Souza Ramos^a, Glécia de Cássia Aleixo^a, Maurício Henriques Louzada Silva^b, Marcio Tadeu Pereira^c, Roberta Hilsdorf Piccoli^a

^aDepartamento de Ciência dos Alimentos (DCA), Universidade Federal de Lavras (UFLA), 37200-000, Caixa postal 3037, Lavras, MG, Brasil.

^bInstituto Federal do Sudeste de Minas Gerais - Campus Rio Pomba, 36180-000, Rio Pomba, MG, Brasil.

^cCentro de Desenvolvimento da Tecnologia Nuclear (CDTN), Comissão Nacional de Energia Nuclear (CNEN), 30161-970, Belo Horizonte, MG, Brasil.

*Autor para correspondência. Tel.: +55-35-3829-1403; Fax: +55-35-3829-1401; E-mail: emramos@dca.ufla.br.

RESUMO

Este trabalho objetivou estudar os efeitos da aplicação de diferentes doses de irradiação gama (0 a 20 kGy) sobre esporos de *Clostridium botulinum* inoculados em mortadelas elaboradas com níveis crescentes de nitrito (0 a 300 ppm), bem como avaliar o efeito do processo de cozimento e irradiação isolados e em conjunto. Os produtos resultantes destes tratamentos foram avaliados quanto à sobrevivência de *C.botulinum*, quanto ao pH, a atividade de água (Aa),

ao potencial de oxi-redução (Eh) e a concentração residual de nitrito. Para sua execução, foi utilizado delineamento composto central rotacional (DCCR), em fatorial 2^2 , utilizando apenas os pontos axiais e um ponto central totalizando 5 ensaios. Para as mortadelas submetidas ao processo cozimento, formuladas com pelo menos 150 ppm de nitrito, avaliadas 48 horas após o processamento, não houve crescimento do microrganismo. No entanto, ao serem avaliadas depois de 30 dias de armazenamento refrigerado (4°C), foi observada contagens de 10^5 UFC.g⁻¹. Para amostras submetidas ao processo de irradiação, antes e depois do cozimento, não foi observado crescimento da bactéria 48 horas após o processamento e após 30 dias de armazenamento refrigerado a 4°C, independente da dose aplicada (0, 10 e 20 KGy) e dos níveis de nitrito (0, 150 e 300 ppm) na formulação das mortadelas.

Palavras-chaves: Produtos cárneos, esporo bacteriano, redução de nitrito, nitrosaminas, fatores intrínsecos.

1. INTRODUÇÃO

A adição dos sais de cura, na forma de nitrito ou nitrato, são aditivos essenciais para o desenvolvimento da cor, sabor e aroma característicos de produtos cárneos curados. Além disso, previnem contra a oxidação lipídica e atuam contra o crescimento e produção de toxina do *Clostridium botulinum* (Cassens, 1995).

O gênero *Clostridium* é formado por bactérias anaeróbias, Gram-positivas, bacilos formadores de endósporos e incapazes de realizar a redução dissimilatória do sulfato. O gênero é um dos maiores no reino procarioto e, portanto, apresenta uma ampla diversidade fisiológica e metabólica (Mitchell, 2001).

Quando em estado vegetativo, *Clostridium botulinum* pode ser inativado por compostos clorados após cerca de vinte minutos de contato, pela luz solar após uma a três horas ou por aquecimento a 85°C durante cinco minutos. Porém, seus esporos são muito resistentes ao calor, luz, desidratação e radiação. Podem ser inativados por calor a 121°C durante pelo menos quinze minutos e através de cloro, formol, ácidos e bases fortes, óxidos de etileno e propileno. São capazes de resistir à luz ultravioleta, alcoóis, compostos fenólicos e compostos orgânicos com mercúrio (Ferrari & Weisse, 1995).

As neurotoxinas botulínicas são as substâncias mais letais conhecidas em todo o mundo. Um micrograma é certamente suficiente para matar uma pessoa quando inalado, portanto um grama seria, teoricamente, suficiente para matar um milhão de pessoas (Koussoulakos, 2009). As neurotoxinas produzidas por *Clostridium botulinum* são classificadas em sete tipos sorologicamente distintos (A, B, C, D, E, F e G), que, apesar de serem neutralizadas somente pelos respectivos anticorpos homólogos, possuem ação farmacológica semelhante (Rawat, Ahmed & Swaminathan, 2008; Songer, 1997).

O problema da utilização de nitrito/nitrato nos produtos cárneos é formação de N-nitrosaminas, que são potencialmente carcinogênicas (Glória, Barbour & Scanlan, 1997). Alguns estudos mostraram que a adição máxima de agentes redutores, incluindo ascorbato de sódio e eritorbato proporciona redução de N-nitrosaminas, assim como nitrito residual em produtos cárneos (Cassens, 1997). Ahn, Jo, Kim, Chung, Lee & Byun (2002) sugeriram que a irradiação gama induziu a radiólise de nitrito e de N-nitrosaminas voláteis.

Estudos têm relatado que a radiação gama induz a radiólise do nitrito e das N-nitrosaminas, reduzindo a concentração desses componentes no produto final (Ahn, Kim, Jo, Lee, Yook & Byun, 2004; Jo, Ahn, Son, Lee & Byun, 2003). Muitos pesquisadores abordam os impactos da aplicação de baixas doses (<5kGy) de irradiação em produtos cárneos, embora, na maioria dos países,

inclusive no Brasil, a radiação gama possa ser aplicada em qualquer dose, desde que não comprometa as propriedades funcionais e, ou, sensoriais (Brasil, 2001).

Com a realização deste trabalho objetivou-se estudar os efeitos da aplicação de diferentes doses de irradiação gama (0 a 20 kGy) sobre esporos de *Clostridium botulinum* tipo D inoculados em mortadelas elaboradas com níveis crescentes de nitrito (0 a 300 ppm), bem avaliar o efeito do processo de cozimento e irradiação, isolados e em combinação.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Delineamento estatístico

Os efeitos dos níveis de nitrito (0, 150 e 300 ppm) e das doses de irradiação (0, 10 e 20 kGy) foram avaliados utilizando apenas os pontos axiais e um ponto central de um Delineamento Composto Central Rotacional (DCCR, *Central Composite Rotatable Design*), em um fatorial 2^2 (Tabela 1).

Tabela 1 Delineamento fatorial para os níveis de nitrito e doses de irradiação

Ensaio	Variáveis codificadas		Variáveis reais	
	X_1	X_2	Nitrito (ppm)	Irradiação (kGy)
1	-1,41	0	0	10
2	1,41	0	300	10
3	0	-1,41	150	0
4	0	1,41	150	20
5	0	0	150	10

2.2 Microrganismo utilizado, manutenção da cultura e padronização do inóculo

Foi utilizada a cepa de *Clostridium botulinum* tipo D, gentilmente cedida pelo Laboratório Nacional Agropecuário (LANAGRO/MG).

A cepa liofilizada foi reativada em meio *Differential Reinforced Clostridial Broth Base* (DRCBB, Himedia) enriquecido com 0,5mL de solução contendo volumes iguais de sulfito de sódio 4% (m/v) e citrato férrico 7% (m/v). Após o crescimento por 48h/37°C em condições anaeróbias, alíquotas de 0,1 mL da cultura foram plaqueadas em superfície em meio de esporulação ágar AK. Após 5 dias de incubação à 35°C a cultura foi lavada com solução salina e transferida para microtubos, sendo centrifugadas (HT Centrifuge®, Taiwan) a 3600 g por 10 minutos e retirado o sobrenadante. Em seguida o conteúdo celular decantado foi ressuspensão em solução salina e aquecido a 70°C/30min. A suspensão de esporos foi centrifugada novamente nas mesmas condições descritas anteriormente e o sobrenadante descartado. O *pellet* (célula e esporo) foi recoberto por meio de congelamento (300 mL de glicerol, 5g de peptona de carne, 3g de extrato de levedura, 5g de cloreto de sódio em 1000mL de água, pH $7,2 \pm 0,2$) e armazenado durante o período de execução do trabalho.

A cada nova reativação da cultura sua pureza foi verificada por meio de crescimento em meio seletivo e diferencial Agar base de isolamento de *Clostridium botulinum* (40g de caseína enzimática hidrolisada, 5g de extrato de levedura, 2g de dextrose, 0,02g de púrpura de bromocresol, 5g de fosfato de sódio dibásico, 2g de cloreto de sódio, 0,01g de sulfato de magnésio, 20g de ágar em 1000mL de água) e coloração de gram segundo recomendações do *Compendium of Methods for the Microbiological Examination of foods* da *American Public Health Association* (Labbé, 2001).

A padronização foi realizada por meio de elaboração de curva de crescimento; o desenvolvimento do microrganismo, em meio de cultivo DRCBB, suplementado com sulfito de sódio e citrato férrico. A curva foi monitorada por espectrofotometria através da evolução da densidade ótica a 620nm e contagem direta em placas contendo Agar base de isolamento de *Clostridium botulinum*.

2.3 Formulação e processamento das mortadelas

A elaboração das mortadelas foi conduzida no Laboratório de Processamento de Carnes e Derivados do DCA/UFLA, seguindo a seguinte formulação: carnes de paleta bovina (57,5%); toucinho (14,5%); água/gelo (20,0%); sal (2,0%); fécula de mandioca (5,0%); ácido ascórbico (0,054%); polifosfato Fosmax 320 (0,5%; New Max Industrial, Americana, SP, Brazil) e condimento para mortadela 913 (0,5%; New Max Industrial, Americana, SP, Brazil). As matérias-primas cárneas foram obtidas no comércio local, em embalagens lacradas com selo de Inspeção Federal. As mortadelas foram elaboradas com a adição de diferentes níveis de nitrito de sódio, conforme previsto no delineamento estatístico (Tabela 1), sendo processadas em *cutter* KJ-10 (Jamar, Tapuá, SP, Brazil) e embutidas (gomos de \pm 400g) em tripa artificial de poliamida (65mm diâmetro, marca Casetech).

As mortadelas elaboradas foram divididas em dois lotes e submetidas a diferentes processos: cozimento e irradiação (Coz/Irrad), sendo os gomos cozidos, refrigerados (4°C) por 24 horas, irradiados e novamente refrigerados (4°C) por 24 horas; e irradiação e cozimento (Irrad/Coz), sendo os gomos refrigerados (4°C) por 24 horas, irradiados, cozidos e novamente refrigerados (4°C) por 24 horas.

As mortadelas foram cozidas por imersão em água até que a temperatura do ponto frio atingisse 73°C, quando foram mantidas em banho de água e gelo (0°C) por 10 minutos e estocadas em câmara fria (4°C). Os produtos, cozidos e não cozidos, foram acondicionados em caixas térmicas e submetidas a diferentes doses de irradiação, conforme o delineamento estatístico (Tabela 1), em Irradiador Gama GB-127 (IR-214; MDS Nordion; com fonte de cobalto-60 e taxa de 5 kGy/h), no Laboratório de Irradiação Gama do Centro de Desenvolvimento da Tecnologia Nuclear (CDTN/CENEN) em Belo Horizonte/MG. As amostras não irradiadas foram mantidas nas mesmas condições de temperatura e por períodos de tempo similares às irradiadas.

2.4. Inoculação dos esporos

Para a análise microbiológica, parte da massa crua foi separada em porções de 25g, colocadas em sacos plásticos de nylon-poli e conduzidas ao Laboratório de Microbiologia de Alimentos do DCA/UFLA, onde foram inoculadas com suspensão de esporos de *Clostridium botulinum* padronizada na concentração de 10^7 UFC/g de esporos e homogeneizado por dois minutos em Stomacher (Metroterm, Brasil; 490 golpes/min.). Após selagem a vácuo, em seladora TM300 (TecMaq, São Paulo, SP), as amostras foram submetidas a diferentes processos: cozimento apenas (Coz); irradiação apenas (Irrad); cozimento e irradiação (Coz/Irrad); e irradiação e cozimento (Irrad/Coz). Os procedimentos de cozimento e irradiação foram equivalentes aos adotados para as mortadelas elaboradas.

Depois de cada tratamento, os produtos foram armazenados a 4°C e coletados para condução das análises após 48 horas do processamento e 30 dias.

2.5 Quantificação de células vegetativas e esporos de *C. botulinum*

As mortadelas inoculadas com esporos foram analisadas quanto à sobrevivência do *Clostridium botulinum*, sendo que apenas as mortadelas dos tratamentos Coz/Irrad e Irrad/Coz foram analisadas após trinta dias de estocagem refrigerada (4°C).

Para a enumeração do *Clostridium botulinum* foram abertas as embalagens contendo 25g de mortadela, adicionado 225 mL de água peptonada 0,1% p/v e homogeneizado em Stomacher Metroterm (490 golpes/min) por dois minutos. Após diluições seriadas em 9mL de água peptonada 0,1%, alíquotas de 100 µL foram semeadas em superfície em ágar base de isolamento de *Clostridium botulinum*. As placas foram incubadas em atmosfera anaeróbia, com auxílio de jarras de anaerobiose e geradores de atmosfera anaeróbia (Anaerobac, Probac, Brasil), a 37°C por 48 horas.

Para a contagem de esporos de *Clostridium botulinum*, o homogenato utilizado na enumeração da célula vegetativa, antes da diluição, foi tratado termicamente (75°C/15 minutos) para inativação das células viáveis e ativação de esporos. Após diluições seriadas em 9mL de água peptonada 0,1%, alíquotas de 100 µL foram semeadas por superfície em ágar base de isolamento de *Clostridium botulinum*. As placas foram incubadas em atmosfera anaeróbia, com auxílio de jarras de anaerobiose e geradores de atmosfera anaeróbia (Anaerobac, Probac, Brasil), a 37°C por 15 dias, com avaliações periódicas a cada 48 horas.

2.6 Análises físico-químicas

As mortadelas dos tratamentos Coz/Irrad e Irrad/Coz foram amostradas nos tempos zero e 30 dias de armazenamento refrigerado (4 °C).

Os valores de pH e potencial de oxido-redução (Eh) foram obtidos através da inserção de eletrodo combinado (sistema de referência de Ag/AgCl), tipo penetração, acoplado a um potenciômetro DM20 (Digimed, São Paulo, SP, Brasil), em cinco pontos diferentes do produto. A atividade de água foi determinada em aparelho Aqualab, modelo CX2 (DecagonDevices Inc.). O teor residual de nitrito, expresso em nitrito de sódio (ppm), foi quantificado segundo o método oficial nº 973.31 da *Association of Official Analytical Chemists* (AOAC, 1996).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados das análises físico-químicas e os valores absolutos das populações de células viáveis de *Clostridium botulinum* avaliadas nas mortadelas elaboradas com diferentes níveis de nitrito e submetidas a diferentes doses de irradiação e diferentes processos são apresentadas nas Tabelas 2 e 3.

Nas mortadelas sem adição de nitrito, porém submetidas ao processo de cozimento, foi observada redução de apenas um ciclo logarítmico, ou seja, contagens de 10^6 UFC.g⁻¹.

Para as mortadelas submetidas ao processo cozimento, formuladas com 150 e 300 ppm, avaliadas 48 horas após o processamento, não houve crescimento de nenhuma colônia. Nesse caso, pode-se afirmar que a adição de nitrito associada ao cozimento foi capaz de promover a inibição da germinação dos esporos de *Clostridium botulinum*. Após 30 dias de armazenamento refrigerado (4°C), foi observada contagens de 10^5 UFC.g⁻¹ para as mortadelas adicionadas de 150 ppm de nitrito submetidas ao processo de cozimento. Isso pode ser atribuído a redução dos níveis de nitrito que ocorreu durante o armazenamento mesmo sob refrigeração.

Tabela 2 Efeitos dos níveis de nitrito (NO₂), aplicação de irradiação gama (Irrad) e do tempo de armazenamento (4 °C) na população de células vegetativas de *Clostridium botulinum* (Log UFC/g) em mortadelas cozidas, cozidas e irradiadas (Coz/Irrad), irradiadas e irradiadas e cozidas (Irrad/Coz)

Irradiação	Nitrito	Cozido (48 horas)	Irradiado (48 horas)	Coz/Irrad		Irrad/Coz	
				48 horas	30 dias	48 horas	30 dias
0 kGy	150 ppm	0	3,43	0	5,54	0	5,62
10 kGy	0 ppm	6,68	0	0	0	0	0
	150 ppm	0	0	0	0	0	0
	300 ppm	0	0	0	0	0	0
20 kGy	300 ppm	0	0	0	0	0	0

Tabela 3 Efeitos dos níveis de nitrito (NO₂), aplicação de irradiação gama (Irrad) e do tempo de armazenamento (dias) nos valores de pH, potencial redox (Eh), atividade de água (Aa) e nitrito residual (NO₂R) de mortadelas cozidas e irradiadas (Coz/Irrad) e irradiadas e cozidas (Irrad/Coz)

Ensaio	Variáveis		Dias (4 °C)	Irrad/Coz				Coz/Irrad			
	NO ₂ (ppm)	Irrad (kGy)		pH	Aa	Eh (mV)	NO ₂ R (ppm)	pH	Aa	Eh (mV)	NO ₂ R (ppm)
1	0	10	0	6,28	0,96	40,00	4,98	6,34	0,97	37,25	7,40
			30	6,24	0,97	4,50	7,40	6,23	0,97	0,00	7,35
2	300	10	0	6,25	0,96	38,00	103,41	6,25	0,97	37,75	111,00
			30	6,17	0,97	6,50	106,85	6,25	0,97	2,00	92,65
3	150	0	0	6,32	0,97	37,75	43,97	6,29	0,97	37,25	24,27
			30	6,16	0,97	1,75	36,49	6,22	0,97	3,25	19,62
4	150	10	0	6,16	0,97	39,50	124,22	6,23	0,97	36,00	107,55
			30	6,19	0,97	6,50	46,14	6,23	0,97	4,00	36,69
5	150	20	0	6,16	0,96	42,25	51,14	6,29	0,97	38,00	27,55
			30	6,23	0,96	4,25	46,95	6,29	0,97	1,50	23,87

A adição de 150 ppm de nitrito a mortadelas não submetidas ao processo de cozimento ou irradiação, avaliadas 48 horas após o processamento, foi responsável pela redução de 4 ciclo logarítmico.

A matriz alimentar utilizada no presente experimento (mortadela) associada à embalagem à vácuo favoreceu a germinação dos esporos de *C.botulinum* durante o armazenamento de 30 dias, no entanto a adição de 300 ppm de nitrito foi capaz de inibir totalmente sua germinação durante esse período de armazenamento.

Foi demonstrado por Cammack, Joannou, Cui, Torres Martinez, Maraj & Hughes (1999) que o nitrito reage nas ligações ferro-enxofre de algumas proteínas, por exemplo, a ferredoxina, para formar complexos ferro-óxido nitrosos, inibindo o sistema fosforoclástico, o qual envolve a conversão do piruvato a acetil-fosfato, transferência de elétrons e síntese de ATP. Os mesmos autores reportaram ainda o efeito do nitrito sobre o DNA e expressão genética além de danos a membranas e parede celular.

Para amostras submetidas ao processo de irradiação, antes e depois do cozimento, não foi observado crescimento de nenhuma colônia 48 horas após o processamento e após 30 dias de armazenamento refrigerado a 4°C, independente da dose aplicada (0, 10 e 20 KGy) e dos níveis de nitrito (0, 150 e 300 ppm) na formulação das mortadelas.

O mecanismo de inativação microbiana por radiação ionizante é principalmente devido aos danos diretos ou indiretos aos ácidos nucléicos, afetado pelo poder oxidante dos radicais provenientes da radiólise da água. O tratamento de radiação praticamente não provoca o aumento na temperatura do alimento e possui a vantagem de poder ser aplicado após sua embalagem, evitando assim re-contaminação do produto. Diferenças de sensibilidade à radiação entre os microrganismos estão relacionadas com diferenças em sua composição química, estrutura física e na sua capacidade de se recuperar da

lesão causada pela radiação. A quantidade de energia de radiação necessária para controlar microrganismos em alimentos, portanto, varia de acordo com a população inicial presente e a resistência das espécies (Farkas, 2006).

Para a contagem de esporos do *Clostridium botulinum* não foi recuperada nenhuma célula, isso pode indicar que houve germinação de todas as células quando as condições do meio se apresentavam favoráveis, ou que os níveis de nitrito (150 e 300 ppm) foi capaz de inibir totalmente o processo de germinação ou ainda que a irradiação (10 e 20 KGy) foi capaz de destruir os esporos do *C. botulinum* tipo D.

O pH médio obtido para as mortadelas foi em torno de 6,25, bem próximo do considerado como ideal (pH 6,5 a 7,0) para o *C. botulinum* crescer mais rapidamente (Montville, Parris & Conway, 1985).

O potencial de óxido-redução foi em média 38 48 horas após o processamento, reduzindo para aproximadamente 3 depois de 30 dias de armazenamento refrigerado. Como o *C. botulinum* é anaeróbio estrito por não possui a enzimas superóxido dismutase, peroxidase ou catalase, requer potencial de oxido-redução negativo para seu crescimento. O oxigênio chega a ser tóxico para a célula, porque gera peróxidos letais ao microrganismo (Smoot & Pierson, 1979).

A atividade de água presente em todos os tratamentos das mortadelas 48 horas após o processamento e depois de 30 dias de armazenamento refrigerado variaram de 0,96 a 0,97 favorecendo o crescimento de vários microrganismos, dentre eles o *C. botulinum*, cuja atividade de água requerida é na faixa de 0,95 a 0,97 (Jafari & Emam-Djomeh, 2007).

Para as mortadelas cozidas/irradiadas com adição de 150 a 300 ppm de nitrito submetidas ou não à irradiação, aproximadamente 30% de nitrito permaneceu no produto. No entanto para as mortadelas irradiadas/cozidas a apenas 20% de nitrito, aproximadamente, não foi consumido.

Depois do nitrito ser adicionado ao sistema cárneo, aproximadamente 1% a 10% é oxidado a nitrato; 5 % a 10% reage com a mioglobina; 5% a 15% com os grupos sulfidrilas da proteínas; de 1% a 5% com gordura; de 20% a 30% com proteína e cerca de 1% a 5% transformam-se em gás e se desprendem do produto. Como consequência, essas reações complexas do nitrito podem contribuir para a variação na quantidade residual de nitrito em produtos cárneos, portanto apenas 10% a 20% do nitrito adicionado podem ser detectado após o processamento de produtos curados e este nível reduz gradualmente com o armazenamento. Para que haja um controle eficaz sobre várias bactérias, dentre elas o *C. botulinum*, são necessários pelo menos 10 ppm de nitrito residual no produto e afirma que valores de adição inferiores a 150 ppm são insuficientes para se alcançar este nível residual e, portanto não previnem o desenvolvimento deste microrganismo (Cassens, 1997).

A irradiação na dose de pelo menos 10 KGy parece ter um efeito maior que a adição de nitrito na inibição do crescimento do *C. botulinum*. Ainda assim, a não adição ou níveis mais baixos de nitrito esteve associado ao crescimento de *C. botulinum*.

Um fator relevante em relação ao desenvolvimento deste microrganismo é a distribuição relativamente uniforme de nitrito no produto. O contato dos esporos com nitrito pode ser favorecido de acordo com a forma de processamento. Esse contato é maior em mortadelas, pois a massa cárnea é finamente triturada, o que pode não ocorrer em outros produtos grosseiramente triturados, como apresuntados ou salames (Hustad, Cerveny, Trenk, Deibel, Kautter, Fazio, Johnston & Kolari, 1973).

4. CONCLUSÃO

A partir dos resultados obtidos no presente experimento pode-se concluir que a irradiação mesmo em doses baixas teve efeito na destruição do *C. botulinum*, independente do processamento. Para as mortadelas analisadas 48 horas após o processamento, o nitrito na concentração de 150 ppm foi capaz de inibir quatro ciclos logarítmicos desse microrganismo e quando associado ao cozimento não houve crescimento de nenhuma colônia.

5. AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG) pelo apoio financeiro à execução do projeto e à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela bolsa de doutorado conferida ao primeiro autor.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Ahn, H. J., Jo, C. R., Kim, J. H., Chung, Y. J., Lee, C. H., & Byun, M. W. (2002). Monitoring of nitrite and N-Nitrosamine levels in irradiated pork sausage. *Journal of Food Protection*, 65(9), 1493-1497.

Ahn, H. J., Kim, J. H., Jo, C., Lee, J. W., Yook, H. S., & Byun, M. W. (2004). Effects of gamma irradiation on residual nitrite, residual ascorbate, color, and N-nitrosamines of cooked sausage during storage. *Food Control*, 15(3), 197-203.

AOAC (1996). *Official methods of analysis*. Washington D.C.: Association of Official Analytical Chemists.

Brasil (2001). Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Resolução RDC n.21, de 26 de janeiro 2001. Aprova o

“Regulamento Técnico para Irradiação de Alimentos”. *Lex: Diário Oficial da União*, 29 de janeiro de 2001.

Cammack, R., Joannou, C. L., Cui, X. Y., Torres Martinez, C., Maraj, S. R., & Hughes, M. N. (1999). Nitrite and nitrosyl compounds in food preservation. *Biochimica et Biophysica Acta - Bioenergetics*, 1411(2-3), 475-488.

Cassens, R. G. (1995). Use of sodium-nitrite in cured meats today. *Food Technology*, 49(7), 72-80.

Cassens, R. G. (1997). Residual nitrite in cured meat. *Food Technology*, 51(2), 53-55.

Farkas, J. (2006). Irradiation for better foods. *Trends in Food Science & Technology*, 17(4), 148-152.

Ferrari, N. D., & Weisse, M. E. (1995). Botulism. *Advances in Pediatric Infectious Diseases*, 10, 81-91.

Glória, M. B. A., Barbour, J. F., & Scanlan, R. A. (1997). Volatile Nitrosamines in Fried Bacon. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45(5), 1816-1818.

Hustad, G. O., Cervený, J. G., Trenk, H., Deibel, R. H., Kautter, D. A., Fazio, T., Johnston, R. W., & Kolari, O. E. (1973). Effect of Sodium Nitrite and Sodium Nitrate on Botulinal Toxin Production and Nitrosamine Formation in Wieners. *Applied Microbiology*, 26(1), 22-26.

Jafari, M., & Emam-Djomeh, Z. (2007). Reducing nitrite content in hot dogs by hurdle technology. *Food Control*, 18(12), 1488-1493.

Jo, C., Ahn, H. J., Son, J. H., Lee, J. W., & Byun, M. W. (2003). Packaging and irradiation effect on lipid oxidation, color, residual nitrite content, and nitrosamine formation in cooked pork sausage. *Food Control*, 14(1), 7-12.

Koussoulakos, S. (2009). Botulinum neurotoxin: the ugly duckling. *European Neurology*, 61(6), 331-342.

Labbé, R. G. (2001). *Clostridium perfringens*. In: Downes, F. P.; Ito, K. *Compendium os methods for the microbiological examination of foods*. Washington: American Public Health, 34, 325-330.

Mitchell, W. J. (2001). *General biology and physiology*. In: Bahl, H.; Dürre, P. *Clostridia - Biotechnology and Magical Applications*. Weinheim: Wiley-VCH, 49-104.

Montville, T. J., Parris, N., & Conway, L. K. (1985). Influence of pH on organic acid production by *Clostridium sporogenes* in test tube and fermentor cultures. *Applied Environmental Microbiology*, 49(4), 733-736.

Rawat, R., Ahmed, S. A., & Swaminathan, S. (2008). High level expression of the light chain of botulinum neurotoxin serotype C1 and an efficient HPLC assay to monitor its proteolytic activity. *Protein Expression and Purification*, 60(2), 165-169.

Smoot, L. A., & Pierson, M. D. (1979). effect of oxidation-reduction potential on the outgrowth and chemical inhibition of *Clostridium botulinum* 10755A spores. *Journal of Food Science*, 44(3), 700-704.

Songer, J. G. (1997). Clostridial diseases of animals. *The Clostridia: molecular biology and pathogenesis* (pp. 153-182). New York: Academic Press.

ARTIGO 2

**Artigo redigido conforme a norma da revista Food Chemistry
“Versão Preliminar”**

**Efeito da radiação gama na qualidade de mortadelas formuladas com diferentes
níveis de nitrito**

Monalisa Pereira Dutra^a, Eduardo M. Ramos^{a*}, Alcinéia L.S. Ramos^a, Giselle
Pereira Cardoso^a, Roberta Hilsdorf Piccoli^a, Marcio Tadeu Pereira^c

^a Departamento de Ciência dos Alimentos (DCA), Universidade Federal de Lavras (UFLA), 37200-000, Caixa postal 3037, Lavras, MG, Brasil.

^b Instituto Federal do Sudeste de Minas Gerais - Campus Rio Pomba, 36180-000, Rio Pomba, MG, Brasil.

^c Centro de Desenvolvimento da Tecnologia Nuclear (CDTN), Comissão Nacional de Energia Nuclear (CNEN), 30161-970, Belo Horizonte, MG, Brasil.

*Autor para correspondência. Tel.: +55-35-3829-1403; Fax: +55-35-3829-1401; E-mail: emramos@dca.ufla.br.

RESUMO

A realização deste trabalho objetivou estudar os efeitos da aplicação de diferentes doses de irradiação gama (0 a 20 kGy) sobre os atributos de qualidade de mortadelas elaboradas com níveis crescentes de nitrito (0 a 300 ppm), bem como o efeito da ordem do processo de cozimento e irradiação. Os produtos cozidos/irradiados e irradiados/cozidos resultantes destes tratamentos foram avaliados 48 horas após o processamento quanto ao pH, ao potencial de oxidação (Eh), a concentração residual de nitrito, aos pigmentos totais, aos pigmentos nitrosos, ao índice de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS), ao índice de peróxidos (IP) e a cor objetiva. Para sua execução, foi utilizado um delineamento composto central rotacional (DCCR). Para as

amostras irradiadas após o cozimento, os valores de Eh aumentaram linearmente com maiores doses de irradiação; maiores efeitos foram observados para os níveis de nitrito (NO_2) nos valores de nitrito residual, sendo com maiores adições implicando em maiores quantidades de nitrito residual; o principal fator a afetar os valores dos pigmentos heme total (PHT) foi o NO_2 adicionado, que em maiores concentrações induziu a um aumento no teor de pigmentos heme total; apenas a variável NO_2 teve efeito para os índices de peróxido e TBARS, para os valores de IP foi o componente linear da adição de NO_2 , indicando que maiores valores de hidroperóxido foram observados para maiores quantidades de NO_2 adicionado; para o índice de vermelho (a^*), claramente o maior efeito foi devido à adição de NO_2 , maiores valores de a^* foram obtidos com maiores adições de NO_2 . Para as amostras irradiadas antes do cozimento, a irradiação teve efeito significativo nos valores de pigmentos heme nitrosos (PHN); maiores valores do índice de amarelo (b^*) foram obtidos com maiores doses de irradiação; Os índices de cromaticidade foram afetados de forma distinta nos dois tratamentos (Coz/Irrad e Irrad/Coz), porém as mudanças na tonalidade (h^*) e, portanto, na cor final das amostras foram similares. Foram observadas algumas vantagens no processo irradiação/cozimento. O nitrito teve mais efeito que a irradiação nos parâmetros de qualidade estudados, portanto a irradiação gama com dose de até 20 KGy pode ser aplicadas em mortadelas irradiadas/cozidas sem nenhum efeito deletério à sua qualidade.

Palavras-chaves: irradiação, redução de nitrito, cor objetiva, nitrito residual e oxidação.

1. INTRODUÇÃO

Durante séculos, os sais de nitrito e nitrato são adicionados em produtos cárneos para conferir a cor rósea e o sabor característicos de produtos curados cozidos, além de prevenir alterações desagradáveis oriundos da rancidez oxidativa dos lipídios e inibir o crescimento de microrganismos deteriorantes e patogênicos, atuando especialmente contra o crescimento e produção de toxina do *Clostridium botulinum* (Cammack, Joannou, Cui, Torres Martinez, Maraj & Hughes, 1999; Cassens, 1995; Cassens, 1997; Dutra, Ramos, Ramos, Fontes, Cardoso & Leal, 2011). Entretanto, a utilização de nitrito em produtos cárneos

está relacionada com a formação de compostos N-nitrosos, especialmente N-nitrosaminas, potencialmente tóxicos, mutagênicos e carcinogênicos (Eichholzer & Gutzwiller, 2003; Rywotycki, 2002) e que tem sido relacionado ao desenvolvimento de tumores no cérebro e ao risco de desenvolvimento de leucemia em crianças (Cassens, 1995; Cassens, 1997; Eichholzer & Gutzwiller, 2003).

Devido aos riscos em potencial da sua adição, é que pesquisas têm sugerido formas alternativas para substituir ou, pelo menos, reduzir a quantidade de nitrito adicionada no processo de cura. Uma alternativa viável é o uso da radiação gama, reconhecida como a melhor tecnologia para a destruição de microrganismos patogênicos e deterioradores em alimentos (Ahn, Jo, Lee, Kim, Kim & Byun, 2003b; Du, Ahn, Nam & Sell, 2000), sendo que seu uso vem aumentando, gradualmente, em todo o mundo. Muitos estudos têm relatado que a radiação gama induz a radiólise do nitrito (Ahn, Jo, Lee, Kim, Kim & Byun, 2003b; Ahn, Jo, Kim, Chung, Lee & Byun, 2002a; Ahn, Kim, Jo, Lee & Byun, 2002b; Ahn, Kim, Jo, Lee, Yook & Byun, 2004a; Ahn, Kim, Jo, Lee, Yook, Kim & Byun, 2004c; Dutra, Ramos, Ramos, Fontes, Cardoso & Leal, 2011; Jo, Ahn, Son, Lee & Byun, 2003) e das N-nitrosaminas (Ahn, Jo, Lee, Kim, Kim & Byun; Ahn, Jo, Kim, Chung, Lee & Byun, 2002a; Ahn, Kim, Jo, Lee & Byun, 2002b; Ahn, Kim, Jo, Lee, Yook & Byun, 2004a; Ahn, Kim, Jo, Lee, Yook, Kim & Byun, 2004c; Ahn, Yook, Rhee, Lee, Cho & Byun, 2002c; Jo, Ahn, Son, Lee & Byun, 2003), reduzindo a concentração destes componentes no produto final.

Muitos estudos abordam os impactos da aplicação de baixas doses (< 5 kGy) de irradiação em produtos cárneos, embora, na maioria dos países, a radiação gama possa ser aplicada em qualquer dose, desde que não comprometa as propriedades sensoriais (Dutra, Ramos, Ramos, Fontes, Cardoso & Leal, 2011). Um dos questionamentos associados à aplicação de altas doses de

irradiação em produtos cárneos é a possibilidade de alterações indesejáveis nas suas características de qualidade (Houser, Sebranek & Lonergan, 2003). Os principais efeitos da radiação em alimentos são indiretos, atribuídos à ação de radicais hidroxílicos formados na radiólise da água constituinte, resultando na possibilidade de mudanças na cor e aumento da taxa de oxidação lipídica (Brewer, 2009), o que implica respostas negativas para o consumidor quanto à qualidade do produto.

Embora muitos trabalhos tenham avaliado o efeito da irradiação gama na qualidade de mortadelas (Ahn, Jo, Lee, Kim, Kim & Byun, 2003b; Ahn, Kim, Jo, Lee, Yook, Kim & Byun, 2004b; Byun, Lee, Yook, Lee & Kim, 2002; Cava, Tarrega, Ramirez, Mingoarranz & Carrasco, 2005; Cava, Tarrega, Ramirez, Mingoarranz & Carrasco, 2005; Chouliara, Samelis, Kakouri, Badeka, Savvaidis, Riganakos & Kontominas, 2006; Du & Ahn, 2002; Jo, Ahn, Son, Lee & Byun; Jo, Jin & Ahn, 2000; Jo, Lee & Ahn, 1999; Sebranek, Sewalt, Robbins & Houser, 2005), poucos trabalhos (Dutra, Ramos, Ramos, Fontes, Cardoso & Leal, 2011) avaliaram estes efeitos associados à diferentes níveis de nitrito na formulação. Devido à importância de se conhecer estes efeitos, este trabalho objetivou estudar os efeitos da aplicação, antes ou após o cozimento, de diferentes doses de irradiação gama sobre os atributos de qualidade de mortadelas elaboradas com diferentes níveis nitrito.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Delineamento estatístico

Os efeitos dos níveis de nitrito (0 a 300 ppm) e das doses de irradiação gama (0 a 20 kGy) e sua possível interação foram avaliados por um Delineamento Composto Central Rotacional (DCCR, *Central Composite*

Rotatable Design), em um fatorial 2^2 , com 4 pontos fatoriais, 4 pontos axiais e 3 pontos centrais, totalizando 11 ensaios (Tabela 1), segundo Rodrigues & Iemma (2005).

Tabela 1 Delineamento fatorial completo para os níveis de nitrito e doses de irradiação

Ensaio	Variáveis codificadas		Variáveis reais	
	X_1	X_2	Nitrito (ppm)	Irradiação (kGy)
1	-1	-1	43,6	2,9
2	1	-1	256,4	2,9
3	-1	1	43,6	17,1
4	1	1	256,4	17,1
5	-1,41	0	0,0	10,0
6	1,41	0	300,0	10,0
7	0	-1,41	150,0	0,0
8	0	1,41	150,0	20,0
9	0	0	150,0	10,0
10	0	0	150,0	10,0
11	0	0	150,0	10,0

2.2 Processamento das mortadelas e irradiação

A elaboração das mortadelas foi conduzida no Laboratório de Processamento de Carnes e Derivados do DCA/UFLA, seguindo a seguinte formulação: carnes de paleta bovina (57,5%); toucinho (14,5%); água/gelo (20,0%); sal (2,0%); fécula de mandioca (5,0%); ácido ascórbico (0,054%); polifosfato Fosmax 320 (0,5%; New Max Industrial, Americana, SP, Brasil) e

condimento para mortadela 913 (0,5%; New Max Industrial, Americana, SP, Brasil). As matérias-primas cárneas foram obtidas no comércio local, em embalagens lacradas com selo de Inspeção Federal. As mortadelas foram elaboradas com a adição de diferentes níveis de nitrito de sódio, conforme previsto no delineamento estatístico (Tabela 1), sendo processadas em *cutter* KJ-10 (Jamar, Tapuá, SP, Brasil) e embutidas (gomos de $\pm 400\text{g}$) em tripa artificial de poliamida (65mm diâmetro, marca Casetech).

As mortadelas elaboradas foram divididas em dois lotes e submetidas a diferentes processos: cozimento e irradiação (Coz/Irrad), sendo os gomos cozidos, refrigerados (4°C) por 24 horas, irradiados e novamente refrigerados (4°C) por 24 horas; e irradiação e cozimento (Irrad/Coz), sendo os gomos refrigerados (4°C) por 24 horas, irradiados, cozidos e novamente refrigerados (4°C) por 24 horas.

As mortadelas foram cozidas por imersão em água até que a temperatura do ponto frio atingisse 73°C, quando foram mantidas em banho de água e gelo (0°C) por 10 minutos e estocadas em câmara fria (4°C). Os produtos, cozidos e não cozidos, foram acondicionados em caixas térmicas e submetidas a diferentes doses de irradiação, conforme o delineamento estatístico (Tabela 1), em Irradiador Gama GB-127 (IR-214; MDS Nordion; com fonte de cobalto-60 e taxa de 5 kGy/h), no Laboratório de Irradiação Gama do Centro de Desenvolvimento da Tecnologia Nuclear (CDTN/CENEN) em Belo Horizonte/MG. As amostras não irradiadas foram mantidas nas mesmas condições de temperatura e por períodos de tempo similares às irradiadas.

2.3. Análise do pH e potencial de oxi-redução

Os produtos armazenados a 4°C foram coletados para análises, conduzidas em triplicata. Os valores de pH e potencial de oxido-redução (Eh)

foram obtidos através da inserção de eletrodo combinado (sistema de referência de Ag/AgCl), tipo penetração, acoplado a um potenciômetro DM20 (Digimed, São Paulo, SP, Brasil), em cinco pontos diferentes do produto.

2.4 Teor de nitrito residual

O teor residual de nitrito, expresso em nitrito de sódio (ppm), foi quantificado segundo o método oficial n° 973.31 da Association of Official Analytical Chemists (AOAC, 1996).

2.5 Oxidação lipídica

A oxidação lipídica das amostras foi mensurada através da quantificação de hidroperóxidos formados (índice de peróxidos) e de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (índice de TBARS).

O índice de peróxido (IP) foi determinado por modificações do método de PCA-FOX proposto por Gay & Gebicki (2002). Brevemente, 6 g da amostra foram homogeneizadas em 25 mL de metanol refrigerado (-18 °C) por 30 segundos e centrifugadas a 1400g por 3 minutos. Uma alíquota do sobrenadante (suficiente para conter até 75 µM de hidroperóxidos), foi adicionada de 200 µL de solução analítica (2,5 mM de alaranjado de xilenol tetrassódico e 2,5 mM de sulfato ferroso de amônio em solução de ácido perclórico 1,10 M) e o volume completado para 2mL com água destilada. Após 30 minutos de incubação à temperatura ambiente e ao abrigo de luz, foi lida a absorbância a 560 nm. A concentração de hidroperóxidos foi determinada a partir de curva padrão de calibração com hidroperóxido de cumeno (CHP) e os resultados expressos em mg de CHP/Kg de amostra.

O índice de TBARS foi determinado segundo a metodologia proposta por Raharjo, Sofos & Schmidt (1992), com algumas adaptações. Cerca de 10g de amostra foram homogeneizadas em 40 mL de ácido tricloroacético (TCA) 5% e 1mL de butilhidroxitolueno (BHT) 0,15%, centrifugada a 3000 g por 2 minutos e o sobrenadante filtrado para balão volumétrico de 50 mL, sendo o volume completado com TCA 5%. Uma alíquota de 5mL foi, então, adicionada de 5 mL de ácido tiobarbitúrico 0,08M em ácido acético 50%, incubada em banho-maria fervente por 5 minutos e a absorbância lida a 531 nm. A concentração de malonaldeído (MAD) foi determinada a partir de curva padrão de calibração com 1,1,3,3-tetraetoxipropano (TEP) e os resultados expressos em mg de MAD/Kg de amostra.

2.6 Pigmentos heme nitrosos e totais

Os teores de pigmentos heme totais (PHT) e pigmentos heme nitrosos (PHN) foram determinados por métodos espectrofotométricos propostos por Hornsey (1956), após extração em acetona/água/ácido (40:9:1, v/v) e em acetona/água (40:10, v/v), respectivamente. O PHT foi expresso em mg de hematina/kg de amostra, enquanto o PHN foi expresso como percentagem de conversão (%PHN) dos pigmentos heme a pigmento heme nitrosos em relação aos pigmentos heme totais.

2.7 Análise da cor

As mortadelas foram fatiadas ao meio e a superfície interna avaliada por um colorímetro-espectrofotômetro CM-700d (Konica Minolta Sensing Inc., Osaka, Japão), sendo os índices de cor (L^* , a^* e b^*) obtidos utilizando o iluminante D65, ângulo do observador 10° e considerando o valor médio de

cinco leituras realizadas em diferentes pontos da superfície (Dutra, Ramos, Ramos, Fontes, Cardoso & Leal, 2011). Os índices de saturação (C^*) e tonalidade (h^*) foram calculados a partir dos índices de cromaticidade (a^* e b^*): $C^* = (a^{*2} + b^{*2})^{1/2}$ e $h^* = \tan^{-1} (b^*/a^*)$.

2.8 Análise Estatística

Foi utilizado o Modelo de Superfície de Resposta para o estudo da avaliação simultânea das duas variáveis independentes (nitrito e irradiação), baseados em um delineamento DCCR com um total de 11 combinações (Tabela 1), realizado em ordem aleatória. Para cada variável experimental, a variância foi decomposta em componentes (linear, quadrático e interação), a fim de avaliar o ajuste da seguinte função polinomial de segunda ordem e a importância relativa de cada um deles os níveis de nitrito e doses de irradiação:

$$Y = \beta_0 + \sum_{i=1}^2 \beta_i X_i + \sum_{i=1}^2 \beta_{ii} X_i^2 + \sum_{i=1}^2 \sum_{j=1}^2 \beta_{ij} X_i X_j$$

Em que Y é a resposta estimada; B_0 , B_i , B_{ii} e B_{ij} representam as constantes e coeficientes de regressão do modelo; e X_i , X_j e $X_i X_j$ são os níveis das variáveis independentes linear, quadrática e interação, respectivamente.

A significância dos parâmetros da equação, para cada variável resposta, foi avaliada pelo teste F, utilizando o programa Statistica® 5.0 (StatSoft, Poland). Para a modelagem foi utilizado o erro puro avaliando o ajuste da regressão ao nível de 5% de probabilidade e a significância dos coeficientes ao nível de 10%, 5% e 1%. Na falta de ajuste do modelo completo para o desenvolvimento dos gráficos, foi feita a análise de regressão ($P < 0,05$) apenas para os coeficientes significativos.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 pH e potencial de oxi-redução

Para ambos os tratamentos, cozido/irradiado (Coz/Irrad) e irradiado/cozido (Irrad/Coz), o modelo matemático completo para os valores de pH e potencial de oxi-redução (Eh) foram não significativos ($P < 0,05$), sendo os coeficientes de regressão e a análise de variância descritos na Tabela 2.

Para a variável pH de ambos os tratamentos não foi possível ajustar um modelo de superfície de resposta ($P > 0,05$) utilizando os coeficientes significativos. Os valores médios de pH observado para as mortadelas foram de $6,27 \pm 0,09$, para o tratamento Coz/Irrad, e de $6,29 \pm 0,09$, para Irrad/Coz, sendo ambos considerados normais para este tipo de embutido. Importante observar, que embora não tenha sido possível descrever um modelo estatístico, os valores de pH foram significativamente afetados tanto pelos níveis de nitrito utilizado quando pela dose de irradiação aplicada.

Tabela 2 Coeficientes de regressão (CR) e erro padrão (EP) dos modelos matemáticos polinomiais para os valores de pH e potencial de oxi-redução (Eh) das mortadelas cozidas e irradiadas (Coz/Irrad) e irradiadas e cozidas (Irrad/Coz)

	pH				Eh (mV)			
	Coz/Irrad		Irrad/Coz		Coz/Irrad		Irrad/Coz	
	CR	EP	CR	EP	CR	EP	CR	EP
Constante	6,1930	0,8036	6,2031	0,0200	39,7599	0,8036	39,3407	1,8162
NO ₂	-0,0086	0,4929	-0,0219	0,0123	-1,1058	0,4929	-1,5101	1,1139
NO ₂ X NO ₂	0,0570*	0,5881	0,0591	0,0146	-1,01057	0,5881	-1,3947	1,3291
Irrad	- 0,0634**	0,4929	-0,0397*	0,0123	2,3627**	0,4929	2,1699	1,1139
Irrad X Irrad	0,0451	0,5881	0,0585*	0,0146	-0,5076	0,5881	-1,3319	1,3291
NO ₂ X Irrad	0,0625*	0,6960	0,0500*	0,0173	-0,8750	0,6960	0,9375	1,5729
R ²	0,8134		0,7167		0,7405		0,4915	
<i>P-valor</i>								
<u>Regressão</u>	0,0963		0,0866		0,1357		0,4242	
<u>LOF</u>	0,2795		0,1573		0,2501		0,3552	

NO₂= nitrito; Irrad = Irradiação; LOF = falta de ajuste.

*** P<0,01; **P<0,05; *P<0,10.

Para o Eh, o modelo matemático codificado ($Eh = 38,6591 + 2,3627 \cdot X_2$; $R^2 = 0,5205$) considerando apenas os coeficientes significativos pôde ser ajustado ($P = 0,0409$) apenas para as amostras irradiadas após o cozimento (Coz/Irrad). Para esse tratamento, os valores de Eh aumentaram linearmente com maiores doses de irradiação, o que contradiz as observações de que maiores doses de irradiação reduzem os valores de Eh em peitos de frango (Du, Hur & Ahn, 2002; Nam & Ahn, 2002) e em presunto cozido (Houser, Sebranek, Maisonet, Cordray, Ahn & Dixon, 2005). Esta diferença, no entanto, pode ser explicada pela diferença nos produtos avaliados. Na mortadela, a carne é finamente triturada, o que induz a uma incorporação de oxigênio na massa, elevando o Eh e, possivelmente, contribuindo para a formação de espécies químicas com maior tendência para receber elétrons, como, por exemplo, a formação do íon férrico (Fe^{+3}).

Por fim, Shahidi, Pegg & Shamsuzzaman (1991) e Byun, Lee, Yook, Lee & Kim (1999) sugeriram que a irradiação pudesse aumentar o potencial de redução de agentes de redutores adicionados na formulação, reduzindo assim o Eh, o que não foi observado neste experimento.

3.2 Nitrito residual

Para ambos os tratamentos (Coz/Irrad e Irrad/Coz), as regressões foram não significativas ($P > 0,05$) para a análise de nitrito residual, sendo os coeficientes de regressão e a análise de variância descritos na Tabela 3.

A partir dos coeficientes significativos, foi possível ajustar ($p = 0,0347$) um modelo para as variáveis codificadas ($NO_2R = 76,2811 + 48,7377 \cdot X_1 - 35,4167 \cdot X_1 X_2$; $R^2 = 0,6475$) para os valores de nitrito residual das mortadelas Coz/Irrad, sendo representado na Figura 1. Maiores efeitos foram observados para os níveis de nitrito (NO_2), com maiores adições implicando em maiores

quantidades de nitrito residual. Elevadas concentrações de nitrito residual em amostras adicionadas de maiores quantidades de NO₂ são coerentes com o observado em outros trabalhos (Dong, Tu, Guo, Yang, Wang & Chen, 2007; Dutra, Ramos, Ramos, Fontes, Cardoso & Leal, 2011; Pérez-Rodríguez, 1996). Derivados do NO₂ adicionado reagem com a mioglobina e outros compostos presentes na carne (grupos sulfídricos de aminoácidos, gordura, proteínas não-heme, etc), podendo ser oxidado a nitrato (NO₃) ou convertido a gás (NO), se desprendendo do produto; dessa forma, boa parte da quantidade de NO₂ adicionada é consumida por estas reações (Cassens, 1997; Honikel, 2008).

Tabela 3 Coeficientes de regressão (CR) e erro padrão (EP) para as variáveis codificadas dos modelos matemáticos polinomiais para os valores de nitrito residual (ppm) das mortadelas cozidas e irradiadas (Coz/Irrad) e irradiadas e cozidas (Irrad/Coz)

	Coz/Irrad		Irrad/Coz	
	CR	EP	CR	EP
Constante	100,5372	11,9908	55,1044	26,2415
NO ₂	48,7377**	7,3539	48,3276*	16,0937
NO ₂ X NO ₂	-15,0555	8,7751	8,9477	19,2040
Irrad	-18,2030	7,3539	-19,8783	16,0937
Irrad X Irrad	-18,3961	8,7751	-7,8061	19,2040
NO ₂ X Irrad	-35,4167*	10,3845	-39,7601	22,7260
R ²	0,7856		0,7414	
<i>P-valor</i>				
<u>Regressão</u>	0,0689		0,2840	
<u>LOF</u>	0,1586		0,5415	

NO₂= nitrito; Irrad = Irradiação; LOF = falta de ajuste.

*** P<0,01; **P<0,05; * P<0,10.

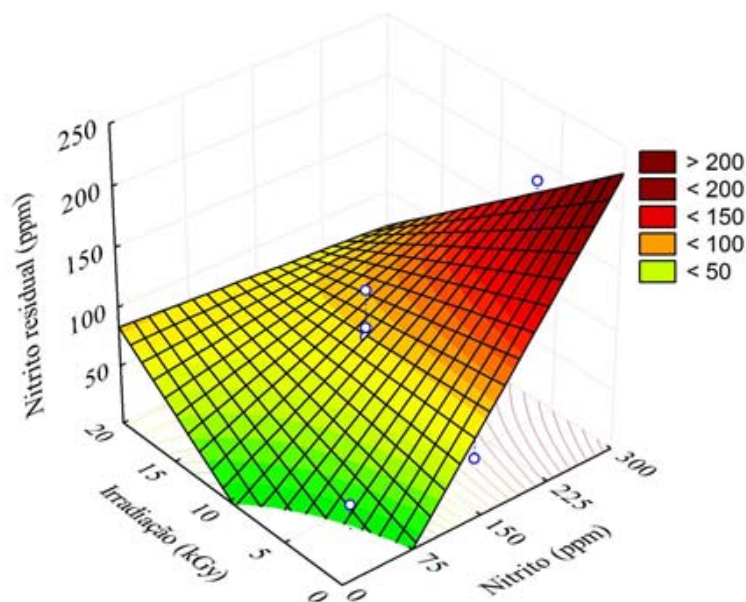


Figura 1 Efeitos dos níveis de nitrito e doses de irradiação gama nos valores de nitrito residual de mortadelas cozidas e irradiadas (Coz/Irrad).

Ao se irradiar as mortadelas, os efeitos foram antagônicos, dependendo dos níveis de NO_2 adicionado: até 150 ppm de adição, maiores doses de irradiação promoveram maiores níveis de nitrito residual; enquanto acima de 150 ppm de adição, maiores doses de irradiação implicaram em menores valores de nitrito residual (Figura 1).

Quanto às amostras contendo quantidades menores que 150 ppm, o aumento dos valores de nitrito residual com maiores doses de irradiação pode ser devido a uma dissociação do óxido nítrico (NO) do grupo heme, ocasionada pela formação de radicais livres com a radiólise da água, e sua eventual oxidação a NO_2 na presença de oxigênio (Honikel, 2008). Isto está de acordo com o aumento observado nos valores de Eh à medida que maiores doses de irradiação são aplicadas.

Trabalhos envolvendo a irradiação de produtos adicionados com quantidades inferiores a 150 ppm são escassos. Dutra, Ramos, Ramos, Fontes, Cardoso & Leal (2011) ao avaliarem os efeitos da aplicação de irradiação gama nas doses de 0, 7,5 e 15 kGy em mortadelas adicionadas de 0, 75 e 150 ppm de NO₂, não observaram diferença significativa ($P > 0,05$) de nitrito residual 48 horas após o processamento entre mortadelas irradiadas e não-irradiadas. Provavelmente, essa não significância se deve ao pequeno efeito de redução pela irradiação em amostras contendo 75 ppm de NO₂, especialmente quando as doses aplicadas são inferiores a 10 kGy (Figura 1).

Menores valores de nitrito residual com a aplicação da radiação gama têm sido reportados em diversos produtos adicionados com valores acima de 125 ppm de NO₂, como bacon (Fiddler, Gates, Pensabene, Phillips & Wierbicki, 1981), presuntos cozidos (Houser, Sebranek & Lonergan, 2003; Houser, Sebranek, Maisonet, Cordray, Ahn & Dixon, 2005), salsichas (Ahn, Jo, Lee, Kim, Kim, & Byun, 2003b; Ahn, Kim, Jo, Lee & Byun, 2002b; Ahn, Kim, Jo, Lee, Yook & Byun, 2004a) e mortadelas (Dutra, Ramos, Ramos, Fontes, Cardoso & Leal, 2011), sendo dependente da dose aplicada e do tipo de sistema de embalagem utilizado durante a irradiação. Na maioria destes trabalhos, as maiores reduções nos valores de nitrito residual entre o controle e as amostras irradiadas foram observadas nas amostras com maiores tempos de armazenamento, o que condiz com a observação de Simie (1983) de que a redução do nitrito residual pela irradiação ocorre, provavelmente, pela sua reação com radicais hidroxil produzidos pela radiólise da água.

De forma geral, doses maiores que 10 kGy induzem a uma redução nos níveis de nitrito residual independentemente do sistema de embalagem usado (Ahn, Jo, Kim, Chung, Lee & Byun, 2002a; Ahn, Kim, Jo, Lee & Byun, 2002b; Ahn, Kim, Jo, Lee, Yook, Kim & Byun, 2004b; Ahn, Kim, Jo, Yook & Byun, 2003c). Doses menores (< 5 kGy) são eficientes nesta redução quando a

irradiação é aplicada em produtos embalados em sistemas onde o oxigênio foi removido (Ahn, Jo, Lee, Kim, Kim, & Byun, 2003b; Ahn, Jo, Kim, Chung, Lee & Byun, 2002a; Ahn, Kim, Jo, Lee, Yook, Kim & Byun, 2004b; Houser, Sebranek & Lonergan, 2003; Houser, Sebranek, Maisonet, Cordray, Ahn & Dixon, 2005). Jo, Ahn, Son, Lee & Byun (2003), no entanto, não observaram redução nos valores de nitrito residual em salsichas irradiadas com 5 kGy embaladas em diferentes sistemas de atmosfera modificada (N_2 , CO_2 e N_2/CO_2). Estas observações estão de acordo com o modelo ajustado neste experimento (Figura 1), em que pequenas alterações são observadas nos valores de nitrito residual quando pequenas doses de irradiação são aplicadas em produtos adicionados de quantidades maiores que 150 ppm de NO_2 .

Para as amostras irradiadas antes do cozimento (Irrad/Coz), os efeitos sobre os teores de nitrito residual foram mais afetados pela quantidade de NO_2 adicionado, uma vez que apenas o coeficiente linear da variável NO_2 foi significativo (Tabela 3). Assim, maiores quantidades de NO_2 implicaram em maiores teores de nitrito residual.

3.3 Oxidação lipídica

Os efeitos dos tratamentos sobre a oxidação lipídica das amostras foi avaliado medindo-se o teor de hidroperóxidos, pelo índice de peróxidos (IP), e o teor de aldeídos, pelo índice de TBARS. O IP é um indicador muito sensível da oxidação lipídica apenas no estágio inicial da oxidação, uma vez que ao atingir certo nível de concentração, mudanças complexas ocorrem, degradando os hidroperóxidos e formando compostos de baixo peso molecular, como aldeídos, que podem ser mensurados pelo índice de TBARS (Araújo, 2011).

Os coeficientes de regressão e a análise de variância dos modelos matemáticos codificados para ambos os índices são descritos na Tabela 4.

Tabela 4 Coeficientes de regressão (CR) e erro padrão (EP) dos modelos matemáticos polinomiais para os índices de peróxidos e TBARS das mortadelas cozidas e irradiadas (Coz/Irrad) e irradiadas e cozidas (Irrad/Coz)

	Índice de peróxidos (mg CHP/kg)				Índice de TBARS (mg MAD/kg)			
	Coz/Irrad		Irrad/Coz		Coz/Irrad		Irrad/Coz	
	CR	EP	CR	EP	CR	EP	CR	EP
Constante	49,5438	5,3433	41,2334	1,3655	0,5354	0,0494	0,5540	0,0447
NO ₂	11,8005*	3,2770	10,0744***	0,8374	-0,1086*	0,0303	0,1692**	0,0274
NO ₂ X NO ₂	2,9028	3,9103	-0,1317	0,9993	0,1903**	0,0362	0,1155*	0,0327
Irrad	8,5521	3,2770	7,3591**	0,8374	0,0314	0,0303	-0,0438	0,0274
Irrad X Irrad	6,4174	3,9103	2,9600*	0,9993	-0,0861	0,0362	-0,1116*	0,0327
NO ₂ XIrrad	13,0772	4,6275	5,0151*	1,1826	0,1102	0,0428	0,1120	0,0387
R ²	0,9298		0,8553		0,8298		0,8523	
<i>P-valor</i>								
<u>Regressão</u>	<i>0,1447</i>		<i>0,0198</i>		<i>0,0870</i>		<i>0,0654</i>	
<u>LOF</u>	<i>0,9520</i>		<i>0,0701</i>		<i>0,2165</i>		<i>0,2014</i>	

NO₂= nitrito; Irrad = Irradiação; LOF = falta de ajuste.

*** P<0,01; **P<0,05; *P<0,10.

Para o tratamento Coz/Irrad, apenas a variável NO_2 teve efeito para os índices de peróxido e TBARS. O único coeficiente de regressão significativo ($P < 0,10$) para os valores de IP foi o componente linear da adição de NO_2 , indicando que maiores valores de hidroperóxido foram observados para maiores quantidades de NO_2 adicionado. Este efeito não era esperado, uma vez que ao NO_2 é reportado um forte efeito antioxidante (Shahidi, Pegg & Shamsuzzaman, 1991), que se deve, provavelmente, à mesma reação responsável pelo desenvolvimento da cor. Os íons férricos (Fe^{+3}) da mioglobina oxidada são catalisadores ativos da oxidação lipídica. Na reação dos pigmentos com derivados do NO_2 , o íon Fe^{+3} é reduzido à forma ferrosa (Fe^{+2}), que não funciona como catalisador (Townsend & Olson, 1994).

Por outro lado, é provável o método de FOX para quantificação de hidroperóxidos formados não seja adequado para produtos curados, ou seja, que contém a presença de nitrito residual. Segundo Gay & Gebicki (2002), o método FOX é baseada na habilidade dos hidroperóxidos em oxidar íons Fe^{+2} em meio ácido, seguida da formação de um pigmento azul-roxeado resultante da complexação entre os íons Fe^{+3} formados e o pigmento alaranjado de xilenol (XO).

Wolff (1994) relata que compostos que se ligam a íons Fe^{+3} podem interferir na análise de FOX por competir com o indicador XO. Deve-se considerar, ainda, o potencial oxidante do NO_2 presente na amostra, que neste caso poderia oxidar os íons Fe^{+2} adicionados na análise, assim como faria com a hematina da mioglobina (Pegg & Shahidi, 2000; Ramos & Gomide, 2007), superestimando os resultados. Isto justificaria o efeito observado na Tabela 4, uma vez que maiores teores de nitrito residual foram observados em amostras com maiores quantidades de NO_2 (Figura 1). Além disso, maiores quantidades de nitrito residual implicam na presença de quantidades consideráveis de nitrato

(NO₃), conforme descrito por Honikel (2008) que também atua como forte oxidante (Pegg & Shahidi, 2000; Ramos & Gomide, 2007).

A partir dos coeficientes significativos para o índice de TBARS foi possível ajustar ($P = 0,0373$) um modelo para as variáveis codificadas ($TBARS = 0,4548 - 0,1086.X_1 + 0,2154.X_1^2$; $R^2 = 0,6591$) e, a partir deste, construir uma superfície de resposta em função dos níveis de nitrito e doses de irradiação (Figura 2). Pelo modelo, menores valores de TBAR são observados à medida que maiores quantidades de NO₂ são adicionadas, o que é esperado devido à sua já mencionada propriedade antioxidante, reduzindo o íon Fe⁺³, ou pela possibilidade da reação do malonaldeído formado com o nitrito residual ou seu derivado ácido nitroso (Kolodziejska, Skonieczny & Rubin, 1990). Entretanto, entre 125 e 250 ppm de NO₂ os efeitos nos valores de TBARS foram pequenos, sendo que acima de 250 ppm de adição um pequeno efeito pró-oxidante foi observado.

Não foi verificado efeito significativo ($P > 0,10$) da irradiação sobre os valores de TBARS (Figura 2) das amostras, o que não era esperado, visto que a irradiação promove a radiólise da água, ocasionando a formação de radicais livres e, conseqüentemente, favorecendo a oxidação lipídica (Brewer, 2009). Vários autores (Ahn, Olson, Jo, Love & Jin, 1999; Dutra, Ramos, Ramos, Fontes, Cardoso & Leal, 2011; Terrell, Heiligman, Smith, Wierbicki & Carpenter, 1981) têm reportado que os valores de TBARS em produtos curados irradiados são dose dependentes. Houser, Sebranek, Maisonet, Cordray, Ahn & Dixon (2005) não observaram mudanças nos valores de TBARS de presuntos e salsicha irradiados até 2 kGy. Já em presuntos cozidos (Houser, Sebranek & Lonergan, 2003) e salsichas (Ahn, Olson, Jo, Love & Jin, 1999) irradiados com 4,5 kGy, o aumento reportado nos valores de TBAR, embora significativos, foram considerados pequenos. Outros autores, ao irradiar amostras de salsicha (Jo, Ahn, Son, Lee & Byun, 2003) e mortadela Bologna (Byun, Lee, Yook, Lee,

Kim, Kim, & Kim, 2000) com doses de 5 kGy, não observaram efeito significativo para os valores de TBARS 48 horas após o processamento.

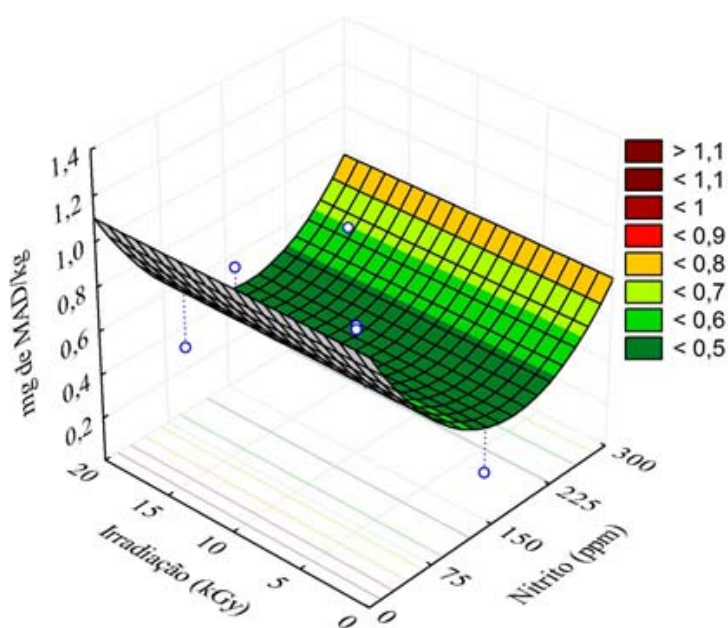


Figura 2 Efeitos dos níveis de nitrito e doses de irradiação no índice de TBARS de mortadelas cozidas e irradiadas (Coz/Irrad).

A ausência de efeito ou de pequenas variações nos valores de TBARS com a irradiação são justificadas por estes trabalhos como sendo devido à ação antioxidante do NO_2 presente nos produtos. Desta forma, com aplicação de doses maiores, efeitos na oxidação lipídica são esperados. Entretanto, Shahidi, Pegg & Shamsuzzaman (1991), ao estudarem o efeito da aplicação de diferentes doses de irradiação gama em reestruturado cozido de carne suína com e sem adição de 156 ppm de NO_2 , reportaram que a irradiação, mesmo em doses tão elevadas quanto 10 kGy, não teve efeito negativo na oxidação lipídica dos produtos. Estes autores observaram que os valores de TBARS de amostras curadas não se alteraram com as diferentes doses de irradiação, apresentando

valores de TBARS inferiores aos das amostras sem nitrito, irradiadas ou não. Além disso, os valores de TBARS das amostras não curadas foram menores nas amostras irradiadas do que na amostra controle. Segundo os mesmos autores, proteínas e, possivelmente, produtos da interação de proteínas e carboidratos têm sido reportados como capazes de exercer um efeito antioxidante, que aumenta com o aumento da dose de irradiação, protegendo, dessa forma, os lipídeos das mudanças oxidativas induzidas pela irradiação. Ostdal, Skibste & Andersen (1997) sugeriram que a proteína (globina) da molécula de mioglobina funciona como um “dissipador de radicais”, transferindo os radicalshidroxil ($\text{OH}\cdot$) a antioxidantes de baixo peso molecular como a glutatona e ascorbatos.

Embora radicais livres estejam envolvidos nos processos de oxidação lipídica e irradiação dos alimentos, os seus mecanismos podem ser diferentes. A oxidação dos lipídios é uma reação em cadeia de radicais livres envolvendo a reação do oxigênio singlete com lipídios insaturados e formação de hidroperóxidos, que ainda passam por etapas de propagação e terminação. Já o principal mecanismo dos efeitos da irradiação em alimentos, contendo principalmente água, é a geração de radicais livres (elétrons hidratados, radicais hidroxil e átomos de hidrogênio), resultantes da radiólise da água e que podem reagir com componentes alimentares (Fan, Sommers & Sokorai, 2004).

Para as mortadelas que foram irradiadas antes do cozimento (tratamento Irrad/Coz), o modelo codificado completo (com todos os coeficientes) para o IP foi significativo (Tabela 4), sendo possível construir as superfícies de resposta em função dos níveis de nitrito e doses de irradiação (Figura 3).

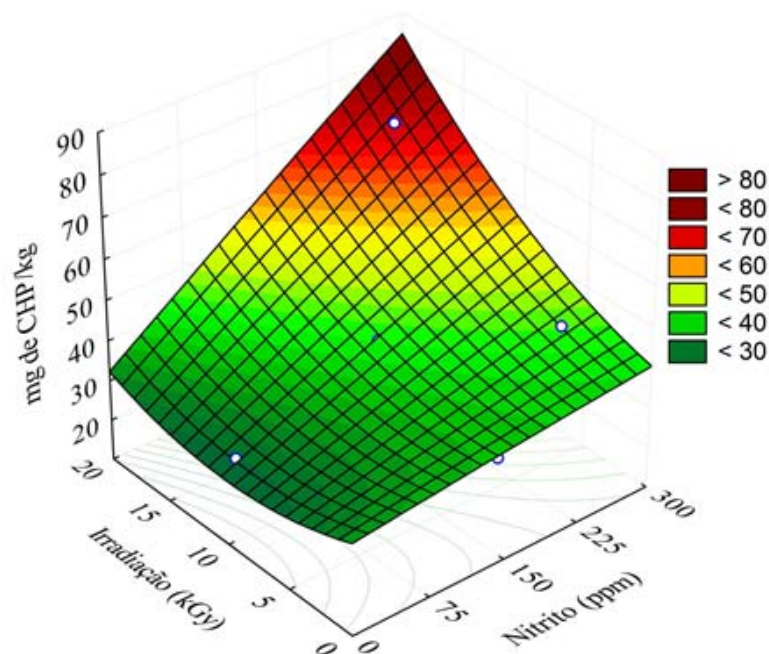


Figura 3 Efeitos dos níveis de nitrito e doses de irradiação no índice de peróxido (IP) de mortadelas irradiadas e cozidas (Irrad/Coz).

Diferentemente do observado para o tratamento Coz/ Irrad, os valores de IP foram afetados tanto pelo teor de NO_2 quanto pelas doses de irradiação. Uma vez que a irradiação induz a formação de radicais livres pela radiólise da água (Brewer, 2009; Fan, Sommers & Sokorai, 2004), os maiores valores de IP com maiores doses de irradiação são coerentes. Da mesma forma, os maiores valores de IP para amostras com maiores quantidades de NO_2 também são coerentes se considerarmos a possível interferência do nitrito e nitrato residuais na análise de peróxidos pelo método de FOX, conforme anteriormente discutido.

Para o índice de TBARS, foi possível ajustar ($P = 0,0464$) um modelo para as variáveis codificadas ($\text{TBARS} = 0,5540 - 0,1692.X_1 + 0,1155.X_1^2 - 0,1116.X_2^2$; $R^2 = 0,7402$) partir dos coeficientes significativos e construir a

superfície de resposta em função dos níveis de nitrito e doses de irradiação (Figura 4). Os efeitos observados para a adição de NO_2 são pertinentes com o reportado na literatura, onde o poder antioxidante do NO_2 (demonstrado pela redução dos valores de TBARS) torna-se maior em maiores concentrações deste ingrediente. Entretanto, quantidades maiores que 75 ppm de adição de NO_2 não aumentaram esse poder antioxidante, com os valores de TBARS permanecendo relativamente estáveis.

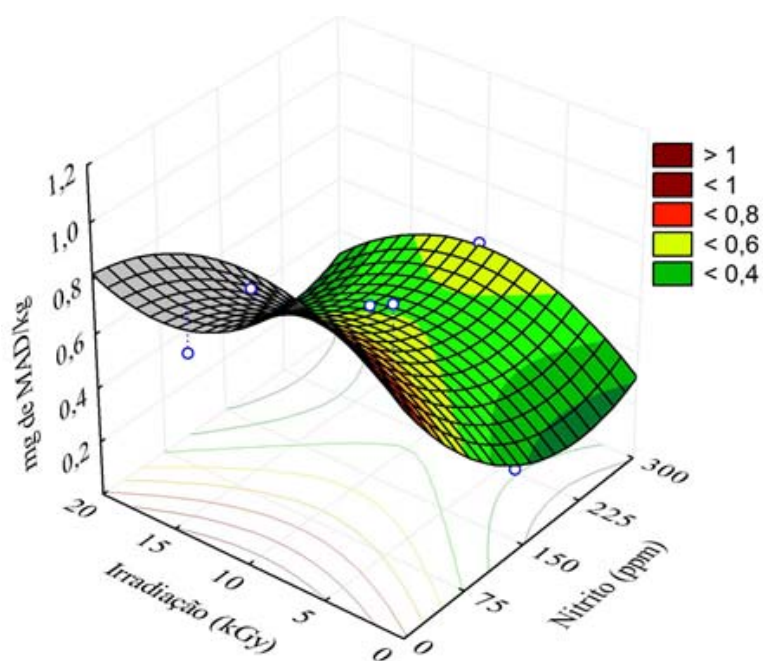


Figura 4 Efeitos dos níveis de nitrito e doses de irradiação no índice de TBARS de mortadelas irradiadas e cozidas (Irrad/Coz).

Esta maior proteção aos pigmentos heme, no entanto, não afetou o percentual de pigmentos heme nitrosos (nitrosilhemocromo) formados após o cozimento, uma vez que nenhum dos coeficientes da regressão foram

significativos ($P>0,10$) para %PHN (Tabela 5). Trabalhos conduzidos por Ahn e colaboradores (Ahn, Kim, Jo, Lee, Yook & Byun, 2004a; Ahn, Kim, Jo, Lee, Yook, Kim & Byun, 2004b) reportaram uma redução nas concentrações de pigmentos nitrosos com a aplicação da irradiação. No entanto, estes autores não reportaram estes efeitos em relação ao teor de pigmentos heme totais. De forma contrária, Dutra, Ramos, Ramos, Fontes, Cardoso & Leal (2011) não observaram redução nos teores de pigmentos nitrosos de mortadelas após irradiação a 7,5 e 15 kGy.

Já para a irradiação, os efeitos observados para doses inferiores a 10 kGy também são compatíveis com o reportado na literatura, uma vez que maiores doses de irradiação aumentam os valores de TBARS, por promoverem maior oxidação lipídica. Entretanto, em doses acima de 10 kGy os valores de TBARS tendem novamente a cair. É provável que o favorecimento de maiores doses de irradiação sob os efeitos antioxidantes de proteínas e produtos da interação de proteínas e carboidratos, descritos por Shahidi, Pegg & Shamsuzzaman (1991), possam ter superado os efeitos deletérios promovidos pelos radicais livres gerados da radiólise da água.

3.4 Pigmentos heme nitrosos e totais

Os coeficientes de regressão e a análise de variância dos modelos matemáticos codificados para os pigmentos heme totais (PHT) e nitrosos (PHN) nos diferentes tratamentos (Coz/Irrad e Irrad/Coz) estão descritos na Tabela 5. Para as amostras cozidas e irradiadas, apenas o modelo do PHT pôde ser ajustado ($P<0,05$), sendo possível construir a superfície de resposta em função dos níveis de nitrito e doses de irradiação (Figura 5).

Tabela 5 Coeficientes de regressão (CR) e erro padrão (EP) dos modelos matemáticos polinomiais para os valores de pigmentos heme totais (PHT) e percentual de pigmentos nitrosos (%PHN) das mortadelas cozidas e irradiadas (Coz/Irrad) e irradiadas e cozidas (Irrad/Coz)

	PHT (mg hematina/Kg)				%PHN			
	Coz/Irrad		Irrad/Coz		Coz/Irrad		Irrad/Coz	
	CR	EP	CR	EP	CR	EP	CR	EP
Constante	93,5860	1,1291	96,3569	4,0851	41,7228	10,1209	34,0950**	1,7148
NO ₂	11,0521***	0,6924	2,9800	2,5053	4,8283	6,2071	10,9908***	1,0517
NO ₂ X NO ₂	-2,8038*	0,8263	0,7433	2,9895	0,0418	7,4067	3,7652*	1,2549
Irrad	0,8238	0,6924	-2,2714	2,5053	-0,3105	6,2071	-3,2703*	1,0517
Irrad X Irrad	1,0440	0,8263	3,5223	2,9895	10,4265	7,4067	6,9305**	1,2549
NO ₂ X Irrad	1,2750	0,9778	3,7400	3,5378	-0,0630	8,7651	7,6342**	1,4851
R ²	0,8348		0,4467		0,4974		0,8219	
<i>P-valor</i>								
<u>Regressão</u>	0,0182		0,5811		0,7609		0,0265	
<u>LOF</u>	0,0546		0,4635		0,8480		0,0768	

NO₂= nitrito; Irrad = Irradiação; LOF = f

alta de ajuste. *** P<0,01; ** P<0,05; *P<0,10.

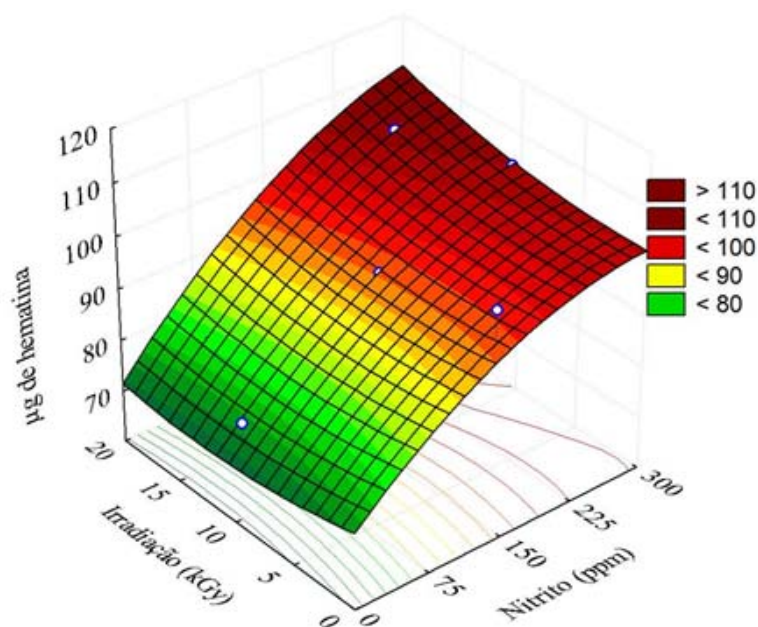


Figura 5 Efeitos dos níveis de nitrito e doses de irradiação gama nos valores de pigmentos heme totais (PHT) de mortadelas cozidas e irradiadas (Coz/Irrad).

O principal fator a afetar os valores de PHT foi o NO_2 adicionado, que em maiores concentrações induziu a um aumento no teor de pigmentos heme. É provável que maiores concentrações de NO_2 e, conseqüentemente, de nitrito residual (Figura 1), tenham permitido maiores formações do pigmento nitrosomioglobina (NOMb) que, por ser mais estável ao calor do que os demais derivados da mioglobina (Honikel, 2008; Livingston & Brown, 1981; Ramos & Gomide, 2007), tenham protegido a perda de pigmentos heme durante o cozimento. Clark, Mahoney & Carpenter (1997) reportaram que o conteúdo de ferro heme em produtos cárneos reduz com o cozimento, sendo esta redução atribuída à quebra do grupo heme em íons ferro e porfirina (Ahn, Wolfe & Sim, 1993).

Comportamento distinto foi observado quando as amostras foram irradiadas e depois cozidas, onde apenas o modelo estatístico do % PHN foi ajustado ($P < 0,05$), enquanto nenhum coeficiente de regressão foi significativo para os teores de PHT (Tabela 5).

A partir do modelo completo ajustado para % PHN foi possível construir a superfície de resposta em função dos níveis de nitrito e doses de irradiação (Figura 6). Observa-se que o percentual de pigmentos nitrosos permaneceu basicamente constante nas amostras não-irradiadas, não sendo afetado pelo teor de NO_2 adicionado. A presença de pigmentos nitrosos em amostras não adicionadas de NO_2 se deve, provavelmente, a uma contaminação natural de NO_2 ou NO_3 na água da formulação ou nos ingredientes utilizados, especialmente nas especiarias, conforme reportado por Honikel (2008) ao reportar dados de trabalhos que avaliaram o teor de nitrito residual em produtos comerciais.

Diferentemente do observado para o tratamento Coz/Irrad, a irradiação teve efeito significativo nos valores de %PHN das amostras irradiadas antes do cozimento. Essa diferença é explicada pela estabilidade dos pigmentos nitrosos presentes nos dois tratamentos. No tratamento Irrad/Coz as amostras são irradiadas cruas e, desta forma, o pigmento nitroso presente é a NOMb, cuja estabilidade química é inferior ao pigmento nitrosilhemocromo, formado com o cozimento da amostra (Honikel, 2008; Livingston & Brown, 1981; Ramos & Gomide, 2007) e, portanto, presente no tratamento Coz/Irrad.

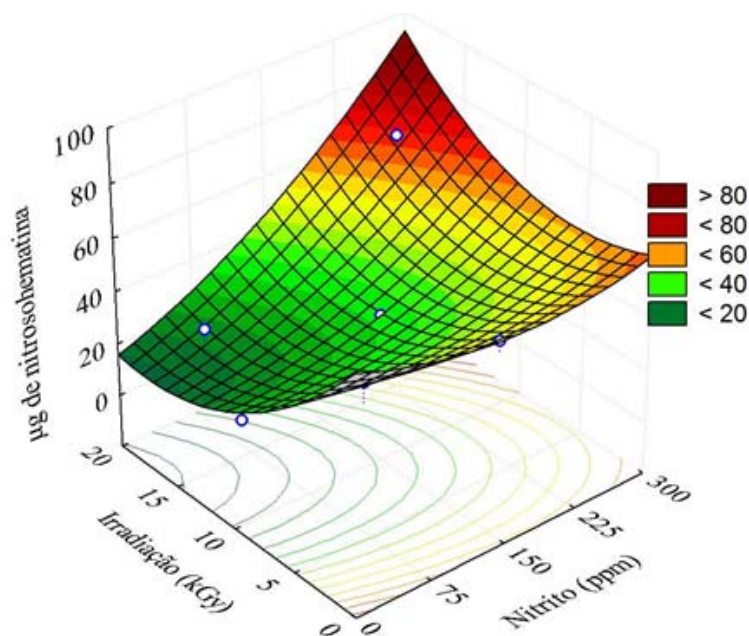


Figura 6 Efeitos dos níveis de nitrito e doses de irradiação gama no percentual de pigmentos heme nitrosos (%PHN) de mortadelas irradiadas e cozidas (Irrad/Coz).

Os efeitos observados para amostras irradiadas e cozidas podem ser explicados pelo comportamento observado nos valores de TBARS para este mesmo tratamento (Figura 4). Maiores valores de TBAR são indicativos de uma maior formação de radicais livres pela radiólise da água (Brewer, 2009), que podem interagir com os pigmentos nitrosos, contribuindo para a dissociação do NO e sua subsequente oxidação (Dutra, Ramos, Ramos, Fontes, Cardoso & Leal, 2011). Isto explica porque o teor de pigmentos nitrosos reduz com a aplicação de radiação gama até a dose de 10 kGy e, a partir daí, passa a aumentar, especialmente nas amostras que contêm maiores teores de NO_2 adicionado.

3.5 Cor

Os coeficientes de regressão e a análise de variância dos modelos matemáticos codificados para a luminosidade (L^*), índice de vermelho (a^*), índice de amarelo (b^*) e tonalidade (h^*) das mortadelas cozidas e irradiadas (Coz/Irrad) são descritos na Tabela 6. Dentre os índices de cor, apenas para a saturação (C^*) o modelo completo ($P = 0,6891$; $R^2 = 0,5525$) e nenhum dos coeficientes de regressão ($P > 0,10$) foram significativos, apresentando valores médios de $18,64 \pm 0,93$.

Para a luminosidade (L^*), apenas o coeficiente linear para a variável NO_2 foi significativo ($P < 0,05$), não sendo possível, no entanto, ajustar ($P = 0,1641$) um modelo matemático que descrevesse este comportamento. Entretanto, uma vez que o coeficiente observado foi negativo, pressupõe-se que maiores quantidades de NO_2 implicam em menores valores de L^* e, portanto, em mortadelas mais escuras. Shahidi & Pegg. (1990) e Dutra, Ramos, Ramos, Fontes, Cardoso & Leal (2011) também observaram menores valores de L^* para amostras adicionadas de NO_2 em relação ao controle (amostras não curadas). Entretanto, Dutra, Ramos, Ramos, Fontes, Cardoso & Leal (2011) não observaram diferenças nos valores de L^* entre amostras com 75 e 150 ppm de NO_2 .

Tabela 6 Coeficientes de regressão (CR) e erro padrão (EP) dos modelos matemáticos polinomiais para aluminosidade (L*), índices de vermelho (a*) e de amarelo (b*) e tonalidade (h*) das mortadelas cozidas e irradiadas (Coz/Irrad)

	L*		a*		b*		h*	
	CR	EP	CR	EP	CR	EP	CR	EP
Constante	58,6531	0,6505	10,0009	0,5068	13,2657	0,5134	53,0151	0,3755
NO ₂	-1,6292*	0,3989	2,7024**	0,3108	-1,2791*	0,3148	10,1698***	0,2303
NO ₂ X NO ₂	1,1551	0,4760	1,6264**	0,3709	0,8793	0,3757	6,5467***	0,2748
Irrad	0,6947	0,3989	-0,6191	0,3108	-0,1013	0,3148	1,4154**	0,2303
Irrad X Irrad	-0,5425	0,4760	1,0697	0,3709	0,0745	0,3757	-2,7737***	0,2748
NO ₂ XIrrad	0,0675	0,5633	0,0900	0,4389	0,3825	0,4446	0,3300	0,3252
R ²	0,7658		0,8961		0,8966		0,9377	
<i>P-valor</i>								
<u>Regressão</u>	0,1641		0,0452		0,1891		0,0019	
<u>LOF</u>	0,3149		0,2114		0,8763		0,0157	

NO₂= nitrito; Irrad = Irradiação; LOF = falta de ajuste.

***P<0,01; **P<0,05; *P<0,10.

Para a irradiação, os resultados encontrados para L^* no presente experimento são consistentes com os de vários outros trabalhos que também não relataram nenhum efeito da irradiação sobre os valores de L^* para diferentes tipos de produtos. Dutra, Ramos, Ramos, Fontes, Cardoso & Leal (2011) reportaram nenhum efeito da aplicação de irradiação (7,5 e 15 kGy) sobre os valores de L^* de mortadelas. Já em presuntos cozidos, Houser, Sebranek & Lonergan (2003) não observou nenhuma diferença nos valores de L^* com a irradiação (4,5 kGy), enquanto Byun Lee, Yook, Lee & Kim (2002) reportaram uma pequena redução nas amostras irradiadas a 5 kGy.

A partir dos coeficientes do modelo completo, foi possível construir a superfície de resposta para o índice de vermelho (a^*) em função dos níveis de nitrito e doses de irradiação, sendo representada na Figura 7. Entre as variáveis estudadas, claramente o maior efeito foi devido à adição de NO_2 . O aumento do valor de a^* com maiores adições de NO_2 está de acordo com os maiores valores de pigmentos heme totais observados nas mortadelas deste tratamento.

A aplicação da irradiação induziu pequenas mudanças nos valores de a^* , o que se assemelha aos estudos realizados por Shahidi, Pegg & Shamsuzzaman (1991) e Dutra, Ramos, Ramos, Fontes, Cardoso & Leal (2011) que não observaram nenhum efeito da irradiação sobre os valores de a^* de produtos curados. Por outro lado, vários trabalhos (Ahn, Jo, Lee, Kim, Kim & Byun; Ahn, Kim, Jo, Lee, Yook, Kim & Byun, 2004b; Houser, Sebranek, Maisonet, Cordray, Ahn & Dixon, 2005; Jo, Ahn, Son, Lee & Byun, 2003; Kamarei & Karel, 1983) reportaram uma redução no índice a^* de produtos cárneos curados irradiados, sendo esta redução foi atribuída à dissociação do NO do pigmento nitroso e subsequente formação de metamioglobina, de cor marrom. No entanto, a irradiação não causou nenhum efeito nos valores percentuais de pigmentos heme nitrosos (Tabela 4) e, portanto, a pequena mudança nos valores de a^* com a irradiação não pode ser atribuída à oxidação dos pigmento nitrosos. Ainda,

deve-se considerar que mudanças na cor vermelha de produtos cárneos irradiados são dependentes de vários fatores, tais como dose de irradiação aplicada, espécie animal e tipo de músculo (associado à quantidade de pigmentos heme) usado, tipo de produto (emulsionado, fermentado, etc), ingredientes e aditivos da formulação e, conforme já mencionado, sistema de embalagem durante a irradiação (Shahidi, Pegg & Shamsuzzaman, 1991; Ahn, Jo, Lee, Kim, Kim & Byun, 2003a; Jo, Ahn, Son, Lee & Byun, 2003; Dutra, Ramos, Ramos, Fontes, Cardoso & Leal, 2011).

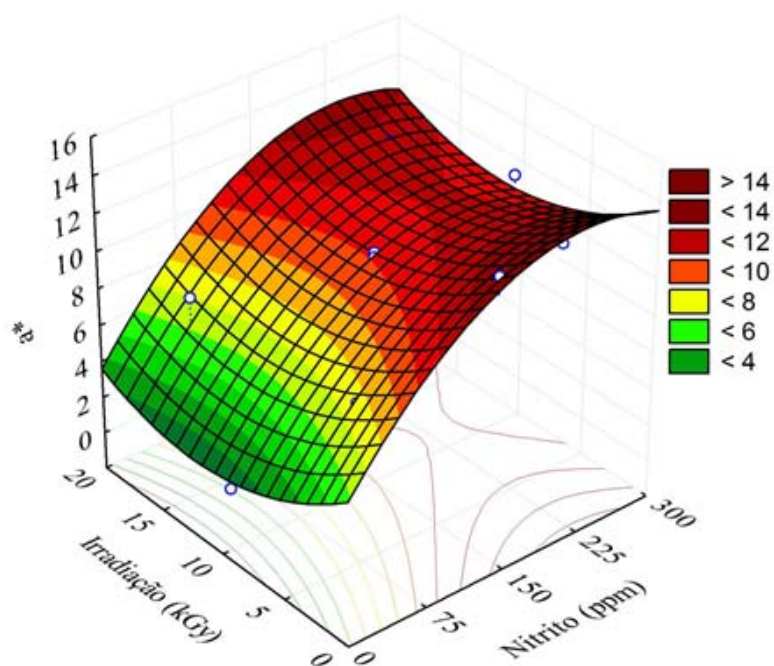


Figura 7 Efeitos dos níveis de nitrito e doses de irradiação gama nos valores de índice de vermelho (a^*) de mortadelas cozidas e irradiadas (Coz/Irrad).

Para o índice de amarelo (b^*), apesar do coeficiente linear para NO_2 ter sido significativo ($P = 0,1891$; $R^2 = 0,8966$), não foi possível ajustar um modelo matemático ($P > 0,05$) utilizando apenas este coeficiente. No entanto, uma vez que o coeficiente de regressão foi negativo, pode-se considerar que os valores de b^* reduzem para maiores adições de NO_2 .

Os valores de a^* e b^* são chamados índices de cromaticidade e embora sejam associados à cor vermelha e amarela, respectivamente, são na verdade coordenadas, que juntos descrevem a cor real dos alimentos, ou seja, a sua tonalidade (h^*) (Ramos & Gomide, 2007). Para as mortadelas cozidas e irradiadas (Coz/Irrad) os valores de h^* foram significativamente ($P = 0,0019$) descritos pelo modelo completo (Tabela 6), sendo representado pela curva de superfície de resposta da Figura 8. Pode-se observar que tanto a irradiação quanto a adição de NO_2 interferiram na tonalidade da cor do produto. Maiores adições de NO_2 implicam em menores valores de h^* , o que corresponde a uma amostra mais avermelhada (Ramos & Gomide, 2007). Esta redução ocorre até 225 ppm de adição nas amostras não irradiadas, quando os valores de h^* tornam-se constante. Entretanto, nas amostras irradiadas, maiores doses de irradiação implicam em maiores valores de h^* até um máximo em 10 kGy, quando maiores doses implicam na redução de h^* para os valores iniciais. Interessante observar que, nas amostras irradiadas com 10 kGy, também há uma redução nos valores de h^* com a adição de NO_2 mas esta redução ocorre apenas nas amostras com quantidades menores que 100 ppm de adição.

Reduções nos valores de a^* e aumento nos valores de b^* , com consequente aumento da tonalidade (h^*), foram relatados por Sheridan, O'Farrell, Lewis, Flanagan, Kerry & Jackman (2007) e Ramos & Gomide (2007) como indicativos da descoloração da cor curada (*fading*) e, neste caso, demonstram as diferenças de cor entre os produtos.

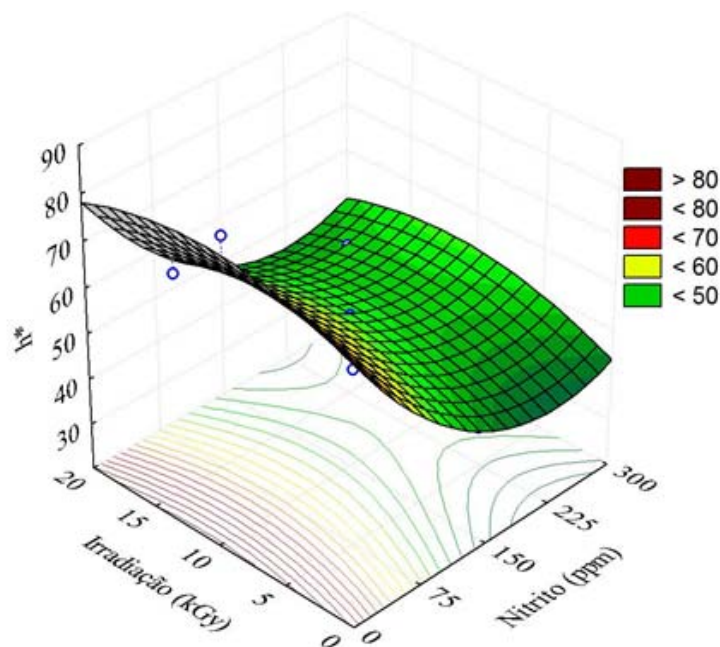


Figura 8 Efeitos dos níveis de nitrito e doses de irradiação gama nos valores de ângulo de tonalidade (h^*) de mortadelas cozidas e irradiadas (Coz/Irrad).

Da mesma forma que no tratamento Coz/Irrad, não foi possível ajustar o modelo completo ($P = 0,7399$; $R^2 = 0,5506$) e nenhum dos coeficientes de regressão ($P > 0,10$) foram significativos para o índice de saturação ($C^* = 16,68 \pm 0,55$) das amostras irradiadas e cozidas (Irrad/Coz). Já os coeficientes de regressão e a análise de variância dos modelos matemáticos codificados para os índices de cor luminosidade (L^*), índice de vermelho (a^*), índice de amarelo (b^*) e tonalidade (h^*) das mortadelas deste tratamento são descritos na Tabela 7. Ainda da mesma forma que observado para o tratamento Coz/Irrad, não foi possível ajustar ($P = 0,3137$; $R^2 = 0,4524$) o modelo matemático a partir dos coeficientes significativos para descrever as alterações em L^* das mortadelas

irradiadas e cozidas. Entretanto, apenas a irradiação afetou, através do coeficiente quadrático, a luminosidade das amostras. Já para os valores de a^* , apenas o coeficiente linear da variável NO_2 teve efeito, podendo ser ajustado ($P = 0,0483$) um modelo matemático codificado ($a^* = 10,6209 + 1,3227.X_1$; $R^2 = 0,3289$). De forma similar ao tratamento Coz/Irrad, maiores quantidades de NO_2 implicou em maiores valores de a^* . No entanto, este aumento não pode ser atribuído ao teor de PHT, mas sim a um pequeno aumento observado no teor de pigmentos heme nitrosos (%PHN, Figura 3).

As alterações observadas no %PHN devido à irradiação (Figura 3) também induziram a mudanças nos índices de cromaticidade da amostra, porém apenas para os valores de b^* (Tabela 7).

A partir dos coeficientes significativos, foi possível ajustar ($P = 0,0485$) um modelo para as variáveis codificadas ($b^* = 12,2779 - 0,3678.X_1 + 0,5696.X_1^2 + 0,3856.X_2$; $R^2 = 0,4794$), construindo a superfície de resposta em função dos níveis de nitrito e doses de irradiação descrita na Figura 9.

Tabela 7 Coeficientes de regressão (CR) e erro padrão (EP) dos modelos matemáticos polinomiais para a luminosidade (L*), índices de vermelho (a*) e de amarelo (b*) e tonalidade (h*) das mortadelas irradiadas e cozidas (Irrad/Coz)

	L*		a*		b*		h*	
	CR	EP	CR	EP	CR	EP	CR	EP
Constante	54,3239	0,6944	10,9581	0,4918	12,2596	0,1545	48,9747	0,5477
NO ₂	0,3052	0,4258	1,3227**	0,3016	-0,3678*	0,0948	3,1011**	0,3359
NO ₂ X NO ₂	0,3608	0,5081	-1,0285	0,3599	0,5753**	0,1131	1,9550**	0,4008
Irrad	0,0197	0,4258	-0,2971	0,3016	0,3856*	0,0948	0,1340	0,3359
Irrad X Irrad	1,6887*	0,5081	0,5635	0,3599	0,0195	0,1131	1,8199**	0,4008
NO ₂ XIrrad	-0,2975	0,6013	0,1175	0,4259	-0,1100	0,1338	-1,3050	0,4744
R ²	0,4524		0,5939		0,4851		0,7054	
<i>P-valor</i>								
<u>Regressão</u>	<i>0,3137</i>		<i>0,1452</i>		<i>0,0810</i>		<i>0,0355</i>	
<u>LOF</u>	<i>0,2013</i>		<i>0,1236</i>		<i>0,0467</i>		<i>0,0458</i>	

NO₂= nitrito; Irrad = Irradiação; LOF = falta de ajuste.

***P<0,01; ** P<0,05; *P<0,10.

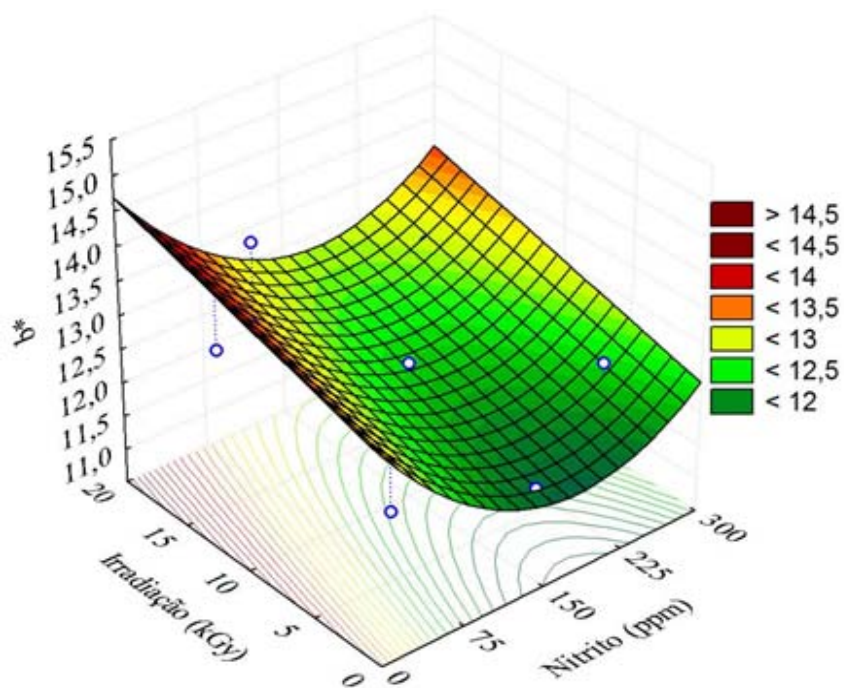


Figura 9 Efeitos dos níveis de nitrito e doses de irradiação gama nos índices de amarelo (b^*) de mortadelas irradiadas e cozidas (Irrad/Coz).

Maiores valores de b^* com maiores doses de irradiação são coerentes, uma vez que a irradiação induz a radiólise da água, formando radicais livres que podem interagir com os pigmentos nitrosos, contribuindo para a dissociação do NO e sua subsequente oxidação (Brewer, 2009; Dutra, Ramos, Ramos, Fontes, Cardoso & Leal, 2011), ou seja, aumentando os valores de b^* . Embora para valores acima de 150 ppm de NO_2 o comportamento não seja condizente com o aumento observado no %PHN para maiores doses de irradiação (Figura 3), as mudanças ocorridas nos índices de cromaticidade (a^* e b^*) em conjunto explicam este comportamento.

Embora os índices de cromaticidade tenham sido afetados de forma distinta nos dois tratamentos (Coz/Irrad e Irrad/Coz), as mudanças na tonalidade (h^*) e, portanto, na cor final das amostras foram similares, conforme pode-se observar na Figura 10, construída a partir do modelo completo ajustado (Tabela 7) para os valores de h^* das mortadelas irradiadas e cozidas.

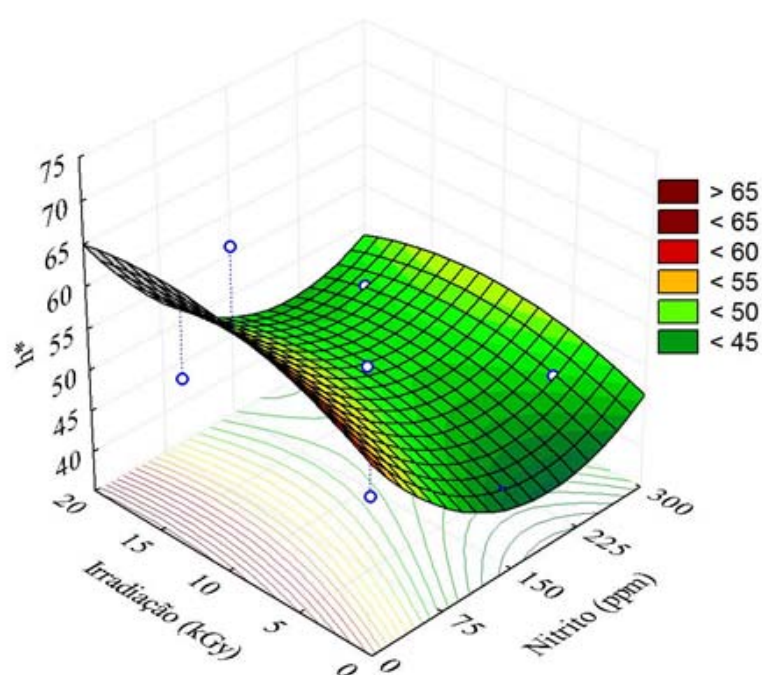


Figura 10 Efeitos dos níveis de nitrito e doses de irradiação gama nos valores de ângulo de tonalidade (h^*) de mortadelas irradiadas e cozidas (Irrad/Coz).

Apesar do comportamento similar, a tonalidade das amostras irradiadas e cozidas quando pequenas quantidades de NO_2 foram adicionadas foram menores do que nas amostras cozidas e irradiadas. Para quantidades acima de 100 ppm,

no entanto, a tonalidade das amostras dos diferentes tratamentos (Coz/Irrad e Irrad/Coz) praticamente não diferem.

Os valores de luminosidade (L^*) e tonalidade (h^*) de ambos os tratamentos foram afetados pelas variáveis doses de irradiação e, especialmente, quantidade de NO_2 utilizada na formulação. Isto contradiz a observação de Byun Lee, Yook, Lee & Kim (2002) de que a cor desejada em produtos curados (no caso presuntos cozidos) poderia ser obtida pela irradiação gama sem a adição de NO_2 na formulação. Jo, Ahn, Son, Lee & Byun (2003) e Dutra, Ramos, Ramos, Fontes, Cardoso & Leal (2011) também relataram alterações deletérias na cor de embutidos emulsionados não curados quando irradiados.

Embora um pequeno aumento tenha sido observado nos valores de tonalidade das amostras, os resultados do presente experimento corroboram a observação de Dutra, Ramos, Ramos, Fontes, Cardoso & Leal (2011) de que a adição de 75 ppm NO_2 é suficiente para manter a cor curada de mortadelas, mesmo com a aplicação de altas doses de irradiação.

5. CONCLUSÃO

A quantidade de nitrito adicionado teve mais efeito que as doses de irradiação gama nos parâmetros tecnológicos e de qualidade estudados, reduzindo, na maioria dos casos, os possíveis efeitos deletérios da irradiação a doses tão elevadas quanto 20 kGy. O processo irradiação/cozimento implicou em menores níveis de nitrito residual, maior índice de vermelho (a^*), menor índice de amarelo (b^*), maior quantidade de pigmentos heme totais, menor quantidade de pigmentos heme nitrosos, menor índice de TBARS e menor índice de peróxidos. Apesar dos resultados para aplicação da irradiação antes do cozimento terem sido melhores, não justificam a alteração da tecnologia.

6. AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG) pelo apoio financeiro à execução do projeto e à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela bolsa de doutorado conferida ao primeiro autor.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Ahn, D. U., Olson, D. G., Jo, C., Love, J., & Jin, S. K. (1999). Volatiles production and lipid oxidation in irradiated cooked sausage as related to packaging and storage. *Journal of Food Science*, 64(2), 226-229.

Ahn, D. U., Wolfe, F. H., & Sim, J. S. (1993). Three methods for determining nonheme iron in turkey meat. *Journal of Food Science*, 58, 289-291.

Ahn, H.-J., Jo, C., Lee, J.-W., Kim, J.-H., Kim, K.-H., & Byun, M.-W. (2003a). Irradiation and Modified Atmosphere Packaging Effects on Residual Nitrite, Ascorbic Acid, Nitrosomyoglobin, and Color in Sausage. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(5), 1249-1253.

Ahn, H. J., Jo, C., Lee, J. W., Kim, J. H., Kim, K. H., & Byun, M. W. (2003b). Irradiation and modified atmosphere packaging effects on residual nitrite, ascorbic acid, nitrosomyoglobin, and color in sausage. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(5), 1249-1253.

Ahn, H. J., Jo, C. R., Kim, J. H., Chung, Y. J., Lee, C. H., & Byun, M. W. (2002a). Monitoring of nitrite and N-Nitrosamine levels in irradiated pork sausage. *Journal of Food Protection*, 65(9), 1493-1497.

Ahn, H. J., Kim, J. H., Jo, C., Lee, C. H., & Byun, M. W. (2002b). Reduction of carcinogenic N-nitrosamines and residual nitrite in model system sausage by irradiation. *Journal of Food Science*, 67(4), 1370-1373.

Ahn, H. J., Kim, J. H., Jo, C., Lee, J. W., Yook, H. S., & Byun, M. W. (2004a). Effects of gamma irradiation on residual nitrite, residual ascorbate, color, and N-nitrosamines of cooked sausage during storage. *Food Control*, 15(3), 197-203.

Ahn, H. J., Kim, J. H., Jo, C., Lee, J. W., Yook, H. S., Kim, H. Y., & Byun, M. W. (2004b). Combined effects of gamma irradiation and a modified atmospheric packaging on the physicochemical characteristics of sausage. *Radiation Physics and Chemistry*, 71(1-2), 51-54.

Ahn, H. J., Kim, J. H., Jo, C., Yook, H. S., & Byun, M. W. (2003c). Radiolytic characteristics of nitrite by gamma irradiation. *Food Chemistry*, 82(3), 465-468.

Ahn, H. J., Kim, J. H., Jo, C. R., Lee, J. W., Yook, H. S., Kim, H. Y., & Byun, M. W. (2004c). Combined effects of gamma irradiation and a modified atmospheric packaging on the physicochemical characteristics of sausage. vol. 71 (pp. 53-56).

Ahn, H. J., Yook, H. S., Rhee, M. S., Lee, C. H., Cho, Y. J., & Byun, M. W. (2002c). Application of gamma irradiation on breakdown of hazardous volatile N-nitrosamines. *Journal of Food Science*, 67(2), 596-599.

AOAC (1996). *Official methods of analysis*. Washington D.C.: Association of Official Analytical Chemists.

Araújo, J. M. (2011). *Química de Alimentos - Teoria e Prática*. Viçosa.

Brewer, M. S. (2009). Irradiation effects on meat flavor: A review. *Meat Science*, 81(1), 1-14.

Byun, M. W., Lee, J. W., Yook, H. S., Lee, K. H., & Kim, H. Y. (2002). Improvement of shelf stability and processing properties of meat products by gamma irradiation. *Radiation Physics and Chemistry*, 63(3-6), 361-364.

Byun, M. W., Lee, J. W., Yook, H. S., Lee, K. H., & Kim, K. P. (1999). The improvement of color and shelf life of ham by gamma irradiation. *Journal of Food Protection*, 62(10), 1162-1166.

Byun, M. W., Lee, J. W., Yook, H. S., Lee, K. H., Kim, S., Kim, W. J., & Kim, K. S. (2000). Effect of gamma irradiation on the raw meat in Bologna sausage production. *International Journal of Food Science and Technology*, 35(6), 599-601.

Cammack, R., Joannou, C. L., Cui, X. Y., Torres Martinez, C., Maraj, S. R., & Hughes, M. N. (1999). Nitrite and nitrosyl compounds in food preservation. *Biochimica et Biophysica Acta - Bioenergetics*, 1411(2-3), 475-488.

- Cassens, R. G. (1995). Use of sodium-nitrite in cured meats today. *Food Technology*, 49(7), 72-80.
- Cassens, R. G. (1997). Residual nitrite in cured meat. *Food Technology*, 51(2), 53-55.
- Cava, R., Tarrega, R., Ramirez, M. R., Mingoarranz, F. J., & Carrasco, A. (2005). Effect of irradiation on colour and lipid oxidation of dry-cured hams from free-range reared and intensively reared pigs. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 6(2), 135-141.
- Cava, R., Tarrega, R., Ramirez, M. R., Mingoarranz, F. J., & Carrasco, A. (2005). Effect of irradiation on colour and lipid oxidation of dry-cured hams from free-range reared and intensively reared pigs. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 6(2), 135-141.
- Chouliara, I., Samelis, J., Kakouri, A., Badeka, A., Savvaidis, I. N., Riganakos, K., & Kontominas, M. G. (2006). Effect of irradiation of frozen meat/fat trimmings on microbiological and physicochemical quality attributes of dry fermented sausages. *Meat Science*, 74(2), 303-311.
- Clark, E. M., Mahoney, A. W., & Carpenter, C. E. (1997). Heme and Total Iron in Ready-to-Eat Chicken. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45(1), 124-126.
- Dong, Q. L., Tu, K., Guo, L. Y., Yang, J. L., Wang, H., & Chen, Y. Y. (2007). The effect of sodium nitrite on the textural properties of cooked sausage during cold storage. *Journal of Texture Studies*, 38, 537-554.
- Du, M., & Ahn, D. U. (2002). Effect of antioxidants on the quality of irradiated sausages prepared with turkey thigh meat. *Poultry Science*, 81(8), 1251-1256.
- Du, M., Ahn, D. U., Nam, K. C., & Sell, J. L. (2000). Influence of dietary conjugated linoleic acid on volatile profiles, color and lipid oxidation of irradiated raw chicken meat. *Meat Science*, 56(4), 387-395.
- Du, M., Hur, S. J., & Ahn, D. U. (2002). Raw-meat packaging and storage affect the color and odor of irradiated broiler breast fillets after cooking. *Meat Science*, 61(1), 49-54.
- Dutra, M. P., Ramos, E. M., Ramos, A. L. S., Fontes, P. R., Cardoso, G. P., & Leal, A. S. (2011). Radiação gama e tempo de armazenamento sobre a oxidação

lipídica, cor objetiva, pigmentos heme e nitrito residual de mortadelas elaboradas com diferentes níveis de nitrito. *Ciencia Rural*, 41(12), 2203-2209.

Dutra, M. P., Ramos, E. M., Ramos, A. d. L. S., Fontes, P. R., Cardoso, G. P., & Leal, A. S. (2011). Radiação gama e tempo de armazenamento sobre a oxidação lipídica, cor objetiva, pigmentos heme e nitrito residual de mortadelas elaboradas com diferentes níveis de nitrito. *Ciencia Rural*, 41(12), 2203-2209.

Eichholzer, M., & Gutzwiller, F. (2003). Dietary nitrates, nitrites, and N-nitroso compounds and cancer risk with special emphasis on the epidemiological evidence. *Food Safety. Contaminants and Toxins*, 271.

Fan, X., Sommers, C. H., & Sokorai, K. J. B. (2004). Ionizing Radiation and Antioxidants Affect Volatile Sulfur Compounds, Lipid Oxidation, and Color of Ready-to-Eat Turkey Bologna. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(11), 3509-3515.

Fiddler, W., Gates, R. A., Pensabene, J. W., Phillips, J. G., & Wierbicki, E. (1981). Investigations on nitrosamines in irradiation-sterilized bacon. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 29(3), 551-554.

Gay, C. A., & Gebicki, J. M. (2002). Perchloric acid enhances sensitivity and reproducibility of the ferric-xylenol orange peroxide assay. *Analytical Biochemistry*, 304(1), 42-46.

Honikel, K.-O. (2008). The use and control of nitrate and nitrite for the processing of meat products. *Meat Science*, 78(1-2), 68-76.

Hornsey, H. C. (1956). The Colour of Cooked Cured Pork. I - Estimation of the Nitric oxide-Haem Pigments. *Journal of the Science Food and Agriculture*, 7, 534-540.

Houser, T. A., Sebranek, J. G., & Lonergan, S. M. (2003). Effects of irradiation on properties of cured ham. *Journal of Food Science*, 68(7), 2362-2365.

Houser, T. A., Sebranek, J. G., Maisonet, W. N., Cordray, J. C., Ahn, D. U., & Dixon, P. M. (2005). Irradiation-induced cured ham color fading and regeneration. *Journal of Food Science*, 70(4), C281-C285.

Jo, C., Ahn, H. J., Son, J. H., Lee, J. W., & Byun, M. W. (2003). Packaging and irradiation effect on lipid oxidation, color, residual nitrite content, and nitrosamine formation in cooked pork sausage. *Food Control*, 14(1), 7-12.

Jo, C., Jin, S. K., & Ahn, D. U. (2000). Color changes in irradiated cooked pork sausage with different fat sources and packaging during storage. *Meat Science*, 55(1), 107-113.

Jo, C., Lee, J. I., & Ahn, D. U. (1999). Lipid oxidation, color changes and volatiles production in irradiated pork sausage with different fat content and packaging during storage. *Meat Science*, 51(4), 355-361.

Kamarei, A. R., & Karel, M. (1983). Effects of ionizing radiation on nitric oxide myoglobin. Part 1. Effects on the NO-haem moiety. *International Journal of Radiation Biology*, 44(2), 123-134.

Kolodziejska, I., Skonieczny, S., & Rubin, L. J. (1990). Malondialdehyde nitrite interactions in meat and model systems. *Journal of Food Science*, 55, 925-928.

Livingston, D. J., & Brown, W. D. (1981). The chemistry of myoglobin and its reactions. *Food Technology*, 35(5), 244-252.

Nam, K. C., & Ahn, D. U. (2002). Carbon monoxide-heme pigment complexes are responsible for the pink color in irradiated raw turkey breast meat. *Meat Science*, 60, 25-33

Ostdal, H., Skibste, L. H., & Andersen, H. J. (1997). Formation of long-lived protein radicals in the reaction between H₂O₂-activated metmyoglobin and other proteins. *Free Radical Biological Medicine*, 23, 754-761.

Pegg, R. B., & Shahidi, F. S. (2000). *Nitrite curing of meat: the N-nitrosamine problem and nitrite alternatives*. Trumbull, USA: Wiley-Blackwell.

Pérez-Rodríguez, M. L. B.-B., N.; García-Mata, M. (1996). Monitoring nitrite and nitrate residues in frankfurters during processing and storage. *Meat Science*, 44(1-2), 65-73.

Raharjo, S., Sofos, J. N., & Schmidt, G. R. (1992). 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*, 40(11), 2182-2185.

Ramos, E. M., & Gomide, L. A. M. (2007). *Avaliação da Qualidade de Carnes: Fundamentos e Metodologias*. Viçosa: Editora UFV.

- Rodrigues, M. I., & Iemma, A. F. (2005). *Planejamento de experimentos e otimização de processos: uma estratégia seqüencial de planejamentos*. . Campinas: Editora Casa do Pão.
- Rywotycki, R. (2002). The effect of selected functional additives and heat treatment on nitrosamine content in pasteurized pork ham. *Meat Science*, 60(4), 335-339.
- Sebranek, J. G., Sewalt, V. J. H., Robbins, K. L., & Houser, T. A. (2005). Comparison of a natural rosemary extract and BHA/BHT for relative antioxidant effectiveness in pork sausage. *Meat Science*, 69(2), 289-296.
- Shahidi, F., & Pegg, R. B. (1990). Colour characteristics of cooked cured-meat pigment and its application to meat. *Food Chemistry*, 38(1), 61-68.
- Shahidi, F., Pegg, R. B., & Shamsuzzaman, K. (1991). Color and Oxidative Stability of Nitrite-Free Cured Meat after Gamma Irradiation. *Journal of Food Science*, 56(5), 1450-1452.
- Sheridan, C., O'Farrell, M., Lewis, E., Flanagan, C., Kerry, J., & Jackman, N. (2007). A comparison of CIE L*a*b* and spectral methods for the analysis of fading in sliced cured ham. *Journal of Optics A: Pure and Applied Optics*, 9(6).
- Simie, M. C. (1983). Radiolysis of aqueous components of food. *Preservation of Food by Ionizing Radiation*, 2, 8.
- Terrell, R. N., Heiligman, F., Smith, G. C., Wierbicki, E., & Carpenter, Z. L. (1981). Effects of sodium nitrite, sodium nitrate and dl, alpha-tocopherol on properties of irradiated frankfurters. *Journal of Food Protection*, 44, 414-417.
- Townsend, W. E., & Olson, D. G. (1994). Las carnes curadas y su procesado. *Ciencia de La Carne y de Los Productos Carnicos*, 393-455.
- Wolff, S. P. (1994). Ferrous Oxidation in presence of ferric ion indicator xylenol orange for measurement of hydroperoxides. *Methods in Enzymology*, 233, 182-189.

ARTIGO 3

Artigo redigido conforme a norma da revista Ciência Rural
“Versão Preliminar”

Efeito da radiação gama na textura de mortadelas formuladas com diferentes níveis de nitrito

Sodium nitrite and gamma radiation effect on textural properties of cooked Bologna-type sausage

Monalisa Pereira Dutra^a, Eduardo Mendes Ramos^{a*}, Alcinéia de Lemos Souza Ramos^a, Carolina Aroeira^a, Marcio Tadeu Pereira^b, José Luis Contado^a

^aDepartamento de Ciência dos Alimentos (DCA), Universidade Federal de Lavras (UFLA), 37200-000, Caixa postal 3037, Lavras, MG, Brazil.

^bCentro de Desenvolvimento da Tecnologia Nuclear (CDTN), Comissão Nacional de Energia Nuclear (CNEN), 30123-970, Belo Horizonte, MG, Brasil.

*Autor para correspondência. Tel.: +55-35-3829-1403; Fax: +55-35-3829-1401; E-mail: emramos@dca.ufla.br.

RESUMO

Este experimento foi conduzido para estudar os efeitos da aplicação de diferentes doses de irradiação gama (0 a 20 kGy) nos atributos de textura de mortadelas elaboradas com níveis crescentes de nitrito (0 a 300 ppm) durante o armazenamento sob refrigeração, bem como o efeito da ordem do processo de cozimento e irradiação. Tais informações são importantes para determinar o potencial da utilização da radiação gama na redução dos níveis de nitrito em produtos cozidos, sem sacrificar a segurança e qualidade dos produtos

elaborados. Os produtos cozidos/irradiados e irradiados/cozidos resultantes destes tratamentos foram avaliados apenas 48 horas após o processamento quanto a composição centesimal, atividade de água e Análise de Perfil de Textura. Para sua execução, foi utilizado um delineamento composto central rotacional (DCCR). Para a atividade de água (Aa), apenas o modelo matemático codificado para as mortadelas cozidas e irradiadas foi significativamente adequado ($P < 0,05$). Para os atributos de textura das amostras, em ambos os tratamentos (Coz/Irrad e Irrad/Coz) não foi possível detectar o pico de fratura. Para os demais parâmetros de textura, apenas os modelos matemáticos do tratamento Coz/Irrad foram significativos ($P < 0,05$) para a dureza, coesividade, flexibilidade e mastigabilidade.

Palavras-chave: Análise de perfil de textura; produto emulsionado; composição centesimal.

ABSTRACT

This experiment was conducted to study the effects of different doses of gamma irradiation (0-20 kGy) in the texture attributes of mortadella prepared with increasing levels of nitrite (0 to 300 mg / kg) during storage under refrigeration, as well as the effect of order of the cooking process and irradiation. Such information is important in determining the potential use of gamma radiation in reducing the levels of nitrite in cooked products, without sacrificing safety and quality of products produced. Cooked products / irradiated and irradiated / cooked resulting from these treatments were evaluated only at time zero as the composition, water activity and Texture Profile Analysis. For its implementation, we used a central composite design rotacional (DCCR). For the water activity (Aw), only the encoded mathematical model for mortadella and cooked irradiated was significantly appropriate ($P < 0.05$). For texture attributes

of the samples in both treatments (Coz / Irrad and Irrad / Coz) could not detect the peak fracture. For other texture parameters, only the mathematical models of treatment Coz / Irrad were significant ($P < 0.05$) for hardness, cohesiveness, chewiness and flexibility.

Keywords: Texture Profile Analysis; emulsify-type sausage; chemical proximate analysis.

INTRODUÇÃO

Nitratos e nitritos são aditivos adicionados em produtos cárneos como conservantes, inibindo o crescimento de microrganismos deteriorantes e patogênicos, especialmente a multiplicação e produção de toxina do *Clostridium botulinum* (Cammack *et al.*, 1999). Além da ação antimicrobiana, os nitritos conferem a cor rósea e o sabor característicos de produtos curados, além de prevenir alterações desagradáveis oriundas da rancidez oxidativa dos lipídios (Pegg e Shahidi, 2000; Brewer, 2004). Entretanto, devido aos riscos da sua adição na formação de compostos N-nitrosos, reconhecidamente cancerígenos (Eichholzer e Gutzwiller, 2003), é que pesquisas têm sugerido formas alternativas para substituir ou, pelo menos, reduzir a quantidade de nitrito adicionada no processo de cura. Uma alternativa viável é o uso da radiação gama (Dutra *et al.*, 2011), capaz de induzir a radiólise do nitrito e das N-nitrosaminas (Ahn, Jo *et al.*, 2002; Ahn, Kim *et al.*, 2002), reduzindo a concentração destes componentes no produto final.

A resistência do uso de irradiação gama em produtos cárneos, no entanto, é devido à possibilidade de alterações indesejáveis nas suas características de qualidade. Os principais efeitos da radiação em alimentos são indiretos, atribuídos à ação de radicais hidroxílicos formados na radiólise da água constituinte (Thakur, B. R. e Singh, R. K. , 1994; Brewer, 2009). A reação

destes radicais com materiais orgânicos pode levar à alteração da estrutura molecular, o que pode alterar as propriedades funcionais de proteínas, com perda de textura, cor, capacidade emulsionante e de retenção de água, entre outros atributos de qualidade (Brewer, 2009). Da mesma forma, a adição de nitrito também pode influenciar a textura do produto final, uma vez que reage com resíduos de aminoácidos, formando ligações cruzadas entre as proteínas (Mohler e Scheerer, 1979). A textura é um dos principais parâmetros para a avaliação da qualidade (Ramos e Gomide, 2007), sendo que a aceitação dos consumidores para um determinado alimento é extremamente dependente das suas características estruturais (Dong *et al.*, 2007).

Nos últimos anos, houve muitos estudos sobre os efeitos da aplicação de irradiação na qualidade de produtos curados, principalmente no que diz respeito à cor (Jo *et al.*, 1999; Jo *et al.*, 2000; Byun *et al.*, 2002; Du e Ahn, 2002; Ahn *et al.*, 2003; Jo *et al.*, 2003; Ahn *et al.*, 2004; Cava *et al.*, 2005; Sebranek *et al.*, 2005; Chouliara *et al.*, 2006), oxidação lipídica (Ahn *et al.*, 1999; Jo *et al.*, 1999; Jo e Ahn, 2000; Sommers *et al.*, 2001; Byun *et al.*, 2002; Jo *et al.*, 2002; Sommers e Fan, 2002; Jo *et al.*, 2003; Cava *et al.*, 2005) e off-odor (Du e Ahn, 2002; Houser, Sebranek & Lonergan, 2003). Da mesma forma, vários estudos avaliaram os efeitos da adição de nitrito na qualidade microbiológica (Pierson e Smoot, 1982; Sanz *et al.*, 1998; Scannell *et al.*, 2001; Marco *et al.*, 2006; Bingol e Bostan, 2007), na cor (Pierson e Smoot, 1982; Kilic *et al.*, 2001; Deniz e Serdaroç§Lu, 2003; Moller *et al.*, 2003; Sindelar *et al.*, 2007), na ação antioxidante (Kanner *et al.*, 1984; Igene *et al.*, 1985; Morrissey e Tichivangana, 1985; Freybler *et al.*, 1993; Stevanovic' e Sentjurc, 2000) e de sabor (Olesen *et al.*, 2004; Sindelar *et al.*, 2007). Entretanto, poucos trabalhos relataram os efeitos da adição de nitrito (Dong *et al.*, 2007) ou da irradiação (Byun *et al.*, 2000) sobre a textura de produtos cárneos cozidos, não sendo encontrado

nenhum estudo que relatasse aos efeitos da concentração de nitrito e das doses de irradiação em conjunto.

Desta forma, objetivou-se avaliar os efeitos da aplicação, antes ou após o cozimento, de diferentes doses de irradiação gama nos atributos de textura de mortadelas elaboradas com diferentes níveis de nitrito.

MATERIAL E MÉTODOS

Os efeitos dos níveis de nitrito (0 a 300 ppm) e das doses de irradiação gama (0 a 20 kGy) e sua possível interação foram avaliados por um Delineamento Composto Central Rotacional (DCCR, *Central Composite Rotatable Design*), em um fatorial 2^2 , com 4 pontos fatoriais, 4 pontos axiais e 3 pontos centrais, totalizando 11 ensaios (Tabela 1), segundo Rodrigues e Iemma (2005).

A elaboração das mortadelas foi conduzida no Laboratório de Processamento de Carnes e Derivados do DCA/UFLA, seguindo a seguinte formulação: carnes de paleta bovina (57,5%); toucinho (14,5%); água/gelo (20,0%); sal (2,0%); fécula de mandioca (5,0%); ácido ascórbico (0,054%); polifosfato Fosmax 320 (0,5%; New Max Industrial, Americana, SP, Brazil) e condimento para mortadela 913 (0,5%; New Max Industrial, Americana, SP, Brazil). As matérias-primas cárneas foram obtidas no comércio local, em embalagens lacradas com selo de Inspeção Federal. As mortadelas foram elaboradas com a adição de diferentes níveis de nitrito de sódio, conforme previsto no delineamento estatístico (Tabela 1), sendo processadas em *cutter* KJ-10 (Jamar, Tapuá, SP, Brazil) e embutidas (gomos de ± 400 g) em tripa artificial de poliamida (65mm diâmetro, marca Casetech).

As mortadelas elaboradas foram divididas em dois lotes e submetidas a diferentes processos: cozimento e irradiação (Coz/Irrad), sendo os gomos

cozidos, refrigerados (4°C) por 24 horas, irradiados e novamente refrigerados (4°C) por 24 horas; e irradiação e cozimento (Irrad/Coz), sendo os gomos refrigerados (4°C) por 24 horas, irradiados, cozidos e novamente refrigerados (4°C) por 24 horas.

Tabela 1 Delineamento fatorial completo para os níveis de nitrito e doses de irradiação

Ensaio	Variáveis codificadas		Variáveis reais	
	X_1	X_2	Nitrito (ppm)	Irradiação (kGy)
1	-1	-1	43,6	2,9
2	1	-1	256,4	2,9
3	-1	1	43,6	17,1
4	1	1	256,4	17,1
5	-1,41	0	0,0	10,0
6	1,41	0	300,0	10,0
7	0	-1,41	150,0	0,0
8	0	1,41	150,0	20,0
9	0	0	150,0	10,0
10	0	0	150,0	10,0
11	0	0	150,0	10,0

As mortadelas foram cozidas por imersão em água até que a temperatura do ponto frio atingisse 73°C, quando foram mantidas em banho de água e gelo (0°C) por 10 minutos e estocadas em câmara fria (4°C). Os produtos, cozidos e não cozidos, foram acondicionados em caixas térmicas e submetidas a diferentes doses de irradiação, conforme o delineamento estatístico (Tabela 1), em Irradiador Gama GB-127 (IR-214; MDS Nordion; com fonte de cobalto-60 e taxa de 5 kGy/h), no Laboratório de Irradiação Gama do Centro de

Desenvolvimento da Tecnologia Nuclear (CDTN/CENEN). As amostras não irradiadas foram mantidas nas mesmas condições de temperatura e por períodos de tempo similares às irradiadas.

As mortadelas foram analisadas quanto à composição química, em triplicata, de acordo com os métodos oficiais da AOAC (2002): o teor de água foi determinado por secagem da amostra a 105 °C; proteína total pelo método de micro-Kjeldahl, usando um fator de 6,25; extrato etéreo, pelo método de Soxhlet; e cinzas, em mufla a 550 °C. A atividade de água foi determinada utilizando um aparelho modelo Aqualab CX2 (Decagon Devices Inc.).

A avaliação da textura foi conduzida pelo método de análise de perfil de textura (TPA), utilizando um texturômetro Texture Analyser TA.XT2i (Stable Micro Systems Ltd., Surrey, Inglaterra). Seis amostras (replicatas), cortadas em cubos de 1,0 cm de aresta, foram uniaxialmente comprimidas, uma velocidade de 180 mm/min., duas vezes até 50% de seu tamanho. Não houve tempo de repouso da amostra entre os dois ciclos de compressão. A curva de deformação com o tempo foi obtida, sendo gerados seis parâmetros de textura, segundo Ramos e Gomide (2007): fraturabilidade, dureza, coesividade, adesividade, flexibilidade e mastigabilidade.

Foi utilizado o Modelo de Superfície de Resposta para o estudo da avaliação simultânea das duas variáveis independentes (nitrito e irradiação), baseados em um delineamento DCCR com um total de 11 combinações (Tabela 1), realizado em ordem aleatória. Para cada variável experimental, a variância foi decomposta em componentes (linear, quadrático e interação), a fim de avaliar o ajuste da seguinte função polinomial de segunda ordem e a importância relativa de cada um deles:

$$Y = \beta_0 + \sum_{i=1}^2 \beta_i X_i + \sum_{i=1}^2 \beta_{ii} X_i^2 + \sum_{i=1}^2 \sum_{j=1}^2 \beta_{ij} X_i X_j$$

Em que Y é a resposta estimada; B_0 , B_i , B_{ii} e B_{ij} representam as constantes e coeficientes de regressão do modelo; e X_i , X_j e X_iX_j são os níveis das variáveis independentes linear, quadrática e interação, respectivamente.

A significância dos parâmetros da equação, para cada variável resposta, foi avaliada pelo teste F, utilizando o programa Statistica® 5.0 (StatSoft, Poland). Para a modelagem foi utilizado o erro puro avaliando o ajuste da regressão ao nível de 5% de probabilidade e a significância dos coeficientes ao nível de 10%, 5% e 1%. Na falta de ajuste do modelo completo para o desenvolvimento dos gráficos, foi feita a análise de regressão ($P < 0,05$) apenas para os coeficientes significativos.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Não foi possível ($P > 0,05$) ajustar os modelos matemáticos codificados para os valores do teor de água, proteínas totais, extrato etéreo e cinzas das mortadelas cozidas e irradiadas (Coz/Irrad) e irradiadas e cozidas (Irrad/Coz), sendo os valores médios descritos na Tabela 2.

Tabela 2 Estatística descritiva da composição química das mortadelas cozidas e irradiadas (Coz/Irrad) e irradiadas e cozidas (Irrad/Coz)

	Média	DP	Mínimo	Máximo
Coz/Irrad ($n = 11$)				
Teor de água (%)	67,40	0,54	66,49	68,17
Proteínas (%)	17,28	0,51	16,43	17,81
Gorduras (%)	11,72	1,07	10,12	13,50
Cinzas (%)	2,99	0,07	2,87	3,07
Irrad/Coz ($n = 11$)				
Teor de água (%)	67,24	0,88	66,20	68,57
Proteínas (%)	17,30	0,57	16,14	17,88
Gorduras (%)	11,44	1,09	9,47	12,73
Cinzas (%)	2,92	0,09	2,79	3,07

Para ambos os tratamentos (Coz/Irrad e Irrad/Coz), as amostras de mortadela apresentaram composição química aceitável pela legislação brasileira (Brasil, 2000), que preconiza valores máximos 65% para o teor de água e de 30% para a gordura e mínimos de 12% de proteína.

Para a atividade de água (Aa), apenas o modelo matemático codificado para as mortadelas cozidas e irradiadas foi significativamente adequado ($P < 0,05$), sendo os coeficientes de regressão e a análise de variância descritos na Tabela 2. A partir do modelo completo, foi construída uma superfície de resposta em função dos níveis de nitrito e doses de irradiação (Figura 1).

Tabela 2 Coeficientes de regressão (CR) e erro padrão (EP) para as variáveis codificadas dos modelos matemáticos polinomiais para os valores de atividade de água (Aa) das mortadelas cozidas e irradiadas (Coz/Irrad)

	Aa	
	CR	EP
Constante	0,9686**	0,0004
NO ₂	0,0026**	0,0003
NO ₂ X NO ₂	-0,0013*	0,0003
Irrad	-0,0016**	0,0003
Irrad X Irrad	0,0002	0,0003
NO ₂ XIrrad	0,0040***	0,0004
R ²	0,5830	
<i>P-valor</i>		
<u>Regressão</u>	0,0193	
<u>LOF</u>	0,0162	

NO₂= nitrito; Irrad = Irradiação; LOF = falta de ajuste.

*** $P < 0,01$; ** $P < 0,05$; * $P < 0,10$.

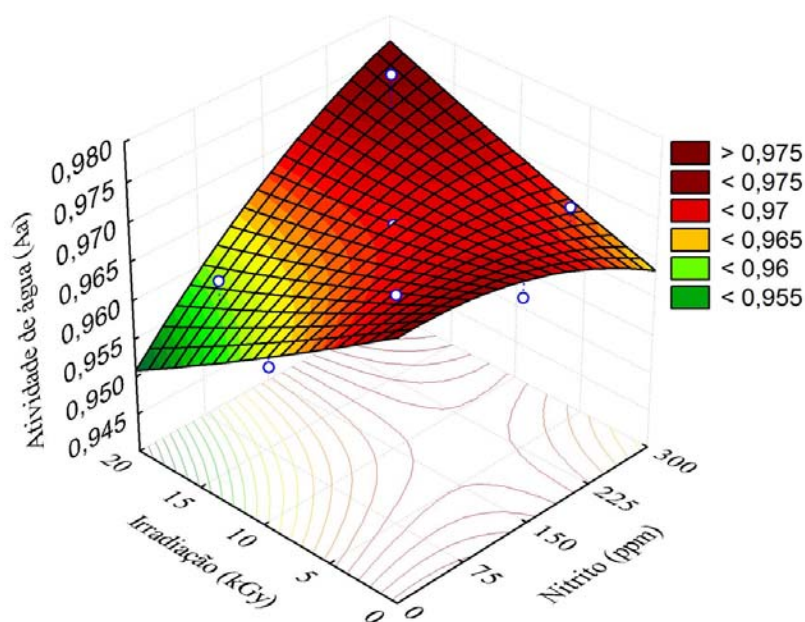


Figura 1 Efeitos dos níveis de nitrito e doses de irradiação gama nos valores de atividade de água (Aa) de mortadelas cozidas e irradiadas (Coz/Irrad).

Maiores efeitos foram observados para irradiação, porém houve uma forte interação com a quantidade de nitrito adicionada. Ambas as variáveis afetam a Aa possivelmente por também afetar as interações proteína-água.

Segundo Thakur & Singh (1994), a água quando irradiada pode sofrer radiólise (quebra de moléculas pela radiação) levando à sua ionização e conseqüentemente seu rearranjo eletrônico, o que pode ocasionar a produção de radicais livres e íons como radical hidroxil ($\bullet\text{OH}$), elétrons aquosos (e_{aq}), hidrogênio livre ($\bullet\text{H}$) e próton hidratado (H_3O^+). Interações com estes radicais livres podem aumentar a formação de peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e pode reagir com o O_2 dissolvido para formar radicais hidropoxi ($\text{ROO}\bullet$) em equilíbrio com radicais superóxido ($\bullet\text{O}_2^-$). Estes produtos primários da radiólise da água, por serem altamente reativos, interagem quimicamente entre si ou com

moléculas próximas (ácidos graxos, aminoácidos, compostos aromáticos, etc) e, como conseqüência, novas moléculas podem ser danificadas passando a disputar elétrons com o meio (Stewart, 2001). Desta forma, é provável que as moléculas de proteína tenham sido afetadas diretamente pela radiólise, ou pela reatividade dos radicais livres formados na radiólise da água, acarretando na alteração da proporção de água nas diversas camadas e conseqüente aumento da Aa das mortadelas. Este efeito foi mais pronunciado para maiores adições de nitrito, que pode reagir com resíduos de aminoácidos, formando ligações cruzadas entre as proteínas (Mohler e Scheerer, 1979), afetando a interação proteína-água e, conseqüentemente, a Aa.

Já os efeitos da redução na Aa observado quando os valores de nitrito adicionado estão abaixo de 125-150 ppm são mais difíceis de explicar. É provável que esta redução esteja diretamente relacionada à radiólise da água e, ou, às interações com outros componentes presentes no produto, como a fécula. Sokhey e Hanna (1993) reportaram que o aumento da dose de irradiação produz um aumento nas quantidades de radicais livres de hidratos de carbono, potencializando a degradação da molécula de amido e resultando em uma redução na viscosidade e em um aumento na solubilidade em água destas moléculas.

Não foi possível ajustar o modelo completo ($P = 0,5635$; $R^2 = 0,5078$) e nenhum dos coeficientes de regressão ($P > 0,10$) foram significativos para a Aa das amostras irradiadas e cozidas (Irrad/Coz), não sendo, portanto, afetada pela adição de nitrito ou pelas doses de irradiação.

Para os atributos de textura das amostras, em ambos os tratamentos (Coz/Irrad e Irrad/Coz) não foi possível detectar o pico de fratura, o que é condizente com as observações de Ramos e Gomide (2007) e Ramos et al. (2007) de que, nos testes de TPA em produtos cárneos curados, valores de

compressão menores que 60% pode não conduzir a amostra à fratura, ou seja, o pico de fraturabilidade pode não ser formado na curva.

Para os demais parâmetros de textura, apenas os modelos matemáticos do tratamento Coz/Irrad foram significativos ($P < 0,05$) para a dureza, coesividade, flexibilidade e mastigabilidade, sendo os coeficientes de regressão e a análise de variância descritos na Tabela 3. Para a adesividade, além da falta de ajuste do modelo ($P = 0,7193$; $R^2 = 0,4478$), nenhum dos coeficientes de regressão foram significativos ($P > 0,10$), indicando que este parâmetro não foi afetado pela adição de nitrito e irradiação.

Apenas a variável irradiação teve efeito para os atributos de dureza e mastigabilidade. Embora o modelo a partir do único coeficiente de regressão significativo não pode ser ajustado ($P = 0,2364$; $R^2 = 0,3558$), a significância do componente quadrático, e o fato deste ser positivo, indica que maiores dose de irradiação são aplicadas, ocorre uma redução seguida de aumento nos valores de dureza ou mastigabilidade.

Alterações na textura de carnes e produtos cárneos pela irradiação são, teoricamente, possíveis através da alteração das propriedades funcionais das proteínas (Lawrie, 2005). Trabalhos que tenham avaliado os efeitos da irradiação, em especial da aplicação de altas doses, em carnes são escassos, não sendo encontrado nenhum trabalho conduzido em produtos cárneos emulsionados. Por outro lado, os estudos objetivos e sensoriais para carnes são contraditórios. Avaliando os efeitos da aplicação da radiação gama (3kGy) em peitos de frango, Yoon (2003) observou maior dureza para as amostras irradiadas, sendo atribuída à redução no comprimento do sarcômero e a possíveis alterações nas propriedades funcionais das proteínas, levando a uma maior agregação destas. Por outro lado, utilizando a análise sensorial, Abu-Tarboushet al. (1997) e Hashim et al. (1995) não observaram efeito significativo na textura de peitos de frango irradiados. Byun et al. (2000) não observaram

efeitos significativos nos parâmetros de textura objetiva ou na textura percebida sensorialmente em mortadelas elaboradas com carnes irradiadas com doses de até 5 kGy.

Em produtos fermentados, Cabeza et al. (2009) não observaram nenhuma mudança na dureza de salames irradiados até doses de 3 kGy, embora Galán et al. (2011) tenham reportado uma redução na dureza de salames irradiados por 4 kGy. Embora as propriedades reológicas de salames sejam bem diferentes de embutidos emulsionados, esta redução com pequenas doses de irradiação é condizente com o comportamento observado no presente trabalho.

A mastigabilidade é um parâmetro secundário dependente da dureza, coesividade e flexibilidade da amostra (Ramos e Gomide, 2007). Entretanto os efeitos significativos observados foram similares ao da dureza, não sendo observado efeito da adição de nitrito. Os parâmetros de coesividade e flexibilidade foram afetados tanto pela irradiação quanto pela quantidade de nitrito adicionado (Tabela 3), sendo os modelos matemáticos representados nas superfícies de resposta da Figura 2.

Segundo Ramos e Gomide (2007), a coesividade representa a força das ligações internas, que determina a extensão que o alimento é deformado antes da ruptura, podendo ser traduzido sensorialmente como mastigável ou consistente, ou seja, a quantidade de deformação sofrida pela amostra quando comprimida pelos dentes molares. Já a flexibilidade, ainda segundo estes autores, é a taxa em que o material deformado retorna à sua condição inicial antes da compressão o que sensorialmente é relacionado à elasticidade da amostra.

Tabela 3 Coeficientes de regressão (CR) e erro padrão (EP) dos modelos matemáticos polinomiais para os parâmetros de dureza, coesividade, flexibilidade e mastigabilidade das mortadelas cozidas e irradiadas (Coz/Irrad)

	Dureza (N)		Coesividade		Flexibilidade (mm)		Mastigabilidade (N.mm)	
	CR	EP	CR	EP	CR	EP	CR	EP
Constante	14,7034	0,6513	0,7499	0,0059	5,2369	0,0312	57,7440	2,6012
NO ₂	-0,3180	0,3994	-0,0278**	0,0036	0,0271	0,0191	-3,4765	1,5953
NO ₂ X NO ₂	0,8756	0,4766	-0,0077	0,0043	-0,1717**	0,0229	0,3654	1,9036
Irrad	0,9162	0,3994	-0,0333**	0,0036	0,1456**	0,0191	2,4115	1,5953
Irrad X Irrad	1,8117*	0,4766	-0,0095	0,0043	-0,0208	0,0229	6,1199*	1,9036
NO ₂ XIrrad	-0,0157	0,5640	-	0,0051	0,3337***	0,0270	-0,8768	2,2527
R ²	0,7270		0,5216		0,6225		0,3558	
<i>P-valor</i>								
<u>Regressão</u>	0,1832		0,0193		0,0183		0,2364	
<u>LOF</u>	0,3563		0,0129		0,0182		0,0900	

NO₂= nitrito; Irrad = Irradiação; LOF = falta de ajuste.

***P<0,01; ** P<0,05; * P<0,10.

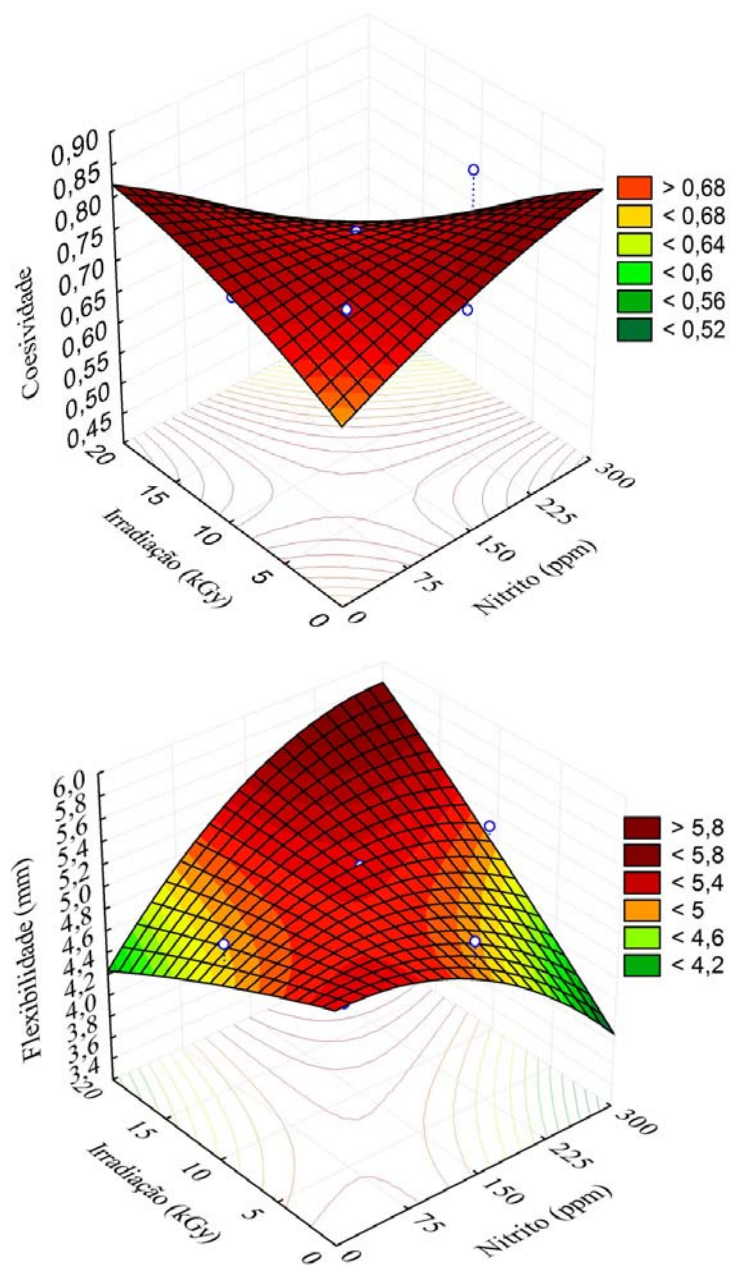


Figura 2 Efeitos dos níveis de nitrito e doses de irradiação gama na coesividade e flexibilidade (mm) de mortadelas cozidas e irradiadas (Coz/Irrad).

Em ambos os parâmetros, a interação entre as variáveis nitrito e doses de irradiação foi significativa, porém o comportamento foi distinto. Em maiores adições de nitrito há um aumento nos valores de coesividade das amostras, porém com a aplicação da irradiação há uma redução nestes valores quando os níveis de nitrito são inferiores a 150 ppm e aumento para níveis de adições maiores. O Inverso é observado para o parâmetro flexibilidade (Figura 2), o que leva a concluir que à medida que a amostra torna-se mais coesa com os tratamentos, menos flexível ela fica.

Conforme anteriormente mencionado estas alterações na textura são, teoricamente, possíveis através da alteração das propriedades funcionais das proteínas, seja por efeitos diretos ou indiretos da radiólise (Stewart, 2001; Brewer, 2009) ou por interações induzidas pelo nitrito (Mohler e Scheerer, 1979). De fato, a textura firme de curados é creditada a interações entre proteínas. Teoricamente, isto é possível quando se considera a reação do nitrito com grupos sulfidrilas (-SH) de resíduos aminoácidos das proteínas, formando pontes dissulfetos (-S-S-) termicamente estáveis entre as proteínas da carne (Mohler, 1982).

Com relação aos efeitos da adição de nitrito na textura dos produtos emulsionados, os resultados aqui observados são diferentes dos reportados por Dong et al. (2007). Estes autores, estudando salsichas cozidas com diferentes adições do nitrito de sódio (0, 50, 100 e 150 ppm), observaram que a adição de nitrito foi correlacionada negativamente com a dureza e adesividade e positivamente com a coesividade e flexibilidade.

Os efeitos nas amostras irradiadas e cozidas (Irrad/Coz) foram diferentes dos observados nos tratamentos Coz/Irrad. De forma geral, a textura foi menos influenciada uma vez os modelos não foram significativos para a dureza ($P = 0,6308$; $R^2 = 0,4349$), adesividade ($P = 0,6688$; $R^2 = 0,5741$), coesividade ($P = 0,2424$; $R^2 = 0,4483$) e mastigabilidade ($P = 0,5554$; $R^2 = 0,5439$), sendo que

nenhum dos coeficientes de regressão destes parâmetros foram significativos ($P > 0,10$). Para a flexibilidade, no entanto, houve efeito significativo dos coeficientes de regressão linear das variáveis nitrito e irradiação (Tabela 4).

Tabela 4 Coeficientes de regressão (CR) e erro padrão (EP) para as variáveis codificadas dos modelos matemáticos polinomiais para os valores de flexibilidade (mm) das mortadelas irradiadas e cozidas (Irrad/Coz)

	Flexibilidade (mm)	
	CR	EP
Constante	5,2095	0,0427
NO ₂	0,0795*	0,0262
NO ₂ X NO ₂	0,0231	0,0313
Irrad	-0,0788*	0,0262
Irrad X Irrad	0,0835	0,0313
NO ₂ XIrrad	0,0862	0,0370
R ²	0,7453	
<i>P-valor</i>		
<u>Regressão</u>	0,1431	
<u>LOF</u>	0,2708	

NO₂= nitrito; Irrad = Irradiação; LOF = falta de ajuste.

*** $P < 0,01$; ** $P < 0,05$; * $P < 0,10$.

Embora não tenha sido possível ajustar ($P = 0,1431$; $R^2 = 0,7453$) um modelo matemático a partir dos coeficientes significativos, pode-se inferir que a flexibilidade das amostras aumentou com a adição de nitrito, provavelmente devido ao favorecimento de ligações entre proteínas (Mohler, 1982), e reduziu para aplicação de maiores doses de irradiação, provavelmente devido aos efeitos deletérios da radiólise (Brewer, 2009), conforme já discutidos.

Os menores efeitos observados nos parâmetros de textura nas amostras irradiadas antes do cozimento podem ser justificados pelo fato de que maiores alterações na textura são oriundas da desnaturação e intumescimento das proteínas induzidas pelo calor (Lawrie, 2005). A textura final de produtos cominuídos é primeiramente resultado da rede gélida proteica que é formada durante o processamento. Em misturas cárneas contendo sal e fosfato, a estrutura formada pela emulsificação é fortalecida pela geleificação e agregação das proteínas no processo de cozimento (Barbut *et al.*, 1996).

Aparentemente, qualquer contribuição à textura instrumental pelo nitrito ou irradiação é bastante sutil, sendo detectada apenas sob condições particulares. Isto demonstra a complexidade em se entender as características de textura em produtos cárneos curados. No entanto, uma vez que nenhum instrumento é capaz de medir todas as propriedades detectadas pelo senso humano, pequenas alterações nos atributos de textura podem induzir à diferenças na percepção sensorial, sendo importante pesquisar mais profundamente uma determinada propriedade reológica e o processo que fornece essa sensação de textura no alimento.

CONCLUSÃO

Os resultados do presente trabalho permitem concluir que diferentes doses de irradiação gama e níveis de adição de nitrito afetam a textura objetiva de mortadelas, especialmente a sua coesividade e flexibilidade, sendo os maiores efeitos observados quando a irradiação é aplicada após o processo de cozimento.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG) pelo apoio financeiro à execução do projeto e à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela bolsa de doutorado conferida ao primeiro autor.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABU-TARBOUSH, H. M. et al. Sensory and microbial quality of chicken as affected by irradiation and postirradiation storage at 4.0°C. **Journal of Food Protection**, v. 60, n. 7, p. 761-770, 1997.

AHN, D. U. et al. Volatiles production and lipid oxidation in irradiated cooked sausage as related to packaging and storage. **Journal of Food Science**, v. 64, n. 2, p. 226-229, 1999.

AHN, H. J. et al. Irradiation and modified atmosphere packaging effects on residual nitrite, ascorbic acid, nitrosomyoglobin, and color in sausage. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 51, n. 5, p. 1249-1253, 2003.

AHN, H. J. et al. Monitoring of nitrite and N-Nitrosamine levels in irradiated pork sausage. **Journal of Food Protection**, v. 65, n. 9, p. 1493-1497, 2002a.

AHN, H. J. et al. Reduction of carcinogenic N-nitrosamines and residual nitrite in model system sausage by irradiation. **Journal of Food Science**, v. 67, n. 4, p. 1370-1373, 2002b.

AHN, H. J. et al. Combined effects of gamma irradiation and a modified atmospheric packaging on the physicochemical characteristics of sausage. **Radiation Physics and Chemistry**, v. 71, n. 1-2, p. 51-54, 2004.

AOAC. **Official methods of analysis**. 17th. ed. Gaithersburg, MD: Association of Official Analytical Chemists, 2002.

BARBUT, S. et al. Effect of cooking temperature on the microstructure of meat batters prepared with salt and phosphate. **Lebensmittel Wissenschaft und Technologie**, v. 29, p. 475-480, 1996.

BINGOL, E. B.; BOSTAN, K. Effect of sodium lactate on the microbiological quality and shelf life of sausages. **Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences**, v. 31, n. 5, p. 333-339, 2007.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e do Abastecimento. **Instrução Normativa nº 4**, de 31 de março de 2000. Aprova Regulamentos Técnicos de Identidade e Qualidade de Carne Mecanicamente Separada, de Mortadela, de Linguiça e de Salsicha, em conformidade com os Anexos desta Instrução Normativa. Brasília, 2000.

BREWER, M. S. Irradiation effects on meat flavor: A review. **Meat Science**, v. 81, n. 1, p. 1-14, 2009.

BREWER, S. Irradiation effects on meat color - a review. **Meat Science**, v. 68, n. 1, p. 1-17, 2004.

BYUN, M. W. et al. Improvement of shelf stability and processing properties of meat products by gamma irradiation. **Radiation Physics and Chemistry**, v. 63, n. 3-6, p. 361-364, 2002.

BYUN, M. W. et al. Effect of gamma irradiation on the raw meat in Bologna sausage production. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 35, n. 6, p. 599-601, 2000.

CABEZA, M. C. et al. Safety and quality of ready-to-eat dry fermented sausages subjected to E-beam radiation. **Meat Science**, v. 83, p. 320-327, 2009.

CAMMACK, R. et al. Nitrite and nitrosyl compounds in food preservation. **Biochimica et Biophysica Acta - Bioenergetics**, v. 1411, n. 2-3, p. 475-488, 1999.

CAVA, R. et al. Effect of irradiation on colour and lipid oxidation of dry-cured hams from free-range reared and intensively reared pigs. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 6, n. 2, p. 135-141, 2005.

CHOULIARA, I. et al. Effect of irradiation of frozen meat/fat trimmings on microbiological and physicochemical quality attributes of dry fermented sausages. **Meat Science**, v. 74, n. 2, p. 303-311, 2006.

- DENIZ, E. E.; SERDAROÇLU, M. Effects of nitrite levels, endpoint temperature and storage on pink color development in turkey rolls. **European Food Research and Technology**, v. 217, n. 6, p. 471-474, 2003.
- DONG, Q. L. et al. The effect of sodium nitrite on the textural properties of cooked sausage during cold storage. **Journal of Texture Studies**. v. 38, p. 537-554, 2007.
- DU, M.; AHN, D. U. Effect of antioxidants on the quality of irradiated sausages prepared with turkey thigh meat. **Poultry Science**, v. 81, n. 8, p. 1251-1256, 2002.
- DUTRA, M. P. et al. Radiação gama e tempo de armazenamento sobre a oxidação lipídica, cor objetiva, pigmentos heme e nitrito residual de mortadelas elaboradas com diferentes níveis de nitrito. **Ciencia Rural**, v. 41, n. 12, p. 2203-2209, 2011.
- EICHHOLZER, M.; GUTZWILLER, F. Dietary nitrates, nitrites, and N-nitroso compounds and cancer risk with special emphasis on the epidemiological evidence. In: D'MELLO, J. P. F. (Ed.). **Food Safety: Contaminants and Toxins**. Edinburgh: Scottish Agricultural College, 2003. Cap.217-234.
- FENNEMA, O. R. **Fennema's Food Chemistry**. Fourth Edition ed. University of Wisconsin-Madison, USA 2007. (Food Science and Technology).
- FREYBLER, L. A. et al. Nitrite stabilization of lipids in cured pork. **Meat Science**, v. 33, n. 1, p. 85-96, 1993.
- GALÁN, I. et al. Effects of ionising irradiation on quality and sensory attributes of ready-to-eat dry fermented sausages enriched with folic acid. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 46, p. 469-477, 2011.
- HASHIM, I. B. et al. Disruptive sensory analysis of irradiated frozen or refrigerated chicken. **Journal of Food Science**, v. 60, n. 4, p. 664-666, 1995.
- HOUSER, T. A. et al. Effects of irradiation on properties of cured ham. **Journal of Food Science**, v. 68, n. 7, p. 2362-2365, 2003.
- IGENE, J. O. et al. Mechanisms by which nitrite inhibits the development of warmed-over flavour (WOF) in cured meat. **Food Chemistry**, v. 18, n. 1, p. 1-18, 1985.

JO, C.; AHN, D. U. Volatiles and oxidative changes in irradiated pork sausage with different fatty acid composition and tocopherol content. **Journal of Food Science**, v. 65, n. 2, p. 270-275, 2000.

JO, C. et al. Irradiation-induced oxidative changes and production of volatile compounds in sausages prepared with vitamin E-enriched commercial soybean oil. **Food Chemistry**, v. 76, n. 3, p. 299-305, 2002.

JO, C. et al. Packaging and irradiation effect on lipid oxidation, color, residual nitrite content, and nitrosamine formation in cooked pork sausage. **Food Control**, v. 14, n. 1, p. 7-12, 2003.

JO, C. et al. Color changes in irradiated cooked pork sausage with different fat sources and packaging during storage. **Meat Science**, v. 55, n. 1, p. 107-113, 2000.

JO, C. et al. Lipid oxidation, color changes and volatiles production in irradiated pork sausage with different fat content and packaging during storage. **Meat Science**, v. 51, n. 4, p. 355-361, 1999.

KANNER, J. et al. Antioxidative effect of nitrite in cured meat products: Nitric oxide-iron complexes of low molecular weight. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 32, n. 3, p. 512-515, 1984.

KILIC, B. et al. Influence of turkey meat on residual nitrite in cured meat products. **Journal of Food Protection**, v. 64, n. 2, p. 235-239, 2001.

LAWRIE, R. A. **Ciência da Carne**. 6. Ed. Porto Alegre: Editora Artmed, 2005.

MARCO, A. et al. The influence of nitrite and nitrate on microbial, chemical and sensory parameters of slow dry fermented sausage. **Meat Science**, v. 73, n. 4, p. 660-673, 2006.

MOHLER, K. **El Curado**. Zaragoza (España):Acribia, 1982.

MOHLER, K.; SCHEERER, C. Bilanz der Bildung von Pokelfarbstoff im Muskelfleisch. V. Reaktionen von Nitrit mit Schweinemuskel. **Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und -Forschung**, v. 168, n. 3, p. 173-176, 1979.

MOLLER, J. K. S. et al. Microbial formation of nitrite-cured pigment, nitrosylmyoglobin, from metmyoglobin in model systems and smoked

fermented sausages by *Lactobacillus fermentum* strains and a commercial starter culture. **European Food Research and Technology**, v. 216, n. 6, p. 463-469, 2003.

MORRISSEY, P. A.; TICHIVANGANA, J. Z. The antioxidant activities of nitrite and nitrosylmyoglobin in cooked meats. **Meat Science**, v. 14, n. 3, p. 175-190, 1985.

OLESEN, P. T. et al. Effect of ascorbate, nitrate and nitrite on the amount of flavour compounds produced from leucine by *Staphylococcus xylosus* and *Staphylococcus carnosus*. **Meat Science**, v. 68, n. 2, p. 193-200, 2004.

PEGG, R. B.; SHAHIDI, F. S. **Nitrite curing of meat: the N-nitrosamine problem and nitrite alternatives**. Trumbull, USA: Wiley-Blackwell, 2000.

PIERSON, M. D.; SMOOT, L. A. Nitrite, nitrite alternatives, and the control of *Clostridium botulinum* in cured meats. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 17, n. 2, p. 141-187, 1982.

POTTER, N. Food dehydration and concentration. **Food Science**, p. 246-302, 1986.

RAMOS, E. M.; GOMIDE, L. A. M. **Avaliação da Qualidade de Carnes: Fundamentos e Metodologias**. 2nd. ed. Viçosa: Editora UFV, 2007.

RAMOS, E. M. et al.. Influência da deformação e da velocidade de compressão na textura objetiva de produtos curados. In: IV CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE CARNES, Campinas. ITAL, 2007. **Anais...** p.423-426.

RODRIGUES, M. I.; IEMMA, A. F. **Planejamento de experimentos e otimização de processos: uma estratégia seqüencial de planejamentos**. Campinas: Editora Casa do Pão, 2005.

SANZ, Y. et al. Effect of nitrate and nitrite curing salts on microbial changes and sensory quality of non-fermented sausages. **International Journal of Food Microbiology**, v. 42, n. 3, p. 213-217, 1998.

SCANNELL, A. G. M. et al. Effect of nitrite on a bacteriocinogenic *Lactococcus lactis* transconjugant in fermented sausage. **European Food Research and Technology**, v. 213, n. 1, p. 48-52, 2001.

SEBRANEK, J. G. et al. Comparison of a natural rosemary extract and BHA/BHT for relative antioxidant effectiveness in pork sausage. **Meat Science**, v. 69, n. 2, p. 289-296, 2005.

SINDELAR, J. J. et al. A. Investigating quality attributes and consumer acceptance of uncured, no-nitrate/nitrite-added commercial hams, bacons, and frankfurters. **Journal of Food Science**, v. 72, n. 8, 2007.

SOKHEY, A. S.; HANNA, M. A. Properties of irradiated starches. **Food Structure**, v. 12, p. 397-410, 1993.

SOMMERS, C. H.; FAN, X. Antioxidant power, lipid oxidation, color, and viability of *Listeria monocytogenes* in beef bologna treated with gamma radiation and containing various levels of glucose. **Journal of Food Protection**, v. 65, n. 11, p. 1750-1755, 2002.

SOMMERS, C. H. et al. Effect of ionizing radiation on beef bologna containing soy protein concentrate. **Journal of Food Safety**, v. 21, n. 3, p. 151-165, 2001.

STEVANOVIĆ, M.; SENTJURC, M. EPR studies of alternative cooked cured meat pigment (CCMP). **Acta Chimica Slovenica**, v. 47, n. 1, p. 47-53, 2000.

STEWART, E. M. Food irradiation chemistry. In: RA. MOLINS. (Ed), **Food Irradiation: Principles and Applications**, Wiley Interscience. New York, USA 2001. p. 37-76.

THAKUR, B. R.; SINGH, R. K. Food irradiation - Chemistry and applications. **Food Reviews International**, v. 10, n. 4, p. 437-473, 1994.

YOON, K. S. Effect of gamma irradiation on the texture and microstructure of chicken breast meat. **Meat Science**, v. 63, n. 2, p. 273-277, 2003.

ANEXOS – ARTIGO 2

Tabela 1 Análise de variância do modelo matemático para o pH das mortadelas cozidas/irradiadas 48 horas após o processamento.

TODOS OS EFEITOS						
pH COZ/IRRAD						
FV	SQ	GL	QM	Fc	p-value	
REGRESSÃO	0,077862	5	0,02	9,68233	0,096252	
NO (L)	0,000593	1	0,00	0,36871	0,605463	
NO (Q)	0,018213	1	0,02	11,32445	0,078100	
RAD (L)	0,032049	1	0,03	19,92701	0,046696	
RAD (Q)	0,011381	1	0,01	7,07647	0,117022	
NO*RAD	0,015625	1	0,02	9,71503	0,089352	
LOF	0,013167	3	0,00	2,72889	0,279536	
ERRO PURO	0,003217	2	0,00			
TOTAL	0,087823	10				

Tabela 2 Análise de variância do modelo matemático para o pH das mortadelas irradiadas/cozidas 48 horas após o processamento.

TODOS OS EFEITOS						
pH IRRAD/COZ						
FV	SQ	GL	QM	Fc	p-value	
REGRESSÃO	0,065151	5	0,01	10,83961	0,086610	
NO (L)	0,003833	1	0,00	3,18860	0,216074	
NO (Q)	0,019588	1	0,02	16,29464	0,056242	
RAD (L)	0,012557	1	0,01	10,44596	0,083864	
RAD (Q)	0,019173	1	0,02	15,94997	0,057355	
NO*RAD	0,010000	1	0,01	8,31889	0,102124	
LOF	0,019893	3	0,01	5,51639	0,157291	
ERRO PURO	0,002404	2	0,00			
TOTAL	0,078703	10				

Tabela 3 Análise de variância do modelo matemático para o potencial de óxido-redução das mortadelas cozidas/irradiadas 48 horas após o processamento.

TODOS OS EFEITOS						
Eh COZ/IRRAD						
FV	SQ	GL	QM	Fc	p-value	
REGRESSÃO	64,503778	5	12,90	6,65845	0,135710	
NO (L)	9,75307	1	9,75	5,03384	0,154033	
NO (Q)	5,72080	1	5,72	2,95267	0,227875	
RAD (L)	44,52421	1	44,52	22,98024	0,040867	
RAD (Q)	1,44320	1	1,44	0,74488	0,479068	
NO*RAD	3,06250	1	3,06	1,58065	0,335589	
LOF	18,32046	3	6,11	3,15191	0,250091	
ERRO PURO	3,87500	2	1,94			
TOTAL	85,53409	10				

Tabela 4 Análise de variância do modelo matemático para o potencial de óxido-redução das mortadelas cozidas/irradiadas 48 horas após o processamento.

EFEITOS SIGNIFICATIVOS						
Eh COZ/IRRAD						
FV	SQ	GL	QM	Fc	p-value	
REGRESSÃO	44,524213	1	44,52	22,98024	0,040867	
RAD (L)	44,52421	1	44,52	22,98024	0,040867	
LOF	37,13488	7	5,30	2,73806	0,293475	
ERRO PURO	3,87500	2	1,94			
TOTAL	85,53409	10				

Tabela 5 Análise de variância do modelo matemático para o teor de nitrito residual das mortadelas cozidas/irradiadas 48 horas após o processamento.

TODOS OS EFEITOS					
NITRITO RESIDUAL COZ/IRRAD					
FV	SQ	GL	QM	Fc	p-value
REGRESSÃO	29772,159625	5	5954,43	13,80419	0,068922
NO (L)	18946,40	1	18946,40	43,92353	0,022018
NO (Q)	1269,75	1	1269,75	2,94367	0,228351
RAD (L)	2642,91	1	2642,91	6,12708	0,131721
RAD (Q)	1895,74	1	1895,74	4,39489	0,170994
NO*RAD	5017,36	1	5017,36	11,63177	0,076266
LOF	7071,34	3	2357,11	5,46450	0,158584
ERRO PURO	862,70	2	431,35		
TOTAL	37011,88	10			

Tabela 6 Análise de variância do modelo matemático para o teor de nitrito residual das mortadelas cozidas/irradiadas 48 horas após o processamento.

EFEITOS SIGNIFICATIVOS					
NITRITO RESIDUAL COZ/IRRAD					
FV	SQ	GL	QM	Fc	p-value
REGRESSÃO	23963,761620	2	11981,88	27,77765	0,034749
NO (L)	18946,40	1	18946,40	43,92353	0,022018
NO*RAD	5017,36	1	5017,36	11,63177	0,076266
LOF	12185,41	6	2030,90	4,70825	0,185525
ERRO PURO	862,70	2	431,35		
TOTAL	37011,88	10			

Tabela 7 Análise de variância do modelo matemático para os níveis de nitrito residual das mortadelas irradiadas/cozidas 48 horas após o processamento.

TODOS OS EFEITOS						
NITRITO RESIDUAL IRRAD/COZ						
FV	SQ	GL	QM	Fc	p-value	
REGRESSÃO	28893,925031	5	5778,79	2,79723	0,284045	
NO (L)	18628,88	1	18628,88	9,01735	0,095308	
NO (Q)	448,48	1	448,48	0,21709	0,687084	
RAD (L)	3151,76	1	3151,76	1,52562	0,342183	
RAD (Q)	341,34	1	341,34	0,16523	0,723758	
NO*RAD	6323,46	1	6323,46	3,06089	0,222303	
LOF	6060,31	3	2020,10	0,97784	0,541492	
ERRO PURO	4131,78	2	2065,89			
TOTAL	39408,45	10				

Tabela 8 Análise de variância do modelo matemático para os níveis de nitrito residual das mortadelas irradiadas/cozidas 48 horas após o processamento.

EFEITOS SIGNIFICATIVOS						
NITRITO RESIDUAL IRRAD/COZ						
FV	SQ	GL	QM	Fc	p-value	
REGRESSÃO	18628,879167	1	18628,88	9,01735	0,095308	
NO (L)	18628,88	1	18628,88	9,01735	0,095308	
LOF	16647,78	7	2378,25	1,15120	0,539723	
ERRO PURO	4131,78	2	2065,89			
TOTAL	39408,45	10				

Tabela 9 Análise de variância do modelo matemático para a luminosidade das mortadelas cozidas/irradiadas 48 horas após o processamento.

TODOS OS EFEITOS						
LUMINOSIDADE COZ/IRRAD						
FV	SQ	GL	QM	Fc	p-value	
REGRESSÃO	34,162108	5	6,83	5,38283	0,164059	
NO (L)	21,17206	1	21,17	16,68011	0,055048	
NO (Q)	7,47361	1	7,47	5,88798	0,136027	
RAD (L)	3,84929	1	3,85	3,03261	0,223732	
RAD (Q)	1,64892	1	1,65	1,29908	0,372489	
NO*RAD	0,01822	1	0,02	0,01436	0,915573	
LOF	8,85111	3	2,95	2,32441	0,314942	
ERRO PURO	2,53860	2	1,27			
TOTAL	48,63362	10				

Tabela 10 Análise de variância do modelo matemático para a luminosidade das mortadelas cozidas/irradiadas 48 horas após o processamento.

EFEITOS SIGNIFICATIVOS						
LUMINOSIDADE COZ/IRRAD						
FV	SQ	GL	QM	Fc	p-value	
REGRESSÃO	21,172065	1	21,17	16,68011	0,055048	
NO (L)	21,17206	1	21,17	16,68011	0,055048	
LOF	24,92295	7	3,56	2,80503	0,287868	
ERRO PURO	2,53860	2	1,27			
TOTAL	48,63362	10				

Tabela 11 Análise de variância do modelo matemático para o índice de vermelho das mortadelas cozidas/irradiadas 48 horas após o processamento.

TODOS OS EFEITOS

ÍNDICE DE VERMELHO COZ/IRRAD

FV	SQ	GL	QM	Fc	p-value
REGRESSÃO	82,567086	5	16,51	21,42837	0,045184
NO (L)	58,2511	1	58,25	75,58859	0,012973
NO (Q)	14,8171	1	14,82	19,22711	0,048275
RAD (L)	3,0570	1	3,06	3,96680	0,184640
RAD (Q)	6,4096	1	6,41	8,31730	0,102141
NO*RAD	0,0324	1	0,03	0,04204	0,856512
LOF	8,9850	3	2,99	3,88639	0,211385
ERRO PURO	1,5413	2	0,77		
TOTAL	101,2684	10			

Tabela 12 Análise de variância do modelo matemático para o índice de amarelo das mortadelas cozidas/irradiadas 48 horas após o processamento.

TODOS OS EFEITOS

ÍNDICE DE AMARELO COZ/IRRAD

FV	SQ	GL	QM	Fc	p-value
REGRESSÃO	18,077998	5	3,62	4,57304	0,189118
NO (L)	13,04892	1	13,05	16,50439	0,055586
NO (Q)	4,33092	1	4,33	5,47778	0,144114
RAD (L)	0,08185	1	0,08	0,10353	0,778154
RAD (Q)	0,03108	1	0,03	0,03932	0,861152
NO*RAD	0,58523	1	0,59	0,74020	0,480264
LOF	0,52213	3	0,17	0,22013	0,876325
ERRO PURO	1,58127	2	0,79		
TOTAL	20,35242	10			

Tabela 13 Análise de variância do modelo matemático para o índice de amarelo das mortadelas cozidas/irradiadas 48 horas após o processamento.

EFEITOS SIGNIFICATIVOS						
ÍNDICE DE AMARELO COZ/IRRAD						
FV	SQ	GL	QM	Fc	p-value	
REGRESSÃO	13,048921	1	13,05	16,50439	0,055586	
NO (L)	13,04892	1	13,05	16,50439	0,055586	
LOF	5,72223	7	0,82	1,03393	0,574283	
ERRO PURO	1,58127	2	0,79			
TOTAL	20,35242	10				

Tabela 14 Análise de variância do modelo matemático para a tonalidade das mortadelas cozidas/irradiadas 48 horas após o processamento.

TODOS OS EFEITOS						
TONALIDADE COZ/IRRAD						
FV	SQ	GL	QM	Fc	p-value	
REGRESSÃO	1124,539701	5	224,91	531,65536	0,001878	
NO (L)	824,938	1	824,94	1950,05433	0,000512	
NO (Q)	240,090	1	240,09	567,54443	0,001757	
RAD (L)	15,978	1	15,98	37,77076	0,025468	
RAD (Q)	43,098	1	43,10	101,87758	0,009674	
NO*RAD	0,436	1	0,44	1,02971	0,417016	
LOF	79,946	3	26,65	62,99409	0,015667	
ERRO PURO	0,846	2	0,42			
TOTAL	1296,380	10				

Tabela 15 Análise de variância do modelo matemático para a luminosidade das mortadelas irradiadas/cozidas 48 horas após o processamento.

TODOS OS EFEITOS						
L* IRRAD/COZ						
FV	SQ	GL	QM	Fc	p-value	
REGRESSÃO	17,804050	5	3,56	2,46179	0,313670	
NO (L)	0,74300	1	0,74	0,51368	0,547946	
NO (Q)	0,72923	1	0,73	0,50416	0,551303	
RAD (L)	0,00308	1	0,00	0,00213	0,967375	
RAD (Q)	15,97471	1	15,97	11,04421	0,079850	
NO*RAD	0,35402	1	0,35	0,24476	0,669795	
LOF	17,89809	3	5,97	4,12465	0,201273	
ERRO PURO	2,89287	2	1,45			
TOTAL	37,97120	10				

Tabela 16 Análise de variância do modelo matemático para a luminosidade das mortadelas irradiadas/cozidas 48 horas após o processamento.

EFEITOS SIGNIFICATIVOS						
L* IRRAD/COZ						
FV	SQ	GL	QM	Fc	p-value	
REGRESSÃO	15,350904	1	15,35	10,61294	0,082704	
RAD (Q)	15,35090	1	15,35	10,61294	0,082704	
LOF	19,72743	7	2,82	1,94838	0,380555	
ERRO PURO	2,89287	2	1,45			
TOTAL	37,97120	10				

Tabela 17 Análise de variância do modelo matemático para o índice de vermelho das mortadelas irradiadas/cozidas 48 horas após o processamento.

TODOS OS EFEITOS						
a* IRRAD/COZ						
FV	SQ	GL	QM	Fc	p-value	
REGRESSÃO	22,419297	5	4,48	6,17838	0,145151	
NO (L)	13,95565	1	13,96	19,22972	0,048269	
NO (Q)	5,92567	1	5,93	8,16508	0,103759	
RAD (L)	0,70421	1	0,70	0,97034	0,428444	
RAD (Q)	1,77854	1	1,78	2,45069	0,257955	
NO*RAD	0,05522	1	0,06	0,07610	0,808550	
LOF	15,78187	3	5,26	7,24870	0,123638	
ERRO PURO	1,45147	2	0,73			
TOTAL	42,43469	10				

Tabela 18 Análise de variância do modelo matemático para o índice de vermelho das mortadelas irradiadas/cozidas 48 horas após o processamento.

EFEITOS SIGNIFICATIVOS						
a* IRRAD/COZ						
FV	SQ	GL	QM	Fc	p-value	
REGRESSÃO	13,955649	1	13,96	19,22972	0,048269	
NO (L)	13,95565	1	13,96	19,22972	0,048269	
LOF	27,02757	7	3,86	5,32025	0,167305	
ERRO PURO	1,45147	2	0,73			
TOTAL	42,43469	10				

Tabela 19 Análise de variância do modelo matemático para o índice de amarelo das mortadelas irradiadas/cozidas 48 horas após o processamento.

TODOS OS EFEITOS						
b* IRRAD/COZ						
FV	SQ	GL	QM	Fc		p-value
REGRESSÃO	4,170002	5	0,83	11,64263		0,080981
NO (L)	1,079182	1	1,08	15,06536		0,060424
NO (Q)	1,854040	1	1,85	25,88236		0,036532
RAD (L)	1,186251	1	1,19	16,56004		0,055415
RAD (Q)	0,002129	1	0,00	0,02972		0,878987
NO*RAD	0,048400	1	0,05	0,67566		0,497485
LOF	4,423031	3	1,47	20,58181		0,046691
ERRO PURO	0,143267	2	0,07			
TOTAL	8,868491	10				

Tabela 20 Análise de variância do modelo matemático para o índice de amarelo das mortadelas irradiadas/cozidas 48 horas após o processamento.

EFEITOS SIGNIFICATIVOS						
b* IRRAD/COZ						
FV	SQ	GL	QM	Fc		p-value
REGRESSÃO	4,251664	3	1,42	19,78438		0,048497
NO (L)	1,079182	1	1,08	15,06536		0,060424
NO (Q)	1,986231	1	1,99	27,72775		0,034224
RAD (L)	1,186251	1	1,19	16,56004		0,055415
LOF	4,473560	5	0,89	12,49016		0,075782
ERRO PURO	0,143267	2	0,07			
TOTAL	8,868491	10				

Tabela 21 Análise de variância do modelo matemático para a tonalidade das mortadelas irradiadas/cozidas 48 horas após o processamento.

TODOS OS EFEITOS

h* IRRAD/COZ

FV	SQ	GL	QM	Fc	p-value
REGRESSÃO	302,498875	5	60,50	22,58466	0,042941
NO (L)	165,0344	1	165,03	61,60758	0,015847
NO (Q)	102,4947	1	102,49	38,26144	0,025154
RAD (L)	20,5394	1	20,54	7,66741	0,109428
RAD (Q)	13,1684	1	13,17	4,91578	0,156907
NO*RAD	1,2619	1	1,26	0,47107	0,563382
LOF	258,2613	3	86,09	32,13644	0,030329
ERRO PURO	5,3576	2	2,68		
TOTAL	600,2432	10			

Tabela 22 Análise de variância do modelo matemático para o teor de pigmentos heme totais das mortadelas cozidas/irradiadas 48 horas após o processamento.

TODOS OS EFEITOS

PHT COZ/IRRAD

FV	SQ	GL	QM	Fc	p-value
REGRESSÃO	1036,338275	5	207,27	54,19565	0,018216
NO (L)	974,278	1	974,28	254,75105	0,003902
NO (Q)	44,039	1	44,04	11,51509	0,076952
RAD (L)	5,413	1	5,41	1,41525	0,356267
RAD (Q)	6,106	1	6,11	1,59661	0,333726
NO*RAD	6,503	1	6,50	1,70025	0,322138
LOF	200,438	3	66,81	17,46996	0,054627
ERRO PURO	7,649	2	3,82		
TOTAL	1259,520	10			

Tabela 23 Análise de variância do modelo matemático para o teor de pigmentos heme totais das mortadelas irradiadas/cozidas 48 horas após o processamento.

TODOS OS EFEITOS						
PHT IRRAD/COZ						
FV	SQ	GL	QM	Fc	p-value	
REGRESSÃO	240,530059	5	48,11	0,96088	0,581087	
NO (L)	70,8338	1	70,83	1,41485	0,356321	
NO (Q)	3,0950	1	3,10	0,06182	0,826842	
RAD (L)	41,1502	1	41,15	0,82194	0,460307	
RAD (Q)	69,5007	1	69,50	1,38822	0,359906	
NO*RAD	55,9504	1	55,95	1,11757	0,401273	
LOF	194,5728	3	64,86	1,29548	0,463525	
ERRO PURO	100,1289	2	50,06			
TOTAL	532,6270	10				

Tabela 24 Análise de variância do modelo matemático para o teor de pigmentos hemi nitrosos das mortadelas cozidas/irradiadas 48 horas após o processamento.

TODOS OS EFEITOS						
PHN COZ/IRRAD						
FV	SQ	GL	QM	Fc	p-value	
REGRESSÃO	1331,642902	5	266,33	0,89031	0,604526	
NO (L)	762,159	1	762,16	2,54782	0,251516	
NO (Q)	5,246	1	5,25	0,01754	0,906766	
RAD (L)	0,316	1	0,32	0,00106	0,977024	
RAD (Q)	562,153	1	562,15	1,87922	0,303988	
NO*RAD	1,769	1	1,77	0,00591	0,945705	
LOF	54,717	3	18,24	0,06097	0,975744	
ERRO PURO	598,283	2	299,14			
TOTAL	2071,865	10				

Tabela25 Análise de variância do modelo matemático para o teor de pigmentos heme nitrosos das mortadelas irradiadas/cozidas 48 horas após o processamento.

TODOS OS EFEITOS						
PHN IRRAD/COZ						
FV	SQ	GL	QM	Fc	p-value	
REGRESSÃO	2054,681595	5	410,94	38,53479	0,025486	
NO (L)	1103,647	1	1103,65	103,49241	0,009525	
NO (Q)	99,963	1	99,96	9,37386	0,092168	
RAD (L)	131,841	1	131,84	12,36312	0,072231	
RAD (Q)	367,294	1	367,29	34,44228	0,027828	
NO*RAD	351,938	1	351,94	33,00230	0,028990	
LOF	218,724	3	72,91	6,83682	0,130266	
ERRO PURO	21,328	2	10,66			
TOTAL	2216,062	10				

Tabela 26 Análise de variância do modelo matemático para o índice de peróxido das mortadelas cozidas/irradiadas 48 horas após o processamento.

TODOS OS EFEITOS						
IP COZ/IRRAD						
FV	SQ	GL	QM	Fc	p-value	
REGRESSÃO	2656,022695	5	531,20	6,20173	0,144662	
NO (L)	1110,708	1	1110,71	12,96735	0,069207	
NO (Q)	47,201	1	47,20	0,55107	0,535227	
RAD (L)	583,364	1	583,36	6,81068	0,120794	
RAD (Q)	230,699	1	230,70	2,69337	0,242460	
NO*RAD	684,051	1	684,05	7,98619	0,105727	
LOF	26,061	3	8,69	0,10142	0,952019	
ERRO PURO	171,309	2	85,65			
TOTAL	2812,723	10				

Tabela 27 Análise de variância do modelo matemático para o índice de peróxido das mortadelas cozidas/irradiadas 48 horas após o processamento.

EFEITOS SIGNIFICATIVOS						
IP COZ/IRRAD						
FV	SQ	GL	QM	Fc	p-value	
REGRESSÃO	1110,708338	1	1110,71	12,96735	0,069207	
NO (L)	1110,708	1	1110,71	12,96735	0,069207	
LOF	1530,706	7	218,67	2,55296	0,310158	
ERRO PURO	171,309	2	85,65			
TOTAL	2812,723	10				

Tabela 28 Análise de variância do modelo matemático para o índice de peróxido das mortadelas irradiadas/cozidas 48 horas após o processamento.

TODOS OS EFEITOS						
IP IRRAD/COZ						
FV	SQ	GL	QM	Fc	p-value	
REGRESSÃO	1391,282317	5	278,26	49,74361	0,019824	
NO (L)	809,538	1	809,54	144,72026	0,006839	
NO (Q)	0,097	1	0,10	0,01736	0,907226	
RAD (L)	431,961	1	431,96	77,22127	0,012704	
RAD (Q)	49,080	1	49,08	8,77393	0,097577	
NO*RAD	100,606	1	100,61	17,98523	0,051356	
LOF	225,269	3	75,09	13,42371	0,070124	
ERRO PURO	11,188	2	5,59			
TOTAL	1633,692	10				

Tabela 29 Análise de variância do modelo matemático para o índice TBARS das mortadelas cozidas/irradiadas 48 horas após o processamento.

TODOS OS EFEITOS						
TBARS COZ/IRRAD						
FV	SQ	GL	QM	Fc		p-value
REGRESSÃO	0,395075	5	0,08	10,78179		0,087046
NO (L)	0,094139	1	0,09	12,84551		0,069796
NO (Q)	0,202945	1	0,20	27,69242		0,034266
RAD (L)	0,007849	1	0,01	1,07104		0,409446
RAD (Q)	0,041544	1	0,04	5,66881		0,140231
NO*RAD	0,048597	1	0,05	6,63120		0,123483
LOF	0,082994	3	0,03	3,77493		0,216472
ERRO PURO	0,014657	2	0,01			
TOTAL	0,573881	10				

Tabela 30 Análise de variância do modelo matemático para o índice TBARS das mortadelas cozidas/irradiadas 48 horas após o processamento.

EFEITOS SIGNIFICATIVOS						
TBARS COZ/IRRAD						
FV	SQ	GL	QM	Fc		p-value
REGRESSÃO	0,378239	2	0,19	25,80582		0,037305
NO (L)	0,094139	1	0,09	12,84551		0,069796
NO (Q)	0,284100	1	0,28	38,76613		0,024839
LOF	0,180985	6	0,03	4,11597		0,208336
ERRO PURO	0,014657	2	0,01			
TOTAL	0,573881	10				

Tabela 31 Análise de variância do modelo matemático para o índice de TBARS das mortadelas irradiadas/cozidas 48 horas após o processamento.

TODOS OS EFEITOS						
TBARS IRRAD/COZ						
FV	SQ	GL	QM	Fc	p-value	
REGRESSÃO	0,438220	5	0,09	14,59955	0,065341	
NO (L)	0,228279	1	0,23	38,02621	0,025304	
NO (Q)	0,074736	1	0,07	12,44928	0,071784	
RAD (L)	0,015269	1	0,02	2,54352	0,251794	
RAD (Q)	0,069743	1	0,07	11,61765	0,076349	
NO*RAD	0,050193	1	0,05	8,36108	0,101685	
LOF	0,074233	3	0,02	4,12187	0,201385	
ERRO PURO	0,012006	2	0,01			
TOTAL	0,583839	10				

Tabela 32 Análise de variância do modelo matemático para o índice de TBARS das mortadelas irradiadas/cozidas 48 horas após o processamento.

EFEITOS SIGNIFICATIVOS						
TBARS IRRAD/COZ						
FV	SQ	GL	QM	Fc	p-value	
REGRESSÃO	0,372758	3	0,12	20,69771	0,046440	
NO (L)	0,228279	1	0,23	38,02621	0,025304	
NO (Q)	0,074736	1	0,07	12,44928	0,071784	
RAD (Q)	0,069743	1	0,07	11,61765	0,076349	
LOF	0,139696	5	0,03	4,65404	0,186273	
ERRO PURO	0,012006	2	0,01			
TOTAL	0,583839	10				

Tabela 33 Médias e desvio padrão das análises físico-químicas das mortadelas cozidas/irradiadas 48 horas após o processamento.

X1	X2	UMID	GORD	CINZA	PROT	Aa	NO ₂ RES
-1,00	-1,00	67,74	11,93	2,97	16,81	0,97	24,32
1,00	-1,00	66,49	12,22	2,88	17,81	0,97	220,13
-1,00	1,00	66,62	13,18	3,07	16,43	0,96	17,50
1,00	1,00	67,50	13,50	3,07	16,40	0,98	71,64
-1,41	0,00	67,76	11,49	3,03	17,57	0,96	4,98
1,41	0,00	67,44	11,58	2,96	17,21	0,97	103,41
0,00	-1,41	68,00	10,12	2,97	17,74	0,97	43,97
0,00	1,41	67,59	10,35	3,03	17,48	0,96	51,14
0,00	0,00	66,99	11,93	3,05	17,48	0,97	124,22
0,00	0,00	67,07	11,99	2,87	17,71	0,97	84,98
0,00	0,00	68,17	10,58	2,97	17,45	0,97	92,81
	media	67,40	11,72	2,99	17,28	0,97	76,28
	DP	0,54	1,07	0,07	0,51	0,01	60,84

Tabela 34 Médias e desvio padrão das análises físico-químicas das mortadelas cozidas/irradiadas 48 horas após o processamento.

X1	X2	PH	EH	TBARS	IP	PHT	PHN
-1,00	-1,00	6,48	34,50	0,84	49,57	72,93	40,25
1,00	-1,00	6,34	33,25	0,51	49,78	95,88	56,98
-1,00	1,00	6,21	42,50	0,51	42,67	77,86	42,28
1,00	1,00	6,32	37,75	0,63	95,18	105,91	61,67
-1,41	0,00	6,28	40,00	1,16	40,19	78,54	20,44
1,41	0,00	6,25	38,00	0,69	69,56	104,89	50,12
0,00	-1,41	6,32	37,75	0,22	51,32	102,34	58,94
0,00	1,41	6,16	42,25	0,54	72,40	96,39	55,30
0,00	0,00	6,16	39,50	0,59	38,97	95,54	59,08
0,00	0,00	6,24	38,50	0,58	56,13	91,63	27,30
0,00	0,00	6,19	41,25	0,44	53,54	93,50	31,36
	media	6,27	38,66	0,61	56,30	92,31	45,79
	DP	0,09	2,92	0,24	16,77	11,22	14,39

Tabela 35 Médias e desvio padrão dos parâmetros de cor das mortadelas cozidas/irradiadas 48 horas após o processamento.

X1	X2	L*	a*	b*	C*	h*
-1,00	-1,00	59,39	8,12	16,42	18,32	63,68
1,00	-1,00	57,77	11,59	12,81	17,27	47,87
-1,00	1,00	59,84	7,72	15,11	16,97	62,94
1,00	1,00	58,49	11,55	13,03	17,41	48,45
-1,41	0,00	64,90	1,41	16,49	16,55	85,11
1,41	0,00	57,79	11,52	13,29	17,59	49,07
0,00	-1,41	56,42	13,42	13,19	18,82	44,50
0,00	1,41	59,52	10,23	13,39	16,85	52,62
0,00	0,00	58,58	10,63	13,79	17,42	52,37
0,00	0,00	59,81	9,00	12,24	15,20	53,67
0,00	0,00	57,56	10,38	13,77	17,24	52,98
	media	59,10	9,60	13,96	17,24	55,75
	DP	2,21	3,18	1,43	0,93	11,39

Tabela 36 Médias e desvio padrão dos parâmetros de textura das mortadelas cozidas/irradiadas 48 horas após o processamento.

X1	X2	DURE	COES	ADES	FLEX	MAST
-1,00	-1,00	15,21	0,79	-0,14	4,92	58,86
1,00	-1,00	15,71	0,77	-0,16	4,35	52,92
-1,00	1,00	17,63	0,75	-0,13	4,59	60,41
1,00	1,00	18,07	0,53	-0,11	5,35	50,96
-1,41	0,00	18,42	0,76	-0,41	5,13	71,34
1,41	0,00	15,95	0,76	-0,22	5,14	62,59
0,00	-1,41	18,15	0,75	-0,18	5,26	71,44
0,00	1,41	19,94	0,76	-0,15	5,61	85,37
0,00	0,00	15,85	0,76	-0,08	5,22	62,74
0,00	0,00	13,59	0,75	-0,24	5,29	54,12
0,00	0,00	14,65	0,74	-0,17	5,19	56,17
	media	16,65	0,74	-0,18	5,10	62,45
	DP	1,91	0,07	0,09	0,36	10,17

Tabela 37 Médias e desvio padrão das análises físico-químicas das mortadelas irradiadas/cozidas 48 horas após o processamento.

X1	X2	UMID	GORD	CINZAS	PROT	Aa	NO ₂ RES
-	-1,00	68,30	11,52	3,05	16,87	0,97	11,04
1,00	-1,00	67,57	9,47	3,07	16,47	0,97	210,23
-	1,00	66,88	12,32	3,02	16,14	0,97	8,97
1,00	1,00	68,57	9,47	2,94	17,40	0,97	49,12
-	0,00	66,70	12,23	2,86	17,54	0,97	7,40
1,41	0,00	66,63	12,73	2,91	17,72	0,97	111,04
0,00	-1,41	66,20	11,45	2,79	17,88	0,97	24,27
0,00	1,41	66,71	11,59	2,89	17,59	0,97	27,55
0,00	0,00	66,20	12,25	2,91	17,76	0,97	107,55
0,00	0,00	67,54	11,80	2,84	17,29	0,97	25,68
0,00	0,00	68,39	11,00	2,91	17,63	0,97	32,40
	media	67,24	11,44	2,92	17,30	0,97	55,93
	DP	0,88	1,09	0,09	0,57	0,00	62,78

Tabela 38 Médias e desvio padrão das análises físico-químicas das mortadelas irradiadas/cozidas 48 horas após o processamento.

X1	X2	PH	EH	TBARS	IP	PHT	PHN
-	-1,00	6,49	35,75	1,00	29,93	101,49	48,02
1,00	-1,00	6,37	27,50	0,38	49,10	93,67	52,78
-	1,00	6,23	42,00	0,51	34,51	94,18	27,16
1,00	1,00	6,31	37,50	0,33	73,73	101,32	69,44
-	0,00	6,34	37,25	0,98	30,41	92,14	20,30
1,41	0,00	6,25	37,75	0,59	45,99	109,48	53,48
0,00	-1,41	6,29	37,25	0,27	33,89	112,88	54,60
0,00	1,41	6,29	38,00	0,40	54,80	99,79	34,58
0,00	0,00	6,23	36,00	0,49	38,72	89,59	29,40
0,00	0,00	6,21	39,75	0,53	41,64	95,71	35,91
0,00	0,00	6,17	42,25	0,64	43,41	103,70	33,11
	media	6,29	37,36	0,56	43,28	99,45	41,71
	DP	0,09	3,92	0,24	12,78	7,30	14,89

Tabela 39 Médias e desvio padrão dos parâmetros de cor das mortadelas irradiadas/cozidas 48 horas após o processamento.

X1	X2	L*	a*	b*	C*	h*
-1,00	-1,00	56,02	11,00	11,92	16,22	47,30
1,00	-1,00	57,24	11,07	12,64	16,80	48,81
-1,00	1,00	58,47	10,99	12,55	16,68	48,79
1,00	1,00	58,50	11,53	12,83	17,25	48,05
-1,41	0,00	53,43	4,73	15,17	15,89	72,69
1,41	0,00	54,27	11,78	12,38	17,09	46,41
0,00	-1,41	57,75	12,42	11,87	17,18	43,72
0,00	1,41	55,23	10,42	13,47	17,03	52,28
0,00	0,00	53,06	10,01	11,97	15,60	50,10
0,00	0,00	54,49	11,65	12,50	17,08	47,02
0,00	0,00	55,45	11,23	12,30	16,66	47,60
	media	55,81	10,62	12,69	16,68	50,25
	DP	1,95	2,06	0,94	0,55	7,75

Tabela 40 Médias e desvio padrão dos parâmetros de textura das mortadelas cozidas/irradiadas 48 horas após o processamento.

X1	X2	DURE	COES	ADES	FLEX	MAST
-1,00	-1,00	15,42	0,74	-0,24	5,44	62,41
1,00	-1,00	19,68	0,76	-0,21	5,50	82,77
-1,00	1,00	11,55	0,77	-0,10	5,08	45,03
1,00	1,00	21,50	0,67	-0,22	5,49	79,07
-1,41	0,00	16,62	0,75	-0,30	5,13	63,96
1,41	0,00	13,00	0,75	-0,21	5,25	51,11
0,00	-1,41	23,91	0,77	-0,09	5,40	98,80
0,00	1,41	15,49	0,85	-0,12	5,22	68,86
0,00	0,00	11,78	0,78	-0,11	5,16	47,16
0,00	0,00	19,33	0,76	-0,05	5,29	78,21
0,00	0,00	17,35	0,74	-0,23	5,17	66,11
	media	16,87	0,76	-0,17	5,29	67,59
	DP	3,98	0,04	0,08	0,15	16,41