

## INFLUÊNCIA DA UTILIZAÇÃO DE ADITIVOS *CLEAN LABEL* NA ESTABILIDADE MICROBIOLÓGICA DO CHOURIÇO TRADICIONAL

Patrícia Silva<sup>1</sup>, Paulo Lopes<sup>2</sup> & Marília Henriques<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Tecnologia Alimentar, Biotecnologia e Nutrição da Escola Superior Agrária de Santarém.

<sup>2</sup>Bioanalítica. Lda, Consultoria de Qualidade e Segurança Alimentar.

### RESUMO

Os consumidores procuram cada vez mais produtos alimentares naturais, tradicionais, sem aditivos sintéticos, que apresentem longa duração e, principalmente, que sejam seguros.

O trabalho apresentado consistiu num estudo químico e microbiológico preliminar, com o objetivo de avaliar a eficácia da utilização dos aditivos *Clean Label* (culturas de bactérias lácticas e vinagre de sidra) no aumento da estabilidade microbiológica do chouriço tradicional.

Os resultados obtidos indicaram que as amostras de chouriço tradicional ao qual foram adicionadas culturas de bactérias lácticas apresentam melhores resultados na contagem de microrganismos indicadores de higiene, e valores de pH mais baixos, em relação às amostras de chouriço tradicional sem adição destas culturas. A pesquisa negativa para *Salmonella spp.* e *Listeria monocytogenes* nos produtos finais, reforçam a segurança destes produtos para o consumidor. Os aditivos *Clean Label* tendencialmente proporcionaram um aumento da estabilidade microbiológica do produto final.

**Palavras-chave:** Chouriço, *Clean Label*, Bactérias Lácticas, Vinagre, Estabilidade, Segurança.

## ABSTRACT

Consumers increasingly seek for natural food products, without synthetic additives, which are long-lasting, and mainly that is unsafe.

This work consists in a chemical and microbiological previous study to prove the efficiency of using additives *Clean Label* (Cultures of lactic acid bacteria and cider vinegar) in the increasing of microbiological stability of traditional chorizo.

The obtained results indicated that the traditional chorizo to which lactic acid bacteria cultures were added presents better results in the count of microbial hygiene indicators groups, and lower pH values, when compared to traditional chorizo without additives. Negative search for *Salmonella spp.* and *Listeria monocytogenes* into final products, reinforce the microbial safety of these products to the consumer. *Clean Label* additives tend to provide increased microbiological stability of final product.

**Keywords:** Chorizo, *Clean Label*, Lactic Acid Bacteria, Vinegar, Stability, Safety.

## INTRODUÇÃO

Os produtos tradicionais são produtos únicos que resultam das matérias-primas e dos conhecimentos aplicados, dos usos, das práticas de produção, de distribuição, de consumo e das denominações de produto local, tradicional, artesanal ou regional (Velho *et al.*, 2013).

Os produtos de salsicharia tradicional portuguesa são, pelas suas características organolépticas, produtos alimentares da mais alta qualidade, constituindo um património cultural que interessa preservar. O termo “salsicharia” é mundialmente conhecido e engloba todos os produtos de transformação cárnica. Destes fazem parte não só os enchidos mas também todas as carnes curadas (Mendes, 2013).

No fabrico de produtos de salsicharia fermentados e secos é necessário ter em consideração variáveis como o corte e o tamanho da carne, o tipo e a quantidade de gordura adicionada, o sal e outros ingredientes, nomeadamente condimentos e aditivos, resultando numa grande gama de produtos, cuja estabilidade é determinada pela acidificação e pela diminuição da actividade da água ( $a_w$ ), como resultado da adição de sal e do processo de secagem. Posteriormente, o preparado da carne é introduzido em tripa e deixado a fermentar e a secar (Mendonça, 2012).

O chouriço de carne tradicional é definido como enchido fumado e curado de calibre estreito e de formato variável constituído por carne de suíno e gordura rija de suíno, em fragmentos macroscopicamente visíveis, adicionados de condimentos e aditivos (NP 589:2006). Este produto cárneo está incluído nos produtos de salsicharia fermentados e secos, caracterizado pela adição de sal e de outras substâncias e submetido a um processo de maturação e fumagem (Mendonça, 2012).

A crescente procura de produtos tradicionais e de produtos naturais, sem aditivos químicos, tem vindo a evidenciar um maior interesse e atratividade destes produtos para os consumidores. Os novos processos de fabrico e a constante procura por produtos minimamente processados obriga ao desenvolvimento de novas estratégias para prolongar a vida útil dos alimentos (Velho *et al.*, 2013). Estas novas estratégias, consistem apenas na introdução de substâncias naturais (exemplo, culturas de arranque da fermentação) aos géneros alimentícios, promovendo um rótulo livre de aditivos sintéticos, situação que se enquadra na aplicação de aditivos *Clean Label*.

O estudo desenvolvido teve como objectivo avaliar a eficácia da utilização dos aditivos *Clean Label*, “Cultura de *Bactérias Lácticas* ” e “Vinagre de sidra”, no aumento da estabilidade microbiológica do chouriço tradicional.

## METODOLOGIA

Tendo em conta o fluxograma de fabrico do chouriço tradicional, apresentado na Figura 1, foi estabelecido o plano de amostragem.

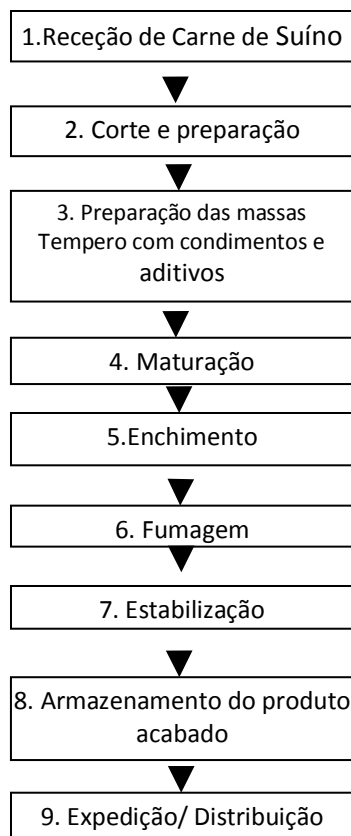


Figura 1 – Fluxograma de fabrico do chouriço tradicional

### Pano de amostragem

Analisaram-se amostras de três preparações de chouriço tradicional, pertencentes a dois lotes diferentes.

As três preparações diferenciaram-se na fase de preparação das massas, da seguinte forma:

- **Preparação nº 1:** massa preparada com condimentos e temperos;
- **Preparação nº 2:** massa preparada com condimentos, temperos e cultura de bactérias lácticas;
- **Preparação nº 3:** massa preparada com condimentos, temperos, cultura de bactérias lácticas e vinagre de sidra.

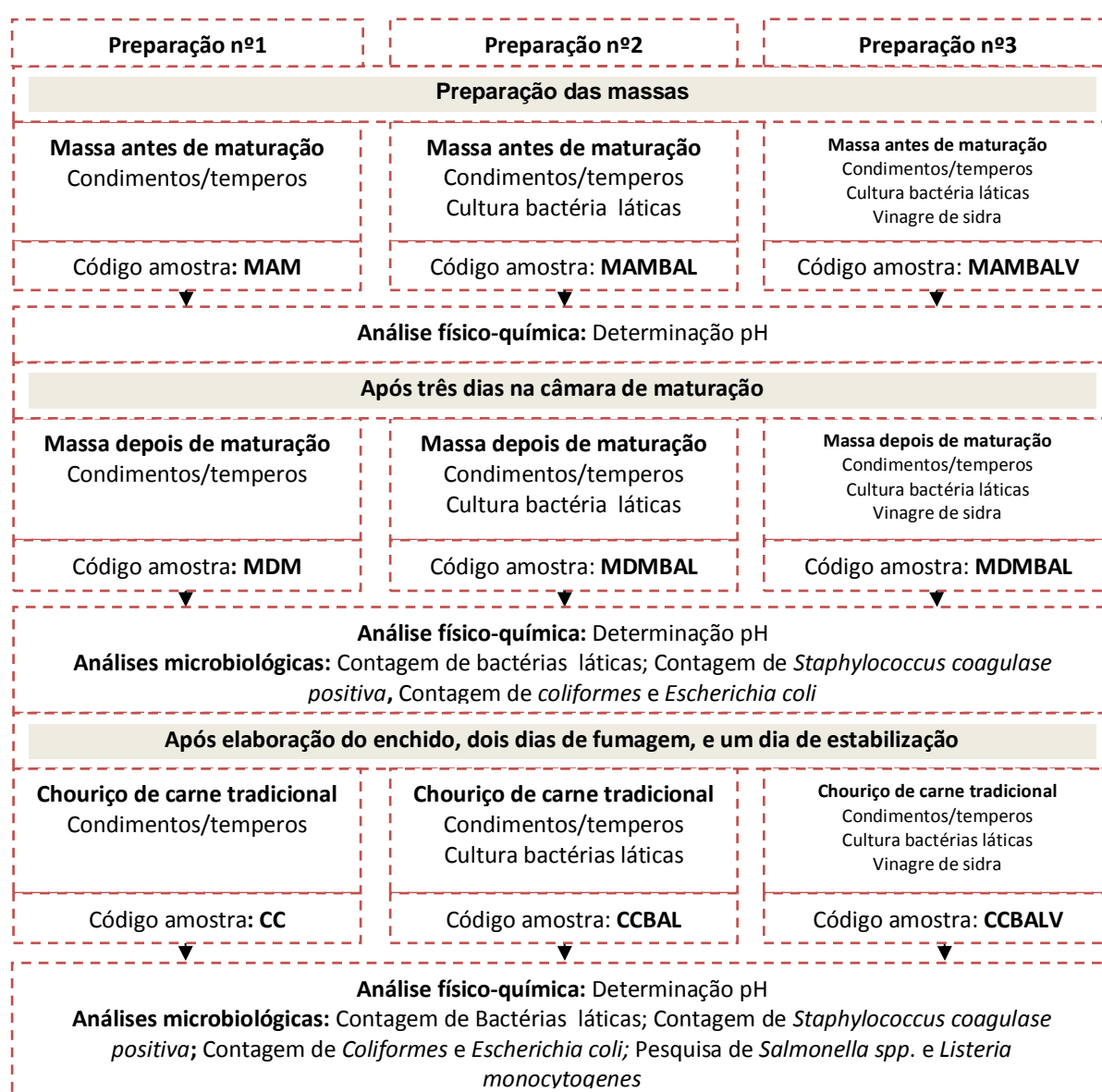
De cada preparação de massa foram recolhidas e analisadas amostras em fases distintas do processo produtivo:

- Massa de chouriço antes de maturação (AM);
- Massa de chouriço depois de maturação (DM);

Foram também analisadas amostras do produto final:

- Produto final, chouriço de carne (CC).

No caso das massas, foram recolhidas aproximadamente 200 gramas de diversas zonas do seu conteúdo, com o auxílio de material esterilizado. Quanto às amostras de produto final, foram recolhidos amostras de chouriço embaladas a vácuo.



**Figura 2 – Diagrama do plano de amostragem e das análises físico-químicas e microbiológicas realizadas**

Na Figura 2 apresenta-se o diagrama do plano de amostragem, com a codificação usada para as diferentes amostras na apresentação dos resultados e as análises físico-químicas e microbiológicas realizadas.

## **Metodologias**

### **Determinação do pH**

A metodologia utilizada para a determinação pH foi a descrita *pelo Instituto Adolfo Lutz* (2008). Dissolveram-se dez gramas de massa/chouriço em 100 mL de água desionizada. O pH foi determinado após calibração do medidor de pH (*HI 2209 pH Meter, Hanna Instruments*).

### **Análises Microbiológicas**

Na preparação das amostras e diluições foram seguidas as regras e recomendações da International Organization for Standardization (ISO), de acordo com a Norma ISO 6887-2:2003.

Foram recolhidas aleatoriamente pequenas porções de cada amostra de massa maturada ou de chouriço até perfazer um total de 25 gramas. A homogeneização foi realizada numa solução de água peptonada tamponada esterilizada, através de um diluidor (*Dilumat S gravimétrico*), num aparelho *Stomacher (IUL Instruments)*, durante cerca de 2 minutos.

A partir da suspensão inicial efetuaram-se as diluições decimais consideradas necessárias para cada tipo de amostra.

As análises microbiológicas seguiram as Normas ISO, tendo sido realizadas contagens de bactérias lácticas (Norma ISO 15214:1998), de coliformes totais e *Escherichia coli* (Norma ISO 16649-2:2001 e ISO 4832), *Staphylococcus* coagulase positiva (Norma ISO 6888-2:1999 Amd.1:2003) e as pesquisas de *Salmonella* spp. (Norma ISO 6579:2005) e de *Listeria monocytogenes* (Norma ISO 11290-1:1997.Amd.1:2005).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

### Determinação do pH

Os valores de pH obtidos, comparativamente para os dois lotes, nas amostras analisadas apresentam-se na Figura 3.

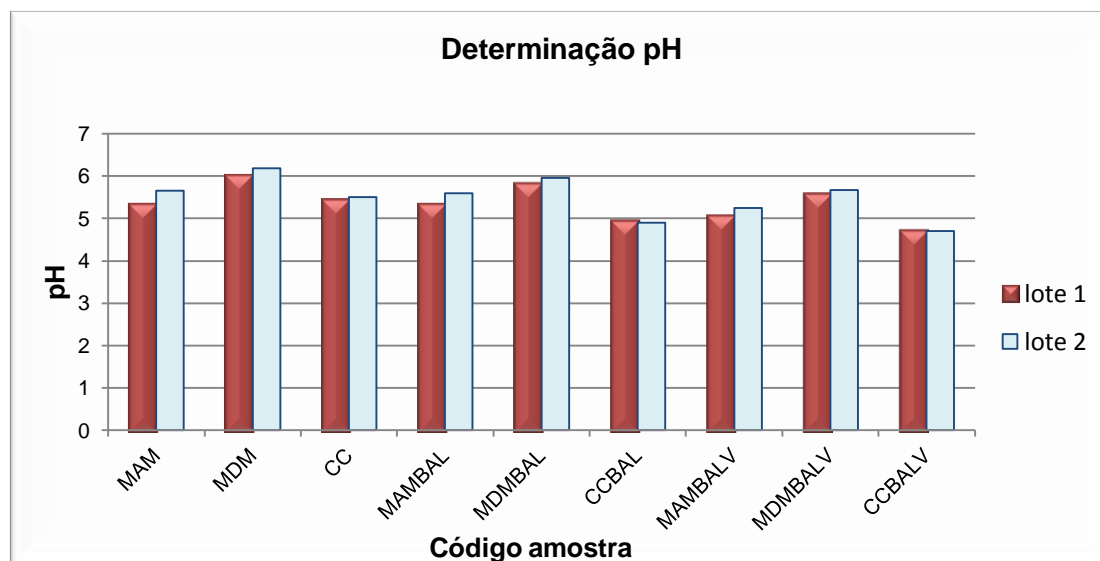
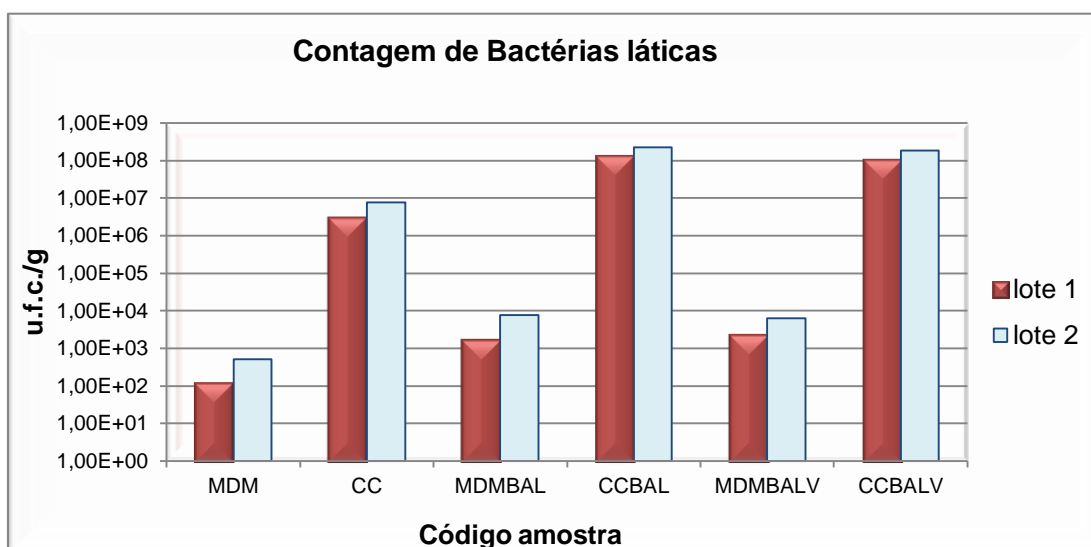


Figura 3 – Valores de pH das diferentes preparações de chouriço tradicional

Através da análise dos resultados, verifica-se que cada amostra analisada apresenta valores de pH idênticos nos dois lotes. Durante o fabrico de cada preparação de chouriço tradicional o pH varia nas três fases: massa sem maturação, massa com maturação e produto final. Após a maturação da massa o pH tende a aumentar e a diminuir no produto final resultante. O aumento de pH após a maturação deve-se ao facto de alguns microrganismos se desenvolverem e libertarem compostos que proporcionam um meio menos ácido. O abaixamento de pH no produto final deve-se ao processo de fermentação, desencadeado pelas bactérias lácticas naturalmente presentes ou adicionadas como culturas de arranque, que produzem ácido láctico.

### Contagem de Bactérias Láticas

Na Figura 4 apresentam-se, comparativamente para os dois lotes, os resultados obtidos para a contagem de bactérias láticas nas amostras analisadas.



**Figura 4 – Contagem de bactérias láticas nas diferentes preparações de chouriço tradicional**

A contagem de bactérias láticas nas diferentes amostras é da mesma ordem de grandeza nos dois lotes. Em cada preparação a contagem de bactérias láticas na massa maturada é inferior à do produto final. Esta população microbiana tende a aumentar durante o processo de fumagem, pois o calor do fumo e as condições de anaerobiose favorecem o seu desenvolvimento (fermentação láctica). A Figura 4 mostra que a massa maturada sem cultura de arranque apresenta uma população de bactérias láticas na ordem de  $10^2$ - $10^3$  u.f.c./g, e o produto resultante (chouriço) na ordem de  $10^6$ - $10^7$  u.f.c./g. Quanto às massas maturadas com culturas de arranque apresentam uma população de bactérias láticas na ordem de  $10^3$ - $10^4$  u.f.c./g, e os produtos resultantes na ordem de  $10^8$  u.f.c./g. Assim, verifica-se um aumento significativo da população de bactérias láticas desde a fase de maturação até à obtenção do enchido.

### Contagem de Coliformes totais e *Escherichia coli*

Na Figura 5 apresentam-se, comparativamente para os dois lotes, os resultados obtidos para a contagem de coliformes totais e *Escherichia coli* nas amostras analisadas.

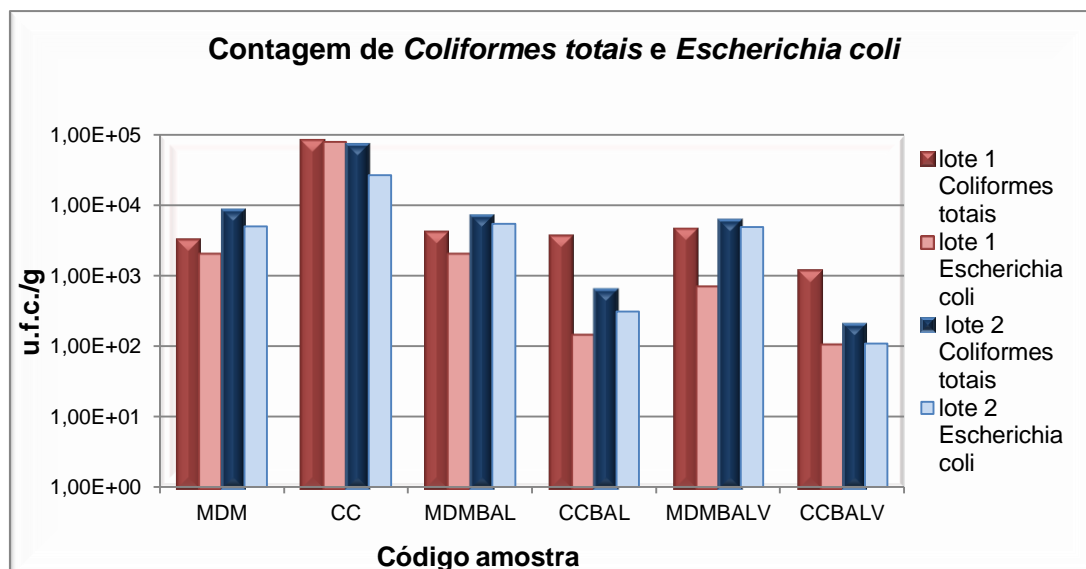


Figura 5 - Contagem de coliformes totais e *E. coli* nas diferentes preparações de chouriço tradicional

Para os dois lotes em estudo, verifica-se que a contagem de coliformes totais e a contagem de *Escherichia coli* nas diferentes amostras é da mesma ordem de grandeza. Estas contagens permitem avaliar as condições higio-sanitárias praticadas na preparação das amostras. Os resultados obtidos mostram que a população de coliformes totais e de *Escherichia coli* presente nas preparações com cultura de arranque, tende a diminuir no produto resultante (chouriço). No entanto, na preparação sem cultura de arranque estas populações tendem a aumentar no produto resultante (chouriço).

De acordo com a Figura 5, a massa maturada sem cultura de arranque apresenta uma população de coliformes totais e de *Escherichia coli* na ordem dos  $10^3$ - $10^4$  u.f.c./g, e o produto resultante na ordem dos  $10^4$ - $10^5$  u.f.c./g. A massa maturada com cultura de arranque apresenta uma população de coliformes totais e de *Escherichia coli* na ordem de  $10^3$  u.f.c./g, e o produto resultante na ordem de  $10^2$  u.f.c./g. De facto a presença de bactérias lácticas nestas preparações pode ter influenciado esta variação, uma vez que este grupo microbiano tem a capacidade de competir com outros microrganismos e de

produzir compostos antimicrobianos (como o ácido láctico). A presença de vinagre de sidra não parece influenciar a ordem de grandeza destas populações no produto final.

### Contagem de *Staphylococcus coagulase positiva*

Na Figura 6 apresentam-se, comparativamente para os dois lotes, os resultados obtidos para a contagem de *Staphylococcus coagulase positiva* em cada preparação analisada.

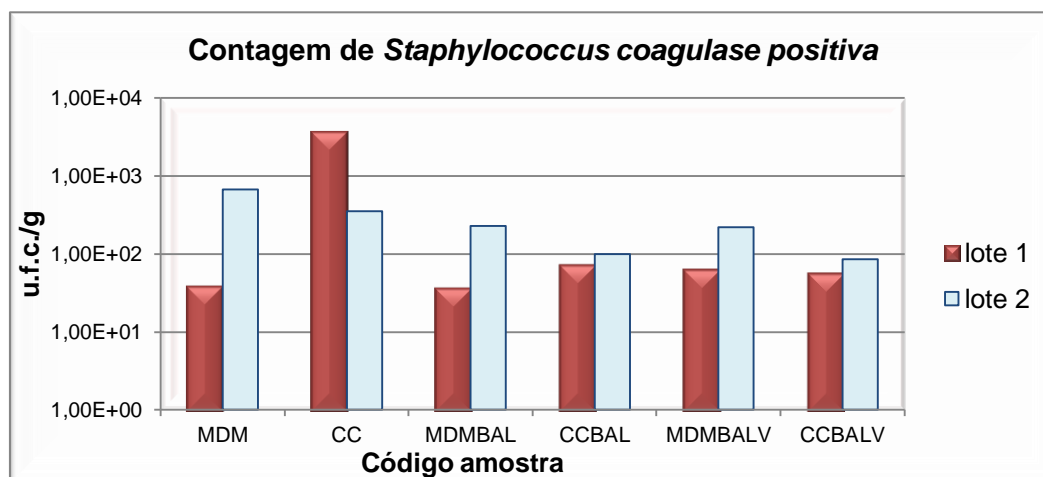


Figura 6 – Contagem de *Staphylococcus coagulase positiva* nas diferentes preparações de chouriço tradicional

Através da análise dos resultados, verifica-se que a contagem de *Staphylococcus coagulase positiva* no produto final (chouriço) obtido a partir das preparações com cultura de arranque é menor do que a do produto final obtido a partir das preparações sem cultura de arranque. Assim, o produto final obtido a partir das preparações com cultura de arranque apresenta uma população de *Staphylococcus coagulase positiva* na ordem de  $10^1$ - $10^2$  u.f.c./g, enquanto que o produto final obtido da preparação sem cultura de arranque apresenta uma população de *Staphylococcus coagulase positiva* na ordem de  $10^2$ - $10^3$  u.f.c./g. Tal como já foi referido, a presença de bactérias lácticas pode influenciar a presença de outros grupos microbianos, quer pela capacidade de competir com os outros microrganismos, quer pela produção de compostos antimicrobianos (como o ácido láctico). A presença de vinagre de sidra não parece influenciar a ordem de grandeza da população de *Staphylococcus coagulase positiva* no produto final.

A avaliação deste grupo microbiano é de grande importância, pois estes microrganismos são considerados como indicadores de higiene e de segurança. A presença de níveis elevados de *Staphylococcus coagulase positiva* pode potencializar o aparecimento da enterotoxina de *Staphylococcus aureus*, um microrganismo patogénico (Doyle e Beuchat, 2007).

### **Pesquisa de *Salmonella spp.* e *Listeria monocytogenes***

Relativamente à pesquisa nos produtos finais dos grupos microbianos indicadores de segurança, *Salmonella spp.* e *Listeria monocytogenes*, esta revelou-se negativa em todos os produtos analisados (ausência em 25 g).

No Regulamento (CE) nº 2073/2005 e na sua alteração pelo Regulamento (CE) nº 1441/2007, os critérios de segurança referidos para os preparados de carne é a ausência de *Salmonella spp.* em 25g. Por outro lado, os valores guia do INSA para alimentos prontos a comer (Santos *et al.*, 2005) indicam a ausência de *Salmonella spp.* e de *Listeria monocytogenes* em 25 gramas de produto. Assim, a ausência destes microrganismos patogénicos em 25g do chouriço de carne, permite concluir que, em termos de segurança alimentar, os produtos analisados se encontram em condições adequadas para consumo humano.

### **CONCLUSÕES E PERSPETIVAS**

A apreciação global dos resultados obtidos sugere que a utilização de bactérias lácticas como culturas de arranque na produção de chouriço tradicional contribui de forma positiva para a estabilidade microbiológica e segurança do produto final.

Os valores de pH obtidos para as amostras de cada preparação de chouriço tradicional evidenciaram que o valor de pH tende a aumentar na fase de maturação e a diminuir no produto resultante. As duas preparações com cultura de arranque apresentaram valores de pH mais baixos em relação à preparação sem cultura de arranque. O pH é um fator de grande importância para a estabilidade microbiológica do produto, pois quanto mais baixo for o valor de pH menor será a multiplicação microbiana, principalmente no que diz respeito aos microrganismos patogénicos. Esta diminuição de pH resulta do processo de fermentação láctica que ocorre durante a fumagem, e é potenciado pela ação das bactérias lácticas.

A presença de indicadores de higiene e/ou de segurança (coliformes totais, *Escherichia coli* e *Staphylococcus coagulase positiva*) tende a ser menor nos produtos onde foram adicionadas culturas de bactérias láticas. Todas as amostras de chouriço tradicional analisadas apresentaram ausência de *Salmonella spp.* e *Listeria monocytogenes* em 25 g de produto.

Comparando os resultados obtidos nas amostras em que foram adicionadas culturas de arranque e vinagre de sidra com os resultados obtidos nas amostras em que se adicionaram apenas culturas de arranque, verifica-se não existirem diferenças significativas entre eles. Assim, de acordo com os resultados obtidos neste estudo preliminar, a opção mais indicada para aumentar a estabilidade microbiológica e segurança do chouriço tradicional parece ser a utilização de massas onde foram incorporadas culturas de bactérias láticas.

#### **BIBLIOGRAFIA**

Doyle, M.P. & Beuchat L.R. (2007). *Food Microbiology: Fundamentals and Frontiers*. Washington: ASM Press. p. 112-116.

EN ISO 11290-1 (1997). Amendment 1 (2005). *Microbiology of food and animal feeding stuffs – Horizontal method for the detection and enumeration of Listeria monocytogenes – Part 2: Enumeration method*. International Organization for Standardization.

EN ISO 15214 (1998). *Microbiology of food and animal feeding stuffs – Horizontal method for the enumeration of mesophilic lactic acid bacteria – Colony-count technique at 30 °C*. International Organization for Standardization.

EN ISO 6888-2 (1999). Amendment 1 (2003). *Microbiology of food and animal feeding stuffs, Horizontal method for the enumeration of coagulase-positive staphylococci (Staphylococcus aureus and other species), Part 2: Technique using rabbit plasma fibrinogen agar medium*. The International Organization for Standardization.

EN ISO 16649-2 (2001). *Microbiology of food and animal feeding stuffs – Horizontal method for the enumeration of beta-glucuronidase-positive Escherichia coli – Part 2: Colony-count technique at 44 °C using 5-bromo-4-chloro-3-indolyl beta-D-glucuronide*. International Organization for Standardization.

EN ISO 6579 (2002). *Horizontal method for the detection of Salmonella spp.* International Organization for Standardization.

EN ISO 6887-2 (2003). *Microbiology of food and animal feeding stuffs- preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination. Part 2-Specific rules for the preparation of meat and meat products.* The International Organization for Standardization.

EN ISO 4832 (2006). *Microbiology of food and animal feeding stuffs. Horizontal method for the enumeration of coliforms. Colony-count technique.* The International Organization for Standardization.

Instituto Adolfo Lutz, (2008). *Métodos físico-químicos para análise de alimentos.* Coordenadores: Odair Zenebon, Neus Sadocco Pascuet e Paulo Tiglea. 4ª ed. 1ª Edição digital. São Paulo: Núcleo de Informação e Tecnologia - NIT /IAL. p. 104-105.

Mendes, J.I.S. (2013). *Qualidade nutricional e microbiológica de enchidos.* Dissertação de Mestrado em Tecnologia da Ciência Animal. Bragança: Escola Superior Agrária - Instituto Politécnico de Bragança. p. 12 -21, 42-44.

NP 589 (2006). *Documentação - Chouriço de carne. Definição, características e acondicionamento.* Lisboa: Instituto Português da Qualidade.

Regulamento (CE) N.º 2073/2005 de 15 de novembro de 2005. Jornal Oficial da União Europeia nº L 31. Comissão Europeia.

Regulamento (CE) N.º 1441/2007 de 5 de dezembro de 2007. Jornal Oficial da União Europeia nº L 322. Comissão Europeia.

Santos, M., Correia, C., Cunha, M., Soraia, M. & Novais, M. (2005). Valores guias para a avaliação microbiológica de alimentos prontos a comer preparados em estabelecimentos de restauração. *Perpectivas*. Instituto Nacional de Saúde Dr. Ricardo Jorge, Centro de Segurança Alimentar e Nutrição, 64, 67-68.

Velho, M. Fonseca, S. & Pinheiro. R (2013). *Estratégias inovadoras para desenvolver alimentos mais saudáveis.* FOODSME-HOP TECHNOLOGY BOOK. Viana do Castelo: Instituto Politécnico de Viana do Castelo.