

Análise microbiológica e de nitrito e nitrato em linguiça

F. S. Adami¹; L. S. Giovanaz²; G. Altenhofen³; S. M. D. Bosco⁴;
A. Marcadenti⁵, E. C. Oliveira⁶

¹ *Doutoranda do Programa de Pós-graduação em Ambiente e Desenvolvimento, Univates, 95900-000, Lajeado-RS, Brasil*

² *Nutricionista, egressa do curso de nutrição da Univates, 95900-000, Lajeado-RS, Brasil*

³ *Acadêmica do curso de Química Industrial, Univates, 95900-000, Lajeado-RS, Brasil*

⁴ *Docente do Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia, Univates, 95900-000, Lajeado-RS, Brasil*

⁵ *Docente do Curso de Nutrição, Univates, 95900-000, Lajeado-RS, Brasil*

⁶ *Docente do Programa de Pós-graduação em Ambiente e Desenvolvimento, Ensino e Ensino de Ciências Exatas, Univates, 95900-000, Lajeado-RS, Brasil
fernandascherer@univates.br;*

(Recebido em 25 de novembro de 2014; aceito em 19 de março de 2015)

O objetivo deste estudo foi determinar o teor de nitrito e nitrato, pH e atividade de água, bem como realizar análise microbiológica de produtos cárneos classificados como linguiça produzidos em estabelecimentos do Vale do Taquari, fiscalizados por Inspeção Sanitária Municipal. Amostras de linguiça foram coletadas em 11 estabelecimentos em municípios localizados no Vale do Taquari durante os meses de abril, maio e junho de 2013. Em cada um dos 11 estabelecimentos, foram coletadas 3 amostras do mesmo produto, sendo cada uma delas de um lote distinto, totalizando 33 amostras de linguiça. Os teores de nitrito e nitrato, pH, atividade de água e análise microbiológica (coliformes termotolerantes, *Staphylococcus* coagulase positiva e *Salmonella* spp.) foram determinados conforme metodologias oficiais e parâmetros definidos pela legislação brasileira. De acordo com os resultados, 30,3% e 69,7% das amostras analisadas apresentaram, respectivamente, níveis de nitrito e nitrato acima do valor estabelecido pela legislação brasileira. Na análise microbiológica, 54,5%, 36,4% e 9,1% apresentaram crescimento acima do estabelecido para coliformes termotolerantes, *Staphylococcus* coagulase positiva e *Salmonella* spp., respectivamente. Todas as amostras estavam acima do valor de referência para atividade de água e dentro do valor de referência para pH. Os resultados indicam que os estabelecimentos não apresentaram padrão de produção, boas práticas e a maior parte das amostras de linguiça foi considerada imprópria para o consumo humano, principalmente em relação à concentração de nitrito e nitrato e a análise microbiológica.

Palavras-chave: Nitrito de Sódio. Conservantes de Alimentos. Análise Microbiológica.

Microbiological and Nitrite and Nitrate Analysis in Sausage

The objective of this study was to determine the levels of nitrite and nitrate, pH and water activity as well as perform microbiological analysis of meat products classified as sausage produced at Taquari Valley's establishments, supervised by Municipal Sanitary Inspection. Samples of sausage were collected from 11 establishments controlled by the Municipal Sanitary Inspection in towns of Taquari Valley during the months of April, May and June 2013. In each of the 11 facilities, three samples of the same product from different batches were collected, totaling 33 samples of sausages. The levels of nitrite and nitrate, pH, water activity and microbiological analysis (thermotolerant coliforms, coagulase positive *Staphylococcus* and *Salmonella* spp.) were determined according to official methods and parameters set by Brazilian legislation. According to the results, 30.3% and 69.7% of the samples showed, respectively, levels of nitrite and nitrate above the value established by the Brazilian legislation. In the microbiological analysis, 54.5%, 36.4% and 9.1% showed thermotolerant coliforms, coagulase positive *Staphylococcus* and *Salmonella* spp., respectively. All samples were above the reference value for the water activity value and within the reference to pH. The establishments no have patterns of production and the majority of samples of sausage was considered unfit for human consumption, especially in relation to the concentration of nitrite, nitrate and microbiological analysis.

Keywords: Sodium Nitrite. Food Preservatives. Microbiological Analysis.

1. INTRODUÇÃO

Os sais de nitrito e nitrato têm a finalidade de conservar, intensificar ou modificar as propriedades dos alimentos. Especificamente, nos produtos cárneos eles são empregados como aditivo alimentar devido sua ação preventiva na proliferação de esporos de algumas bactérias que podem causar alterações graves nestes produtos. A produção envolve várias etapas de manipulação, aumentando o risco de contaminação por microrganismos, patógenos ou deterioradores, comprometendo a qualidade higiênico-sanitária do alimento¹. Entre esses contaminantes podemos destacar os microrganismos patogênicos como a *Salmonella spp.* e os coliformes termotolerantes². Além disso, tem ação no sabor, na cor e na capacidade antioxidante, aumentando o tempo de conservação do produto³.

A legislação brasileira permite a adição de sais de nitrito e nitrato de sódio até os valores máximos de 0,015g/100g e 0,03g/100 g, respectivamente⁴. Por meio do uso destes sais é possível conservar os alimentos, tendo como função a estabilização da cor, desenvolvimento do sabor e aroma característicos de produtos curados, melhoramento da textura, atividade antimicrobiana e antioxidante⁵. Dentre os microrganismos patogênicos que podem estar presentes nos alimentos destacam-se coliformes termotolerantes, coliformes totais, *Staphylococcus coagulase positiva* e *Salmonella spp.*⁶. Quanto aos padrões microbiológicos, os produtos cárneos maturados devem apresentar contagem máxima de $1,0 \times 10^3$ UFC/g para coliformes termotolerantes, $5,0 \times 10^3$ UFC/g para *Staphylococcus coagulase positiva*; e ausência de *Samonella spp* em 25g da amostra⁷. É importante observar que a maioria dos alimentos contém nutrientes suficientes para que ocorra o desenvolvimento microbiano. Dentre os principais fatores podemos destacar a atividade de água e o pH⁸.

Entretanto, o consumo de sais de nitrito e nitrato de sódio além de um limiar pode causar leve prejuízo a saúde⁹, mas se o consumo for expressivo pode levar ao aumento da incidência de alguns tipos de câncer. Isso ocorre através de uma reação natural do organismo e nos alimentos, na qual o nitrato transforma-se em nitrito com a formação de nitrosaminas, que são potencialmente carcinogênicas¹⁰. Os nitratos são relativamente pouco tóxicos para os seres humanos, mas a sua toxicidade está atribuída principalmente a sua redução a nitrito. Esse composto pode reagir com as aminas e amidas secundárias e terciárias, formando compostos nitrosos como as nitrosaminas e nitroamidas, com grande potencial carcinogênico. Além disso, a ingestão excessiva de nitrito e nitrato na dieta pode ocasionar efeitos nocivos, como a formação de meteglobinemia (síndrome do bebê azul), que é produzida por oxidação da hemoglobina pelo nitrito, sendo as crianças mais susceptíveis a essa síndrome¹¹.

O objetivo deste estudo foi determinar o teor de nitrito e nitrato, pH e atividade de água, bem como realizar análises microbiológicas em produtos cárneos classificados como linguiça produzidos em estabelecimentos na região do Vale do Taquari, fiscalizados pelo serviço de Inspeção Sanitária Municipal (SIM).

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1. Amostras

As amostras de linguiça foram coletadas em 11 estabelecimentos fiscalizados pelo SIM em municípios localizados no Vale do Taquari durante os meses de abril, maio e junho de 2013. Em cada um dos 11 estabelecimentos, foram coletadas 3 amostras do mesmo produto, sendo cada uma delas de um lote distinto, totalizando 33 amostras de linguiça (n=33).

As amostras de linguiça foram adquiridas em peças inteiras diretamente nos estabelecimentos produtores e transportadas até o laboratório de análise em caixas refrigeradas a 4°C para evitar contaminação microbiológica. Ao chegar ao laboratório, cada linguiça foi fracionada em 5 amostras de 25g, embalada, identificada por estabelecimento, lote e data da coleta e acondicionada em refrigerador a 4°C. Destas, uma das amostras foi utilizada para realização da análise inicial de nitrito e nitrato e outra para análise microbiológica. As demais amostras permaneceram acondicionadas em refrigerador a 4°C por 7, 14 e 30 dias quando foi realizada

uma nova análise da concentração de nitrito e nitrato em cada uma das amostras para verificar a evolução na concentração ao longo do tempo.

2.2. Análises Físico-químicas

Os teores residuais de nitratos e nitritos, pH e atividade de água das amostras foram realizados segundo as metodologias analíticas oficiais previstas na Instrução Normativa nº20, de 21 de julho de 1999, do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA)¹².

A determinação quantitativa de nitrito consiste na reação de diazotização do íon nitrito com ácido sulfanílico e copulação com cloridrato de alfa-naftilamina em meio ácido, formando o ácido alfa-naftilamino-p-azobenzeno-p-sulfônico de coloração rósea. O produto resultante é determinado espectrofotometricamente a 540 nm¹³. O nitrato é reduzido a nitrito por ação do cádmio esponjoso em meio alcalino. Todas as análises de nitrito e nitrato foram realizadas em triplicata.

Para a determinação do pH utilizou-se pHmetro marca Digimed e para medir a atividade de água foi usado medidor Aqualab, modelo CX-2, sendo determinada uma vez em cada amostra.

2.3. Análises microbiológicas

Para as análises de coliformes termotolerantes foi utilizada a metodologia de AFNOR - Certificate Number 3M 01/2-09/89, para as análises de *Staphylococcus* coagulase positiva foi utilizada a metodologia de AFNOR – Certificate Number 3M 01/19 04/03 e para as análises de *Salmonella* spp. foi utilizada AFAQ AFNOR CERTIFICATION e ISO 6785:2001. Foi utilizado como parâmetro de referência a RDC nº 12⁷. As análises microbiológicas foram realizadas em laboratório certificado no Ministério da Agricultura (MAPA), na Rede Metrológica do Rio Grande do Sul, cadastrado na Fundação Estadual de Proteção Ambiental (FEPAM) e com ISO17025.

2.4. Análise estatística

Foi realizado o teste t-student para comparação dos valores da amostra com os valores de referência e o teste não-paramétrico de Wilcoxon para a comparação dos valores da amostra com os valores de referência para aquelas variáveis que apresentaram uma variação nos seus valores. Para os testes acima citados, o nível de significância assumido foi de 5% ($p \leq 0,05$) e o software utilizado para a análise estatística foi o SPSS versão 13.0.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Tabela 1 apresenta a concentração de nitrito e nitrato nas 33 amostras. No total, 30,3% das amostras apresentaram teor de nitrito e 69,7% apresentaram teor de nitrato acima do previsto pela legislação brasileira. Segundo a Portaria nº 1.004, de 11 de dezembro de 1998, do MAPA, o limite de nitrito estabelecido para produtos cárneos é de 0,015g/100g e de nitrato é de 0,03g/100g⁴. Contudo, neste estudo, verificamos que 54,5% das amostras apresentaram nitrito acima do permitido e 100% das amostras apresentaram nitrato acima do permitido em pelo menos um dos lotes analisados. Oliveira et al.⁹, obtiveram resultados semelhantes em relação ao nitrito, onde 50% das amostras de linguiça apresentaram nitrito em quantidades superiores ao valor de referência. Em relação ao nitrato, os mesmos autores encontraram 13,3% das amostras com resultado inferior ao valor de referência⁹. Como as análises foram realizadas em três lotes distintos, podemos observar que tais estabelecimentos não utilizam padrão de adição de sais de nitrito e nitrato, uma vez que o resultado da análise apresentou grande variação entre os lotes do mesmo produto e estabelecimento.

TABELA 1: Concentração de nitrito e nitrato (mg/kg) em amostras de lingüiça coletadas no Vale do Taquari - RS.

Estabele- cimento	Nitrito				Nitrato			
	Lote 1	Lote 2	Lote 3	Média	Lote 1	Lote 2	Lote 3	Média
1	195,9*	268,74*	13,13	159,26*	639*	703,75*	438,62*	593,79*
2	7,97	52,09	8,42	22,82	785,34*	553,59*	42,48	460,47*
3	10,96	62,4	6,28	26,54	663,3*	868,38*	523,67*	685,12*
4	89,88	320,74*	167,86*	192,82*	300,27*	287,77	220,91	296,65
5	44,48	42,84	5,25	30,86	87,38	469,1*	85,34	213,94
6	9,76	370,45*	21,02	133,74	447,19*	491,61*	519,94*	486,25*
7	450,51*	573,59*	449,27*	491,12*	62,14	526,22*	102,15	230,17
8	17,66	2,23	14,21	11,36	207,61	110,52	500,12*	272,75
9	138,63	102,67	239,35*	160,22*	734,89*	665,93*	774,53*	725,11*
10	33,68	78,83	878,09*	330,2*	446,25*	343,01*	127,28	305,51*
11	13,61	4,69	22,23	13,51	632,9*	437,43*	598,38*	556,23*

*Valores acima do valor de referência para nitrito de 150 mg/kg e de nitrato 300 mg/kg.

O estudo ainda observou que 50% das amostras apresentaram diminuição nas concentrações de nitrito e 40% nas de nitrato após 30 dias de armazenamento. Resultados diferentes foram encontrados por Stieven et al.¹⁴, onde 100% das amostras apresentaram redução considerável nos níveis de nitrito e nitrato. No processo de cura dos produtos cárneos, os teores de nitrito e nitrato tendem a diminuir após algum tempo de armazenamento, porque tanto o nitrito quanto o nitrato se convertem em outras substâncias. O nitrito é fonte de óxido nítrico, agente fixador de cor. Em meio ácido o nitrito libera ácido nitroso, que se decompõe em óxido nítrico e se fixa a mioglobina. O nitrato, por sua vez, se reduz a nitrito¹⁴ com formação de nitrosaminas, que são substâncias potencialmente cancerígenas¹⁰. Os sais de nitrito e nitrato podem causar inúmeros malefícios à saúde humana. Quando consumidos em pequenas doses causam dor de cabeça, desconforto gastrointestinal e endurecimento da face e extremidades. Em doses mais elevadas, os sintomas podem ser ainda mais graves, podendo, inclusive, causar alguns tipos de câncer¹⁵.

Dellavale et al.¹⁵ demonstrou que a ingestão de nitrito de fontes animais foi associado com risco aumentado de carcinoma de células renais, especialmente adenocarcinomas de células claras. Catsburg et al.¹⁶ associaram a ingestão de nitrato de carnes curadas com aumento significativo do risco de câncer de bexiga. Outro estudo associou a ingestão de nitrito com carcinoma de esôfago em homens, mas em mulheres os níveis de exposição foram menores e não encontramos associações positivas¹⁷. Segundo Dutra et al.¹⁸, existe relação entre o consumo excessivo de carnes curadas durante a gestação com o risco de tumor cerebral em crianças. Um estudo que avaliou a associação entre a ingestão de nitrito e nitrato e risco de câncer colorretal mostrou que o consumo de nitrato não foi associado com risco para este câncer em mulheres. No entanto, entre as mulheres com ingestão de vitamina C abaixo da mediana (83,9 mg/dia), e com isso, maior exposição ao óxido nítrico, o risco para câncer colorretal aumentou nos quintis crescentes do consumo de nitrato¹⁹.

A Tabela 2 demonstra a existência de uma diminuição do teor de nitrito e nitrato nos primeiros 14 dias em relação aos 7 primeiros e um aumento significativo da média de nitrato na lingüiça no 30º dia em relação a análise realizada no 14º dia, entretanto o aumento de nitrito neste período não foi significativo. A elevação dos valores de nitrato nas amostras ocorre em decorrência da oxidação do nitrito em nitrato¹⁴. Para Honikel²⁰, essa reação explica porque o nitrato de sódio foi encontrado em concentrações consideráveis em produtos cárneos nos quais apenas o nitrito foi adicionado. O nitrato inibe competitivamente a absorção de iodo pela tireóide. Com a redução do iodeto disponível, ocorre redução na produção dos hormônios

tireoidianos T3 e T4 e consequentemente aumento da produção de TSH, estimulador da tireóide. Este estímulo é um potencial carcinogênico quando ocorre com muita frequência no organismo humano. Além disso, o nitrato é reduzido a nitrito e quando entra em contato com as bactérias digestivas forma uma substância chamada nitrosamina, que também tem importante potencial carcinogênico²¹.

TABELA 2. Concentração de nitrito e nitrato (mg/Kg) em amostras de lingüiça coletadas no Vale do Taquari - RS

Analito	Tempo de armazenagem		
	7 dias	14 dias	30 dias
Nitrito	157,05±205,5	74,36±88,19	116,51±115,16
Nitrato	393,38 ^{AB} ±180,26	347,33 ^A ± 228,36	464,46 ^B ± 342,63

Os resultados são apresentados como média ± desvio padrão.

Teste não-paramétrico de Wilcoxon. Médias seguidas por mesma letra não diferem entre si. $p \leq 0,05$

Em relação aos resultados das análises microbiológicas, este estudo mostrou que 54,5% das amostras apresentavam contaminação por coliformes termotolerantes, resultado inferior ao encontrado por Marques et al.⁶, que encontrou 65% da sua amostra positiva para coliformes termotolerantes e Barbosa et al.²², que obteve resultado positivo para coliformes termotolerantes em 68% das amostras. Sabe-se que a presença dos coliformes termotolerantes servem como indicador higiênico sanitário e quando inadequados podem provocar riscos a saúde do consumidor, como diarreia, vômitos, febre e dor abdominal, e estão presentes exclusivamente no trato intestinal⁸. Portanto, é de fundamental importância que estas indústrias observem e respeitem as boas práticas de fabricação para garantir a segurança do produto.

Com relação à presença de *Staphylococcus* coagulase positiva, observou-se que 36,4% das amostras estavam acima do recomendado pela legislação. O estudo realizado por Marques et al.⁶ encontrou resultados semelhantes, uma vez que 35% das amostras apresentaram resultado positivo para a bactéria. Chaves et al.²³, por sua vez, encontrou um resultado superior ao deste estudo, onde 65% de suas amostras estavam contaminadas. *Staphylococcus* coagulase positiva é proveniente do homem e oferece grande risco de contaminação ao produto. Quando o alimento contaminado é ingerido, podem ocorrer sintomas como vômitos e dores abdominais²⁴. *Salmonella* spp. foi observada em 1 amostra (9,1%). O estudo realizado por Bezerra et al.⁵ encontrou valores superiores, onde 17,85% das amostras estavam contaminadas. Resultados semelhantes foram encontrados por Tessmann et al.²⁵, onde 20% das amostras estavam contaminadas por *Salmonella* spp.. Ela é transmitida ao homem através da ingestão de alimentos contaminados por fezes de animais. Os alimentos contaminados apresentam cheiro e textura normal e são, em sua maioria, alimentos de origem animal. *Salmonella* spp. é eliminada quando o alimento é bem cozido. Em geral, a contaminação por *Salmonella* spp. faz com que o paciente sinta fortes dores abdominais, diarreia e febre. Se a infecção difundir para o sangue ou outros tecidos, pode levar à morte²⁶.

O desenvolvimento microbiano é favorecido por características como a alta disponibilidade de água e pH próximo a neutralidade²⁷. A atividade de água é a medida mais acurada para determinar a possibilidade de crescimento microbiano²⁸. No presente estudo, a média de atividade de água mostrou-se significativamente acima do valor de referência de 0,7 em todas as amostras, o que pode explicar o alto índice de contaminação microbiana nas amostras, mesmo com a média da concentração de nitrato significativamente acima do recomendado, que é de 300 mg/kg. Em relação ao pH, todas as amostras estavam dentro da normalidade, entre 5,4 e 6,2 (Tabela 3), resultado semelhante ao de Bezerra et al.⁸. Cabe lembrar que o produtor tem responsabilidade sobre o produto e que o mesmo deve seguir e respeitar a legislação brasileira e com isso garantir a segurança alimentar dos consumidores²⁹.

Tabela 3: Comparação entre as médias de pH, nitrito, nitrato e atividade de água com os valores de referência.

Variável	Média ± Desvio Padrão)	Mediana	Referência	P
pH	5,59 ±0,14	5,58	5,4 - 6,2	>0,05**
Nitrito (mg/kg)	142,96 ±152,98	133,75	150	>0,05**
Nitrato (mg/kg)	433,22 ±193,39	477,61	300	≤0,05*
Atividade de água	0,94 ±0,01	0,94	0,6 - 0,7	≤0,01*

Teste t-student. *Resultado significativo. ** Resultado não-significativo.

4. CONCLUSÃO

O estudo mostrou inadequação em relação ao que é determinado pela legislação brasileira em relação à quantidade de nitrito e nitrato, parâmetros microbiológicos de coliformes termotolerantes, *Staphylococcus* coagulase positiva e *Salmonella* spp. e a atividade de água, e adequação em relação ao pH. Os estabelecimentos não apresentaram padrão de produção e a maior parte das amostras de linguiça foi considerada imprópria para o consumo humano, principalmente em relação à concentração de nitrito e nitrato e a análise microbiológica.

Sendo assim, fica evidente a necessidade de conscientização e treinamento dos pequenos produtores responsáveis por estes estabelecimentos, bem como a fiscalização mais eficiente por parte dos Serviços de Inspeção Municipal (SIM).

5. AGRADECIMENTOS

Ao Grupo de Pesquisa em Ambiente e Alimentos da Univates.

1. Moreau RLM, Siqueira MEPB. Toxicologia Analítica. Rio de Janeiro: Guanabarra Koogan; 2008.
2. Feitosa, T. et al. Pesquisa de *Salmonella* sp., *Listeria* sp. e microrganismos indicadores higiênico-sanitários em queijos produzidos no estado do Rio Grande do Norte. Ciênc. Tecnol. Aliment., 2003; v.23, Supl., p.162-165.
3. Martins OA, Graner CAF. Determinação espectrofotométricas dos íons de nitrito e nitrato em sais de cura. PUBVET [Internet]. 2008 [citado em 30 nov 2011]; 2(18). Disponível em: http://www.pubvet.com.br/artigos_det.asp?artigo=156.
4. BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância Sanitária. Portaria nº 1.004, de 11 de dezembro de 1998. Regulamento técnico sobre atribuição de função de aditivos, aditivos e seus limites máximos de uso para carne e produtos cárneos. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, 14 de dezembro de 1998.
5. Terra, ABM; Fries, LM; Terra, NN. Particularidades na Fabricação de Salame. São Paulo: Livraria Varela, 2004.
6. Marques SC, Boari CA, Brcko CC, Nascimento AR, Piccoli RP. Avaliação higiênico-sanitária de linguiças tipo frescal comercializadas nos municípios de Três Corações e Lavras MG. Ciênc Agrotec. 2006; 30(6):1120-3.
7. BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. RDC nº 12, de 10 de janeiro de 2001. Regulamento Técnico sobre Padrões Microbiológicos para Alimentos. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, Brasília, 10 de janeiro de 2001.
8. Bezerra MVP, Andrades MR, Silvestre MKS, Souza ES, Rocha MOR, Faustino JG, et al. Avaliação microbiológica e físico química de linguiça toscana no município de Mossoró, RN. Arq Inst Biol. 2012; 79(2):297-300.
9. Oliveira JM, Araújo WMC, Borgo LA. Quantificação de nitrato e nitrito em linguiça do tipo frescal. Ciênc Tecnol Aliment. 2005; 25(4):736-42.

10. Kreutz DH, Weizenmann M, Maciel MJ, Souza CFV. Avaliação das concentrações de nitrito e nitrato em hortaliças produzidas em cultivos convencional e orgânico na região do Vale do Taquari. UNOPAR Cient Ciênc Biol Saúde. 2012; 14(2):105-10.
11. Zamrik MA. Determination of Nitrate and Nitrite Contents of Syrian White Cheese. Pharmacology & Pharmacy, 2013; 4, 171-175.
12. BRASIL. Ministério da Agricultura e Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 20, de 21 de julho de 1999. Métodos Analíticos Físico-químicos para controle de produtos cárneos e seus ingredientes – sal e salmoura. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, 27 de julho de 1999.
13. Lara WH, Takahashi MY, Silveira N. Determinação de nitritos e nitratos em conservas de carne. Rev Inst Adolfo Lutz. 1978;38(2):161-6.
14. Stieven A, Souza CFV. Variação das concentrações de nitrato e nitrito em linguiça frescal, adicionadas de diferentes concentrações de eritorbato de sódio. Hig Aliment. 2012; 26(208/209):180-6.
15. Dellavalle CT, Daniel CR, Aschebrook-Kilfoy B, Hollenbeck AR, Cross AJ, Sinha R, *et al.* Dietary intake of nitrate and nitrite and risk of renal cell carcinoma in the NIH-AARP Diet and Health Study. Br J Cancer. 2013; 108(1):205-12.
16. Catsburg CE, Gago-Dominguez M, Yuan JM, Castela JE, Cortessis VK, Pike MC, *et al.* Dietary sources of N-nitroso compounds and bladder cancer risk: findings from the Los Angeles bladder cancer study. Int J Cancer. 2014; 134(1):125-35.
17. Keszei AP, Goldbohm RA, Schouten LJ, Jakszyn P, van den Brandt PA. Dietary N-nitroso compounds, endogenous nitrosation, and the risk of esophageal and gastric cancer subtypes in the Netherlands Cohort Study. Am J Clin Nutr. 2013; 97(1):135-46.
18. Dutra CB, Rath S, Reyes FGR. Nitrosaminas voláteis em alimentos. Alim Nutr. 2007;18(1):111-20.
19. Dellavalle CT, Xiao Q, Yang G, Shu XO, Aschebrook-Kilfoy B, Zheng W, *et al.* Dietary nitrate and nitrite intake and risk of colorectal cancer in the Shanghai Women's Health Study. Int J Cancer. 2014; 134(12): 2917-26.
20. Honikel, K. The use and control of nitrate and nitrite for the processing of meat products. Meat Science, 2008, v.78, p.68-76.
21. Kilfoy BA, Zhang Y, Park Y, Holford TR, Schatzkin A, Hollenbeck A, *et al.* Dietary nitrate and nitrite and the risk of thyroid cancer in the NIH-AARP Diet and Health Study. Int J Cancer. 2011; 129(1):160-72.
22. Barbosa MBC, Thiago MS, Santos WLM, Martins NE. Avaliação da qualidade microbiológica de linguiças frescas de carne suína no município de Sete Lagoas. Hig Aliment. 2003; 17(104/105):20-1.
23. Chaves GMC, Gonçalves PMR, Franco RM, Carvalho JCAP. Avaliação bacteriológica de linguiça frescal suína comercializada no município do Rio de Janeiro, RJ. Hig Aliment. 2000;14(73):48-52.
24. Franco RM. *Escherichia coli*: ocorrência em suínos abatidos na Grande Rio e sua viabilidade experimental em linguiça frescal tipo toscana [tese]. Rio de Janeiro: Universidade Federal Fluminense: Universidade Federal Fluminense; 2002.
25. Tessmann C, Lima AS, Duval EH, Macedo MRP, Silva WP. Prevalência de salmonela e staphylococcus aureus em linguiça do tipo frescal derivadas de carne suína [anais de congresso]. In: Congresso Brasileiro de Microbiologia; 2001; Foz do Iguaçu; 2001.
26. Oliveira E, Sanvitto G, Gus P, Zelmanoicz R. Intoxicação alimentar por salmonela. ABC da Saúde [Internet]. 2013 [citado em 13 jun 2013]. Disponível em: <http://www.abcdasaude.com.br/artigo.php?484>.
27. Contreras CJ, Bramberg R, Cipollo KMVAB, Miyagusk L. Higiene e sanitização na indústria de carnes e derivados. São Paulo: Varela; 2002.
28. Bell LN, Labuza TP. Compositional Influence on the pH of Reduced-Moisture Solutions. J Food Science. 1992; 57(3):732-4.
29. Rodrigues W, Augusto RS, Neves RCF, Martins OA. Determinação espectrofotométrica do íon nitrito em linguiça tipo frescal. Revista Eletrônica de Educação e Ciência. 2012; 2(3):6-11.