

URI - CAMPUS ERECHIM
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE MESTRADO EM ENGENHARIA DE ALIMENTOS

**AVALIAÇÃO DA OXIDAÇÃO LIPÍDICA E PROTÉICA EM
LINGUIÇAS CALABRESA E TOSCANA**

Juliana Marques Soares

Dissertação de Mestrado submetida ao Programa de Mestrado em Engenharia de Alimentos da URI-Campus de Erechim, como requisito parcial à obtenção do Grau de Mestre em Engenharia de Alimentos, Área de Concentração: Engenharia de Alimentos, da Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões – URI, Campus de Erechim.

Erechim, RS, Brasil

07 de março de 2012.

FOLHA DE APROVAÇÃO

A Comissão Examinadora, abaixo assinada, aprova a Dissertação de Mestrado
Avaliação da oxidação lipídica e protéica em linguiças Calabresa e Toscana.

Por

Juliana Marques Soares

Como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Engenharia de Alimentos

Comissão Julgadora:

Prof^a. Eunice Valduga
Orientadora

Prof^a. Clarissa Dalla Rosa
Orientadora

Prof^o Ernesto Hashime Kubota.
(Universidade Federal de Santa Maria)

Prof^a. Juliana Steffens Meneghelli
(Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai)

NESTA PÁGINA DEVERÁ SER INCLUÍDA A FICHA CATALOGRÁFICA DA DISSERTAÇÃO DE MESTRADO. ESTA FICHA SERÁ ELABORADA DE ACORDO COM OS PADRÕES DEFINIDOS PELO SETOR DE PROCESSOS TÉCNICOS DA BIBLIOTECA DA URI – CAMPUS DE ERECHIM.

Dedico este trabalho:

A minha filha Ana Laura Iwai e meu marido Afonso Iwai pelo amor e a compreensão da minha ausência

A minha mãe por sempre me incentivar a seguir em frente.

AGRADECIMENTOS

A Deus o Senhor de tudo em mim, que guia os meus passos por diversos caminhos, muitas vezes considerados por mim intransponíveis, mas que estando presente em todos os momentos de minha vida concede-me força para vencer todos os obstáculos.

A minha filha Ana Laura e meu esposo Afonso pelo tempo subtraído do seio familiar para realização deste trabalho.

A minha mãe Lucia, meu irmão Leonardo a toda a minha família, agradeço pelo apoio.

As professoras Eunice Valduga e Clarissa Dalla Rosa pelo estímulo e orientação e amizade.

As professoras Geciane Toniazzo e Elisandra Rigo, pelo auxílio durante o desenvolvimento do trabalho.

As amigas e colegas de mestrado Rosicler Collet, Naiane Marcon e Débora Demartini pelo apoio, amizade, companheirismo e conselhos que me ajudaram a seguir em frente. Vocês foram minha melhor descoberta no mestrado.

As companheiras de laboratório e grandes amigas Ilizandra Fernandes e Claudia Trentin,

As amigas Marceli Fernandes e Jamile Zeni por sempre me auxiliarem quando me julguei perdida.

Ao amigo Iloir Gaio por seus ensinamentos e colaboração em momentos decisivos.

Ao pessoal de Central de Materiais e prestação de serviços Rositânia , Andriele, Vera, Madalena e Marciele, pelo apoio técnico para realização dos experimentos;

Aos bolsistas Gabriel Zanardo e Michele Peccin pela grande ajuda na realização da parte experimental.

Aos amigos William Cortez-Vega, Inajara Piotrowicz e Fernanda Corrêa que mesmo de longe sempre estiveram comigo.

À URI – Campus de Erechim pelo apoio na realização deste projeto.

“Porque, quando sou fraco, então, é que sou forte ”

(2 Coríntios 12:10)

Resumo da Dissertação apresentada ao Programa de Pós Graduação em Engenharia de Alimentos como parte dos requisitos necessários para a obtenção do Grau de Mestre em Engenharia de Alimentos.

Avaliação da oxidação lipídica e protéica em linguiças Calabresa e Toscana.

Juliana Marques Soares

Março de 2012.

Orientadoras: Eunice Valduga

Clarissa Dalla Rosa

Este trabalho teve por objetivo avaliar a oxidação lipídica e protéica em produtos cárneos – linguiça Toscana e Calabresa. Na linguiça Toscana foi avaliada a influência de diferentes estruturas de embalagem (Polietileno (PE), Nylon Poli (Nylon) e Copolímero de etileno e álcool vinílico (EVOH)) e na linguiça Calabresa os efeitos de diferentes tratamentos (tempo de contato: 60 a 150 s; fração da diluição: 1:2 a 1:4, v/v) de fumaça líquida comercial sobre a estabilidade oxidativa. O acompanhamento da oxidação lipídica foi realizado mediante determinação de TBARS, índice de peróxidos, composição de ácidos graxos e compostos voláteis (hexanal), e da oxidação protéica mediante determinações de grupos carbonil e grupos sulfidrilas. Em relação a oxidação lipídica – TBARS, no 35º dia de armazenamento, a amostra de linguiça Toscana armazenada a 8 °C na embalagem de PE, apresentou o maior valor de TBARS (0,37 mg MDA/kg), diferindo significativamente ($p < 0,05$) das demais embalagens. Nas amostras de linguiça Calabresa houve um aumento progressivo nos valores de TBARS, e aos 28 dias há diferença significativa ($p < 0,05$) nos tratamentos, quando comparados aos demais dias de armazenamento, com teor de 0,44 mg MDA/kg onde a fração da diluição foi de 1:4 (v/v) e tempo de contato de 60 e 150 s, respectivamente. O índice de peróxidos de amostras de linguiça Toscana armazenadas em embalagem de Nylon, diferiram estatisticamente das demais embalagens no 35º dia de acondicionamento, apresentando valor de 19,11 mEq/Kg. O teor médio de ácidos graxos insaturados foi de 12,39 e 13,1 g/100 g para a linguiça Toscana e Calabresa, respectivamente. O hexanal foi detectado nas amostras de linguiça Toscana armazenadas em embalagem de PE no 35º dia. Em relação a oxidação protéica, verificou-se um aumento progressivo dos grupos carbonil com o período de armazenamento, independente da embalagem ou do tratamento de fumaça líquida, com teores de 0,70 a 2,03 nmol carbonil/mg proteína para a linguiça Toscana e de 1,59 a 3,85 nmol carbonil/mg proteína para a linguiça Calabresa. No entanto, os grupos sulfidrilas sofreram um decréscimo com o decorrer do período de

armazenamento, independente da embalagem ou do tratamento de fumaça líquida empregados, com faixa de variação de 42,51 a 13,89 $\mu\text{moles/ mg}$ de proteína para a linguiça Toscana e de 77,16 a 12,11 $\mu\text{moles/ mg}$ de proteína para a linguiça Calabresa.

Palavras-chave: Linguiça Toscana e Calabresa, Oxidação lipídica, Oxidação protéica.

Evaluation of lipid and protein oxidation in sausages Calabrese and Tuscany.

Advisers: Eunice Valduga

Clarissa Dalla Rosa

This study aimed to evaluate the lipid and protein oxidation in meat products – Calabrese and Tuscany sausages. In Tuscany sausage was evaluated the influence of different packing structures (Polyethylene (PE), Poly Nylon (Nylon) and copolymer of ethylene and vinyl alcohol (EVOH) and at Calabrese sausage the effects of different treatments (contact time: 60 to 150 s; fraction of the dilution 1:2 to 1:4 v/v) of commercial liquid smoke on the oxidative stability. The monitoring of lipid oxidation was performed by determination of TBARS, peroxide value, fatty acid composition and volatile compounds (hexanal) and determinations of protein oxidation by carbonyl groups and sulfhydryl groups. For lipid oxidation - TBARs, on the 35th day of storage, the sample of Tuscany sausage stored at 8 °C in the packaging of PE, showed the highest value of TBARs (0.37 mg MDA/kg), differing significantly ($p < 0.05$) from other packages. At the samples of Calabrese sausage there was a progressive increase in TBARS values, and at 28 days was significant difference ($p < 0.05$) in treatments, when comparing other days of storage, with a content of 0.44 mg MDA/kg where the fraction of dilution was 1:4 (v/v) and the contact time of 60 and 150 s, respectively. The peroxide value of Tuscany sausage samples stored in Nylon packaging, differed statistically from the other packages on the 35th day of packing, with value of 19.11 mEq/kg. The average content of unsaturated fatty acids was 12.39 and 13.1 g/100 g for the Tuscany and Calabrese sausage, respectively. Hexanal was detected in Tuscany sausage samples stored in packaging of PE on the 35th day. For protein oxidation, there was a progressive increase of the carbonyl groups with the storage period, independent of packing or treatment of liquid smoke, with levels from 0.70 to 2.03 nmol carbonyl/mg protein for the Tuscany sausage and 1.59 to 3.85 nmol carbonyl/mg protein for the Calabrese sausage. However, the sulfhydryl groups suffered a decrease in the course of the storage period, independent of packing or treatment of liquid smoke used, with variation range of 42.51 to 13.89 μ mol/mg protein for Tuscany sausage and 77.16 to 12.11 μ mol/mg protein for Calabrese sausage.

Keywords: Tuscany and Calabrese sausage, lipid oxidation, protein oxidation.

Sumário

1.INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	3
2.1 Linguiças	3
2.1.1 Linguiça	3
2.1.2 Linguiça Toscana	3
2.1.3 Linguiça Calabresa.....	5
2.2.2 Embalagens	6
2.3 Defumação	8
2.3.1. Fumaça Líquida.....	9
2.4. Composição lipídica de carnes.....	10
2.5 Alterações bioquímicas de produtos cárneos	12
2.5.1 Oxidação Lipídica.....	12
2.5.2. Oxidação de proteínas	22
3.MATERIAL E MÉTODOS	27
3.1.Preparo das Amostras.....	27
3.2. Determinações Analíticas	28
3.2.1 TBARS -Substâncias Reativas ao Ácido Tiobarbitúrico	28
3.2.2 Índice de Peróxido.....	28
3.2.3.Compostos voláteis - Hexanal.....	29
3.2.4 Composição de Ácidos Graxos	30
3.2.5. Grupo Carbonil.....	31
3. 2. 6 Grupos Sulfidrilicos	31
3.3 Análise estatística.....	31
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	33
4.1 Avaliação da oxidação lipídica.....	33
4.2 Compostos voláteis - HEXANAL.....	40
4. 3. Composição de ácidos graxos.....	41
4.3.1 Ácidos graxos saturados.	41
4.3.2. Ácidos graxos insaturados	51
4.2. Avaliação da Oxidação protéica	60

5.CONCLUSÃO.....	73
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	74
Apêndice I.....	88
Apêndice II.....	91

Lista de Tabelas

Tabela 1: Características de Identidade e Qualidade de Linguiças Frescas	4
Tabela 2: Exemplo de formulação comumente utilizada na produção de linguiça frescal de suíno.	4
Tabela 3: Exemplo de formulação de linguiça Tipo Calabresa defumada.	6
Tabela 4: Características físico-químicas da linguiça Calabresa cozida e defumada.	6
Tabela 5: Composição em ácidos graxos em depósitos de gordura subcutânea (em % do total de ácidos graxos).	11
Tabela 6 Níveis das variáveis independentes utilizadas no planejamento fatorial 2^2 para as amostras tratadas com a fumaça líquida.	28
Tabela 7: Valores de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARs) de amostras de linguiça Toscana armazenadas em diferentes embalagens no período de 35 dias a 8°C.	33
Tabela 8: Valores de Índice de Peróxidos de amostras de linguiça Toscana armazenadas em diferentes embalagens no período de 35 dias a 8°C.	35
Tabela 9: Matriz do planejamento fatorial 2^2 (valores codificados e reais) e resposta de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARs) de amostras de linguiça Calabresa aos 28 dias de armazenamento a 20°C.	37
Tabela 10: Teores de ácido palmítico (g/100g) de amostras de linguiça Toscana armazenadas por 35 dias nas diferentes embalagens.	42
Tabela 11: Matriz do planejamento fatorial 2^2 (valores codificados e reais) e resposta de composição de ácido palmítico (g/100g) para os 28 dias de armazenamento.	43
Tabela 12: Teores de ácido esteárico (g/100g) de amostras de linguiça Toscana armazenadas por 35 dias em diferentes estruturas de embalagem.	46
Tabela 13: Matriz do planejamento fatorial 2^2 (valores codificados e reais) e resposta de composição de ácido esteárico (g/100g) das amostras de linguiça Calabresa para os 28 dias de armazenamento.	48
Tabela 14: Teores de ácido oléico (g/100g) de amostras de linguiça Toscana armazenadas por 35 dias em diferentes embalagens.	52
Tabela 15: Matriz do planejamento fatorial 2^2 (valores codificados e reais) e resposta de composição de ácido oléico (g/100g) para a linguiça Calabresa, submetida a diferentes tratamentos de fumaça líquida aos 28 dias de armazenamento a 20°C.	53
Tabela 16: Composição de ácido linolênico (g/100g) de amostras de linguiça Toscana armazenadas por 35 dias nas diferentes embalagens.	56

Tabela 17: Matriz do planejamento fatorial 2^2 (valores codificados e reais) e resposta de composição de ácido linoléico (g/100g) para as amostras de linguiça Calabresa para os 28 dias de armazenamento.....	57
Tabela 18: Grupos carbonil das amostras de linguiça Toscana armazenadas em diferentes embalagens por 35 dias.	61
Tabela 19: Matriz do planejamento fatorial 2^2 (valores codificados e reais) e resposta de grupos carbonil (nmol carbonil/mg proteína) para as amostras de linguiça Calabresa para os 28 dias de armazenamento.....	62
Tabela 20: Grupos sulfidrilas das amostras de linguiça Toscana acondicionadas em diferentes estruturas de embalagem armazenadas por 35 ^o dias a 8°C.	67
Tabela 21: Matriz do planejamento fatorial 2^2 (valores codificados e reais) e resposta de grupos sulfidrilas (μ moles/mg de proteína) de amostras de linguiça Calabresa aos 28 dias de armazenamento.....	69

Lista de Figuras

Figura 1: Esquema geral da oxidação lipídica (SILVA <i>et al</i> , 1999).	12
Figura 2: Reação entre o ácido 2-tiobarbitúrico e o malonaldeído, formando o composto colorido, medido espectrofotometricamente a 532 nm.	16
Figura 3: Representação esquemática das reações das proteínas com os lipídios oxidados (KAREL <i>et al</i> , 1975).	23
Figura 4: Esquema ilustrativo do processo de microextração em fase sólida - SPME-HS (VALDUGA, 2005).	30
Figura 5: Correlação entre Substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico e índice de peróxidos das amostras de linguiça Toscana armazenadas a 8°C em diferentes embalagens no período de 35 dias.	36
Figura 6: Gráfico de Pareto com o efeito estimado (valor absoluto) das variáveis estudadas no planejamento experimental 2^2 para TBARs aos 0 dia (a), 7º dia (b) e 14º dia (c) e 28º dia (d) de armazenamento, respectivamente.	39
Figura 7: Comportamento do ácido palmítico para as amostras de linguiça Toscana embaladas nas estruturas de EVOH, Nylon e PE.	42
Figura 8: Gráfico de Pareto com o efeito estimado (valor absoluto) das variáveis estudadas no planejamento experimental 2^2 para ácido palmítico no 0º, 14º e 28º dia de armazenamento, respectivamente.	45
Figura 9: Composição de ácido esteárico para amostras de linguiça Toscana armazenada as três estruturas de embalagens.	46
Figura 10: Gráfico de Pareto com o efeito estimado (valor absoluto) das variáveis estudadas no planejamento experimental 2^2 para teor de ácido esteárico da linguiça Calabresa submetida a diferentes tratamentos de fumaça líquida no 0º dia (a), 14º dia (b) e 28º dia (c) de armazenamento, respectivamente.	50
Figura 11: Composição de ácido oléico para amostras de linguiça Toscana armazenada as três estruturas de embalagens.	53
Figura 12: Gráfico de Pareto (a) e (b) com o efeito estimado (valor absoluto) das variáveis estudadas no planejamento experimental 2^2 para teor de ácido oléico no 0 (a), 14º (b) e 28º (c) dia de armazenamento.	55
Figura 13: Composição de ácido linolênico das amostras de linguiça Toscana nas três estruturas de embalagens durante os 35 dias.	56
Figura 14: Gráfico de Pareto com o efeito estimado (valor absoluto) das variáveis estudadas no planejamento experimental 2^2 para teor de ácido linoléico no 0º dia (a), 14º dia (b) e 28º dia (c) de armazenamento, respectivamente.	59

Figura 15: Gráfico de Pareto com o efeito estimado (valor absoluto) das variáveis estudadas no planejamento experimental 2^2 para os grupos carbonil de amostras de lingüiça Calabresa aos 0 dia (a), 7ºdia (b), 14ºdia (c), 21ºdia (d) e 28ºdia (e) de armazenamento, respectivamente.	65
Figura 16: Correlação entre proteína carbonil e grupos sulfidrilas de amostras de lingüiça Toscana armazenadas em diferentes embalagens por 35 dias.....	68
Figura 17: Gráfico de Pareto com o efeito estimado (valor absoluto) das variáveis estudadas no planejamento experimental 2^2 para os grupos sulfidrilas para o 0º dia (a), 7ºdia (b), 14ºdia (c), 21ºdia (d) e 28º dia (e) de armazenamento, respectivamente.	72
Figura 18: Cromatograma típico da determinação de ésteres metílicos de ácidos graxos das amostras de lingüiça Toscana.	88
Figura 19: Cromatograma típico da determinação de ésteres metílicos de ácidos graxos das amostras de lingüiça Calabresa.....	88
Figura 20 : Corrida do padrão de hexanal (99%).....	89
Figura 21 : Corrida do padrão metil estearato.	89
Figura 22: Corrida do padrão metil liolenato.....	89
Figura 23: Corrida do padrão metil oleato.	90
Figura 24 : Corrida do padrão metil palmitato.....	90
Figura 25 : Corrida do padrão metil linoleato.....	90

1.INTRODUÇÃO

Carne e produtos cárneos são essenciais na dieta. Seus principais componentes, além da água, são as proteínas e gorduras, vitaminas e minerais com alto grau de biodisponibilidade (GINÉS *et al.*, 2005). A oxidação lipídica e/ou protéica é um importante fator limitador da qualidade da carne e de produtos cárneos e tem interferido na aceitabilidade dos consumidores (ORDÓÑEZ, 2005). Este fenômeno causa desvalorização comercial e leva a indústria de produtos cárneos a adotar medidas que o limitem, pois este processo de oxidação acarreta alterações organolépticas nos produtos, tais como, alterações da coloração da carne e da gordura, desenvolvimento de sabor e aroma desagradáveis, tornando os alimentos impróprios para consumo, além de provocar outras alterações que irão afetar a qualidade nutricional através da formação de compostos potencialmente tóxicos, mutagênicos e carcinogênicos (KUBOW, 1990; PANIANGVAIT *et al.*, 1995).

Atualmente, a indústria cárnea vem buscando diferentes tecnologias para agregar valor à matéria-prima (carne suína, bovina, etc) e prevenir a deterioração, contando com embutideiras a vácuo, envoltórios dos mais diversos tipos, estufas de cozimento e/ou defumação automatizadas, instalações frigoríficas adequadas, embalagens á vácuo e/ou com atmosfera modificada e condimentos necessários para a fabricação de produtos seguros e de fácil preparação para o consumo, buscando atrair cada vez mais o consumidor (OLIVO, 2005).

Neste contexto, uma versão líquida de fumaça vem tendo uma crescente utilização em uma variedade de produtos cárneos, este produto consta na lista GRAS (Generally Recognized as Safety) do FDA (Food and Drug Administration) dos EUA (ADICON, 1998), com o termo “*flavor* de fumaça natural”, denominação atribuída a produtos que foram defumados artificialmente com a fumaça líquida que é considerada um ingrediente. O sistema de aplicação da fumaça líquida vem sendo adotado nas indústrias, particularmente nas de maior escala de produção. A fumaça líquida possui vários componentes que possam vir a ter efeitos antioxidantes, antibacterianos e melhorando características organolépticas, tais como a coloração e o sabor. Além disso, proporciona uma maior uniformidade de sabor e cor e possui maior facilidade de aplicação. Também os problemas de emissão de componentes presentes na fumaça tradicional como: alcatrão, resinas e benzopirenos são removidos da fumaça tradicional por destilação, filtração e envelhecimento. Por isso, é possível produzir

produtos mais seguros, econômicos e uniformes usando fumaça líquida (GONULALAN *et al*, 2003).

Neste sentido é que se insere o presente estudo, que teve como objetivo avaliar a estabilidade oxidativa de produtos cárneos - Liguigas Tipo Toscana e Calabresa, submetidos a diferentes tecnologias de prevenção da deterioração, tais como diferentes estruturas de embalagem (Polietileno, Nylon e EVOH) submetidas à vácuo e defumação com fumaça líquida, buscando uma correlação de diferentes métodos de avaliação da oxidação lipídica e protéica.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Neste item será apresentado uma revisão bibliográfica de produtos cárneos – Linguiças, abordando aspectos de definição, processamento, características de qualidade em termos físico-químicos, microbiológicos e sensoriais, bem como diferentes embalagens (barreiras ao oxigênio) que podem ser aplicadas neste produto e suas interações com o mesmo.

2.1 Linguiças

Desde a longínqua antiguidade, o homem vem fabricando diversos tipos de linguiças, buscando conservar a carne e oferecer um produto ao alcance das aspirações do consumidor. Há registros na história do consumo de linguiças entre os babilônios e chineses já por volta de 1500 a.C. A partir da Idade Média, uma grande variedade de linguiças era comercializada e essas variedades tinham uma forte influência do tipo de clima da região de origem. Muitas linguiças são designadas segundo as regiões onde foram desenvolvidas; é o caso das linguiças Calabresa (Calábria, Itália), Toscana (Toscana, Itália), Portuguesa (Portugal), entre outras (TERRA, 1998). Segundo Oda *et al.* (2003) o embutido apareceu no Brasil graças as receitas tradicionais, trazidas por famílias imigrantes alemãs e italianas, embora tenha sofrido adaptações as condições climáticas e ao paladar local.

Com a modernização e diversificação da produção nos frigoríficos, houve um aumento no volume da carne embutida, transformando-se em fonte de proteína animal.

2.1.2 Linguiça Toscana

De acordo com Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (BRASIL, 2000) a linguiça designada Toscana é o produto cru obtido exclusivamente de carne suína, adicionada de gordura suína e ingredientes. Na Tabela 1 é possível observar as características de linguiças denominadas frescas segundo o padrão de identidade e qualidade do produto.

Tabela 1: Características de Identidade e Qualidade de Linguiças Frescais

Características	Unidade (%)	Quantidade
Umidade	máx.	70
Proteína	min.	12
Gordura	máx.	30
Amido ¹	máx.	0
Cálcio (em base seca)	máx.	0,1
CMS ²	máx.	0
Proteína não cárnea ³	máx.	0

¹) A adição de amido não é permitida em Linguiças Frescas; (2) É proibido o uso de CMS (Carne Mecanicamente Separada) em Linguiças Frescais; (3) Não é permitida a adição de proteínas não-cárneas (vegetal e/ou animal), como proteína agregada em linguiças tipo Toscana (BRASIL, 2000)

No Brasil, linguiça fresca é um dos produtos cárneos mais consumidos. Entre os parâmetros que definem a qualidade de um produto cárneo, a formulação é um dos mais importantes. A elaboração de um produto cárneo inicia-se pela definição dos componentes, requer informações sobre as propriedades e a composição das matérias-primas cárneas incluídas no produto. Esta formulação deverá cumprir com os requisitos de legislação, qualidade organoléptica e de estabilidade microbiológica, além de apresentar custo compatível a comercialização do produto (ALMEIDA, 2005).

A Tabela 2 apresenta um exemplo de formulação comumente utilizada na produção de linguiça fresca de suíno.

Tabela 2: Exemplo de formulação comumente utilizada na produção de linguiça fresca de suíno.

Ingredientes	Quantidade*
Carne de Porco com 35 % de Gordura	70 kg
Carne de Porco com 15 % de Gordura	25 kg
Sal	1,8 kg
Gelo	3 kg
Sais de Cura	150 mg/kg
Corante Natural	Q.S.
Condimentos	20 g

*Quantidade de ingredientes suficientes para produzir aproximadamente 100kg do produto cárneo (ITAL, 1988).

O processamento das linguiças frescas é relativamente simples e, com a observação de certas regras, a produção desse tipo de produto pode ser muito lucrativa ao fabricante. As principais etapas envolvidas no processamento de linguiça são: recebimento da matéria-prima; preparo e formulação; moagem; mistura das carnes com condimentos e aditivos até completa homogeneização para desenvolvimento do sabor e início do processo de cura e embutimento (BRUM, 2009).

Devido ao alto teor de gordura, a natureza das matérias-primas e a falta de tratamento térmico, tal produto é propenso à deterioração por oxidação lipídica, oxidação proteica e a contaminação microbiana (GEORGANTELIS *et al.*, 2007). A linguiça, mesmo mantida sob refrigeração, começa a apresentar certas modificações no quinto ou sexto dia, após o processamento. No entanto, sob condições adequadas de processamento incluindo uso de aditivos permitidos como nitrito de sódio, condimentos esterilizados e com boas práticas de fabricação, a vida útil pode ser prolongada por 15 a 20 dias sob refrigeração adequada (IBRAC, 1980; PRANDL *et al.*, 1994).

2.1.3 Linguiça Calabresa

A linguiça para ser classificada como calabresa deve ser obtida exclusivamente de carne suína, curada, e adicionada de ingredientes, devendo ter o sabor picante característico da pimenta calabresa, submetidas ou não ao processo de estufagem ou similar para desidratação e ou cozimento, sendo o processo de defumação opcional. Nas linguiças denominadas tipo Calabresa que são submetidas ao processo de cozimento, é permitindo a adição de até 20 % de carne mecanicamente separada - CMS (BRASIL, 2000). A Tabela 3 apresenta um exemplo de formulação de linguiça Tipo Calabresa defumada.

Tabela 3: Exemplo de formulação de linguiça Tipo Calabresa defumada.

Ingredientes	Quantidade
Retalho suíno (20 % gordura)	78,00 kg
Toucinho	14,00 kg
CMS de frango	5,00 kg
Água e/ou gelo	6,00 kg
Proteína Texturizada de soja (PTS)	3,00 kg
Cloreto de sódio	1,25 kg
Pó Húngaro III	0,30 kg
Fixador A-80	0,25 kg
Condimento para linguiça Calabresa	1,00 kg
Krakoline E	0,25 kg
Alho natural moído	0,15 kg
Cebola (pasta)	0,35 kg
Vinho tinto seco	0,45 L

Fonte: TERRA (1998).

Segundo o Artigo 424 do Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal (RIISPOA), entende-se por defumados os produtos que após o processo de cura são submetidos à defumação, para lhes dar aroma e sabor característico, além de um maior prazo de vida comercial por desidratação parcial (BRASIL, 2000). Na Tabela 4 são apresentadas as características de linguiças denominadas Calabresa segundo a legislação brasileira.

Tabela 4: Características físico-químicas da linguiça Calabresa cozida e defumada.

Características	Teores
Umidade (% p/p)	máximo 60
Gordura (% p/p)	máximo 35
Proteína (% p/p)	mínimo 14
Cálcio (% p/p, base seca)	máximo 0,3

Fonte: BRASIL (2000).

2.2.2 Embalagens

Para a obtenção de produtos cárneos com qualidade assegurada e armazenados por longos períodos, a embalagem desempenha papel fundamental. Através dela, pode-se diminuir a contaminação, retardar a deterioração microbiológica, manter uma coloração desejável, retardando-se a perda de umidade e a oxidação de gorduras. Esse aumento da vida útil permite uma ampliação do alcance do sistema de distribuição de carnes e derivados embalados. No produto embalado há maior conveniência no uso, redução de perdas por degradação, melhor apresentação do produto ao consumidor e possibilidade de divulgação da marca comercial (SARANTÓPOULOS & OLIVEIRA, 1991).

A indústria de alimentos tem desenvolvido diferentes tecnologias em embalagens tentando aumentar a vida de prateleira de produtos perecíveis como carnes e produtos cárneos. Entre essas tecnologias, a embalagem a vácuo previne que os produtos sejam contaminados e haja perdas por evaporação, e embalagem em atmosfera modificada também tem aumentado o prazo de validade de produtos cárneos (GARCÍA-ESTEBAN *et al*, 2004). Embalar carnes e produtos cárneos frescos em filme de alta permeabilidade ao oxigênio como o cloreto de polivinila (PVC), torna o pigmento superficial do produto oxigenado e há o desenvolvimento da cor vermelha rapidamente, entretanto, o processo de descoloração do produto ocorre em no máximo sete dias (JAYASINGH *et al.*, 2001).

Depois da entrada dos filmes de alta barreira no mercado, o setor de embalagens evoluiu, a tendência é o uso de embalagens ativas e inteligentes para o setor de carnes, que ao receber algo do ambiente externo atuará sobre ele, como é o caso da incorporação de agentes antimicrobianos, do absorvedor de oxigênio, ou do absorvente antimicrobiano para bandejas, que vão controlar a deterioração e perda de qualidade do produto e promover a praticidade ao consumidor. Porém, o tamanho do país, as condições de transporte, a presença ainda constante de açougues em lugares distantes e o custo da embalagem impedem que as tendências mais modernas sejam aplicadas no setor (GARCIA *et al*, 2002).

Uma vez especificada uma embalagem, deve-se reconhecer que ela não poderá melhorar a qualidade do produto, nem mesmo irá conservá-lo indefinidamente. Assim, inevitavelmente, ocorrerá certa perda de qualidade após um período de estocagem, cuja velocidade é determinada pelas características do produto, contaminação microbiológica inicial, temperatura de estocagem, higiene no manuseio e pelas características da embalagem e do sistema de acondicionamento (ALMEIDA, 2005).

Desenvolvido comercialmente em 1940, o polietileno é a embalagem flexível mais utilizada no acondicionamento de carnes e produtos cárneos resfriados. O

polietileno de baixa densidade (PEBD) apresenta baixo custo, boa resistência quanto a rasgamento e perfurações, flexibilidade a baixas temperaturas, tem baixa permeabilidade ao vapor de água, no entanto não é barreira a gases e é permeável a óleos e gorduras (MOURA,2006).

O nylon é uma poliamida que contém muitos grupos amidas na sua estrutura molecular com muitas variações de cadeias carbonadas entre elas. As poliamidas têm boa barreira ao oxigênio e a aromas, apresentam alta resistência mecânica (abrasão, perfuração, impacto, flexão), boa resistência térmica, boa resistência a óleos e gorduras, a produtos químicos e podem ser termoformadas, ou seja, onde o filme de fundo é aquecido sob determinadas condições de tempo e temperatura e através de um molde perfurado, que suga o filme pela ação de vácuo, é obtido o formato adequado para receber o produto a ser embalado. Posteriormente, este filme fundo já termoformado e com o produto, é selado com um filme de tampa plano, seguido de extração de ar e formação de vácuo (CRIPPA, 2006).

O copolímero de etileno e álcool vinílico (EVOH) é obtido pela hidrólise de outro polímero o EVA (copolímero de etileno e acetato de vinila), que transforma em álcool vinílico o grupo vinila. A sua baixa concentração de etileno assegura excelentes propriedades de barreira a gases, odor, sabor e especialmente ao oxigênio (MOURA, 2006).

Vários autores vem estudando a influência da embalagem na prevenção da oxidação lipídica e contaminação microbiana em produtos alimentícios. De Paula *et al* (2011) avaliou embalagens com diferentes barreiras ao oxigênio na prevenção da deterioração oxidativa em linguiças Toscana, Ansorena (2004) estudou o efeito do armazenamento e da embalagem na composição de ácidos graxos e na e oxidação em embutidos fermentados Rubio (2008) avaliou o efeito do tipo de embalagem e do tempo de armazenamento na oxidação de lípidos e estabilidade de cor em linguiça seca fermentada.

2.3 Defumação

O uso de aromas de fumaça para o cura de alimentos como presunto, bacon, salsichas, peixes e queijo é ainda hoje difundido, tanto para aromatizantes e preservação. A fumaça afeta as propriedades organolépticas dos alimentos em muitos aspectos, ao conferir um sabor característico e gosto, ao modificar a textura e a cor e

melhorando a vida de prateleira por suas atividades antimicrobianas e antioxidante (TOTH & POTTHAST, 1984). Do ponto de vista da sua composição química, as fumaças são misturas muito complexas, que dependem do tipo de madeira, o processo de pirólise, condições e os tratamentos. A composição das fumaças tem sido extensivamente estudada nos últimos anos e mais de 2000 compostos foram identificados (GUILLE'N *et al*, 1995; GUILLE'N & MANZANOS, 2002). Esses compostos pertencem à diferentes classes químicas como: aldeídos, cetonas, álcoois; ácidos; ésteres; furano e pirano derivados fenólicos; hidrocarbonetos, compostos de nitrogênio. Entre eles, a fração fenólica representa, provavelmente, a mais importante tanto do ponto de vista qualitativo como quantitativo.

2.3.1. Fumaça Líquida

Durante séculos, a fumaça de madeira natural tem sido aplicada a produtos. De acordo com Muller (1992), o objetivo principal da defumação hoje é a preservação. Atuais objeções ao uso de fumaça tradicional são baseados na possibilidade de que eles poderiam aumentar as reações entre os constituintes do fumo e aditivos ou ingredientes do produto cárneo (PÉREZ-RODRÍGUEZ, 1998). Por outro lado, uma versão líquida de fumaça vem tendo uma crescente utilização em uma variedade de produtos alimentícios, tais como a linguiça Calabresa, (SCHWERT, 2009), salsichas tipo Frankfurters (PÉREZ-RODRIGUEZ, 1998), em língua bovina (GONULALAN, 2003).

A fumaça líquida é obtida a partir da queima de pó de madeira em fornalhas de altas temperaturas por um processo chamado de *flash* pirólise. Quando fala-se de Pirólise parte-se da queima de madeira através de forno rotatório, obtendo a fumaça gasosa que é recolhida em tanques de água quente a 65°C, onde grande parte da fumaça gasosa é suspensa na água. O residual da fumaça gasosa é decantado como o alcatrão que contém os elementos nocivos para a saúde. O alcatrão serve como combustível para o forno rotatório. A fumaça em suspensão na água passará por uma série de etapas de sedimentação, filtração, concentração e maturação. Obtendo-se finalmente uma grande quantidade de diferentes tipos de fumaça líquida (ADICON, 1998).

Mediante destilação fracionada obtém-se diferentes tipos de sabor e cor de fumaça em intensidades. Como produto final se consegue fumaças hidrossolúveis,

lipossolúveis e em pó. Os principais componentes da fumaça líquida, são ácidos, fenóis e carbonilas (HUANG *et al*, 2011).

A fumaça líquida proporciona uma maior uniformidade de sabor e cor e possui maior facilidade de aplicação. Também os problemas de emissão de componentes presentes na fumaça tradicional como: alcatrão, resinas e benzopirenos são removidos da fumaça tradicional por destilação, filtração e envelhecimento. Por isso, é possível produzir produtos mais seguros, econômicos e uniformes usando fumaça líquida (GONULALAN *et al*, 2003).

Conforme citado, a fumaça líquida possui vários componentes que possam vir a ter efeitos antioxidantes, antibacterianos e melhorando características organolépticas, tais como: coloração e sabor. Neste sentido faz-se necessário pesquisar mais detalhadamente estes efeitos nos produtos cárneos.

2.4. Composição lipídica de carnes

Os lipídios da carne encontram-se basicamente armazenados no organismo animal de três maneiras, ou seja: extracelular, intermuscular e intramuscularmente. As gorduras extracelulares. A composição centesimal das gorduras de animais de corte varia, às vezes, em largos limites. Tais limites, em relação ao teor de gordura, podem variar de 50 à 86% no bovino, de 70 à 85% no suíno e de 67 à 84% no ovino.

É importante conhecer a composição das gorduras e suas propriedades para que se entendam as particularidades do processo tecnológico e o papel que elas desempenham na nutrição. São constituintes fundamentais das gorduras o glicerol ou a glicerina e os ácidos graxos.

Ainda que o glicerol tenha três grupos hidroxila, é possível combinar uma molécula única de glicerol com uma, duas ou três moléculas de ácidos graxos para formar mono, di e triglicerídeos. Os triglicerídeos predominam na gordura da carne, ainda que este possa conter pequenas quantidades de mono e diglicerídeos.

Os ácidos graxos serão considerados saturados ou insaturados, dependendo de suas moléculas contarem ou não com duplas ligações. Os ácidos graxos saturados encontrados com mais frequência nas gorduras animais são o palmítico (hexadecanóico) e o esteárico (octadecanóico), sendo ambos destituídos de qualquer

dupla ligação em suas moléculas, como ocorre com os demais ácidos graxos saturados (PARDI, 1996).

Os ácidos graxos insaturados, como o ácido oléico, predominam nas gorduras animais numa proporção que nos bovinos vai de 77 a 91%. Esses ácidos podem conter uma, duas ou várias duplas ligações em sua molécula. Dentre eles, aquele que é encontrado com maior frequência é o ácido oléico. São também insaturados os ácidos vaccênico, linolênico e araquidônico.

São também saturados os ácidos butírico, caprônico, caprílico, caprílico, láurico, mirístico, araquico, behênico, lignocérico e cerótico (PARDI, 1996).

Dentre os ácidos graxos essenciais, citam-se os ácidos linoléicos, linolênico e araquidônico. Chama-se a atenção para a necessidade de que os ácidos graxos sejam preservados da oxidação, a fim de que aqueles indispensáveis não sejam destruídos. Além dos ácidos graxos perderem pela oxidação suas características de essencialidade, podem ainda, nestas condições, se comportarem como agentes cancerígenos.

Carnes são alimentos preferidos pela maioria dos consumidores, no entanto, são apontados como alimentos com alto teor de colesterol, gordura e ácidos graxos saturados e baixos níveis de ácidos graxos insaturados (BRAGAGNOLO, 2001). Bovinos e ovinos possuem maior proporção de ácidos graxos saturados, enquanto que em suínos e aves predominam os ácidos graxos insaturados como pode ser visto na tabela abaixo.

Tabela 5: Composição em ácidos graxos em depósitos de gordura subcutânea (em % do total de ácidos graxos).

Componente	Frango	Suíno	Bovino	Ovino
Láurico	-	Traços	0,1	0,1
Mirístico	0,1	1,3	4,5	3,2
Palmítico C-16	25,6	28,3	27,4	28,0
Esteárico C-18	0,7	11,9	21,1	24,8
Saturados totais	42,7	41,5	53,7	57,7
Palmitoleico C16:1 (ω 7)	7,0	2,7	2,0	1,3
Oléico C18:1 (ω 9)	20,4	47,5	41,6	36,4
Linoléico C 18:2 (ω 6)	-	0,2	0,5	0,5
Linolênico C18:3 (ω 3)	21,3	6,0	1,8	3,5
Insaturados totais	67,3	58,5	46,3	42,3

Adaptado de FORREST *et al.*, 1979 por BRAGAGNOLO (2001)

2.5 Alterações bioquímicas de produtos cárneos

Os consumidores esperam que os alimentos adquiridos de mercado varejista, restaurantes e lojas sejam seguros. Vários fatores podem implicar na ruptura do sistema de qualidade e segurança, particularmente de produtos cárneos, em especial para a linguiças. A seguir serão apresentados os principais mecanismos pelos quais a qualidade e segurança dos produtos em estudo podem ser comprometidos.

2.5.1 Oxidação Lipídica

A degradação de lipídios pode ser ocasionada por oxidação, hidrólise, polimerização, pirólise e absorção de sabores e odores estranhos. Dentre estes fatores, a oxidação é a principal causa da deterioração de vários produtos biologicamente importantes, alterando diversas propriedades como qualidade sensorial (sabor, aroma, textura e cor), valor nutricional, funcionalidade e toxidez. Tais mudanças podem ter sua origem durante a produção, o processamento, a preservação, o armazenamento e o preparo do alimento (OSAWA, 2005). A Figura 1 apresenta um esquema geral da oxidação lipídica (SILVA *et al*, 1999).

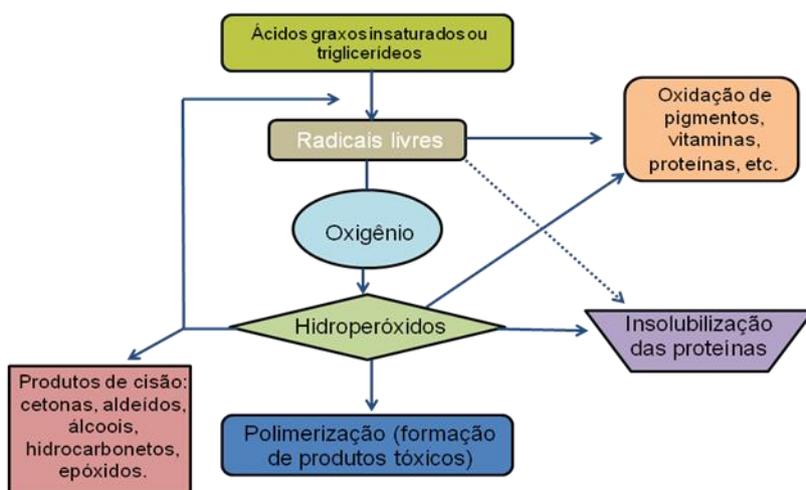


Figura 1: Esquema geral da oxidação lipídica (SILVA *et al*, 1999).

De acordo com Silva *et al* (1999) as reações de oxidação em lipídios estão entre as mais frequentes em alimentos e são causadas pelo oxigênio atmosférico, pelo

ozônio, peróxidos, por metais ou outros agentes oxidantes. As reações de oxidação ocorrem quando elétrons são removidos de um átomo ou grupos de átomos, e para cada reação de oxidação há uma reação de redução correspondente envolvendo a adição de elétrons a um átomo ou grupo de átomos.

Na natureza existem duas importantes substâncias que podem gerar radicais livres: o oxigênio no estado fundamental (O_2) e o óxido nítrico (NO), que ocorre como poluente atmosférico, mas que também é sintetizado em diversas células (CASTRO, 2008). O oxigênio pode dar origem a diversas substâncias reativas ao oxigênio (SRO), que incluem radicais livres como superóxido (O_2^-) ou o hidroxil (OH \cdot), e espécies não radicalares tais como peróxido de hidrogênio (H_2O_2), ácido hipocloroso (HClO) e ozônio (O_3). Quando o oxigênio no estado fundamental absorve energia, forma uma espécie eletronicamente excitada chamada oxigênio singlete (1O_2) que na presença do ácido graxo insaturado irá formar um hidroperóxido pela introdução direta de 1O_2 em um dos carbonos da dupla ligação do ácido graxo (BRUM, 2009).

Segundo Castro (2008) o oxigênio molecular por não apresentar restrição na transferência de elétrons, o que o torna altamente reativo, causando danos às proteínas devido à oxidação de grupos essenciais de aminoácidos, ainda conforme o autor outra via de formação de substâncias reativas de oxigênio (SRO), consiste na redução uni eletrônica do oxigênio à água, na qual a entrada de quatro elétrons na molécula de oxigênio promove o aparecimento do radical superóxido ($O_2^{\cdot-}$), peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e o radical hidroxila (OH \cdot -), intermediários parcialmente reduzidos do oxigênio molecular.

O problema está quando o peróxido de hidrogênio (H_2O_2) recebe mais um elétron, proveniente normalmente do cobre ou do ferro dando origem ao radical hidroxila que entre as espécies radicalares conhecidas, é uma das mais reativas, já que necessita somente de mais um elétron para se estabilizar (GEORGANTELIS, 2007).

Observa-se que a produção dos primeiros radicais livres necessários para iniciar a propagação da reação, obtêm-se através da decomposição de um hidroperóxido por um agente catalisador podendo este ser metálico e/ou pela exposição à luz (FENNEMA, 1996).

Na carne a auto oxidação é o principal processo pelo qual ocorre perda de sua qualidade e de seus produtos, depois da deterioração microbiana. Além da alteração

de odor e gosto, ela está relacionada também com a oxidação dos pigmentos da carne, provocando perda de cor.

Alguns fatores afetam o processo de oxidação, entre eles, fatores ambientais (umidade, temperatura, luz e oxigênio), presença de metais (cobre, ferro e manganês), enzimas e pigmentos (PINO, 2005). Embora a oxidação enzimática, através das enzimas peroxidase, lipoxigenases, cicloxigenases possa ocorrer, o mais comum e importante processo pelo qual ácidos graxos insaturados e oxigênio interagem é através do mecanismo de radical livre, caracterizado por 3 fases principais(ERICKSON, 2002).

- Fase 1: iniciação (em que ocorre a formação de radicais livres).



- Fase 2: propagação (reação em cadeia dos radicais livres);



- Fase 3: Terminação (formação de produtos não reativos).



A etapa da iniciação ocorre com a abstração do hidrogênio dos ácidos graxos insaturados (RH) por um iniciador, como o calor, resultando em um lipídio radical livre (R•). Na etapa de propagação, os radicais livres reagem com o oxigênio molecular para formar um radical peróxido lipídio (ROO•), o qual reage posteriormente com outras moléculas de lipídios formando os hidroperóxidos (ROOH). Os peróxidos lipídios são chamados de produtos primários da oxidação e podem ser usados como indicadores da qualidade e estabilidade dos óleos e gorduras. Os peróxidos são instáveis e se decompõem, resultando no acúmulo de produtos de oxidação secundária, como aldeídos, cetonas e dienos conjugados (THOMAS *et al.*, 1999), muitos destes compostos são responsáveis pelo aroma indesejável. Na etapa de terminação ocorre a reação em cadeia entre os próprios radicais (R•), produzindo dímeros e polímeros.

Durante a fase de propagação passam a ser perceptíveis as alterações organolépticas e na fase de terminação as alterações passam a ser profundas e tornam o alimento impróprio para o consumo. Em geral, nas carnes e nos produtos cárneos as dimensões das alterações lipídicas oxidativas são quantificadas medindo-se os produtos secundários da degradação. Dentre estes produtos secundários recebem destaque os aldeídos como o aldeído malônico, 4-hidroxinonal e a acroleína, que se relacionam à várias doenças - aterosclerose, diabetes, mutagênese e até câncer (TORRES & FERRARI, 2000).

2.5.1.1 Métodos de avaliação da oxidação lipídica

a) TBARs - Substâncias Reativas ao Ácido Tiobarbitúrico

Testes como índice de peróxidos, ácidos graxos livres, Kreis, TBA (ácido 2-tiobarbitúrico), valor Totox (valor total de oxidação) e compostos voláteis são utilizados no controle de qualidade de óleos, gorduras e produtos que os contenham, por fornecerem informações valiosas e essenciais a respeito do estado oxidativo, na predição da rancidez do alimento analisado. Apesar de suas limitações, o método mais usual na avaliação da oxidação de lipídios em carnes e produtos cárneos é o teste de TBA, devido à sua simplicidade e rapidez.

O teste de TBA quantifica o malonaldeído (MDA), um dos principais produtos de decomposição dos hidroperóxidos de ácidos graxos poliinsaturados, formado durante o processo oxidativo. O MDA é um dialdeído de três carbonos, com grupos carbonilas nos carbonos C-1 e C-3. A reação envolve o ácido 2-tiobarbitúrico com o malonaldeído (Figura 2), produzindo um composto de cor vermelha, medido espectrofotometricamente a 532 nm de comprimento de onda (de acordo com a metodologia, esse comprimento de onda pode variar, situando-se ao redor de 500 a 550 nm).

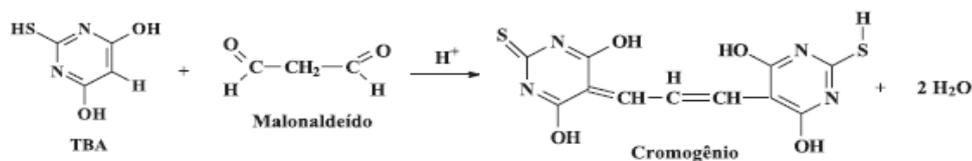


Figura 2: Reação entre o ácido 2-tiobarbitúrico e o malonaldeído, formando o composto colorido, medido espectrofotometricamente a 532 nm.

A formação do complexo TBA-MDA, na proporção de 2:1, é possivelmente iniciada pelo ataque nucleofílico, envolvendo o carbono 5 do TBA e o carbono 1 do MDA, seguido de desidratação e reação similar subsequente do composto intermediário com uma segunda molécula de TBA. A quantificação de malonaldeído é feita a partir de curvas de calibração construídas com concentrações conhecidas de malonaldeído. Os padrões mais frequentemente utilizados são 1,1,3,3-tetrametoxipropano (TMP) e 1,1,3,3-tetraetoxipropano (TEP) que, nas condições ácidas do teste, sofrem hidrólise, resultando na liberação do malonaldeído. Os resultados são expressos em unidades de absorvância por unidade de massa de amostra ou em “valor de TBA” ou “número de TBA”, definidos como a massa, em mg, de malonaldeído por kg de amostra. Particularmente para carnes, pescados e derivados, a informação do número de TBA é bastante relevante. Processos envolvidos na elaboração de produtos cárneos que incluam moagem, mistura e cozimento favorecem a formação do malonaldeído, sendo fundamental o emprego do teste na avaliação da qualidade do produto final (OSAWA, 2005).

As metodologias do teste de TBA baseadas em espectrofotometria podem ser divididas em quatro grupos de determinação: diretamente na amostra, no lipídio extraído da amostra, no extrato ácido-aquoso da amostra e na porção do destilado da amostra (HOYLAND, 1991 apud OSAWA, 2005).

O método da destilação proposto por Tarladgis *et al* (1960), é o método mais comumente empregado em produtos cárneos. Apesar da sua aplicação não ser universal, pois sofre interferência na presença de nitrito, o grande número de compostos interferentes no método de extração faz com que o método de destilação seja o preferido.

O método de destilação surgiu como alternativa ao método direto de determinação, cujas desvantagens são a necessidade de extração do composto malonaldeído-TBA com solventes orgânicos, a extração incompleta do malonaldeído e

o tratamento mais drástico (aquecimento prolongado e contato direto com o reagente de TBA acidificado) para a liberação do malonaldeído da amostra e para o máximo desenvolvimento de cor. A desvantagem do método de destilação é o tratamento térmico durante a destilação, que se não for aplicadas temperaturas mais baixas induz a valores mais elevados de TBA.

O teste de TBA, quando realizado com o processo de destilação em condições brandas de temperatura, é considerado o mais sensível e também mais adequado para amostras com concentração de gordura superior a 10%, onde a turbidez pode ocorrer em amostras extraídas (FERNANDEZ *et al*, 1997).

b) Índice de Peróxidos

O índice de peróxido (IP) é um indicador muito sensível no estágio inicial da oxidação, e sua presença é indício de que a deterioração do sabor e odor em função de sua instabilidade está por acontecer. Quando sua concentração atinge certo nível, mudanças complexas ocorrem, formando compostos de baixo peso molecular oriundos de sua degradação. Estes compostos: aldeídos, cetonas, ácidos, alcoóis e hidrocarbonetos são responsáveis pelo sabor e odor característicos de produtos rançosos e inevitavelmente são decompostos mesmo à temperatura ambiente.

Os hidroperóxidos são produtos primários da oxidação, com sua taxa inicial de formação excedendo sua taxa de decomposição, comportamento que se inverte nos estágios finais do processo oxidativo. Este comportamento gaussiano faz com que um nível baixo de hidroperóxidos não represente uma boa estabilidade oxidativa, podendo, pelo contrário, indicar alterações profundas. Desta maneira, monitorar a quantidade de hidroperóxidos em função do tempo possibilita visualizar se um lipídio está na fase ascendente ou descendente da curva de concentração. Essa informação pode ser utilizada para monitorar a aceitabilidade de alimentos em relação à extensão da sua deterioração (BERSET & CUVELIER, 1996; SHAHIDI; WANASUNDARA, 2002). Dois tipos de métodos são classicamente usados para dosear os peróxidos:

- *Método iodométrico de Lea (LEA)*: mede o iodo produzido a partir da decomposição do iodeto de potássio pelos peróxidos.

Ao efetuar esta determinação deve ter-se em consideração que:

- o iodo libertado pode fixar-se às duplas ligações dos ácidos graxos insaturados, dando um valor de IP por defeito;

- o oxigênio presente no meio pode levar à libertação de iodo e dar origem a um valor errado de IP por excesso. É, portanto, aconselhável efetuar o desarejamento prévio do meio, bem como evitar a agitação no decurso da reação;

- a determinação do ponto final da titulação é difícil quando o nível de peróxidos é baixo (IP = 0,06-20), mesmo em presença de um indicador (amido). Nestes casos deve-se optar por uma determinação potenciométrica ou, em alternativa, pode-se medir o valor de absorvência, a 350 ou 290nm, dos íons em meio metanol/ácido acético (BERSET & CUVELIER, 2006).

• *Método colorimétrico:* os peróxidos presentes oxidam o Fe^{2+} a Fe^{3+} , o qual é doseado por colorimetria ($\lambda=500$ nm) sob a forma de cloreto ou tiocianato férrico (HALLIWELL, *et al*; 2005).

Os métodos usados para a determinação do IP apresentam um carácter empírico, pois que os resultados e a exatidão dos testes dependem das condições experimentais utilizadas (variação do peso da amostra, condições de reação (tempo e temperatura) (HAMILTON *et al*, 2003).

Nos alimentos, o IP é calculado sobre a matéria graxa extraída. O processo de extração, quando conduzido em presença de oxigênio, pode gerar peróxidos em quantidades por vezes superiores aos originalmente presentes. Por outro lado, a remoção do solvente a alta temperatura pode igualmente conduzir à decomposição da matéria graxa (BERSET & CUVELIER, 2006).

Tradicionalmente os valores de IP estão entre 0 e 20 mEq/kg e nesse último valor é possível detectar o odor de rancidez (MENTEN, 2003).

c) *Compostos voláteis*

Os compostos voláteis, hidrocarbonetos (pentano, n-hexano, etano), aldeídos (pentanal, hexanal, hexenal, 2-octenal, 2-nonenal), cetonas (1,5-octadien-3-ona, 1-octen-3-ona) ou ácidos (ácido fórmico), resultam da decomposição dos produtos primários do processo oxidativo (peróxidos). Aparecem numa fase bastante precoce

do ciclo evolutivo e estão na origem do ranço. O pentanal e o hexanal são os compostos usualmente determinados, já que, provêm da degradação do ácido linoleico e araquidônico, os quais fazem parte integrante de uma grande variedade de produtos. A determinação dos referidos produtos é vulgarmente efetuada por Cromatografia Gasosa de injeção direta ou por *headspace* (ST. ANGELO, 2006).

Segundo Alghazeer (2008) hexanal tornou-se um indicador conhecido por ser um dos principais produtos de oxidação de gorduras durante o armazenamento. Nos últimos anos hexanal foi determinado em diferentes matrizes de alimentos, usando diferentes métodos de preparo da amostra e técnicas de detecção (por exemplo, cromatografia gasosa, cromatografia líquida, espectrofotometria). Hexanal foi avaliado em: peru cozido, frango, peixe, óleos vegetais, etc (BRUNTON *et al*, 2000; GOODRIDGE *et al*, 2003; VELOSO *et al* 2001; SEPPANEN *et al*, 2001 apud SANCHES-SILVA *et al*, 2004).

Uma técnica muito utilizada para extração de compostos voláteis é a micro extração em fase sólida. Esta técnica vem sendo utilizada para concentração e amostragem de analitos para diversos fins, como, por exemplo, determinações de aromas em sucos de frutas (PENTON, 1994) e em caldos fermentados (VALÉRIO, *et al.*, 2006), de ácidos graxos voláteis livres em águas residuais (ÁBALOS, *et al.*, 2000) e de inseticidas de origem vegetal em água potável (BARRIONUEVO E LANÇAS, 2001). A micro extração em fase sólida também foi utilizada para extração de hexanal em compostos odoríferos originados no processamento de subprodutos de aves (KRÜGER, 2006); em chá verde (ALGHAZEER, 2008), em carne de peru cozida (BRUNTON, 2000), em carne de peru (PIGNOLI *et al*, 2009), em carne suína (LAKDAS, 2003).

A micro extração em fase sólida é uma técnica utilizada na extração ou pré concentração rápida de componentes orgânicos voláteis, semi voláteis sem a utilização de solventes. Basicamente consiste em dois processos: partição de compostos orgânicos entre a fase aquosa ou vapor e o fibra extratora e dessorção do concentrado no instrumento analítico. No primeiro processo, a fibra é inserida na amostra e os componentes são extraídos, posteriormente ela é transferida para o cromatógrafo onde ocorre a dessorção seguida pela separação e quantificação. (ARAÚJO, 1999)

Um número limitado de fibras comerciais foi inicialmente disponível no mercado, incluindo o amplamente utilizado polidimetilsiloxano (PDMS) revestimentos

de diferentes espessuras (7, 30 e 100 mm). Uma gama de novas fibras com maior amplitude de seletividades já está disponível hoje (BRUNTON *et al*, 2000).

d) Composição de ácidos Graxos

Embora a composição de ácidos graxos não seja o parâmetro mais importante para verificar a oxidação lipídica, alterações nos ácidos graxos podem ocorrer devido à oxidação principalmente do ácido graxo linoléico e araquidônico que irão sofrer clivagem dando origem ao hexanal e ao pentano (FENAILLE *et al.*, 2003, GOODRIDGE *et al.*, 2003).

A quantificação dos ácidos graxos, embora ainda pouco utilizada no Brasil é um método que permite realizar uma interpretação mais precisa em termos do valor nutritivo de um alimento e se houve ou não decomposição dos ácidos graxos, já que os resultados informam a quantidade (em massa) de um ácido graxo em relação à quantidade de lipídios totais da amostra. Neste método os resultados são expressos em massa de ácido graxo por massa de lipídios totais e/ou massa da parte comestível (STEVANATO, 2006).

Para realizar a análise de ácidos graxos por cromatografia gasosa é comumente aplicado procedimentos de esterificação, onde os ácidos graxos são convertidos em compostos mais voláteis, como os ésteres metílicos de ácidos graxos (MILINSK, 2007). Para a esterificação dos lipídios juntamente com os ácidos graxos livres devem-se utilizar métodos com catálise ácida. Entre estes métodos encontra-se o proposto por Hartman e Lago, (1973), que utiliza H₂SO₄ em metanol; Metcalfe e Schmitz, (1961) e Joseph e Ackman, (1992) que utilizam BF₃ em metanol

A cromatografia é um método de separação e não de identificação. Portanto necessita-se de algumas técnicas para a identificação dos compostos. Entre eles o mais comumente empregado é a comparação do tempo de retenção, onde uma coincidência dos tempos de retenção entre o analito e o padrão significa que o analito talvez seja o mesmo composto que o padrão. Outro método utilizado é a co-eluição ou spiking, onde se adiciona uma quantidade de padrão na amostra e depois se verifica o pico. Se o pico aumentar o presuntivo é positivo, mas se surgir outro pico, o composto não é o que se supunha.

Dentre as metodologias que podem ser utilizadas na análise quantitativa de ácidos graxos a mais empregada é o método da normalização. Este método baseia-se na porcentagem de área relativa de um determinado ácido graxo em relação à área

total (somatório) de todos os ácidos graxos que eluem da coluna (COLLINS *et al.*, 1997). Usando o método da normalização as comparações entre as concentrações dos ácidos graxos se limitam à obtenção da porcentagem de área relativa e não é levada em consideração a quantidade do material que contém o ácido graxo.

O método da padronização interna, muitas vezes denominado nas análises de ácidos graxos, como método de quantificação absoluta ou quantificação de ácidos graxos, tem como princípio incorporar na análise um padrão interno que não se encontra presente na amostra a ser analisada. Nesta metodologia é corrigida a resposta diferencial do detector para uma determinada cadeia carbônica de um ácido graxo, já que os metil ésteres de ácidos graxos respondem diferencialmente no detector de ionização de chama, e assim os constituintes (colesterol, esteróis, etc.) não são ignorados (JOSEPH E ACKMAN, 1992).

O uso do fator de correção teórico nas determinações de ácidos graxos poliinsaturados, é recomendado por vários pesquisadores (JOSEPH E ACKMAN, 1992), desde que os parâmetros químicos e instrumentais também estejam otimizados para assegurar que erros oriundos destes parâmetros foram eliminados. A recomendação do fator teórico é baseada na instabilidade oxidativa dos ácidos graxos insaturados, pois é impossível a obtenção e manutenção de padrões desta natureza com alto grau de pureza livre da autooxidação (STEVANATO, 2006).

Os compostos voláteis, hidrocarbonetos (pentano, n-hexano, etano), aldeídos (pentanal, hexanal, hexenal, 2-octenal, 2-nonenal), cetonas (1,5-octadien-3-ona, 1-octen-3-ona) ou ácidos (ácido fórmico), resultam da decomposição dos produtos primários do processo oxidativo (peróxidos). Aparecem numa fase bastante precoce do ciclo evolutivo e estão na origem do ranço. O pentano e o hexanal são os compostos usualmente determinados, já que, provêm da degradação do ácido linoleico e araquidônico, os quais fazem parte integrante de uma grande variedade de produtos. A determinação dos referidos produtos é vulgarmente efetuada por CG de injeção direta ou por *headspace* (ST. ANGELO, 2006).

Este método dispensa a extração prévia e adapta-se à análise de matrizes complexas. Os cromatogramas obtidos nem sempre são fáceis de interpretar pelo elevado número de picos presentes. Porém, observa-se uma perfeita correlação entre os resultados obtidos e a avaliação sensorial (FRANKEL, 2003).

2.5.2. Oxidação de proteínas

Durante as últimas décadas, a maioria dos estudos em relação a oxidação das proteínas foram realizados para examinar o papel desempenhado pela proteínas oxidada em uma variedade de doenças humanas enquanto que a ocorrência de oxidação de proteínas em sistemas alimentares tem sido largamente desconhecido (ELIAS, 2008 apud ESTÉVEZ, 2011). Apenas poucos estudos recentes, lançam luz sobre a influência da origem da carne e condições de processamento industrial sobre a ocorrência e intensidade de oxidação de proteínas em produtos carneos (ESTÉVEZ *et al*, 2005; LUND *et al*, 2007).

Proteínas musculares são suscetíveis à reações de oxidação causada por diferentes iniciadores, como lipídeos oxidados, íons metálicos, e outros pró-oxidantes gerados durante processamento da carne (XIONG & DECKER, 1995). Resíduos de aminoácidos são modificados como uma consequência direta do dano oxidativo que leva à perda de grupos sulfidril, a geração de derivados oxidados, tais como grupos carbonilas e a formação de ligações cruzadas e agregados (ESTÉVEZ, 2011).

Numerosos radicais tais como o superóxido ($O_2\bullet$), o hidroperoxido ($HO_2\bullet$) e hidroxila ($HO\bullet$) e outras espécies, tais como o peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e hidroperóxidos (ROOH) têm sido reconhecidos como iniciadores potenciais de oxidação de proteínas (BUTTERFIELD & STADTMAN, 1997).

Componentes naturais do tecido muscular, tais como lipídios insaturado, pigmentos heme, metais de transição e enzimas oxidativas são potenciais precursores ou catalisadores para a formação de radicais e, portanto, desempenham um papel relevante na iniciação da oxidação em carnes (XIONG, 2000). O esqueleto peptídico e os grupos funcionais localizados na cadeia lateral de resíduos de aminoácidos são alvos comuns para os radicais livres. Como consequência direta da abstração de um átomo de hidrogênio a partir de um alvo suscetível (PH), um radical proteína é formado ($P\bullet$) (STADTMAN & LEVINE, 2000). O ($P\bullet$) inicial que na presença de oxigênio, e um peróxido alquil (POOH) pela abstração de um átomo de hidrogênio a partir de outra molécula susceptível é consecutivamente convertido em um radical proteína peroxil ($POO\bullet$) como se segue na Figura 3.

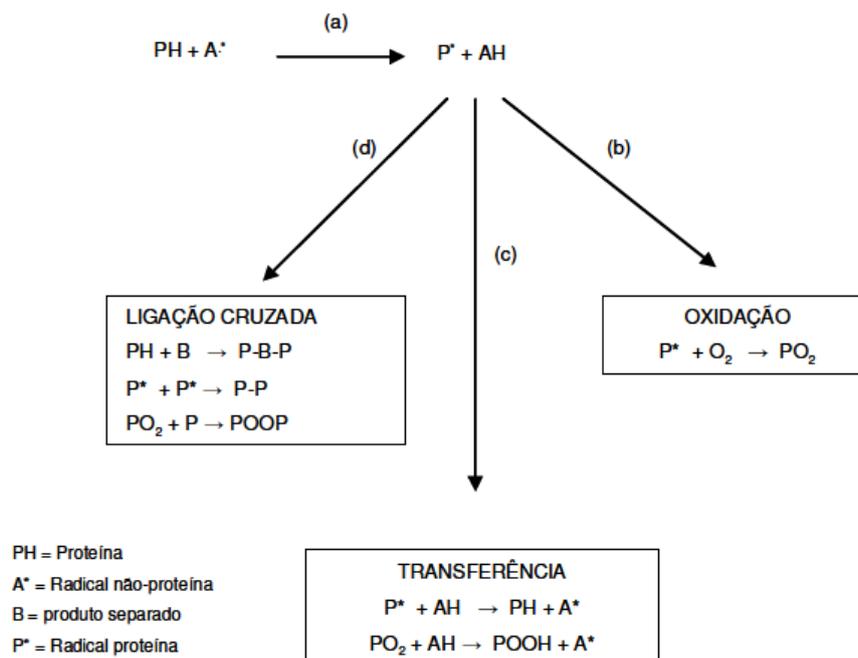


Figura3: Representação esquemática das reações das proteínas com os lipídios oxidados (KAREL *et al*, 1975).

A oxidação das proteínas miofibrilares tem um impacto sobre o valor nutricional de carne, uma vez que envolve a perda de aminoácidos essenciais e diminui a digestibilidade da proteína (XIONG, 1995). Além disso, o desenvolvimento de oxidação de proteínas em sistemas carneos tem sido relacionada à deterioração de cor e textura (ESTÉVEZ *et al.*, 2005) muito embora seus mecanismos químicos precisos ainda não são bem compreendidos (ARMENTEROS *et al*, 2009).

Células musculares contêm grandes quantidades de proteínas, que também podem ser afetadas por reações oxidativas. Oxidação induz uma série de mudanças nas proteínas, tais como a modificação de cadeias laterais de aminoácido, formação de polímeros de proteínas, perda de solubilidade, aumento de grupos carbonila, mudança na composição de aminoácidos e aumento da susceptibilidade proteolítica (LEVINE *et al.* 1990; XIONG, 1995). Os radicais livres reagem com cadeias laterais de proteínas para produzir os radicais livres de proteínas, que reagem com o oxigênio molecular para formar radicais peróxidos. Os hidroperóxidos de proteínas então se decompõem a derivados de carbonila (DECKER, 1993).

Aldeídos podem formar ligações cruzadas com compostos diferentes, tais como proteínas e conseqüentemente, aumentar a dureza e resistência muscular. A reação de aldeídos, particularmente, como gluteraldeído e malondialdeído, com

grupos amino em proteínas ou DNA, pode resultar em danos estruturais e mudança na sua funcionalidade. Além disso, ligações cruzadas com proteínas podem resultar em agregação e insolubilidade das mesma (ALGHAZEER *et al*, 2008).

O ataque de espécies reativas de oxigênio sobre as proteínas do músculo leva à perda de grupos sulfidril e a geração de compostos carbonílicos. Estes processos são comumente associados a uma diminuição na funcionalidade protéica muscular, levando a perdas de água crescente, emulsões menos estáveis e géis de proteína mais fraco (XIONG, 1995).

Oxidação de grupos sulfidril leva à formação de ligações cruzadas pontes dissulfeto ou à formação de dissulfetos conjugados com a glutatona, cisteína ou outras moléculas de baixo peso. Decker (1993) observaram que polímeros de alto peso molecular foram produzidos por ligações dissulfeto e eram principalmente provenientes de actina e miosina.

Devido a alta atividade reativa, grupos SH e S-S em proteínas desempenham um papel importante na melhoria das propriedades funcionais (LUND *et al*, 2007). A formação de glúten, gelatina e filmes à base de proteínas comestíveis são todos relacionados com a transformação de SH grupos em S-S. Além disso, processamento, calor e agentes redutores levam a transformação entre SH em grupos S-S (FENNEMA, 1996). A oxidação das proteínas pode ser monitorada através da medição da formação de grupos carbonila e a diminuição em grupos sulfidril (SOYER, 2010).

2.5.2.1. Métodos de avaliação da oxidação protéica

Em sistemas carneos, oxidação das proteínas já foi avaliada através de vários métodos, incluindo a perda de grupos sulfidril (FREDERIKSEN *et al*, 2008), perda de triptofano, ganho de grupamentos carbonila (DECKER, 1993) e formação ligações cruzadas proteína-proteína (ESTÉVEZ, 2011). Entre as mudanças acima referidas, a formação de compostos carbonílicos tem sido destacado como um dos mais frequentes métodos usado para avaliar modificações em proteínas oxidadas (XIONG, 1995).

Até recentemente, a falta de conhecimento sobre o natureza química exata de carbonilas formadas a partir de proteínas do alimento, impediu qualquer chance de

investigar o envolvimento de tais compostos em reações posteriores. Stadtman e Levine (2000) relataram a implicação provável de resíduos proteína carbonil em reações de condensação com grupos amino de cadeias laterais de aminoácidos para formar ligações cruzadas via base de Schiff.

a) Grupos sulfidrilas

Atualmente, um dos métodos amplamente utilizados é o método de Ellman (Ellman, 1959), no qual, o 5,5 ditiobis 2 nitrobenzoico (DTNB) é usado para reagir com grupos SH para produzir uma substância amarela com um máximo de absorvância a 412 nm. Este método é simples, rápido, direto e ideal para determinar o conteúdo de SH em solução de proteína pura com baixa turbidez. No entanto, se ele é usado para determinar diretamente o conteúdo de grupos SH em soluções turvas, como leite ou leite de soja, os resultados vão desviar o conteúdo real por causa da alta turbidez destas soluções (OU *et al*, 2004).

b) Grupo Carbonil

A quantificação de grupos carbonila usando dinitrofenilhidrazina (DNPH) (OLIVER *et al*, 1987) é provavelmente o método mais usado para avaliar proteínas oxidadas em carnes e sistemas biológicos (ESTÉVEZ *et al* 2005; TORNVÄLL, 2010). O impacto da proteína oxidada na qualidade da carne ainda é objeto de vários estudos, mas é geralmente aceito que a atividade de proteases muscular e da funcionalidade de proteínas miofibrilares são afetados por reações oxidativas (XIONG, 1995). A identificação das rotas e mecanismos envolvidos na formação de proteína carbonil é essencial para estabelecer as implicações potenciais de tais compostos.

O Método DNPH é um procedimento de rotina que permite a quantificação do montante total de carbonilas de uma amostra de proteína. Os resultados são amplamente utilizados como um índice geral de proteínas oxidadas em produtos carneos (ESTÉVEZ *et al*, 2005; LUND *et al*, 2011). O método é baseado na reação entre o DNPH com compostos de carbonila para formar o 2,4-dinitrofenil (DNP) produto que apresenta um pico máximo de absorvância a cerca de 370 nm. O procedimento envolve a determinação simultânea de derivados de carbonila e teor de proteína da amostra (OLIVER, 1987). A concentração de DNP é calculada pela

medida de DNPH que reagiu espectrofotometricamente com base na taxa de absorção $22.000 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ a 370 nm. Concentração de proteína é determinada em uma amostra controle (sem DNPH) a 280 nm usando albumina de soro bovina como padrão. Os resultados são geralmente expressos em nmoles de carbonil por mg de proteína. O método original (OLIVER, 1987) foi desenvolvido para a análise de estresse oxidativo em amostras biológicas e tem sido posteriormente empregado com pequenas modificações para alimentos. Essas modificações incluem o tratamento das amostras usando força iônica alta de tampões para facilitar a suspensão de proteínas do alimento (ESTÉVEZ *et al*, 2005).

3.MATERIAL E MÉTODOS

Neste item serão descritos os métodos de preparo de amostras e metodologias empregadas para avaliar a oxidação lipídica (TBARs, etc) e protéica (Carbonil e Sulfidrilas) de amostras de linguiça Toscana e Calabresa.

Ressalta-se que as determinações de Índice de peróxidos e hexanal foram realizadas somente nas amostras de linguiça Toscana

3.1.Preparo das Amostras

As amostras de linguiça Toscana foram preparadas conforme formulação padrão de uma empresa fabricante de Linguiça Toscana, situada no município de Chapecó – SC. Foram coletadas amostras e as mesmas foram embaladas utilizando-se embalagens com diferentes estruturas e permeabilidades ao oxigênio (A - EVOH com vácuo com permeabilidade de $5 \text{ cm}^3\text{O}_2/\text{m}^2.\text{dia.atm}$ a 23°C ; B - Nylon Poli com vácuo e Permeabilidade de $100 \text{ cm}^3\text{O}_2/\text{m}^2.\text{dia.atm}$ a 23°C ; C-PEBD com vácuo com permeabilidade de $500 \text{ cm}^3\text{O}_2/\text{m}^2.\text{dia.atm}$ a 23°C .). As embalagens com vácuo, foram seladas em maquina selovac com pressão de 5 mbar e tempo de 1,36 seg. Posteriormente, as amostras foram resfriadas e armazenadas a 8°C .

As amostras de linguiça Calabresa foram preparadas conforme formulação padrão de uma agroindústria, situada no município de Chapecó – SC. Após a elaboração as amostras foram submetidas a tratamentos de defumação por imersão com fumaça líquida Smokez 8168 fornecida pela BKG ADICON. Variou-se a concentração da fumaça e tempo de contato, conforme metodologia de planejamento de experimentos (planejamento fatorial 2^2) onde as variáveis independentes e seus respectivos níveis encontram-se descritos na Tabela 6.

Tabela 6 Níveis das variáveis independentes utilizadas no planejamento fatorial 2^2 para as amostras tratadas com a fumaça líquida.

Variáveis Independentes	Códigos	Níveis		
		-1	0*	+1
Fração da diluição (fumaça:H ₂ O, v/v)	X ₁	1:2	1:3	1:4
Tempo de contato (segundos)	X ₂	60	105	150

* Triplicata do ponto central.

Posteriormente, as amostras foram acondicionadas em embalagens de Nylon Poli e armazenadas a temperatura de 20°C durante 30 dias.

3.2. Determinações Analíticas

3.2.1 TBARS -Substâncias Reativas ao Ácido Tiobarbitúrico

As substâncias reativas ao ácido 2 tiobarbitúrico (TBA) foram avaliadas nas amostras de linguiça Toscana e Calabresa, de acordo com metodologia descrita por RAHARJO *et al.* (1992), modificado por WANG *et al.* (2002), seguindo recomendações de SHAIDI *et al.* (1985) no que se refere à adição de sulfanilamida para as amostras que contém nitrito, com algumas adaptações. Adicionou-se 0,5 mL de butil-hidroxitolueno (BHT) 0,5 % em um tubo contendo 5 g de amostra triturada. Em seguida, adicionou-se 2 mL de solução de sulfanilamida 0,5 % e deixou em repouso por 10 min. Posteriormente, 18 mL de ácido tricloroacético (TCA) 5 % foi adicionado e homogeneizou-se. Em uma alíquota de 2 mL do filtrado, adicionou-se 2 mL de ácido tiobarbitúrico TBA 0,08 M da JT Baker e a reação foi conduzida em banho-maria (40°C) por 1 h e 30 min. Posteriormente, realizou-se leitura em espectrofotômetro (Agilent UV-8553) a 531 nm. A quantificação foi realizada frente a uma curva padrão de solução de 1,1,3,3-tetraetoxipropano (TEP) da sigma aldrich nas concentrações de $1 \cdot 10^{-8}$ a $10 \cdot 10^{-8}$ mol/mL. Os resultados foram expressos em miligramas de malonaldeído por quilograma de amostra.

3.2.2 Índice de Peróxido

O índice de peróxido foi realizado segundo metodologia descrita pelo IAL (2005), nas amostras de linguiça Toscana. O índice de peróxido da gordura foi determinado misturando-se cerca de 30 g da fração lipídica da amostra com clorofórmio e triturado, filtrou-se e retirou-se uma alíquota e adicionou-se iodeto de potássio e o iodo liberado foi então titulado (o I^{-1} é oxidado a I_2 pelo peróxido da amostra) com solução padrão de tiosulfato de sódio 0,0 1N, usando amido 2 % como indicador. A quantificação da gordura presente na amostra foi realizada retirando-se uma alíquota de mesma quantidade da retirada no procedimento, efetuando-se evaporação do clorofórmio em Rota evaporador e após colocado o conteúdo restante em estufa a 105°C por 30 min, após esfriar em dessecador e foi então pesado para determinação da quantidade de gordura presente na alíquota. O resultado foi expresso em equivalente de peróxido por 100 g de amostra.

3.2.3.Compostos voláteis - Hexanal

O hexanal foi extraído da amostra de linguiça Toscana pela técnica de microextração em fase sólida (SPME – método headspace) conforme esquema ilustrado na Figura 4 segundo metodologia descrita por LAKDAS *et al.* (2003), com algumas modificações

Para ensaios de microextração em fase sólida - método *Headspace*, utilizou-se uma fibra Carboxen/PDMS 65 μ m (Supelco), vials de 10 mL, vedados e septos de borracha faceados com Teflon. Cerca de 5 g de amostra de linguiça Toscana e 4 mL de água milliQ foram adicionados em vials e este colocado em banho-maria a 65°C, na superfície de um agitador magnético por 30 min. Após 10 min a fibra foi exposta permaneceu 20 min nestas condições. Posteriormente foi recolhida para dentro da seringa e exposta no interior do injetor de um cromatógrafo a gás (GC Shimadzu 2010). A coluna cromatográfica utilizado foi uma Rtx-Wax de dimensões: 30 m de comprimento, 0,25 mm de diâmetro interno e 0,25 μ m de espessura. No injetor e detector (FID), as temperaturas foram mantida a 250° C e 275°C, respectivamente. A programação da coluna: 35 °C por 5 min passando a 75 °C (gradiente de 8 °C/min), de 75 °C a 200 °C (gradiente de 40 °C/ min) e permanecendo 5 min nesta temperatura para a purga da coluna.

A estimativa quantitativa da concentração de hexanal foi obtida através de uma curva padrão de hexanal (Sigma Aldrich) com concentrações de 0 até 2000 ppm.

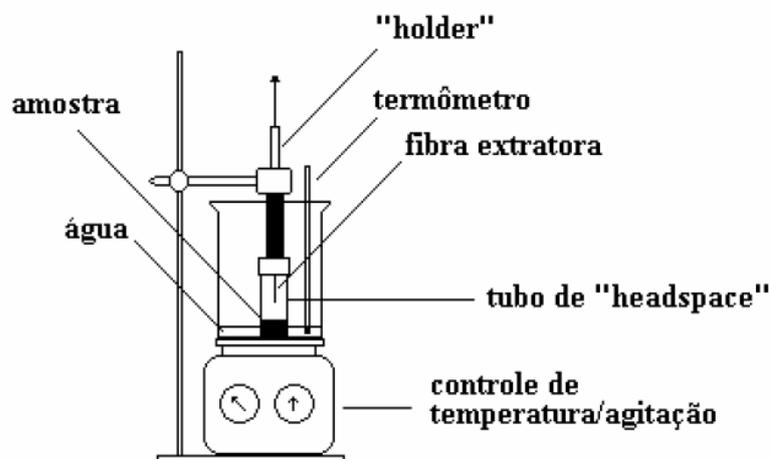


Figura 4: Esquema ilustrativo do processo de microextração em fase sólida - SPME-HS (VALDUGA, 2005).

3.2.4 Composição de Ácidos Graxos

Primeiramente os lipídios foram extraídos da amostra segundo a metodologia de BLIGH & DYER (1959). Para a análise dos ácidos graxos, uma alíquota de aproximadamente 200 mg de lipídios foi esterificada conforme metodologia proposta por HARTMAN & LAGO (1973), usando-se solução de cloreto de amônia e ácido sulfúrico em metanol como agente esterificante.

Os ácidos graxos foram determinados por cromatografia gasosa, (GC/MSD, Shimadzu GC17A, QP 5050A). As condições cromatográficas foram de acordo com a norma DIN EN14103 para determinação dos ésteres metílicos de ácidos graxos. As condições cromatográficas foram as seguintes: gás de arraste He, modo de injeção *split* com razão de 1:50, temperatura do injetor e do detector a 250°C com volume de injeção de 1 µL. A temperatura da coluna foi mantida a 120°C em 10°C/m durante 2 min a 180°C em 5°C/min durante 3 min e mantida a 230°C por 2 min. Foi utilizado o método de padronização interna e o padrão utilizado foi o Heptadecanoato de metila (Sigma Aldrich).

A identificação dos ácidos graxos foi realizada através da comparação do tempo de retenção dos ésteres etílicos de ácidos graxos das amostras com o de padrões de ésteres etílicos de ácidos graxos conhecidos (Metil oleato, Metil estearato, Metil linolenato, Metil palmitato e Metil linoleato – Sigma Aldrich)

3.2.5. Grupo Carbonil

A determinação dos grupo carbonil foi realizada conforme metodologia descrita por LEVINE et al. (1990), com modificações. A concentração do grupo carbonil foi calculada medindo DNPH (2,4 dinitrofenilhidrazina) quantificado através da leitura da absorbância 370 nm (espectrofotômetro UV- visível, Agilent 8453E). A concentração de proteína foi calculada pelo método Biureto (1949), por espectrofotometria (UV- visível, Agilent 8453E) a 280 nm, usando uma curva padrão com albumina bovina (0,260 a 2,360 mg/mL) em guanidina 6 M (Sigma Aldrich). Os resultados foram expressos em nmol carbonil por mg de proteína.

3. 2. 6 Grupos Sulfidrilicos

A determinação de grupos sulfidrílicos foi realizada de acordo com o metodologia descrita por Beveridge *et al* (1984) com algumas modificações. Os grupos sulfidrílicos foram determinados pela reação com 5,5-ditiobis-(ácido 2-nitrobenzóico) - (DTNB). Uma grama de amostra foi homogeneizada com 50 mL de tampão tris- glicina- EDTA contendo 8 M de uréia (pH 8). O teor de proteína determinado através do método Biureto (1949). Após 0,5 mL de DTNB foi adicionado e incubado à temperatura ambiente por 15 min. A leitura foi realizada por espectrofotômetro (UV- visível, Agilent 8453E) a 412 nm. O conteúdo sulfidrílicos foi calculado usando um coeficiente de extinção molar de $11400 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ para 5,5-ditiobis, neste comprimento de onda. Os resultados expressos como nmol do total de grupos sulfidrílicos livre por mg de proteína.

3.3 Análise estatística

Os resultados das amostras de linguiça Toscana foram submetidos à análise de variância, seguida de teste de Tukey para comparação entre as médias dos resultados, ao nível de confiança de 95 % ($p < 0,05$), utilizando o Software STATISTICA versão 8.0 (StatSoft Inc®, USA).

Os resultados das amostras de linguiça Calabresa foram tratadas estatisticamente ao nível de confiança de 95 %, segundo metodologia de

planejamento de experimentos, com auxílio Software STATISTICA versão 8.0 (StatSoft Inc®, USA).

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Avaliação da oxidação lipídica

As Tabelas 7 e 8 apresentam os resultados obtidos de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico - TBARS e índice de peróxidos para as amostras de linguiça Toscana avaliadas no período de 35 dias armazenadas sob refrigeração a 8°C.

Tabela 7: Valores de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) de amostras de linguiça Toscana armazenadas em diferentes embalagens no período de 35 dias a 8°C.

Embalagens	TBARS (mg malonaldeído/kg)*					
	0 dia	7ºdia	14ºdia	21ºdia	28ºdia	35ºdia
A	0,03 ^{deA} (±0,01)	0,10 ^{bdA} (±0,02)	0,16 ^{bceA} (±0,02)	0,20 ^{bcA} (±0,01)	0,24 ^{acA} (±0,03)	0,33 ^{acB} (±0,01)
B	0,12 ^{cA} (±0,02)	0,14 ^{cA} (±0,02)	0,17 ^{bcA} (±0,03)	0,21 ^{ba} (±0,04)	0,25 ^{ba} (±0,01)	0,35 ^{aAB} (±0,01)
C	0,04 ^{cA} (±0,04)	0,09 ^{cA} (±0,04)	0,10 ^{cB} (±0,01)	0,23 ^{ba} (±0,01)	0,26 ^{ba} (±0,01)	0,37 ^{aA} (±0,01)

Média ± (desvio padrão) seguidas de letras minúsculas/maiúsculas nas linhas/colunas iguais não diferem estatisticamente ao nível de 5% (Teste de Tukey);, A – EVOH com vácuo, B – Nylon Poli com vácuo, C – PEBD com vácuo.

De acordo com a Tabela 7 observa-se que, de maneira geral, houve um aumento significativo ($p < 0,05$) na oxidação de lipídios da linguiça Toscana resfriada, ao longo do período de armazenamento. No 35º dia de armazenamento, a amostra armazenada na embalagem C (PE), apresentou os maiores valores de TBARS, diferindo significativamente ($p < 0,05$) das demais embalagens, com teor de 0,37 mg MDA/kg. Esta diferença deve-se, principalmente, a maior permeabilidade ao oxigênio da embalagem de PE ($500 \text{ cm}^3 \text{O}_2 / \text{m}^2 \cdot \text{dia} \cdot \text{atm}$ a 23°C). Resultado este, semelhante ao obtido por Brum (2009), em linguiça Toscana armazenada em sacos plástico sem

adição de antioxidantes naturais, o qual encontrou valor de 0,330 mg MDA/kg em 27 dias de armazenamento a 4°C.

Constata-se que as amostras armazenadas nas embalagens A (EVOH) e B (Nylon Poli) apresentaram comportamento semelhante, não diferindo estatisticamente ao nível de 5%, nos distintos dias avaliadas.

Os valores encontrados no presente estudo não foram elevados e isso se deve ao fato de o produto estar refrigerado (8°C) e a presença de nitrito de sódio que previne a oxidação lipídica. Valores bem maiores já foram relatados na literatura e ainda não há um consenso e nem uma referência na legislação sobre os limites do número de TBARS. Jin *et al* (2007) estudando salsichas com carne suína relataram valores de TBARS de 0,90 mgMDA/kg até 1,10 mgMDA/ kg durante o armazenamento 0°C por um período 2 a 4 semanas, respectivamente. Bote *et al.* (2005), sugere que a evolução da oxidação lipídica em carne e produtos cárneos suínos sofre muitas variações, podendo algumas vezes alcançar valores de 1,5 a 2,0 mg de MDA/Kg em poucos dias, e, algumas vezes a oxidação pode ocorrer tão lentamente que não chega a ser considerada um problema. Autores como Maggioni *et al* (2008), reportaram valores significativamente superiores, na faixa de 1 a 6 mg de MDA/Kg quando trabalharam com carnes frescas armazenadas sob condições similares.

Na Tabela 8 são apresentados os valores de índice de peróxidos para a linguiça Toscana. Como observado os valores de Índice de peróxidos manteve um aumento gradual ao longo do período de armazenamento, não apresentando tendência à estabilização, independente da embalagem utilizada. No 7º dia, a amostra armazenada na embalagem B (Nylon poli) diferiu significativamente ($p < 0,05$) das demais embalagens e apresentando no 35º dia máximo valor de 19,11 mEq/Kg, muito embora neste período, não diferiu estatisticamente ($p < 0,05$) das demais embalagens.

Tabela 8: Valores de Índice de Peróxidos de amostras de linguiça Toscana armazenadas em diferentes embalagens no período de 35 dias a 8°C.

Embalagens	Índice de peróxidos (mEq/ Kg de amostra)*					
	0 dia	7ºdia	14ºdia	21ºdia	28ºdia	35ºdia
A	0,001 ^{eA} (±0,0001)	5,11 ^{dB} (±0,68)	8,41 ^{cA} (±0,66)	12,15 ^{dA} (±0,06)	11,83 ^{bA} (±1,50)	17,21 ^{aA} (±1,92)
B	0,001 ^{dA} (±0,0001)	10,03 ^{bcA} (±1,08)	10,99 ^{bcA} (±1,05)	11,65 ^{bcA} (±0,96)	13,61 ^{bA} (±0,95)	19,11 ^{aA} (±1,53)
C	1,81 ^{eA} (±0,68)	4,93 ^{dB} (±1,06)	7,99 ^{cA} (±0,98)	9,82 ^{bcA} (±1,22)	11,04 ^{bA} (±0,05)	16,14 ^{aA} (±1,36)

Média ± (desvio padrão) seguidas de letras minúsculas nas linhas /maiúsculas nas colunas iguais não diferem estatisticamente á nível de 5% (Teste de Tukey);, A – EVOH com vácuo, B – Nylon Poli com vácuo, C – PE com vácuo.

Na figura 5 é apresentado o grafico de correlção entre as substancias reativas ao ácido tiobarbitúrico e o índice de peróxidos das amostras de linguiça Toscana nas diferentes embalagens analisadas.

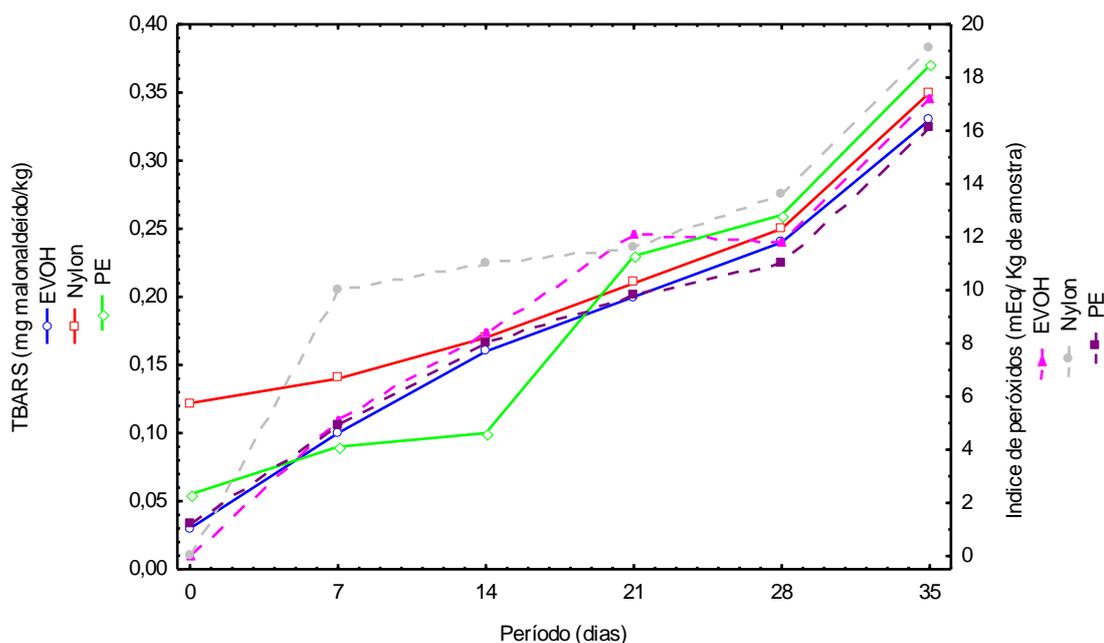


Figura 5: Correlação entre Substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico e índice de peróxidos das amostras de linguiça Toscana armazenadas a 8°C em diferentes embalagens no período de 35 dias.

Na literatura poucos são os trabalhos que relacionam o índice de peróxido de linguiças frescas em função do período de armazenamento e do tipo de embalagem. Bezerra (2007) encontrou valores de índice de peróxido de 9,69; 9,63 e 10,79 mEq/Kg em amostras de linguiça suína embaladas em badeja de isopor coberta com filme PVC; embalagem fechada hermeticamente e embalagem a vácuo resfriada a 5°C, respectivamente.

A Tabela 9 apresenta a matriz do planejamento fatorial 2² (valores codificados e reais) e resposta de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) para os 28 dias de armazenamento da linguiça Calabresa, submetida a diferentes tratamentos (ensaios) de fumaça líquida. Ao analisar cada ensaio ao longo dos dias de armazenamento a 20°C, verifica-se um aumento progressivo nos valores de TBARS, porém com algumas flutuações, sendo que aos 28 dias de armazenamento há diferença significativa ($p < 0,05$), em todos ensaios, quando comparados aos demais dias. Aos 28 dias de armazenamento observa-se que os maiores valores encontrados para substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (0,44 mg MDA/kg) foram nos ensaios 2 e 4 onde a fração da diluição é maior (1:4 v/v), independente do tempo de contato.

De acordo com a Figura 5 (a, b, c e d), verifica-se que ao 0^o, 7^o, 14^o e 28^o dia de armazenamento as variáveis de estudo não apresentaram efeito significativo sobre a resposta TBARs nas amostras de linguiças Calabresa.

Tabela 9: Matriz do planejamento fatorial 2² (valores codificados e reais) e resposta de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARs) de amostras de linguiça Calabresa aos 28 dias de armazenamento a 20°C.

Ensaio	Variáveis independentes*		TBARs (mg malonaldeído/kg de amostra)			
	X ₁	X ₂	0 dia	7 ^o dia	14 ^o dia	28 ^o dia
1	-1 (1:2)	-1(60)	0,11 ^c (±0,01)	0,11 ^c (±0,02)	0,22 ^b (±0,01)	0,38 ^a (±0,01)
2	1(1:4)	-1(60)	0,14 ^c (±0,01)	0,23 ^b (±0,01)	0,14 ^c (0,01)	0,44 ^a (±0,09)
3	-1(1:2)	1(150)	0,18 ^b (±0,09)	0,22 ^b (0,05)	0,13 ^c (±0,01)	0,37 ^a (±0,01)
4	1(1:4)	1(150)	0,21 ^b (±0,01)	0,20 ^b (±0,02)	0,18 ^b (±0,01)	0,44 ^a (±0,05)
5	0(1:3)	0(105)	0,22 ^c (±0,02)	0,23 ^{bc} (±0,05)	0,26 ^b (±0,02)	0,31 (±0,03) ^a
6	0(1:3)	0(105)	0,19 ^c (±0,01)	0,23 ^b (±0,04)	0,26 ^b (±0,03)	0,31 ^a (±0,01)
7	0(1:3)	0(105)	0,22 ^c (±0,02)	0,23 ^b (±0,06)	0,26 ^b (±0,03)	0,31 ^a (±0,01)

*X₁: fração da diluição (v/v); X₂: tempo de contato (seg); Média ± (desvio padrão) seguidas de letras minúsculas nas linhas iguais não diferem estatisticamente á nível de 5% (Teste de Tukey)

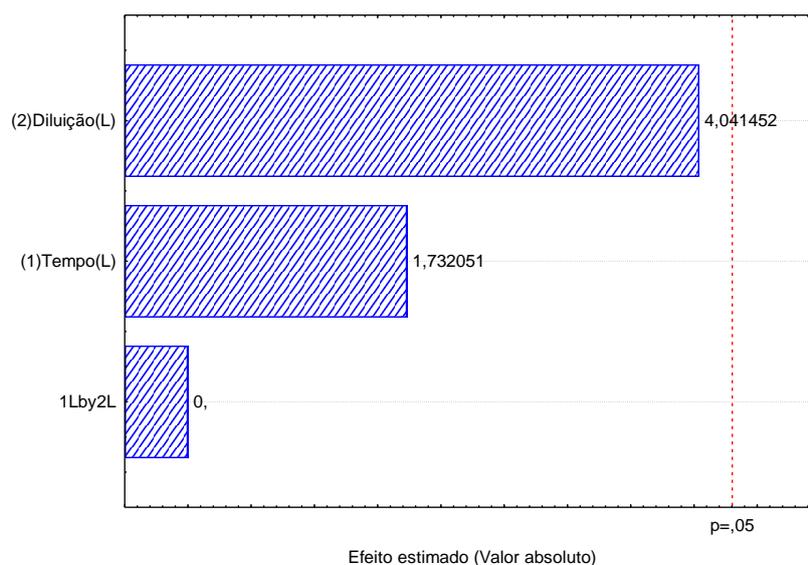
Na literatura são poucos os trabalhos que relatam os efeitos da concentração da fumaça líquida e do tempo de contato desta com produtos cárneos na oxidação lipídica.

Os valores de TBARs estão dentro da faixa encontrada na literatura (Almeida, 2005; Gatellier *et al.*, 2007). Schwert (2009) verificaram um acréscimo significativo (p<0,05) nos teores de TBARs até o 40^o dia de armazenamento a 20°C. Comparando a fumaça tradicional com a fumaça líquida em linguiça Calabresa obtiveram valores de 0,56 e 0,44 mg de MDA/Kg, respectivamente. Como era de se esperar a fumaça líquida por conter compostos fenólicos que possuem propriedades antioxidantes contribuem para evitar a oxidação (KERRY, 2004).

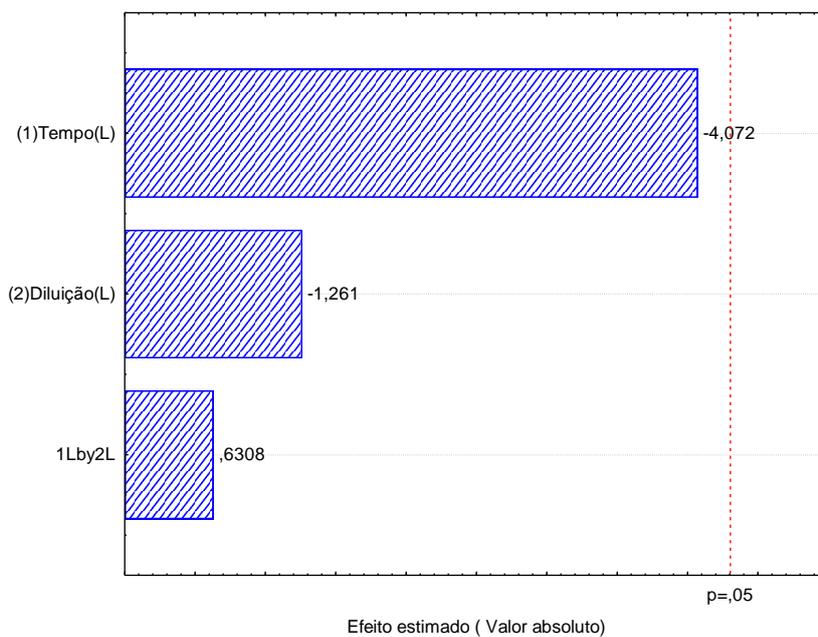
Durante o período de análises houve flutuações nos valores de TBARS o que também é relatado na literatura para diversos produtos cárneos. Grau *et al* (2001); Gatellier *et al.*, (2007) relataram que as flutuações no valores de TBARS se devem ao fato que o malonaldeído reage com uma larga escala de compostos ou pode formar dienos ou trienos, o que diminui a quantidade de MDA disponível para reagir com o ácido tiobarbitúrico, em consequência, os valores de TBARS avaliados são reduzidos ao longo do período.

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

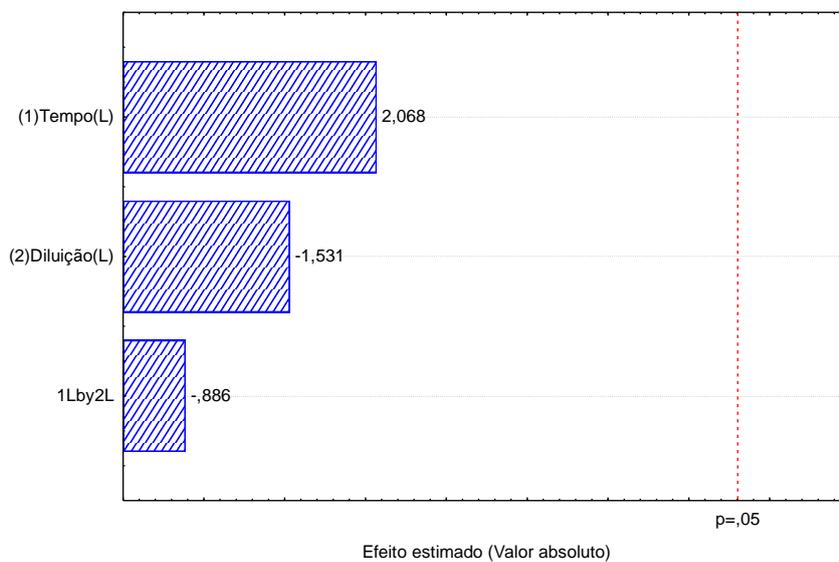
O limite para o índice de TBARS que caracteriza o aparecimento de odor desagradável e limosidade característicos de deterioração é de 0,5 a 1,0 mg MDA/Kg. Os valores encontrados nas determinações no presente estudo estão abaixo do limite mínimo de 0,5 mg MDA/Kg para o aparecimento de características desagradáveis. Já KE *et al.* (1984) sugerem valores inferiores à 0,57 mg de MDA/Kg como baixos ou indicadores de nenhuma rancidez; entre 0,64 e 1,44 mg de MDA/Kg, como levemente rançosos e, valores superiores a 1,51 mg de MDA/Kg como rançosos e inaceitáveis.



(a)



(b)



(c)

Figura 6: Gráfico de Pareto com o efeito estimado (valor absoluto) das variáveis estudadas no planejamento experimental 2² para TBARs aos 0 dia (a), 7^odia (b) e 14^o dia (c) e 28^o dia (d) de armazenamento a 20°C, respectivamente.

4.2 Compostos voláteis - HEXANAL.

O hexanal foi determinado para as amostras de linguiça Toscana armazenadas nas embalagens selecionadas. Durante os primeiros 21 dias de armazenamento, o hexanal não foi detectado para nenhuma das amostras (Apêndice I). No 28º dia de armazenamento somente traços do composto foi detectado, porém em quantidade muito pequena que não foi possível quantificar. Isto é justificado, pois o hexanal tem sido encontrado mais comumente em carne cozida, especialmente em carne cozida refrigerada, o qual é responsável pelo *off-flavor* quando são submetidas a cocção (ANG & LYON, 1990) e possuindo correlação com teores de TBARs (ST. ANGELO *et al*, 1990,. SPANIER *et al*, 1992; SHAHIDI & PEGG, 1994). Igualmente o hexanal não foi detectado por Okabe *et al*(2002) em carne de veado durante armazenamento de 37ºdia refrigerado.

Na literatura relata-se que a presença de hexanal está relacionada com a oxidação do ácido linoléico (ARAÚJO, 1999; NELF *et al*, 1992), sendo ele o principal aldeído formado pela decomposição desse ácido graxo. Quanto menor a concentração de ácido linoléico, maior é a resistência a oxidação e conseqüentemente a formação do hexanal (GERD *et al*. 2007). Lakdas *et al* (2003), também utilizaram o método de extração SPME\HS - fibra carboxen/PDMS, avaliando o conteúdo de hexanal em carne de porco submetidos a uma dieta normal e a outra à base de farelo de milho enriquecido com ácidos graxos monoinsaturados, sendo que no tratamento com dieta suplementada e armazenada a 1°C por 9 dias, obtiveram valor de 0,6 ppm de hexanal. Avaliando salsichas formuladas com carne mecanicamente separada de aves Mielnik (2002) encontrou 20,7 ng/g na estocagem a -25°C da salsicha por 6 semanas.

Tims e Watts (1998) observaram que a carne cozida armazenada sob condições de refrigeração oxidava mais rapidamente do que a carne crua ou congelada. Eles usaram o termo "requeijado" para o sabor indesejável encontrado e, desde então, muita pesquisa tem sido focado em compreensão e prevenção desse tipo de off-flavor.

4. 3. Composição de ácidos graxos.

Os ácidos graxos foram determinados nas amostras de linguiças Toscana e Calabresa e os resultados são apresentados nas Tabelas 10 a 19. Nas amostras de linguiça Toscana os ácidos graxos saturados encontrados foram os ácidos palmítico e o esteárico e os insaturados foram os ácidos oléico e linolênico. Nas amostras de linguiça Calabresa os ácidos graxos saturados encontrados foram os ácidos palmítico e esteárico e os insaturados foram os ácidos oléico e o linoléico. Pardi (1996) relata que estes ácidos graxos são os de maior conteúdo dos glicerídeos de suínos, principal matéria prima utilizada nas formulações do presente estudo.

4.3.1 Ácidos graxos saturados.

A composição de ácido palmítico para as amostras de linguiça Toscana embalada nas 3 estruturas de embalagens é apresentado na Tabela 10 e Figura 7, onde observa-se que os valores sofreram pequenas flutuações ao longo do período de armazenamento. No 35º dia o teor máximo de ácido palmítico encontrado foi de 3,45 g/100g para a linguiça Toscana armazenada na embalagem B (Nylon Poli) diferindo significativamente ($p < 0,05$) das demais embalagens. Esse valor corresponde a 15,86 % dos ácidos graxos totais.

Tabela 10: Teores de ácido palmítico (g/100g) de amostras de linguiça Toscana armazenadas por 35 dias nas diferentes embalagens.

Embalagens	Teor de ácido palmítico (g/100g de amostra)*					
	0 dia	7ºdia	14ºdia	21ºdia	28ºdia	35ºdia
A	2,44 ^{aA} (±0,16)	2,40 ^{aA} (±0,04)	2,11 ^{aA} (±0,05)	2,00 ^{abA} (±0,03)	1,55 ^{bA} (±0,01)	2,06 ^{aC} (±0,01)
B	2,13 ^{cB} (±0,01)	2,85 ^{bbB} (±0,02)	2,12 ^{ca} (±0,03)	1,98 ^{ca} (±0,06)	1,60 ^{ca} (±0,08)	3,45 ^{aA} (±0,01)
C	2,74 ^{cA} (±0,01)	3,75 ^{aA} (±0,01)	2,24 ^{ea} (±0,06)	2,47 ^{da} (±0,01)	1,41 ^{fa} (±0,02)	3,03 ^{bbB} (±0,07)

*Média ± (desvio padrão) seguidas de letras minúsculas nas linhas/maiúsculas nas colunas iguais não diferem estatisticamente á nível de 5% (Teste de Tukey); A – EVOH com vácuo, B – Nylon Poli com vácuo, C – PE com vácuo.

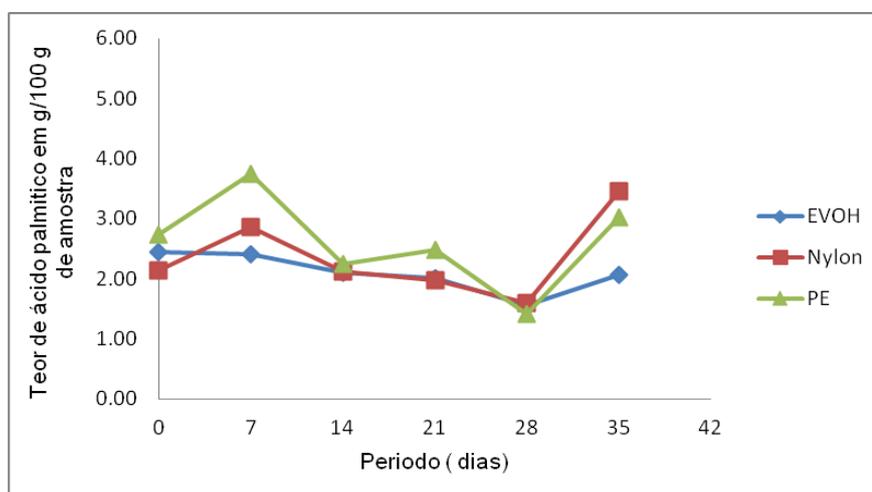


Figura 7: Comportamento do ácido palmítico para as amostras de linguiça Toscana embaladas nas estruturas de EVOH, Nylon e PE.

A Tabela 11 apresenta a matriz do planejamento fatorial 2² (valores codificados) e resposta de composição de ácido palmítico (g/100g) de amostras de linguiça Calabresa, submetidos a distintos tratamentos com fumaça líquida e armazenados por 28 dias a 20°C.

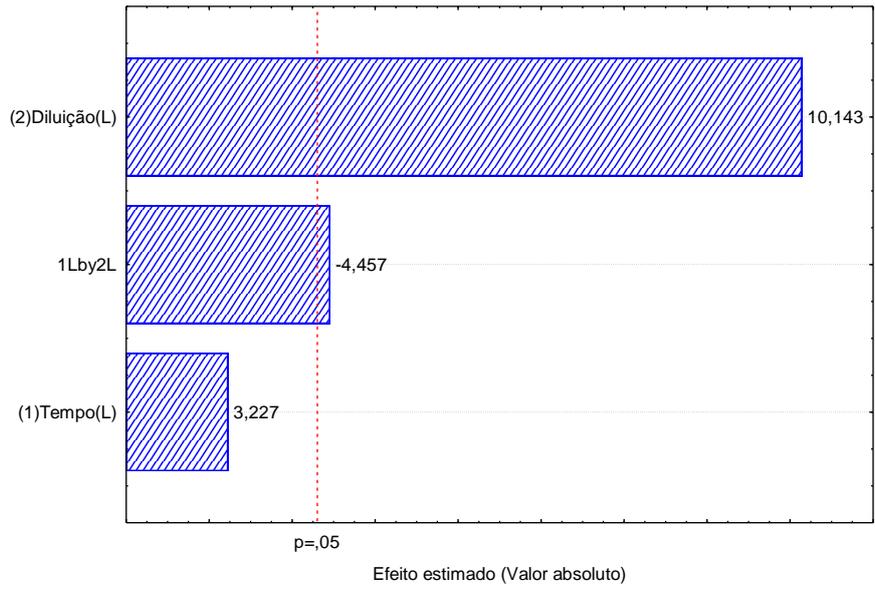
Tabela 11: Matriz do planejamento fatorial 2^2 (valores codificados e reais) e resposta de composição de ácido palmítico (g/100g) para os 28 dias de armazenamento a 20°C de linguiça Calabresa.

Ensaio	Variáveis independentes*		Teor de ácido palmítico (g/100g)		
	X ₁	X ₂	0 dia	14º dia	28º dia
1	-1(1:2)	-1(60)	1,46 ^b (±0,02)	1,95 ^b (±0,08)	4,41 ^a (±0,05)
2	1(1:4)	-1(60)	1,96 ^a (±0,07)	1,97 ^a (±0,09)	2,58 ^a (±0,01)
3	-1(1:2)	1(150)	2,41 ^a (±0,05)	2,30 ^a (±0,20)	2,48 ^a (0,13)
4	0(1:3)	1(150)	3,33 ^a (±0,08)	1,96 ^b (±0,07)	3,46 ^a (±0,05)
5	0(1:3)	0(105)	2,30 ^b (±0,01)	1,80 ^b (±0,08)	3,35 ^a (±0,06)
6	0(1:3)	0(105)	2,24 ^b (±0,09)	1,81 ^b (±0,01)	3,40 ^a (±0,08)
7	0(1:3)	0(105)	2,37 ^b (±0,01)	1,79 ^b (±0,02)	3,31 ^a (±0,07)

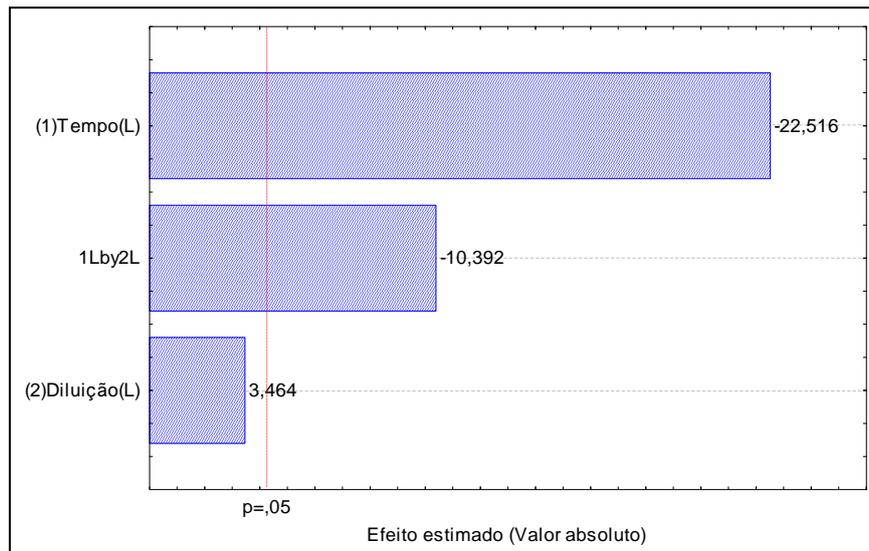
*X₁: fração da diluição (v/v); X₂: tempo de contato (seg); Média ± (desvio padrão) seguidas de letras minúsculas nas linhas iguais não diferem estatisticamente á nível de 5% (Teste de Tukey)

Como é possível observar (Tabela 11), que a composição de ácido palmítico para amostras de linguiça Calabresa tratadas com fumaça líquida apresenta pouca variação até o 14º dia de armazenamento estudado. Porém, verifica-se que o teor de ácido palmítico apresentou um incremento em seus valores aos 28 dias de armazenamento, independente do tratamento de fumaça líquida realizado. Ao final do 28º dia de estudo o Ensaio 1 correspondente ao menor tempo de contato (60 s) da fumaça com a amostra e a menor fração de diluição (1:2, v/v) foi o que apresentou o maior teor de 4,41 g/100g de ácido palmítico e os menores valores foram nos ensaios 2 e 3 correspondendo a maior tempo de contato e menor diluição e menor diluição e maior tempo de contato, respectivamente.

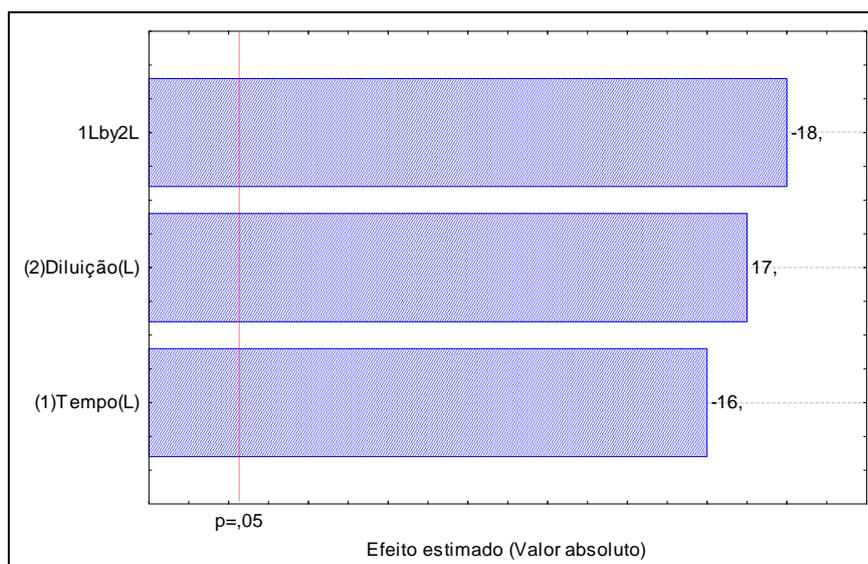
Os efeitos das variáveis independentes de estudo podem ser melhor visualizadas pelos gráficos de pareto apresentados na Figura 8 (a, b e c).



(a)



(b)



(c)

Figura 8: Gráfico de Pareto com o efeito estimado (valor absoluto) das variáveis estudadas no planejamento experimental 22 para ácido palmítico no 0^o, 14^o e 28^o dia de armazenamento, respectivamente.

Como é possível observar na Figura 8 que as variáveis de estudo, bem como a interação entre o tempo de contato da fumaça e a fração da diluição tiveram efeito sobre a composição do ácido palmítico à nível de 95% de confiança, sendo que a diluição apresentou efeito isolado positivo no 0^o dia e 28^o dia de armazenamento, ou seja, indicando que a medida que a fumaça líquida for diluída ocorre um aumento no teor de ácido palmítico. Também foi verificado a interação negativa do tempo de contato com a fração de diluição no 14^o e 28^o dia de armazenamento.

Na Tabela 12 e Figura 9 são apresentados os teores de ácido esteárico das amostras de linguiça Toscana armazenadas a 20^oC em diferentes estruturas de embalagem.

Tabela 12: Teores de ácido esteárico (g/100g) de amostras de linguiça Toscana armazenadas por 35 dias em diferentes estruturas de embalagem.

Embalagens	Teor de ácido esteárico (g/100g de amostra)*					
	0 dia	7ºdia	14ºdia	21ºdia	28ºdia	35ºdia
A	4,68 ^{dA} (±0,07)	4,96 ^{bcA} (±0,04)	5,26 ^{aA} (±0,03)	4,99 ^{bA} (±0,01)	4,81 ^{cdA} (±0,10)	4,99 ^{bA} (±0,01)
B	4,75 ^{cdeA} (±0,04)	4,94 ^{bA} (±0,09)	4,66 ^{eA} (±0,01)	5,22 ^{aA} (±0,04)	4,85 ^{bdA} (±0,05)	4,86 ^{bcA} (±0,03)
C	5,25 ^{adA} (±0,01)	4,67 ^{bcdA} (±0,02)	5,56 ^{abA} (±0,10)	6,00 ^{aA} (±0,01)	5,43 ^{acA} (±0,01)	4,38 ^{bcdA} (±0,01)

Média ± (desvio padrão) seguidas de letras minúsculas nas linhas /maiúsculas nas colunas iguais não diferem estatisticamente á nível de 5% (Teste de Tukey);, A – EVOH com vácuo, B – Nylon Poli com vácuo, C – PE com vácuo.

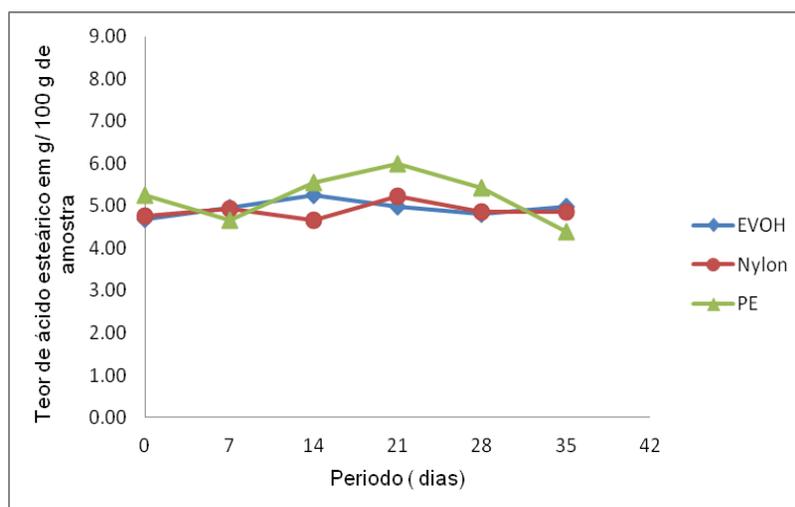


Figura 9: Composição de ácido esteárico para amostras de linguiça Toscana armazenada as três estruturas de embalagens.

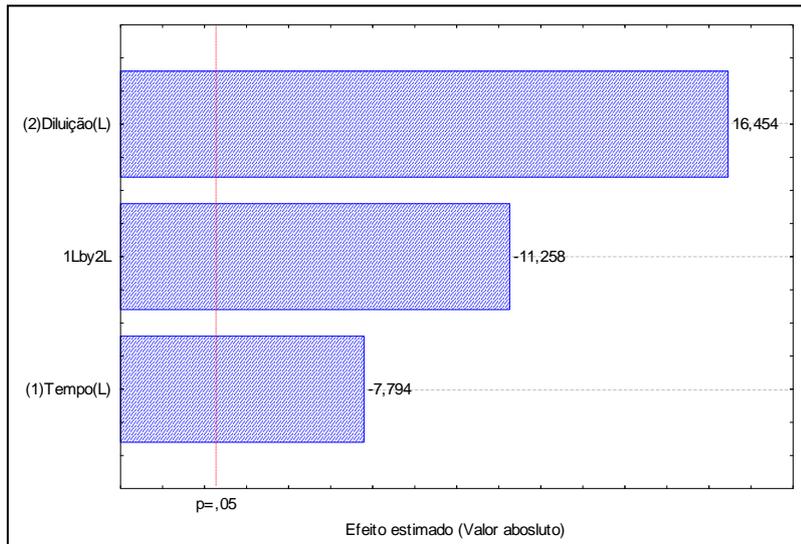
Na Tabela 12 é possível observar que não há diferença significativa ($p < 0,05$) para as embalagens estudadas durante o período de armazenamento. Ao analisar cada dia separadamente é possível observar que houve diferenças significativas entre as embalagens selecionadas em cada dia de armazenamento. No 21º dia ocorreu um incremento nos valores ácido esteárico para as amostras armazenadas na embalagem de PE, alcançando neste dia o maior valor correspondendo a 6 g/100g de amostra.

De acordo com Tabela 13 é possível observar que os menores valores de ácido esteárico foram encontrados nos ensaios 5, 6 e 7, referentes ao ponto central. O máximo valor encontrado foi no Ensaio 2, aos 28º dia de armazenamento, onde o tempo de contato da fumaça com a amostra foi menor (60 s) e a fração da diluição maior (1:4). Os efeitos das variáveis independentes podem ser melhor visualizados na Figura 9(a, b, c), onde apresenta-se os gráficos de Pareto com os efeitos estimados (valor absoluto) das variáveis testadas no planejamento fatorial 2^2 para o teor de ácido esteárico das amostras de linguiça Calabresa para o 0º, 14º e 28º dia de armazenamento. De modo geral o teor de ácido esteárico para os 5 tratamentos teve uma ligeira queda ao longo do período de armazenamento. O maior teor de ácido esteárico foi encontrado no ensaio 2 que corresponde a maior fração de diluição (1:4) e menor tempo de contato (60s).

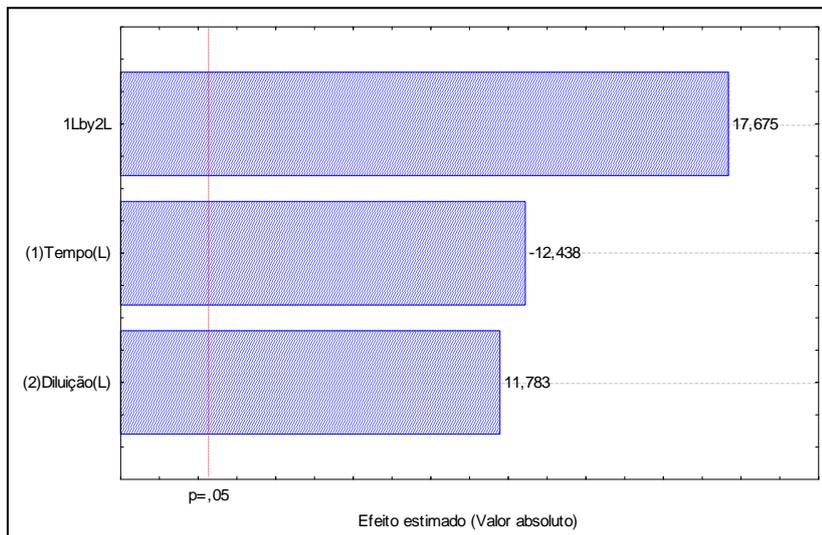
Tabela 13: Matriz do planejamento fatorial 2^2 (valores codificados e reais) e resposta de composição de ácido esteárico (g/100g) das amostras de linguiça Calabresa para os 28 dias de armazenamento.

Ensaio	Variáveis independentes*		Teor de ácido esteárico (g/100g)		
	X ₁	X ₂	0 dia	14º dia	28º dia
1	-1(1:2)	-1(60)	4,08 ^a (±0,04)	4,41 ^a (±0,09)	3,89 ^b (±0,03)
2	1(1:4)	-1(60)	4,10 ^b (±0,01)	4,07 ^b (±0,02)	4,67 ^a (±0,01)
3	-1(1:2)	1(150)	4,24 ^a (±0,01)	3,87 ^b (±0,04)	4,07 ^a (±0,14)
4	0(1:3)	1(150)	4,13 ^a (±0,02)	4,07 ^a (±0,01)	3,69 ^b (±0,01)
5	0(1:3)	0(105)	4,23 ^a (±0,02)	4,54 ^a (±0,02)	3,73 ^b (±0,02)
6	0(1:3)	0(105)	4,23 ^a (±0,03)	4,56 ^a (±0,02)	3,72 ^b (±0,03)
7	0(1:3)	0(105)	4,24 ^a (±0,02)	4,52 ^a (±0,04)	3,75 ^b (±0,02)

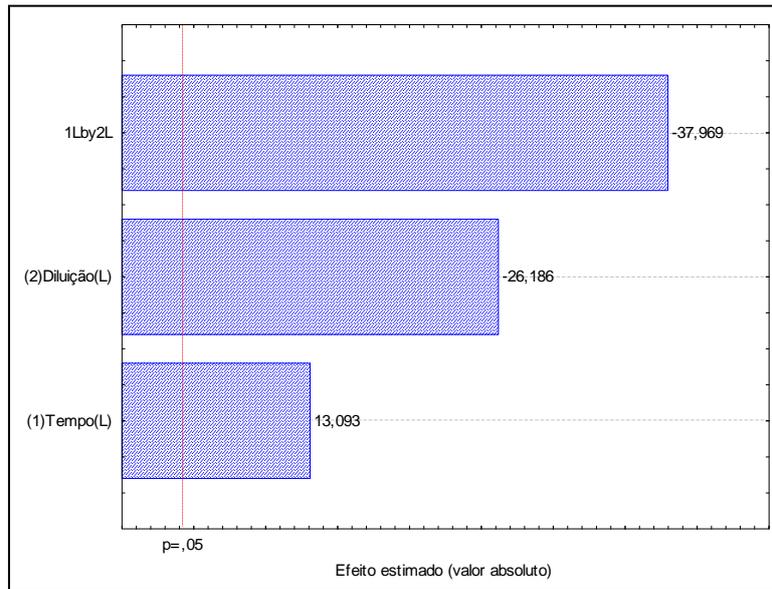
*X₁: fração da diluição (v/v); X₂: tempo de contato (seg); Média ± (desvio padrão) seguidas de letras minúsculas nas linhas iguais não diferem estatisticamente á nível de 5% (Teste de Tukey)



(a)



(b)



(c)

Figura 10: Gráfico de Pareto com o efeito estimado (valor absoluto) das variáveis estudadas no planejamento experimental 2^2 para teor de ácido esteárico da linguiça Calabresa submetida a diferentes tratamentos de fumaça líquida no 0º dia (a), 14º dia (b) e 28º dia (c) de armazenamento, respectivamente.

Na figura 10 (a) são apresentados os efeitos das variáveis estudadas sobre a resposta e é possível observar que ao 0 dia de armazenamento a diluição exerceu um efeito positivo sobre o incremento da resposta, ou seja, quanto mais diluída a fumaça maior foi o valor de ácido esteárico encontrado. No tempo de contato e na interação entre as variáveis foi verificada uma interação negativa. No 14º e 28º dia o comportamento da variável diluição se inverte exercendo influência negativa na resposta.

Em relação aos ácidos graxos saturados o ácido palmítico aumentou durante o período de análise. Os ácidos graxos saturados são considerados hipercolesterolêmicos e os mais preocupantes, neste sentido, são mirístico (C14:0), láurico (C12:0) e palmítico (C16:0). Os ácidos graxos saturados são menos reativos e apresentam ponto de fusão superior em relação ao ácido graxo insaturados correspondente, de mesmo tamanho de cadeia, são normalmente encontrados na forma sólida (gordura) e em produtos de origem animal (CURI *et al.*, 2002). De acordo

com American Heart Association (2001) a quantidade de ácidos graxos saturados recomendado para uma dieta de 2500 calorias deve ficar entre 19 a 28 g/dia.

Pelegri em 2007 relatou valores de 0,78g/100 g de ácido palmítico em músculo do *Longissimus dorsi*.

Castro (2008) encontrou concentrações de ácido palmítico (C16:0) de 633 a 647 mg/100g e de 561 a 590 mg/100g (em base seca) para as amostras cruas e grelhadas de carne de frango, respectivamente.

Bragagnolo (2001) analisando quatro cortes de carne suína (paleta, pernil, lombo e toucinho) encontrou cerca de 40 ± 2 % de ácidos graxos saturados para essas amostras. Neste trabalho o teor de ácidos graxos saturados para as amostras de linguiça toscana e calabresa foi em média de 37,23 % (Tabelas 22 e 23).

O ácido esteárico (C18:0) tem função neutra, uma vez que no organismo se transforma imediatamente em ácido oléico (C18:1) (SINCLAIR, 1993, GRUNDY, 1994)

Logo, observa-se que os teores de ácido palmítico e esteárico obtidos neste estudo são similares aos reportados na literatura. Poucos são os trabalhos encontrados que nos levam a uma ampliação na discussão a cerca dos parâmetros que influenciam nos teores de ácido palmítico e ácido esteárico nos produtos investigados: linguiça Toscana e linguiça Calabresa.

4.3.2. Ácidos graxos insaturados

Na Tabelas 14 e 15 são apresentados os resultados da composição de ácido oléico de amostras de linguiça Toscana armazenada em diferentes estruturas de embalagem e a matriz do planejamento fatorial 2², com tratamentos de fumaça líquida para as amostras de linguiça Calabresa, respectivamente. Dentre os ácidos graxos insaturados o ácido oléico (C18:1) foi o predominante na linguiça Toscana e Calabresa.

De acordo com a Tabela 14 é possível observar que o perfil do ácido oléico de amostras de linguiça Toscana, ao longo dos 28 dias de armazenamento, não foi influenciado por nenhuma das três embalagens estudadas (EVOH, Nylon Poli e PE) ao nível de 5%. Muito embora a amostra armazenada em embalagem de Polietileno

tenha apresentado um leve incremento (Figura 11), porém não significativo, no teor deste ácido graxo insaturado.

Tabela 14: Teores de ácido oléico (g/100g) de amostras de linguiça Toscana armazenadas por 35 dias em diferentes embalagens.

Embalagens	Teor de ácido oléico (g/100g de amostra)*					
	0 dia	7ºdia	14ºdia	21ºdia	28ºdia	35ºdia
A	12,77 ^{bA} (±0,05)	12,73 ^{bA} (±0,03)	12,59 ^{bA} (±0,05)	12,73 ^{bA} (±0,04)	13,23 ^{aA} (±0,01)	12,8 ^{bA} (±0,02)
B	13,19 ^{aA} (±0,10)	12,51 ^{bA} (±0,09)	13,31 ^{aA} (±0,01)	12,69 ^{bA} (±0,04)	13,21 ^{aA} (±0,07)	12,1 ^{cA} (±0,07)
C	12,37 ^{bA} (±0,01)	12,19 ^{bA} (±0,01)	14,09 ^{aA} (± 0,03)	14,14 ^{aA} (±0,02)	12,94 ^{bA} (±0,04)	14,43 ^{bA} (±0,01)

Média ± (desvio padrão) seguidas de letras minúsculas nas linhas/maiúsculas nas colunas iguais não diferem estatisticamente á nível de 5% (Teste de Tukey);, A – EVOH com vácuo, B – Nylon Poli com vácuo, C – PE com vácuo.

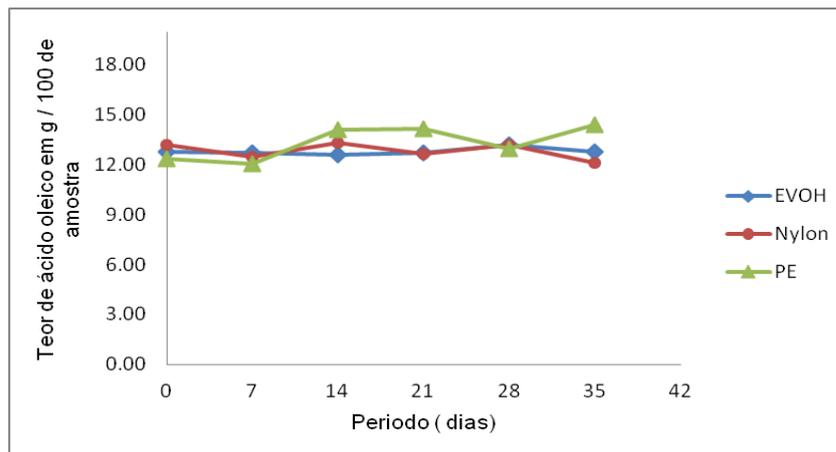


Figura 11: Composição de ácido oléico para amostras de linguiça Toscana armazenada as três estruturas de embalagens.

Na Tabela 15 é apresentada a matriz do planejamento fatorial 2^2 e resposta de composição de ácido oléico (g/100g) para linguiça Calabresa.

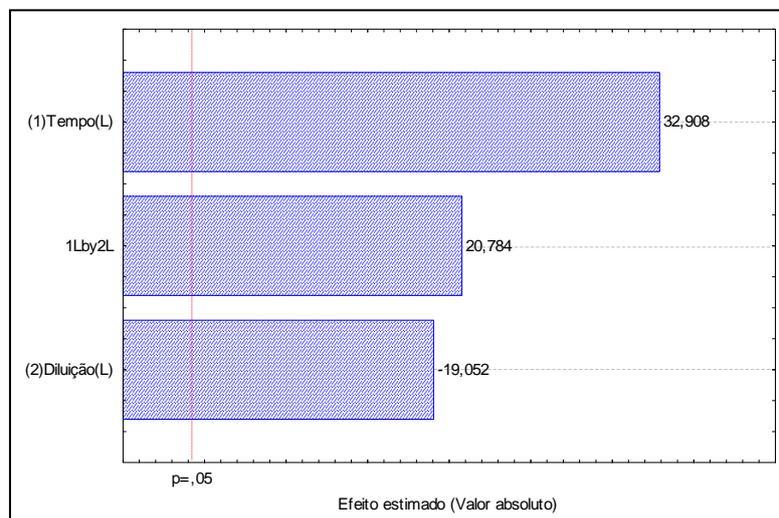
Tabela 15: Matriz do planejamento fatorial 2^2 (valores codificados e reais) e resposta de composição de ácido oléico (g/100g) para a linguiça Calabresa, submetida a diferentes tratamentos de fumaça líquida aos 28 dias de armazenamento a 20°C.

Ensaio	Variáveis independentes*		Teor de ácido oléico(g/100g)		
	X ₁	X ₂	0 dia	14º dia	28º dia
1	-1(1:2)	-1(60)	11,47 ^a (±0,11)	10,98 ^b (±0,12)	9,55 ^c (±0,07)
2	1(1:4)	-1(60)	11,17 ^a (±0,07)	11,05 ^a (±0,03)	12,23 ^a (±1,15)
3	-1(1:2)	1(150)	10,72 ^a (±0,01)	10,75 ^a (±0,04)	10,72 ^a (±0,06)
4	0(1:3)	1(150)	10,10 ^b (±0,04)	11,06 ^a (±0,01)	10,35 ^b (±0,02)
5	0(1:3)	0(105)	10,76 ^a (±0,06)	10,88 ^a (±0,01)	10,46 ^a (±0,02)
6	0(1:3)	0(105)	10,81 ^a (±0,01)	10,88 ^a (±0,01)	10,45 ^a (±0,01)
7	0(1:3)	0(105)	10,72 ^a (±0,08)	10,86 ^a (±0,02)	10,48 ^a (±0,03)

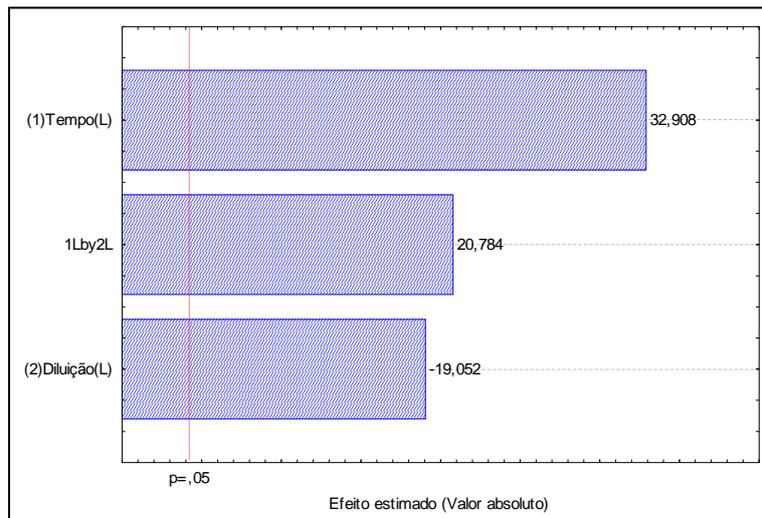
*X₁: fração da diluição (v/v); X₂: tempo de contato (seg); Média ± (desvio padrão) seguidas de letras minúsculas nas linhas iguais não diferem estatisticamente á nível de 5% (Teste de Tukey)

Na Tabela 15 observa-se que de modo geral não houve influencia significativa ($p < 0,05$) em cada ensaio nos dias de armazenamento, exceto pelo ensaio 1 correspondente a menor fração de diluição (1:2) e menor tempo de contato (60seg) que ocorreu um leve queda no valor do ácido oléico, comportamento este também encontrado no ensaio 4, embora menos acentuado. O máximo valor encontrado para o ácido oléico foi no ensaio 2 (12,23 g/100g) aos 28 dias de armazenamento.

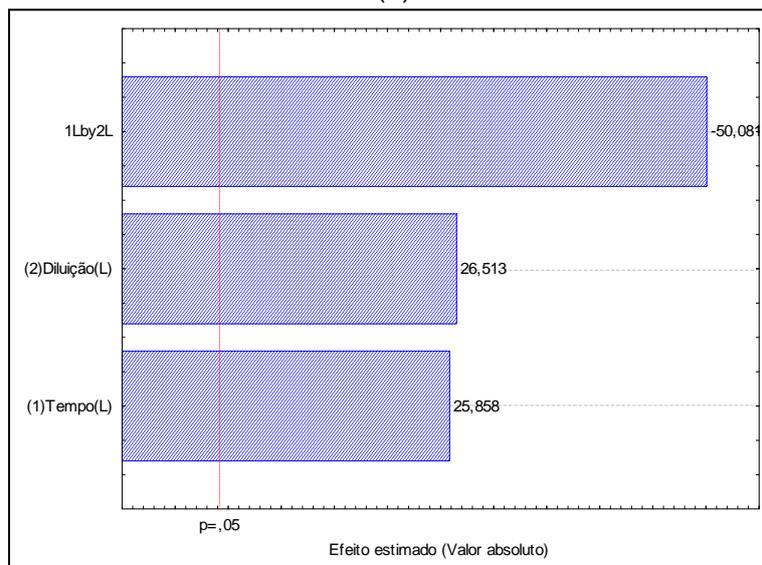
A Figura 12 (a) e (b) apresenta o gráfico de Pareto com os efeitos estimados (valor absoluto) das variáveis testadas no planejamento fatorial 2^2 para o teor de ácido oléico das amostras de linguiça Calabresa para o 0 e 14º dia de armazenamento, verifica-se que a fração da diluição exerce um efeito negativo na composição do ácido oléico.



(a)



(b)



(c)

Figura 12: Gráfico de Pareto (a) e (b) com o efeito estimado (valor absoluto) das variáveis estudadas no planejamento experimental 2^2 para teor de ácido oléico no 0 (a), 14º (b) e 28º (c) dia de armazenamento.

A composição de ácido linolênico para as amostras de linguiça Toscana armazenada em diferentes estruturas de embalagem são apresentados na Tabela 16 e Figura 12. Verifica-se que o ácido linolênico sofreu pequenas variações ao longo do

período de estudo. No 35º dia de armazenamento nenhum das embalagens selecionadas diferiu significativamente ($p < 0,05$). O comportamento da composição de ácido oléico de cada embalagem durante os dias de armazenamento demonstrou que houve diferença significativa da mesma embalagem no decorrer do período de estudo. O maior valor alcançado foi de 0,50 g/100 de ácido linolênico aos 14 dias de armazenamento para embalagem a (EVOH).

Tabela 16: Composição de ácido linolênico (g/100g) de amostras de linguiça Toscana armazenadas por 35 dias nas diferentes embalagens.

Embalagens	Teor de ácido linolênico (g/100g de amostra)*					
	0 dia	7ºdia	14ºdia	21ºdia	28ºdia	35ºdia
A	0,34 ^{eA} (±0,01)	0,36 ^{dA} (±0,01)	0,50 ^{aA} (±0,01)	0,48 ^{bA} (±0,01)	0,45 ^{cA} (±0,01)	0,46 ^{cA} (±0,01)
B	0,32 ^{eA} (±0,01)	0,35 ^{deA} (±0,01)	0,41 ^{cA} (±0,01)	0,47 ^{aA} (±0,02)	0,44 ^{bA} (±0,01)	0,45 ^{cdA} (±0,01)
C	0,37 ^{dA} (±0,01)	0,34 ^{dA} (±0,01)	0,49 ^{acA} (±0,10)	0,51 ^{aA} (±0,01)	0,50 ^{abA} (±0,01)	0,41 ^{bcdA} (±0,01)

Média ± (desvio padrão) seguidas de letras minúsculas nas linhas e maiúsculas nas colunas iguais não diferem estatisticamente á nível de 5% (Teste de Tukey);, A – EVOH com vácuo, B – Nylon Poli com vácuo, C – PE com vácuo.

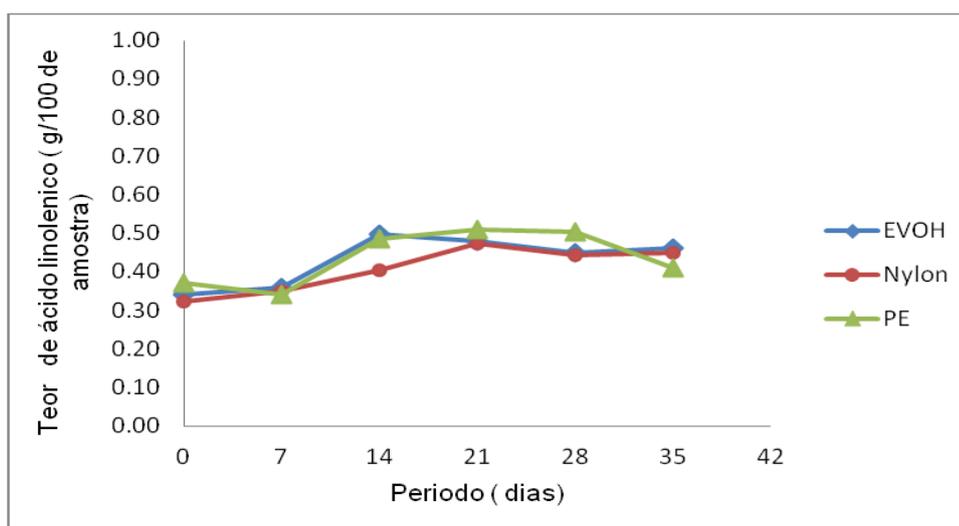


Figura 13: Composição de ácido linolênico das amostras de linguiça Toscana nas três estruturas de embalagens durante os 35 dias.

Na tabela 17 é apresentada a matriz do planejamento fatorial 2² e resposta de composição de ácido linoleico (g/100g) para linguiça Calabresa.

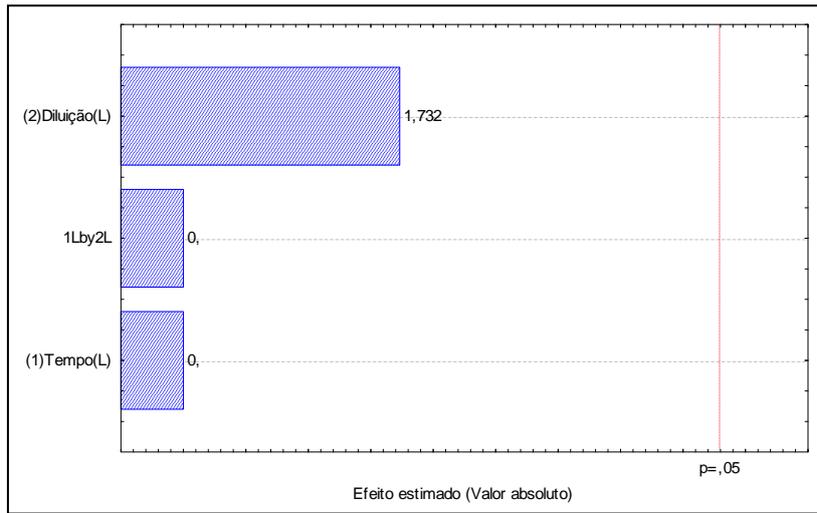
Tabela 17: Matriz do planejamento fatorial 2² (valores codificados e reais) e resposta de composição de ácido linoléico (g/100g) para as amostras de linguiça Calabresa para os 28 dias de armazenamento.

Ensaio	Variáveis independentes*		Teor de ácido linoléico (g/100g)		
	X ₁	X ₂	0 dia	14 ^o dia	28 ^o dia
1	-1(1:2)	-1(60)	0,31 ^a (±0,01)	0,30 ^a (±0,01)	0,32 ^a (±0,01)
2	1(1:4)	-1(60)	0,31 ^a (±0,01)	0,32 ^a (±0,01)	0,35 ^a (±0,06)
3	-1(1:2)	1(150)	0,32 ^a (±0,01)	0,28 ^b (±0,01)	0,31 ^a (±0,01)
4	0(1:3)	1(150)	0,32 ^a (±0,01)	0,31 ^a (±0,01)	0,29 ^a (±0,01)
5	0(1:3)	0(105)	0,33 ^a (±0,01)	0,33 ^a (±0,01)	0,31 ^a (±0,01)
6	0(1:3)	0(105)	0,33 ^a (±0,01)	0,34 ^a (±0,01)	0,31 ^a (±0,02)
7	0(1:3)	0(105)	0,33 ^a (±0,02)	0,33 ^a (±0,01)	0,32 ^a (±0,01)

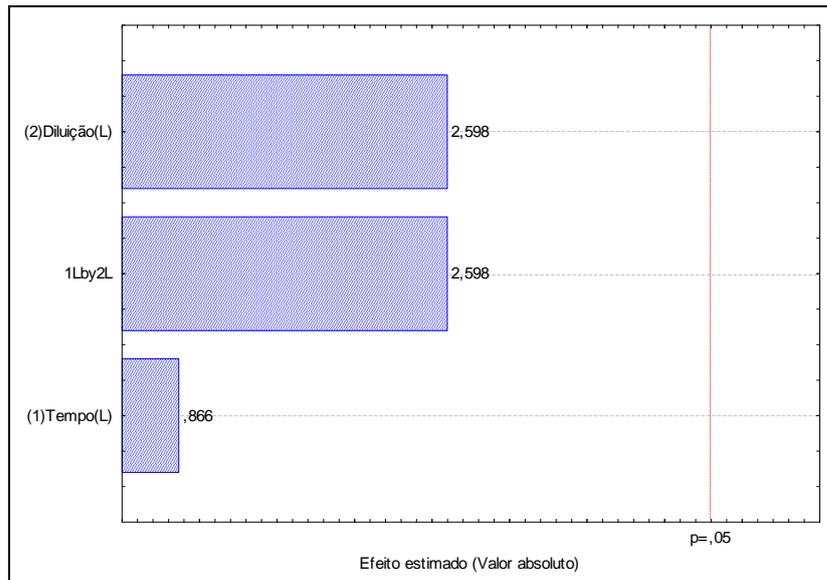
*X₁: fração da diluição (v/v); X₂: tempo de contato (seg); Média ± (desvio padrão) seguidas de letras minúsculas nas linhas iguais não diferem estatisticamente á nível de 5% (Teste de Tukey)

Observando a Tabela 17 verifica-se que não houve diferença significativa dos ensaios ao longo dos dias de armazenamento. O maior conteúdo de ácido linoléico (0,35 g/100g) foi encontrado no ensaio 2 correspondente a maior fração de diluição (1:4) e menor tempo de contato (60seg).

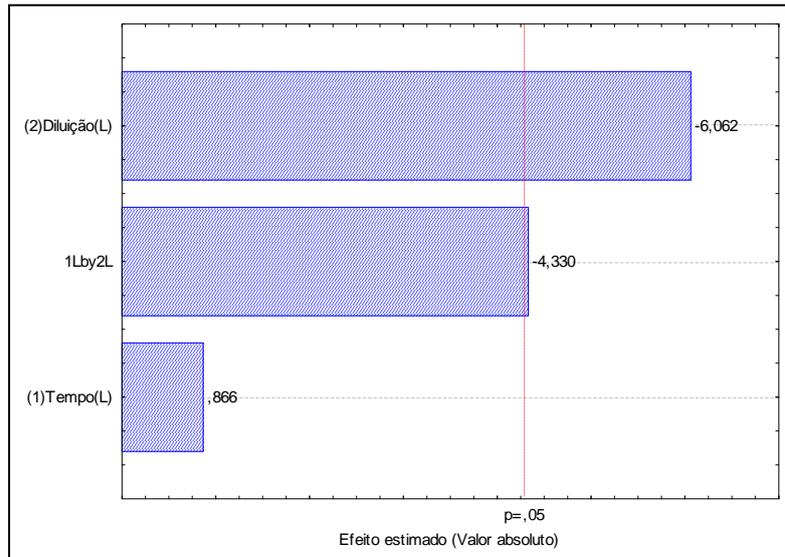
A Figura 14 (a, b e c) apresenta o gráfico de Pareto com os efeitos estimados (valor absoluto) das variáveis testadas no planejamento fatorial 2² para o teor de ácido linoléico das amostras de linguiça Calabresa para o 0^odia (a), 14^odia (b) e 28^odia (c) de armazenamento. Observa-se que no 0^odia de armazenamento (Figura 13a) que nenhuma das variáveis de estudo do tratamento com fumaça líquida exerceram efeito na composição do ácido linoléico. No entanto, aos 28^odia de armazenamento foi verificado efeito negativo (p<0,05) da diluição da fumaça líquida, ou seja, indicando que a medida que a fumaça líquida é diluída, exerce um efeito na diminuição do teor de ácido linoléico de amostras de linguiça Calabresa.



(a)



(b)



(c)

Figura 14: Gráfico de Pareto com o efeito estimado (valor absoluto) das variáveis estudadas no planejamento experimental 2² para teor de ácido linoléico no 0º dia (a), 14º dia (b) e 28º dia (c) de armazenamento, respectivamente.

Os ácidos graxos podem ser divididos em classes de acordo com a função que exercem em nosso organismo. Os ácidos graxos essenciais são aqueles que necessitam serem ingeridos a partir da alimentação. Dentre eles estão o ácido linoléico e o ácido linolênico, os quais são necessários para a síntese de outros ácidos graxos. Uma vez ingeridos eles podem ser convertidos em outros ácidos poliinsaturados como o Eicosapentaenóico, 22:5n-3, Docosahexaenóico, 22:6n-3 e Araquidônico (20:4n-6) (NELSON & COX, 2002).

Embora a composição de ácidos graxos não seja o parâmetro mais importante para verificar a oxidação lipídica, alterações nos ácidos graxos podem ocorrer devido à oxidação principalmente do ácido graxo linoléico e araquidônico que irão sofrer clivagem dando origem ao hexanal e ao pentano (FENAILLE *et al.*, 2003, GOODRIDGE *et al.*, 2003). Desta forma, OSADA *et al.* (2000) verificaram a diminuição do ácido linoléico durante estocagem com concomitante aumento de óxidos de colesterol em lingüiça suína. Por outro lado, observaram inibição da oxidação do ácido linoléico quando os produtos cárneos foram adicionados de polifenóis extraídos de maçã.

Os valores de ácidos oléico para as amostras de lingüiça Toscana e Calabresa variaram entre 12,23 e 14,43 g/100g, respectivamente. Na lingüiça Toscana somente o

ácido linolênico foi encontrado e seu teor foi de 0,46 g/100 g para amostra armazenada na embalagem A (EVOH) aos 28 dias de armazenamento. A linguiça Calabresa apresentou somente ácido linoléico com teor máximo de 0,35 g/100g (28º dia de armazenamento) para o Ensaio 2 (Tabela 19) correspondendo ao maior tempo de exposição (150 s) da amostra com a fumaça na sua menor diluição (1:2, v/v).

Baggio (2004) relatou ter encontrado cerca de 13,2 g/100 g de ácidos graxos insaturados em amostras de linguiça toscana refrigerada, valores estes bem próximos aos observados no presente estudo, onde o teor de ácidos graxos insaturados médios foram de 12,39 e 13,1 g/100 g para a linguiça Toscana e Calabresa, respectivamente.

Larkeson *et al.* (2000) obtiveram os mesmos ácidos graxos insaturados em almôndegas e hambúrguers que os do presente trabalho. Torres *et al.* (1989) também encontraram estes mesmos ácidos graxos em amostras de charque. Pereira *et al.* (2000) determinaram, os seguintes ácidos graxos em amostras de linguiças tipo comum: ácido oléico, ácido palmítico, ácido esteárico, ácido oléico, ácido linoléico, ou seja, os mesmos ácidos detectados no presente trabalho. Coincidindo com determinado neste estudo eles encontraram porcentagens de áreas menores de ácidos graxos saturados e maiores de ácidos graxos insaturados nas amostras de linguiças tipo comum.

4.2. Avaliação da Oxidação protéica

Na Tabela 18 é apresentado os resultados da quantificação dos grupos carbonil das amostras de linguiça Toscana acondicionadas nas estruturas de embalagens testadas durante os 35 dias de armazenamento

Tabela 18: Grupos carbonil das amostras de linguiça Toscana armazenadas em diferentes embalagens por 35 dias.

Embalagens	Grupos Carbonila (nmol carbonil/mg proteína)*					
	0 dia	7ºdia	14ºdia	21ºdia	28ºdia	35ºdia
A	0,70 ^{CA} (±0,02)	1,38 ^{BB} (±0,07)	1,90 ^{AA} (±0,06)	2,04 ^{AA} (±0,10)	1,96 ^{AB} (±0,10)	1,92 ^{AB} (±0,10)
B	0,73 ^{CA} (±0,06)	1,23 ^{BB} (±0,09)	1,42 ^{BB} (±0,02)	1,88 ^{AB} (±0,07)	1,78 ^{AB} (±0,04)	2,03 ^{AB} (±0,22)
C	0,71 ^{EA} (±0,05)	1,66 ^{DA} (±0,04)	1,95 ^{CA} (±0,07)	2,12 ^{BA} (±0,04)	2,29 ^{BA} (±0,05)	2,45 ^{AA} (±0,04)

Média ± (desvio padrão) seguidas de letras minúsculas nas linhas e maiúsculas iguais nas colunas não diferem estatisticamente á nível de 5% (Teste de Tukey); A – EVOH com vácuo, B – Nylon Poli com vácuo, C – PE com vácuo.

De acordo com a Tabela 18 é possível observar um aumento significativo ($p < 0,05$) na oxidação de proteínas a partir do 7º dia, com acréscimo no restante do período avaliado, principalmente para as amostras armazenadas na embalagem C (PE) que atingiu o maior valor de 2,45 nmol carbonil/mg proteína ao final dos 35 dias, diferindo significativamente ($p < 0,05$) dos teores das amostras acondicionadas na embalagem B (Nylon Poli) e A (EVOH). Ressalta-se que as amostras armazenadas na embalagem de polietileno foram as que apresentaram maior teor de grupos carbonil durante todo o período de armazenamento.

Howell *et al.* (2001) e Gerrard (2002) mostraram que a oxidação das proteínas está ligada à oxidação dos lipídios em produtos cárneos. Assim como Purchas *et al.* (2004) e Estévez & Cava (2004) que relataram significativa correlação entre ferro não-heme e o aumento dos processos oxidativos, podendo ser uma possível causa do aumento da oxidação de proteína da linguiça Toscana, constatado neste estudo.

Ao comparar os resultados do presente estudo, com os relatados para o salame Italiano (SAGGIAROTO, 2008), obteve-se valores superiores de 22,39 a 35,96 nmol carbonil/mg proteína aos 21 dias.

Na Tabela 19 é apresentada a Matriz do planejamento fatorial 2^2 (valores codificados e reais) e resposta de grupos carbonil (nmol carbonil/mg proteína) para as amostras de linguiça Calabresa.

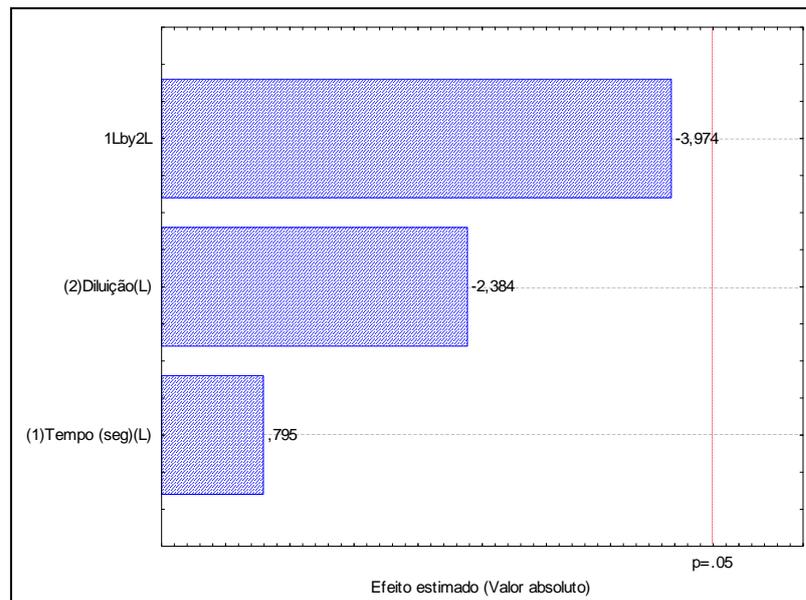
Tabela 19: Matriz do planejamento fatorial 2² (valores codificados e reais) e resposta de grupos carbonil (nmol carbonil/mg proteína) para as amostras de linguiça Calabresa para os 28 dias de armazenamento.

Ensaio	Variáveis independentes*		Grupos carbonil (nmol carbonil/mg proteína)				
	X ₁	X ₂	0 dia	7º dia	14º dia	21º dia	28º dia
1	-1(1:2)	-1(60)	1,63 ^c (±0,01)	3,67 ^b (±0,01)	3,70 ^{ab} (±0,01)	3,72 ^{ab} (±0,01)	3,74 ^a (±0,01)
2	1(1:4)	-1(60)	1,75 ^b (±0,06)	3,78 ^a (±0,01)	3,68 ^a (±0,19)	3,72 ^a (±0,16)	3,85 ^a (±0,06)
3	-1(1;2)	1(150)	1,67 ^b (±0,02)	3,70 ^a (±0,02)	3,76 ^a (±0,02)	3,77 ^a (±0,02)	3,82 ^a (±0,04)
4	0(1:3)	1(150)	1,59 ^b (±0,01)	3,65 ^a (±0,01)	3,73 ^a (±0,02)	3,74 ^a (±0,02)	3,79 ^a (±0,09)
5	0(1;3)	0(105)	1,60 ^c (±0,03)	3,63 ^b (±0,01)	3,67 ^{ab} (±0,01)	3,68 ^{ab} (±0,02)	3,72 ^a (±0,01)
6	0(1:3)	0(105)	1,58 ^c (±0,02)	3,63 ^b (±0,01)	3,68 ^{ab} (±0,01)	3,68 ^{ab} (±0,02)	3,72 ^a (±0,02)
7	0(1:3)	0(105)	1,63 ^c (±0,01)	3,64 ^b (±0,02)	3,67 ^{ab} (0,02)	3,69 ^{ab} (0,01)	3,73 ^a (0,03)

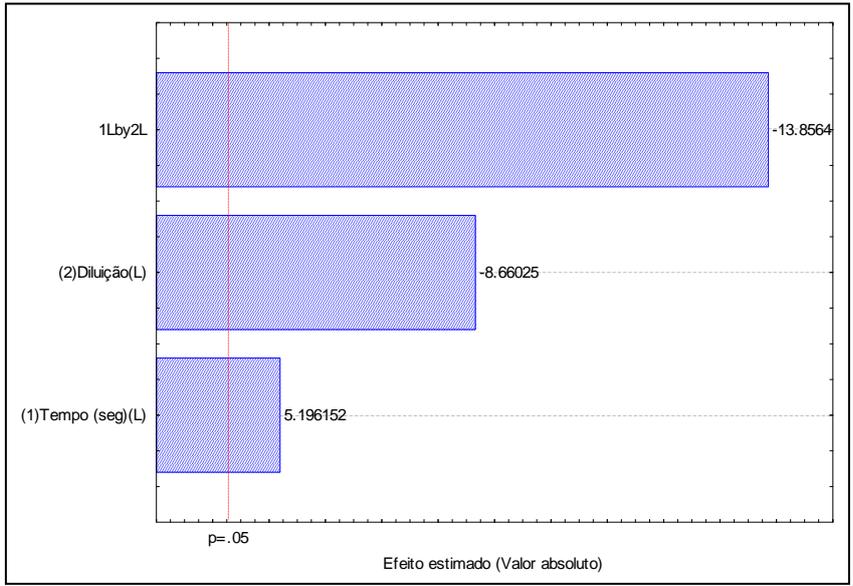
*X₁: fração da diluição (v/v); X₂: tempo de contato (seg); Média ± (desvio padrão) seguidas de letras minúsculas nas linhas iguais não diferem estatisticamente á nível de 5% (Teste de Tukey)

Os grupamentos de proteína carbonil teve um aumento acentuado do tempo zero para o 7º dia de armazenamento. Do 7º até o 21º dia os valores se mantiveram praticamente estáveis para todos os ensaios, sendo que no 28º dia nenhum ensaio diferiu significativamente (p<0,05). O maior valor de grupos carbonil observado (3,85 nmol de carbonil/mg de proteína) foi relativo ao Ensaio 2 com o menor tempo de exposição (60 s) da amostra a fumaça e na maior diluição (1:4, v/v). Já os menores valores foram nos Ensaios 5, 6 e 7 relativos ao ponto central onde as condições são de tempo intermediário de exposição (105 seg) e fração da diluição também intermediária (1:3, v/v).

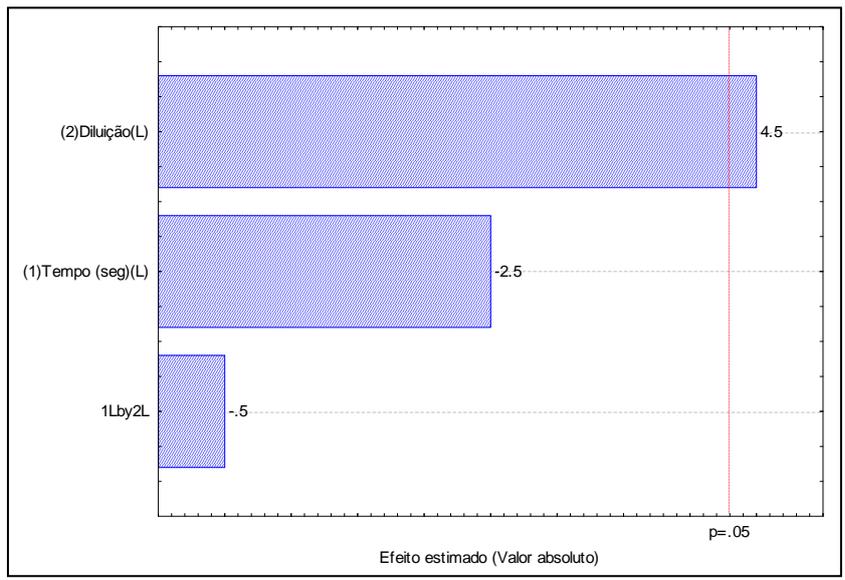
A Figura 15 (a, b, c e d) apresenta o gráfico de Pareto com os efeitos estimados (valor absoluto) das variáveis testadas no planejamento fatorial 2^2 para os grupo carbonil das amostras de linguiça Calabresa aos 7^odia (a), 14^odia (b), 21^o (c) e 28^odia (d) de armazenamento. No 0^o e 21^odia de armazenamento nenhuma das variáveis estudadas exerceram efeito significativo sobre o grupo carbonil das amostras analisadas. No entanto, no período de 7 e 28 dias de armazenamento, o tempo de contato das amostras nos ensaios de fumaça líquida influenciou significativamente, no incremento do grupo carbonil. No 14^odia, o aumento da fração da diluição, também, favoreceu o aumento da oxidação de proteínas (carbonil).



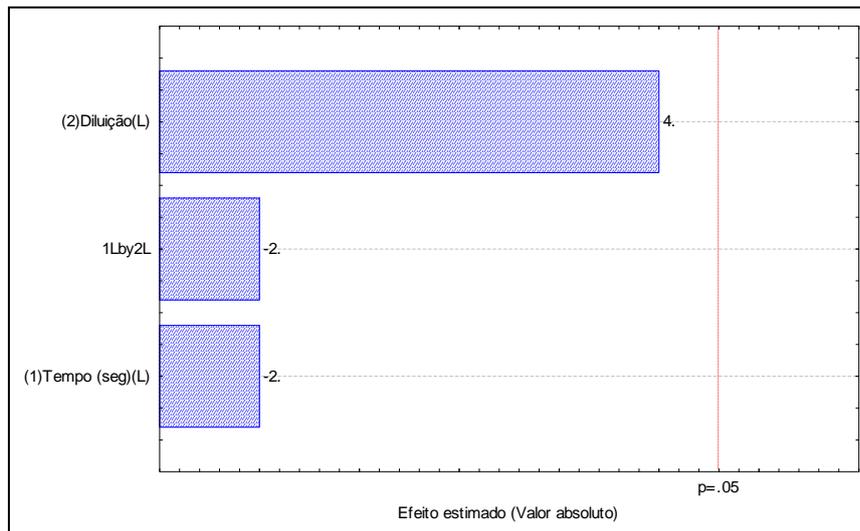
(a)



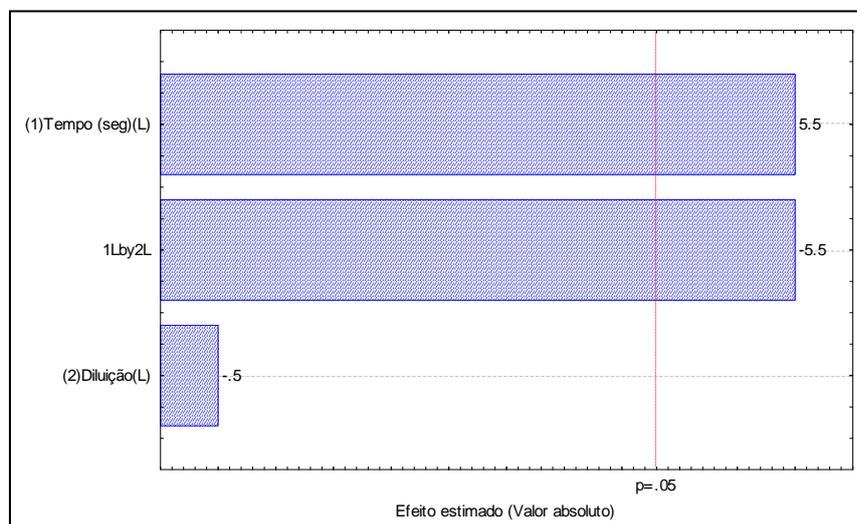
(b)



(c)



(d)



(e)

Figura 15: Gráfico de Pareto com o efeito estimado (valor absoluto) das variáveis estudadas no planejamento experimental 2^2 para os grupos carbonil de amostras de lingüiça Calabresa aos 0 dia (a), 7ºdia (b), 14ºdia (c), 21ºdia (d) e 28ºdia (e) de armazenamento, respectivamente.

Analisando a Figura 15 (a), (b), (c), (d) e (e), verifica-se que as variáveis estudadas não influenciaram no incremento da resposta (grupos carbonil) até o 21º dia de armazenamento. No 28º dia o tempo exerceu uma influencia significativa ($p < 0,05$) positiva para o aumento dos grupamentos carbonil, ou seja, quanto maior foi o tempo de contato da amostra com a fumaça líquida mais alto foi o valor carbonil.

Schwert (2009) avaliando linguiças calabresa tratadas com fumaça tradicional e líquida encontrou teores 1,38 e 1,15 nmol carbonil/ mg proteína; respectivamente para os primeiros dias de análise. Após 40 dias os valores foram para 4,85 nmol carbonil/mg proteína, valores estes um pouco superiores ao encontrados neste estudo (~3,8 nmol carbonil/mg proteína).

De acordo com Varnam & Sutherland (1998) quando ocorre a reação de Maillard os aminoácidos sofrem desaminação/descarboxilação oxidativa pela degradação de Streck, sendo esse um dos mecanismos prováveis para a origem de numerosos compostos que apresentam o grupamento carbonil,

Purchas *et al.* (2004) e Estévez & Cava (2004) relataram significativa correlação entre ferro não-heme e o aumento dos processos oxidativos, podendo ser outra possível causa do aumento da oxidação de proteína da linguiça tipo Calabresa, constatado neste estudo.

Estévez & Cava (2006) encontraram valores 6 nmol de carbonil/mg de proteína para Salsichas Frankfurters elaboradas com carne suína armazenadas durante 120 dias a 4°C.

Wang *et al* (2009) avaliando a extensão da oxidação de proteína em carne de frango em função do pH encontrou conteúdo baixo de grupos carbonil (1,15 nmol / mg de proteína). Eles também descobriram que em cortes de peru o conteúdo de grupos carbonil aumentou significativamente ($p < 0,0001$) de 1,72 para 2,00 nmol/mg de proteína após armazenamento congelado a 4°C

Varios autores (ESTÉVEZ E CAVA, 2004; ESTÉVEZ *et al*, 2008;. SALMINEN *et al*, 2006), relataram que há interação entre os lipídios oxidados com as proteínas em sistemas à base de carne. No entanto, o papel desempenhado pelos lípidos oxidados na modificação oxidativa de cadeias laterais de aminoácidos, permanece desconhecida.

Na Tabela 20 são apresentados os valores dos grupamentos sulfidrilas das amostras de linguiça Toscana, refrigerada a 8°C e armazenada por 35 dias.

Tabela 20: Grupos sulfidrila das amostras de linguiça Toscana acondicionadas em diferentes estruturas de embalagem armazenadas por 35º dias a 8ºC.

Embalagens	Grupos Sulfidrila (μ moles/ mg de proteína)*					
	0 dia	7º dia	14º dia	21º dia	28º dia	35º dia
A	43,23 ^{aA} (\pm 1,18)	26,86 ^{bA} (\pm 0,97)	21,01 ^{cA} (\pm 0,76)	18,18 ^{dA} (\pm 0,46)	13,90 ^{eA} (\pm 1,02)	13,89 ^{eA} (\pm 1,47)
B	42,51 ^{aA} (\pm 0,41)	26,32 ^{bA} (\pm 0,75)	22,81 ^{cAB} (\pm 1,26)	20,97 ^{cA} (\pm 1,49)	16,66 ^{dA} (\pm 1,31)	16,46 ^{dA} (\pm 0,72)
C	43,42 ^{aA} (\pm 1,37)	23,64 ^{bA} (\pm 1,71)	17,46 ^{cA} (\pm 1,14)	17,45 ^{cA} (\pm 1,13)	15,81 ^{cdA} (\pm 0,53)	13,90 ^{dA} (\pm 0,82)

Média \pm (desvio padrão) seguidas de letras minúsculas nas linhas/maiúsculas nas colunas iguais não diferem estatisticamente a nível de 5% (Teste de Tukey);, A – EVOH com vácuo, B – Nylon Poli com vácuo, C – PE com vácuo.

Os grupamentos sulfidrila diminuíram ao longo de período de estudo, sendo a redução de cerca de 40 % do tempo zero em relação ao 7º dia de armazenamento. A embalagem A (EVOH) foi que apresentou a maior redução em relação as outras duas amostras, mesmo não diferindo estatisticamente ($p < 0,05$) das demais. Em relação a diferenças de cada embalagem ao longo dos dias de armazenamento, verifica-se que embalagem A (EVOH) foi a que mais diferença apresentou entre os dias de armazenamento.

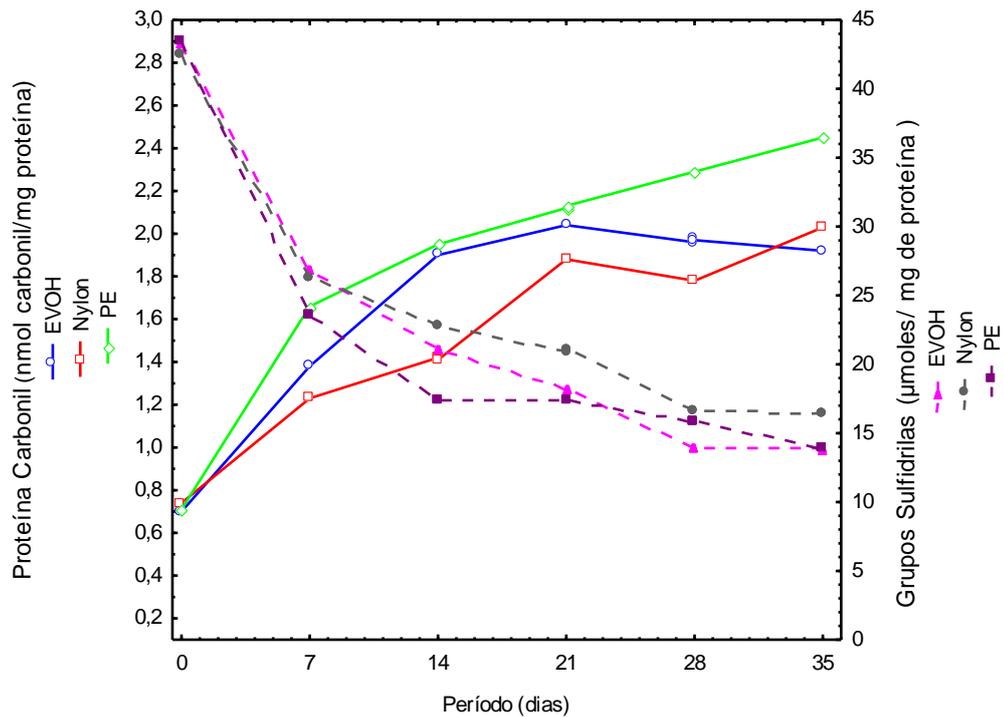


Figura 16: Correlação entre proteína carbonil e grupos sulfidrilas de amostras de linguiça Toscana armazenadas em diferentes embalagens por 35 dias.

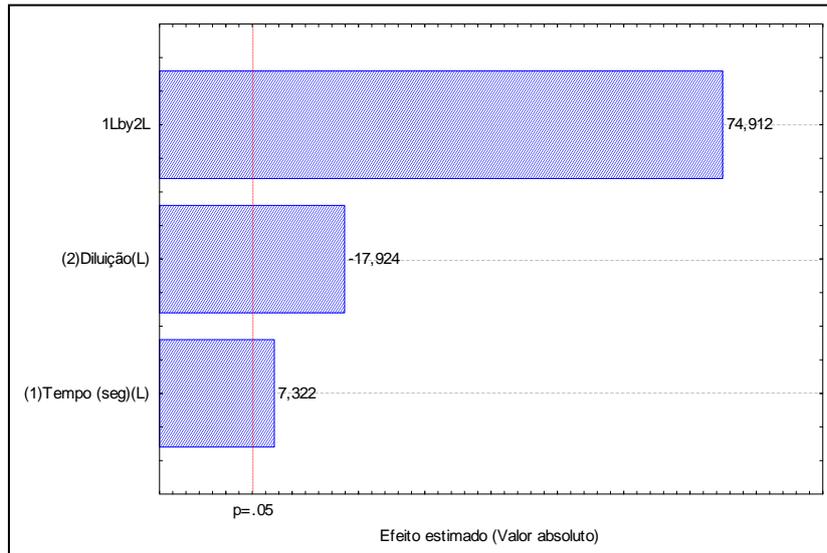
Na Tabela 21 é apresentada a matriz do planejamento fatorial e resposta de grupamentos sulfidrilas para as amostras de linguiça Calabresa armazenada a 20°C durante 28 dias.

Tabela 21: Matriz do planejamento fatorial 2² (valores codificados e reais) e resposta de grupos sulfidrilas (µmoles/mg de proteína) de amostras de linguiça Calabresa aos 28 dias de armazenamento.

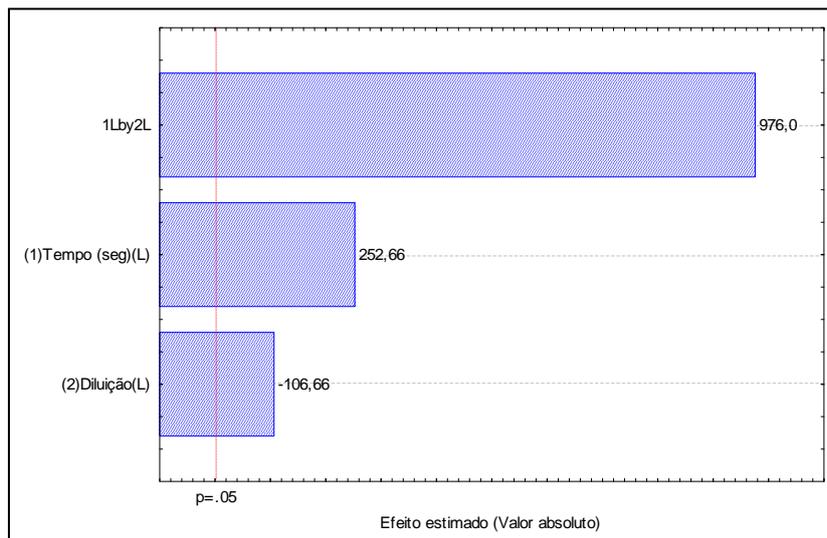
Ensaio	Variáveis independentes*		Grupos sulfidrilas (µmoles/ mg de proteína)				
	X ₁	X ₂	0 dia	7º dia	14º dia	21º dia	28º dia
1	-1(1:2)	-1(60)	77,16 ^a (±0,02)	46,34 ^b (±0,66)	20,51 ^c (±0,33)	15,18 ^d (±0,04)	12,24 ^e (±0,25)
2	1(1:4)	-1(60)	45,74 ^a (±0,04)	44,78 ^a (±0,54)	20,5 ^b (±0,35)	15,08 ^c (±0,50)	12,11 ^d (±0,07)
3	-1(1:2)	1(150)	32,74 ^a ±(0,93)	31,85 ^a (±1,31)	19,98 ^b (±0,09)	13,99 ^b (±0,50)	13,28 ^b (±0,02)
4	0(1:3)	1(150)	33,79 ^a (±0,01)	33,26 ^a (±0,46)	20,88 ^b (0,34)	21,53 ^b (±0,19)	15,79 ^c (±0,02)
5	0(1:3)	0(105)	72,22 ^a (±0,82)	40,72 ^b (±0,23)	20,24 ^c (±0,31)	17,66 ^d (±0,02)	13,79 ^e (±0,36)
6	0(1:3)	0(105)	70,2 ^a (±0,70)	41,05 ^b (±0,92)	20,68 ^c (±0,40)	17,69 ^d (±0,11)	13,78 ^e (±0,05)
7	0(1:3)	0(105)	70,05 ^a (±0,94)	40,2 ^b (±0,12)	20,67 ^c (±0,09)	17,68 ^d (±0,05)	13,28 ^e (±0,07)

*X₁: fração da diluição (v/v); X₂: tempo de contato (seg); Média ± (desvio padrão) seguidas de letras minúsculas nas linhas iguais não diferem estatisticamente á nível de 5% (Teste de Tukey)

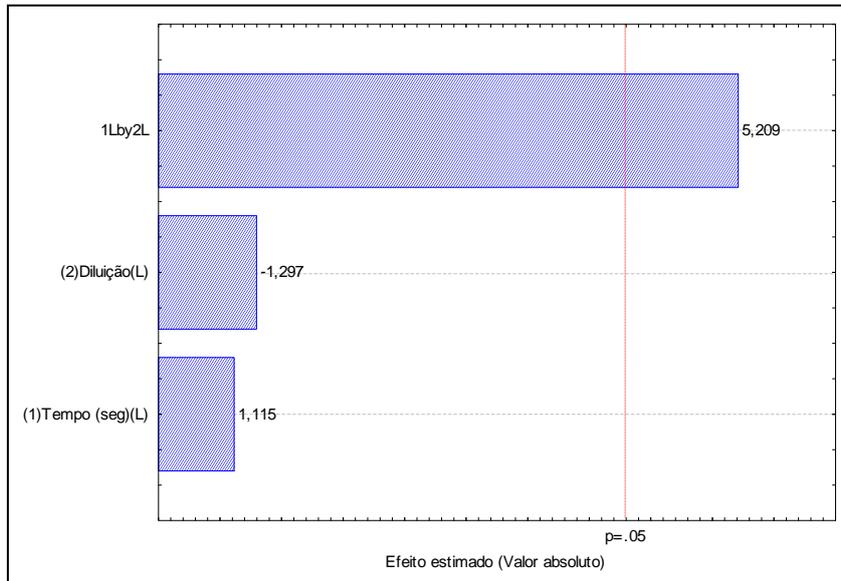
A Figura 17 (a, b, c e d) apresenta o gráfico de Pareto com os efeitos estimados (valor absoluto) das variáveis testadas no planejamento fatorial 2² para os grupo sulfidrilas das amostras de linguiça Calabresa aos 0º dia (a), 7º dia (b), 14º dia (c), 21º dia (d) e 28º dia (e) de armazenamento. A fração da diluição exerceu efeito significativo negativo sobre o grupo sulfidrilas aos 0º dia e , 7º dia (Figura 16 (a) e (b)), no 14º e 21º dia (Figura (c) e (d)) nenhuma das variáveis estudadas exerceu efeito significativo para a diminuição dos grupamentos sulfidrilicos. Aos 28 dias (Figura 16(e)) a diluição exerceu influencia (p<0,05) para a diminuição dos grupos sulfidrilas, ou seja, a medida que aumenta a diluição diminuiu os grupos sulfidrilas.



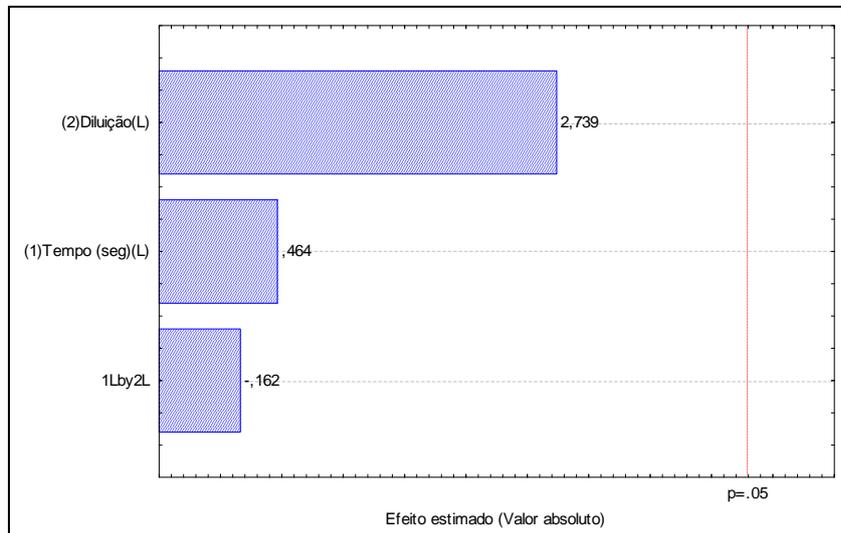
(a)



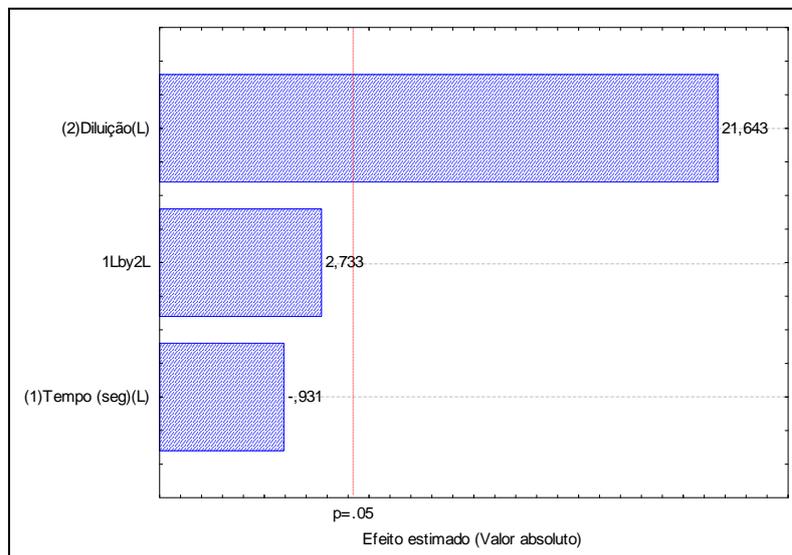
(b)



(c)



(d)



(e)

Figura 17: Gráfico de Pareto com o efeito estimado (valor absoluto) das variáveis estudadas no planejamento experimental 2^2 para os grupos sulfidrilas para o 0º dia (a), 7ºdia (b), 14ºdia (c), 21ºdia (d) e 28º dia (e) de armazenamento, respectivamente.

Oxidação de proteínas está associada com uma diminuição nos grupos na sulfidrilas, que são convertidos em dissulfetos (BATIFOULIER *et al*, 2002; SOYER & HULTIN, 2000).

Como é possível observar na Tabela 21 os valores dos grupos sulfidrilas diminuíram ao longo do período estudado, sendo que a maior queda foi verificada no Ensaio 1 aos 28ºdia de armazenamento.

Soyer *et al* (2010) estudando o efeito da temperatura de congelamento e tempo de estocagem na oxidação lipídica e protéica em carne de frango e concluiu que ambos não tiveram influencia significativa ($P < 0,01$) sobre o conteúdo de sulfidrilas da perna de frango e carne de peito, com o teor médio de diminuição de 38,82-13,26 $\mu\text{mol/mg}$ proteína (queda 65,8 %) e carne perna 27,62-18,29 $\mu\text{mol/mg}$ proteína (33,8% de queda) durante 6 meses de armazenamento.

A diminuição no teor de grupos sulfidrilas foi relatado anteriormente em carne de frango, durante o armazenamento congelado (SOYER & HULTIN 2000), em carne de peru (BATIFOULIER *et al.*, 2002) e em polpa de peixe durante o armazenamento refrigerado (EYMARD *et al.*, 2009). Batifoulier *et al* (2002) avaliando carne de peru mostrou que o valor inicial de grupos sulfidrilas livre (amostras suplementadas) foi de 90 $\mu\text{mol/mg}$ de proteína em comparação com 60 $\mu\text{mol/mg}$ na amostra controle. O

conteúdo de sulfidrilas livres diminuiu quase 60 $\mu\text{mol/mg}$ de proteína em animais suplementados e a 40 $\mu\text{mol/mg}$ de proteína no controle, depois de 24 h

5.CONCLUSÃO

A seguir são apresentadas as principais conclusões deste trabalho:

- Em relação a oxidação lipídica a partir do 28º dia de análise todas as amostras de linguiça Toscana armazenadas a 8°C, independente da embalagem utilizada começou a ocorrer a oxidação. Na embalagem de PE (Polietileno) as alterações foram mais pronunciadas.

- As amostras de linguiça Calabresa tratadas com fumaça líquida demonstraram sofrer alterações nas frações lipídicas a partir do 21º dia de armazenamento a 20°C, sendo mais pronunciadas no tratamento com tempo de contato de 60 s e fração de diluição de 1:4 (v/v).

- Em relação a oxidação protéica, verificou-se um aumento progressivo dos grupos carbonil nas amostras de linguiça Calabresa e Toscana com o período de armazenamento, independente da embalagem ou do tratamento de fumaça líquida. No entanto, os grupos sulfidrilas sofreram um decréscimo com o decorrer do período de armazenamento, independente da embalagem ou do tratamento de fumaça líquida empregados.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ÁBALOS, M., BAYONA, J. M., PAWLISZIN, J.,. Development of a Headspace Solid-Phase Microextraction Procedure for the Determination of Free Volatile Fatty Acids in Waste Waters . **Journal of Chromatography A**. v 873, p.107 – 115, 2000

ADICON IND. COM. ADITIVOS LTDA. **Uso e processos de Fabricação. Aditivos. Fumaças líquidas naturais. Aplicação em produtos cárneos**. 1998.

ALGHAZEER, R.; SUHUR, S. ; HOWELL, N.K. Aldehyde formation in frozen mackerel (*Scomber Scombus*) in the presence and absence instant green tea. **Food Chemistry**, v 108, p 801-810, 2008.

ALMEIDA, R.B.; BESERRA, F.J.; AZEREDO, H.M.C. FERREIRA, J.C.G.; BITU, L.A.; MONTE, F.B.R. Uso de colágeno solubilizado como substituto de gordura em emulsão cárnea. XX CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS. 2005.

ALMEIDA. C.O. **Avaliação físico-química e microbiológica de linguiça toscana porcionada e armazenada em diferentes embalagens sob condições de estocagem similares às praticadas em supermercado**. 2005. Dissertação (Mestrado Tecnologia de Alimentos) – Universidade Estadual de Campinas, Unicamp.Campinas, 2005.

AMERICAN HEART ASSOCIATION. Dietary Guidelines for Health American Adults. Disponível em: http://www.americanheart.org/Heart_and_Stroke_A_Z_Guide/dietg.html, 2012

ANSORENA, D., ASTIASAR, I. Effect of storage and packaging on fatty acid composition and oxidation in dry fermented sausages made with added olive oil and antioxidants. **Meat Science** v. 67, p. 237–244, 2004.

ARAÚJO, J. M. A. **Química dos Alimentos** - Teoria e prática. 2ª ed. Viçosa: UFV, 1999. 416p

ARMENTEROS, M.; HEINONEN, M.; OLLILAINEN, V.; TOLDRÁ, F.; ESTÉVEZ, M.; Analysis of protein carbonyls in meat products by using the DNPH-method, fluorescence spectroscopy and liquid chromatography– electrospray- ionisation–mass spectrometry (LC–ESI–MS). **Meat Science**, v. 83, p. 104–112, 2009.

BABJI, A. S. et al. Quality of mechanically deboned chicken meat frankfurter incorporated with chicken skin. **International Journal Food Sciences Nutrition**, Basingstoke, v. 49, n. 5, p. 319-326, 1998.

BARRIONUEVO, W. R.; LANÇAS, F. M. Extração em Fase Sólida (SPE) e Micro Extração em Fase Sólida (SPME) de Piretróides em Água. **Química Nova**. v.24, n. 2, p. 172 a 175, 2001.

BATIFOULIER, F., MERCIER, Y., GATELLIER, P., & RENERRE, M. Influence of vitamin E on lipid and protein oxidation induced by H₂O₂-activated in turkey muscle. **Meat Science**, v 61,p. 389–395,2002.

BERLETT, B. S., & STADTMAN, E. R. Protein oxidation in aging, disease, and oxidative stress. **Journal of Biological Chemistry**, v. 272,p. 20313–20316, 1997.

BERSET, C.; CUVELIER, M. E.; **Sciences des Aliments**. v.16, p. 219, 1996.

BLIGH , E. C., DYER, W. J. A rapid method of total lipid. Extraction and purification. **Can. J. Biochem. Physiol**, 37: 911-917, 1959.

BOTE, C. L.; OLIVARES, A.; FERNÁNDEZ, E.; RAMIREZ P.; REY, A. Estratégias genéticas y nutricionales en la modificación de la composición de la carne. In: *Derivados Cárnicos Funcionales: Estratégias Y Perspectivas*, 2005, Madrid. **Série Informes**. Madrid: Fundación Española de Nutrition – FEN, 2005. p. 55-64.

BUTTERFIELD D. A.; STADTMAN E. R. Protein oxidation processes in aging brain. **Adv. Cell Aging Gerontol**, .v. 2, p. 161–191, 1997

BRAGAGNOLO. N. Aspectos comparativos entre Carnes segundo a composição de ácidos graxos e teor de colesterol. *2a Conferência Internacional Virtual sobre Qualidade de Carne Suína 5 de Novembro a 6 de Dezembro de 2001 — Concórdia, SC, Brasil*

BRASIL. Ministério da Agricultura. Secretaria da defesa Agropecuária. Instrução Normativa nº.4, de 31 de Março de 2000. Regulamento Técnico de identidade e qualidade de Linguiça. Publicado no Diário Oficial da União de 05/04/2000.

BRUM, E. B. **Antioxidante natural de Marcela (*Achyrocline satureioides*) e de Erva Mate (*Ilex paraguariensis*) na elaboração de linguiça toscana**. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal de Santa Maria, UFSM. Santa Maria, 2009.

BRUNTON, N.P.; CRONIN D. A.; MONAHAN, F. J.; DURCAN, R. A comparison of solid-phase microextraction (SPME) fibres for measurement of hexanal and pentanal in cooked turkey. **Food Chemistry**, v. 68 p. 339 -345, 2000.

CARPENTER C. E.; CORNFORTH D. P.; WHITTAKER R. D. Consumer preferences for beef color and packaging did not affect eating satisfaction. **Meat Science**, Oxon, v. 57, n. 4, p. 359-363, 2001.

CASTRO, W. F. **Avaliação do efeito protetor do calorífico como antioxidante natural na oxidação lipídica da carne de frango**. Dissertação (Ciência de Alimentos) Universidade Federal de Campinas – Unicamp, 2008.

CASTRO, W. F. IBRAC - Indústria Brasileira de Aditivos e Condimentos. **Teoria e Prática na Industrialização de Carnes**. Departamento Técnico - IBRAC. Rio Claro, 1980. [manual teórico - pratico].

CECCHI, H. M. **Fundamentos teóricos e práticos em análise de alimentos**. Campinas: Editora da Unicamp, 1999, 212p.

CHURCH, I. J., PARSONS, A. L. Modified Atmosphere Packaging Technology: a Review. **Journal of Science and Food Agriculture**, v. 67, n. 2, p. 143- 152, 1995.

COLLINS, C. H. Em *Introdução a Métodos Cromatográficos*; Collins, C. H.; Braga, G. L.; Bonato, P. S., eds.; Editora da Unicamp: Campinas, 1997, p. 13

CRIPPA, A. **Estudo do desempenho de filmes multicamadas em embalagens termoformadas**. Dissertação (Engenharia de Materiais) – Universidade Federal do Paraná – UFPR, Curitiba, 2006.

DE PAULA, R.; **Avaliação da estabilidade de linguiça Toscana congelada armazenada em diferentes embalagens**. 2008, Dissertação de Mestrado. Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões – Campus de Erechim, Erechim, RS.

DECKER, E. A. Strategies for manipulating the prooxidative/antioxidative balance of food to maximize oxidative stability. **Trends in Food Science and Technology**. v. 9, p. 241-248, 1998.

DREHMER, A. M. F. **Quebra de peso das carcaças e estudo da vida de prateleira da carne suína**. 2005.115f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia dos

Alimentos) – Curso de Pós-graduação em Tecnologia e Ciência dos Alimentos, UFSM, Santa Maria, 2005.

ELLMAN, G. L. Tissue sulfhydryl groups. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v. 82, p. 70–77, 1959.

ERICKSON, M. C.. Contribution of phospholipids to headspace volatiles during storage of pecans. **Journal of Food Quality**, v. 16, p. 13–24, 2002.

ESTÉVEZ, M. Protein carbonyls in meat systems: A review. **Meat Science** v. 89, p 259–279, 2011.

ESTÉVEZ, M., & CAVA, R. Lipid and protein oxidation, release of iron from heme molecule and colour deterioration during refrigerated storage of liver paté. **Meat Science**, v 68, p 551–558, 2004.

ESTÉVEZ, M., VENTANAS, S., & CAVA, R. Protein oxidation in frankfurters with increasing levels of added rosemary essential oil: Effect on colour and texture deterioration. **Journal of Food Science**, v. 70, p. 427–432, 2005.

EYMARD, S., BARON, C. P., & JACOBSEN, C. Oxidation of lipid and protein in horse mackerel (*Trachurus trachurus*) mince and washed minces during processing and storage. **Food Chemistry**, v.114, p. 57–65, 2009.

FENAILLE, F.; VISANI, P.; FUMEAUX, R.; MILO, C.; GUY, P. A. Comparison of mass spectrometry-based electronic nose and solid phase microextraction gas chromatography-mass spectrometry technique to assess infant formula oxidation. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 51, p. 2790-2796, 2003.

FENNEMA, O. **Química de los alimentos**. 2ª Ed. Zaragoza: Editorial ACRIBIA, S.A.,1993.

FENNEMA, O. **Química de los alimentos**. 3ª Ed. Zaragoza: Editorial ACRIBIA, S.A., 1996.

FERNANDEZ, J., PEREZ-ALVAREZ, J. A., & FERNANDEZ-LOPEZ, J. A. Thiobarbituric acid test for monitoring lipid oxidation in meat. **Food Chemistry**, v. 59(3), p. 345–353, 1997.

FRANKEL, E. N. Formation of headspace volatiles by thermal decomposition of oxidized fish oils vs. oxidized vegetable oils. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 70,p. 767–772, 2003.

FREDERIKSEN, A. M., LUND, M. N., ANDERSEN, M. L., & SKIBSTED, L. H. Oxidation of porcine myosin by hypervalent myoglobin: The role of thiol groups. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 56, p. 3297–3304, 2008.

GARCIA, A.; SARANTOPOULOS, C.; SOARES, N. F. In: BELCHIOR, F. BALINT, V. Embalagens inteligentes. **Revista Nacional da Carne**, São Paulo, n. 306, p. 68-79, 2002.

GARCÍA-ESTEBAN, M.; ANSORENA, D.; ASTIASARÁN, I. Comparison of modified atmosphere packaging and vacuum packaging for long period storage of dry-cured ham: effects on colour, texture and microbiological quality. **Meat Science**, Oxon, v. 67, n. 1, p. 57-63, 2004.

GEORGANTELIS, D.; AMBROSIADIS, I.; KATIKOU, P.; BLEKAS, G.; GEORGAKIS, S. A. Effect of rosemary extract, chitosan and α -tocopherol on microbiological parameters and lipid oxidation of fresh pork sausages stored at 4 °C. **Meat Science**, v. 76, p. 172–181, 2007.

GERRARD J. A. Protein–protein crosslinking in food: methods, consequences, applications. **Trends in Food Science & Technology**, V. 13 P. 391-399, Issue 12, December 2002.

GINÉS, J. M. F.; LÓPEZ, J. F.; BARBERÁ, E. S.; ALVAREZ, J. A. P. Meat Products as Functional Foods: A Review. **Journal of Food Science**. v. 70, n. 2, 2005.

GONOLALAN, Z.; KOSE, A.; YETIM, H. Effects of liquid smoke on quality characteristics of Turkish standards smoke beef tange. **Meat science**, v. 66, p.165-170, 2003.

GOODRIDGE, C. F.; BEAUDRY, R. M.; PESTKA, J. J.; SMITH, D. M. Solid phase microextraction-gas chromatography for quantifying headspace hexanal above freeze-dried chicken myofibrils. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 51, p.4185-4190, 2003.

GUILLEN, M. D., & IBARGOITIA, M. L. Influence of the moisture content on the composition of the liquid smoke produced in the pyrolysis process of *Fagus sylvatica* L. wood. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 47, p. 4126-4136, 2001.

GUILLEN, M. D., & MANZANOS, M. J. Characterization of the components of a salty smoke flavouring preparation. **Food Chemistry**, v. 58, p. 97-102, 2002.

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

GRAY, J. I.; GOMMA, E. A.; BUCKLEY, D. J. Oxidative quality and shelf life of meats. **Meat Science**, v. 43, p. 111-123, 1996.

GRUNDY, S. M. Influence of stearic acid on cholesterol metabolism relative to other long chain fatty acids, **American Journal Nutrition**, v. 60, p. 986S, 1994.

HALLIWELL B, JENNER, R. A Health promotion by flavonoids, tocopherols, tocotrienols, and other phenols: Direct or indirect effects? Antioxidant or not? **Am. J. Clin. Nutr.**, v. 81:p. 268S, 2005.

HAMILTON, R. J.; KALU, C.; PRISK, E.; PADLEY, F. B.; PIERCE, H. Chemistry of free radicals in lipids. **Food Chemistry**, v. 60, n. 2, p. 193–199, 2003.

HARTMAN, L.; LAGO, R.C.A. Rapid preparation of fatty acid methyl esters from lipids. **Laboratory Practice**, v.22, n.8, p.475-476, 1973.

HOLLAND, B., WELCH A. A., UNWIN, I. D., BUSS, D. H., PAUL, A. A., Southgate, D. A. T. McCance and Widdowson's. **The Composition of Foods**. Cambridge, UK, p. 8-9, 1986.

HOLLAND, B. et al. In: MCCANCE R.A., WIDDOWSON E. D. **The Composition of Food**. Cambridge: Royal Society of Chemistry, 1994, p.8-9.

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

HUANG, M.H.; CHANG, L. W.; SUNG, W.C.; VONG, W.J.; WANG, B.S.. Protective effects of three smoke flavouring phenols on oxidative damage and nitric oxide production. **Food Chemistry**, v.126, p. 1655–1661, 2011.

IBRAC - Indústria Brasileira de Aditivos e Condimentos. **Teoria e Prática na Industrialização de Carnes**. Departamento Técnico - IBRAC. Rio Claro, 1980. [manual teórico-prático].

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz. 3 ed. São Paulo, 1985, v.1, 533p.

ITAL – Instituto de Tecnologia de Alimentos. Suínos: **Abate, corte e processamento na área rural e processamento artesanal de produtos com carne suína**. Campinas: CTC, 1988. 75 p. [Manual Técnico/Prático]

JAYASINGH, P.; CORNFORTH, D. P.; CARPENTER, C. E. WHITTIER, D. Evaluation of carbon monoxide treatment in modified atmosphere packaging or vacuum packaging to increase color stability of fresh beef. **Meat Science**, Oxon, v. 59, n. 3, p. 317-324, 2001.

JIN, I. S.; KIM, H. J.; JUNG, D. H.; KIM, Y. J.; CHOI, S. J.; HUR. The development of sausage including meat from spent laying hen surimi. **Poultry Science**, v. 86, n. 12, p. 2676-2684, 2007.

JOSEPH, J. D.; ACKMAN, R. G. Capillary column gas chromatographic method for analysis of encapsulated fish oils and fish oil ethyl esters: collaborative study. **Journal of AOAC International**, v. 75, p. 488-506, 1992.

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

KE, P. J.; CERVANTES, E.; ROBLES-MARTINEZ, C. Determination of thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) in fish tissue by an improved distillationspectrophotometric method. **Journal of the Science of Food on Agriculture**, v. 35, p. 1248-1254, 1984

KERRY, IND. COM. ADITIVOS, II Seminario de Tecnologia de Carnes da Kerry do Brasil, 2004.

KINSELLA, J. E., LOKESH, B., STONE, R. A. Dietary n-3 polyunsaturated fatty acids and amelioration of cardiovascular disease: possible mechanisms. **American Journal Clinical Nutrition**, v. 52: p. 1, 1990.

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

KRÜGER, R. L. **Identificação e degradação de compostos odoríferos originados no processamento de subprodutos de aves**, 2006; Dissertação de Mestrado. Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões – Campus de Erechim, Erechim, RS.

LAKDAS N. F.; BERG, E. P.; GRUN, U. I Quantitation of hexanal by automated SPME for studying dietary influences on the oxidation of porks **Journal of Food Composition and Analysis**. v.16, p. 179–188, 2003.

LEVINE, R. L.; GARLAND, D.; OLIVER, C. N.; AMICI, A.; CLIMENT, I.; LENZ, A. G. Determination of carbonyl content in oxidatively modified proteins. **Methods in Enzymology**, v. 186, p. 464–478, 1990.

LUND, M. N., HEINONEN, M., BARON, C. P., & ESTÉVEZ, M. Protein oxidation in muscle foods: A review. **Molecular Nutrition and Food Research**, v. 55, p. 83–95. 2011.

LUND, M. N., LAMETSCH, R., HVII, M. S., JENSEN, O. N., & SKIBSTED, L. H. Highoxygen packaging atmosphere influences protein oxidation and tenderness of porcine longissimus dorsi during chill storage. **Meat Science**, v. 77, p. 295–303, 2007.

MENTEN, J.F.M., GAIOTTO, J.B. e RACANICCI, A.M.C. 2003. Valor nutricional e qualidade de óleos e gorduras para frangos de corte. IN: Simpósio sobre manejo e nutrição de aves e suínos. Campinas SP. CBNA. p. 93-134.

METCALFE, L. D.; SCHMITZ, A. A. & PELKA, J. R. Rapid preparation of fatty acid esters from lipids for gas chromatographic analysis. **Anal. Chem.**,v. 38, p. 514-515, 1966.

MIELNIK, M. B.; SEM, S.; EGELANDSDAL, B.; SKREDE, G. By-products from herbs essential oil production as ingredient in marinade for turkey thighs LWT. **Food Science and Technology**, v.41(1):p. 93-100, 2002.

MILINSK M. C **Análise comparativa entre oito métodos de esterificação na determinação quantitativa de ácidos graxos em óleo vegetal** Tese (Química)- Universidade Estadual de Maringá, UEM, Maringá, 2007.

MØLLER, J.K.S., JENSEN, J.S.; SKIBSTED, L.H.; DNÖCHEL, S. 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. 463-46, 2003.

MOURA, E. A. B. **Avaliação do desempenho de embalagens para alimentos quando submetidos a tratamento por radiação ionizante**. Tese (Ciência na Área de Tecnologia Nuclear) – Universidade de São Paulo, USP. São Paulo, 2006.

NELSON, D. L., COX, M. M. **Lehninger Princípios de Bioquímica**. 3ª Edição, New York, p.608-609, 2002.

NELSON, D.L; COX, M.M. Lehninger **Princípios de Bioquímica**. 3.ed., São Paulo: Sarvier, 2002. 975p.

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

ODA, S. H. I.; SOARES, A.L.; LARA, J.A.F.; YAMASHITA, F.; IDA, E.I.; SHIMOKOMAKI, M. Segurança e qualidade para os embutidos. **Revista Nacional da Carne**, n. 317, 2003.

OKABE, Y.; WATANABE, A.; SHINGU, H.; KUSHIBIKI, S., HODATE, K.,. Effects of α -tocopherol level in raw venison on lipid oxidation and volatiles during storage. **Meat Science** v. 62 p. 457–462, 2002.

OLIVER, C.N. Aged-related changes in oxidized proteins. **Journal of Biological Chemistry**, v. 262, p. 5488–5491, 1987.

OLIVO, R. Alterações oxidativas em produtos cárneos. Globalfood Sistemas, **Ingredientes e tecnologia para Alimentos Ltda**, p. 9, 2005

ORDÓÑEZ, J. A. **Tecnologia de Alimentos**, Porto Alegre, Artmed, 2005, 43p.

OSADA, K.; HOSHINA, S.; NAKAMURA, S.; SUGANO, M. Cholesterol oxidation in meat products and its regulation by supplementation of sodium nitrite and Apple polyphenol before processing. **Journal Agricultural and Food Chemistry**, v. 48(9): p. 3823-3829, 2000.

OSAWA, C. C.; FELÍCIO, P. E.; GONÇALVES, L. A. G. Teste de TBA aplicado a carnes e derivados: métodos tradicionais, modificados e alternativos. **Quim. Nova**, v.28, n. 4, p 655 – 663, 2005

OU, S.; KWOK, K.C.; WANG, Y.; BAO, H. An improved method to determine SH and S-S- group content in soymilk protein. **Food Chemistry**, v. 88, p. 317–320, 2004.

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

PARDI, M. C.; SANTOS, I. F.; SOUZA, E. R.; PARDI, H. S. **Ciência, Higiene e Tecnologia da Carne**. Goiânia: UFG, Vol. 2, 1996. 1110p.

PELEGRINI, L. F. **Perfil de ácidos graxos, embutido fermentado e características da carcaça de ovelhas de descarte**. 2007, Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia dos Alimentos) – Curso de Pós-graduação em Tecnologia e Ciência dos Alimentos, UFSM, Santa Maria, 2007.

PENTON, Z., 1994. “Flavor Analysis of a Fruit Beverage With Automated Solid Phase Microextraction”. Varian Application Note (4).

PÉREZ-RODRIGUEZ, M.L.; GARCÍA-MATA, M.; BOSCH-BOSCH, N. Effect of adding smoke-flavouring to frankfurters on nitrite and nitrate levels. **Food Chemistry**, v 62, n. 2, p 201 -205, 1998.

PIGNOLI, G.;BOU, R.; RODRIGUEZ-ESTRADA, M.T.; DECKER, E.A. Suitability of saturated aldehydes as lipid oxidation markers in washed turkey meat. **Meat Science** v. 83, p. 412–416, 2009.

PINO, L. M. **Estabilidade oxidativa da carne de frangos alimentados com diferentes fontes lipídicas, armazenadas sob congelamento**. 2005. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos), Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2005.

PRANDL, O.; FISCHER, A.; SCHMIDHOFER, T. SINELL, H. J. **Tecnología y higiene de la carne**. Zaragoza: Ed. Acribia, 1994. 854 p.

PURCHAS, R. W.; RUTHERFURD, S. M.; PEARCE, P. D.; VATHER, R.;WILKINSON, B. H. P. Cooking temperature effects on the forms of iron and levels of several other compounds in beef semitendinosus muscle. **Meat Science**, v. 68, p 201–207, 2004

RAHARJO, S., SOFOS, J. N., SCHMIDT, G. R. Improved speed, specificity, and limit of determination of an aqueous acid extraction thiobarbituric C18 acid method for

measuring lipid peroxidation in beef. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 40, n. 11, p. 2182-2185, 1992

RIISPOA, **Regulamento da inspeção industrial e sanitária de produtos de origem animal**, Brasil 1952.

RUBIO, B.; MARTÍNEZ, B.; GARCÍA-CACHÁN, M D.;ROVIRA, J; JAIME, I.. Effect of the packaging method and the storage time on lipid oxidation and colour stability on dry fermented sausage salchichón manufactured with raw material with a high level of mono and polyunsaturated fatty acids. **Meat Science**. v.80, p. 1182–1187, 2008.

SAGGIORATO, A. G.; Atividade Antifúngica e Antioxidante *in vitro* e na Superfície de Salame tipo Italiano do óleo essencial de manjeriço (*ocimum basilicum* L), 2008. Dissertação de Mestrado. Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões – Campus de Erechim, Erechim, RS.

SALMINEN, H., ESTÉVEZ, M., KIVIKARI, R., & HEINONEN, M. Inhibition of protein and lipid oxidation by rapeseed, camelina and soy meal in cooked pork meat patties. **European Food Research and Technology**, v. 223, p. 461–468, 2006.

SANCHES-SILVA, A.; RODRIGUEZ-BERNALDO, A. LÓPEZ-HERNÁNDEZ, J. PASEIRO-LOSADA, P. Determination of hexanal as indicator of the lipidic oxidation state in potato crisps using gas chromatography and high-performance liquid chromatography. **Journal of Chromatography A**, v. 1046, p. 75–81, 2004.

SARANTÓPOULOS, C. I. G. L.; OLIVEIRA, L. M. **Embalagem Plástica para produtos cárneos curados**. In: CETEA. (Ed.). Embalagens para produtos cárneos. Campinas: ITAL, p. 21-29, 1991.

SCHOSSLER, L. S. **Estudo da viabilidade de microrganismo probiótico (*Bifidobacterium lactis*) aplicado em produto cárneo cozido**. 2000. Dissertação (Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal de Santa Maria. UFSM, 2009.

SCHWERT, R. **Uso de fumaça líquida em linguiça Calabresa cozida e defumada**, 2009. Dissertação de Mestrado. Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões – Campus de Erechim, Erechim, RS.

SHAHIDI, F., YUN, J., RUBIN, L. J., & WOOD, D. F.. The hexanal content as an indicator of oxidative stability and flavour acceptability in ground pork. **Journal of the Canadian Institute for Food Science and Technology**. v. 20, p. 104-106, 2002.

SHAHIDI, F., & PEGG, R. B. Hexanal as an indicator of meat flavor deterioration. **Journal of Food Lipids**, v. 1, p. 177–186; 1994.

SHAID, F.; SYNOMIECKI, J. Protein hydrolyzates from seal meat as phosphate alternatives in food processing applications. **Food Chemistry**, v. 60, n.1, p.29-32,1985.

SILVA, F. A. M.; BORGES, M. F. M.; FERREIRA, M. A. Métodos para avaliação do grau de oxidação lipídica e da capacidade antioxidante. **Revista Química Nova**, v. 22 n. 1, p 94 –103, 1999.

SINCLAIR, A. J. Dietary fat and cardiovascular disease: the significance of recent developments for the food industry. **Food Australia**, v. 45, p. 226, 1993.

SLONGO, A. P. **Uso de alta pressão hidrostática em presunto fatiado: avaliação físico-química e sensorial e modelagem do crescimento microbiano**. 2008. Tese (Engenharia de Alimentos) – Universidade Federal de Santa Catarina – UFSC, 2008.

SOYER, A., & HULTIN, H. O. Kinetics of oxidation of the lipids and proteins of cod sarcoplasmic reticulum. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.48, p. 2127–2134, 2000.

SOYER, A.; OZALP, B.; DALMIS U.; BILGIN, V .Effects of freezing temperature and duration of frozen storage on lipid and protein oxidation in chicken meat. **Food Chemistry** v.120, p. 1025–1030, 2010.

SPANIER, A. M., VERCELLOTTI, J. R., & JAMES Jr., C. Correlation of sensory, instrumental and chemical attributes of beef as influenced by meat structure and oxygen exclusion. **Journal of Food Science**, v. 57, p. 10–15; 1992.

ST. ANGELO, A. J., CRIPPEN, K.L., DUPUY, H. P., & JAMES, C. Jr. Chemical and sensory studies of antioxidant treated beef. **Journal of Food Science**, v 55, p 1505–509; 2006.

STADMAN, E. R., & LEVINE, R. L. Protein oxidation. **Annals New York Academy of Sciences**, v. 899(1), p. 191–208, 2000.

STEVANATO, F. B. **Aproveitamento de cabeças de tilápia de cativeiro na forma de farinha como alimento para merenda escolar**. 2006. Dissertação (Mestrado em Química) – Universidade Estadual de Maringá, Maringá, 2006.

TARLADGIS, B.G.; PEARSON, A.M.; DUGAN, J.L.R. Chemistry of the 2-thiobarbituric acid test for determination of oxidative rancidity in foods. **Journal Science Food Agriculture, Champaing**, v. 15, n. 9, p. 602-607, 1964.

TERRA, N. N. **Apontamentos de Tecnologia de Carnes**. São Leopoldo: Editora da Universidade do Vale do Rio dos Sinos, 1998. 216 p.

TERRA, N. N.; BRUM, M. A. R. **Carne e seus derivados, técnicas de controle de qualidade**. Sao Paulo: Ed. Nobel, 1988. 119 p.

TIMS, M. J., & WATTS, B. M. Protection of cooked meats with phosphates. **Food Technology**, v 12, p. 240–243; 1998.

THOMASIDIS, N.S.; GEORGIU, C.A. Edible oil analysis by flow injection. **Laboratory Automation and Information Management**, v.34, p.101-114, 1999.

TOTH, L., & POTTHAST, K Chemical aspects of the smoking of meat and meat products. **Advances in Food Research**, v. 29, p. 87-158, 1984.

TORRES, E. A. F. S. & FERRARI, C. K. B. Fatores físicos e bioquímicos da industrialização, preparo e armazenamento de alimentos e sua relação com radicais livres e a oxidação lipídica. **Rev. Higiene Alimentar**, v.11, n.68-69, p.19-25, 2000.

TORRES, E. A. F. S.; OKANI, E. T. Teste de TBA: Ranco em alimentos. **Revista Nacional de Carne**, n. 243, p. 68-76, 1998.

TORNVÄLI, U. Pinpointing oxidative modification in proteins - Recent advances in analytical methods. **Analytical Methods**, v. 2, p. 1638–1650, 2010.

VALDUGA, E. **Bioprodução de compostos voláteis e carotenóides por *Sporodiobolus Salmonicolor* CBS 2636**. Tese (Engenharia Química) - Universidade Federal de Santa Catarina – UFSC, 2005.

VARNAN, A. H.; SUTHERLAND, J. P. **Carne y productos cárneos: tecnologia, química y microbiología**. Zaragoza: Acribia, 423p. 1998.

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

WANG, B.S.; CHANG, L.W.; SUNG, W.C.; VONG, W.J.; WANG, B.S. Protective effects of three smoke flavouring phenols on oxidative damage and nitric oxide production. **Food chemistry**, v. 126, p. 1655 -1661, 2011.

WANG, R. R., PAN, X. J., & PENG, Z. Q.. Effects of heat exposure on muscle oxidation and protein functionalities of pectoralis majors in broilers. **Poultry Science**, v. 88, p. 1078–1084, 2009.

XIONG, Y. L., & DECKER, E. A.. Alterations of muscle proteins functionality by oxidative and antioxidative processes. **Journal of Muscle Foods**, v. 6, p. 139–160 1995.

Apêndice I

A seguir serão apresentados os cromatogramas típicos obtidos na etapa de determinação dos ácidos graxos nas amostras de linguiça Toscana e Calabresa e os cromatogramas típicos obtidos da etapa de determinação de hexanal das amostras de linguiça Toscana.

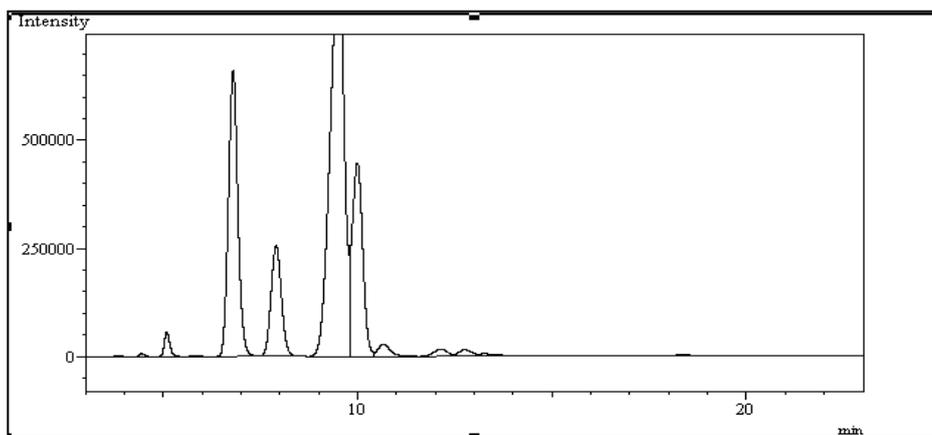


Figura 18: Cromatograma típico da determinação de ésteres metílicos de ácidos graxos das amostras de linguiça Toscana.

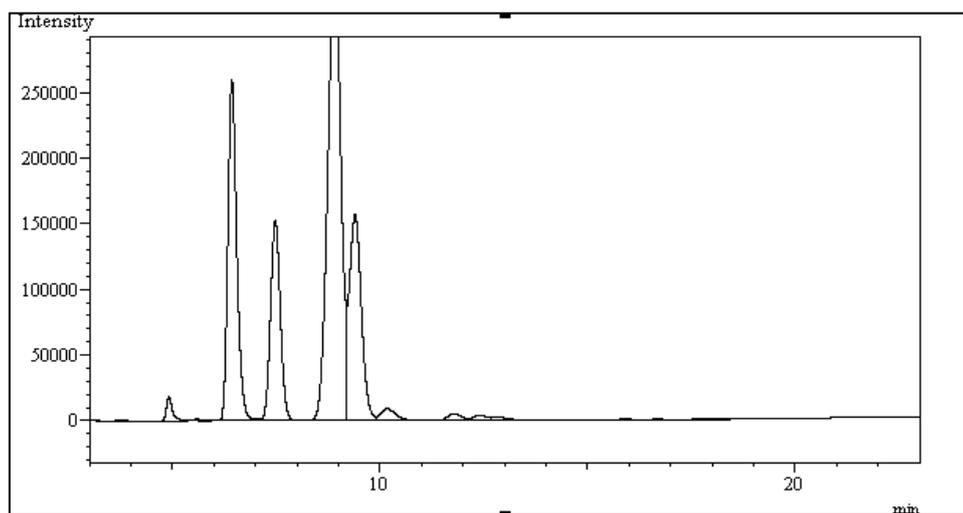


Figura 19: Cromatograma típico da determinação de ésteres metílicos de ácidos graxos das amostras de linguiça Calabresa.

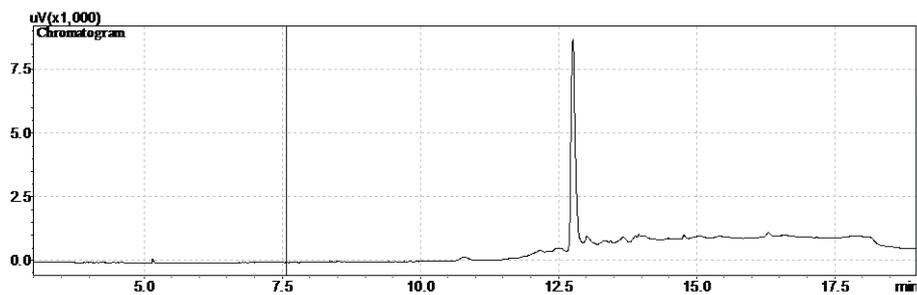


Figura 20 : Corrida do padrão de hexanal (99%)

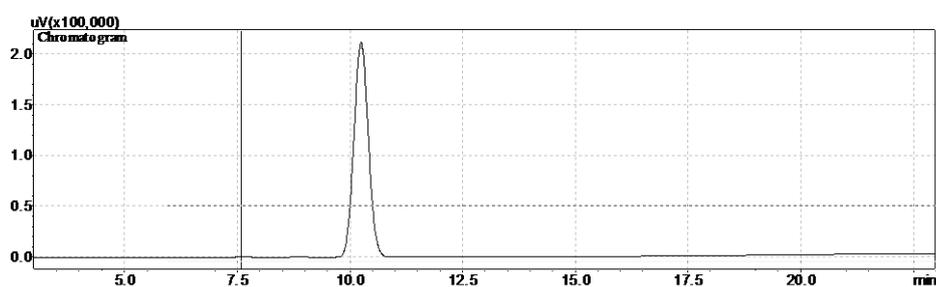


Figura 21 : Corrida do padrão metil estearato.

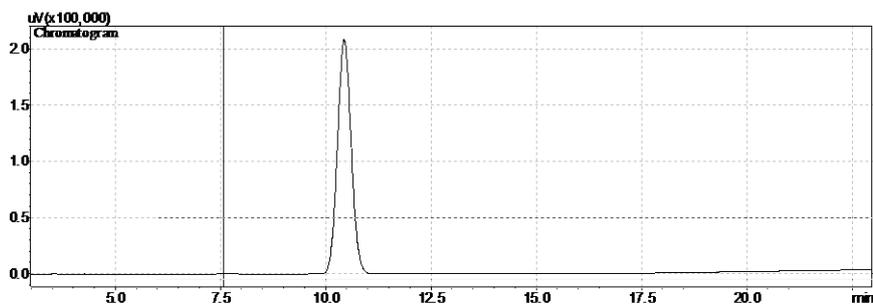


Figura 22: Corrida do padrão metil liolenato.

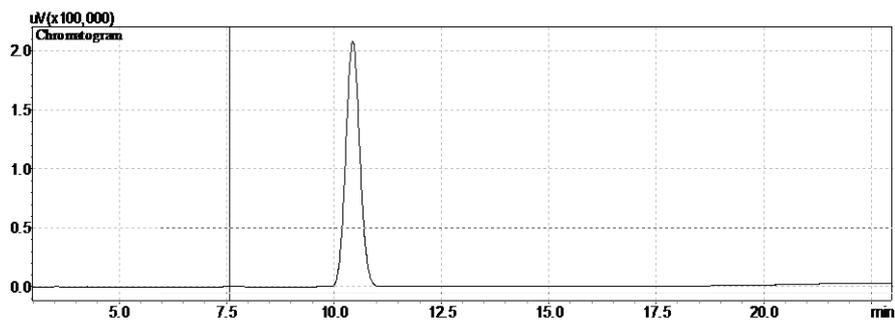


Figura 23: Corrida do padrão metil oleato.

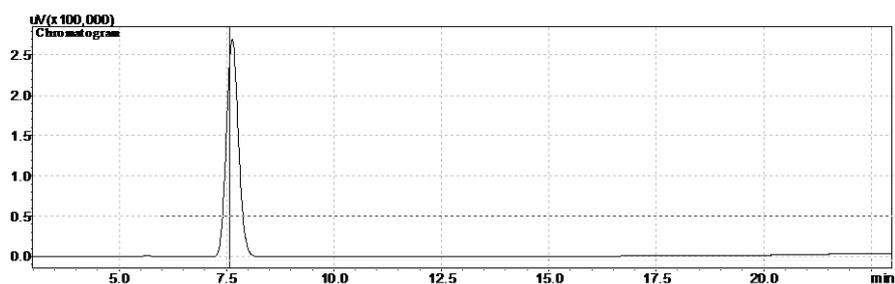


Figura 24 : Corrida do padrão metil palmitato.

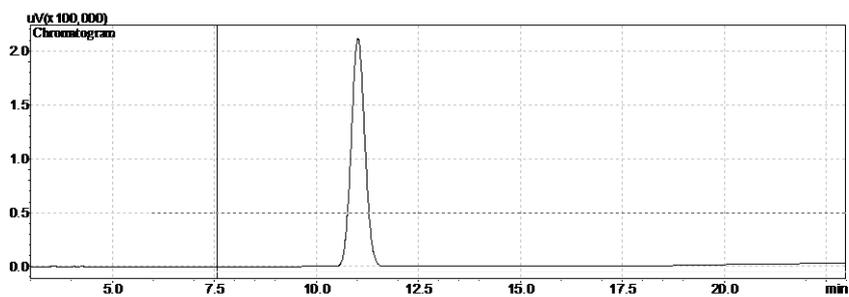


Figura 25 : Corrida do padrão metil linoleato

Apêndice II

A identificação dos ácidos graxos foi realizada através da comparação do tempo de retenção dos ácidos graxos das amostras com o de padrões conhecidos. O teor de cada ácido graxo nas amostras de linguiça Toscana e linguiça Calabresa foi calculado conforme PELEGRINI (2007):

$$AGi = \frac{A \times L \times F}{100} \quad \text{Eq. 1}$$

Onde:

AGi = teor do ácido graxo na amostra (g/100g);

A = porcentagem de área de cada um dos picos obtidos nos cromatogramas;

L = teor de gordura da amostra (g/100g);

F = 0,910, fator que corrige o teor de gordura para componentes lipídicos que não são ácidos graxos (Holland *et al.*, 1994).