

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

AVALIAÇÃO DA ESTABILIDADE DE LINGUIÇA TOSCANA RESFRIADA
ARMAZENADA EM EMBALAGENS COM DIFERENTES BARREIRAS AO
OXIGÊNIO

ROGERNEI DE PAULA

Tese de Doutorado submetida ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos da Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões – URI - Erechim.

Erechim, RS – Brasil

Dezembro/2013

**AVALIAÇÃO DA ESTABILIDADE DE LINGUIÇA TOSCANA RESFRIADA
ARMAZENADA EM EMBALAGENS COM DIFERENTES BARREIRAS AO OXIGÊNIO**

ROGERNEI DE PAULA

Tese de Doutorado, submetida à Comissão Julgadora do Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos como parte dos requisitos necessários à obtenção do Grau de Doutor em Engenharia de Alimentos.

Comissão Julgadora:

Prof^a. Eunice Valduga, D. Sc.
Orientadora

Prof^a. Helen Treichel, D. Sc.
Orientadora

Prof^a. Rosa Cristina Prestes, D. Sc.
UFSM

Prof. Elci Lotar Dickel, D. Sc.
UPF

Prof. Rogério Luis Cansian, D. Sc.
URI Erechim

Prof. Marcelo Mignoni, D. Sc.
URI Erechim

Dedico este doutorado às pessoas mais importantes da minha vida,
presentes em todos os momentos, com seu apoio incondicional:
Aos meus pais Sidnei e Lenize, pelo amor, carinho,
estímulo e dedicação.
À minha esposa Thaisa, pelo amor, companheirismo,
compreensão e cooperação.
Aos meus filhos Roger Filho e Julia, pelo amor
e compreensão.

AGRADECIMENTOS

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

Aos amigos de coração Rodrigo Schwert e Cezar A. Beltrame, pela generosidade ao partilhar seu tempo e conhecimento, colaborando na realização do projeto de pesquisa e auxílio na transposição dos obstáculos profissionais.

As professoras Helen Treichel e Eunice Valduga, por quem tenho grande admiração e respeito.

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

A AURORA ALIMENTOS, pelo apoio, cooperação e incentivo à minha atualização profissional de forma concomitante ao meu trabalho.

A Juliana Soares, quem muito contribuiu na execução dos trabalhos.

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

**“Deus nos fez perfeitos e não escolhe os
capacitados, capacita os escolhidos.
Fazer ou não fazer algo, só
depende de nossa *VONTADE*
e *PERSEVERANÇA*.”
(*Albert Einstein*)**

Resumo da Tese apresentada ao Programa de Doutorado em Engenharia de Alimentos como parte dos requisitos necessários para a obtenção do Grau de Doutor em Engenharia de Alimentos.

AVALIAÇÃO DA ESTABILIDADE DE LINGUIÇA TOSCANA RESFRIADA ARMAZENADA EM EMBALAGENS COM DIFERENTES BARREIRAS AO OXIGÊNIO

Rogernei de Paula

Dezembro/2013

Orientadoras: Eunice Valduga e Helen Treichel

O objetivo desse trabalho foi avaliar os atributos de qualidade físico-química, microbiológica e sensorial da linguiça Toscana resfriada embalada em diferentes estruturas de embalagem com variação de barreira ao oxigênio. As amostras foram embaladas sob vácuo e em embalagem permeável ao oxigênio, usando Nylon Poli, EVOH e Polietileno, respeitando-se as normas de Boas Práticas de Manipulação e submetidas a resfriamento (8°C) por um período de 35 dias, em câmara frigorífica. Foi determinado o perfil de oxidação lipídica, oxidação de proteína, avaliação subjetiva de cor, pH, acidez e a_w . A avaliação microbiológica ocorreu através das contagens de microrganismos psicrófilos(UFC/g) e foi realizado também, um diagnóstico sensorial com degustadores treinados. Durante o período estudado, verificou-se que houve desenvolvimento do processo de oxidação lipídica e proteica no produto armazenado, apesar dos baixos valores de TBARS. Com relação à determinação objetiva da cor, foi observado que devido a heterogeneidade do produto, não foi possível concluir. Os valores de pH, acidez e a_w não apresentaram diferença significativa ($p < 0,05$) para as embalagens estudadas, durante o período avaliado. As análises microbiológicas de psicrófilos mostraram que não também não houve variação significativa ($p < 0,05$). Também foi observado que durante o acompanhamento da vida de prateleira do produto em termos de análise sensorial, a linguiça que estava em embalagem com menor permeabilidade ao oxigênio apresentou menor alteração em relação a rancificação.

Lista de Figuras

FIGURA 1: EXEMPLO DE FLUXOGRAMA DE PROCESSAMENTO COMUMENTE UTILIZADO NA PRODUÇÃO DE LINGUIÇA FRESCAL DE SUÍNO	15
FIGURA 2: CICLO DA COR EM CARNES CURADAS	28
FIGURA 3: FLUXOGRAMA DAS ATIVIDADES EXPERIMENTAIS.....	44
FIGURA 4: ESQUEMA ILUSTRATIVO DO PROCESSO DE MICROEXTRAÇÃO EM FASE SÓLIDA - SPME - HS.....	48
FIGURA 5: ACOMPANHAMENTO DO PH DA LINGUIÇA TOSCANA, ARMAZENADA EM DIFERENTES ESTRUTURAS DE EMBALAGEM (▲ – EVOH, ■ – NYLON, ◆ - PEBD) ARMAZENADAS SOB REFRIGERAÇÃO (8°C) DURANTE 35 DIAS.	55
FIGURA 6: ACOMPANHAMENTO DA ACIDEZ DA LINGUIÇA TOSCANA, ARMAZENADA EM DIFERENTES ESTRUTURAS DE EMBALAGEM (▲ – EVOH, ■ – NYLON, ◆ - PEBD) ARMAZENADAS SOB REFRIGERAÇÃO (8°C) DURANTE 35 DIAS.	55
FIGURA 7: VALORES DE AW DA LINGUIÇA TOSCANA, ARMAZENADAS SOB REFRIGERAÇÃO (8°C) EM DIFERENTES ESTRUTURAS DE EMBALAGEM (▲ – EVOH, ■ – NYLON, ◆ - PEBD) DURANTE 35 DIAS. ..	58
FIGURA 8: ACOMPANHAMENTO DA OXIDAÇÃO DE GORDURA DA LINGUIÇA TOSCANA, ARMAZENADA EM DIFERENTES ESTRUTURAS DE EMBALAGEM (▲ – EVOH, ■ – NYLON, ◆ - PEBD) ARMAZENADAS SOB REFRIGERAÇÃO (8°C) DURANTE 35 DIAS..	60
FIGURA 9: ACOMPANHAMENTO DO ÍNDICE DE PERÓXIDOS DA LINGUIÇA TOSCANA ARMAZENADA EM DIFERENTES ESTRUTURAS DE EMBALAGEM (▲ – EVOH, ■ – NYLON, ◆ - PEBD) ARMAZENADAS SOB REFRIGERAÇÃO (8°C) DURANTE 35 DIAS.....	64
FIGURA 10: ACOMPANHAMENTO DO ÁCIDO GRAXOS "PALMÍLICO" DA LINGUIÇA TOSCANA ARMAZENADA EM DIFERENTES ESTRUTURAS DE EMBALAGEM (▲ – EVOH, ■ – NYLON, ◆ - PEBD) ARMAZENADAS SOB REFRIGERAÇÃO (8°C) DURANTE 35 DIAS.	67
FIGURA 11: ACOMPANHAMENTO DO ÁCIDO GRAXOS "ESTEÁRICO" DA LINGUIÇA TOSCANA ARMAZENADA EM DIFERENTES ESTRUTURAS DE EMBALAGEM (▲ – EVOH, ■ – NYLON, ◆ - PEBD) ARMAZENADAS SOB REFRIGERAÇÃO (8°C) DURANTE 35 DIAS.	69
FIGURA 12: ACOMPANHAMENTO DO ÁCIDO GRAXOS "OLÉICO" DA LINGUIÇA TOSCANA ARMAZENADA EM DIFERENTES ESTRUTURAS DE EMBALAGEM (▲ – EVOH, ■ – NYLON, ◆ - PEBD) ARMAZENADAS SOB REFRIGERAÇÃO (8°C) DURANTE 35 DIAS..	71

FIGURA 13: ACOMPANHAMENTO DO ÁCIDO GRAXOS "LINOLÊNICO" DA LINGUIÇA TOSCANA ARMAZENADA EM DIFERENTES ESTRUTURAS DE EMBALAGEM (▲ – EVOH, ■ – NYLON, ◆ - PEBD) ARMAZENADAS SOB REFRIGERAÇÃO (8°C) DURANTE 35 DIAS. ARMAZENAMENTO.....	72
FIGURA 14: CORELAÇÃO ENTRE OS GRUPOS CARBONIL E SULFIDRILAS DE AMOSTRA DE LINGUIÇAS TOSCANA ARMAZENADAS SOB REFRIGERAÇÃO (8°C) DURANTE 35 DIAS.....	76
FIGURA 15: ACOMPANHAMENTO DA COR L* DA LINGUIÇA TOSCANA ARMAZENADA EM DIFERENTES ESTRUTURAS DE EMBALAGEM (▲ – EVOH, ■ – NYLON, ◆ - PEBD) ARMAZENADAS SOB REFRIGERAÇÃO (8°C) DURANTE 35 DIAS.....	78
FIGURA 16: ACOMPANHAMENTO DA COR A* DA LINGUIÇA TOSCANA ARMAZENADA EM DIFERENTES ESTRUTURAS DE EMBALAGEM (▲ – EVOH, ■ – NYLON, ◆ - PEBD) ARMAZENADAS SOB REFRIGERAÇÃO (8°C) DURANTE 35 DIAS.....	78
FIGURA 17: ACOMPANHAMENTO DA COR B* DA LINGUIÇA TOSCANA ARMAZENADA EM DIFERENTES ESTRUTURAS DE EMBALAGEM (▲ – EVOH, ■ – NYLON, ◆ - PEBD) ARMAZENADAS SOB REFRIGERAÇÃO (8°C) DURANTE 35 DIAS.....	79
FIGURA 18: ASPECTO VISUAL DAS AMOSTRAS DE LINGUIÇA TOSCANA FRESCAL ARMAZENADA NAS DIFERENTES ESTRUTURAS DE EMBALAGENS (PEBD), AVALIADAS COM 7 DIAS DE ARMAZENAMENTO.....	81
FIGURA 19: ASPECTO VISUAL DAS AMOSTRAS DE LINGUIÇA TOSCANA FRESCAL ARMAZENADA NAS DIFERENTES ESTRUTURAS DE EMBALAGENS (PEBD), AVALIADAS COM 35 DIAS DE ARMAZENAMENTO.....	81
FIGURA 20: ASPECTO VISUAL DAS AMOSTRAS DE LINGUIÇA TOSCANA FRESCAL ARMAZENADA NAS DIFERENTES ESTRUTURAS DE EMBALAGENS (NYLON), AVALIADAS COM 7 DIAS DE ARMAZENAMENTO.....	82
FIGURA 21: ASPECTO VISUAL DAS AMOSTRAS DE LINGUIÇA TOSCANA FRESCAL ARMAZENADA NAS DIFERENTES ESTRUTURAS DE EMBALAGENS (NYLON), AVALIADAS COM 35 DIAS DE ARMAZENAMENTO.....	82
FIGURA 22: ASPECTO VISUAL DAS AMOSTRAS DE LINGUIÇA TOSCANA FRESCAL ARMAZENADA NAS DIFERENTES ESTRUTURAS DE EMBALAGENS (EVOH), AVALIADAS COM 7 DIAS DE ARMAZENAMENTO.....	83

FIGURA 23: ASPECTO VISUAL DAS AMOSTRAS DE LINGUIÇA TOSCANA FRESCAL ARMAZENADA NAS DIFERENTES ESTRUTURAS DE EMBALAGENS (EVOH), AVALIADAS COM 35 DIAS DE ARMAZENAMENTO..	83
FIGURA 24: ACOMPANHAMENTO DAS BACTERIAS PSICROFILAS DA LINGUIÇA TOSCANA ARMAZENADA EM DIFERENTES ESTRUTURAS DE EMBALAGEM (▲ – EVOH, ■ – NYLON, ♦ - PEBD) ARMAZENADAS SOB REFRIGERAÇÃO (8°C) DURANTE 35 DIAS.	85
FIGURA 25: ACOMPANHAMENTO DA SENSORIAL DURANTE A VIDA DE PRATELEIRA DA LINGUIÇA TOSCANA ARMAZENADA EM DIFERENTES ESTRUTURAS DE EMBALAGEM (▲ – EVOH, ■ – NYLON, ♦ - PEBD) ARMAZENADAS SOB REFRIGERAÇÃO (8°C) DURANTE 35 DIAS.	87

Lista de Tabelas

TABELA 1: EXEMPLO DE FORMULAÇÃO COMUMENTE UTILIZADA NA PRODUÇÃO DE LINGUIÇA FRESCAL DE SUÍNO.	14
TABELA 2: CARACTERÍSTICAS DE IDENTIDADE E QUALIDADE DE LINGUIÇAS TOSCANA FRESCAIS.	17
TABELA 3: FATORES QUE INFLUENCIAM A DETERIORAÇÃO DAS GORDURAS.....	21
TABELA 4: TEMPERATURAS IMPORTANTES PARA OS MICRORGANISMOS PROCARIÓTICOS.....	30
TABELA 5: VALORES DE PH DA LINGUIÇA TOSCANA ACONDICIONADAS EM DIFERENTES ESTRUTURAS DE EMBALAGEM E ARMAZENADAS SOB REFRIGERAÇÃO (8°C), NO DECORRER DOS DIAS DE ARMAZENAMENTO.	54
TABELA 6: VALORES DE ACIDEZ DA LINGUIÇA TOSCANA ACONDICIONADAS EM DIFERENTES ESTRUTURAS DE EMBALAGEM E ARMAZENADAS SOB REFRIGERAÇÃO (8°C), NO DECORRER DOS DIAS DE ARMAZENAMENTO.	55
TABELA 7: VALORES DE ATIVIDADE DE ÁGUA (AW), DA LINGUIÇA TOSCANA ACONDICIONADAS EM DIFERENTES ESTRUTURAS DE EMBALAGEM E ARMAZENADAS SOB REFRIGERAÇÃO (8°C), NO DECORRER DOS DIAS DE ARMAZENAMENTO.	58
TABELA 8: VALORES DE TBARS (MG MALONALDEÍDO/KG) DA LINGUIÇA TOSCANA ACONDICIONADAS EM DIFERENTES ESTRUTURAS DE EMBALAGEM E ARMAZENADAS SOB REFRIGERAÇÃO (8°C), NO DECORRER DOS DIAS DE ARMAZENAMENTO..	59
TABELA 9: VALORES DE ÍNDICE DE PERÓXIDO (MEQ/KG DE AMOSTRA) DA LINGUIÇA TOSCANA ACONDICIONADAS EM DIFERENTES ESTRUTURAS DE EMBALAGEM E ARMAZENADAS SOB REFRIGERAÇÃO (8°C), NO DECORRER DOS DIAS DE ARMAZENAMENTO.....	63
TABELA 10: VALORES DE ÁCIDOS GRAXOS (TEOR-G/100G DE ACIDO PALMILICO) DA LINGUIÇA TOSCANA ACONDICIONADAS EM DIFERENTES ESTRUTURAS DE EMBALAGEM E ARMAZENADAS SOB REFRIGERAÇÃO (8°C), NO DECORRER DOS DIAS DE ARMAZENAMENTO.....	67
TABELA 11: VALORES DE ÁCIDOS GRAXOS (TEOR-G/100G DE ACIDO ESTEÁRICO) DA LINGUIÇA TOSCANA ACONDICIONADAS EM DIFERENTES ESTRUTURAS DE EMBALAGEM E ARMAZENADAS SOB REFRIGERAÇÃO (8°C), NO DECORRER DOS DIAS DE ARMAZENAMENTO	68

TABELA 12: VALORES DE ÁCIDOS GRAXOS (TEOR-G/100G DE ACIDO ÓLEICO) DA LINGUIÇA TOSCANA ACONDICIONADAS EM DIFERENTES ESTRUTURAS DE EMBALAGEM E ARMAZENADAS SOB REFRIGERAÇÃO (8°C), NO DECORRER DOS DIAS DE ARMAZENAMENTO.....	70
TABELA 13: VALORES DE ÁCIDOS GRAXOS (TEOR-G/100G DE ACIDO LINOLÊNICO) DA LINGUIÇA TOSCANA ACONDICIONADAS EM DIFERENTES ESTRUTURAS DE EMBALAGEM E ARMAZENADAS SOB REFRIGERAÇÃO (8°C), NO DECORRER DOS DIAS DE ARMAZENAMENTO.....	72
TABELA 14: OXIDAÇÃO DE PROTEÍNA (NMOL CARBONIL/MG PROTEÍNA) DA LINGUIÇA TOSCANA ACONDICIONADAS EM DIFERENTES ESTRUTURAS DE EMBALAGEM E ARMAZENADAS SOB REFRIGERAÇÃO (8°C), NO DECORRER DOS DIAS DE ARMAZENAMENTO.....	74
TABELA 15: OXIDAÇÃO DE PROTEÍNA (UMOLES SULFIDRILAS/MG PROTEÍNA) DA LINGUIÇA TOSCANA ACONDICIONADAS EM DIFERENTES ESTRUTURAS DE EMBALAGEM E ARMAZENADAS SOB REFRIGERAÇÃO (8°C), NO DECORRER DOS DIAS DE ARMAZENAMENTO.....	75
TABELA 16: VALORES DE L*, A*, B* DA LINGUIÇA TOSCANA ACONDICIONADAS EM DIFERENTES ESTRUTURAS DE EMBALAGEM E ARMAZENADAS SOB REFRIGERAÇÃO (8°C), NO DECORRER DOS DIAS DE ARMAZENAMENTO.....	77
TABELA 17: CONTAGEM DAS BACTÉRIAS PSICRÓFILAS ($\text{LOG}_{10}\text{UFC}^{\text{G-1}}$) DA LINGUIÇA TOSCANA ACONDICIONADAS EM DIFERENTES ESTRUTURAS DE EMBALAGEM E ARMAZENADAS SOB REFRIGERAÇÃO (8°C), NO DECORRER DOS DIAS DE ARMAZENAMENTO.....	84
TABELA 18: ANÁLISE SENSORIAL (RANCIDEZ) DA LINGUIÇA TOSCANA ACONDICIONADAS EM DIFERENTES ESTRUTURAS DE EMBALAGEM E ARMAZENADAS SOB REFRIGERAÇÃO (8°C), NO DECORRER DOS DIAS DE ARMAZENAMENTO.....	86

Sumário

INTRODUÇÃO	10
OBJETIVOS.....	12
1. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	13
1.1. CARACTERIZAÇÃO DE LINGUIÇA TOSCANA.....	13
1.2. PROCESSAMENTO DE LINGUIÇA FRESCAL	14
1.3. QUALIDADE GLOBAL DE LINGUIÇA FRESCAL.....	16
1.3.1. Oxidação Lipídica	18
1.3.2. Oxidação de Proteína.....	24
1.3.3. Alterações de Cor e Textura	25
1.3.4. Microrganismos Psicrófilos	30
1.4. MICROBIOTA DE LINGUIÇA FRESCAL	31
1.5. INFLUÊNCIA DA EMBALAGEM NA QUALIDADE GLOBAL	33
1.6. EMBALAGEM NO SETOR CÁRNEO	34
1.7. EMBALAGENS PARA PRODUTOS CÁRNEOS RESFRIADOS.....	36
1.8. CARACTERÍSTICAS DOS PRINCIPAIS TIPOS DE EMBALAGENS	37
1.9. EMBALAGENS PRIMÁRIAS.....	38
1.9.1. Embalagens Plásticas Flexíveis.....	38
1.9.2. Polietileno	40
1.10. CONSIDERAÇÕES FINAIS SOBRE A ESTABILIDADE DE LINGUIÇA FRESCAL	42
2. MATERIAL E MÉTODOS.....	44
2.1. INFLUÊNCIA DAS CONDIÇÕES DE EMBALAGEM NA QUALIDADE GLOBAL DE LINGUIÇA TOSCANA, ARMAZENADA SOB RESFRIAMENTO	45
2.1.1. Preparo das Amostras.....	45
2.2. DETERMINAÇÕES FÍSICO-QUÍMICAS, MICROBIOLÓGICAS E SENSORIAIS	46
2.2.1. Determinação da Oxidação Lipídica	46
2.2.1.1. TBARS - Substâncias Reativas ao Ácido Tiobarbitúrico.....	46
2.2.1.2. Índice de Peróxido	47
2.2.1.3. Determinação de Hexanal	48
2.2.1.4. Perfil de Ácidos Graxos.....	49
2.2.2. Determinação da Oxidação Proteica	50
2.2.2.1. Oxidação Proteica – Grupo Carbonil	50
2.2.2.2. Oxidação Proteica – Grupos Sulfidrilícos.....	51
2.2.3. Determinação Objetiva de Cor	52

2.2.4. Determinação de pH.....	51
2.2.5. Determinação de Acidez.....	52
2.2.6. Determinação de Atividade de Água (aw)	52
2.2.7. Contagem Total de Microrganismos Psicrófilos	52
2.2.8. Avaliação Sensorial	52
2.3. ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	53
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	54
3.1. CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS.....	54
3.2. COMPOSTOS VOLATÉIS - HEXANAL	67
3.3. COMPOSIÇÃO DE ÁCIDOS GRAXOS.....	67
3.4. ÁCIDOS GRAXOS INSATURADO	71
3.5. AVALIAÇÃO DA OXIDAÇÃO DE PROTEINAS.....	75
4. CONTAGEM DE MICRORGANISMOS PSICROFILOS	84
5. AVALIAÇÃO SENSORIAL	86
6. CONCLUSÕES	88
7. SUGESTÃO PARA TRABALHOS FUTUROS.....	89
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	89

NOMENCLATURA

AL: folha de alumínio

AM: atmosfera modificada

EVA: copolímero de etileno e acetato de vinila

EVOH: copolímero de etileno e álcool vinílico

Ionômero: copolímero de etileno e ácido metacrílico com Na^+ ou Zn^{++} formando ligações iônicas entre as cadeias.

O_2Mb : mioglobina oxigenada

Mb: mioglobina reduzida

MetMb: metamioglobina

PA: poliamida

PA – EVOH: blenda de PA e EVOH

PA – MXDG: poliamida obtida por polimerização por condensação de diamina metaxilileno e ácido adípico.

PEAD: polietileno de alta densidade

PEBD: polietileno de baixa densidade

PEBDL: polietileno de baixa densidade línea

PEMD: polietileno de média densidade

PET: poliéster (polietileno terifitalato)

PP: polipropileno

PPBO: polipropileno biorientado

PP – PE: blenda de PP e PE

PVC: policloreto de vinila

PVDC: copolímero de cloreto de vinilideno e cloreto de vinila

Introdução

A carne tem merecido especial atenção pelo seu valor nutritivo, e especialmente em relação à conservação de suas propriedades, a fim de garantir um produto final de boa qualidade para os consumidores e rentabilidade para a indústria cárnea (PADILHA, 2007).

Os alimentos cárneos, devido a sua riqueza de umidade, proteínas, gorduras e outros nutrientes, são produtos suscetíveis a alterações de ordem físico-química e microbiológica. Entre estas alterações, a oxidação proteica e a oxidação de cor são difíceis de serem controladas devido a sua complexidade e variabilidade, podendo ser potencializada pela ação de micro-organismos. Os lipídios são importantes componentes dos produtos cárneos, conferindo características desejáveis de suculência, sabor, aroma, valor nutricional e propriedades tecnológicas. Contudo, os mesmos são facilmente oxidáveis, levando a rancificação, com a produção de substâncias indesejáveis comprometendo a qualidade e a vida útil dos produtos (OLIVO, 2005). A complexidade do processamento dos produtos cárneos e a necessidade de aumentar o período de armazenamento tornam o produto muito vulnerável à deterioração (ARAUJO, 2009).

No Brasil, a linguiça frescal é um dos produtos cárneos mais consumidos. Com processamento relativamente simples e, empregando-se normas higiênico-sanitárias adequadas, a produção pode ser bastante rentável, porém, é também um produto altamente perecível, uma vez que a extensiva manipulação inerente ao processo permite contaminações cruzadas. Por se tratar de um produto frescal, a matéria prima quando não é selecionada corretamente pode comprometer a segurança do produto final (OLIVO, 2007).

O emprego de baixas temperaturas é muito importante, pois em valores superiores aos de refrigeração, o desenvolvimento de micro-organismos deterioradores e/ou patogênicos pode ocorrer muito rapidamente. Além disso, a gordura suína utilizada pode tornar-se rançosa em curto espaço de tempo quando altas temperaturas são mantidas durante o processamento, armazenamento e durante exposição na comercialização (PRÄNDL et al., 1994).

A indústria de alimentos tem desenvolvido diferentes tecnologias em embalagens tentando aumentar a vida útil de produtos perecíveis como carnes e seus derivados. 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).

Na especificação de uma embalagem para produtos cárneos, além dos requisitos de proteção do produto, devem ser considerados: as tecnologias de fabricação de materiais de embalagem, as técnicas de acondicionamento disponíveis, a legislação vigente, a vida útil desejada, a resistência mecânica desejada, capacidade e formato da embalagem, as exigências do mercado, o volume de vendas e aspectos toxicológicos e ecológicos (CETEA, 2006).

A linguiça, mesmo mantida sob refrigeração, começa a apresentar certas modificações a partir sexto dia, após o processamento. No entanto, sob condições adequadas de processamento, incluindo o uso de aditivos permitidos por legislação, 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 (PRÄNDL et al., 1994).

Na maioria das vezes, o produto cárneo fresco chega ainda congelado aos pontos de venda depois de transportados em caminhões com sistema de refrigeração. O aumento da preocupação tem ocorrido principalmente no que tange às condições de temperatura, integridade da embalagem, estruturas das embalagens e aspectos sensoriais. No caso da linguiça frescal, quase sempre embalada a vácuo, em quantidade de aproximadamente 5 kg, o produto geralmente é vendido no varejo de duas formas: a granel, pesado diante do consumidor ou reembalado em porções de aproximadamente 500 g. Para as duas formas, a linguiça ainda congelada é levada da câmara para uma sala refrigerada em temperaturas em torno de 20°C, e muitas vezes, mergulhadas em cubas de aço inoxidável com água. Esta prática não é recomendada, porém, é rotina em muitos pontos de venda (ARAUJO, 2009).

Objetivos

Objetivo geral

Avaliar a estabilidade da linguiça Toscana fresca acondicionada em embalagens de Polietileno, Nylon e EVOH em condições de vácuo, sob refrigeração.

Objetivos Específicos

- Avaliar a oxidação lipídica (TBARS, peróxidos, acidez, composição de ácidos graxos e hexanal) e protéica (grupo carbonil e sulfidrilas) de amostras de linguiça Toscana resfriada em 3 estruturas de embalagens diferentes (Polietileno, Nylon Poli e EVOH), sob as mesmas condições de armazenamento.
- Avaliar as alterações de cor das amostras de linguiça Toscana resfriada em 3 estruturas de embalagens diferentes (Polietileno, Nylon e EVOH), sob as mesmas condições de armazenamento.
- Determinar as condições microbiológicas - Psicrófilos das amostras de linguiça Toscana resfriada em 3 estruturas de embalagens diferentes (Polietileno, Nylon e EVOH), sob as mesmas condições de armazenamento.
- Avaliar sensorialmente as amostras de linguiça Toscana resfriada em 3 estruturas de embalagens diferentes (Polietileno, Nylon e EVOH), sob as mesmas condições de armazenamento.

1. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Neste item será apresentado uma revisão bibliográfica sobre linguiça Toscana, 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.

1.1. CARACTERIZAÇÃO DE LINGUIÇA TOSCANA

Entende-se por linguiça o produto cárneo industrializado, obtido de carnes de animais de açougue, adicionados ou não de tecidos adiposos, ingredientes, embutido em envoltório natural ou artificial, e submetido ao processo tecnológico adequado. A linguiça designada Toscana é o produto cru obtido exclusivamente de carnes suína, adicionada de gordura suína e ingredientes (BRASIL, 2006).

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 e 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 à comercialização do produto (ARIMA & LEMOS apud ITAL, 2002).

Devido o alto teor de gordura, a natureza das matérias-primas e a falta de tratamento térmico, tal produto é propenso a deterioração, a oxidação lipídica e a contaminação microbiana (GEORGANTELIS et al., 2007).

Uma formulação adequada deve basear-se em informações precisas sobre a composição das matérias-primas, tais como, relação umidade, proteína, teor de gordura, pH, teor de tecido conjuntivo, cor e temperatura. No caso da linguiça frescal, um exemplo de formulação comumente utilizada é apresentado na Tabela 1.

Tabela 1: Exemplo de formulação comumente utilizada na produção de linguiça frescal de suíno.

Ingredientes	Quantidade*
Carne de Suíno com 35 % de Gordura	70 kg
Carne de Suíno 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 100 kg do produto cárneo. Fonte: ITAL, 1988.

1.2. PROCESSAMENTO DE LINGUIÇA FRESCAL

Embutidos são produtos resultantes da necessidade de aproveitamento da carne fresca e/ou congelada, especialmente resultante das partes menos nobres de carcaças de animais de açougue. Existem vários métodos de processamento com objetivo de desenvolver características organolépticas e propriedades desejáveis. As linguiças estão entre alguns dos produtos processados mais antigos e tradicionais, ainda com ampla aceitação e consumo (FAO, 2002)

O processamento das linguiças frescas é relativamente simples. As principais etapas envolvidas no processamento de linguiça, incluem, recebimento da matéria prima; preparo e formulação; moagem; misturas das carnes com condimentos e aditivos, até a completa homogeneização; cura fria (descanso em ambiente refrigerado por 12h), para desenvolvimento do sabor e início do processo de cura;

embutimento; embalagem; expedição ou estocagem sob congelamento ou resfriamento (YUN, et al., 2010).

Um fluxograma básico do processo de obtenção de linguiça frescal de suíno é apresentado na Figura 1.

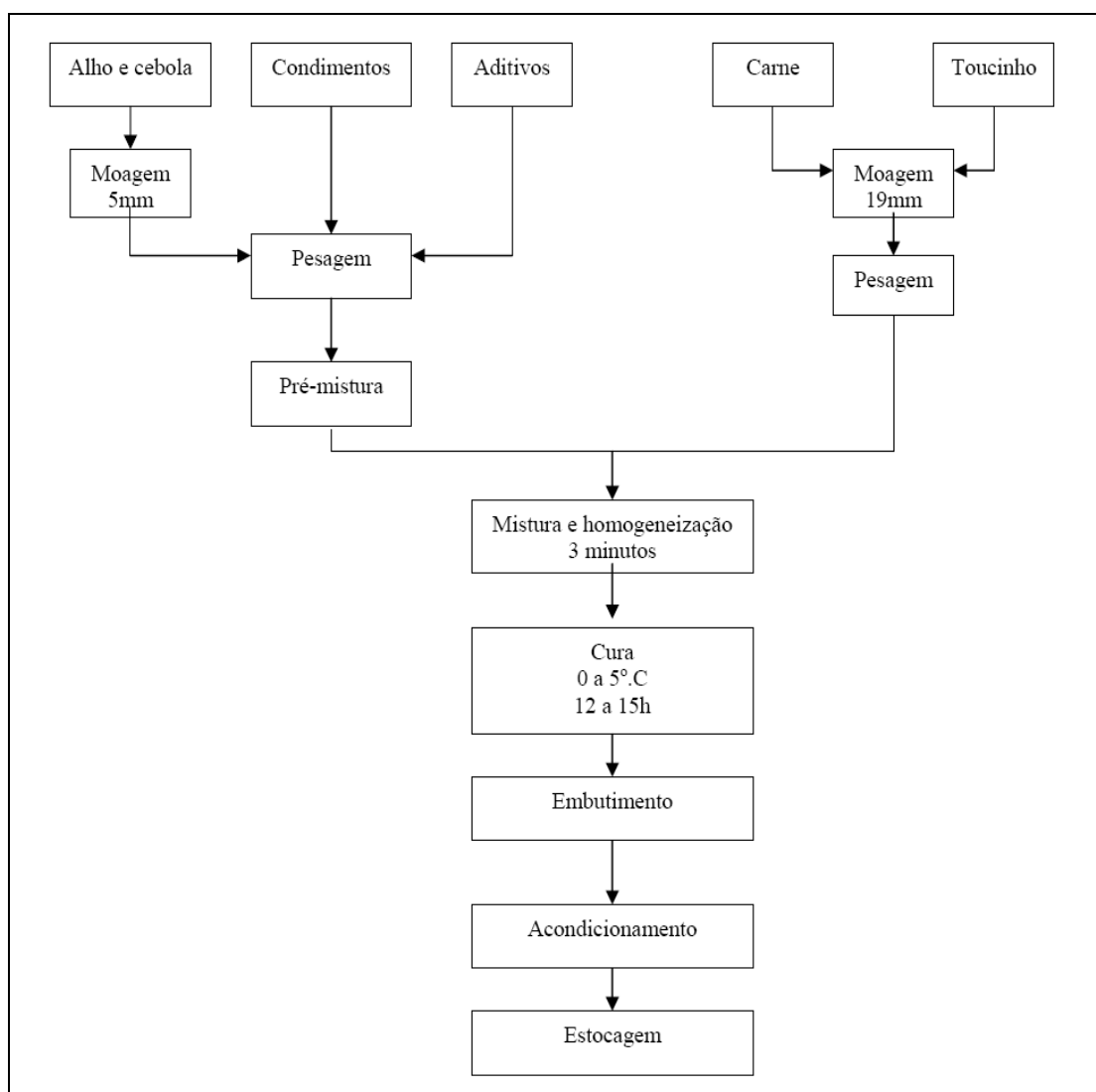


Figura 1: Exemplo de fluxograma de processamento comumente utilizado na produção de linguiça frescal de suíno (YUN et al., 2010).

Devido ao desenvolvimento tecnológico, sabe-se que a moderna indústria de embutidos, conta com embutideiras a vácuo, envoltórios dos mais diversos tipos, estufas de cozimento e/ou defumação programadas por computador, instalações frigoríficas adequadas, embalagens e condimentos necessários para a fabricação de

produtos seguros e de maior praticidade atendendo aos apelos do consumidor (FERNANDEZ et al., 2005).

Entretanto, essa não é a realidade de muitos fabricantes de embutidos, o que pode implicar seriamente na qualidade e segurança do produto. Nesse ambiente, o comércio de alimentos de origem animal reside basicamente em produtos clandestinos processados sem critérios higiênico-sanitários e sem controle pelos órgãos de Saúde Pública, representando risco potencial para a saúde do consumidor (FERNANDEZ et al., 2005).

A indústria de carnes diversificou, nos últimos anos, muitos de seus produtos processados elevando o padrão tecnológico, o que contribuiu para o surgimento de novas variedades de embutidos, incluindo novos tipos de salsichas, salames, linguiças, etc. (FAO, 2002).

Desde então, foram aceleradas as possibilidades de diferenciação de produtos, favorecidas pelos mais variados fatores como: os avanços tecnológicos, a participação das empresas no mercado internacional por meio da introdução de novos produtos, das alterações nos hábitos de consumo, das modificações nos setores de serviços de alimentação, o atendimento a mercados específicos, como é o mercado institucional, na qual estão ocupados pelas cozinhas industriais, restaurantes, hospitais, lanchonetes e as redes de refeições rápidas (FERNANDES, 2002).

Entre os novos produtos lançados no mercado, podem-se destacar os embutidos de frango com picles, azeitona, ervas e queijos fundidos. Além das linguiças de javali, caprino, pescados e frutos do mar, cujo objetivo é diversificar a oferta de produtos, assim como atender grupos variados de consumidores. A busca por produtos mais saudáveis e menos calóricos, respondendo ao apelo do mercado de produtos cárneos, têm estimulado a produção de embutidos *light* (FERNANDES, 2002).

Os embutidos frescos, de forma geral, têm uma vida útil reduzida e com o intuito de aumentá-lo novas técnicas vêm sendo desenvolvidas ou modificadas para atender o paladar brasileiro, como por exemplo, a bioproteção (FERNANDES, 2002).

1.3. QUALIDADE GLOBAL DE LINGUIÇA FRESCAL

A qualidade de alimentos é um fenômeno complexo, compreendendo segurança, aspectos nutritivos e sensoriais (BARYLKO-PIKIELNA & MATUSZEWSKA, 2000) e, portanto, está submetida a normas de legislação.

Considerando necessário instituir medidas que normalizassem a industrialização de produtos de origem animal para garantir condições de igualdade entre os produtores e assegurar a transparência na produção, processamento e comercialização, foi aprovado pela Instrução Normativa nº 4 (BRASIL, 2000) os Regulamentos Técnicos de Identidade e Qualidade de Carne Mecanicamente Separada, de mortadela, de linguiça e de salsicha. O objetivo destes regulamentos técnicos foi fixar a identidade e as características mínimas de qualidade que os produtos cárneos industrializados deverão obedecer. De acordo com essa normativa, entende-se por linguiça o produto cárneo industrializado, obtido de carnes de animais de açougue, adicionados ou não de tecidos adiposos, ingredientes, embutidos em envoltório natural ou artificial e submetido ao processo tecnológico adequado. Quanto às linguiças Toscana frescal, são apresentadas ainda as características apresentadas na Tabela 2.

Tabela 2: Características de Identidade e Qualidade de linguiças Toscana frescal.

<i>Características</i>	<i>Unidade (%)</i>	<i>Quantidade</i>
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 carne ³	máx.	0

(1) A adição de amido não é permitida em linguiças Toscana frescal;

(2) É proibido o uso de CMS (Carne Mecanicamente Separada) em linguiças Toscana frescal;

(3) Não é permitida a adição de proteínas não-cárneas (vegetal e/ou animal), como proteína agregada em linguiças toscana.

Fonte: BRASIL (2000).

Viabilizar a implantação desse Padrão de Identidade e Qualidade (PIQ) da tabela 2 na produção de alimentos, no caso em particular, na linguiça Toscana, é requisito fundamental, pois somente assim é que se poderão melhorar os aspectos de qualidade e a segurança dos alimentos.

A garantia da qualidade é definida como um processo orientado, sensível às operações de controle de um programa contínuo. Essa definição faz parte de muitas características do *Total Quality Management* (TQM). Nos últimos anos, tem sido crescente o interesse no uso do modelo TQM para treinar os diretores de pequenas empresas de alimentos na implementação e operação do APPCC (Análise dos Perigos e Pontos Críticos de Controle). Além disso, o sistema ISO de documentação tem sido recomendado como uma ferramenta para a elaboração da documentação APPCC (HOLT & HENSON, 2000). SOARES & BENITEZ (1999) ressaltam que o sistema de APPCC, representa a mais potente ferramenta de segurança da qualidade sanitária de alimentos. Estes autores lembram ainda, que o controle microbiológico da carne é importante pela presença de alguns pontos críticos de contaminação na linha de abate.

CHARLES, GUILLAUME & GONTARD (2008) revela que o primordial é conectar a produção de carnes com a sua industrialização possibilitando, dessa forma, uma maior qualificação dos produtos cárneos. Problemas originados antes, ou durante o abate, jamais poderão ser removidos pela industrialização, possibilitando a fabricação de produtos cárneos de difícil comercialização. No caso do processamento de linguiça frescal, a qualidade global depende da inter-relação desses parâmetros para assegurar sua aceitação com segurança.

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 linguiça frescal. A seguir serão apresentados os principais mecanismos pelos quais a qualidade e segurança do produto em estudo, podem ser comprometidos.

1.3.1. Oxidação Lipídica

A oxidação lipídica, promotora da rancidez, é reconhecida desde a antiguidade como um problema ocorrido durante o armazenamento de óleos e gorduras. Mudanças características associadas com a deterioração de óleos vegetais e gorduras animais incluem o desenvolvimento de sabores e aromas indesejáveis, assim como alterações de cor, das propriedades reológicas, de solubilidade, e formação de compostos potencialmente tóxicos (BARON & ANDERSEN, 2002).

Numerosos estudos têm sido realizados nos diferentes aspectos da oxidação lipídica em carne, produtos cárneos e sistemas modelo de carne para aumentar sua estabilidade oxidativa. Os principais fatores que afetam a deterioração da qualidade da carne através da oxidação lipídica incluem a composição dos fosfolipídios, o teor de ácidos graxos polinsaturados na carne, e a presença de íons de metais livres (BARON & ANDERSEN, 2002).

Outros fatores compreendem oxigênio, pigmentos heme, processos mecânicos (como moagem, mistura, corte e desossa mecânica da carne), cocção e adição de sal durante os procedimentos de produção (ANDREO et al., 2003). O elemento ferro desempenha um papel fundamental no desenvolvimento da oxidação lipídica (POLLONIO, 2004).

Diversos produtos cárneos processados são particularmente suscetíveis à rancidez oxidativa devido à exposição ao oxigênio e/ou elevadas temperaturas durante o processamento. Isso inclui linguiça frescal, produtos cozidos e embutidos desidratados. Fonte de carnes com maior proporção de gorduras insaturadas como suíno e frango, são particularmente suscetíveis (SEBRANEK et al., 2005).

O monitoramento e o controle da deterioração lipídica durante o processamento da carne e do armazenamento do produto processado é extremamente importante para suprir de forma conveniente a crescente demanda dos consumidores (SELLING et al., 2008).

No tecido vivo, o controle da oxidação é essencial para prevenir a destruição oxidativa das membranas lipídicas, proteínas e ácidos nucleicos. Existem numerosos sistemas no músculo esquelético que mantém o balanço entre os fatores que controlam as reações oxidativas. De qualquer forma, durante certas operações de

processamento, o balanço é interrompido, o controle da oxidação é perdido e modificações oxidativas dos componentes químicos do músculo ocorrem. É essa perda do controle oxidativo que causa o rápido desenvolvimento de *off-flavor* (sabor indesejável) em carnes processadas (WHITLEY, MULR, WAITES, 2002).

A autooxidação dos lipídios em produtos cárneos envolve a peroxidação de ácidos graxos insaturados, em particular daqueles associados com fosfolipídios localizados nas membranas celulares. A suscetibilidade ao processo oxidativo depende da capacidade dos ácidos graxos doarem um átomo de hidrogênio, com produção de um radical livre de lipídio que, por sua vez, reage com oxigênio molecular para formar um radical peróxi (BELITZ , GROSCH, 1999).

Assim, os átomos de carbono adjacentes às duplas ligações tendem a doar um átomo de hidrogênio, levando à formação de radicais estabilizados por ressonância. Uma vez que a autooxidação dos lipídios procede via mecanismo de cadeia de radicais livres, é catalisada por muitos fatores, tais como: presença de calor, luz, radiação ionizante, íons metálicos e metaloporfirinas (BELITZ , GROSCH, 1999).

A deterioração oxidativa pode resultar, ainda, em rancidez organoléptica no produto final, tornando-o inaceitável pelos consumidores e também causar efeitos degradativos como a destruição de vitaminas, perdas nutricionais e descoloração (STROTMANN et al., 2008).

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 oxidação lipídica é um dos mais importantes fatores que limitam a vida útil e a estabilidade comercial da carne e de produtos cárneos. A oxidação da carne está relacionada ao conteúdo de antioxidantes naturais e ao grau de polinsaturação dos ácidos graxos (BOSELLI et al., 2005).

Para prevenir a deterioração da gordura em alimentos cárneos, é essencial o desenvolvimento de tecnologias para manter as características sensoriais desejadas. Isso pode ser realizado pela minimização dos efeitos pró oxidativos das técnicas de processamento, alterando as concentrações dos substratos de oxidação e utilizando antioxidantes (SELLING et al, 2008).

A Tabela 3 apresenta os principais fatores que influenciam a deterioração das gorduras.

Tabela 3: Fatores que influenciam a deterioração das gorduras.

<i>ENDÓGENOS</i>	<i>EXÓGENOS</i>	<i>EXÓGENOS PRO- OXIDATIVOS</i>
Lípases tissulares;	Micro-organismos	Luz;
	lipolíticos;	
Quantidade de ácidos graxos	Micro-organismos	Oxigênio;
insaturados;	lipoxidante.	Altas temperaturas;
Deficiência de catalase tissular;		Metais e seus sais;
Compostos hematínicos;		Radicais livres.
Falta de vitamina e		
Umidade.		

Fonte: RAHARJO, SOFOS; SCHMIDT (1992).

Análises como determinação de substâncias reativas ao ácido 2- tiobarbitúrico (TBARS) são utilizadas no controle de qualidade de óleos, gorduras e produtos que os contenham, por fornecerem informações essenciais a respeito do estado oxidativo, na predição da rancidez do alimento, particularmente para carnes, pescados e derivados, a informação do número de TBARS é bastante relevante, especialmente quando associado à análise sensorial (VERBEKE et al., 2010).

Muitos estudos americanos e europeus sobre os efeitos do uso de vitamina E para prolongar a vida útil da carne têm sido realizados e vêm mostrando os efeitos benéficos desta vitamina na peroxidação lipídica em carne, geralmente avaliados

pela concentração de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico - TBARS (HARMS et al., 2003).

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 (HARMS et al., 2003).

Processos envolvidos na elaboração de produtos cárneos que incluem moagem e mistura favorece a formação do malonaldeído (MDA), sendo fundamental o emprego do teste na avaliação da qualidade do produto final. O teste de TBARS quantifica as substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico, expressos como MDA, um dos principais produtos de decomposição dos hidroperóxidos de ácidos graxos poliinsaturados, formado durante o processo oxidativo (GONÇALVES, 2004).

Ao optar pelo teste de TBARS, deve se conhecer a composição em ácidos graxos do alimento, uma vez que o teste mede a extensão da oxidação de lipídios com três ou mais duplas ligações. Para sistemas mais complexos, em que estão presentes misturas de constituintes, a medida de TBARS tem apenas significado qualitativo e comparativo (VERBEKE et al, 2010).

A avaliação deste parâmetro de oxidação é geralmente efetuada pela determinação do Índice de Peróxidos (IP). Este representa a diferença entre a formação e a decomposição de peróxidos, e exprime-se em milimoles de oxigênio ativo por kg de matéria graxa. Segundo alguns autores o IP deve ser determinado nos primeiros estados do processo oxidativo. A variação do nível de peróxidos ao longo do tempo ocorre de uma forma gaussiana, pelo que um nível baixo de peróxidos não constitui uma garantia de boa estabilidade oxidativa, podendo, pelo contrário, ser sinônimo de alteração pronunciada (BERSET, CUVELIER., 2006).

Dois tipos de métodos são classicamente usados para dosar 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 caráter 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), tipo de peróxidos presentes e sua reatividade) (HAMILTON; ROSSELL; HUDSON., 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).

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 araquidónico, os quais fazem parte integrante de uma grande variedade de produtos (BERSET, CUVELIER; 2006).

A determinação dos referidos produtos é vulgarmente efetuada por Cromatografia Gasosa - CG de injeção direta ou por headspace (ST. ANGELO, A. J.; 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).

A combinação da cromatografia gasosa com a espectroscopia de massa (CG/EM) constitui uma técnica analítica altamente sensível, permitindo a obtenção de dados relativos à identificação, origem e quantificação dos compostos responsáveis por *off flavors* e *off odors*, e seus precursores (ST. ANGELO, A. J. , 2006).

A termólise representa uma variante do método anteriormente mencionado. Baseia-se na análise dos produtos voláteis formados por termodecomposição dos hidroperóxidos, por cromatografia gasosa direta ou após derivatização com a 2,4,6-triclorofenilhidrazina (SAIDIA, HAMMOND, 2003).

A avaliação do teor de ácidos voláteis é usualmente feita por condutimetria. A análise baseia-se no registo das variações da condutividade da água destilada, na qual se faz a coleta dos ácidos de baixo peso molecular (ácido fórmico). Estes compostos são obtidos normalmente após iniciação forçada da oxidação a uma temperatura de 110-130°C e com corrente de ar ou de oxigênio (ST. ANGELO, A. J.; 2006).

1.3.2. Oxidação de Proteína

Durante as últimas décadas, a maioria dos estudos sobre as oxidações foram para examinar o papel desempenhado pela proteínas oxidadas em uma variedade de doenças humanas.

Poucos estudos recentemente tentaram desvendar a influência da origem da carne e condições de processamento industrial sobre a ocorrência e intensidade de oxidação de proteínas nos produtos de carne (ESTÉVEZ & CAVA, 2004).

Proteínas musculares são suscetíveis à reações de oxidação causadas por iniciadores diferentes como a oxidação de lipídeos, íons metálicos, e outros pró-oxidantes (ESTÉVEZ, et al. 2008).

Resíduos de aminoácidos são resultados diretos, causado pelo dano oxidativo, levando à perda de grupos sulfidrílicos e a geração de derivados oxidados, tais como carbonilação de proteínas e na formação de ligações cruzadas e agregados (ESTÉVEZ, et al. 2008).

A oxidação de proteínas miofibrilares tem um impacto sobre o valor nutritivo de carne, uma vez que envolve a perda de aminoácidos essenciais e diminui a digestibilidade da proteína (XIONG, 2000). Além disso, o desenvolvimento de oxidação de proteínas em sistemas à base de carne tem sido relacionada à cor e textura de deterioração (ESTÉVEZ et al., 2008).

Em vista da falta de conhecimento dos efeitos químicos sobre oxidação de proteínas, existe a necessidade factual para investigar o destino de oxidar proteínas presentes nos alimentos durante o manuseio, processamento e armazenamento. Para cumprir este objetivo, é essencial para desenvolver adequados procedimentos analíticos avançados. Até agora, os procedimentos analíticos utilizados nas ciências biomédicas para quantificar carbonilação de proteínas, também foram extrapolados e comumente utilizados em sistemas alimentares. Entre elas, o 2,4 - dinitrofenilidrazina (DNPH) método, tornou-se um procedimento de rotina para avaliar a oxidação de proteínas em uma grande variedade de alimentos musculares, incluindo a carne crua, carne e emulsões produtos secos-curado (ESTÉVEZ, CAVA, 2004).

Usando esse método, a quantificação dos compostos carbonílicos é realizado através de derivatização com DNPH, que reage com a proteína do grupo carbonil para formar hidrazonas. Mais recentemente, uma técnica alternativa usando espectroscopia de fluorescência foi introduzido para avaliar a oxidação de emulsões e lipossomas (ESTÉVEZ et al. 2008).

Os compostos formados como resultado de reações entre os produtos da oxidação lipídica (Aldeídos) e grupos amino de proteínas são conjugados fluoróforos com propriedades espectrais que podem ser detectadas por gravação de fluorescência em torno de 450 nm, quando animado com 350 nm e, portanto, utilizado como índice de oxidação protéica (ESTÉVEZ et al. 2008).

As avaliações dos produtos de oxidação de proteínas utilizam o ensaio de espectrofluorimetria que tem sido utilizada para avaliar a oxidação das proteínas miofibrilares em emulsões de óleo em água (ESTÉVEZ et al. 2008).

1.3.3. Alterações de Cor e Textura

Em função de hábitos estabelecidos pelo segmento de processamento de produtos cárneos junto ao consumidor, a cor é um dos atributos mais importantes na avaliação da qualidade global de linguiça frescal. A aparência determina como os consumidores percebem a qualidade do produto cárneo e influencia significativamente em sua decisão de compra (CARPENTER; CORNFORTH; WHITTTLER, 2001).

A cor possui, portanto altíssima força de decisão, levando até mesmo ao esquecimento, momentâneo, das características nutricionais do produto (OGAWA, MAIA, 2009).

A cor do produto cárneo poderá ser tanto o resultado de uma “cura” como da adição de um corante ou fruto de um defeito consequente a um processamento incorreto. A cura é o resultado da adição dos chamados sais de cura, ou seja, cloreto de sódio misturado com nitrato e nitrito. Estes sais reagem com os componentes da carne ocasionando coloração, sabor e aroma característicos (GIL, DOMINGUEZ, 2002).

Em produtos cárneos, sais de cura como nitrato e nitrito atendem a três principais propósitos: a princípio, desenvolvimento de sabor desejável e inibição de rancidez, formação de características de cor vermelha e rósea e, mais importante, como agente conservante, inibindo a germinação de esporos de *Clostridium botulinum* e outros patógenos importantes em alimentos (MØLLER et al., 2003).

O pigmento responsável pela cor da carne é a mioglobina, caracteriza a coloração vermelho purpura dos animais vertebrados e invertebrados (OGAWA, MAIA, 2009). Quando o músculo é exposto ao ar, ocorre oxigenação do pigmento, formando então a oximioglobina (vermelho vivo), quando esta exposição é mais prolongada, ou seja, durante o tempo de vida útil do produto, ocorre oxidação do

pigmento, causada pela modificação do íon ferroso (Fe^{2+}) para o íon férrico (Fe^{3+}). Com esta oxidação, forma-se o pigmento metamioglobina.

A hemoglobina (Hb) também presente em músculo escuro, porém em pequenas concentrações, pouco contribui para a cor da carne, exceto, nos casos em que haja rupturas dos vasos sanguíneos com acúmulo de sangue nos tecidos musculares (OGAWA, MAIA, 2009).

Medidas instrumentais de cor são realizadas comumente através de colorímetros e espectrofotômetros, em equipamentos como *Minolta* e *Hunter MiniScan*. Esses equipamentos iluminam a amostra de carne com uma fonte controlada e medem a quantidade de luz refletida em diferentes comprimentos de onda (400-700 nm). A partir dos dados de luz refletida por comprimento de onda, os valores da cor da amostra de carne são calculados de acordo com escalas tridimensionais de cor (BERNARDES, PRATA, 2001).

KUBTIZA (2000) cita que o grupo de pigmentos coloridos que variam de amarelo alaranjado a vermelho, são chamados de carotenóides e são largamente distribuídos nos reinos animal e vegetal. A grande maioria dos carotenóides é muito solúvel em solventes apolares, incluindo óleos e gorduras comestíveis. Os poucos carotenóides solúveis em água contêm grupos acídicos ou encontram-se ligados com resíduos de açúcares e proteínas. Nos salmonídeos a astaxantina é o carotenóide predominante, conferindo uma coloração rosada-avermelhada ao filé. O mesmo autor cita ainda que a pigmentação indesejada no filé pode advir do uso excessivo de milho nas rações. Tais produtos são ricos em luteína e zeaxantina, carotenóides responsáveis também pela coloração amarelada.

A luminosidade, grau de claro ou escuro, é o atributo da percepção visual onde uma área parece emitir mais ou menos luz. A tonalidade é o atributo da percepção visual onde uma cor é percebida como vermelho, amarelo, verde azul, púrpura. Os brancos, pretos e cinza puros não possuem tonalidade e saturação. Já a saturação ou também vivacidade é o atributo da percepção visual que indica o grau de pureza da cor, ou seja, quanto maior o grau mais saturado ou vívido é a cor (CANHOS, DIAS, 2003).

A proteína cárnea mioglobina é primariamente responsável pela cor da carne, esse pigmento pode existir em três formas. Mioglobina reduzida, de cor vermelho

púrpura, é rapidamente oxigenada quando exposta ao ar, tornando-se vermelho brilhante. Com o tempo, a mioglobina é oxidada a metamioglobina, a carne se apresenta descolorida e adquire uma tonalidade marrom, associada com a perda de frescor e algumas vezes, com alterações microbiológicas (O'GRADY et al., 2000).

Acredita-se que a formação da cor em produtos curados obedece a um processo enzimático que se desenvolve a partir da oximioglobina (vermelho brilhante) presente na carne, primeiramente oxidada a metamioglobina (marrom) pelo nitrito e, posteriormente, se combina com o óxido nítrico, que é um produto da decomposição do nitrato no processo de cura, formando um pigmento denominado nitrosometamioglobina (marrom). Enzimas mitocondriais reduzem a nitrosometamioglobina a nitrosomioglobina (vermelho), como demonstrado na Figura 2.

O aquecimento ao redor de 75°C desnatura a parte protéica do pigmento, a globina, e resulta na formação de um composto estável, o nitrosohemocromo, que confere a cor rósea brilhante às carnes curadas (PRÄNDL, et al., 1994).

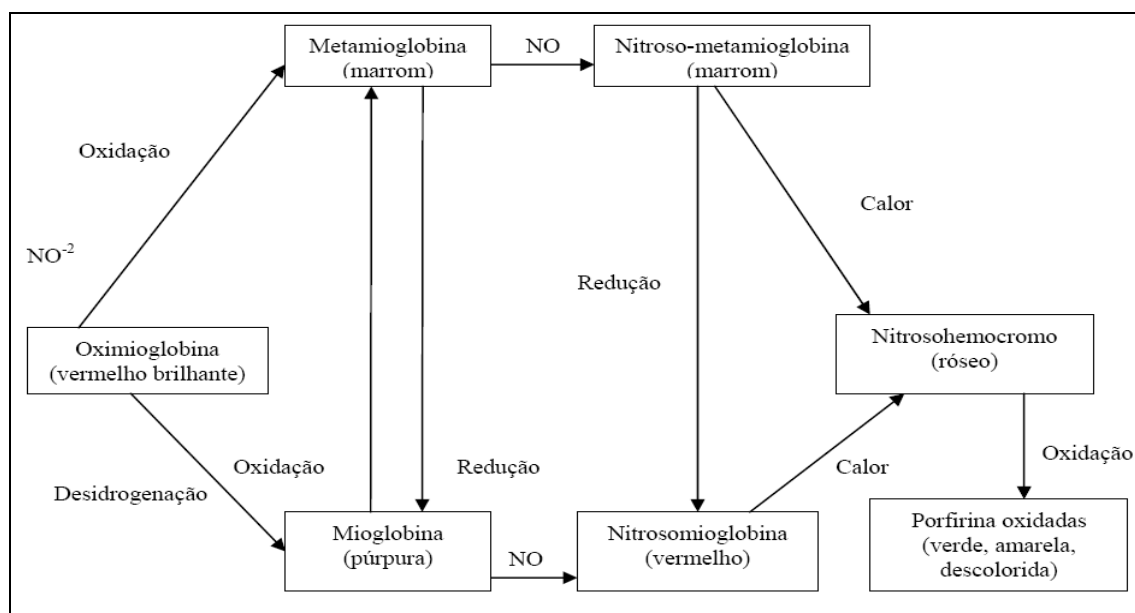


Figura 2: Ciclo da cor em carnes curadas (RIZVI, 1981).

A alteração na coloração dos produtos curados deve-se à oxidação do pigmento nitrosohemocromo por agentes químicos, como o oxigênio, ou agentes

microbianos. Como resultado tem-se a formação de porfirinas verdes, amarelas ou incolores. A luz acelera essa reação, induzindo a dissociação do óxido nítrico da estrutura heme, o que resulta em descoloração. O problema da perda de cor pela ação da luz é crítico, uma vez que as técnicas modernas de comercialização dos produtos curados exigem a exposição em balcões iluminados (MOLLER et al., 2003).

A utilização de sais de cura tem sido analisada com cuidados nos últimos anos em função de sua influência no estado de saúde de consumidores. O nitrato, por si só, não é tóxico a não ser pela ação sobre a glândula tireóide. Entretanto, o nitrito proveniente das transformações na qual sofrem como a síntese bacteriana, juntamente com o já existente nos alimentos, vinhos, pesticidas, cosméticos, cigarro, drogas e medicamentos, na qual exercem malefícios no homem desencadeando efeitos tóxicos que podem ocorrer de duas maneiras: pela toxicidade direta do nitrito ou pela formação de nitrosaminas devido à reação entre o nitrito com aminas secundárias e terciárias. Desde a década de 1960, vem aumentando a preocupação sobre a possível ocorrência em alimentos dessas nitrosaminas, que são compostos tóxicos teratogênicos, embriopáticos, mutagênicos e carcinogênicos (FERNANDEZ et al., 2005). O efeito tóxico agudo mais importante provocado pelo nitrito é a indução da metahemoglobinemia pela oxidação da hemoglobina, diminuindo efetivamente o transporte de oxigênio podendo ter como resultado a morte por anoxia. Embora não seja comum, a ocorrência de tais casos pela ingestão de alimentos exige muita cautela no uso dos sais de cura. Quando utilizados de maneira adequada, dentro dos limites estabelecidos pela legislação (150 mg/kg), alcançam os atributos desejados, sem colocar em risco a saúde do consumidor (BRASIL, 2000).

A acidez pode ser um fator básico na preservação do músculo ou ter um papel auxiliar em sua textura, cujo efeito se combina com outros fatores tais como: conservadores químicos, temperatura, atividade de água e etc. As células de diferentes espécies microbianas apresentam tolerância distinta à acidificação interna, ou a acumulação de ânions, e suas membranas exibem características diversas quanto à permeabilidade por ácidos lipofílicos. Os ácidos orgânicos são bacteriostáticos mais eficientes, normalmente, a baixas temperaturas (ICMSF, 2000).

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

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

No momento do abate, o músculo é mole e extensível, mas em poucas horas converte-se em uma estrutura inextensível e relativamente rígida, o que é conhecido como *rigor mortis* ou rigidez cadavérica. A maturação da carne ou resolução do *rigor mortis* compreende as mudanças posteriores ao desenvolvimento da rigidez cadavérica que determinam o relaxamento lento do músculo provocando amolecimento da carne após 3 a 4 dias de armazenamento em refrigeração (HONKAVAARA et al., 2004).

1.3.4. Micro-organismos Psicrófilos

Possivelmente a temperatura seja o fator mais importante, que afeta a viabilidade e o desenvolvimento dos micro-organismos. Ela interfere na duração da fase de latência, na velocidade de crescimento, no número final de células, nas necessidades nutritivas e na composição química e enzimática das células. A temperatura envolvida no processamento e na armazenagem de um alimento contribui na determinação dos micro-organismos contaminantes, conforme apresentado na Tabela 4.

Os efeitos letais da refrigeração e do congelamento dependem do micro-organismo considerado, do microambiente e das condições de armazenamento. Consideram-se temperaturas de refrigeração aquelas que vão de -1°C a 7°C. Quando os alimentos são refrigerados e mantidos a temperaturas adequadas, a deterioração somente ocorrerá em função dos psicrotróficos (ICMSF, 2000).

Tabela 4: Temperaturas importantes para os micro-organismos procarióticos.

<i>Grupos</i>	<i>Temperatura (°C)</i>		
	Mínima	Ótima	Máxima
Termófilos	40 - 45	55 - 75	60 – 90
Mesófilos	5 -15	30 – 45	35 – 47
Psicrófilos	-5 – 5	12 -15	15 – 20
Psicrotófilos	-5 – 5	25 - 30	30 – 35

Fonte: ICMSF (2000).

1.4. MICROBIOTA DE LINGUIÇA FRESCAL

A carne e seus produtos derivados apresentam alta susceptibilidade às contaminações bacterianas, provocando redução de suas propriedades nutritivas, alterações organolépticas indesejáveis e risco à saúde do consumidor, podendo veicular microrganismos patogênicos e/ou suas toxinas. Para impedir essas situações podem ser usados diversos métodos de conservação como salga, defumação, secagem, refrigeração, radiação, uso adequado de embalagens e fermentação (PEREIRA, et al, 2000).

Com exceção da superfície externa e dos tratos digestivo e respiratório, os tecidos de animais sadios contêm poucos micro-organismos; os mecanismos de defesa animal controlam com eficácia os agentes infectantes nos animais sadios vivos, mas essa defesa falha após a morte (ICMSF, 2000).

Numerosos fatores influenciam o tipo de micro-organismo que contamina a carne e os produtos cárneos frescos. Esses fatores incluem a faixa de pH da carne; a adição de sal, nitrito, açúcar, fumaça (líquida ou natural), acidulantes e o estado da carne (aquecida, fermentada ou seca). Após o processamento, o tipo e a proporção de espoliação são influenciados pelo tipo de embalagem, temperatura de armazenamento, composição final do produto e sobrevivência ou contaminação de micro-organismos. *Coliformes*, *Escherichia coli*, *Enterococos*, *Campylobacter*, *Staphylococcus aureus*, *Clostridium perfringens*, *Listeria monocytogenes* e

Salmonella estão frequentemente presentes na carne fresca, já que o processo de abate não apresenta nenhuma etapa bactericida (PEREIRA, et al, 2000).

A frequência e o nível dessas bactérias no animal recém abatido variam, dependendo das condições climáticas, criação, transporte, repouso e condições de processo. Em geral, todas elas, com exceção da *Salmonella*, *Campylobacter* e *L. monocytogenes* podem estar presentes em níveis em torno de 10^1 a 10^2 UFC/g. A *Salmonella*, quando presente, geralmente não pode exceder o nível de uma célula por 25 g na carne fresca (JOHNSTON, TOMPKIN apud VANDERZANT, SPLITTSTOESSER, 2002).

Em ambiente aeróbio, a microbiota psicrotrófica de carnes resfriadas é predominantemente composta de bactérias Gram negativas causadoras de putrefação, enquanto que em ambiente anaeróbio, como embalagens a vácuo ou em atmosfera modificada com alto nível de dióxido de carbono, a microflora psicrotrófica é composta de bactérias lácticas não putrefativas (PEREIRA, et al. , 2000).

Em relação à linguiça frescal, a matéria-prima já contém uma contaminação natural e um importante papel das bactérias ácido lácticas é inibir a flora natural competidora, incluindo bactérias deteriorantes e ocasionalmente patógenos como *S. aureus* e *L. monocytogenes* (ROSA, 2001).

Os principais estudos sobre linguiças frescas procuram avaliar a qualidade higiênica, a cor e a conservação. Portanto, poucas investigações sobre a ecologia microbiana desse produto durante o armazenamento têm sido realizadas (COCOLIN et al., 2004).

O tipo de embalagem utilizada é um fator de extrema importância e que influencia enormemente na flora microbiana do produto cárneo. Quando a carne é embalada a vácuo, em sistemas que promovem barreira a gases, altera-se radicalmente a atmosfera gasosa ao redor da superfície do produto. A pequena quantidade de oxigênio remanescente no interior da embalagem é consumida pela atividade metabólica da carne e de bactérias. Cria-se, assim, um microssistema anaeróbio (microanaeróbio) dentro da embalagem que, auxiliado pelo efeito inibitório do CO_2 liberado na respiração, retarda o crescimento de bactérias deterioradoras, como as *Pseudomonas*, permitindo a predominância de bactérias lácticas, que têm menor potencial de deterioração e crescimento limitado em baixas temperaturas. O

resultado é a vida útil mais longa que a da carne fresca exposta ao ar (SARANTÓUPOLOS, OLIVEIRA, 2001).

A redução do pH e a utilização de carboidratos disponíveis parecem constituir o principal mecanismo de antagonismo microbiano. Sabe-se também que as bactérias lácticas produzem, além dos ácidos orgânicos, outras substâncias antagonistas, como peróxido de hidrogênio, radicais livres, diacetil, acetaldeído, isômeros D de aminoácidos, pequenas moléculas não-protéicas e bacteriocinas, (PEREIRA, et al, 2000).

De acordo com CLEMENTE (2003) a análise de perigos realizada em linguiça frescal, como parte de um estudo referente à garantia da segurança dos alimentos perecíveis em supermercados, revelou que as toxinas estafilocócica (*S. aureus*), Enterobactérias patogênicas, *B. cereus* e *L. monocytogenes* foram os perigos biológicos apontados. Perigos nos quais devem ser controladas nos ambientes varejistas adotando-se as boas práticas de manipulação e fabricação no momento de embalagem e armazenamento. Assim, medidas como verificação do prazo de validade, observações das temperaturas do produto e câmaras frias são fundamentais na garantia da segurança do produto.

1.5. INFLUÊNCIA DA EMBALAGEM NA QUALIDADE GLOBAL

Para a obtenção de produtos cárneos com qualidade assegurada e armazenados por longos períodos, a embalagem desempenha papel fundamental.

Através dela, pode-se evitar 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 deterioração, melhor apresentação do produto ao consumidor e possibilidade de divulgação da marca comercial (SARANTÓPOULOS, OLIVEIRA, 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).

Um dos processos de embalagem que melhor conserva as características de qualidade da carne fresca é o processo a vácuo com utilização de filme de baixa permeabilidade ao oxigênio, pois dessa forma previne a ação dos dois maiores agente espoliativos: bactérias aeróbicas e reações oxidativas (CHURCH, PARSONS, 2005).

O setor de embalagens evoluiu significativamente depois da entrada dos filmes de alta barreira no mercado, agora, 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, muitas vezes impedem que as tendências sejam aplicadas no setor (GARCIA, SARANTÓPOULOS, SOARES, 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 (SARANTÓPOULOS, OLIVEIRA, 2004).

1.6. EMBALAGEM NO SETOR CÁRNEO

Em termos econômicos a carne é um dos grupos de alimentos mais interessantes. A indústria de alimentos pode utilizar a embalagem e, conseqüentemente o estilo de apresentação do produto para obter maior lucratividade. As empresas que trabalham com carnes, aves e derivados talvez tenham as melhores oportunidades nesse sentido, pois as possibilidades de

apresentação e variações de formas nos produtos destes segmentos são inúmeras. Contudo, atualmente, essa possibilidade não está sendo visualizada a nível nacional (SARANTÓPOULOS, OLIVEIRA, 2004).

O prolongamento da vida de prateleira de carnes frescas, através de uma proporção adequada contra fatores do meio ambiente, como oxigênio, luz, umidade e contaminação microbiológica, é outro grande benefício advindo do uso de embalagens adequadas. Para carnes e produtos cárneos há embalagens onde se retarda a deterioração microbiológica, mantém-se uma coloração desejável, retarda-se a perda de umidade e a oxidação de gorduras. Esse aumento de vida útil permite uma ampliação do alcance do sistema de distribuição de carnes e derivados embalados (CETEA, 2001).

A propriedade mais importante do material de embalagem a vácuo é a barreira a gás, em particular, a taxa de permeabilidade ao oxigênio. Outras propriedades importantes são a baixa permeabilidade ao vapor d'água (para evitar a desidratação superficial, como consequência perda de peso, descoloração e necessidade de aparas), barreira a aromas, alta resistência mecânica, (para resistir às solicitações de manuseio e transporte), excelentes características de soldabilidade (a fim de evitar vazamento e conseqüentemente perda de vácuo), boa maquinabilidade, boas características de impressão e ou transparência e custo compatível com a aplicação, podendo ser do tipo encolhível ou não, todas essas propriedades são necessárias para os sacos pré formados e para os materiais das máquinas automáticas *thermoform-fill-seal*. Além disso, os materiais para a confecção do fundo das embalagens nas máquinas automáticas devem apresentar boas propriedades de termoformação (SARANTÓPOULOS, OLIVEIRA, 2004).

Todos esses requisitos apresentados não podem ser satisfeitos por um único material. Por isso são utilizadas embalagens plásticas de múltiplas camadas. A estrutura mais comumente utilizada é composta por Poliamida (PA) e Polietileno de baixa densidade (PEBD). Nessa estrutura a Poliamida atua como barreira ao oxigênio, ao mesmo tempo em que confere ao material resistência mecânica e boas características de termoformação. O PEBD é a barreira ao vapor d' água e a camada termosselante (SARANTÓPOULOS, OLIVEIRA, 2004).

Muitas outras combinações são disponíveis comercialmente. Os filmes encolhíveis são compostos normalmente por Etileno Acetato de Vinila com Cloreto de Vinila (EVA-PVDC)-ionómeros, EVA-PVDC-EVA ou PP-PVDC-EVA. Os filmes não encolhíveis tem a poliamida como base, a exemplo de PA-PEBD, PA-EVA-PA-ionómero, PA-ionómero, PEBD-PA-EVA, etc. Nestes casos, a taxa de permeabilidade ao oxigênio da estrutura não deve ser maior do que $30 \text{ cm}^3 \text{ O}_2\text{-m}^2\text{-dia-atm}$ a 23°C , a fim de se manter a estabilidade da cor (INBRAGEL, 2003). Estudos demonstraram que a vida de prateleira de carne a vácuo, considerada em termos de descoloração e odores putrefativos, é inversamente proporcional à permeabilidade da embalagem, ou seja, quando se utilizam embalagens com maior permeabilidade tem-se produto de vida de prateleira mais curto. O *Council of Australian Food Technology Associations* recomenda que as estruturas com uma camada de poliamida com menos de $25 \mu\text{m}$ de espessura sejam consideradas inadequadas para embalagem a vácuo de carne destinada à exportação (SARANTÓPOULOS, OLIVEIRA, 2004).

A utilização do Ionómero como camada termosselante as estruturas de multicamadas permite uma redução na percentagem de vazamento (*Leakage*), ficando na faixa de 1 a 1,5 %, pois essa resina permite que se obtenha boa selagem numa ampla faixa de temperatura, mesmo na presença de contaminantes (gordura e líquido) na região de fechamento da embalagem. Também permite a selagem secundária, o que representa maior segurança quanto a problemas de microfuros no material (SARANTÓPOULOS, OLIVEIRA, 2004).

1.7. EMBALAGENS PARA PRODUTOS CÁRNEOS RESFRIADOS

A qualidade de um alimento resfriado dependerá ainda da embalagem utilizada. Mesmo sob estocagem resfriada, os produtos sofrem um processo constante de perda gradativa de qualidade, principalmente em função de oxidação e alterações enzimáticas e físicas, com a utilização de uma embalagem adequada é possível evitar ou ao mesmo retardar consideravelmente algumas dessas alterações indesejáveis (CETEA, 2001).

Vários são os materiais de embalagens disponíveis no mercado, para o acondicionamento dos produtos resfriados, sendo que sua escolha depende principalmente de desempenho do material a baixas temperaturas, tipo de produto, vida de prateleira desejada e custo (GARCÍA-ESTEBAN, 2004).

Os principais requisitos de proteção de carnes, produtos cárneos resfriados, durante sua estocagem e comercialização, estão relacionados com alterações químicas e físicas, para manter esses produtos em perfeitas condições de comercialização, a embalagem deve evitar que ocorram as principais alterações, que serão discutidas a seguir (CETEA, 2001).

Variações de temperatura durante a estocagem e distribuição de alimentos resfriados causam a sublimação da água na superfície do produto e consequentemente, vapor de água dentro da embalagem. Este vapor de água pode permear através do material de embalagem ou escapar através de um fechamento não hermético, prejudicando a sua venda. Os produtos resfriados, principalmente os produtos com alto teor de gordura, como os pescados gordos e a carne de porco, são susceptíveis a oxidação de lipídeos devido à presença de oxigênio. O mecanismo de oxidação de lipídeos é complexo e resulta no aparecimento de sabor e odor de ranço no produto, alterando a sua qualidade organoléptica. Outra reação oxidativa é a oxidação de pigmentos, que causam alteração de cor. Essas reações de oxidação são aceleradas pela incidência de luz ultravioleta, durante a estocagem e transporte podem ocorrer danos mecânicos nos alimentos resfriados devido à compressão, principalmente das camadas inferiores de produtos durante o empilhamento e por manuseio inadequado. A alteração do sabor e odor característicos do produto pode ocorrer devido a absorção, pelo alimento, de odores estranhos do ambiente de estocagem ou pela migração de componentes do material da embalagem, bem como em alimentos pré cozidos, a evaporação do conteúdo de voláteis pode causar a perda do aroma característico (CETEA, 2001).

1.8. CARACTERÍSTICAS DOS PRINCIPAIS TIPOS DE EMBALAGENS

Embalagens adequadas para carnes, produtos cárneos e pescados resfriados devem apresentar características tais como: baixa permeabilidade ao vapor de água,

ao oxigênio e a vapores orgânicos; bom desempenho físico-mecânico a baixas temperaturas, principalmente resistência a rasgamento e perfuração; ser flexível para reduzir o espaço livre dentro da embalagem e permitir a expansão do volume que ocorre durante o processo de resfriamento; ser barreira a gorduras; ser opaca a luz; ser livre de odores estranhos; apresentar baixo custo; atualmente, devido à importância no impulso de compra nos supermercados, a embalagem, além de proteger, também tem a função de vender. A embalagem deve ser atrativa e informativa, fácil de abrir e quando o conteúdo é parcialmente usado, fácil de fechar (SARANTÓPOULOS, OLIVEIRA, 2004).

Os diferentes materiais de embalagem atualmente utilizados para produtos resfriados têm uma influencia pequena no tempo de resfriamento. Muito mais crítica é a presença de ar no interior das embalagens, bem como as suas dimensões. A presença de “bolsa de ar”, além de dificultar o resfriamento ou congelamento do produto embalado, colabora para a queima pelo frio, especialmente perto das dobras e cantos, onde a taxa de sublimação é maior (CETEA, 2001).

Os requisitos a serem preenchidos na escolha da embalagem dependem principalmente, do tipo de alimento a ser acondicionado e da vida de prateleira desejada. Como para a maioria dos produtos alimentícios, há essencialmente duas classes de embalagens utilizadas para alimentos resfriados: embalagem primária e embalagem de transporte. Embalagem primária é aquela que está em contato direto com o alimento congelado, existindo vários tipos que diferem na capacidade, construção e propriedades funcionais. As embalagens de transporte são destinadas a conter várias unidades das embalagens primárias, para o transporte e distribuição. Para uso institucional, muitas vezes, o produto é colocado diretamente na embalagem de transporte, envolto apenas em um filme de PEBD. A caixa de papelão ondulado é a forma mais utilizada como embalagem de transporte de alimentos cárneos resfriados (CETEA, 2001).

1.9. EMBALAGENS PRIMÁRIAS

Os principais tipos de embalagem primária utilizada para carnes, produtos cárneos resfriados são as embalagens plásticas (INBRAGEL, 2003).

1.9.1. Embalagens Plásticas Flexíveis

A embalagem flexível mais utilizada no acondicionamento de carnes, produtos cárneos resfriados é o filme de Polietileno. O PEBD apresenta baixo custo, boa resistência quanto a rasgamento e perfurações, flexibilidade a baixas temperaturas, tem baixa permeabilidade ao vapor de água. Por ser termosselante, o PEBD também é freqüentemente usado como revestimento ou como substrato interno de estruturas laminadas ou coextrusadas (CETEA, 2001).

Os frangos, perus, cortes de frango e de suínos também são geralmente embalados em PEBD (25 a 60 μm), na maioria das vezes, pigmentado. A pigmentação oferece certa barreira à luz e melhora a apresentação visual, porque possibilita melhor impressão e não permite a visualização do produto que por si só não tem boa aparência. Os cortes de frango para exportação também são acondicionados em estruturas multicamadas contendo PA e PEBD (CETEA, 2001).

Algumas perfurações podem ocorrer devido ao manuseio, principalmente nas pontas e bordas de alimentos congelados. Com a utilização de novos tipos de polietileno como PBDL ou a substituição por estruturas de multicamadas contendo EVA, PET, PA é possível obter melhor resistência à perfuração e boa estabilidade a baixas temperaturas (CETEA, 2001).

Quando se utilizam estruturas multicamadas contendo PVDC, diminui-se a permeabilidade ao vapor de água e ao oxigênio, quando comparada à apresentada pelo PEBD. Outra maneira de aumentar a barreira ao vapor de água é a utilização de PEAD (CETEA, 2001).

O uso de embalagens barreira ao vapor de água reduz a perda da umidade do produto permeante pela embalagem. Entretanto, a melhor solução para reter a água no produto é o uso de sistemas de embalagens com o acondicionamento a vácuo ou utilização de embalagens encolhíveis, que reduzem ou eliminam o espaço livre dentro da embalagem (FERNANDEZ, 2006). O PEBD, devido a sua flexibilidade pode ajustar-se bem à superfície do produto, mas esta propriedade pode ser melhorada utilizando estruturas de multicamadas com um ionômero internamente ou estruturas termoencolhíveis a base de EVA, PVC, PVDC.

Quando se deseja conferir a embalagem uma melhor barreira à gordura e uma maior rigidez é comum utilização de PEAD. Este material também tem sido utilizado

quando o produto vai passar por cozimento dentro da embalagem (*boil-in-bag*), devido à boa estabilidade térmica até temperaturas próximas de 110°C (CETEA, 2001).

Para se aumentar a vida de prateleira de produtos com alto teor de gordura é preciso conferir barreira a gases à embalagem através da utilização nas estruturas multicamadas de materiais como PA, PET, EVOH ou PVDC. Outras estruturas com razoável barreira podem ser obtidas com a laminação com substratos metalizados, mais freqüentemente o PET e o PPBO (CETEA, 2001).

A utilização de substratos metalizados também confere a embalagem flexível barreira à luz. Outros recursos como a adição de aditivos absorventes de UV e a pigmentação do material da embalagem também podem ser empregados para reduzir a incidência de luz sobre o produto (CETEA, 2001).

É importante salientar que as baixas temperaturas utilizadas na estocagem de produtos resfriados fazem com que haja uma redução na permeabilidade a gases dos materiais (FERNANDEZ, et al, 2005).

1.9.2. Polietileno

Atualmente, o polietileno (PE) é o termoplástico mais produzido em todo o mundo. Nos Estados Unidos, o polietileno corresponde a aproximadamente 23% dos *commodities* fabricados.

Em geral, o polietileno tem um grau de polimerização na faixa de 500 a 1000°C. As propriedades do PE são afetadas significativamente pela sua estrutura química, sendo classificado de acordo com sua densidade. Os dois polietilenos fabricados em maior escala são o de alta densidade (AD) e de baixa densidade (BD), que também se distinguem pelo seu processo de produção.

O polietileno de baixa densidade – LDPE (PEBD), também chamado de polietileno ramificado ou de alta pressão, é produzido por uma polimerização radicalar sob pressão a altas temperaturas, utilizando peróxidos como iniciadores. Suas principais aplicações incluem filmes e laminados, recipientes para uso doméstico, embalagens, produtos farmacêuticos, químicos e alimentícios, brinquedos e isolamento de fios elétricos (PARK, 2009).

Já o polietileno de alta densidade – HDPE (PEAD), também conhecido como polietileno linear (baixa pressão), é um polímero rígido, resistente a tração, com moderada resistência ao impacto; obtido por polimerização por condensação a baixa pressão, utilizando-se catalisadores, se transformam em recipientes para empacotamento de leite, sucos de fruta, água, produtos líquidos industriais e alimentos, garrafas e grandes recipientes industriais, materiais hospitalares, brinquedos, tubos para distribuição de água e gás, tanques de combustível e lacres para embalagens (PARK, 2009).

O HDPE exibe cristalinidade superior a 90 % enquanto para o LDPE é inferior a 50 %, ao se aumentar o grau de cristalinidade, ou seja, ao se reduzir o número de ramificações, a densidade de PE cresce, bem como sua resistência térmica, química e ao rasgamento e a opacidade e dureza (PARK, 2009).

Outro tipo de PE fabricado é o polietileno de ultra-alto peso molecular – UHMWPE (PEUAPM) ou polietileno de altíssimo peso molecular. Da mesma forma que o HDPE, é produzido através da polimerização por condensação com catalisadores Ziegler – Natta, este polímero possui como principais propriedades ser quimicamente inerte, ter alta resistência ao impacto e a abrasão, baixo coeficiente de atrito e maciez. Entretanto, é processado com dificuldade (PARK, 2009).

Utilizado na confecção de canos, engrenagens, componentes de bombas para líquidos corrosivos, implantes de ossos artificiais, isolamento de fios e cabos, filmes, mancais, revestimento de pistas e pisos para esporte etc. (PARK, 2009).

Nos últimos anos foi criado e desenvolvido o polietileno linear de baixa densidade (LLDPE) que, apesar de ter estrutura linear, contém um número significativo de ramificações. O LLDPE tem substituído o LDPE em algumas aplicações, pois combina as propriedades características deste polímero a um menor custo, além de ser processado pelos mesmos métodos. O LLDPE é flexível e resistente ao impacto, sendo usado em: embalagens de alimentos, confecções de bolsas de gelo, utensílios domésticos, canos e tubos (GARCÍA-ESTEBAN, 2004).

1.10. CONSIDERAÇÕES FINAIS SOBRE A ESTABILIDADE DE LINGUIÇA FRESCAL

A conservação é baseada primeiramente em retardar ou prevenir a proliferação microbiana. O principal aspecto envolvido na conservação é o uso da tecnologia atuando sob fatores intrínsecos, processamento e fatores extrínsecos dos alimentos. Com esse intuito, ainda são utilizadas as tecnologias muito drásticas que afetam negativamente as características sensoriais, como a esterilização comercial. As técnicas mais recentes visam atender a busca do consumidor por produtos mais naturais como é o caso da embalagem com atmosfera modificada; uso de culturas protetoras; uso de bacteriocinas; enzimas, etc. Por outro lado, surgem técnicas que buscam a inativação dos micro-organismos como é o caso da irradiação; aplicação de alta pressão hidrostática; descarga elétrica de alta voltagem; ultrassom combinado com redução da temperatura e leve aumento da pressão; adição de enzimas bacteriostáticas e aditivos (GOULD, 2006).

Para carnes e produtos cárneos, a manutenção da qualidade pode ser obtida por longos períodos, em embalagens onde se exclui a contaminação, retarda-se ou elimina-se a deterioração microbiológica, mantém-se uma coloração desejável, retarda-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 (SARANTÓPOULOS, OLIVEIRA, 2004).

As linguças frescas são muito instáveis, pois a gordura suína pode se rancificar facilmente quando a refrigeração não é utilizada de modo adequado durante o processamento e comercialização. Mesmo a 5°C, o desenvolvimento da rancidez e de microrganismos limita a vida útil para 30 dias, no máximo, ainda que todos os requisitos de higiene sejam obedecidos durante o processamento e comercialização.

A adição de micro-organismos desejáveis em carnes pode ter quatro diferentes propósitos: promover a segurança pela inativação dos patógenos, elevar a estabilidade inibindo alterações indesejáveis por micro-organismos deterioradores, aumentar a diversidade modificando a matéria prima para obter novas características sensoriais, e para promover benefícios à saúde através de efeitos positivos na flora intestinal (LÜCKE, 2000).

Os conservadores químicos como o sorbato de potássio e o benzoato de sódio, têm sido usados para aumentar a vida útil de carnes processadas em alguns países da Ásia, incluindo a Coréia do Sul. Entretanto, o uso desses conservadores pode desencadear alergias ou outros efeitos em consumidores que ingerirem grandes quantidades desses alimentos. Atualmente os consumidores dão preferência a alimentos mais saudáveis com baixos teores de gordura, sódio e que tenham propriedades funcionais (CHOI, CHIN, 2003).

A aplicação de agentes convenientes contendo atividades antioxidantes e antimicrobiana podem ser úteis para manutenção da qualidade da carne, aumento da vida útil e prevenção de perdas econômicas como é o caso do alho, que é um aditivo natural e vêm atender a busca do consumidor por alimentos mais naturais (SALLAM; ISHIOROSHI; SAMEJIMA, 2004).

A elevada atividade de água da carne fresca (0,97 a 0,99), mantida sob condições atmosféricas, a torna um meio ideal para um rápido desenvolvimento microbiológico e de processos químicos e físicos que levam à deterioração. Essa deterioração pode ser detectada por um aumento da microflora, descoloração, rancificação e desidratação do produto. O manuseio em boas condições sanitárias, estocagem em baixa temperatura e embalagem apropriada ao redor do produto, são elementos chaves no aumento da vida útil (LÜCKE, 2000).

Atualmente os estabelecimentos que comercializam a linguiça toscana, o fazem de forma resfriada (+5°C a +10°C), trazendo assim facilidade para o consumidor. Porém sabe-se que este procedimento diminui em muito a *vida útil* dos produtos. Em função de informações da literatura, foi ressaltado os aspectos de linguiças congeladas, sendo o foco deste estudo, a visão real empresarial na linguiça resfriada, armazenada em diferentes estruturas de embalagens (Polietileno, Nylon e EVOH), onde o produto é comercializado principalmente com a embalagem de Nylon e/ou não, em primeira mão por suas características de aparência, cor, odor e/ou sabor saudável e/ou rancificado.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Neste item estão descritas as metodologias da fase experimental e as sínteses dos experimentos realizados, referentes ao acompanhamento da estabilidade oxidativa, microbiológica e sensorial de amostras de Linguíça Toscana, nas quais foram acondicionadas em embalagens de PEBD, Nylon Poli e EVOH com vácuo, armazenados sob refrigeração (8°C).

A Figura 3 apresenta o delineamento experimental, realizado no âmbito desta tese.

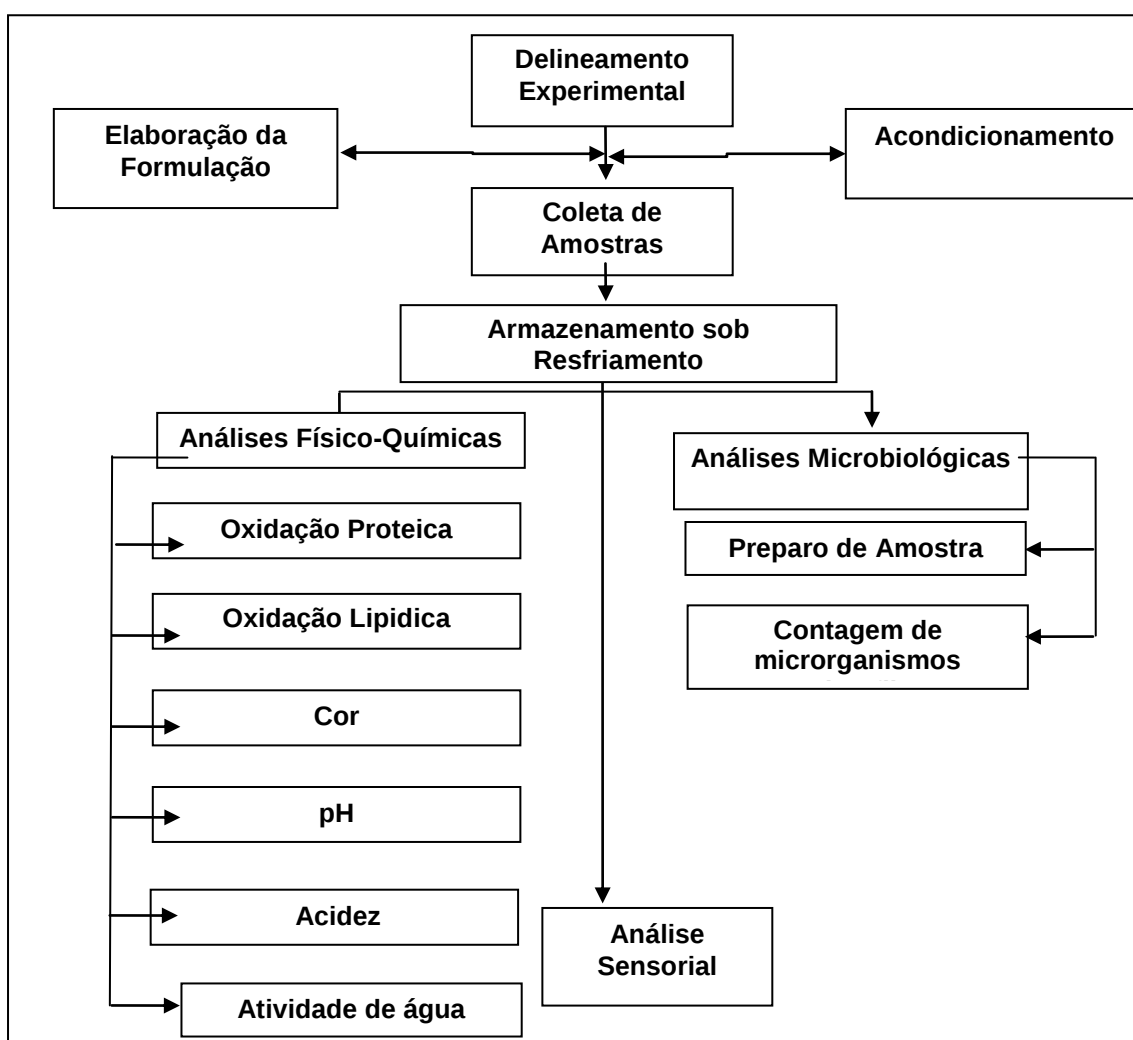


Figura 3: Fluxograma das atividades experimentais.

2.1. INFLUÊNCIA DAS CONDIÇÕES DE EMBALAGEM NA QUALIDADE GLOBAL DE LINGUIÇA TOSCANA, ARMAZENADA SOB RESFRIAMENTO

Essa etapa consistiu em avaliar as amostras de linguiça Toscana comumente comercializada, inspecionada e classificada de acordo com a Instrução Normativa nº4 (BRASIL, 2000), que foram embaladas e armazenadas durante 35 dias em condições de resfriamento a 8°C.

2.1.1. Preparo das Amostras

O produto foi preparado 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. Cada embalagem continha 500g e foi utilizado um total de 100 embalagens de cada item de embalagem. Foram realizados seis conjuntos de análises em triplicata, com as três embalagens de diferentes estruturas. As mesmas foram avaliadas com a presença de vácuo, e foram resfriadas e armazenadas a 8°C.

As embalagens selecionadas foram:

- A. PEBD com vácuo com permeabilidade de $500\text{cm}^3\text{O}_2/\text{m}^2.\text{dia.atm}$ 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. EVOH com vácuo com permeabilidade de $5\text{cm}^3\text{O}_2/\text{m}^2.\text{dia.atm}$ a 23°C,

As embalagens com vácuo foram seladas em máquina Selovac (Marca) com pressão de 5mbar e tempo de 1,36s;

Anteriormente às análises físico-químicas e microbiológica, foram realizadas o procedimento de embalagens com álcool 70%, que foram abertas com auxílio de faca previamente higienizada, imersa em álcool 70% e flambada em chama de bico de Bunsen.

Para a determinação microbiológica (Contagem Total de Micro-organismos Psicrófilos), alíquotas de 25 g da amostra, foram retiradas aleatoriamente, em gomos de linguiça Toscana frescal, e transferidas para saco plástico estéril de *stomacher*,

adicionadas de 225 mL de água peptonada 0,1 % estéril e homogeneizadas em homogeneizador de pistão (Stomacher 400) por 2 minutos. Diluições seriadas subsequentes foram também preparadas com água peptonada 0,1 % estéril. No primeiro dia do experimento, a diluição foi feita até 10^{-4} , sendo aumentada nos demais dias de análise na medida em que se tornava necessário.

Para a determinação sensorial, o produto resfriado foi retirado da embalagem e assado a 90°C durante 40 minutos em churrasqueira elétrica (Fischer), tendendo manter o mesmo padrão de cozimento.

2.2. DETERMINAÇÕES FÍSICO-QUÍMICAS, MICROBIOLÓGICAS E SENSORIAIS

As determinações físico-químicas de acompanhamentos da estabilidade lipídica, TBARS (Substâncias Reativas ao Ácido Tiobarbitúrico, IP – Índice de Peróxidos, acidez – ácido oléico, composição de ácidos graxos: oleico, esteárico, palmílico, linolêico e linolênico e hexanal), e protéica (sulfidrilas e carbonil), bem como as características físicas (cor, acidez, pH e aw), microbiológicas (micro-organismos psicrófilos) foram avaliadas a cada período de 7 dias, totalizando seis avaliações. As avaliações sensoriais (0 - Nenhum ranço; 2 - Ligeiramente ranço; 4 - Moderadamente ranço, 6 - Muito ranço, 8 - Extremamente ranço), com degustadores treinados pela própria empresa, a cada período de 7 dias com cinco avaliações.

O acompanhamento da oxidação lipídica, relacionando o índice de peróxidos, composição de ácidos graxos e teor de hexanal; bem como a oxidação protéica, em relação aos grupos sulfidrilas foram realizadas na segunda etapa deste trabalho.

2.2.1. Determinação da Oxidação Lipídica

2.2.1.1. TBARS - Substâncias Reativas ao Ácido Tiobarbitúrico

As substâncias reativas ao ácido 2 tiobarbitúrico (TBARS) foram analisadas 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 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 minutos. Posteriormente, adicionar 18 mL de TCA 5% e homogeneizou-se. Em uma alíquota de 2 mL do filtrado, adicionou-se 2 mL de TBA 0,08M e a reação foi conduzida em banho-maria (40°C) por 1h e 20 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 dietilacetil -TEP (10^{-8} a $10 \cdot 10^{-8}$ mol/mL). Os resultados foram expressos em miligramas de malonaldeído por quilograma de amostra.

2.2.1.2. Índice de Peróxido

O índice de peróxido foi realizado segundo metodologia descrita pelo IAL (2005). Inicialmente, foi extraída a gordura da amostra pelo método de extração com mistura de solventes a frio. O índice de peróxido da gordura foi determinado dissolvendo-se um peso de gordura em uma solução de ácido acético cloroformio, adicionando se iodeto de potássio e titulando se o iodo liberado (o I é oxidado a I_2 pelo peróxido da amostra) com solução padrão de tiosulfato de sódio, usando amido como indicador. O resultado foi expresso em equivalente de peróxido por 100 g de amostra.

2.2.1.3. Determinação de 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.

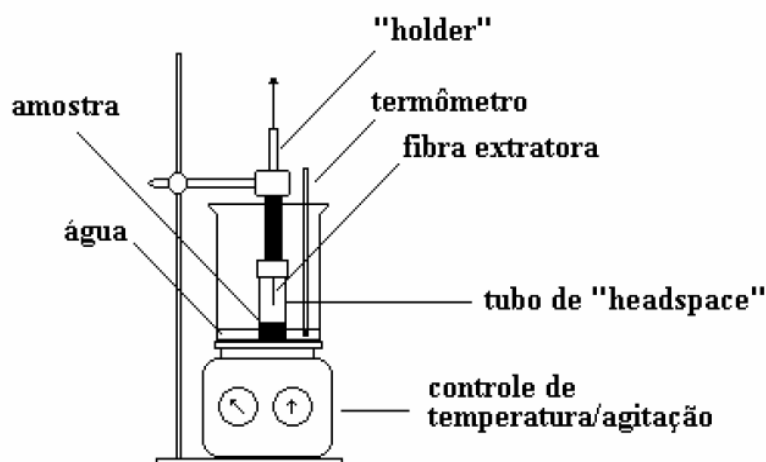


Figura 4: **Esquema ilustrativo do processo de microextração em fase sólida - SPME- HS (VALDUGA, 2005).**

Para ensaios de microextração em fase sólida - método *Headspace*, foi utilizado uma fibra Carboxen/PDMS 85 μm (Supelco), frascos de vidro de 10 mL, vedados e septados de borracha faceados com Teflon. Cerca de 5g de amostra de linguiça Toscana e 4ml de água mili, foram adicionadas aos frascos e este colocado em banho-maria a 65°C, na superfície de um agitador magnético por 30 minutos. Após 10 minutos a fibra foi exposta e permaneceu 20 minutos nestas condições. Posteriormente foi recolhido para dentro de uma seringa e exposta no interior do injetor de um cromatografo a gás (GC Shimadzu 2010).a coluna cromatográfica utilizada foi uma Rtx-Wax de dimensões: 30m de comprimento, 0,25 μm de espessura. No injetor de detector (FID), as temperaturas foram mantidas 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.

2.2.1.4. Perfil de Ácidos Graxos

A extração dos lipídios da amostra foi feita segundo a metodologia de BLIGH, DYER (1959). Para a análise dos ácidos graxos, uma alíquota do extrato lipídico, contendo aproximadamente 200 mg de lipídios, foi seca em evaporador rotatório e transmitilada de acordo com o método de 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, acoplado a um espectrômetro de massas (GC/MSD, Shimadzu GC17A, QP 5050A). As condições cromatográficas foram inicialmente predefinidas; gás de arraste: hidrogênio numa vazão de 1mL/min; gás: nitrogênio a 30 mL/min. A identificação dos ácidos graxos foi realizada através da comparação do tempo de retenção dos ácidos graxos das amostras com padrões internos conhecidos (oléico, palmítico, esteárico, linoleico e linolênico).

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 (PARDI, 2001).

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, 2001). 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 (PARDI, 2001).

2.2.2. Determinação da Oxidação Proteica

2.2.2.1. Oxidação Protéica – Grupo Carbonil

Para avaliar a extensão da oxidação das proteínas, realizou-se a determinação do grupo carbonil, conforme metodologia descrita por LEVINE et al. (1990) com adaptações. 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 Bradford (BRADFORD, 1976), por espectrofotometria (UV- visível, Agilent 8453E) a 280 nm, usando uma curva padrão com albumina bovina (0,260 mg/mL a 2,360 mg/mL) em guanidina 6 M. Os resultados foram expressos em nmol carbonil por mg de proteína.

2.2.2.2. Oxidação Proteica – Grupos Sulfidrilícos

A determinação de grupos sulfidrilícos (concentração de tiol) foi realizada de acordo com metodologia descrita por SOVER et al. (2010) com algumas modificações.

Os grupos sulfidrilícos são determinados pela reação com 5,5-ditiobis (ácido 2-nitrobenzóico) (DTNB). Uma grama de amostra foi homogeneizada com 50 mL de água destilada. A concentração de proteínas do homogeneizado foi diluído a 2 mg/mL, com tampão fosfato 0,1 M (pH 7,4) e o teor de proteína determinado através do método Biureto, onde 0,5 mL do homogeneizado foi transferido para um tubo e dissolvido em tampão uréia (1:1). Após adicionar a 0,5 mL de DTNB e incubar à temperatura ambiente por 15 min. A leitura foi realizada por espectrofotômetro (UV- visível, Agilent 8453E) a 412 nm. O conteúdo sulfidrilícos 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 foram expressos como nmol do total de grupos sulfidrilícos livre por mg de proteína.

2.2.3. Determinação Objetiva de Cor

A cor objetiva foi determinada em colorímetro CR-400 Minolta Chromameter (Minolta Cia Ltda.), no espaço CIE $L^*a^*b^*$, onde L^* = luminosidade, a^* = intensidade da cor vermelha e b^* = intensidade da cor amarela (STEWART; ZIPSER; WATTS, 1965).

2.2.4. Determinação de pH

A determinação do pH, foi realizada segundo metodologia descrita por SCHOENI; BRUNNER; DOYLE (1991). Para essa determinação, 10 g de amostras foram retiradas de porções de aproximadamente 3 gomos de linguiça, retiradas de suas embalagens aleatoriamente, acrescidas de 20 mL de água deionizada e homogeneizadas em homogeneizador de pistão por 1 minuto. O valor de pH foi determinado em potenciômetro digital, previamente calibrado a pH 4 e 7.

2.2.5. Determinação de Acidez

A determinação da acidez total foi realizada segundo metodologia descrita por TERRA & BRUM (2002). Inicialmente, 10 gramas de amostra foram diluídas em 200 mL de água destilada, triturados durante 1 minuto, transferidos para um balão volumétrico de 250 mL, onde o volume foi completado e a solução filtrada. Foi transferido 25 mL do filtrado para um erlenmeyer e adicionado de 75 mL de água destilada juntamente com 3 gotas de solução alcoólica de fenolftaleína a 1 % e a seguir realizada a titulação com solução de NaOH 0,1N, até o ponto de viragem (surgimento da coloração rósea e/ou pH = 8,2). A acidez total foi expressa em g de ácido oléico por 100 g de amostra.

2.2.6. Determinação de Atividade de Água (a_w)

A atividade de água (a_w) foi determinada pelo procedimento do Aqualad CX-2 Water Activity – System, efetuando-se a calibração do aparelho com água

deionizada e solução de NaCl com 0,819 de aw até sua estabilização, e em seguida feita à leitura da aw por T°C da amostra.

2.2.7. Contagem Total de Micro-organismos Psicrófilos

A Contagem Total de Micro-organismos Psicrófilos foi realizada utilizando a técnica de inoculação de 1 mL de cada diluição pelo método de plaqueamento em superfície com meio ágar padrão para contagem (PCA), com incubação das placas secas, invertidas, a 7°C por 10 dias, conforme recomendado por SWANSON et al., 2002.

2.2.8. Avaliação Sensorial

A análise sensorial foi realizada em escala laboratorial, com 10 provadores treinados de ambos os sexos, de diferentes faixas etárias (20 a 50 anos). As amostras de Linguíça Toscana assadas (~2 cm de arestas) foram distribuídas em recipientes plásticos codificados com números aleatórios de 3 dígitos (exemplo: A – 862; B – 223; C – 756.), juntamente com a ficha de avaliação. O experimento sensorial foi conduzido segundo um delineamento casualizado com amostra referência em cada bloco (Meilgaard et. al., 1991), com 10 provadores em 1 sessão de avaliação sensorial, onde cada provador experimentou 3 amostras e expressando quando a amostra referência diferenciou da amostra tratamento, em uma escala mista de 9 pontos (0 - Nenhum ranço; 2 - Ligeiramente ranço; 4- Moderadamente ranço; 6 - Muito ranço, 8 - Extremamente ranço).

2.3. ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os resultados foram submetidos à análise de variância seguida de teste de Tukey para comparação entre as médias dos resultados ao nível de significância de 5% ($p < 0,05$), utilizando o Software STATISTICA versão 6.1 (StatSoft Inc®, USA).

Na análise sensorial, o tratamento estatístico diferiu em relação à análise de variância, que foi do tipo casualizado com 3 amostras e 10 provadores. Neste caso,

as causas de variação foram determinadas em termos de provadores, sessões dentro de provadores, tratamentos (ajustados) e resíduos.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Neste item estão apresentados os resultados obtidos, constando da avaliação físico-química (pH, acidez, atividade de água, cor, oxidação de lipídios – TBARS/índice de peróxido/hexanal/ácidos graxos e de proteínas – grupo carbonil/sulfidrilas), microbiológica (Psicrófilos) e sensorial da linguiça Toscana fresca acondicionada em diferentes embalagens (PEBD, Nylon Poli e EVOH) sob refrigeração (8°C) no decorrer dos 35 dias de armazenamento.

3.1. Características físico-químicas

A evolução do pH e da acidez (g ac. oléico/100g) das amostras de linguiça Toscana acondicionadas nas diferentes estruturas de embalagens (A - PEBD, B - Nylon Poli e C - EVOH) estão apresentados nas Tabela 5 e Tabela 6 e nas **Erro! Fonte de referência não encontrada.** e 6 respectivamente:

Tabela 5: Valores de pH da linguiça Toscana acondicionadas em diferentes estruturas de embalagem e armazenadas sob refrigeração (8°C), no decorrer dos dias de armazenamento.

<i>Embalagens**</i>	<i>pH*</i>					
	<i>0 dia</i>	<i>7ºdia</i>	<i>14ºdia</i>	<i>21ºdia</i>	<i>28ºdia</i>	<i>35ºdia</i>
PEBD	6,12 ^{Aa} (±0,03)	5,99 ^{Ab} (±0,02)	5,42 ^{Ac} (±0,03)	5,38 ^{Ac} (±0,03)	5,27 ^{Ad} (±0,04)	5,24 ^{Ad} (±0,04)
NYLON POLI	6,10 ^{Aa} (±0,10)	6,04 ^{Aa} (±0,02)	5,51 ^{Ab} (±0,03)	5,43 ^{Abc} (±0,10)	5,31 ^{AcD} (±0,04)	5,28 ^{Ad} (±0,03)
EVOH	6,15 ^{Aa} (±0,01)	6,02 ^{Ab} (±0,02)	5,41 ^{Ac} (±0,10)	5,30 ^{Ad} (±0,05)	5,26 ^{Ad} (±0,03)	5,23 ^{Ad} (±0,03)

* Médias ± (desvio padrão) seguidas de letras minúsculas/ maiúsculas iguais nas linhas/colunas não diferem estatisticamente á nível de 5% (Teste de Tukey); ** vácuo (5mb/1,36s).

Tabela 6: Valores de acidez da linguiça Toscana frescal acondicionadas em diferentes estruturas de embalagem e armazenadas sob refrigeração (8°C), no decorrer dos dias de armazenamento.

Embalagens**	Acidez (g ac. oleico/100g)					
	0 dia	7ºdia	14ºdia	21ºdia	28ºdia	35ºdia
PEBD	0,135 ^{Aa} (±0,010)	0,146 ^{Aa} (±0,013)	0,146 ^{Aa} (±0,014)	0,143 ^{Aa} (±0,018)	0,144 ^{Ba} (±0,009)	0,161 ^{Ba} (±0,007)
NYLON POLI	0,131 ^{Ab} (±0,008)	0,138 ^{Aab} (±0,008)	0,150 ^{Aab} (±0,007)	0,136 ^{Aab} (±0,038)	0,174 ^{ABab} (±0,021)	0,185 ^{Aa} (±0,007)
EVOH	0,139 ^{Ac} (±0,003)	0,140 ^{Abc} (±0,017)	0,164 ^{Aab} (±0,004)	0,156 ^{Abc} (±0,004)	0,185 ^{Aa} (±0,009)	0,186 ^{Aa} (±0,008)

* Médias ± (desvio padrão) seguidas de letras minúsculas/maiúsculas iguais nas linhas/colunas não diferem estatisticamente á nível de 5% (Teste de Tukey); ** vácuo (5mb/1,36s).

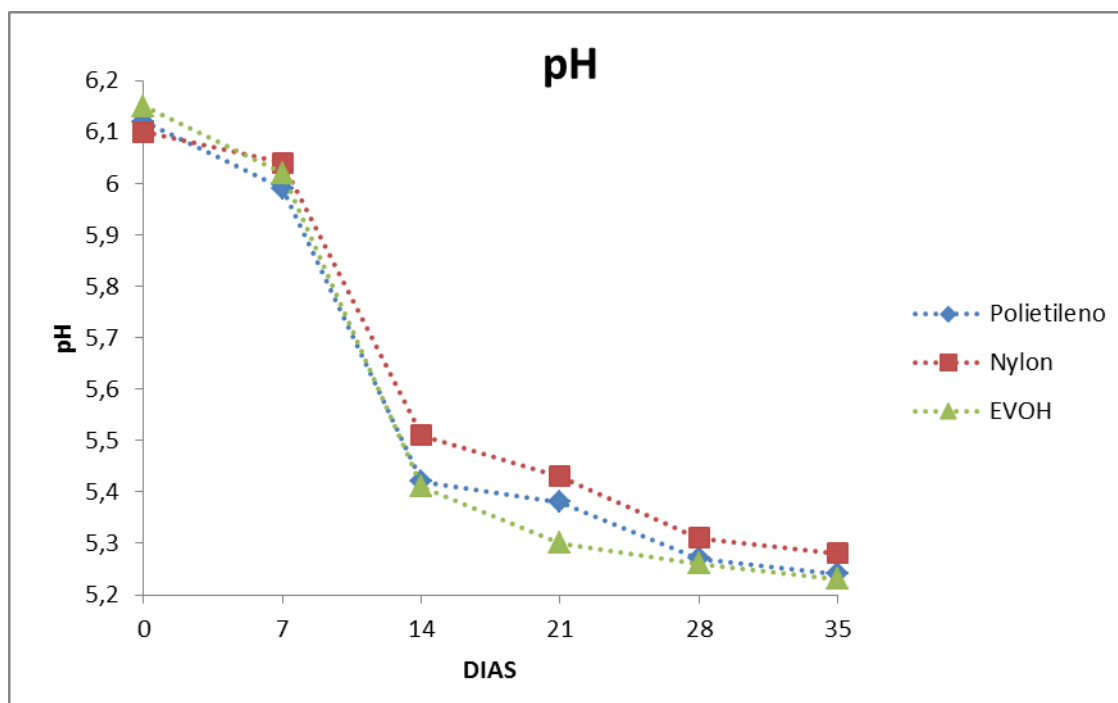


Figura 5: Acompanhamento do pH da linguiça Toscana frescal, armazenada em diferentes estruturas de embalagem (▲ – EVOH, ■ – Nylon, ◆ - PEBD) armazenadas sob refrigeração (8°C) durante 35 dias.

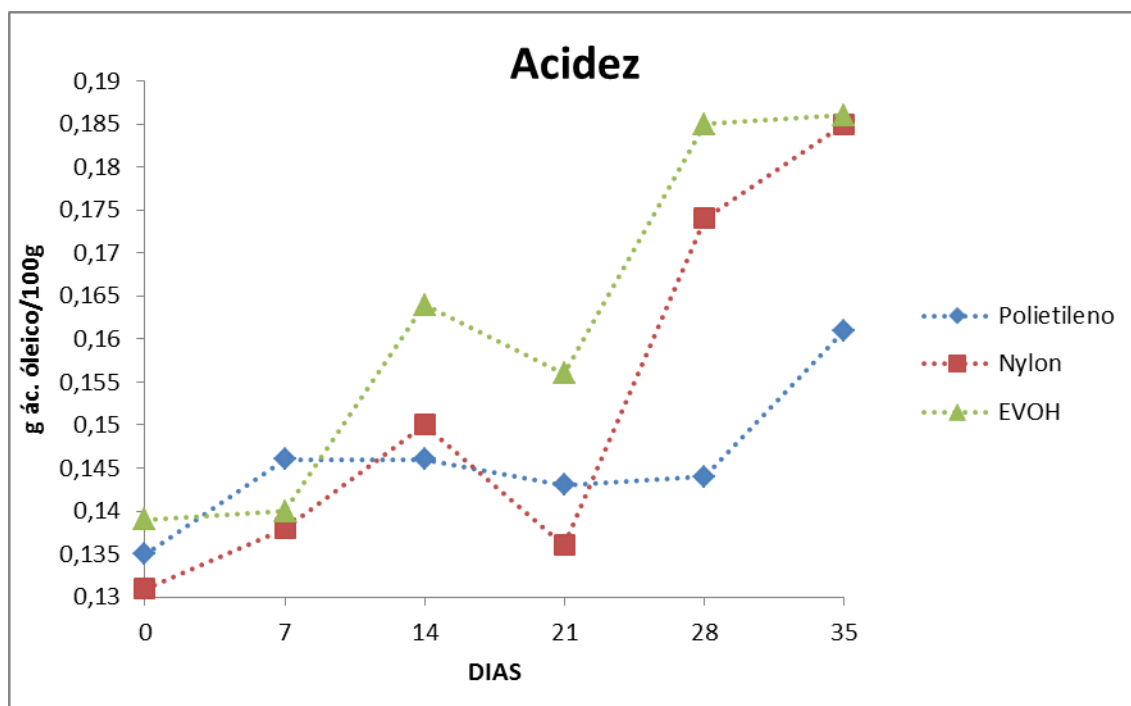


Figura 6: Acompanhamento da acidez da linguiça Toscana fresca, armazenada em diferentes estruturas de embalagem (▲ – EVOH, ■ – Nylon, ♦ - PEBD) armazenadas sob refrigeração (8°C) durante 35 dias.

As alterações nos valores de pH foram significativos (6,15 – 5,23) durante os 35 dias de armazenamento a 8°C, refletindo na acidificação do produto (Tabela 5 e Figura 5). Nas diferentes estruturas estudada, verificou-se, inicialmente, um decréscimo nos valores de pH até o ultimo dia de estocagem, e um aumento da acidez.

Ressalta-se, que o maior valor de acidez (Tabela 6 e Figura 6) foi constatado na amostra da embalagem de EVOH (permeabilidade de $5 \text{ cm}^3\text{O}_2/\text{m}^2.\text{dia.atm}$) no 35º dia, cujo valor foi de 0,185 g de ácido oléico/100g. Observa-se, que entre amostras das embalagens Nylon Poli e EVOH não houve diferença significativa ($p < 0,05$), porem, diferiram em relação à embalagem de PEBD. Em relação ao pH não houve diferença significativa entre as diferentes embalagens nas mesmas condições. Uma possível hipótese para esta diferença encontra-se na temperatura de armazenamento; neste estudo utilizou-se temperatura de refrigeração (8°C), fato também relatado por BREWER et al. (1993) os quais reportaram que as alterações no pH de linguiça suína fresca, estocadas sob refrigeração a 5°C, eram mínimas durante 21 dias. ALMEIDA (2005) ao avaliar o pH de linguiça Toscana fresca, no

10º dia de armazenamento a 5°C, verificaram que os valores apresentaram-se menores nas amostras embaladas a vácuo (5,55) em comparação às amostras embaladas em filme permeáveis (5,86). Segundo HEDRICK et al., (1994), os valores médios de pH da linguiça toscana frescal no início do experimento ficaram em torno de 5,85 e no final do experimento os valores caíram para 5,68 nas amostras em embalagem original (nylon), 5,57 naquelas embaladas a vácuo e apenas as amostras em embalagem permeável ao oxigênio (Polietileno) permaneceram com pH 5,85.

Convém ressaltar que foi encontrado em outro trabalho pH inicial de 6,03 e final de 6,20, utilizando as mesmas embalagens, porém em temperatura de congelamento (-12°C), onde não foram verificadas diferenças entre as embalagens submetidas como, PEBD, NYLON e EVOH, conforme DE PAULA, R. (2008).

O pH da linguiça refrigerada, além de exercer influência direta sobre sua conservação, está diretamente relacionado à sua coloração e sabor. O pH deve ser suficientemente ácido para facilitar a produção de óxido de nitrogênio a partir do nitrito que combinado com a mioglobina produzirá a coloração rósea típica da linguiça (HAMMES; BANTLEON; MIN, 1990; COVENTRY, HICKEY, 1991). Além disso, os valores de pH da carne são muito importantes não apenas por influenciar a microbiota que pode se desenvolver no produto, como também para indicar o seu estado de conservação, a partir das considerações dos valores de referência, (HEDRICK et al.,1994).

A evolução da atividade de água (a_w) nas diferentes estruturas de embalagens está apresentada na Tabela 7 e Figura 7. Verificou-se que não houve diferença significativa ($p < 0,05$), entre as amostras linguiça Toscana frescal acondicionada em diferentes estruturas de embalagens, mantendo-se praticamente estável durante o período de estocagem a 8°C, com valores na faixa de 0,977 a 0,986.

Tabela 7: Valores de atividade de água (aw), da linguiça toscana frescal acondicionadas em diferentes estruturas de embalagem e armazenadas sob refrigeração (8°C), no decorrer dos dias de armazenamento.

Embalagens**	Atividade de Água*(aw)					
	0 dia	7ºdia	14ºdia	21ºdia	28ºdia	35ºdia
PEBD	0,986 ^{Aa} (±0,002)	0,984 ^{Aa} (±0,002)	0,983 ^{Aab} (±0,003)	0,983 ^{Aab} (±0,002)	0,979 ^{Aab} (±0,002)	0,976 ^{Ab} (±0,005)
NYLON POLI	0,986 ^{Aa} (±0,002)	0,983 ^{Aab} (±0,003)	0,983 ^{Aab} (±0,003)	0,983 ^{Aab} (±0,005)	0,980 ^{Aab} (±0,004)	0,976 ^{Ab} (±0,004)
EVOH	0,986 ^{Aa} (±0,003)	0,983 ^{Aab} (±0,002)	0,980 ^{Aab} (±0,003)	0,980 ^{Aab} (±0,003)	0,980 ^{Aab} (±0,004)	0,977 ^{Ab} (±0,001)

* Médias ± (desvio padrão) seguidas de letras minúsculas/maiúsculas iguais nas linhas/colunas não diferem estatisticamente á nível de 5% (Teste de Tukey);, ** vácuo (5mb/1,36s).

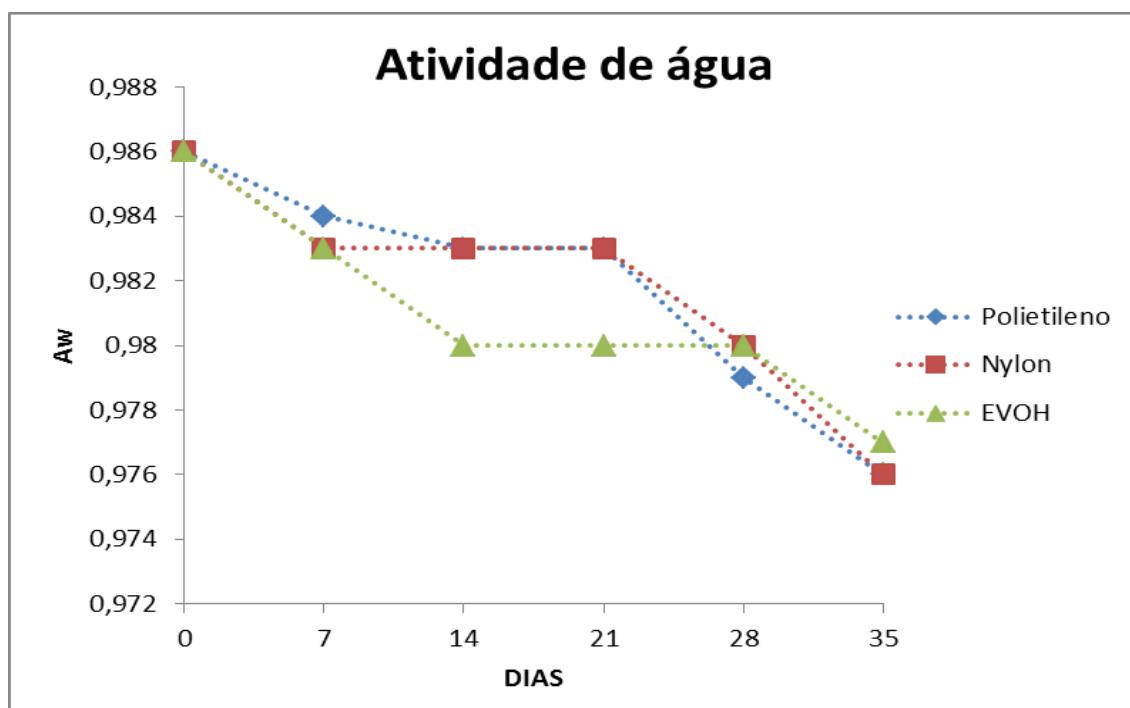


Figura 7: Valores de aw da linguiça Toscana frescal, armazenadas sob refrigeração (8°C) em diferentes estruturas de embalagem (▲ – EVOH, ■ – Nylon, ◆ - PEBD) durante 35 dias.

A atividade de água indica a quantidade de água livre contida em um alimento, a qual constitui um meio que possibilita a reprodução, transferência e contaminação microbiológica. A atividade de água mede o potencial de biodegradação dos materiais, que é o responsável pelas alterações de cor, odor, sabor, textura e *shelf-life* de um produto alimentício. O principal fator na estabilidade de um alimento não é, portanto, o seu teor de umidade, mas sim a disponibilidade de água para o crescimento microbiano e o desenvolvimento de reações químicas. Conceitualmente, o termo atividade de água tem sido utilizado por pesquisadores e cientistas da área de alimentos para quantificar esta disponibilidade de água (RODRIGUES, 1998).

As **Erro! Fonte de referência não encontrada.** e Figura 8, a Tabela 9 e Figura 9 apresentam respectivamente a evolução da oxidação dos lipídios (TBARS e Índice de Peróxidos) das amostras de linguiça Toscana, nas suas diferentes estruturas de embalagens.

Tabela 8: Valores de TBARS (mg malonaldeído/kg) da linguiça Toscana frescal sob refrigeração (8°C), em diferentes estruturas de embalagem durante 35 dias.

Embalagens**	TBARS (mg malonaldeído/kg)*					
	0 dia	7ºdia	14ºdia	21ºdia	28ºdia	35ºdia
PEBD	0,084 ^{Ae} (±0,008)	0,330 ^{Ad} (±0,068)	0,421 ^{Acđ} (±0,007)	0,534 ^{Ab} (±0,010)	0,721 ^{Aa} (±0,048)	0,481 ^{Abc} (±0,041)
NYLON POLI	0,064 ^{Ac} (±0,009)	0,229 ^{Ab} (±0,023)	0,264 ^{Bb} (±0,018)	0,332 ^{Ca} (±0,024)	0,344 ^{Ba} (±0,035)	0,366 ^{Ba} (±0,008)
EVOH	0,065 ^{Ac} (±0,009)	0,335 ^{Aab} (±0,054)	0,268 ^{Bb} (±0,044)	0,429 ^{Ba} (±0,022)	0,424 ^{Ba} (±0,042)	0,394 ^{Ba} (±0,001)

*Médias ± (desvio padrão) seguidas de letras minúsculas/maiúsculas iguais nas linhas/colunas não diferem estatisticamente á nível de 5% (Teste de Tukey); ** vácuo (5mb/1,36s).

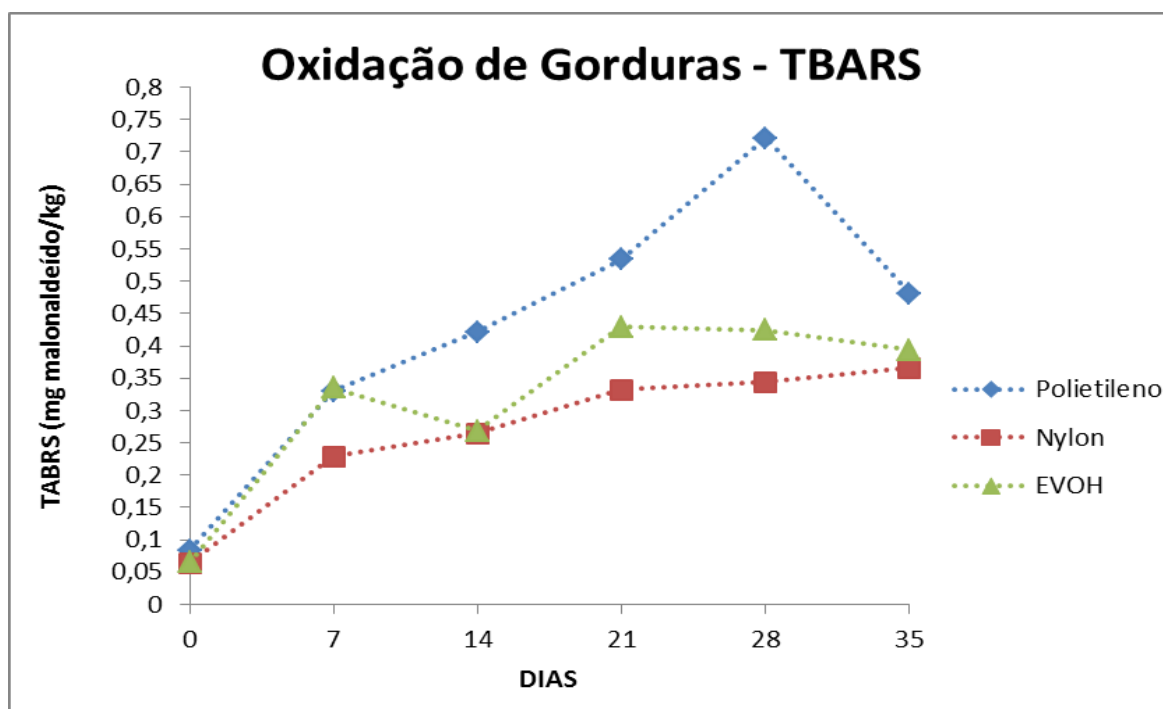


Figura 8: Acompanhamento da oxidação de gordura - TBARS da linguiça Toscana frescal, armazenada em diferentes estruturas de embalagem (▲ – EVOH, ■ – Nylon, ♦ - PEBD) armazenadas sob refrigeração (8°C) durante 35 dias.

As **Erro! Fonte de referência não encontrada.** e Figura 8 ilustra que, de maneira geral, houve um aumento progressivo significativo ($p < 0,05$) na oxidação de lipídios da linguiça Toscana resfriada, até os 21 dias de armazenamento, sendo que, a partir deste período manteve-se, praticamente constante. Nas condições de embalagem PEBD, verificou-se os maiores valores de oxidação de lipídios, diferindo significativamente ($p < 0,05$) das demais embalagens para TBARS, já para Peróxidos foi na embalagem de Nylon, sendo que, o máximo teor foi observado no 28º dia (0,721 mg MDA/kg) e 35º dia (19,45 mEq/kg), conforme Tabelas 8 e 9. Esta diferença deve-se, principalmente, a maior permeabilidade ao oxigênio ($500 \text{ cm}^3 \text{O}_2 / \text{m}^2 \cdot \text{dia} \cdot \text{atm}$ a 23°C) da embalagem PEBD e apesar desta diferenciação no Índice de Peróxido não houve diferença significativa na faixa estudada.

No entanto, as embalagens de Nylon Poli e EVOH apresentaram comportamento semelhante quanto à oxidação lipídica. Porém, devido à não homogeneidade na porção de gordura, verifica-se algumas pequenas variações

durante o período estudado. Comportamento similar foi relatado na literatura, (ALMEIDA, 2005).

Também foi observado situação similar no comportamento da linguiça Toscana na temperatura de -12°C , sendo encontrado aos 151 dias de avaliação seus maiores valores, para PEBD, NYLON e EVOH, nos valores de oxidação (0,405, 0,513 e 0,406 mg MDA/KG respectivamente), (DE PAULA, R., 2008).

Diversos autores sugerem 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. Foi relatado que o malonaldeído (MDA) reage com uma larga escala de compostos ou pode formar dienos ou trienos de MDA, o que diminui a quantidade de MDA disponível para reagir com o ácido tiobarbitúrico, em consequência, os valores de TBARS avaliados são reduzidos (GATELLIER et al., 2007).

Constata-se que devido a homogeneidade na porção de gordura, as amostras armazenadas nas embalagens de PEBD e Nylon Poli apresentaram comportamento semelhante, Fato também relatado na literatura por, (ALMEIDA, 2005).

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 superiores 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 6mg de MDA/Kg quando trabalharam com carnes frescas armazenadas sob condições similares.

AHMAD e SRIVASTAVA (2007) citam trabalhos onde amostras de carne com número de TBARS entre 0,5 e 1,0mg/kg em que foi verificado odor de ranço. Os autores ainda relatam que valores de TBARS entre 1 a 2mg/kg de malonaldeído situam-se na faixa detectada sensorialmente. TERRA, CICHOSKI; FREITAS, (2008), citam que valores de TBARS até 1,59mg MDA/Kg de amostra são considerados baixos para serem percebidos em análise sensorial e não causam alarme para a saúde do consumidor. Os valores de TBARS encontrados nas linguças Toscanas frescas pertencentes às diferentes condições de embalagens foram menores do que 1,0mg MDA/Kg de amostra, conseqüentemente não seriam percebidos sensorialmente, porém tal fato não foi constatado no presente estudo, será discutido posteriormente no item referente a análise sensorial.

A oxidação é um dos principais fatores envolvidos na deterioração dos componentes lipídicos da carne, sobretudo dos ácidos graxos insaturados, em virtude da presença de duplas ligações. À medida que as duplas ligações aumentam, o tempo de conservação das gorduras fica mais curto. As carnes brancas como as de aves e de peixes, se caracterizam por terem concentração relativamente elevada de ácidos graxos insaturados que são mais suscetíveis a deterioração oxidativa em comparação a outros tipos de carnes (MAGGIONI, et al., 2008).

KITAKAWA (2002), observou esses valores de TBARS em linguça mista frescas, após 15 dias de processamento. Neste trabalho, observou-se oxidação lipídica após 7 dias de armazenamento e mais pronunciada nas linguças armazenadas nas embalagens Nylon Poli.

De todos esses fatores, a presença de nitrito e a refrigeração controlada (8°C) e a permeabilidade das embalagens a que as amostras foram submetidas parecem explicar os resultados obtidos. De acordo com PEARSON & GILLET (1996), nitrito de sódio previne a extensão da oxidação lipídica via mecanismo de rancidez oxidativa.

Na Tabela 9 e Figura 9 são apresentados os valores de Índice de Peróxidos para a linguça Toscana. Como observado os valores de Índice de Peróxidos aumentaram gradualmente ao longo do período de armazenamento, não apresentando tendência à estabilização, independente da embalagem utilizada. No

7ºdia, a amostra armazenada na embalagem Nylon Poli diferiu significativamente ($p<0,05$) das demais embalagens e apresentando no 35ºdia máximo valor de 19,45mEq/Kg, muito embora neste período, não diferiu estatisticamente ($p<0,05$) das demais embalagens.

O Índice de Peroxido apresentou um crescimento similar ao crescimento do índice de TBARS, conforme é visualizado nas figuras 8 e 9.

Tabela 9: Valores de Índice de Peroxidos (mEq/kg) da linguiça Toscana frescal sob refrigeração (8°C), em diferentes estruturas de embalagem durante 35 dias.

Embalagens**	ÍNDICE DE PERÓXIDOS (mEq/kg)					
	0dia	7ºdia	14ºdia	21ºdia	28ºdia	35ºdia
PEBD	1,810 ^{Ae} (±0,681)	4,930 ^{Bd} (±1,066)	7,990 ^{Bc} (±0,989)	9,820 ^{Abc} (±1,227)	11,040 ^{Ab} (±0,048)	16,140 ^{Aa} (±1,363)
NYLON POLI	1,600 ^{Ad} (±0,010)	10,030 ^{Abc} (±1,085)	11,830 ^{Aba} (±0,956)	10,990 ^{Aba} (±2,114)	12,620 ^{Aac} (±2,541)	19,450 ^{Aa} (±2,072)
EVOH	1,700 ^{Ad} (±0,010)	4,720 ^{Bc} (±0,681)	8,42 ^{Bbc} (±0,662)	10,940 ^{Ab} (±2,105)	11,750 ^{Ab} (±2,529)	17,210 ^{Aa} (±1,924)

* Médias ± (desvio padrão) seguidas de letras minúsculas/ maiúsculas iguais nas linhas/colunas não diferem estatisticamente á nível de 5% (Teste de Tukey); ** vácuo (5mb/1,36s).

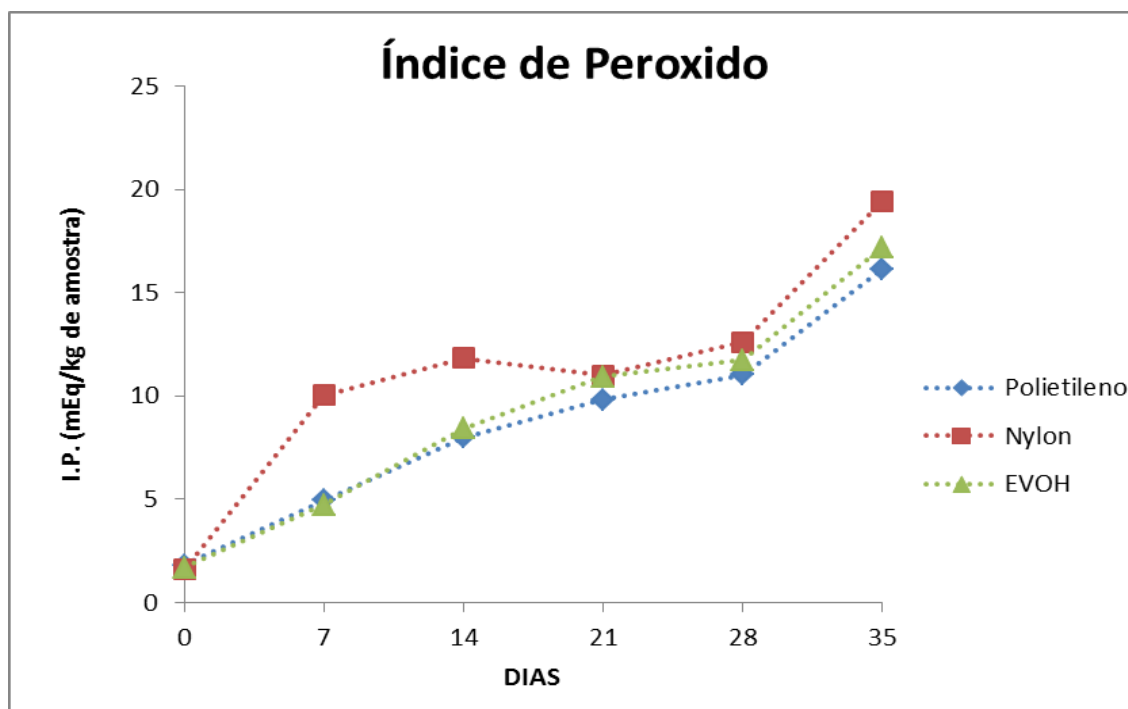


Figura 9: Acompanhamento do Índice de Peróxido da linguiça Toscana fresca, armazenada em diferentes estruturas de embalagem (▲ – EVOH, ■ – Nylon, ♦ - PEBD) armazenadas sob refrigeração (8°C) durante 35 dias.

O Índice de Peróxido é um indicador muito sensível no estágio inicial da oxidação, conforme é mostrado abaixo, e sua presença é indício de que a deterioração do sabor e odor em função de sua instabilidade está por acontecer.

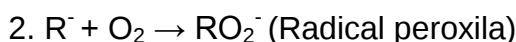
A oxidação decorre da interação de um iniciador com o oxigênio, que, uma vez ativado, pode reagir com o ácido graxo insaturado, ocorrendo a retirada de um átomo de hidrogênio do carbono metilênico adjacente (entre) à ligação dupla *cis* do ácido graxo insaturado, resultando na formação de radicais *alílicos*, segundo a reação (KANNER, 1994):

- Iniciação:



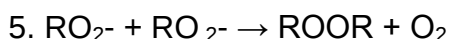
Uma vez iniciada, a reação segue em cadeia e somente termina quando estiverem esgotadas as reservas de ácidos graxos insaturados e oxigênio (KIRK, 1984). Assim sendo, a fase de propagação, que ocorre em seguida, é caracterizada por diversas reações:

- Propagação:



As reações de propagação levam à formação de diversos peróxidos, que podem ser mensurados, servindo como índice de oxidação lipídica seja em alimentos (GRAY, 1978; WANG et al., 1995) ou mesmo no organismo humano (HALLIWELL & CHIRICO, 1993). Todavia, como os peróxidos são instáveis, sua mensuração é limitada às fases iniciais da oxidação lipídica, já que as reações continuam a ocorrer até a fase de terminação (SEVANI & HOCHSTEIN, 1985).

- Terminação:



Desta maneira, com o esgotamento dos substratos, as reações de propagação vão cessando e inicia-se a formação dos produtos finais. Deste modo, as reações de terminação têm como característica a formação de produtos finais estáveis ou não reativos. Os radicais alcoxila ($RO_2^{\cdot}$), que participam de reações de decomposição, também podem sofrer epoxidação, polimerização (reação 5) ou reagir com outros grupos alquila ($R^{\cdot}$) (reação 6), reações químicas representativas da fase de terminação (KUBOW, 1992).

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 10,79mEq/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.

3.2. COMPOSTOS VOLÁTEIS - HEXANAL

O hexanal durante os primeiros 21 dias de armazenamento não foi detectado para nenhuma das amostras. 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 (2002) em carne de veado durante armazenamento de 37^o dia 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 consequentemente 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^oC por 9 dias, obtiveram valor de 0,6ppm de hexanal. Avaliando salsichas formuladas com carne mecanicamente separada de aves, MIELNIK (2002) encontrou 20,7ng/g na estocagem a -25^oC 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 “requeentado” para o sabor indesejável encontrado e, desde então, muita pesquisa tem sido focado em compreensão e prevenção desse tipo de *off-flavor*.

3. 3. COMPOSIÇÃO DE ÁCIDOS GRAXOS.

Os ácidos graxos foram determinados nas amostras de linguiça Toscana e os resultados são apresentados nas Tabelas 10 a 13. 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.

Pardi (2001) relata que estes ácidos graxos são os de maior conteúdo dos glicerídeos de suínos, principal matéria prima utilizada nas formulações do presente estudo.

Tabela 10: Valores de ácidos Palmítico (g/100g) da linguiça Toscana frescal sob refrigeração (8°C), em diferentes estruturas de embalagem durante 35 dias.

Embalagens**	ÁCIDOS PALMÍTICO (g/100g)					
	0dia	7ºdia	14ºdia	21ºdia	28ºdia	35ºdia
PEBD	2,740 ^{Ac} (±0,010)	3,750 ^{Aa} (±0,005)	2,240 ^{Ae} (±0,165)	2,470 ^{Ad} (±0,011)	1,410 ^{At} (±0,025)	2,030 ^{Ab} (±0,075)
NYLON POLI	2,530 ^{Bc} (±0,210)	2,850 ^{Bb} (±0,427)	2,120 ^{Ac} (±0,034)	1,980 ^{Ac} (±0,064)	1,600 ^{Ac} (±0,088)	3,450 ^{Ba} (±0,005)
EVOH	2,440 ^{Aa} (±0,160)	2,400 ^{Ba} (±0,404)	2,110 ^{Aa} (±0,051)	2,000 ^{Aba} (±0,034)	1,550 ^{Ab} (±0,015)	2,060 ^{Aa} (±0,000)

* Médias ± (desvio padrão) seguidas de letras minúsculas/maiúsculas iguais nas linhas/columnas não diferem estatisticamente á nível de 5% (Teste de Tukey); ** vácuo(-5 mbar/1,36 s).

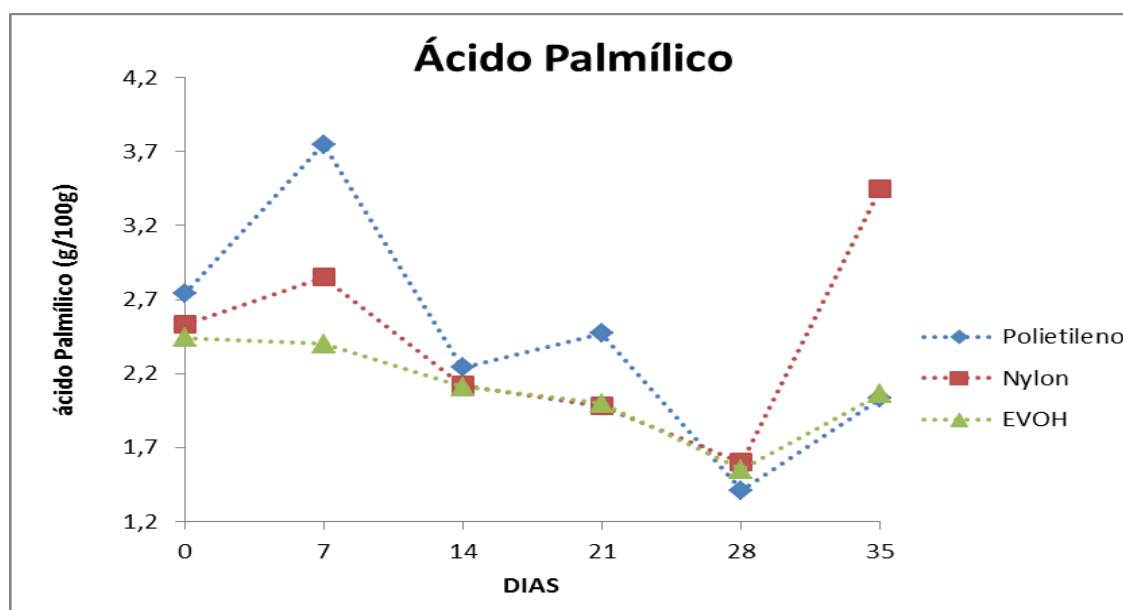


Figura 10: Acompanhamento ácido graxo “palmítico” da linguiça Toscana frescal, armazenada em diferentes estruturas de embalagem (▲ – EVOH, ■ – Nylon, ♦ - PEBD) armazenadas sob refrigeração (8°C) durante 35 dias.

A composição de ácido palmítico para as amostras de linguiça Toscana embalada nas 3 estruturas de embalagens é apresentado na Tabela 10 e Figura 10,

onde observa-se que os valores sofreram pequenas flutuações estatisticamente ao longo do período de armazenamento. No 35º dia o teor máximo de ácido palmítico encontrado foi de 3,45g/100g para a linguiça toscana armazenada na embalagem Nylon Poli diferindo significativamente ($p<0,05$) das demais embalagens.

Na Tabela 11 e Figura 11 são apresentados os teores de ácido esteárico das amostras de linguiça toscana armazenadas a 8°C em diferentes estruturas de embalagem

Tabela 11: Valores de ácidos esteárico (g/100g) da linguiça Toscana frescal sob refrigeração (8°C), em diferentes estruturas de embalagem durante 35 dias.

Embalagens**	ÁCIDOS ESTEÁRICO (g/100g)					
	0dia	7ºdia	14ºdia	21ºdia	28ºdia	35ºdia
PEBD	5,250 ^{Aad} (±0,017)	4,670 ^{Abcd} (±0,023)	5,560 ^{Aab} (±0,909)	6,000 ^{Aa} (±0,005)	5,430 ^{Aac} (±0,017)	4,380 ^{Abcd} (±0,011)
NYLON POLI	4,750 ^{Acđ} (±0,049)	4,940 ^{Ab} (±0,098)	4,660 ^{Be} (±0,005)	5,220 ^{Ba} (±0,040)	4,850 ^{Abđ} (±0,058)	4,860 ^{Abc} (±0,034)
EVOH	4,680 ^{Ad} (±0,070)	4,960 ^{Abc} (±0,046)	5,260 ^{ABa} (±0,030)	4,990 ^{Bb} (±0,011)	4,810 ^{Acđ} (±0,102)	4,990 ^{Ab} (±0,011)

* Médias ± (desvio padrão) seguidas de letras minúsculas/maiúsculas iguais nas linhas/colunas não diferem estatisticamente á nível de 5% (Teste de Tukey); ** vácuo(-5 mbar/1,36 s).

Na tabela 11 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 14, 21 e 28ºdia ocorreu um incremento nos valores ácido esteárico para as amostras armazenadas na embalagem de PEBD, alcançando no 21º dia o maior valor correspondendo a 6 g/100g de amostra.

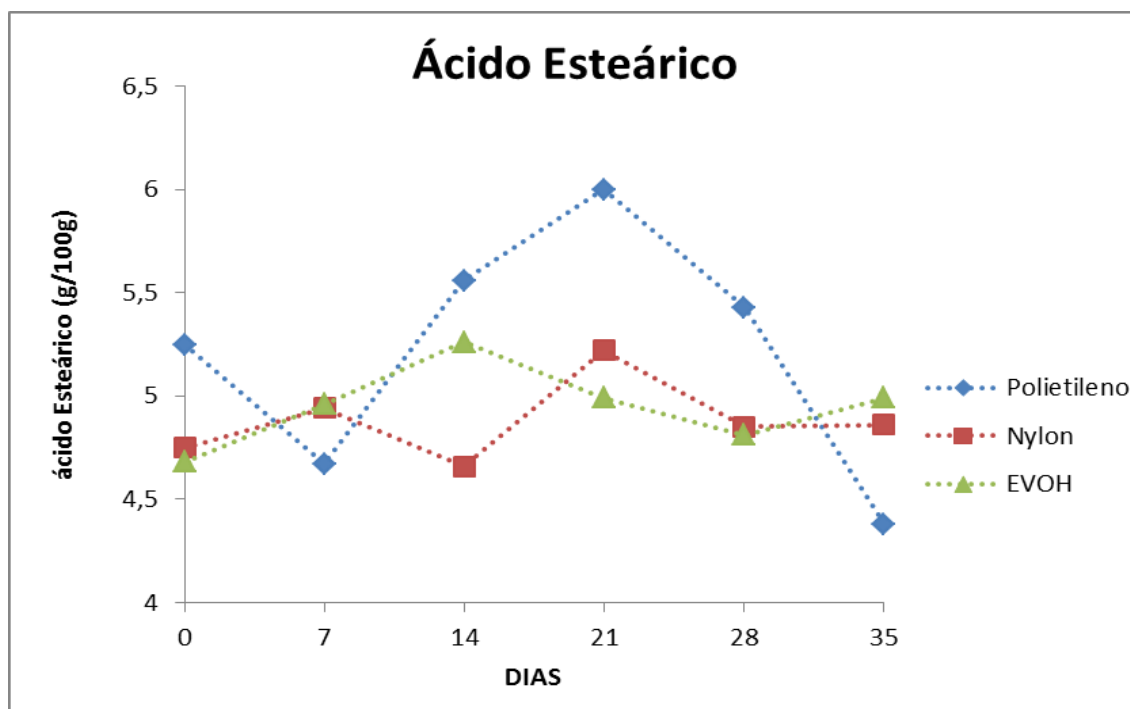


Figura 11: Acompanhamento do ácidos graxos “esteárico” da linguiça Toscana fresca, armazenada em diferentes estruturas de embalagem (▲ – EVOH, ■ – Nylon, ♦ - PEBD) armazenadas sob refrigeração (8°C) durante 35 dias.

3.4. ÁCIDOS GRAXOS INSATURADOS

Na Tabela 12 são apresentados os resultados da composição de ácido oléico de amostras de linguiça Toscana armazenada em diferentes estruturas de embalagem. Ressalta-se dentre os ácidos graxos insaturados analisados o ácido oléico (C18:1) foi o predominante na linguiças Toscana.

As amostras armazenadas em embalagem de PEBD apresentaram um incremento significativo (Tabela 12 e Figura 12), no 14º, 21º e 35º dia

Tabela 12: Valores de Ácidos Oléico (g/100g) da linguiça Toscana frescal sob refrigeração (8°C), em diferentes estruturas de embalagem durante 35 dias

Embalagens**	ÁCIDOS OLÉICO (g/100g)					
	0dia	7ºdia	14ºdia	21ºdia	28ºdia	35ºdia
PEBD	12,370 ^{Ab} (±0,005)	12,070 ^{Ab} (±0,017)	14,090 ^{Ab} (±2,330)	14,140 ^{Aa} (±0,023)	12,940 ^{Ab} (±0,041)	14,430 ^{Ab} (±0,011)
NYLON POLI	13,190 ^{Aa} (±0,106)	12,510 ^{Aa} (±0,190)	13,310 ^{Aa} (±0,011)	12,690 ^{Bb} (±0,041)	13,210 ^{Aa} (±0,076)	12,110 ^{Bc} (±0,075)
EVOH	12,770 ^{Ab} (±0,050)	12,730 ^{Ab} (±0,236)	12,590 ^{Ab} (±0,055)	12,730 ^{Bb} (±0,030)	13,230 ^{Aa} (±0,015)	12,800 ^{Bb} (±0,023)

* Médias ± (desvio padrão) seguidas de letras minúsculas/maiúsculas iguais nas linhas/columnas não diferem estatisticamente á nível de 5% (Teste de Tukey); ** vácuo(-5 mbar/1,36 s).

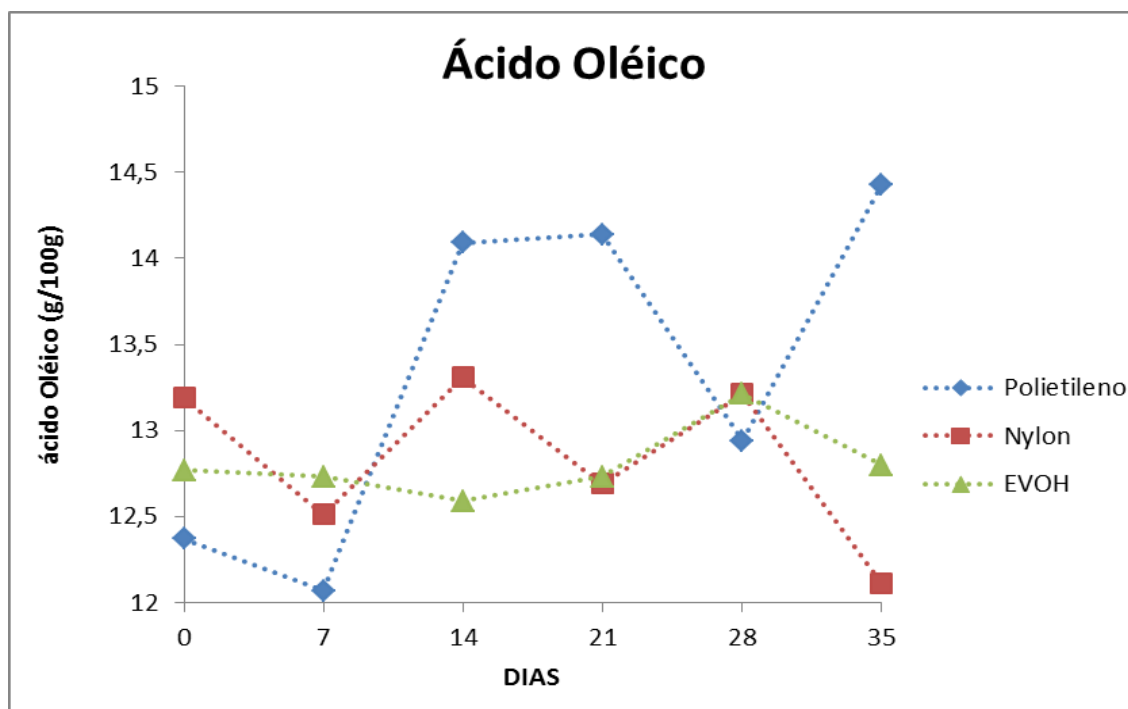


Figura 12: Acompanhamento do ácidos graxo “oléico” da linguiça Toscana fresca, armazenada em diferentes estruturas de embalagem (▲ – EVOH, ■ – Nylon, ♦ - PEBD) armazenadas sob refrigeração (8°C) durante 35 dias.

A composição de ácido linolênico para as amostras de linguiça Toscana armazenada em diferentes estruturas de embalagem são apresentados na Tabela 13 e Figura 13. 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 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 0,50g/100 de ácido linolênico aos 14 dias de armazenamento para embalagem de EVOH.

Tabela 13: Valores de Ácidos Linolênico (g/100g) da linguiça Toscana frescal sob refrigeração (8°C), em diferentes estruturas de embalagem durante 35 dia.

Embalagens**	ÁCIDOS LINOLÊNICO (g/100g)					
	0dia	7ºdia	14ºdia	21ºdia	28ºdia	35ºdia
PEBD	0,370 ^{Ad} (±0,005)	0,340 ^{Ad} (±0,005)	0,490 ^{Aac} (±0,105)	0,490 ^{Aa} (±0,005)	0,470 ^{Aab} (±0,005)	0,410 ^{Abcd} (±0,005)
NYLON POLI	0,320 ^{Ae} (±0,005)	0,350 ^{Ade} (±0,011)	0,410 ^{Ac} (±0,005)	0,470 ^{Aa} (±0,023)	0,440 ^{Ab} (±0,005)	0,450 ^{Accl} (±0,005)
EVOH	0,340 ^{Ae} (±0,004)	0,360 ^{Ad} (±0,005)	0,500 ^{Aa} (±0,005)	0,480 ^{Ab} (±0,001)	0,450 ^{Ac} (±0,002)	0,460 ^{Ac} (±0,005)

* Médias ± (desvio padrão) seguidas de letras minúsculas/maiúsculas iguais nas linhas/columnas não diferem estatisticamente á nível de 5% (Teste de Tukey); ** vácuo(-5 mbar/1,36 s).

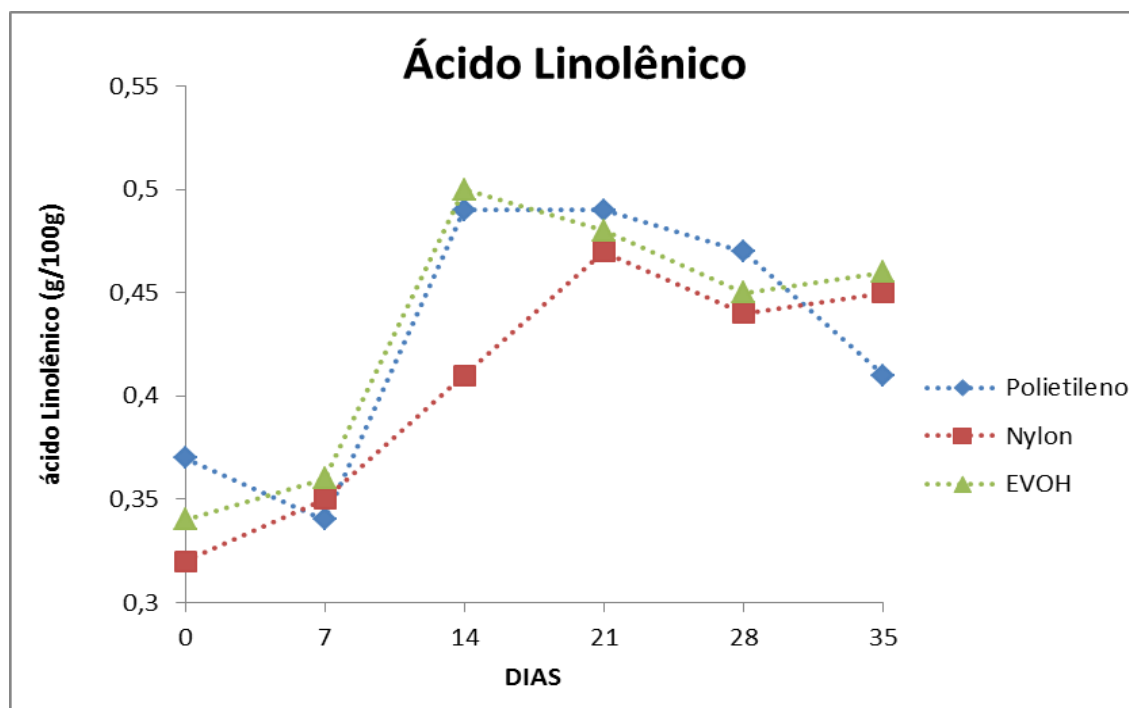


Figura 13: Acompanhamento do ácidos graxo “linolênico” da linguiça Toscana frescal, armazenada em diferentes estruturas de embalagem (▲ – EVOH, ■ – Nylon, ◆ - PEBD) armazenadas sob refrigeração (8°C) durante 35 dias.

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 avaliadas variaram entre 12,37 e 14,43g/100g. Na lingüiça Toscana somente o ácido linolênico foi encontrado e seu teor foi de 0,50g/100g para amostra armazenada na embalagem EVOH aos 14^o dias de armazenamento.

Baggio (2004) relatou ter encontrado cerca de 13,2g/100 g de ácidos graxos insaturados em amostras de lingüiça Toscana refrigerada, valores estes bem próximos aos observados no presente estudo, onde o teor de ácidos graxos insaturados médios foram de 12,37g/100 g para a lingüiça Toscana.

LARKESON *et al.*, 2000, obtiveram os mesmo ácidos graxos insaturados em almôndegas e hambúrgueres que os do presente trabalho. TORRES *et al.*, (1989) também encontraram estes mesmos ácidos graxos em amostras de charque. PEREIRA *et al.*, (2000) encontraram em amostras de lingüiças tipo comum os ácidos graxos: oléico, palmítico, esteárico, oléico, 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 lingüiças tipo comum.

3.5. AVALIAÇÃO DA OXIDAÇÃO PROTEICA

A evolução da oxidação proteica, através da quantificação dos grupos carbonil (nmol carbonil/mg proteína) e dos grupos sulfidrilícos (μ moles sulfidrilas/mg), das amostras de lingüiça Toscana acondicionadas em diferentes estruturas de

embalagens durante 35 dias de armazenamento, estão apresentadas na Tabela 14. A formação dos compostos carbonílicos são uma das mais proeminentes mudanças nas proteínas oxidadas, servindo sua concentração como um indicativo de oxidação de proteínas (LEVINE et al., 1990).

Na oxidação ocorre a perda de grupos sulfidrílicos dos aminoácidos e a geração de derivados oxidados, tais como carbonilação de proteínas e na formação de ligações cruzadas e agregados (ESTEVEZ, et al., 2008).

Tabela 14: Oxidação de proteína Grupo Carbonil (nmol carbonil/mg proteína) da linguiça Toscana frescal em diferentes estruturas de embalagem durante 35 dias.

Embalagens**	Oxidação de proteína Grupo Carbonil (nmol carbonil/mg proteína)*					
	0 dia	7ºdia	14ºdia	21ºdia	28ºdia	35ºdia
PEBD	0,711 ^{Aa} (±0,05)	1,660 ^{Bb} (±0,04)	1,951 ^{Dc} (±0,07)	2,128 ^{Dd} (±0,04)	2,295 ^{Ee} (±0,05)	2,451 ^{Et} (±0,04)
NYLON POLI	0,735 ^{Aa} (±0,06)	1,230 ^{Cb} (±0,09)	1,424 ^{Cb} (±0,02)	1,885 ^{Dc} (±0,07)	1,778 ^{Dc} (±0,04)	2,030 ^{Dc} (±0,22)
EVOH	0,703 ^{Aa} (±0,02)	1,387 ^{Cb} (±0,07)	1,902 ^{Dc} (±0,06)	2,043 ^{Dc} (±0,10)	1,966 ^{Dc} (±0,10)	1,921 ^{Dc} (±0,10)

*Médias ± (desvio padrão) seguidas de letras minúsculas/maiúsculas iguais nas linhas/columnas não diferem estatisticamente a nível de 5% (Teste de Tukey);, ** vácuo(-5 mbar/1,36 s).

De acordo com a Tabela 14 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 PEBD que atingiu o maior valor de 2,45 nmol carbonil/mg proteína ao final dos 35º dias, diferindo significativamente ($p < 0,05$) dos teores das amostras acondicionadas nas embalagens Nylon Poli e 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, para embalagem de PEBD.

Na Tabela 15 são apresentados os valores dos grupamentos sulfidrila das amostras de linguiça Toscana, refrigerada a 8°C e armazenada por 35^o dias.

Tabela 15: Oxidação de proteína – Grupos Sulfidrila (μ moles sulfidrila/mg de proteína) da linguiça Toscana fresca em diferentes estruturas de embalagem durante 35 dias.

Embalagens**	Oxidação de proteína- Grupos Sulfidrila (μmoles sulfidrila/mg de proteína)					
	0 dia	7ºdia	14ºdia	21ºdia	28ºdia	35ºdia
PEBD	42,426 ^{Aa} ($\pm$ 2,860)	23,640 ^{Ab} ($\pm$ 1,715)	17,460 ^{Ac} ($\pm$ 1,149)	17,453 ^{Ac} ($\pm$ 1,139)	15,810 ^{Ac} ($\pm$ 0,530)	13,900 ^{Ac} ($\pm$ 0,822)
NYLON POLI	41,516 ^{Aa} ($\pm$ 1,373)	29,653 ^{Ab} ($\pm$ 6,481)	21,810 ^{Abc} ($\pm$ 2,259)	21,300 ^{Ac} ($\pm$ 1,840)	16,660 ^{Ac} ($\pm$ 1,314)	16,466 ^{Ac} ($\pm$ 0,724)
EVOH	42,566 ^{Aa} ($\pm$ 2,339)	26,886 ^{Ab} ($\pm$ 0,974)	21,683 ^{Ac} ($\pm$ 1,865)	18,180 ^{AcD} ($\pm$ 0,462)	15,240 ^{Ad} ($\pm$ 2,114)	15,230 ^{Ad} ($\pm$ 1,591)

* Médias $\pm$ (desvio padrão) seguidas de letras minúsculas/maiúsculas iguais nas linhas/colunas não diferem estatisticamente a nível de 5% (Teste de Tukey); ** vácuo(5 mbar/1,36 s).

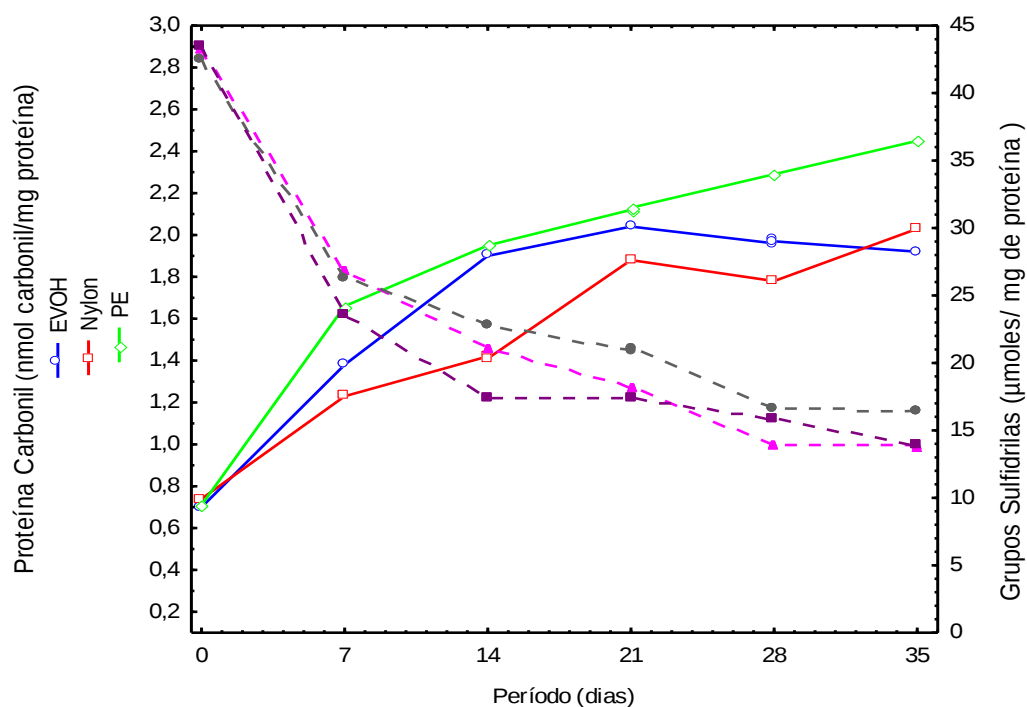


Figura 14: Correlação entre os grupos carbonil e sulfidrilas de amostras de linguça Toscana armazenadas (8°C) em diferentes estruturas de embalagens por 35 dias.

Os grupamentos sulfidrilas e carbonil apresentaram correlação inversa ao longo de período de estudo, sendo a redução e aumento de cerca de 40 % do tempo zero em relação ao 7º dia de armazenamento. As amostras da embalagem PEBD foram as que apresentaram a maior redução do agrupamento sulfidrilas e aumento do agrupamento carbonil em relação as outras duas amostras acondicionadas em EVOH e Nylon Poli, 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 PEBD foi a que mais diferença apresentou entre os dias de armazenamento, se apresentando como pior embalagem, provavelmente devido sua maior permeabilidade ao oxigênio.

Na Tabela 16 e nas Figuras 15, 16 e 17 são apresentadas os índices de cor L^* , a^* e b^* da linguça Toscana frescal em diferentes estruturas durante o armazenamento sob refrigeração.

O parâmetro "L" mensura a luminosidade do produto e quanto menores forem tais valores, mais escura é a cor da amostra. O parâmetro "a" representa a coloração vermelha da carne e o valor "b" indica a variação da cor na tonalidade amarela. Assim, para que a coloração dos produtos cárneos permaneça com o tom de vermelho desejado, é esperado que os valores de "b" na amostra sejam baixos e "a" elevados.

Tabela 16: Valores de L*, a* e b* da linguiça Toscana frescal nas diferentes estruturas de embalagens no decorrer dos dias de armazenamento

Embalagens**	0ºdia	7ºdia	14ºdia	21ºdia	28ºdia	35ºdia
Cor L*						
PEBD	37,93 ^{Bab} (±5,84)	41,92 ^{Aab} (±1,69)	46,46 ^{Aa} (±8,69)	26,79 ^{Ab} (±5,74)	31,88 ^{Aab} (±5,95)	36,03 ^{Aab} (±2,07)
NYLON POLI	51,25 ^{Aa} (±4,98)	35,84 ^{Abc} (±5,13)	46,35 ^{Aab} (±8,74)	29,98 ^{Ac} (±0,81)	29,32 ^{Ac} (±4,13)	30,86 ^{Ac} (±3,82)
EVOH	44,56 ^{ABab} (±2,79)	36,88 ^{Abc} (±1,49)	48,55 ^{Aa} (±4,14)	27,01 ^{Ad} (±5,71)	32,64 ^{AcD} (±2,02)	35,92 ^{Abcd} (±2,37)
Cor a*						
PEBD	12,05 ^{Aa} (±1,60)	12,05 ^{Aa} (±0,52)	12,14 ^{Aa} (±0,98)	10,86 ^{Aa} (±1,61)	11,04 ^{Aa} (±0,80)	12,45 ^{Aa} (±0,95)
NYLON POLI	14,65 ^{Aa} (±0,87)	11,43 ^{Ab} (±0,26)	12,76 ^{Aab} (±0,65)	11,16 ^{Ab} (±2,18)	11,05 ^{Ab} (±0,44)	11,65 ^{Ab} (±0,94)
EVOH	12,13 ^{Aa} (±1,71)	11,34 ^{Aa} (±2,37)	12,55 ^{Aa} (±0,69)	12,08 ^{Aa} (±0,71)	11,46 ^{Aa} (±0,69)	12,82 ^{Aa} (±0,62)
Cor b*						
PEBD	8,39 ^{Aa} (±0,93)	7,57 ^{Aa} (±0,40)	8,07 ^{Aa} (±0,64)	7,01 ^{Aa} (±0,48)	7,49 ^{Aa} (±0,10)	7,65 ^{Aa} (±0,40)
NYLON POLI	8,98 ^{Aa} (±0,43)	7,48 ^{Ab} (±0,06)	8,74 ^{Aa} (±0,25)	7,51 ^{Ab} (±0,52)	7,12 ^{Ab} (±0,35)	7,42 ^{Ab} (±0,18)
EVOH	7,96 ^{Aab} (±0,62)	7,74 ^{Aab} (±0,75)	9,10 ^{Aa} (±0,78)	7,58 ^{Ab} (±0,41)	7,45 ^{Ab} (±0,09)	7,46 ^{Ab} (±0,21)

* Médias ± (desvio padrão) seguidas de letras minúsculas/maiúsculas iguais nas linhas/colunas não diferem estatisticamente a nível de 5% (Teste de Tukey); ** vácuo(5 mbar/1,36 s).

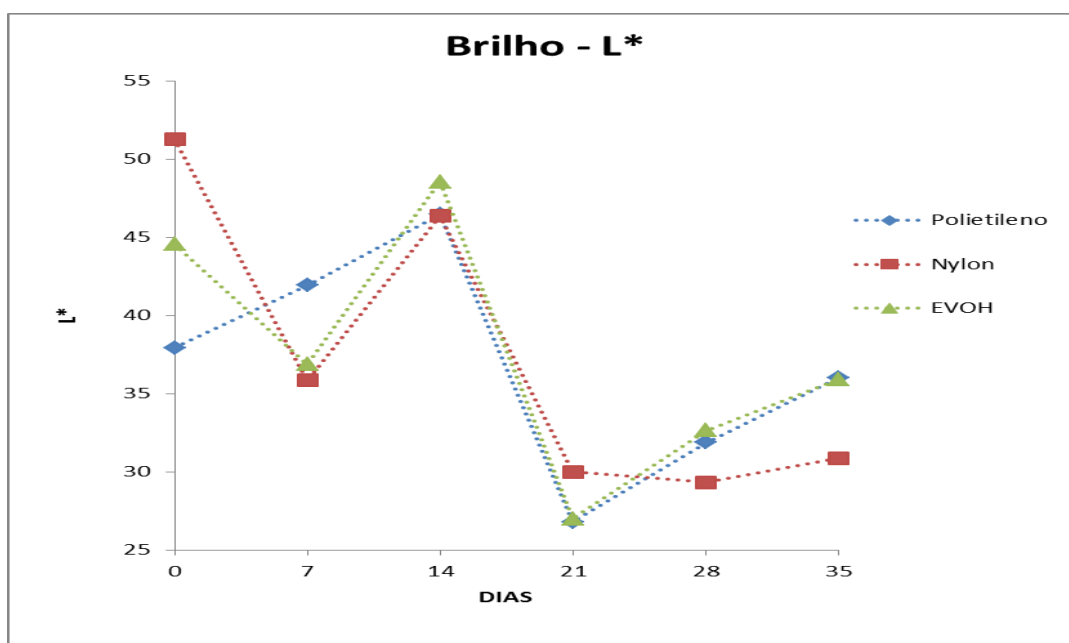


Figura 15: Acompanhamento da cor L* da linguiça Toscana fresca, armazenada em diferentes estruturas de embalagem (▲ – EVOH, ■ – Nylon, ◆ - PEBD) armazenadas sob refrigeração (8°C) durante 35 dias.

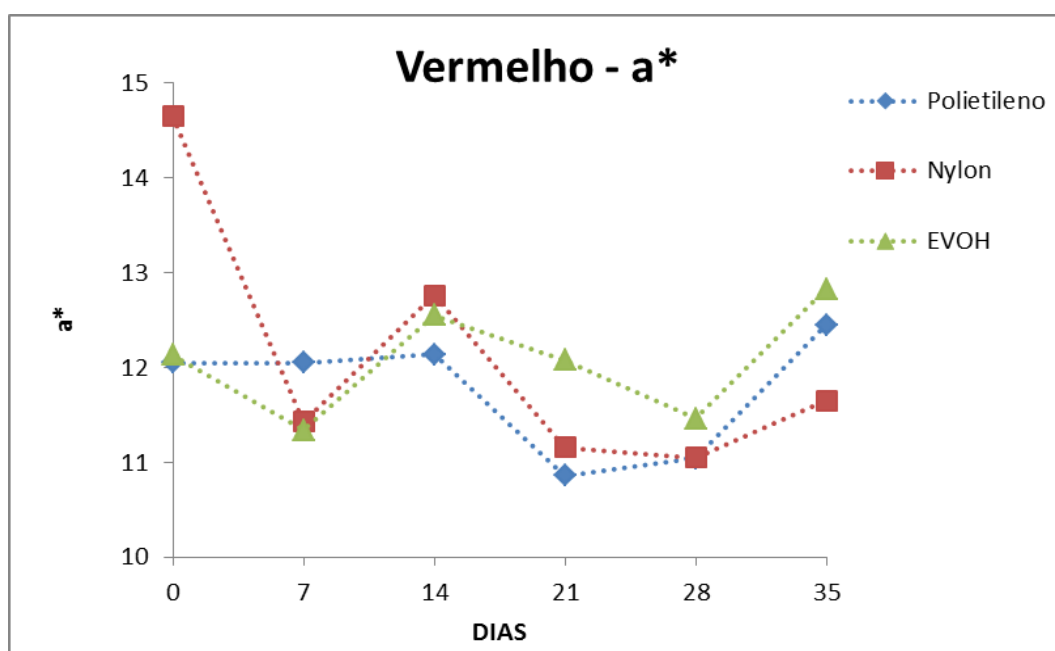


Figura 16: Acompanhamento da cor a* da linguiça Toscana fresca, armazenada em diferentes estruturas de embalagem (▲ – EVOH, ■ – Nylon, ◆ - PEBD) armazenadas sob refrigeração (8°C) durante 35 dias.

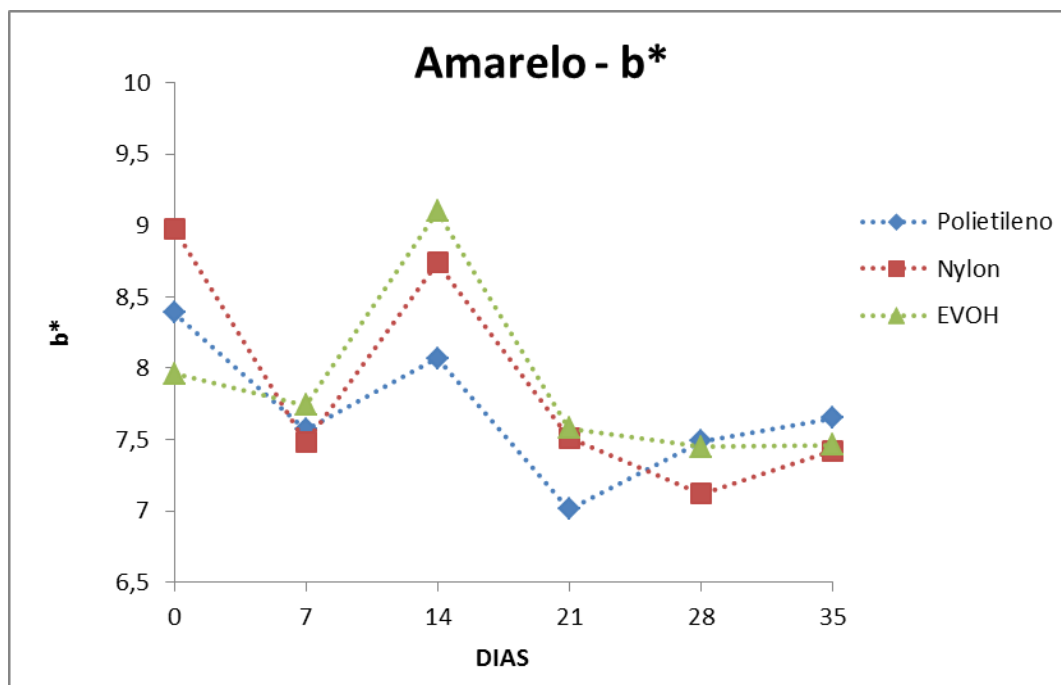


Figura 17: Acompanhamento da cor b^* da linguiça Toscana fresca, armazenada em diferentes estruturas de embalagem ($\blacktriangle$ – EVOH, $\blacksquare$ – Nylon, $\blacklozenge$ - PEBD) armazenadas sob refrigeração (8°C) durante 35 dias.

As diferentes embalagens PEBD, NYLON POLI e EVOH apresentaram seus maiores valores de b^* (amarelo) os 14 primeiros dias de armazenamento em relação as demais períodos de armazenamento. Os valores de cor amarela (b^*) nas três embalagens variaram de 7,12 a 9,10, sendo que estes valores foram apresentados embalagem de NYLON POLI em 28 dias para a menor e 21 dias na de EVOH para o maior valor, apresentando diferença significativa ($p < 0,05$) em relação as demais condições.

Observou-se que ocorreu grande oscilação entre os valores obtidos, que não permitiram concluir como cada embalagem estudada afetou na cor do produto. Uma hipótese para este fato é a heterogeneidade do produto avaliado, o que dependendo da amostragem realizada pode resultar em diferentes leituras de cor.

Estudo realizado por Romano (2001), ao avaliar a estabilidade da cor de apresuntado de peru, revelou uma tendência da redução do parâmetro " a^* " em relação ao seu valor inicial, ou seja, uma diminuição da intensidade de vermelho -

róseo característico desta categoria de produtos. A oscilação do parâmetro "a*" é resultado da reversibilidade das reações que determinam as alterações de cor de produtos curados (FOX, 1966). As alterações na coloração dos produtos curados devem à oxidação do pigmento nitrosohemocromo por agentes químicos, como o oxigênio, ou agentes microbianos. Como resultado apresenta a formação de porfirinas verdes, amarelas ou incolores.

A luz acelera essa reação, induzindo a dissociação do óxido nítrico da estrutura heme, resultando em descoloração. O problema da perda de cor pela ação da luz é crítico, uma vez que as técnicas modernas de comercialização dos produtos curados exigem a exposição em balcões iluminados (RIZVI, 1981).

A relação entre "a*" e "b*", entretanto, permaneceu similar, o que revela que o produto apenas tornou-se mais claro, não sendo interessante visto que a intensidade da cor é um dos atrativos no produto. Fato similar ao apresentado nesse estudo foi observado por Romano (2001), ao verificar que o material de embalagem influenciou significativamente a estabilidade da cor de apresuntado de peru fatiado. A utilização de um material de baixa permeabilidade ao oxigênio, em combinação a um processo de acondicionamento a vácuo, apresentou-se suficiente para garantir a estabilidade da cor ao longo de 34 dias de armazenamento. Os produtos acondicionados nas embalagens com maior permeabilidade ao oxigênio, no entanto sofreram maior descoloração.

As Figuras 18 a 23 apresentam os aspectos visual das linguça Toscana frescal avaliadas neste trabalho, em dois diferentes tempos de armazenamento.

**PADRÃO****PEBD COM VÁCUO**

Figura 18: Aspecto visual das amostras de linguica Toscana frescal armazenada nas diferentes estruturas de embalagem PEBD, avaliadas com 7 dias de armazenamento.

**PADRÃO****PEBD COM VÁCUO**

Figura 19: Aspecto visual das amostras de linguica Toscana frescal armazenada nas diferentes estruturas de embalagem PEBD, avaliadas com 35 dias de armazenamento.

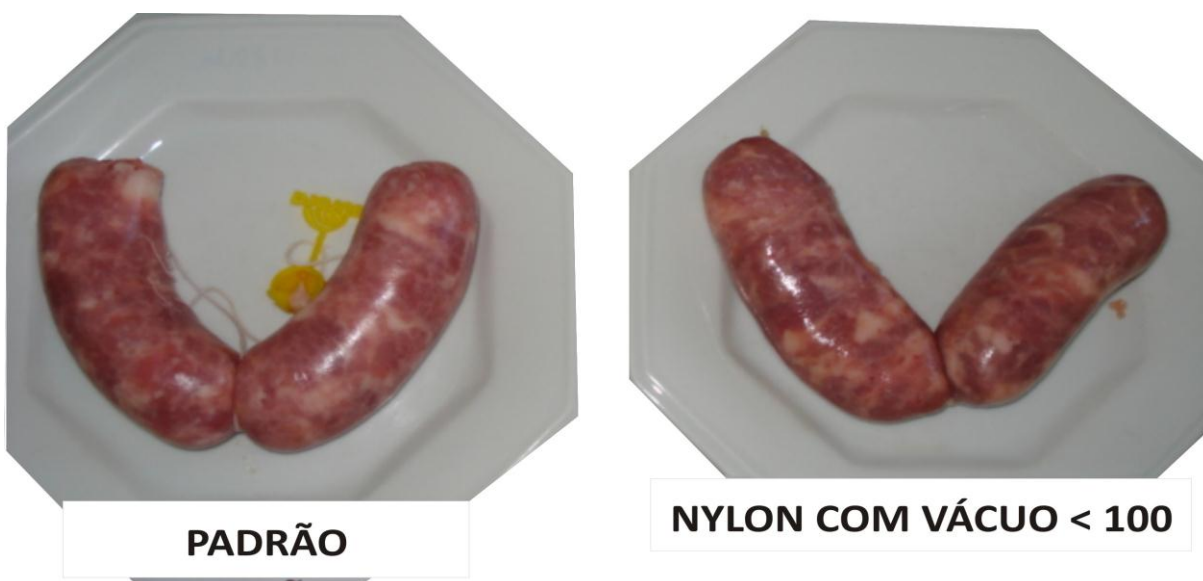


Figura 20: Aspecto visual das amostras de linguiça Toscana frescal armazenada nas diferentes estruturas de embalagem Nylon Poli, avaliadas com 7 dias de armazenamento.

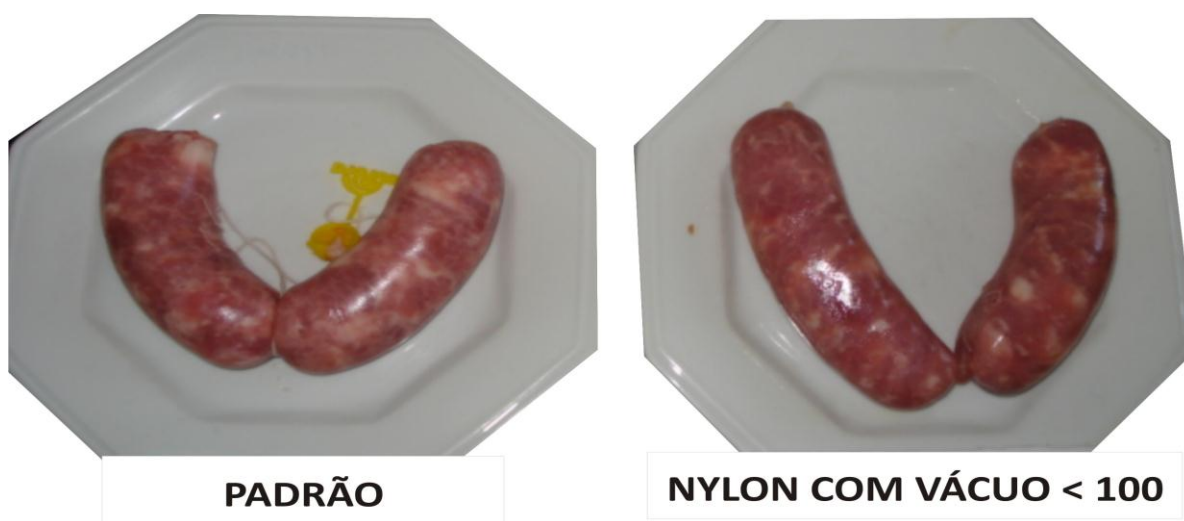


Figura 21: Aspecto visual das amostras de linguiça Toscana frescal armazenada nas diferentes estruturas de embalagem Nylon Poli, avaliadas com 35 dias de armazenamento.

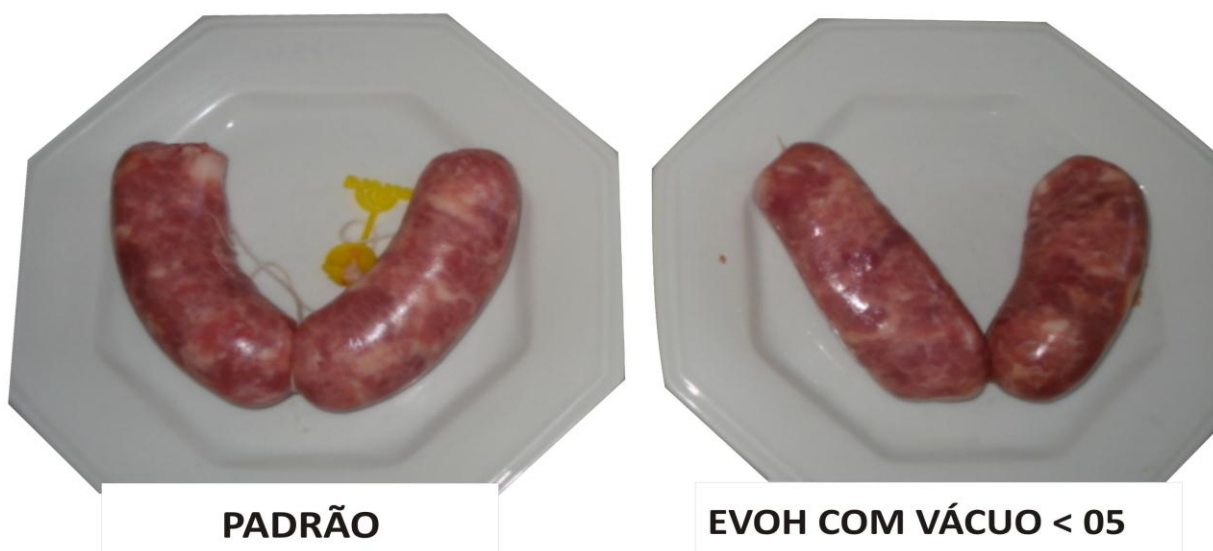


Figura 22: Aspecto visual das amostras de linguiça Toscana frescal armazenada nas diferentes estruturas de embalagem EVOH, avaliadas com 7 dias de armazenamento.

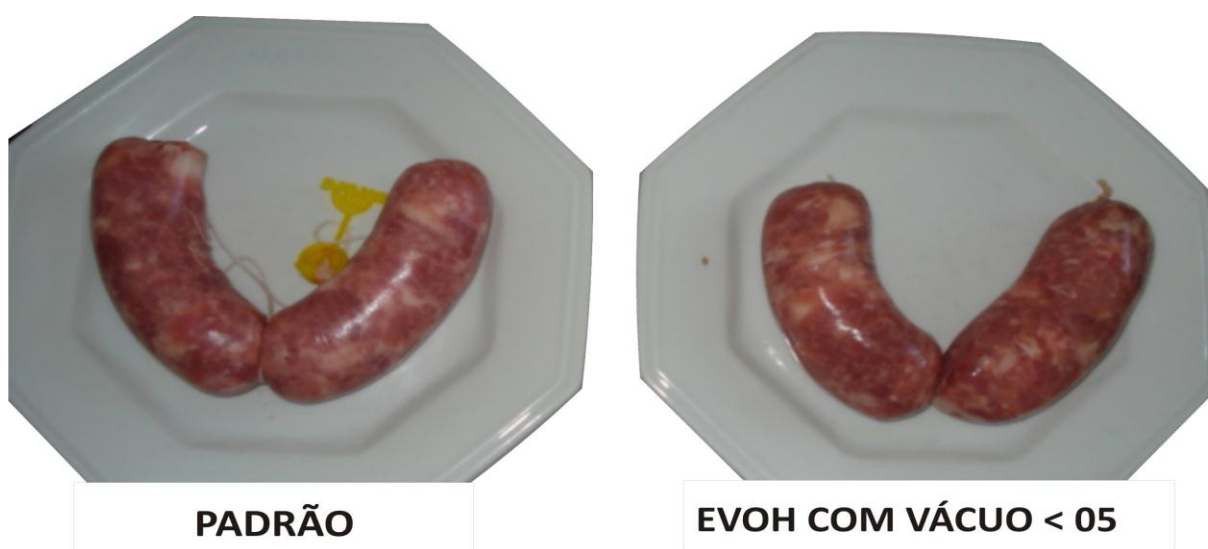


Figura 23: Aspecto visual das amostras de linguiça Toscana frescal armazenada nas diferentes estruturas de embalagem EVOH, avaliadas com 35 dias de armazenamento.

4. Contagem Total de Micro-organismos Psicrófilos

A evolução do desenvolvimento da contagem de bactérias psicrófilas está apresentada na 17 e Figura 24.

Observa-se que, os valores sofreram variação ao longo do período de estocagem, nas contagens de micro-organismos psicrófilos, com crescimento progressivo durante o armazenamento, resultado esperado, já que se trata de linguiça Toscana resfriada (8° C). As menores contagens observadas 0, 7° e 21°dia, referem se as amostras acondicionadas nas embalagens Nylon Poli com vácuo e EVOH com vácuo, até os 7 dias, porém ressalta se que no final do período de armazenamento (35° dia) não houve diferença significativa ($p < 0,05$) entre as estruturas de embalagens utilizadas, sendo que no 28°dia as amostras encontravam-se com contagem de bactérias psicrófilas próximas a $8 \log_{10} \text{UFC.g}^{-1}$.

Tabela 17: Contagem de bactérias psicrófilas ($\log_{10} \text{UFC.g}^{-1}$) da linguiça Toscana fresca nas diferentes estruturas de embalagens no decorrer dos dias de armazenamento.

Embalagens**	Bactérias psicrófilas ($\log_{10} \text{UFC.g}^{-1}$)*					
	0°dia	7°dia	14°dia	21°dia	28°dia	35°dia
PEBD	5,67 ^{Ac} (±0,08)	6,86 ^{Ab} (±0,09)	6,91 ^{Bb} (±0,12)	6,91 ^{Ab} (±0,26)	7,48 ^{Ba} (±0,09)	7,66 ^{Aa} (±0,17)
NYLON POLI	4,30 ^{Be} (±0,17)	5,82 ^{Bd} (±0,07)	7,45 ^{Ab} (±0,14)	6,45 ^{Bc} (±0,18)	8,08 ^{Aa} (±0,12)	7,87 ^{Aa} (±0,15)
EVOH	4,50 ^{Be} (±0,09)	5,36 ^{Cd} (±0,14)	7,30 ^{Ab} (±0,08)	6,40 ^{Bc} (±0,15)	8,00 ^{Aa} (±0,23)	7,72 ^{Aab} (±0,07)

* Médias ± (desvio padrão) seguidas de letras minúsculas/maiúsculas iguais nas linhas/colunas não diferem estatisticamente á nível de 5% (Teste de Tukey); ** vácuo(5 mbar/1,36 s).

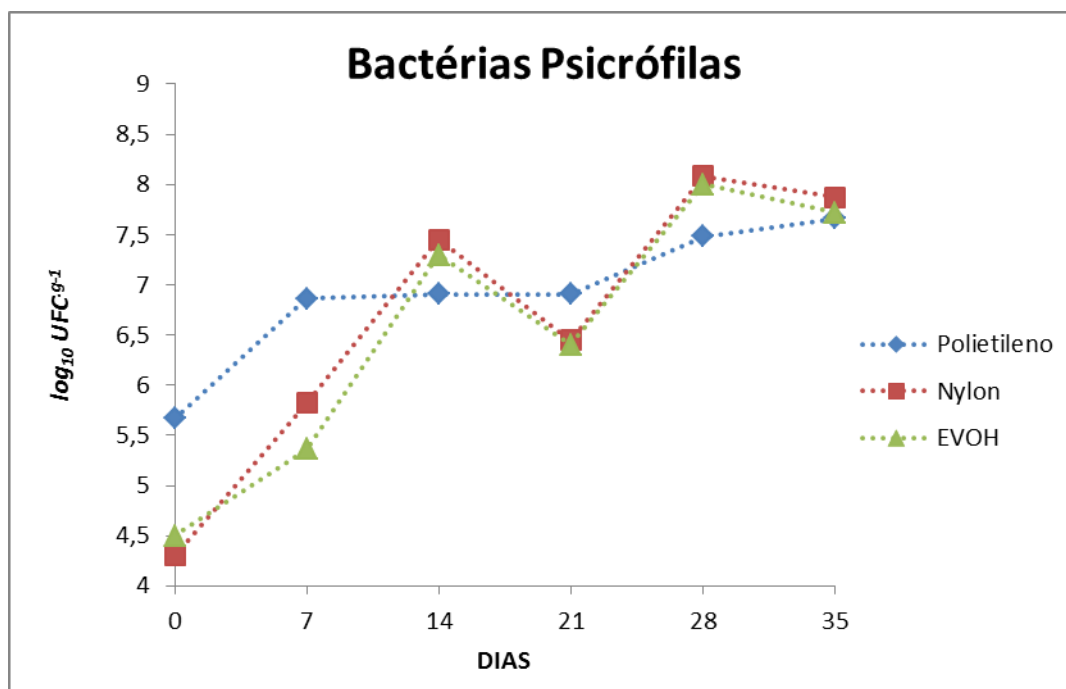


Figura 24: Acompanhamento das Bactérias Psicrófilas da linguiça Toscana fresca, armazenada em diferentes estruturas de embalagem (▲ – EVOH, ■ – Nylon, ♦ - PEBD) armazenadas sob refrigeração (8°C) durante 35 dias.

Micro-organismos que crescem em alimentos sob temperaturas de refrigeração, mas têm temperatura ótima em torno de 20°C são denominados psicrófilos. Mais precisamente, psicrófilos podem ser definidos como aqueles micro-organismos que produzem crescimento visível ao redor de 7°C entre 7 e 10 dias. As principais bactérias psicrófilas encontradas em produtos cárneos incluem espécies de *Acinetobacter*, *Aeromonas*, *Alcaligenes*, *Arthrobacter*, *Bacillus*, *Chromobacterium*, *Citrobacter*, *Clostridium*, *Corynebacterium*, *Enterobacter*, *Escherichia*, *Flavobacterium*, *Klebsiella*, *Lactobacillus*, *Microbacterium*, *Micrococcus*, *Moxarella*, *Pseudomonas*, *Serratia*, *Staphylococcus* e *Streptococcus*. A emergência de patógenos psicrófilos em alimentos, nos últimos anos, tem gerado preocupação quanto à segurança de alimentos refrigerados. Os patógenos psicrófilos que crescem ao redor de 5°C incluem *Aeromona hydrophila*, *Clostridium botulinum*, *Listeria monocytogenes*, *Vibrio cholera*, *Yersinia enterocolitica*, e algumas linhagens de *Escherichia coli* enteropatogênicas (COUSIN; YAY; VASAVADA apud VADERZANT, SPLITTSTOESSER, 1992).

5. Avaliação Sensorial

Os provadores treinados avaliaram a rancificação da linguiça Toscana frescal assada em relação a uma amostra-referência (0 dia de armazenamento no 7º, 14º, 21º, 28º e 35º dias de armazenamento, sendo os resultados apresentados na Tabela 18 e Figura 25.

Tabela 18: Análise sensorial (rancidez) da linguiça Toscana frescal assada, que foram acondicionadas em diferentes estruturas de embalagens no decorrer dos dias armazenamento.

<i>Período</i>	<i>Sabor rancificado*</i>		
(dias)	PEBD	NYLON POLI	EVOH
7	0,75 ^{aA} (±0,16)	0,60 ^{aA} (±0,16)	0,50 ^{aA} (±0,16)
14	0,90 ^{aAB} (±0,16)	0,75 ^{aA} (±0,19)	0,75 ^{aB} (±0,01)
21	1,02 ^{aB} (±0,11)	0,85 ^{abA} (±0,16)	0,75 ^{bB} (±0,11)
28	2,80 ^{aC} (±0,16)	1,58 ^{bB} (±0,11)	1,00 ^{bC} (±0,15)
35	3,06 ^{aC} (±0,15)	1,76 ^{bB} (±0,17)	1,05 ^{cC} (±0,18)

* Médias ± (desvio padrão) seguidas de letras minúsculas/maiúsculas iguais nas linhas/colunas não diferem estatisticamente á nível de 5% (Teste de Tukey); Valores de critério sensorial : 0 - Nenhum ranço; 2 - Ligeiramente ranço; 4 - Moderadamente ranço, 6 - Muito ranço, 8 - Extremamente ranço.

Observa-se que a partir de 28 dias de armazenamento, a amostra armazenada na embalagem PEBD apresentou um ligeiro a moderado ($p < 0,05$) sabor rancificado, seguido da embalagem Nylon Poli. Após este período houve correlações entre o sabor rancificado detectado sensorialmente e o avaliado na oxidação de lipídios (**Erro! Fonte de referência não encontrada.** e 9) e proteína (Tabelas 14 e

15), sendo que a amostra da embalagem de PEBD foi caracterizada com sabor de ligeiramente a moderadamente ranço.

Conforme citado anteriormente, alguns autores (TERRA, CICHOSKI; FREITAS, 2008) relatam correlações entre o ranço percebido sensorialmente e o determinado por análise de oxidação lipídica, citando que baixos valores de TBARS não são percebidos sensorialmente. Porém, neste trabalho, concentrações de 0,4 a 0,5mg MA/kg já foram detectados sabores ligeiramente a moderadamente rancificados.

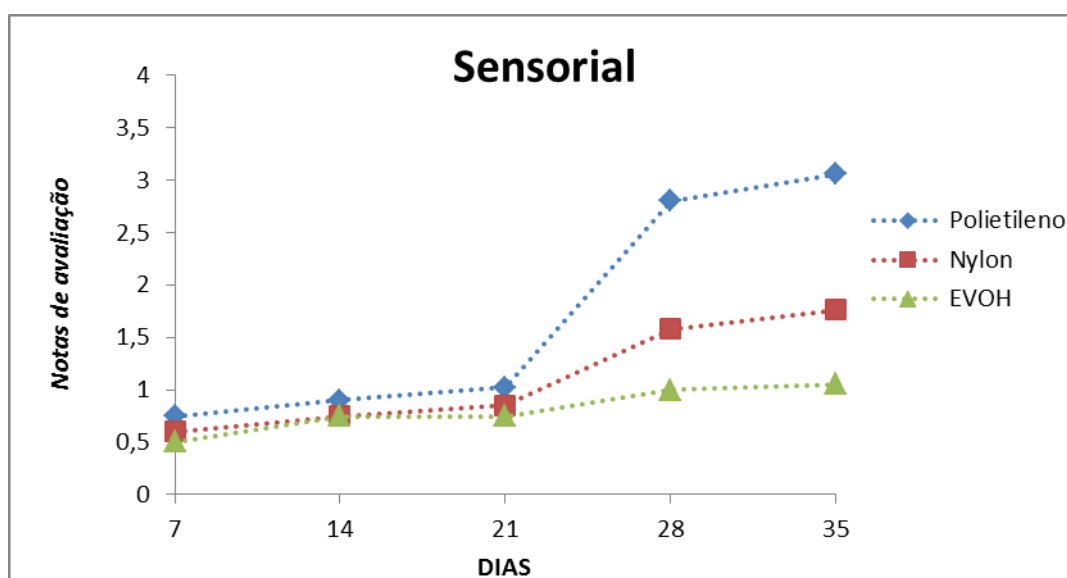


Figura 25: Acompanhamento da sensorial durante a vida de prateleira, da linguiça Toscana fresca, armazenada em diferentes estruturas de embalagem (▲ – EVOH, ■ – Nylon, ♦ – PEBD) armazenadas sob refrigeração (8°C) durante 35 dias.

Estes resultados são bastante relevantes, pois reiteram a importância da análise sensorial correlacionada aos resultados de análises físico-químicas e microbiológicas em ambiente industrial.

6. CONCLUSÕES

- As variações de pH encontradas entre as amostras estudadas que se encontram na Tabela 5, não apresentaram diferença significativa nas embalagens avaliadas, apesar da acidificação ser visível.
- Os valores de atividade de água (a_w) das amostras de linguiça Toscana acondicionadas nas embalagens de PEBD, Nylon Poli e EVOH, encontram-se na faixa de 0,976 a 0,986, não diferindo estatisticamente entre as embalagens.
- Os valores de L^* , a^* e b^* no interior das amostras embaladas apresentaram grandes oscilações devido sua heterogeneidade.
- A avaliação microbiológica revelou que nas contagens psicrófilos, apesar de observar um aumento no passar dos dias, não apresentaram diferença estatística entre as embalagens,
- Em relação a oxidação lipídica/oxidação de Proteínas e a avaliação sensorial, observou-se que a partir de 28 dias de armazenamento, as amostras armazenadas nas embalagens PEBD, apresentaram um ligeiro sabor rancificado sensorialmente, também apresentou maior valor do grupo carbonil, menor valor do grupo sulfidrilas e maior valor de TBARS, ficando bem visível que para as condições estudadas neste trabalho, a embalagem de PEBD apresentou o pior desempenho.
- As embalagens de Nylon Poli, e EVOH apresentaram resultados similares, não sendo encontradas diferenças significativas entre ambas, para armazenamento da linguiça Toscana resfriada a 8°C, durante os 35 dias avaliados.

7. SUGESTÃO PARA TRABALHOS FUTUROS

Para um trabalho futuro seria interessante a verificação, destas mesmas embalagens em condições resfriadas, porem ao invés de apenas possuir vácuo, também trabalharmos com situações de atmosfera modificada, internamente.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AHMAD, S.; SRIVASTAVA, P. K. Quality and shelf life evaluation of fermented sausages of buffalo meat with different levels of heart and fat. *Meat Science*, v. 75, p. 603-603, 2007.

ALMEIDA, R.B. BESERRA, Uso de colágeno solubilizado como substituto de gordura em emulsão cárnea. XX CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS. 2005.

ANDREO, A. I.; DOVAL, M. M.; ROMERO, A. M.; JUDIS, M. A. Influence of heating time and oxygen availability on lipid oxidation in meat emulsions. *European Journal of Lipid Science and Technology*, Weinheim, v. 105, n. 5, p. 207-213, May 2003.

AYLA SOYER *, BERNA OZALP, ULKU DALMIS, Bilgin Effects of freezing temperature and duration of frozen storage on lipid and proteina oxidation in chicken meat *Food Chemistry* 120 (2010) 1025–1030

ARAUJO, M.A.J. Química dos alimentos-Teoria e prática. 2.ed. - Viçosa: UFV, 416p. 2009.

ARIMA, H. K.; LEMOS, A. L. S. C. Importância da Qualidade das Matérias-Primas Cárneas no Processamento e Embutidos. In: CTC/ITAL (Ed.). *Princípios do Processamento de Embutidos Cárneos*. Campinas: CTC/ITAL, 2002, p. 137-150.

BAGGIO, E. S.; SANTANA, L. R. R.; CARVALHO, R. D. S.; ANDRADE, G.; LEITE, C. C. Aproveitamento industrial de marisco na produção de lingüiça. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*. Campinas, v. 24, n. 4, p. 664-668, dez., 2004.

BARON, C. P.; ANDERSEN, H. J. Mioglobin-induced lipid oxidation. A review. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Washington, v. 50 n.14, p. 3887-3897, Jul., 2002.

BARYLKO-PIKIELNA, N. & MATUSZEWSKA, I. Sensory Analysis in Food Research, Quality Assurance and Product Development. *Acta Alimentaria*, Budapest, v. 29 n. 3, p. 255-271, Sep., 2000.

BELITZ, H. D.; GROSCH, W. *Food Chemistry*. 2ª ed. Berlin: Springer, 1999. Cap. 3, p. 152-235.

BERNARDES, L. A. H.; PRATA, L. F. Principais Métodos de Determinação de Qualidade da Carne. Disponível em, 2264, 2001.

BERSET & CUVELIER. Safety from seed to supermarket and beyond. *Agricultural-Science*, [S.l], V. 10, n. 1, p. 29-31. 2006.

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

BOSELLI, E.; CABONI, M. F.; RODRIGUEZ-ESTRADA, M. T.; TOSCHI, T. G.; DANIEL, M.; LERCKER, G. Photooxidation of cholesterol and lipids of turkey meat during storage under commercial retail conditions. *Food Chemistry*, Oxon, v. 91, n. 4, p. 705-713, Aug., 2005.

BRASIL, Vigilância Sanitária. Portaria nº1004 de 11 de dezembro de 1998. Atribuição de função dos aditivos e seus limites máximos de uso para a Categoria – Carnes e Produtos Cárneos. 2006.

BRASIL, Ministério da Agricultura. Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Lingüiças Frescas. Diário Oficial, Brasília, nº419. seção 1, p.7-12, 2000.

BOTE, M. S.; MC KEITH, F.; SPROULS, G. Sodium lactate effect on shelf life, sensory and physical characteristics of vacuum package fresh pork sausage. Journal of Muscle Foods, Trumbull, v. 4, p. 179-192, 2005.

CANHOS, P. A. L.; DIAS, E. L. Tecnologia de carne bovina e produtos derivados, 1ª ed., Campinas: Fundação Tropical de Pesquisa e Tecnologia (FTPT), 2003.

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

CETEA. Embalagem para Produtos Cárneos. Campinas, S.P. 2001.

CETEA. Embalagem para Produtos Cárneos. Campinas, S.P. 2006.

CHARLES, GUILLAUME, GONTARD. Improvement of shelf stability and processing properties of meat products by gamma irradiation. Radiation Physics and Chemistry, Oxon, v. 63, n. 3-6, p. 361-364, Mar, 2008.

CHURCH, I. J., PARSONS, A. L. Modified Atmosphere Packaging Technology: a Review. Journal of Science and Food Agriculture, W Sussex, v. 67, n. 2, p. 143- 152, Feb., 2005.

CHOI, S. H.; CHIN, K. B. Evaluation of sodium lactate as a replacement for conventional chemical preservatives in comminuted sausages inoculated with *Listeria monocytogenes*. Meat Science, Oxon, v. 65, n. 1, p. 531-537, Sep., 2003.

CLEMENTE, E.S. A garantia da segurança dos alimentos perecíveis no setor supermercadista. 2003. 279p. Dissertação (Doutorado em Alimentos e Nutrição)

COCOLIN, L.; RANTSIOU, K.; IACUMIN, L.; URSO, R.; CANTONI, C.; COMI, G. Study of the Ecology of Fresh Sausages and Characterization of Populations of Lactic Acid Bacteria by Molecular Methods. *Applied and Environmental Microbiology*, Washington, v. 70, n. 4, p. 1883-1894, Apr., 2004.

COUSIN, M. A.; JAY, J. M.; VASAVADA, P. C. Psychrotrophic microorganisms. In: VANDERZANT, C. & SPLITTSTOESSER, D.F., (Ed.). *Compendium of methods for the microbiological examination of foods*. 3^a ed. Washington: American Public Health Association, 1992. Chap. 9, p. 153-168.

COVENTRY, J.; HICKEY, M. W. Growth characteristics of meat *starters* cultures. *Meat Science*. Oxon, v. 29, n. 30, p. 41-48, 1991.

DABÉS, A.C.; SANTOS, W.L.M.; PEREIRA, E.M. Atividade antimicrobiana de bactérias lácticas isoladas de produtos cárneos frente a *Listeria monocytogenes* e *Staphylococcus aureus*. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v. 53, n. 1, p. 136-140, Fev., 2001.

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.

ELIAS, KELLER BY DECKER. Thiobarbituric acid reaction and autoxidations of polyunsaturated fatty acid methyl esters. *Archives of Biochemistry and Biophysics*. San Diego, v 98, n. 2, p. 253-261, Aug., 2008.

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. Culinary herbs inhibit lipid oxidation in raw and cooked minced meat patties during storage. *Journal of Science of Food and Agriculture*, W Sussex, v. 79 n. 2, p. 277-285, Feb., 2008.

FAO – Food and Agriculture Organization of the United Nations. *Assessment and Management of Seafood Safety and Quality*. Rome, 2002. I.V. Savic.

FERNANDES, M. H. C., *Migração de Componentes de Embalagem Plásticas para Alimentos – SBCTA 2002*.

FENAILLE, W, et al *Fabricacion fiable de embutidos*. Editorial Acriba, S. A., Zaragoza, España, 2003.

FERNANDEZ Jr., F. F. Vis a vis: Produtos especiais da Fatiare ganha projeção Nacional após parceria com Ceratti. *Revista Nacional da Carne*. São Paulo, v. 309, nov., 2005.

FRANKEL, E. N. The chemistry of meat pigments. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Washington, v.14, n. 3, p. 207-210, May-Jun., 2003.

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, ago., 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, May, 2004.

GEORGANTELIS; OLCOTT, H. S.; HARRIS, L. S. Catalysis of unsaturated lipid oxidation by iron protoporphyrin derivatives. Archives protoporphyrin derivatives. Archives of Biochemistry and Biophysics. San Diego, v. 101, n. 1, p. 14-20, Apr., 2007.

GERD J. A et al. Protein–protein crosslinking in food: methods, consequences, applications *Trends in Food Science & Technology, Volume 13, Issue 12, December 2007, Pages 391-399.*

GIL, A. Y; DOMINGUEZ, F. Y. Preparacion, fabricacion y defectos de los embutidos curados. Madrid, Ediciones Ayala, 2002. 194p.

GONÇALVES, L. A. G. Quim. Nova, Artigo aprovado para publicação em 8 nov. 2004.

GOULD, G. W. Methods for preservation and extension of shelf life. International Journal of Food Microbiology, Amsterdam, v. 33, n. 1, p. 51-64, Nov., 2006.

GRAY, J. I. Measurement of lipid oxidation: a review. Journal of the American Oil Chemists Society. Champaign, v. 55, n. 6, p. 539-546, Jun., 1978.

HALLIWELL, W. P.; BANTLEON, A.; MIN, S. Lactic acid bacteria in meat fermentation. FEMS Microbiology Review. v.87:165-174. 2005.

HAMILTON, ROSSELL, HUDSON. Influence of heme pigments, nitrite and non-heme iron in development of warmed-over-flavor (WOF) in cooked meat. Journal of Agriculture and Food Chemistry. Washington, v. 27, n. 4, p. 838- 842, 2003.

HARMS, C.; FUHRMANN, H.; NOWAK, B.; WENZEL, S.; SALLMANN, H. Effect of dietary vitamin E supplementation on the shelf life of cured pork sausage. Meat Science, Oxon, v. 63, n 1, p. 101-105, Jan. 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.

HEDRICK, H. B.; ABERIE, E. D.; FORREST, J. C.; JUDGE, M. D.; MERKEL, R. A. *Principles of meat science*. 3rd ed. Dubuque: Kendall/Hunt Publishing Company, 1994. 354p.

HOLT, G.; HENSON, S. Quality assurance management in small meat manufactures. *Food Control*, Oxon, v. 11, n. 4, p. 319-326, Aug., 2000.

HONKAVAARA, M. Influence of PSE pork on the quality and economics of cooked, cured ham and fermented dry sausage manufacture. *Meat Science*, v.24, p.201-207, 2004.

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.

ICMSF – International Commission on Microbiological Specifications for Foods. *Ecologia Microbiana de los Alimentos*. Volumen II. Zaragoza: Editorial Acribia S.A., 2000. 989 p.

INBRAGEL- Instituto Brasileiro de Alimentos Supercongelados. *Recomendações para Manuseio e Armazenagem*, 1993.

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]

ITAL – Instituto de Tecnologia de Alimentos. Suínos: Abate, Corte e Processamento na Área Rural e Processamento Artesanal de Produtos com Carne Suína. Campinas: CTC, 2005

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, Nov., 2001.

JOHNSTON, R. W.; TOMPKIN, R. B. Meat and poultry products. In: VANDERZANT, C. & SPLITTSTOESSER, D.F. (Ed.). *Compendium of methods for the microbiological examination of foods*. 3^a ed. Washington: American Public Health Association, 2002. Chap. 44, p. 821-836.

KRANNER, Application of the Hazard Analysis Critical Control Point (HACCP) system to ensure microbiological safety and quality. London: Blackwell Science, 1994.

KITAKAWA, J. H. A. Efeito do lactato de sódio na vida de prateleira de lingüiça mista frescal. 2002. 111p. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) – Faculdade de Engenharia de Alimentos da Universidade Estadual de Campinas, Campinas.

KUBITZA, F. – Tecnologia e Planejamento na Produção Comercial. Jundiaí, SP, 2000.

KUBOW. Padrão de concorrência e estrutura competitiva da indústria suinícola catarinense. 1992.

LAKDAS N. FERNANDO, ERIC P. BERG, INGOLF U. Grun Quantitation of hexanal by automated SPME for studying dietary influences on the oxidation of pork\$. *Journal of Food Composition and Analysis* 2003.

LAWRIE, R.A. Ciência da Carne. Porto Alegre, Artmed, 2005.

LEVINE, R. L.; REZNICK, A. Z.; PACKER, L. Oxidative damage to proteins: Spectrophotometric method for carbonyl assay. *Methods in Enzymology*, v. 186, p. 357–363, 1990.

LÜCKE, F. K. Utilization of microbes to process and preserve meat. *Meat Science*, Oxon, v. 56, n. 2, p. 105-115, Oct., 2000.

MAGGIONI, D., ROTTA, P. P., PRADO, R. M., ZAWADZKI, F., ITO, R. H., PRADO, I. N. Fatores que afetam a estabilidade da carne. *Revista Nacional da carne*. N 374, v.32, abril 2008.

MEILGARD.; FRIES, L. L. M.; PAZ, P. B.; BELLÉ, M. Bioproteção de lingüiça de frango. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*. Campinas, v. 23, n. 2, p. 161-166, 1991.

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*, New York, v. 216, n. 6, p. 463-469, Jun., 2003.

OGAWA, M., MAIA, E. L. Manual de Pesca: Ciência e Tecnologia do Pescado. São Paulo: Varela, 2009.

O'GRADY, M. N.; MONAHAN F. J.; BURKE, R. M.; ALLEN, P. The effect of oxygenlevel and exogenous α -tocopherol on the oxidative stability of minced beef in modified atmosphere packs. *Meat Science*, Oxon, v. 55, n. 1, p. 39-45, 2000.

OLIVO, Rubison; SHIMOKOMAKI, Massami. Carnes: No Caminho da Pesquisa. Cocal do Sul, Imprint, 2005.

OLIVO, Rubison; SHIMOKOMAKI, Massami. Carnes: No Caminho da Pesquisa. Cocal do Sul, Imprint, 2007.

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

OSAWA, et al. Teste de TBA aplicado a carnes e derivados: métodos tradicionais, modificados e alternativos, 2005.

PADILHA, D.G.A. Antioxidante natural de erva mate na conservação de carne de frango *in vivo*. Santa Maria, 2007.

PARK, M. A. R. Manual de Controle Higiênico-Sanitário e Aspectos Organizacionais para Supermercados de Pequeno e Médio Porte. 2009.

PEARSON, A. M.; GILLET, T. A. Processed meats. 3rd ed. New York: Chapman & Hall, 1996.

PEREIRA, F. Curso de estatística experimental, 13^a ed. São Paulo: Nobel, 2000.

POLLONIO, M. A. R. Estudo das propriedades funcionais das proteínas miofibrilares e oxidação lipídica de carne de frango mecanicamente desossada, 2004.

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

PURCHAS, R. W.; RUTHERFORD, 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 acid-C18 method for measuring lipid peroxidation in beef. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Washington, v. 40, n. 11, p. 2182-2185, Nov., 1992.

RIZVI, S. S. H. Rheological properties of comminuted meat systems. *Food Technology*, Chicago, v. 35, n. 5, p. 238-243, 1981.

RODRÍGUES, M.; NÚÑEZ, F.; CÓRDOBA, J.J.; BERMÚDEZ, M.E. ASENSIO, M.A. Evaluation of proteolytic activity of micro-organisms isolated from dry cured ham. *Journal of Applied Microbiology*, v.85, p.905-912, 1998.

ROSA, C. M. Purificação e mecanismo de ação de uma bacteriocina produzida por *Lactobacillus sake* 2a isolado de lingüiça frescal. 2001.

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.

SALLAM, K. I.; ISHIOBOROSHI, M.; SAMEJIMA, K. Antioxidant and antimicrobial effects of garlic in chicken sausage. *Lebensmittel-Wissenschaft Und-Technologie – Food Science and Technology*, San Diego, v. 37, n. 8, p. 849-855, 2004.

SARANTÓPOULOS, C. I. G. L.; OLIVEIRA, L. M. A embalagem plástica e a conservação de produtos cárneos. *Alimentos & Tecnologia*, São Paulo, v. 5, n. 30. P. 86-92, 2001.

SARANTÓPOULOS, C. I. G. L.; OLIVEIRA, L. M. Embalagem Plástica para produtos cárneos curados. In: CETEA. (Ed.). Embalagens para produtos cárneos. Campinas: ITAL, 2004.

SCHOENI, J. L.; BRUNNER, K.; DOYLE, M. P. Rates of thermal inactivation of *Listeria monocytogenes* in beef and fermented beaker sausage. *Journal of Food Protection*, Des Moines, v. 54, n. 5, p. 334-337, May, 1991.

SEBRANEK, J. G.; SEWALT, V. J. H.; ROBBINS, K. L.; HOUSER, T. A. Comparison of a natural rosemary extract and BHA/BHT for relative antioxidant effectiveness in pork sausage. *Meat Science*, Oxon, v. 69, n. 2, p. 289-296, Feb., 2005.

SOVER, G.M.; DRAPER, H.H. Survey of malonaldehyde content of retail meats and fish. *Journal of Food Science*, Chicago, v. 43, n. 4, p. 1147-1149, 2010.

SOARES, J. & BENITEZ, L. B. Análises de Pontos Críticos no Abate de Frangos Através da Utilização de Indicadores Microbiológicos. XX Congresso Brasileiro de Microbiologia, 1999.

SAIDIA, 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, 2003.

SHAD, F; SYNOMIECKI, J. Protein hydrolyzates from seal meat as phosphate alternatives in food processing applications. *Food Chemistry*, v60, n.1, p.29-32, 1985.

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.

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

SWANSON, K. M. J.; BUSTA, F. F.; PETERSON, E. H.; JOHNSON, M. G. Colony count methods. In: VANDERZANT, C. & SPLITTSTOESSER, D.F. (Ed.).

Compendium of methods for the microbiological examination of foods. 3 ed. Washington: American Public Health Association, 2002.

TERRA, N. N.; BRUM, A. R. M, Carne e seus derivados. Técnicas de Controle de Qualidade, 2002.

TERRA, N. N.; CICHOSKI, A. J.; FREITAS, R. J. S. Aspectos microbiológicos e físico-químicos da parte interna da paleta suína curada, maturada e fermentada durante a etapa de processamento e armazenamento. Ciência Rural, v. 38, n. 4, 2008.

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

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, 1989.

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

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.

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 2000.