

UNIVERSIDADE REGIONAL INTEGRADA DO ALTO URUGUAI E MISSÕES

URI ERECHIM

DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS

PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA DE ALIMENTOS

**AVALIAÇÃO DO USO DE FUMAÇA LÍQUIDA EM LINGUIÇA TIPO
CALABRESA COZIDA E DEFUMADA**

RODRIGO SCHWERT

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

Orientadores: Eunice Valduga

Helen Treichel

ERECHIM, RS - BRASIL

MARÇO DE 2014

AVALIAÇÃO DO USO DE FUMAÇA LÍQUIDA EM LINGUIÇA TIPO CALABRESA
COZIDA E DEFUMADA

RODRIGO SCHWERT

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

Comissão Julgadora:

Prof. Eunice Valduga, D. Sc.
Orientadora

Prof. Helen Treichel, D. Sc.
Orientadora

Prof. Carlos Prentice Hernández, D. Eng.
(FURG)

Prof. Ivo Mottin Demiate, D. Sc.
(UEPG)

Prof. Alice T. Valduga, D. Sc.
(URI)

Prof. Geciane Toniazzo Backes, D. Sc.
(URI)

Erechim, Março de 2014

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

DEDICATÓRIA

Dedico a minha esposa Andrea
e meus queridos filhos Matheus e Mariana.
Pelo amor, carinho, incentivo, e compreensão
pela ausênciasempre.

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.

A AURORA ALIMENTOS, pelo apoio, cooperação e incentivo à minha atualização profissional.

A professora 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.

Ao funcionário da Aurora - Pesquisador Roberto Verlindo, que muito contribuiu na execução dos trabalhos.

A doutoranda Juliana Marques Soares e a Bolsista Michele Peccin da URI que muito contribuíram na execução dos trabalhos, pela grande ajuda na realização da parte experimental

Aos meus pais pelo incentivo sempre.

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

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

AVALIAÇÃO DO USO DE FUMAÇAS LÍQUIDAS EM LINGUIÇA TIPO CALABRESA COZIDA E DEFUMADA

RODRIGO SCHWERT

Março / 2014

Orientadores: Eunice Valduga

Helen Treichel

No Brasil, as linguiças são os produtos cárneos mais consumidos, com processamento relativamente simples e, empregando-se normas higiênico-sanitárias adequadas, a produção pode ser bastante rentável. É um produto altamente perecível, uma vez que a extensiva manipulação inerente ao processo torna o produto vulnerável às alterações de ordem físico-química, microbiológica e organolépticas. Neste sentido, o objetivo deste trabalho foi avaliar a estabilidade de linguiça tipo Calabresa cozida, submetida ao tratamento com aplicação de fumaças líquidas comerciais (A e B), armazenadas a 20°C por um período de 28 dias. O acompanhamento da estabilidade foi realizado mediante determinações físico-químicas (oxidação de lipídios: TBARS; composição de ácidos graxos: palmítico, esteárico, oléico, linolênico e o linoléico; oxidação de proteínas: grupos carbonil e sulfidrilas; cor objetiva: a*, b*, L*, benzopirenos), microbiológica (bactérias lácticas) e organolépticas (sabor). Durante o período de armazenamento verificou-se o desenvolvimento de oxidação lipídica, com valores de TBARS na faixa de 0,44 mg MDA/kg. A oxidação proteica foi aumentando gradativamente com o armazenamento nos tratamentos, com valores de 1,59 a 4,04 nmol/mg de proteína. Em relação aos ácidos graxos saturados verificou-se um

incremento principalmente no teor de ácido palmítico com o decorrer do período de armazenamento, os teores encontrados foram de 2,48 a 4,41 g de ácido palmítico/100 g. Na determinação objetiva da cor os tratamentos com fumaça líquida apresentaram uma maior estabilidade de cor durante o tempo de armazenamento, variando pouco a sua luminosidade (L^*). Na avaliação de benzopireno, não foram detectados nas amostras tratadas com fumaça líquida pelo método analisado, já na amostra com defumação convencional apresentou valor de 0,19 $\mu\text{g}/\text{kg}$.

Palavras-chave: Linguiça; Calabresa; defumação; vida útil; aroma fumaça.

ABSTRACT

In Brazil, sausages are the most consumed of meat products, with relatively simple processing, where adequate hygienic and sanitary standards are kept and production can be quite profitable. It is a highly perishable product, since the extensive manipulation inherent in the process makes the product vulnerable to changes of the physico-chemical, organoleptic and microbiological order. In this sense, the purpose of this study was to evaluate the stability of cooked sausage of the Pepperoni type, subjected to a treatment with the application of commercial liquid smoke (A and B), stored at 20° C for a period of 28 days. Monitoring of stability was achieved by physical-chemical determinations (lipid oxidation: TBARS, fatty acid composition: palmitic, stearic, oleic, linoleic and linolenic acids; oxidation of proteins: sulfhydryl and carbonyl groups; objective color: a*, b* , L*, benzopyrenes), microbiological (lactic acid bacteria) and organoleptic (flavor). During the storage period, the development of lipid oxidation with TBARS values in the range of 0.44 mg MDA/kg was observed. Protein oxidation was gradually increased with storage in treatments, with values from 1.59 to 4.04 nmol/mg protein. Regarding the saturated fatty acids, an increase mostly in palmitic acid content during the storage period was found. The levels were from 2.48 to 4.41g of palmitic acid/100g. On the determination of color, liquid smoke treatments showed greater color stability during storage time, with little luminosity (L*) variation. On the evaluation of benzopyrene, it was not detected in the samples treated with liquid smoke through the analyzed method, whereas in the sample from conventional smoking showed a value of 0.19 µmg/kg.

Keywords: Sausage; Pepperoni; smoking; shelf life; smoke aroma.

Sumário

LISTA DE FIGURAS	XI
LISTA DE TABELAS	XV
1. INTRODUÇÃO	17
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	19
2.1 Linguiça	19
2.2 Caracterização de Linguiça Calabresa	19
2.3 Processamento da Linguiça Calabresa Cozida e Defumada	20
2.4. Processo de Defumação	21
2.4.1. - Definição e Efeitos da Defumação	21
2.4.2. Defumação Convencional	24
2.4.3 Fumaça Líquida	28
2.5. Alterações de Produtos Cárneos	31
2.5.1 Oxidação de lipídios	31
2.5.2 - Oxidação de Proteínas	37
2.6 Principais Características de Avaliação de Qualidade de Produtos Curados	43
2.6.1 <i>Cor</i>	43
2.6.2 Umidade	44
2.6.3 Atividade de água (<i>aw</i>)	45
2.6.4 <i>pH</i>	46
2.6.6 Microbiota da Linguiça	46
2.7 Considerações a respeito do estado da arte	48
3. MATERIAL E MÉTODOS	50
3.1 Preparo de Amostras	50
3.2. Avaliação da estabilidade das amostras	51
3.2.1 Determinação da Oxidação Lipídica	52
3.2.3. Determinação de Benzopireno:	54
3.2.3. Determinação Objetiva de Cor	55
3.2.4. Análises Microbiológicas - Contagem de bactérias lácticas	55

3.3. Análise sensorial	55
3.4. Análise estatística	56
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	57
4.1 Avaliação da estabilidade oxidativa	57
4.1.1 Oxidação de Lipídios – TBARs	57
4.1.2. Oxidação proteica – Grupos carbonil	61
4.1.3. Perfil de ácidos graxos.	72
4.2. Determinação Objetiva de Cor	95
4.3. Residual de Benzopirenos	105
4.4. Avaliação Microbiológica - bactérias lácticas	107
4.5. Avaliação Sensorial	109
5. CONCLUSÕES E SUGESTÕES	114
5.1 CONCLUSÕES	114
5.2 SUGESTÕES	115
6.REFERÊNCIAS	116

LISTA DE FIGURAS

Figura 1- Reações químicas que envolvem a formação de nitrosaminas (ITAL, 2003).	28
Figura 2 – Esquema de produção para obtenção de fumaça líquida (KERRY, 2004)...	29
Figura 3: Reação entre o ácido 2-tiobarbitúrico e o malonaldeído, formando o composto colorido, medido espectrofotometricamente a 532 nm (OSAWA, 2005).	35
Figura 4 - Estrutura de resíduos de aminoácidos propensos à oxidação (ITAL, 2003). 38	
Figura 5 - Representação esquemática das reações das proteínas com os lipídios oxidados (KAREL, SCHAICH e ROY, 1975).....	41
Figura 6 – Diagrama de Hunter Lab, com as variáveis L.a.b. (OLIVO & OLIVO,2005).	44
Figura 7: Gráfico de Pareto com o efeito estimado (valor absoluto) das variáveis estudadas no planejamento experimental 2 ² para TBARs das amostras de linguiça tipo Calabresa tratadas com a fumaça líquida “B”, aos 1ºdia (a), 7ºdia (b), 14º dia (c) e 28º dia (d) de armazenamento a 20°C.....	58
Figura 8: Gráfico de Pareto com o efeito estimado (valor absoluto) das variáveis estudadas no planejamento experimental 2 ² para os grupos carbonil de amostras de linguiça tipo Calabresa tratadas com fumaça líquida “A” no 7ºdia (a), 14ºdia (b) e 28ºdia (c) de armazenamento a 20°C,.....	62
Figura 9: Gráfico de Pareto com os efeitos estimados (valor absoluto) das variáveis estudadas no planejamento experimental 2 ² para os grupos carbonil de amostras de linguiça tipo Calabresa tratadas com fumaça líquida “B” no 14ºdia (a) e 28ºdia (b) de armazenamento a 20°C.....	64
Figura 10: Gráfico de Pareto com os efeitos estimados (valor absoluto) das variáveis estudadas no planejamento experimental 2 ² para os grupos sulfidrilas de linguiça tipo Calabresa tratada com fumaça líquida “A” no 1º dia (a), 7ºdia (b), 14ºdia (c) e 28º dia (d) de armazenamento a 20°C.....	67
Figura 11: Gráfico de Pareto com o efeito estimado (valor absoluto) das variáveis estudadas no planejamento experimental 2 ² para os grupos sulfidrilas de linguiça tipo	

Calabresa tratada com fumaça líquida “B” no 1º dia (a), 7º dia (b), 21º dia (c) e 28º dia (d) de armazenamento a 20°C.....	69
Figura 12: Gráfico de Pareto com os efeitos estimados (valor absoluto) das variáveis estudadas no planejamento fatorial 2 ² para o ácido palmítico em amostras de linguiça tipo Calabresa tratadas com fumaça líquida “A” no 1º dia (a), 14º dia (b), 21º dia (c) e 28º dia (d) de armazenamento a 20°C.....	72
Figura 13: Gráfico de Pareto com os efeitos estimados (valor absoluto) das variáveis estudadas no planejamento fatorial 2 ² para o ácido palmítico em amostras de linguiça tipo Calabresa tratadas com fumaça líquida “B” para o 1º dia (a), 21º dia (b) e 28º dia (c) de armazenamento a 20°C.....	74
Figura 14: Comportamento do ácido palmítico para as amostras de linguiça tipo Calabresa do tratamento com fumaça líquida “A” (a) e “B” (b) durante o período de armazenamento (20°C) de 28 dias.....	75
Figura 15: Gráfico de Pareto com o efeito estimado (valor absoluto) das variáveis estudadas no planejamento fatorial 2 ² para ácido esteárico de amostras de linguiça tipo Calabresa tratadas com fumaça líquida “A” no 1º (a), 7º (b), 14º (c), 21º(d) e 28º (e) dia de armazenamento a 20°C.....	78
Figura 16: Gráfico de Pareto com o efeito estimado (valor absoluto) das variáveis estudadas no planejamento fatorial 2 ² para ácido esteárico da linguiça tipo Calabresa tratada com fumaça líquida “B” no 1º, 7º, 14º, 21º e 28º dia de armazenamento a 20°C.....	80
Figura 17: Composição de ácido esteárico para amostras de linguiça tipo Calabresa do tratamento com a fumaça líquida A (a) e fumaça líquida B (b) durante o período de armazenamento de 28 dias (20°C).....	81
Figura 18: Gráfico de Pareto com o efeito estimado (valor absoluto) das variáveis estudadas no planejamento fatorial 2 ² para teor de ácido oléico no 14º (a), 21º (b) e 28º (c) dia de armazenamento a 20°C.....	84
Figura 19: Gráfico de Pareto com o efeito estimado (valor absoluto) das variáveis estudadas no planejamento fatorial 2 ² para teor de ácido oléico das amostras de linguiça tipo Calabresa tratadas com a fumaça líquida “A”, no 1º (a) 14º (b), 21º (c) e 28º (d) dia de armazenamento a 20°C.....	86

Figura 20: Composição de ácido oléico para amostras de linguiça tipo Calabresa do tratamento A (a) e B (b) durante o armazenamento a 20°C.....	87
Figura 21: Gráfico de Pareto com o efeito estimado (valor absoluto) das variáveis estudadas no planejamento experimental 2 ² para teor de ácido linoléico das amostras de linguiça tipo Calabresa tratadas com fumaça líquida “A” no 28ºdia de armazenamento a 20°C.....	89
Figura 22: Composição de ácido linolênico para amostras de linguiça tipo Calabresa do tratamento A (a) e B (b) durante o armazenamento a 20°C.....	91
Figura 23: Gráfico de Pareto com o efeito estimado (valor absoluto) das variáveis estudadas no planejamento experimental 2 ² para a cor (L*) em linguiça tipo Calabresa com fumaça A para o 1º dia (a) e 28º dia (b) de armazenamento a 20°C.....	94
Figura 24: Gráfico de Pareto com o efeito estimado (valor absoluto) das variáveis estudadas no planejamento experimental 2 ² para a cor (L*) em linguiça tipo Calabresa com fumaça B para o 1º dia (a), 7ºdia (b), 14ºdia (c) e 21ºdia (d) de armazenamento a 20°C.....	95
Figura 25: Gráfico de Pareto com o efeito estimado (valor absoluto) das variáveis estudadas no planejamento experimental 2 ² para a cor (a*) em linguiça tipo Calabresa com fumaça A para o 1º dia (a), 7ºdia (b) e 14ºdia (c) de armazenamento.....	97
Figura 26: Gráfico de Pareto com o efeito estimado (valor absoluto) das variáveis estudadas no planejamento experimental 2 ² para a cor (a*) em linguiça tipo Calabresa tratadas com fumaça líquida B para o 1º dia (a) e 21ºdia (b) de armazenamento a 20°C.....	99
Figura 27: Gráfico de Pareto com o efeito estimado (valor absoluto) das variáveis estudadas no planejamento experimental 2 ² para a cor (b*) em linguiça tipo Calabresa tratadas com fumaça líquida A para o 1º dia (a) e 28ºdia (b) de armazenamento a 20°C.....	100
Figura 28: Gráfico de Pareto com o efeito estimado (valor absoluto) das variáveis estudadas no planejamento experimental 2 ² para a cor (b*) em linguiça tipo Calabresa tratadas com fumaça líquida B para o 1º dia (a) e 21ºdia (b) de armazenamento a 20°C.....	102
Figura 29: Foto termográfica do gerador de fumaça.....	103

Figura 30: Análise sensorial para amostras de linguiça tipo Calabresa do tratamento A durante o período de armazenamento de 28 dias.....	107
Figura 31: Gráfico de Pareto com o efeito estimado (valor absoluto) das variáveis estudadas no planejamento experimental 2 ² para avaliação sensorial em linguiça tipo Calabresa com fumaça A para o 14 ^o dia (a) e 21 ^o dia (b) de armazenamento.....	108
Figura 32: Análise sensorial para amostras de linguiça tipo Calabresa do tratamento B durante o período de armazenamento de 28 dias.....	109
Figura 33: Gráfico de Pareto com o efeito estimado (valor absoluto) das variáveis estudadas no planejamento experimental 2 ² para avaliação sensorial em linguiça tipo Calabresa com fumaça B para o 14 ^o dia (a), 21 ^o dia (b), de armazenamento.....	110

LISTA DE TABELAS

Características físico-químicas da linguiça Calabresa cozida e defumada.....	20
Exemplo de formulação de linguiça tipo Calabresa defumada.....	21
Esquema representativo das etapas da reação de autooxidação. Fonte (ORDOÑEZ,2007).....	33
Tabela 4 – Variáveis independentes e níveis empregados no planejamento fatorial 2 ² para a defumação líquida (Fumaças comerciais A e B) das amostras de linguiça tipo Calabresa.....	50
Tabela 5: Matriz do planejamento fatorial 2 ² (valores codificados e reais) e valores de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARs) para as amostras de linguiça tipo Calabresa com fumaça “A” armazenadas a 20°C por 28 dias.....	57
Tabela 6: Matriz do planejamento fatorial 2 ² (valores codificados e reais) e valores de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARs) para as amostras de linguiça tipo Calabresa com fumaça “B” armazenadas a 20°C por 28 dias.....	57
Tabela 7: Matriz do planejamento fatorial 2 ² (valores codificados e reais) e resposta de grupos carbonil (nmol carbonil/mg proteína) para as amostras de linguiça tipo Calabresa com fumaça “A” para os 28 dias de armazenamento a 20°C.....	60
Tabela 8: Matriz do planejamento fatorial 2 ² (valores codificados e reais) e resposta de grupos carbonil (nmol carbonil/mg proteína) para as amostras de linguiça tipo Calabresa com fumaça B para os 28 dias de armazenamento a 20°C.....	63
Tabela 9: Matriz do planejamento fatorial 2 ² (valores codificados e reais) e resposta de grupos sulfidrilas (µmoles/mg de proteína) de amostras de linguiça tipo Calabresa tratadas com fumaça líquida “A” armazenadas a 20°C por 28 dias.....	66
Tabela 10: Matriz do planejamento fatorial 2 ² (valores codificados e reais) e resposta de grupos sulfidrilas (µmoles/mg de proteína) de amostras de linguiça tipo Calabresa tratadas com fumaça líquida “B” armazenadas a 20°C por 28 dias.....	68
Tabela 11: Matriz do planejamento fatorial 2 ² (valores codificados e reais) e comportamento do ácido palmítico (g/100g de amostra) nas amostras de linguiça tipo Calabresa tratadas com fumaça líquida “A” aos 28 dias de armazenamento a 20°C.....	71
Tabela 12: Matriz do planejamento fatorial 2 ² (valores codificados e reais) e resposta em ácido palmítico (g/100g) nas amostras de linguiça tipo calabresa tratadas com fumaça líquida “B”, para os 28 dias de armazenamento a 20°C.....	73

Tabela 13: Matriz do planejamento fatorial 2^2 (valores codificados e reais) e resposta em ácido esteárico (g/100g) das amostras de linguiça tipo Calabresa tratadas com fumaça líquida “A” para os 28 dias de armazenamento a 20°C.....	76
Tabela 14: Matriz do planejamento fatorial 2^2 (valores codificados e reais) e resposta de composição de ácido esteárico (g/100g) das amostras de linguiça tipo Calabresa com fumaça B para os 28 dias de armazenamento (20°C).....	79
Tabela 15: Matriz do planejamento fatorial 2^2 (valores codificados e reais) e resposta em ácido oléico (g/100g) para a linguiça tipo Calabresa tratada com fumaça líquida “A”, aos 28 dias de armazenamento a 20°C.....	83
Tabela 16: Matriz do planejamento fatorial 2^2 (valores codificados e reais) e resposta de composição de ácido oléico (g/100g) para a linguiça tipo Calabresa tratada com fumaça líquida “B”, aos 28 dias de armazenamento a 20°C.....	85
Tabela 17: Matriz do planejamento fatorial 2^2 (valores codificados e reais) e resposta de composição de ácido linoléico (g/100g) para as amostras de linguiça tipo Calabresa com fumaça líquida “A” para os 28 dias de armazenamento a 20°C.....	88
Tabela 18: Matriz do planejamento fatorial 2^2 (valores codificados e reais) e resposta em ácido linoléico (g/100g) para as amostras de linguiça tipo Calabresa tratadas com fumaça líquida “B” para os 28 dias de armazenamento a 20°C.....	90
Tabela 19: Matriz do planejamento fatorial 2^2 (valores codificados e reais) e avaliações de cor (L^*) de amostras de linguiça tipo Calabresa tratadas com fumaça líquida A aos 28 dias de armazenamento a 20°C.....	93
Tabela 20: Matriz do planejamento fatorial 2^2 (valores codificados e reais) e avaliações de cor (L^*) de amostras de linguiça tipo Calabresa tratadas com fumaça líquida B aos 28 dias de armazenamento a 20°C.....	94
Tabela 21: Matriz do planejamento fatorial 2^2 (valores codificados e reais) e avaliações de cor (a^*) de amostras de linguiça tipo Calabresa tratadas com fumaça A aos 28 dias de armazenamento a 20°C.....	96
Tabela 22: Matriz do planejamento fatorial 2^2 (valores codificados e reais) e resposta em cor a^* de linguiças tipo Calabresa tratadas com fumaça líquida B durante o armazenamento a 20°C.....	98

Tabela 23: Matriz do planejamento fatorial 2^2 (valores codificados e reais) e resposta em cor b^* de linguiças tipo Calabresa tratadas com fumaça líquida A durante o armazenamento a 20°C.....	100
Tabela 24: Matriz do planejamento fatorial 2^2 (valores codificados e reais) e resposta em cor b^* de linguiças tipo Calabresa tratadas com fumaça líquida B durante o armazenamento a 20°C.....	101
Tabela 25: Residual de benzopirenos nas amostras de linguiça tipo calabresa com defumação líquida comercial A e B e defumação tradicional.....	102
Tabela 26: Matriz do planejamento fatorial 2^2 (valores codificados e reais) e contagem bactérias lácticas (Log UFC/g de amostra) de amostras de linguiça tipo Calabresa tratadas com fumaça líquida A aos 28 dias de armazenamento a 20°C.....	105
Tabela 27: Matriz do planejamento fatorial 2^2 (valores codificados e reais) e contagem bactérias lácticas (Log UFC/g de amostra) de amostras de linguiça tipo Calabresa tratadas com fumaça líquida B aos 28 dias de armazenamento a 20°C.....	105
Tabela 28: Matriz do planejamento fatorial 2^2 (valores codificados e reais) e avaliações sensorial de amostras de linguiça tipo Calabresa com fumaça “A” aos 28 dias de armazenamento.....	107
Tabela 29: Matriz do planejamento fatorial 2^2 (valores codificados e reais) e avaliações sensorial de amostras de linguiça tipo Calabresa com fumaça B aos 28 dias de armazenamento.....	109

1. INTRODUÇÃO

A origem do processamento de carnes é remota e, provavelmente, surgiu a partir do momento que a humanidade aprendeu a trabalhar com o sal como agente de preservação. Os embutidos, particularmente, estão entre as formas mais antigas de processamento de carnes, preservados por um conjunto de métodos, dentre os quais, a secagem, salga, defumação, condimentação e, às vezes, o cozimento.

Alguns povos da Ásia Menor moíam carnes parcialmente desidratadas e faziam embutidos com adição de condimentos. Mais tarde, de forma independente, esta descoberta foi feita pelos chineses e, então, vários tipos de embutidos foram produzidos 2000 anos antes da Era Cristã (BORGSTRON, 1976). No Brasil, as primeiras formulações de embutidos chegaram com imigrantes europeus. Hoje, existe uma infinidade de tipos, feitos com diferentes carnes, temperos, formatos e formas de processamento. Muitas linguiças são designadas segundo as regiões onde foram desenvolvidas; é o caso das linguiças calabresa (Calábria, Itália), toscana (Toscana, Itália), portuguesa (Portugal), entre outras (TERRA, 1998). A linguiça para ser classificada como Calabresa deve ser obtida exclusivamente de carne suína, curada, e adicionada de ingredientes, devendo ter o sabor picante característico da pimenta calabresa, submetidas ou não ao processo de estufagem ou similar para desidratação e ou cozimento, sendo o processo de defumação opcional (BRASIL, 2000).

Atualmente 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 fácil preparação para o consumo. Estes são requisitos encontrados no atual estilo de vida, seja em ocasiões de entretenimento ou na rotina da alimentação.

Os alimentos cárneos, devido a sua riqueza de umidade, proteínas, gorduras e outros nutrientes, são produtos bastante susceptíveis a alterações de ordem físico-química, microbiológica e sensorial. Entre estas alterações, a oxidação lipídica e a oxidação de pigmentos 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, 1999).

A defumação é uma centenária técnica de conservação de alimentos . No entanto, o processo de defumação convencional está sendo substituído pelo uso de da fumaça líquida. A fumaça líquida têm sido usada a mais de 30 anos, como conservantes e aromatizante de carne e peixe (Morais et al , 1996; Schindler , 1997). Muitas fumaças líquidas, também, são livres de compostos nocivos, tais como hidrocarbonetos aromáticos policíclicos – PAH. Além disso, a fumaça líquida proporciona uma maior uniformidade de sabor e cor sem a inconveniência de manipulação da madeira, carvão e fuligem da queima. No mercado estão disponíveis fumaças líquidas de composição diferente, os quais podem ser combinados para obter produtos com diferentes qualidades organolépticas. Por isso, é possível produzir produtos cárneos mais seguros, econômicos e uniformes, utilizando fumaça líquida .

Neste contexto, o objetivo deste trabalho foi utilizar a fumaça líquida em comparação a fumaça tradicional em linguiça tipo Calabresa cozida, e acompanhar a estabilidade durante o armazenamento a temperatura de 20°C. Assim sendo, o realizou-se a defumação em linguiças cozidas com o processo de aspersão de fumaça líquida, nos quais, as variáveis do processo, concentração de fumaças líquidas comerciais e tempo de contato foram ajustadas e avaliou-se os efeitos na qualidade do produto, mediante o acompanhamento das características físico-químicas (Oxidação de lipídios e proteínas, composição de ácidos graxos, cor objetiva, residual de benzopirenos), sensoriais, microbiológicas (contagem de bactérias lácticas) durante o armazenamento a 20°C.

O acompanhamento da estabilidade foi realizado mediante determinações físico-químicas (oxidação de lipídios: TBARS; composição de ácidos graxos: palmítico, esteárico, oléico, linolênico e o linoléico; oxidação de proteínas: grupos carbonil e sulfidrílas; cor objetiva: L*, a*, b* e resíduo de benzopireno), microbiológica (bactérias lácticas) e organolépticas (sabor).

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Linguiça

Desde a remota antiguidade o homem vem fabricando diferentes tipos de linguiças na busca de, ao conservar a carne, fornecer um produto à altura das aspirações do consumidor (TERRA, 1998).

A partir da idade média, diversas variedades de linguiças passaram a ser comercializadas, influenciadas fortemente pelo tipo de clima predominante na região. Climas frios intensificaram as variedades frescas cruas ou defumadas, enquanto que os climas mais quentes encontrados na Itália, parte sul da França e da Espanha, levaram a enfatizar os embutidos desidratados, mais precisamente os diferentes tipos de salames (TERRA, 1998).

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 submetidos ao processo tecnológico adequado.

Muitas linguiças são designadas segundo as regiões onde foram desenvolvidas; é o caso das linguiças Calabresa (Calábria, Itália), Toscana (Toscana, Itália), Portuguesa (Portugal), entre outras (TERRA, 1998).

2.2 Caracterização de Linguiça Calabresa

A linguiça para ser classificada como Calabresa deve ser obtida exclusivamente de carne suína, curada, e adicionada de ingredientes, devendo ter o sabor picante característico da pimenta calabresa, embutida em envoltório natural ou artificial, submetidas ou não ao processo de estufagem ou similar para desidratação e ou cozimento, sendo o processo de defumação opcional. Nas linguiças denominadas tipo Calabresa que são submetidas ao processo de cozimento, é permitindo a adição de até 20 % de Carne Mecanicamente Separada (CMS) (BRASIL, 2000).

A Tabela 1 apresenta as principais características físico-químicas da linguiça tipo Calabresa cozida e defumada.

Tabela 1. Características físico-químicas da linguiça Calabresa cozida e defumada

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

Fonte: BRASIL (2000).

2.3 Processamento da Linguiça Calabresa Cozida e Defumada

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, 1985).

Na fabricação de linguiça as carnes e o toucinho são moídos, normalmente, em disco de 8 mm e transportados até a misturadeira onde receberão as demais matérias-primas e ingredientes. Concluída a mistura, a massa é embutida em tripa suína ou bovina, atada em gomos com o tamanho característico (TERRA, 1998).

No processo convencional de defumação das linguiças, a defumação ocorrerá primeiro com intensa fumaça e aquecimento até que a temperatura interna da linguiça atinja 70°C. No caso de ser utilizada a fumaça líquida, a mesma deve ser aplicada efetuando-se três atomizações durante a permanência na estufa. A linguiça, assim fabricada, é embalada em embalagem plástica sob vácuo (TERRA, 1998).

Na Tabela 2 é apresentado um exemplo de formulação empregado em linguiça tipo Calabresa defumada.

Tabela 2. Exemplo de formulação de linguiça comercial tipo Calabresa defumada.

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

Fonte: TERRA (1998), adaptada

2.4. Processo de Defumação

2.4.1. Definição e Efeitos da Defumação

A defumação é um processo de aplicação, no alimento, de fumaça produzida pela combustão incompleta de algumas madeiras, com a finalidade de conferir aroma, sabor e cor característicos e prolongar a vida útil. Geralmente fazem parte do processo a secagem inicial, a deposição da fumaça e a secagem adicional e/ou cozimento do produto (ADICON, 1998)

No processo mais simples de defumação o produto é colocado em câmaras pré-aquecidas com carvão/lenha/eletricidade/gás, e a madeira é colocada no mesmo ambiente para a geração de fumaça. Após a deposição da fumaça diretamente no produto, o aquecimento completa o processo. É evidente que neste processo, o alimento fica exposto a todos os componentes da fumaça, tenham ou não estas, as funções desejadas (BLISKA, 1996).

Com o progresso na ciência identificando as substâncias ativas, e os aperfeiçoamentos introduzidos nos equipamentos, a fumaça passou a ser controlada e otimizada de maneira que produzisse somente os efeitos desejados no alimento, e eliminado os compostos indesejáveis à saúde ou ao ambiente. Foi desenvolvida então a fumaça líquida natural comercial, que pode funcionar como aditivo, uma vez que se apresenta numa forma estável, está pronta para ser diluída e ser aplicada. Este produto consta na lista GRAS (Generally Recognized as Safety) do FDA (Food and Drug Administration) dos EUA (ADICON, 1998). Naquele país, o termo “defumado naturalmente” está reservado para produtos que foram defumados por processos tradicionais, e o termo “*Amora natural de fumaça*” para produtos que foram defumados artificialmente com a fumaça líquida que é considerada um ingrediente. O sistema de aplicação da fumaça líquida vem sendo adotado nas indústrias, particularmente nas de maior escala de produção (ADICON, 1998).

Segundo o Artigo 424 do Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal (RIISPOA), entende-se por defumados os produtos que após o processo de cura são submetidos à defumação, para lhes dar aroma e sabor característico, além de um maior prazo de vida comercial por desidratação parcial (BRASIL, 1980a).

Num processo tradicional a defumação funciona como um conservante e promove alterações benéficas em relação à aparência e o sabor.

O efeito da conservação se deve à somatória dos seguintes fatores: 1) secagem da superfície do produto, que inibe o crescimento de micro-organismos, 2) da elevação da temperatura, que age na velocidade das reações, 3) da quantidade depositada de compostos fenólicos, ácidos e algumas carbonilas que têm propriedades bacteriostáticas e 4) da quantidade depositada de fenóis e produtos da reação de *Maillard* que inibem a oxidação da gordura (CANHOS e DIAS, 1983).

A aparência está relacionada com a cor característica da carne defumada, a qual é atrativa e serve como um índice de sabor para o consumidor. A cor final é dada ao produto deve-se: 1) à somatória dos efeitos da secagem que concentra os componentes coloridos da superfície, à cor dos compostos formados pela reação de Maillard e 2) pela mudança na textura e ação dos ácidos da fumaça quando da etapa de secagem (CANHOS e DIAS, 1983).

Vários compostos presentes na fumaça conferem sabor. As condições de temperatura, tempo, umidade e o tipo de madeira são fatores que afetam significativamente o sabor dos produtos defumados, pois afetam a quantidade depositada de cada substância ativa (MOELLER e LINDER, 1996).

A defumação dentro do processo, tem ação conservante. Mas tão somente a aplicação de fumaça não é suficiente para tornar o produto cárneo estável à temperatura ambiente, mas inibe o crescimento microbiano na superfície. Num produto cárneo a soma dos vários fatores como o uso na formulação dos sais cloreto de sódio e nitrito de sódio/potássio, a presença de tecido gorduroso (que contém menos água), o uso da secagem, causam ao longo do processo, a diminuição da atividade de água até valores tais que inibam o crescimento de bactérias (~ 0,90), ou mesmo de leveduras e bolores (0,88 e 0,80, respectivamente). A redução da atividade de água é o fator principal na conservação dos produtos defumados. Pode-se citar como exemplo bacon, salames, linguiças, presuntos crus, que podem apresentar vida-de-prateleira de até 6 meses em ambiente fresco e ventilado (MOELLER e LINDER, 1996).

Produtos que não apresentam estes valores de atividade de água têm uma vida-de-prateleira menor. As técnicas de manipulação posteriores ao cozimento do produto defumado, tais como armazenamento, depelagem, embalagem, exposição ao ar, porcionamento, reduzem grandemente a estabilidade do produto defumado. Estes produtos requerem a utilização de outras tecnologias de conservação como a refrigeração, embalagem a vácuo, embalagem em atmosfera modificada, proteção à luz, ou outro meio (MOELLER e LINDER, 1996).

2.4.2. Defumação Convencional

A quantidade e a velocidade da deposição da fumaça na superfície do produto cárneo, dependem do substrato de defumação, condições da estufa e dos tipos de madeiras empregadas (BLISKA, 1996).

As propriedades dos compostos da fumaça podem ser divididas em hidrófilas e lipófilas, é evidente que estes reagem de forma diferente com a carne. A umidade da superfície tem uma influência grande na deposição da fumaça. Por exemplo, a proporção de fenóis na superfície úmida pode ser 10 vezes maior que numa superfície seca. Os processos físicos de absorção e dissolução são decisivos na absorção de fumaça. Na defumação ocorrem reações químicas com proteínas, em particular os grupos NH_2 livres, que reagem com os componentes da fumaça produzindo uma reticulação e endurecimento do colágeno da tripa nos embutidos (BLISKA, 1996).

O calor afeta decisivamente, mudando a solubilidade dos compostos da fumaça; devido ao efeito de fusão da gordura e à desnaturação das proteínas. A desnaturação é diferente nas proteínas musculares em relação ao do tecido conjuntivo. Nas primeiras age aumentando a solubilidade dos componentes hidrofílicos da fumaça, por liberação de água na coagulação e acelerando a reação de formação da cor característica da superfície do defumado. Nas proteínas do tecido conjuntivo, o calor também as desnatura, promovendo hidrólise na superfície que auxilia na interação das substâncias da fumaça (BLISKA, 1996).

Os principais efeitos das condições da estufa no sistema convencional de defumação incluem (FESSMANN, 1995):

- a) Densidade da fumaça: Obviamente, quanto maior a densidade, maior a velocidade de deposição. A densidade é mantida, renovando-se a fumaça periodicamente;
- b) Velocidade do ar na câmara. Quando excessivamente alta, dificulta a deposição;
- c) Umidade relativa na câmara: O valor ótimo é aproximadamente 60 %, acima ocorrem condensação e gotejamento na superfície do produto. Umidade muito alta na estufa permite boa deposição dos componentes do sabor, porém desenvolve pouca cor;

d) Umidade do produto a ser defumado: Quando há excesso de umidade na superfície, o filme de água não permite o contato entre os compostos da fumaça e o substrato, superfícies muito secas, não permitem a reação adequada.

A qualidade da fumaça é muito importante quando o sabor é o principal efeito desejado no produto, recomenda-se neste caso, que se utilize madeiras duras. Madeiras moles podem resultar em cor de defumado excelente, porém o sabor não é o mais desejável. As madeiras duras, embora confirmam um sabor adequado, apresentarão uma formação mais lenta, tanto das substâncias do sabor como da cor. Exemplos de madeiras utilizadas no Brasil: noqueira, macieira, guabiroba, peroba e carvalho. Artesanalmente, sabugo de milho (mole) e eucalipto (resinosa) têm sido utilizados. Na República Dominicana e Guatemala se utiliza casca de arroz. Na Europa, em geral, se utilizam árvores de folhas secas. Nos países nórdicos, a bétula e o freixo. Nos EUA são utilizadas a noqueira americana e a mesquita (arbusto da família das leguminosas). Pode-se mencionar também outras madeiras utilizadas para defumar: olmo, plátano ou sicômoro, faia, pecã, castanheira, acácia, mogno, álamo, bordo e coníferas: abeto falso, abeto branco e pinho, sendo que estes últimos são resinosos. O pinho confere aparência escura e sabor amargo, típicos de alguns produtos regionais da Alemanha (ADICON, 1998).

A madeira é submetida a pirólise nas formas de tronco (madeira maciça), tronco mais serragem, maravalha, cavaco ou serragem. Os resíduos de serralheria geralmente não são apropriados, pois podem conter resinas ou colas. Madeiras impregnadas de substâncias conservantes tratadas, anteriormente utilizadas para outras finalidades, também não devem ser utilizadas (ADICON, 1998)

A madeira seca ao ar contém aproximadamente 20 % de água. O extrato seco consta de aproximadamente 50 % de celulose, 20 % de hemicelulose e 30 % de lignina (ITAL, 2003).

A celulose se hidrolisa primeiro a glucose e se converte por desidrogenação em 1,6-desidrogucose. Posteriormente, se transforma em ácido acético como produto final e numa pequena quantidade de furanos e fenóis (ITAL, 2003).

A hemicelulose não tem um fórmula estrutural única. As madeiras duras contêm mais pentosanas, enquanto que nas moles pode predominar as hexosanas. A hemicelulose de hexosana origina compostos análogos à celulose. Já as

hemiceluloses de pentosanas decompõem mais rapidamente com a ação do calor, e resultam em derivados do furano e de ácidos carboxílicos com cadeia aberta. É por esta razão que as madeiras duras geralmente geram mais ácidos que as moles (ITAL, 2003).

A lignina é que dá origem aos compostos mais importantes do aroma da fumaça. A fórmula estrutural se caracteriza por conter compostos fenólicos polissubstituídos, metila, etila, propila, vinila, alila, e propenila (ITAL, 2003).

No início da queima da madeira, existe um gradiente de temperatura entre a superfície externa e o interior. A temperatura ligeiramente superior a 100°C, ocorre a perda de água, até que a umidade no interior da madeira se aproxime de zero. Aí então, a temperatura aumenta rapidamente até 300 ou 400°C. Considera-se que os componentes mais importantes para a defumação sejam liberados entre 200 e 400°C. Na faixa de 200 a 260°C, ocorre a liberação de gases e acentuado aumento na liberação de ácidos voláteis. Entre 260 a 310°C é produzido o licor pirolíneo (condensado bruto da fumaça). À medida que a temperatura alcança 310°C ou acima, a lignina é decomposta, produzindo fenol e seus derivados (BLISKA, 1996).

Sob condição manual de defumação a temperatura de combustão da madeira varia de 100 a 400°C ou mais. Isto resulta na produção de mais de 300 componentes. Vários componentes da fumaça ainda sofrem, posteriormente, oxidação que resulta da introdução de oxigênio durante a defumação. Quando o ar é limitado severamente, a fumaça resultante é escura e contém grande quantidade de ácidos carboxílicos. Tal fumaça é geralmente indesejável para defumar carnes. Apesar da temperatura de combustão ser desejável para a máxima produção de fenóis, esta temperatura alta favorece a formação dos hidrocarbonetos aromáticos policíclicos (HAP), sendo o mais ativo o 3,4-benzopireno. Para minimizar a produção dessas substâncias carcinogênicas, a temperatura de combustão de 343°C parece ser mais viável. Até 400°C, os teores de 3,4-benzopireno detectados têm sido baixos, abaixo de 0,2 ppb, aquém dos limites de 1 ppb estabelecidos por alguns países (BLISKA, 1996).

A composição e a densidade da fumaça dependem da temperatura de combustão e da proporção de ar fresco na câmara de combustão. A mecanização dos geradores permite o fluxo e volume uniforme de fumaça. Os conhecimentos

atuais sobre a teoria da produção de fumaça, permitem que os parâmetros da formação desse aerosol sejam expressos em uma equação matemática. A composição da fumaça, entretanto, também depende da própria madeira, cuja composição não é constante ao longo do ano. A fumaça produzida em geradores a vapor super aquecido tem composição constante e contribui para a uniformidade da carne defumada (FESSMANN, 1995).

Em sistema aberto, a combustão ocorre na presença de ar e a variação na temperatura é maior, entre 300 a 450°C. Nas pequenas zonas de brasa candente ao vermelho as temperaturas chegam a 900°C, numa combustão sem chama de partículas de serragem. Esta zona determina a rapidez da combustão, afetando na temperatura e tem uma forte influência na composição da fumaça. Para retardar, umedece-se a madeira para que a evaporação da água retire o calor da zona de combustão. A madeira de baixo teor de água deve conferir melhor sabor ao produto defumado e as de alto teor, uma cor mais atrativa. Para acelerar a combustão aumenta-se a entrada de ar (FESSMANN, 1995).

Por processo de geração com a queima da madeira e por condensação em uma superfície mais fria, a fumaça pode ser coletada e armazenada para aplicação posterior no produto. O licor pirolíneo é a fumaça condensada bruta, sem a separação do alcatrão. Denominam-se ácidos pirolenhosos ao produto já removido do alcatrão, é um dos produtos mais antigos de conservação (ADICON, 1998).

De acordo com a importância do efeito no alimento, os componentes químicos da fumaça podem ser agrupados em 4 grandes grupos: ácidos, fenólicos, carbonílicos e hidrocarbonetos aromáticos e policíclicos (ITAL, 2003)

a) Ácidos - O componente principal no grupo dos ácidos é o ácido acético e os mesmos contribuem para a coagulação das proteínas, na superfície do produto. Somado ao efeito da secagem forma a retícula ou pele. Em salsichas esta formação auxilia a depelagem das tripas celulósicas;

b) Fenóis - Os fenóis são responsáveis pelo aroma e sabor de defumados e possuem ação antioxidante e bacteriostática. Podem reagir com as carbonilas e o nitrito do produto. Podem se acoplar ao ácido sulfúrico resultando compostos sulfônicos, mas nas quantidades habitualmente consumidas não representa perigo.

Os fenóis simples têm ação anticéptica, os polivalentes cresóis, catequinas podem sofrer nitrificação, também são inofensivos nas concentrações habituais;

As nitrosaminas são compostos que podem ser formados pelas reações entre alguns componentes da fumaça e os da massa cárnea. A Figura 1 apresenta as principais reações químicas envolvidas na formação das nitrosaminas. O bacon foi considerado um dos produtos cárneos com maior potencial para formar nitrosaminas, porque é aquecido até temperaturas elevadas para ser consumido. Todavia, as pesquisas têm demonstrado que níveis de nitrosaminas em bacon empregado na dieta são equivalentes ou mesmo estão abaixo de outros alimentos.

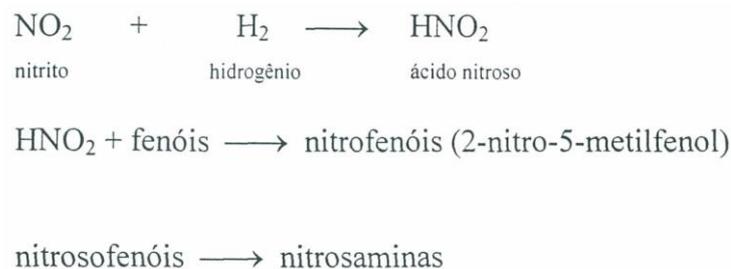


Figura 1- Reações químicas que envolvem a formação de nitrosaminas (ITAL, 2003).

c) Carbonilas - Os compostos carbonílicos são importantes no desenvolvimento da cor característica, castanho dourada brilhante na superfície dos produtos defumados. A cor é conferida pela reação não enzimática, entre as carbonilas e os grupos amins das proteínas da carne. Esta reação é conhecida como reação de Maillard. Os produtos de reação de Maillard também conferem o sabor de assado ao produto;

d) Hidrocarbonetos aromáticos policíclicos – O principal composto do grupo é o 3,4 benzopireno. Tem ação cancerígena. As quantidades nos alimentos variam desde traços não- quantificáveis a várias centenas de ppb ($\mu\text{g}/\text{kg}$ do alimento). As quantidades geradas na fumaça dependem da tecnologia utilizada para gerá-la. Em um produto obtido por defumação tradicional 60 a 75 % de benzopirenos são encontrados na superfície (ITAL, 2003).

2.4.3 Fumaça Líquida

A fumaça líquida natural é um produto comercial padronizado para ser aplicado em alimentos com a finalidade de promover a defumação. A fumaça líquida é obtida

por um processo de combustão parcial de madeiras selecionadas, condensação ou extração em água da fumaça até a saturação, eliminação por decantação do alcatrão e por filtrações sucessivas para retirada dos hidrocarbonetos aromáticos policíclicos (HAP). A fumaça líquida assim produzida é relativamente estável (ADICON, 1998).

A fumaça líquida é obtida a partir da queima de pó de madeira em fornalhas de altas temperaturas por um processo chamado de *flash* pirólise (Figura 2). Quando fala-se de Pirólise parte-se da queima de madeira através de forno rotatório, obtendo a fumaça gasosa que é recolhida em tanques de água quente a 65°C, onde grande parte da fumaça gasosa é suspensa na água. O residual da fumaça gasosa é decantado como o alcatrão que contém os elementos nocivos para a saúde. O alcatrão serve como combustível para o forno rotatório. A fumaça em suspensão na água passará por uma série de etapas de sedimentação, filtração, concentração e maturação. Obtendo-se finalmente uma grande quantidade de diferentes tipos de fumaça líquida (ADICON, 1998).

Mediante destilação fracionada obtém-se diferentes tipos de sabor e cor de fumaça em intensidades. Como produto final se consegue fumaças hidrossolúveis, lipossolúveis e em pó, conforme mostra Figura 2, esquema de produção da fumaça líquida (KERRY, 2004).

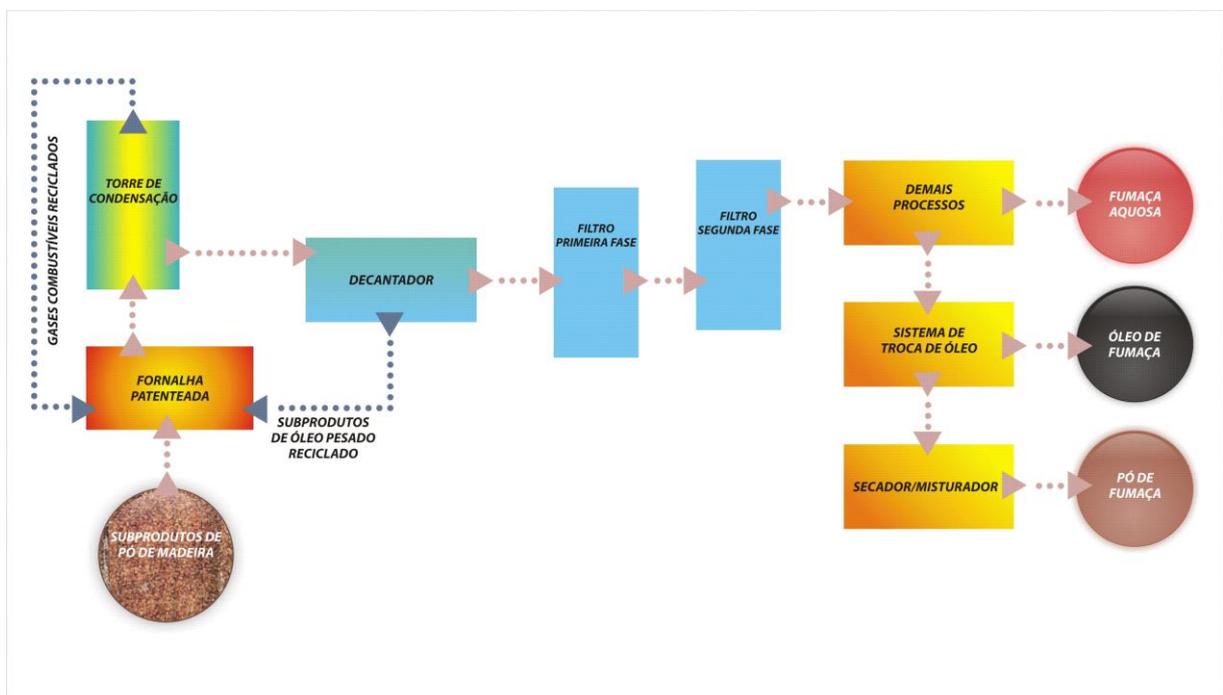


Figura 2 – Esquema de produção para obtenção de fumaça líquida (KERRY, 2004).

Mais de 300 componentes naturais estão presentes na fumaça líquida, sendo que a maioria deles podem ser agrupados em 3 grupos (KERRY, 2004):

- a) Carbonilas: As carbonilas são responsáveis pela cor dourada em carnes defumadas;
- b) Ácidos Orgânicos: Os ácidos orgânicos combinados com as carbonilas cumprem com várias funções no momento da defumação, principalmente, auxiliando na fixação de cor; estabilidade e aceleração da cor em produtos curados; formação na superfície das salsichas uma película que melhora a textura e a mastigação; inibe o desenvolvimento bacteriano.
- c) Derivados Fenólicos: Os compostos fenólicos possuem propriedades antioxidantes, as quais estabilizam as vitaminas lipossolúveis e previnem a oxidação superficial do produto; responsáveis sobre a cor, sabor e aroma nos produtos, assim como, apresentam efeito antimicrobiano.

Os aromatizantes (aromas naturais de fumaça) não poderão apresentar mais que 0,03 ppb de 3,4-benzopireno no alimento final (ITAL, 2003).

Os compostos normalmente encontrados em fumaças líquidas comerciais conforme sua origem, podem ser assim subdivididos (ITAL, 2003):

- a) Compostos obtidos quando da pirólise da celulose: ácido acético, ácido fórmico, maltol, metil ciclopentenolone, etilciclopentenolone, dimetilciclopentenolone, furfural, 5-hidroxiacetilfurfural;
- b) Compostos obtidos quando da pirólise da lignina: fenol; orto, meta e para-cresol; guaiacol; 4-metilguaiacol; 4-etilguaiacol; 4-propilguaiacol; pirocatecol; trimetilfenol; vanillin; 4-2-propilvanillone; 4-1-propilvanillone; acetovanillone; 2,4,5-trimetilbenzaldeído; 4-Hidroxiacetofenone; eugenol; Cis e Trans-iseugenol; 2,6-dimetoxifenol; 4-metilsiringol; 4-etilsiringol; 4-propilsiringol; 4-acetosiringol; 4-2-propilsiringol; 4-1-propilsiringol; Cis e Trans 4-1-propenilsiringol; 4-2-propenilsiringol; siringaldeído.

A fumaça líquida proporciona uma maior uniformidade de sabor e cor e possui maior facilidade de aplicação. Também os problemas de emissão de componentes presentes na fumaça tradicional como: alcatrão, resinas e benzopirenos são

removidos da fumaça tradicional por destilação, filtração e envelhecimento. Por isso, é possível produzir produtos mais seguros, econômicos e uniformes usando fumaça líquida (GONOLALAN *et al*, 2003).

Conforme citado, a fumaça líquida possui vários componentes que podem apresentar efeitos antioxidantes, antibacterianos e melhorando características organolépticas, tais como: coloração e sabor.

Vários autores têm estudado a atividade antimicrobiana (MacRae , Hudson, & Towers , 1989), efeitos antioxidantes (Kjallstran & Peterson , 2001) e influência sobre as propriedades organolépticas (Martinez *et al.* , 2007) em produtos carnes defumados. No entanto, há poucos dados disponíveis sobre os seus efeitos sobre os lipídios (Gonulalan *et al*, 2003; Guille & Cabo , 2004; Schwert *et al*, 2011) e oxidação de proteínas de produtos cárneos (Schwert *et al* , 2011)

Neste sentido faz-se necessário pesquisar mais detalhadamente estes efeitos nos produtos cárneos.

2.5. Alterações de Produtos Cárneos

2.5.1 Oxidação de lipídios

A oxidação dos lipídios inicia-se nas ligações insaturadas dos ácidos graxos. Nos alimentos, as reações de oxidação podem ser divididas em duas categorias. Na primeira ocorre a oxidação das gorduras altamente insaturadas, particularmente as poliinsaturadas, e poderá resultar na formação de produtos poliméricos. A segunda categoria relaciona-se com a oxidação de gorduras moderadamente insaturadas, e leva ao aparecimento de ranço acompanhado de odores estranhos (CASTRO, 2002).

A oxidação lipídica acarreta modificações nas características organolépticas dos produtos cárneos, como por exemplo, alterações de coloração da carne e da gordura, desenvolvimento de sabor e aroma desagradáveis e um decréscimo no valor nutritivo do produto, devido à diminuição no conteúdo de ácidos graxos poliinsaturados, cujo efeito benéfico na saúde dos consumidores é bem

documentado (ALEXANDER, 1998; ROSE e CONNOLLY, 1999; BERRA, MONTORFANO e RIZZO, 2005).

Os produtos da oxidação lipídica são indesejáveis tanto pelo resultado da decomposição dos lipídios e pela produção de compostos voláteis, mas também, pela destruição dos constituintes essenciais, ocasionando o decréscimo do valor nutricional dos alimentos, e a formação de compostos tóxicos durante o processamento (KAHL e HILDEBRANDT, 1986; FRANKEL, 1996; YANG *et al.* 2002). Além disso, alguns produtos intermediários e finais da reação de oxidação são potencialmente tóxicos à saúde humana, tal como os compostos originados na oxidação do colesterol (KUBOW, 1990; PANIANGVAIT *et al.*, 1995), e da polimerização dos triglicerídeos (ALEXANDER, 1978; CHANG, PETERSON e HO, 1978), além dos aldeídos com α e β insaturações, incluindo o malonaldeído, que é reconhecido por seus efeitos tóxicos, mutagênicos e carcinogênicos (NEWBURG e CONCON, 1980).

O processo de oxidação se inicia na ligação carbono-hidrogênio adjacente à dupla ligação da cadeia de carbono, e pode ser catalisada por um grande número de fatores, especialmente ambientais (umidade, temperatura, luz e oxigênio), presença de metais (cobre, ferro e manganês), de enzimas e pigmentos (ADAMS, 1999).

Neste contexto, a oxidação lipídica pode ser considerada um processo autocatalítico, onde os produtos das reações iniciais propagam-se em cadeia, originando compostos novos, os quais são relacionados diretamente com a perda da qualidade dos produtos alimentícios. Portanto, a prevenção destas reações poderá minimizar os seus efeitos adversos, e aumentar a vida-de-prateleira (*shelf-life*) dos alimentos (KRING & BERGER, 2001). A oxidação lipídica em carnes pode ser acompanhada através do valor de TBARS (TARLADIGS, PEARSON & DUGAN, 1964), visto que produtos primários de oxidação lipídica constituem-se principalmente de hidroperóxidos, os quais são rapidamente decompostos em várias substâncias reativas ao ácido 2-tiobarbitúrico (TBARS), particularmente carbonilas, sendo o malonaldeído o elemento mais importante.

O processo de oxidação é tradicionalmente descrito como uma reação em cadeia constituída por três fases distintas: iniciação, propagação e terminação (FARMER *et al.*, 1942; GORDON, 1990; FRANKEL, 1991; JADHAV, *et al.*, 1996; ADEGOKE, *et al.*, 1998; ARAÚJO, 2005; RAMALHO & JORGE, 2006), mostrado na Tabela 3.

Esquema representativo das etapas da reação de autoxidação. Fonte (ORDOÑEZ, 2007)

Etapas da autoxidação	Reações químicas*
Iniciação:	$R-H \rightarrow R\cdot + H\cdot$
Propagação:	$R\cdot + O^2 \rightarrow R-O-O\cdot$ $RO-O\cdot + RH \rightarrow R-O-OH + R\cdot$
Terminação:	$R\cdot + R\cdot \rightarrow R-R$ $R-O-O\cdot + R\cdot \rightarrow R-O-O-R$ $R-O-O\cdot + R-O-O\cdot \rightarrow R-O-O-R + O^2$

- RH – Ácido graxo insaturado; R· - Radical livre; ROO· - Radical peróxido; ROOH – Hidroperóxido

A autoxidação é iniciada com a formação de radicais livres, entidades reativas e estruturalmente instáveis. O mecanismo de formação do primeiro radical livre ainda não se encontra devidamente esclarecido, é provável que a principal via geradora de radicais livres seja a decomposição de hidroperóxidos (ROOH) que existem em alimentos em quantidades traços antes mesmo do início da autoxidação (GORDON, 1990). Estas moléculas são geradas a partir da reação da molécula lipídica com o oxigênio na presença de catalisadores, como luz visível, irradiação, radiação ultravioleta, temperatura e metais, que são denominados de iniciadores. Outra via de formação dos hidroperóxidos é a oxidação de ácidos graxos poliinsaturados catalisada por lipoxigenase e outras oxidases que representam outra forma distinta de iniciação (ADEGOKE, *et al.*, 1998; ARAÚJO, 2005).

Nas fases de iniciação e propagação, a presença de radicais livres, que são moléculas extremamente reativas, é decisiva (ADAMS, 1999). Essas formas reativas são normalmente produzidas durante o metabolismo do oxigênio nos tecidos e são

chamadas de espécies reativas de oxigênio (ROS do inglês Reactive Oxygen Species). Estes compostos dividem-se em radicais (O^2 e $HO\cdot$) ou não radicais (H^2O^2). Alguns deles são produzidos durante o metabolismo aeróbio das células vivas, como o radical superóxido (O^2), que é formado pela adição de um elétron extra ao oxigênio molecular (O^2), durante o processo de redução do oxigênio na cadeia respiratória mitocondrial. Mesmo apresentando pouca reatividade química, os compostos O^2 e H^2O^2 , quando expostos a determinados íons metálicos (Fe^{2+} e Cu^{2+}), geram um radical livre altamente reativo, o radical hidroxila ($HO\cdot$) (COMBS, 1998).

O radical hidroxila ($HO\cdot$) é provavelmente o radical livre mais importante para a iniciação do processo de oxidação nos tecidos animais, uma vez que ele pode rapidamente remover um átomo de hidrogênio do ácido graxo insaturado (ADAMS, 1999). Os principais alvos do radical hidroxila ($HO\cdot$) são os lipídeos, especialmente os ácidos graxos insaturados da membrana celular, as proteínas e o DNA (COMBS, 1998).

Na fase de iniciação estão envolvidas ações dos radicais livres e o mecanismo natural de defesa antioxidante, no organismo ainda vivo alteração na estrutura das membranas celulares. Suas características podem ser resumidamente descritas como; consumo de oxigênio baixo, aumentando lentamente, baixa concentração de peróxidos, não há alterações sensoriais, aumenta a concentração de radicais livres (BOBBIO & BOBBIO, 1992).

Na fase de propagação: ocorre à destruição oxidativa, sendo que no período imediatamente antes e pós-abate, ocorre uma série de eventos bioquímicos, falha do sistema antioxidante natural, diminuição do pH, ações enzimáticas, desnaturação protéica, liberação de ferro. Suas características como alto consumo de oxigênio faz crescer rapidamente a concentração de peróxidos e se inicia sua decomposição dando início das alterações sensoriais com aparecimento de odor característico, provocado pelos produtos da decomposição dos hidroperóxidos.

Na terceira fase, de terminação, suas características são o consumo de oxigênio tendendo a cair, diminuição dos peróxidos, e forte alteração sensorial, podendo haver alterações da cor e viscosidade (BOBBIO & BOBBIO, 1992). É a fase mais crítica, por ocasião do processamento, manuseio, moagem, trituração, cozimento e estocagem, determinando o rompimento da membrana celular,

potencializado pela adição de água, adição de sal, temperatura, liberação de ferro, presença de oxigênio, ação microbiológica (OLIVO, 2005).

A estabilidade oxidativa dos alimentos é dependente do equilíbrio entre a composição e concentração do substrato e a presença de pró-oxidantes. A remoção do oxigênio, inativação de enzimas, proteção contra luz e íons metálicos são importantes para evitar ou minimizar a oxidação lipídica. No entanto, estas medidas nem sempre são aplicáveis. A adição de antioxidantes constitui prática mais comum para aumentar a estabilidade dos lipídios (DECKER, 1998).

2.5.1.1 Métodos de avaliação da oxidação lipídica

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

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

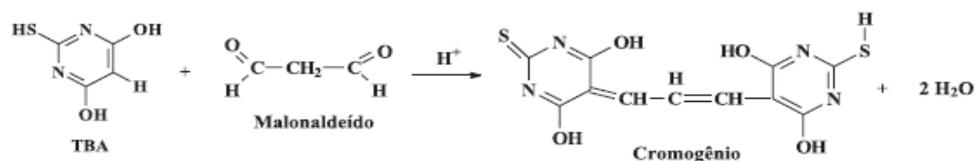


Figura 3: Reação entre o ácido 2-tiobarbitúrico e o malonaldeído, formando o composto colorido, medido espectrofotometricamente a 532 nm (OSAWA, 2005).

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

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

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

O método de destilação surgiu como alternativa ao método direto de determinação, cujas desvantagens são a necessidade de extração do composto malonaldeído-TBA com solventes orgânicos, a extração incompleta do malonaldeído e o tratamento mais drástico (aquecimento prolongado e contato direto com o reagente de TBA acidificado) para a liberação do malonaldeído da amostra e para o máximo desenvolvimento de cor. A desvantagem do método de destilação é o tratamento térmico durante a destilação, que se não for aplicadas temperaturas mais baixas induz a valores mais elevados de TBA (FERNANDEZ *et al*, 1997).

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

2.5.2 - Oxidação de Proteínas

A oxidação é uma das principais causas para a deterioração da qualidade durante o processamento e o armazenamento de alimentos cárneos. A susceptibilidade das carnes, aves, e de frutos do mar aos processos oxidativos origina-se das concentrações relativamente elevadas de lipídios não saturados, de pigmentos heme, de metal catalizadores, e de vários outros agentes oxidantes presentes no tecido do músculo (JOHNS, BIRKISSHAW & LEDWARD, 1989). As perdas da qualidade em produtos de carne oxidadas são caracterizadas geralmente pela deterioração do sabor; descoloração, destruição do nutriente, e formação possível de compostos tóxicos (KANNER, 1994). As mudanças oxidativas indesejáveis estão sendo estudadas extensivamente, e as causas para a alteração nas características físicas dos alimentos cárneos processados ou armazenados sob circunstâncias de oxidação não estão identificadas claramente.

As interações entre lipídios e proteínas têm um efeito significativo no progresso de reações oxidativas nos alimentos. Devido às fortes interações, as reações de oxidação podem facilmente transferir os lipídios às proteínas. As reações de oxidação afetam a qualidade do alimento, mas têm também um impacto na ordem e na conformação da estrutura tridimensional da proteína (exposição de grupos hidrofóbicos, mudanças na estrutura secundária e de grupos do bissulfeto), perda da atividade de enzimas, e das mudanças no valor nutritivo (perda de aminoácidos essenciais) (KAREL, SCHAICH & ROY, 1975; ZAMORA, ALAIZ & HIDALGO, 1999; HOWELL, HERMAN & LI-CHAN, 2001). Além disso, as proteínas modificadas terão propriedades funcionais diferentes daquelas de suas moléculas inalteradas; emulsificação, espumação, gelatinização, e propriedades da água podem ser afetadas assim como a textura do alimento pode ser mudada (LEAVER *et al.*, 1999).

A oxidação das proteínas e dos aminoácidos é afetada por muitos fatores ambientais tais como o pH, temperatura, atividade de água, e a presença dos catalizadores ou dos inibidores. Além disso, as estruturas tridimensionais de cada proteína afetam como as proteínas podem interagir com os lipídios (AYNIÉS *et al.*, 1992). A estabilidade física de uma emulsão proteína-estabilizada depende também da concentração da proteína na solução, no pH, e na temperatura (FOMUSO, CORREDIG & AKOH, 2002; HU, MCCLEMENTS & DECKER, 2003).

Os aminoácidos mais sensíveis para a oxidação são os heterocíclicos. Além de amino e grupos fenólicos os aminoácidos são suscetíveis à oxidação. Devido a sua estrutura, triptofano, histidina, e prolina, mas também lisina, cisteína, metionina, e tirosina, são propensas à oxidação onde o átomo do hidrogênio ou é abstraído a partir de OH-, S ou grupos contendo N (MATOBA *et al.*, 1984; KIKUGAWA, KATO e HAYASAKA, 1991; STADTMAN e BERLETT, 1991; ALAIZ e GIRÓN, 1994; BAKER *et al.*, 1998; DOORN & PETERSEN, 2002) (Figura 3). Devido à oxidação da metionina transformada em metionina sulfônica, triptofano em quinurenina, e da tirosina em ditirosina (KIKUGAWA, KATO e HAYASAKA, 1991; CHOWDHURY *et al.*, 1995). Por exemplo, Kikugawa, Kato e Hayasaka (1991) relataram que a quantidade de resíduos do triptofano diminuiu 18 % após 24 h de reação com os hidroperóxidos de ácido linoléico. A clivagem oxidativa da cadeia peptídica principal e a oxidação das extremidades das cadeias de lisina, prolina, arginina e treonina mostram o rendimento dos derivados de carbonil (STADTMAN & BERLETT, 1991).

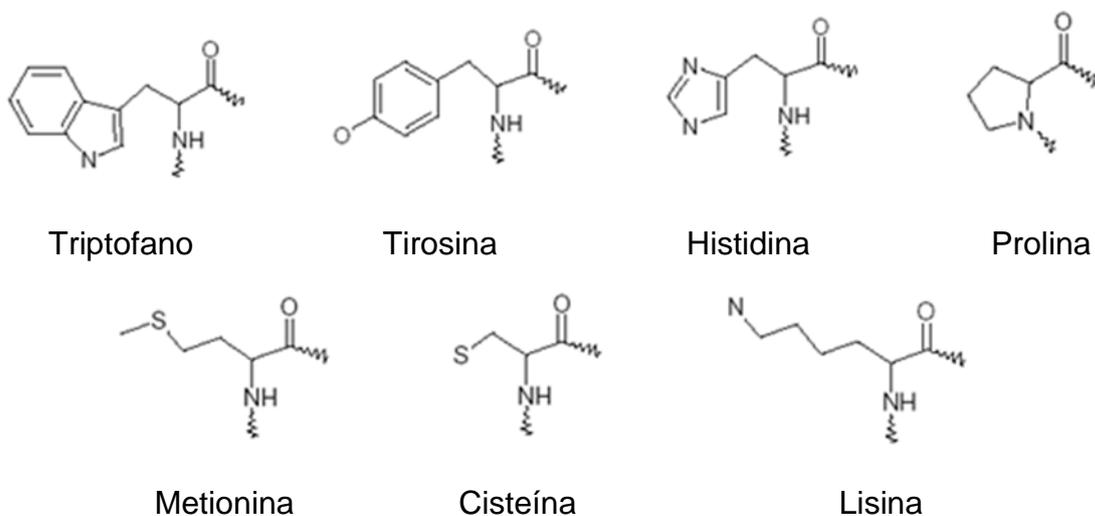


Figura 4 - Estrutura de resíduos de aminoácidos propensos à oxidação (ITAL, 2003).

Os resíduos das metioninas perto da superfície das proteínas podem ser facilmente acessíveis à oxidação, e a proteína tornar-se-á mais hidrófila (VOGT, 1995). Por outro lado, se o resíduo da metionina for ligado parcialmente ou totalmente em um agrupamento hidrofóbico formado com outros grupos hidrofóbicos, pode ser mais ou menos protegido da oxidação. Em alguns peptídeos os complexos de cobre mostraram a fragmentação em que o terceiro resíduo do aminoácido (da extremidade amino) é destruído (LEVITZKI, ANBAR & BERGER, 1967).

Os produtos das oxidações primárias dos lipídios (hidroperóxidos) e os produtos secundários das oxidações dos lipídios (aldeídos e cetonas) podem reagir com as proteínas, e causar a oxidação da proteína (KAREL, SCHAICH e ROY, 1975; MATSUSHITA, 1975; GARDNER, 1979; REYFTMANN, 1990; KIKUGAWA, KATO e HAYASAKA, 1991).

A oxidação da proteína ocorre através das reações dos radicais livres em que os radicais do peróxil (ROO) formado durante a oxidação de lipídios podem abstrair átomos de hidrogênio de moléculas da proteína (PH). Consequentemente, são formados os radicais de proteína (P), e eles podem por sua vez criar uma rede de proteína (P-P) devido à ligação cruzada.

Postula-se também que o processo de oxidação da proteína pode ocorrer através da formação complexa não-covalente por eletrostática e atrações hidrofóbicas entre o hidroperóxido do lipídio (ROOH), ou produtos secundários da oxidação dos lipídios (principalmente aldeídos e cetonas, produtos do desarranjo de hidroperóxidos de lipídios), e as concentrações do nitrogênio ou do enxofre de resíduos reativos do aminoácido da proteína (BÖHLEN *et al.*, 1973; KAREL, SCHAICH & ROY, 1975; GARDNER, 1979; KIKUGAWA, KATO & HAYASAKA, 1991; AUBOURG, 1999).

Na Figura 5 são mostrados os possíveis caminhos da oxidação de proteína na presença do oxigênio e produtos da oxidação de lipídios (KAREL, SCHAICH e ROY, 1975). O primeiro átomo de hidrogênio é abstraído da proteína (PH) por algum radical não-proteína (A*), e transfere a proteína ao radical da proteína (P*) (a). Em sequência têm-se três possíveis maneiras para que o radical da proteína reaja: oxidação (b), transferência (c), ligação cruzada (d). Na oxidação, o radical da proteína está reagindo diretamente com o oxigênio que conduz à proteína-peróxil (PO₂) e finalmente a cisão. Em transferência, o radical da proteína está abstraindo o hidrogênio de outros compostos presentes para dar forma à proteína ou ao

hidroperóxido não-radical da proteína dependendo dos compostos participantes.

No mecanismo da ligação cruzada, a proteína inalterada está com ligação cruzada com os produtos da oxidação de lipídios tais como hidroperóxidos ou aldeídos (B) ou dois radicais de proteína estão interagindo dando forma às ligações cruzadas de proteína-proteína (P-P) (KAREL, SCHAICH & ROY, 1975; HIDALGO & ZAMORA, 2000; ZAMORA, ALAIZ & HIDALGO, 2000). Além disso, a proteína-peróxil pode reagir com a proteína inalterada, e formar o oxigênio ligado da proteína-proteína.

Os hidroperóxidos de lipídios e os produtos da oxidação de lipídios secundários querem também fisicamente o complexo com proteína através da associação hidrofóbica das ligações de hidrogênio, e formam vários tipos de ligações covalentes (GARDNER, 1979; AUBOURG, 1999). Na interação covalente um ou mais produtos secundários da oxidação de lipídios podem reagir com as moléculas da proteína presente na interface das gotículas de óleo na emulsão óleo-em-água (LEAVER, LAW & BRECHANY, 1999a). O grupo polar do carbonil tende dar as propriedades anfífilas a alguns aldeídos tais que podem orientar na interface de óleo-água com a função reativa do carbonil na fase aquosa, adjacente aos segmentos mais hidrofóbicos da proteína adsorvida (LEAVER, LAW & BRECHANY, 1999a). A emulsificação pode iniciar a autooxidação nos alimentos que conduzem às mudanças na composição e na funcionalidade das proteínas adsorvidas (LEAVER, LAW & BRECHANY, 1999b). A reação entre produtos da oxidação de lipídios secundários e determinados resíduos nucleofílicos de aminoácidos ocorre provavelmente na interface do óleo-água com os locais iniciais da modificação que fica situado nas regiões hidrofóbicas das moléculas da proteína. Com o decorrer do tempo da emulsão, a extensão da oxidação e conseqüentemente a modificação aumenta, e a proteína se torna mais firmemente presa à fase do óleo através dos grupos hidrofóbicos (ITAKURA, UCHIDA & OSAWA, 1996).

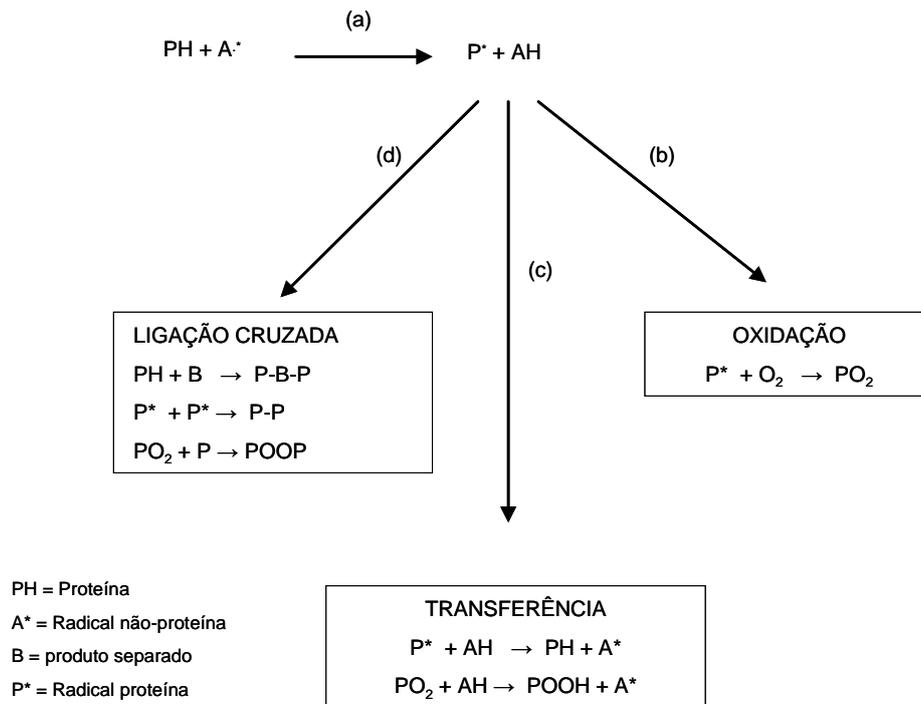


Figura 5 - Representação esquemática das reações das proteínas com os lipídios oxidados (KAREL, SCHAICH e ROY, 1975).

A oxidação das proteínas por produtos da oxidação de lipídios pode, além disso, conduzir à oxidação de resíduos da cadeia lateral de aminoácidos, a clivagem das ligações dos peptídeos, e à formação proteína-proteína covalente dos derivados das ligações cruzadas (STADTMAN & BERLETT, 1991). A clivagem oxidativa da cadeia peptídica principal conduz à formação de fragmentos de peptídeos e à oxidação das extremidades das cadeias de lisina, prolina, triptofano, arginina, e da treonina, rendendo combinações proteína-carbonil. As principais perdas nos aminoácidos ocorrem bastante cedo (após 14 h de reação com ácidos graxos) na oxidação (ROUBAL & TAPPEL, 1966).

2.5.2.1. Métodos de avaliação da oxidação proteica

Em sistemas cárneos, oxidação das proteínas já foi avaliada através de vários métodos, incluindo a perda de grupos sulfidríla (FREDERIKSEN *et al*, 2008), perda de triptofano, ganho de grupamentos carbonila (DECKER *et al*, 1993) e formação ligações cruzadas proteína-proteína (ESTÉVEZ, 2011). Entre as mudanças acima referidas, a formação de compostos carbonílicos tem sido destacado como um dos

mais frequentes métodos usado para avaliar modificações em proteínas oxidadas (XIONG, 1995).

A falta de conhecimento sobre o natureza química exata de carbonilas formadas a partir de proteínas do alimento, impediu qualquer chance de investigar o envolvimento de tais compostos em reações posteriores. Stadtman e Levine (2000) relataram a implicação provável de resíduos proteína carbonil em reações de condensação com grupos amino de cadeias laterais de aminoácidos para formar ligações cruzadas via base de Schiff.

a) Grupos sulfidrilas - Atualmente, um dos método amplamente utilizado é o método de Ellman (Ellman, 1959), no qual, o 5,5 ditiobis 2 nitrobenzoico (DTNB) é usado para reagir com grupos SH para produzir uma substância amarela com um máximo de absorvância a 412 nm. Este método é simples, rápido, direto e ideal para determinar o conteúdo de SH em solução de proteína pura com baixa turbidez. No entanto, se ele é usado para determinar diretamente a conteúdo de grupos SH em soluções turvas, como leite ou leite de soja, os resultados vão desviar o conteúdo real por causa da alta turbidez destas soluções (Estévez et al, 2008).

b) Grupo Carbonil - A quantificação de grupos carbonila usando dinitrofenilhidrazina (DNPH) (OLIVE *et al*, 1987) é provavelmente o método mais usado para avaliar proteínas oxidadas em carnes e sistemas biológicos (ESTÉVEZ *et al*, 2008; TORNVÄLL, 2010). O impacto da proteína oxidada na qualidade da carne ainda é objeto de vários estudos, mas é geralmente aceito que a atividade de proteases muscular e da funcionalidade de proteínas miofibrilares são afetados por reações oxidativas (XIONG, 1995). A identificação das rotas e mecanismos envolvidos na formação de proteína carbonil é essencial para estabelecer as implicações potenciais de tais compostos.

O Método DNPH é um procedimento de rotina que permite a quantificação do montante total de carbonilas de uma amostra de proteína. Os resultados são amplamente utilizados como um índice geral de proteínas oxidadas em produtos carneos (ESTÉVEZ *et al*, 2008;. LUND & BARON, 2010). O método é baseado na reação entre o DNPH com compostos de carbonila para formar o 2,4-dinitrofenil (DNP) produto que apresenta um pico máximo de absorvância a cerca de 370 nm. O

procedimento envolve a determinação simultânea de derivados de carbonila e teor de proteína da amostra (OLIVER, 1987). A concentração de DNP é calculada pela medida de DNPH que reagiu espectrofotometricamente com base na taxa de absorção 22.000 M/cm a 370 nm. Concentração de proteína é determinada em uma amostra controle (sem DNPH) a 280 nm usando albumina de soro bovina como padrão. Os resultados são geralmente expressos em nmoles de carbonil por mg de proteína. O método original (OLIVER, 1987) foi desenvolvido para a análise de estresse oxidativo em amostras biológicas e tem sido posteriormente empregado com pequenas modificações para alimentos. Essas modificações incluem o tratamento das amostras usando força iônica alta de tampões para facilitar a suspensão de proteínas do alimento (ESTÉVEZ *et al*, 2008).

2.6 Principais Características de Avaliação de Qualidade de Produtos Curados

2.6.1 Cor

A cor tem papel de destaque entre as propriedades funcionais e é um importante atributo de qualidade, pois é um dos primeiros aspectos a serem avaliados na linha de fabricação e pelos consumidores nas gôndolas de supermercados (OLIVO & SHIMOKOMAKI, 2002).

Para um produto cárneo, a tonalidade de cor é um indicativo da sua condição, permitindo a avaliação, de forma direta, da sua condição de frescor, influenciando na sua aquisição e no seu consumo. E, para as matérias-primas destinadas ao processamento, a cor é indicadora das condições das demais propriedades funcionais (OLIVO, 2006).

Para a determinação objetiva da cor é usado um colorímetro programado com o sistema L*. a*. b* de acordo com a CIALAB (Commission International for Illumination). O uso de * caracteriza os padrões determinados por esta comissão. O colorímetro fornece três variáveis, de acordo com o Diagrama de Hunter (Figura 6): Valor de L*, situado no eixo vertical do diagrama, mede a luminosidade ou a porcentagem de refletância, variando de 0 (preto) para 100 (branco). Com esta

informação é possível determinar objetivamente a cor da carne entre os padrões de qualidade determinados em Pálidas (PSE), Normal ou Escura (DFD).

O valor de a^* , situado no eixo horizontal, mede a variação entre a cor vermelha à verde. O valor de b^* mede a variação entre o amarelo e o azul. A razão a^*/b^* pode ser utilizada para estimar o teor de mioglobina em uma amostra (OLIVO & OLIVO, 2005).

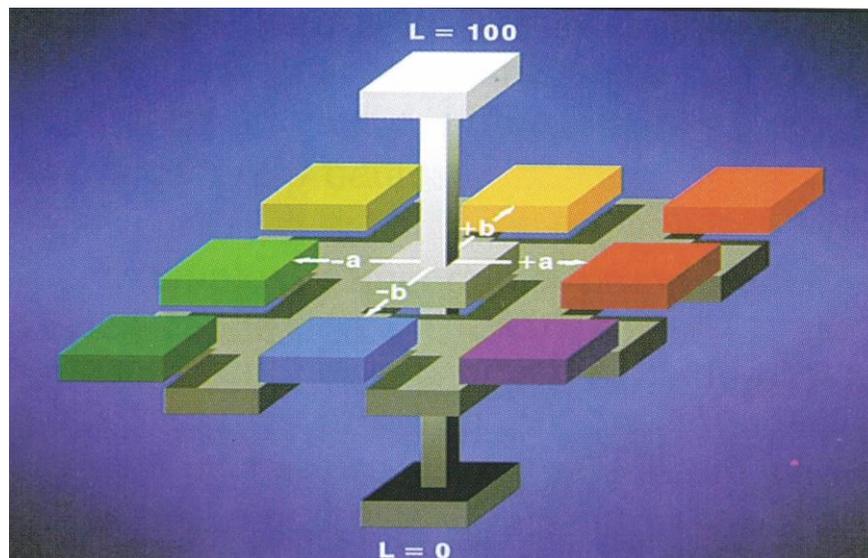


Figura 6 – Diagrama de Hunter Lab, com as variáveis L.a.b. (OLIVO & OLIVO,2005)

2.6.2 Umidade

Nos embutidos cozidos a água é o principal componente, perfazendo aproximadamente 45 a 55 % do peso total. O teor de umidade varia em função da quantidade de água adicionada durante o preparo e da proporção carne magra: gordura presente no respectivo embutido. Geralmente adiciona-se 20 a 30 % de água ou gelo em relação ao total de carne. Em embutidos frescos sem a adição de extensores (ex.: linguiça Toscana), o teor de água adicionada não deveria ultrapassar 3 % (FREY, 1995).

A água influencia a palatabilidade dos embutidos, contribuindo para sua textura e suculência do produto final. Tanto a água como a gordura são determinantes destas características sensoriais (FREY, 1995).

Desta forma, para garantir-se que o tempo necessário para cominuição seja suficiente, a água é adicionada gelada ou na forma de gelo. A água adicionada

também contribui com a viscosidade da emulsão, que deve ser tal, que não propicie a quebra desta. Quando a viscosidade é muito elevada, a susceptibilidade à quebra durante o processo é maior. A quantidade de água adicionada durante o processamento depende muito da quantidade e da qualidade da proteína disponível na formulação, para que a água adicionada possa ficar retida no produto (FREY, 1995).

A relação umidade *versus* proteína (U/P) deve ser otimizada para cada produto, porque um excesso de água, além de prejudicar a textura pode resultar em um produto de pouca consistência, e a falta de água, além de prejudicar a textura pode elevar os custos do produto. Além do problema referente às características do produto, o teor de umidade, ou a relação U/P, deve ser sempre adequada a legislação do país (WIRTH, 1992).

Uma consideração importante a respeito da água usada no processamento de carnes é que ela deve ser tanto quanto possível livre de contaminantes químicos e microbiológicos, e de minerais. Estes atuam como pró-oxidantes (cobre e ferro) e dificultam a dissolução de outros ingredientes da salmoura (ITAL, 2003).

2.6.3 Atividade de água (a_w)

A Atividade de água (a_w) é definida como a água que está disponível para as reações físicas (evaporação), químicas (escurecimento) e microbiológicas, tornando-se a principal responsável pela deterioração do produto. Esta água pode ser medida e através do seu valor pode-se determinar a suscetibilidade do produto a degradação.

Um líquido puro com uma interface em contato com o ar, perde parte de suas moléculas para esta fase gasosa pela evaporação (fugacidade). Se o líquido é acondicionado em um recipiente fechado na presença de ar, as moléculas se desprendem do meio líquido por evaporação até um ponto de equilíbrio. A partir deste ponto passará a ocorrer o fenômeno de compensação, onde para cada molécula que se evapora há uma molécula que se condensa exercendo uma pressão de vapor.

Ao se adicionar um soluto em um líquido (solução, alimento, etc.) a evaporação das moléculas para a fase gasosa torna-se menor, conseqüentemente a pressão de vapor é reduzida. Com base nestes conceitos, a atividade de água (a_w) de uma solução ou alimento é definida como relação entre a pressão de vapor da solução P e a pressão de vapor do solvente puro P_o , usualmente a água pura ($=1$) na mesma temperatura (ANDDREO *et al*, 2003).

2.6.4 pH

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 glicogênio 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, 1998).

2.6.6 Microbiota da Linguiça

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 (DABÉS; SANTOS; PEREIRA, 2001).

Com exceção da superfície externa e dos tratos digestivo e respiratório, os tecidos de animais sadios contêm poucos microrganismos; os mecanismos de defesa animal controlam com eficácia os agentes infectantes nos animais sadios vivos; sem dúvida, essa defesa falha após a morte (ICMSF, 1980).

Numerosos fatores influenciam o tipo de microrganismo 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 freqüentemente presentes na carne fresca, já que o processo de abate não apresenta nenhuma etapa bactericida. 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* pode estar presente em nível 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, 1992).

Em ambiente aeróbio, a microbiota psicotrófica 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 psicotrófica é composta de bactérias lácticas não putrefativas.

Em relação à linguiça, 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).

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 microsistema anaeróbio (microanaeróbio) dentro da embalagem que, auxiliado pelo efeito inibitório do CO₂ 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-de-prateleira mais longa que a da carne fresca exposta ao ar (SARANTÓUPOLOS & OLIVEIRA, 1991).

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 (DABÉS, SANTOS & PEREIRA, 2001).

2.7 Benzopirenos (Policíclicos Aromáticos)

As informações da literatura, demonstram que a defumação pode ser realizada por métodos tradicionais, pela simples queima da madeira e impregnação da fumaça no produto, ou por métodos industriais, como aplicação da fumaça líquida. Alguns estudos, relataram que os métodos tradicionais de defumação existe dificuldade de controle da composição química da fumaça gerada. Isto pode promover a deposição de compostos carcinogênicos, como o benzopireno, sobre a superfície do produto. Além disso, a geração de fumaça implica, na emissão de grande quantidade de resíduos gasosos na atmosfera. E ainda o mercado de Linguiças tipo Calabresa no Brasil representa um volume de aproximadamente 150.000 toneladas/ano (NIELSEN, 2011).

Após as considerações apresentadas, verifica-se a importância de se obter estudos mais aprofundado a respeito de defumação, principalmente através do

processo de aspersão com fumaça líquida em produtos cárneos, como é o caso das linguiças cozidas e defumadas, visto que existe uma escassez de informações científicas que possam dar suporte a utilização deste coadjuvante na defumação de produtos cárneos.

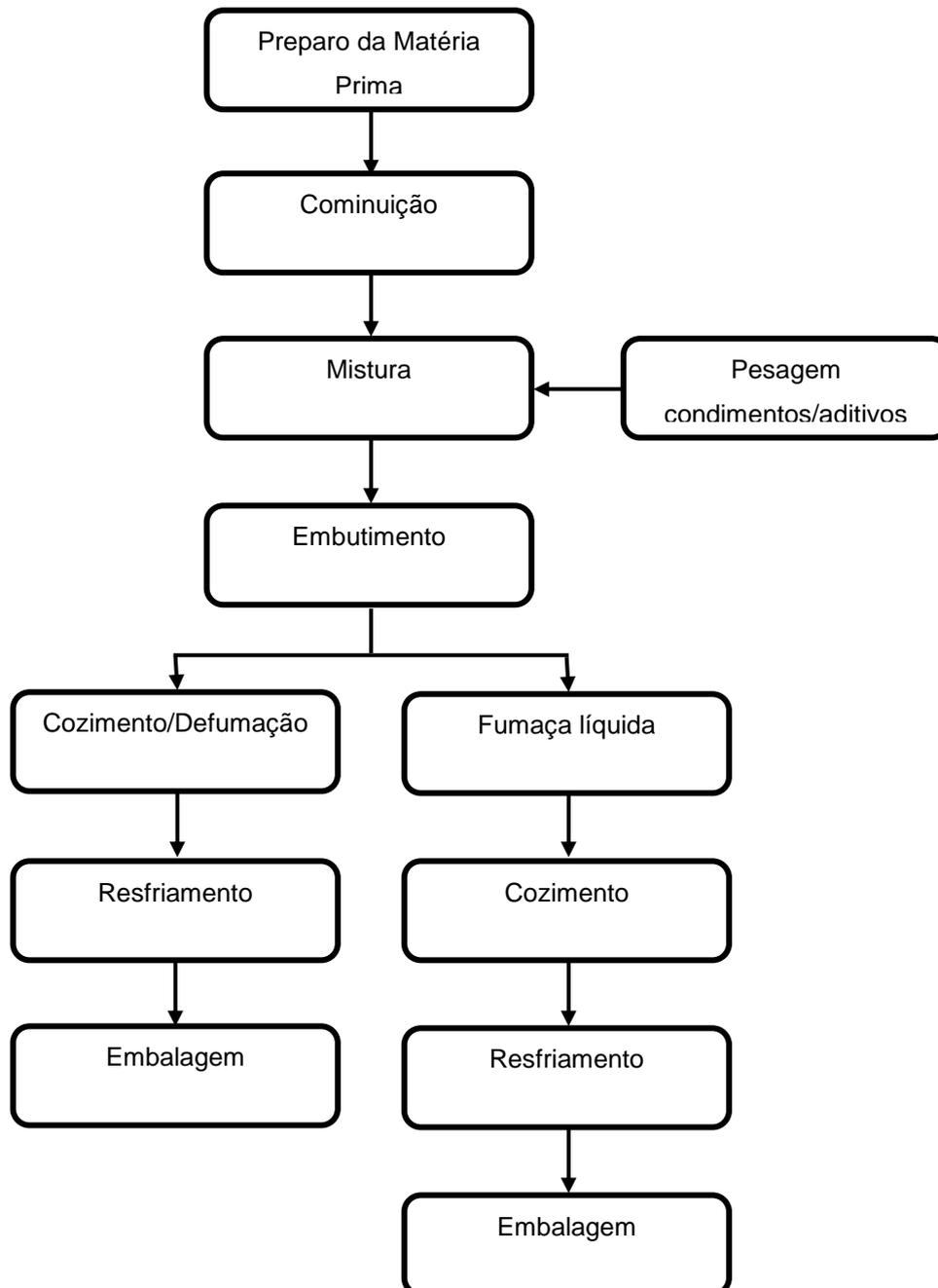
Levando-se em consideração, que a fumaça líquida apresenta vantagens em relação ao processo de defumação tradicional, como a eliminação de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (PAHs), a uniformidade e controle do sabor, aroma e cor; diminuição da poluição do ar e aumento da produtividade com redução dos custos do processo, além disso, podem ser empregados em diversos produtos alimentícios defumados.

Assim sendo, o presente trabalho apresenta resultados do estudo realizado de defumação em linguiças cozidas com o processo de aspersão de fumaça líquida. Nos quais, as variáveis do processo: concentração de fumaças líquidas comerciais e tempo de contato foram ajustadas e avaliou-se os efeitos na qualidade do produto, mediante o acompanhamento das características físico-químicas (Oxidação de lipídios e proteínas, composição de ácidos graxos, cor objetiva), sensoriais, microbiológicas (contagem de bactérias lácticas) e determinação de benzopireno durante o armazenamento de 28 dias a 20°C embalado em saco Nylon poli (barreira $TPO_2 < 50,00 \text{ CC/m}^2 \text{ dia}$) com extração de ar, e analisadas a cada 7 dias.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Preparo de Amostras

A linguiça Calabresa foi preparada conforme formulação padrão de uma agroindústria, situada no município de Chapecó – SC, seguindo o Fluxograma 1.



Fluxograma 1: fluxograma de processamento da linguiça tipo Calabresa com defumação natural (tradicional) e defumação líquida (utilizada no projeto).

Após a formulação, as amostras de linguiça Calabresa foram submetidas a dois tratamentos de defumação com fumaça líquida (A e B), empregando fumaças líquidas comerciais. pelo processo de chuveiro (aspersão), com variação de tempo de contato da fumaça líquida com o produto e diluição da fumaça líquida, empregando metodologia de planejamento de experimentos (Tabela 4).

Tabela 4 – Variáveis independentes e níveis empregados no planejamento fatorial 2^2 para a defumação líquida (Fumaças comerciais A e B) das amostras de linguiça tipo Calabresa.

Fumaça A		Níveis*		
Variáveis Independentes	Códigos	-1	0*	+1
Tempo contato (s)	X ₁	60	105	150
Diluição (fumaça:H ₂ O, V/V)	X ₂	1:2	1:3	1:4
Fumaça B				
Tempo contato (s)	X ₁	60	105	150
Diluição (fumaça:H ₂ O, V/V)	X ₂	1:1	1:2	1:3

*Ponto Central do planejamento de experimentos.

Posteriormente, as amostras dos tratamentos foram acondicionadas em embalagens de Nylon Poli (Taxa de permeabilidade ao oxigênio menor 50,00 CC/m² dia) a vácuo e armazenadas a temperatura de 20°C durante 28 dias. E analisada a cada 7 dias.

3.2. Avaliação da estabilidade das amostras

As determinações físico químicas (Oxidação de lipídios e proteínas, composição de ácidos graxos: oléico, palmítico, esteárico, linoleico e linolênico e cor objetiva) e microbiológicas (Contagem de Bactérias lácticas) foram avaliadas a cada período de 7 dias de armazenamento a 20°C durante 28 dias, com amostragem de 4 a 7 mm da camada superficial do produto.

Quando da realização das análises físico-químicas e microbiológicas, realizar-se-ou a assepsia da parte externa das embalagens com álcool 70 %, e depois procederá a abertura das mesmas com auxílio de faca previamente limpa, imersa em álcool 70 % e flambada em chama de bico de Bunsen.

3.2.1 Determinação da Oxidação Lipídica

a) TBARS - substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico

As substâncias reativas ao ácido 2 tiobarbitúrico (TBA) foram realizadas 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-se em repouso por 10 min. Posteriormente, adicionou-se 18 mL de TCA 5 % e homogeneizou-se. Em uma alíquota de 2 mL do filtrado, adicionou-se 2 mL de TBA 0,08 mol/L e a reação foi conduzida em banho-maria (40°C) por 1 h e 20 min. Posteriormente, realizou-se a leitura em espectrofotômetro (Agilent UV-8553) a 531 nm. A quantificação foi realizada frente a uma curva padrão de solução de dietilacetil - TEP ($1 \cdot 10^{-8}$ a $10 \cdot 10^{-8}$ mol/mL). Os resultados foram expressos em miligramas de malonaldeído por quilograma de amostra.

b) Perfil de Ácidos Graxos

A extração dos lipídios da amostra foi realizado 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 transmetilada 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 1 mL/min; gás make-up: nitrogênio a 30 mL/min; vazão de alimentação: 1 μ L. A identificação dos ácidos graxos foi realizada através da comparação do tempo de retenção dos ácidos graxos das amostras com o de padrões conhecidos (oléico, palmítico, esteárico, linoleico e linolênico).

3.2.2. Determinação da oxidação das proteínas

a) Grupo Carbonil

Para avaliar a extensão da oxidação das proteínas ocorrida nos tratamentos, realizou-se a determinação do grupo carbonil formado durante o período estudado conforme metodologia descrita por LEVINE, REZNICK e PACKER (1990) modificado. A concentração do grupo carbonil foi calculada medindo DNPH (2,4-dinitrofenilhidrazina) quantificado através da medição em absorvância 370 nm usando um coeficiente de extinção de $22,0 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$. A concentração de proteína será calculada pelo método Bradford (BRADFORD, 1976), por espectrofotometria a 280 nm (UV – visível, Agilent 8453E), usando uma curva padrão com albumina bovina (0,260 a 2,360 mg/mL) em guanidina 6 mol/L. Os resultados foram expressos em nmol de carbonil por mg de proteína .

b) Grupos Sulfidrílicos

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

Os grupos sulfidrílicos 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 diluída 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 adicionou-se 0,5 mL de DTNB e incubou-se à temperatura ambiente por 15 min. A leitura foi realizada por espectrofotômetro (UV- visível, Agilent 8453E) a 412 nm. O conteúdo sulfidrílicos foi calculado usando um coeficiente de extinção molar de $11400 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ para 5,5-ditiobis, neste comprimento de onda. Os resultados foram expressos como nmol do total de grupos sulfidrílicos livre por mg de proteína.

3.2.3. Determinação de Benzopireno

A análise de benzopireno foi realizada nas amostras submetidas a defumação líquida (ensaios do ponto central) e tradicional (Padrão da Agroindústria), sendo enviadas e realizadas no laboratório do ITAL (Campinas/SP), conforme metodologia de SIMKO et al. (1993), com adaptações onde foi coletado 20 g de amostra homogeneizada e adicionou-se 7,5 g de KOH, 60mL de metanol e 6,5 mL de água. Transferiu-se o conteúdo do balão para funil de separação de 250 mL e adicionou-se 60 mL de solução de metanol:água (80:20, v/v). A seguir foi extraído com 3 porções de 25 mL de n-hexano (agitou-se e deixou separar as fases) e transferiu-se a os extratos para outro funil de 250 mL. Em seguida foi lavado o extrato de hexano com 30 mL de solução de etanol:água (80:20, v/v), 30 mL de água e 30 mL de solução de tungstato de sódio 10 % separadamente. O extrato final foi transferido para tubo contendo 3 g de sulfato de sódio. Agitou-se e, após 15 minutos, filtrou-se para tubo de centrifuga de 50 mL. Secou-se em fluxo de nitrogênio a 45°C e foi ressuspendido em 1,5 mL de Metanol. Alíquotas de 20 uL foram injetadas em cromatógrafo líquido de alta eficiência (marca Shimadzu, modelo LC10A) equipado com coluna de fase estacionária apolar de octadecilsilano - C18 dedicada à separação de HPAs (250 mm x 4,6 mm, 5 µm de partícula, marca ACE), termostatizada a 40°C, com detector de fluorescência (marca Shimadzu, modelo RF-20A), $\lambda_{\text{excitação}} = 310 \text{ nm}$ e $\lambda_{\text{emissão}} = 410 \text{ nm}$ e sistema de processamento de dados. Uma fase móvel isocrática de Acetonitrila:Água (80:20, v/v) com fluxo de 1,2 mL/min foi utilizada em fluxo de 1,0 mL/min. Para a análise quantitativa, uma curva de calibração externa com fortificação em matriz branco (emulsão de salsicha isenta de HPA) foi construída para o HPA de interesse - benzo(a)pireno simulando concentração de 0,25 a 4 µg/Kg, e obtendo um valor de $r^2 = 0,98$. Os resultados da área do pico de benzo(a)pireno encontrado em cada amostra foram interpolados na curva analítica e quantificados.

O benzopireno residual foi avaliado nas amostras tratadas com as diferentes fumaças líquidas (A e B) e amostra padrão (fumaça tradicional, obtida através da queima de serragem).

3.2.3. 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). As determinações foram realizadas diretamente na superfície dos produtos com remoção do líquido superficial com absorção em papel antes da leitura.

3.2.4. Análises Microbiológicas - Contagem de bactérias lácticas

Para a determinação microbiológica (Contagem de bactérias lácticas), alíquotas de 25 g da amostra, foram retiradas aleatoriamente, em gomos de linguiça tipo Calabresa, e transferidas para saco plástico estéril de *stomacher*, adicionadas de 225 mL de água peptonada 0,1 % estéril e homogeneizadas (Stomacher 400) por 2 min. Diluições seriadas subsequentes foram, também, preparadas com água peptonada 0,1 % estéril.

Para a contagem de bactérias lácticas utilizou-se o método de semeadura em profundidade (pour plate), com a adição de sobrecamada, em placas com Ágar Man, Rogosa e Sharpe (MRS), incubadas a 30°C durante 72 h, conforme metodologia descrita em BRASIL (1992).

3.3. Análise sensorial

As avaliações sensoriais com provadores treinados pela empresa parceira foram realizadas a cada período de 7 dias. As amostras foram aquecidas em água (~90°C), retiradas da água cortadas em rodela e distribuídas em embalagens codificadas.

As avaliações sensoriais foram realizadas na indústria em escala laboratorial, com equipe composta por 10 provadores treinados de ambos os sexos, de diferentes faixas etárias (20 a 50 anos). As amostras de linguiça tipo Calabresa (~2 cm de arestas) serão distribuídas em recipientes plásticos codificados com números aleatórios de 3 dígitos, juntamente com a ficha de avaliação, empregando um delineamento 2 sessões de avaliação sensorial, onde cada provador provou em

cada sessão 3 amostras, expressando quanto a amostra-referência diferenciou da amostra-tratamento em relação a intensidade da alteração do sabor típico da linguiça calabresa, em uma escala mista de 9 pontos (0 - Nenhuma alteração ;1; 2 - Ligeiramente alterado; 3; 4- Moderadamente alterado; 5; 6 - Muito alterado; 7; 8 - Extremamente alterado).

3.4. Análise estatística

Os resultados das determinações físico-químicas, microbiológica e sensoriais foram tratados estatisticamente pela análise de variância (ANOVA) e comparação das médias pelo teste de Tukey com 5 % de significância ($p < 0,05$) e pela metodologia de planejamento de experimentos, utilizando o *software* STATISTICA versão 8.0 (Statsoft Inc, USA).

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Neste item será apresentado os resultados obtidos, constando das avaliações físico-químicas da estabilidade oxidativa (lipídica e protéica), cor, residual de benzopireno, microbiológica e sensorial de amostras de linguiça tipo Calabresa, submetidas aos tratamentos com diferentes fumaças líquidas (A e B) acondicionadas em embalagem de Nylon Poli e armazenadas a 20°C por 28 dias.

4.1 Avaliação da estabilidade oxidativa

4.1.1 Oxidação de Lipídios – TBARS

Nas Tabelas 5 e 6 são apresentadas as Matrizes do planejamento fatorial 2² (valores codificados e reais) e valores de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) para as amostras de linguiça Calabresa submetidas aos tratamentos com fumaças líquidas (A e B) armazenadas a 20°C por 28 dias. De acordo com a Tabela 4, observa-se que houve aumento significativo ($p < 0,05$) dos valores de TBARS aos 28 dias de armazenamento a 20°C, sendo que os maiores valores foram encontrados nos ensaios 2 e 5, de 0,439 e 0,440 mg de MDA/Kg respectivamente, ambos com o maior diluição (1:4) da fumaça líquida. Porém, não foi verificado efeitos das variáveis de estudo (diluição e tempo de contato da fumaça) nos valores de TBARS, nos distintos períodos de armazenamento avaliados.

Na Tabela 6, observa-se que os maiores valores de TBARS encontrados nas amostras de linguiça tipo Calabresa tratadas com fumaça líquida “B” no 28º dia de armazenamento a 20°C, foram nos ensaios 2 e 5 de 0,674 e 0,624 mg MDA/Kg, respectivamente, os quais apresentam a maior diluição (1:3, v/v) da fumaça líquida “B”.

Tabela 5: Matriz do planejamento fatorial 2² (valores codificados e reais) e valores de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARs) para as amostras de linguiça tipo Calabresa com fumaça “A” armazenadas a 20°C por 28 dias.

Ensaio	Variáveis independentes*		TBARs ** (mg malonaldeído/kg de amostra)				
	X ₁	X ₂	1º dia	7º dia	14º dia	21º dia	28º dia
1	-1(1:2)	-1(60)	0,109 ^c (±0,004)	0,106 ^c (±0,025)	0,223 ^b (±0,011)	0,159 ^{bc} (±0,037)	0,384 ^a (±0,008)
2	1(1:4)	-1(60)	0,237 ^b (±0,001)	0,235 ^b (±0,004)	0,138 ^c (±0,006)	0,199 ^c (±0,026)	0,439 ^a (±0,095)
3	0(1:3)	0(105)	0,207 ^a (±0,024)	0,201 ^{ab} (±0,045)	0,066 ^c (±0,003)	0,098 ^{bc} (±0,003)	0,295 ^a (±0,031)
4	-1(1:2)	1(150)	0,181 ^b (±0,094)	0,222 ^b (±0,056)	0,127 ^c (±0,008)	0,106 ^c (±0,003)	0,372 ^a (±0,006)
5	1(1:4)	1(150)	0,209 ^b (±0,001)	0,202 ^b (±0,028)	0,187 ^b (±0,006)	0,109 ^b (±0,011)	0,444 ^a (±0,054)

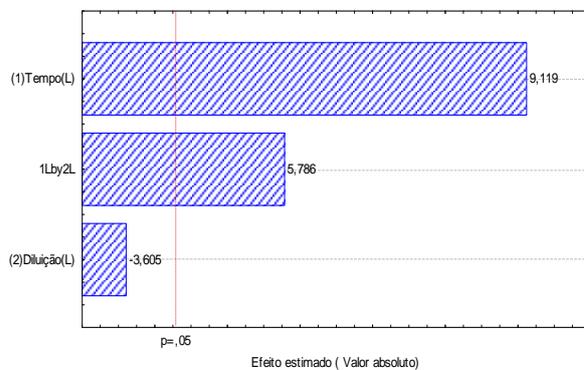
*X₁: fração da diluição (v/v); X₂: tempo de contato (seg); Triplicata ensaios do ponto central; **Média ± (desvio padrão) seguidas de letras minúsculas nas linhas iguais não diferem estatisticamente á nível de 5% (Teste de Tukey)

Tabela 6: Matriz do planejamento fatorial 2^2 (valores codificados e reais) e valores de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARs) para as amostras de linguiça tipo Calabresa com fumaça “B” armazenadas a 20°C por 28 dias.

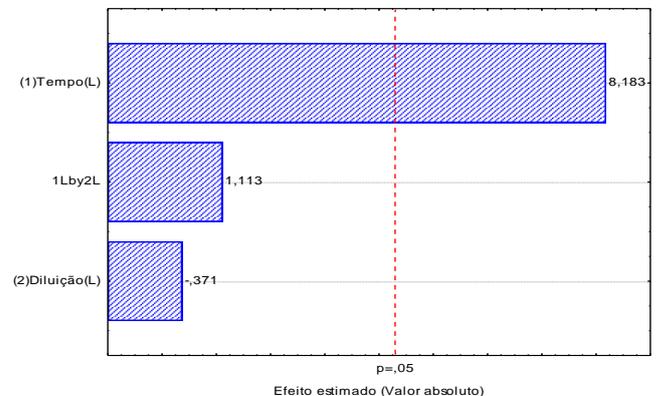
Ensaio	Variáveis independentes*		TBARs (mg malonaldeído/kg de amostra)			
	X ₁	X ₂	1º dia	7º dia	14º dia	28º dia
1	-1 (1:1)	-1(60)	0,232 ^{abc} (±0,001)	0,194 ^{bc} (±0,081)	0,330 ^{ab} (±0,001)	0,345 ^a (±0,002)
2	1 (1:3)	-1 (60)	0,390 ^b (±0,001)	0,393 ^b (±0,001)	0,173 ^c (±0,013)	0,674 ^a (±0,021)
3	0(1:2)	0(105)	0,252 ^a (±0,054)	0,250 ^a (±0,035)	0,187 ^a (±0,008)	0,237 ^a (±0,008)
4	-1 (1:1)	1 (150)	0,140 ^c (±0,007)	0,151 ^b (±0,053)	0,256 ^a (±0,016)	0,240 ^a (±0,001)
5	1 (1:3)	1 (150)	0,426 ^b (±0,010)	0,414 ^b (±0,033)	0,291 ^c (±0,034)	0,624 ^a (±0,016)

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

A Figura 7 mostra os Gráficos de Pareto com o efeito estimado (valor absoluto) das variáveis estudadas no planejamento experimental 2^2 para TBARs das amostras de linguiça tipo Calabresa tratadas com a fumaça lígida “B”, aos 1ºdia (a), 7ºdia (b), 14º dia (c) e 28º dia (d) de armazenamento a 20°C, respectivamente.



(a)



(b)

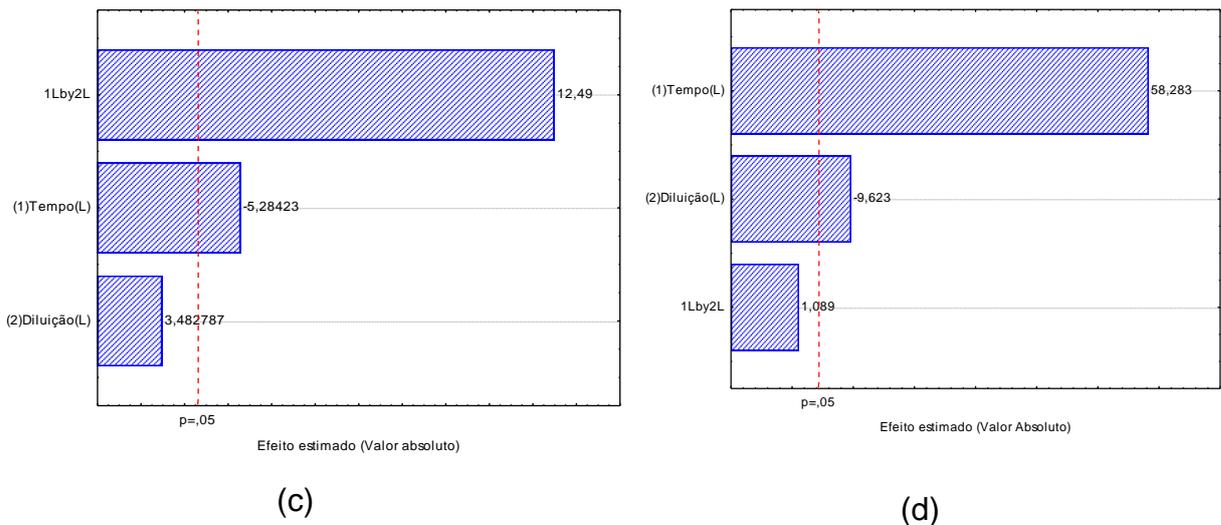


Figura 7: Gráfico de Pareto com o efeito estimado (valor absoluto) das variáveis estudadas no planejamento experimental 2^2 para TBARs das amostras de linguiça tipo Calabresa tratadas com a fumaça líquida “B”, aos 1º dia (a), 7º dia (b), 14º dia (c) e 28º dia (d) de armazenamento a 20°C, respectivamente.

Verifica-se que o tempo de contato exerceu efeito significativo ($p < 0,05$) positivo sobre o TBARs no 1º (Figura 7a), 7º (Figura 7b) e 28º dia (Figura 7d) de armazenamento. Também foi verificado efeitos de interação entre o tempo de contato e a diluição da fumaça líquida, no 1º(a), 14º e 28º dia de armazenamento, demonstrando que a medida que aumenta-se a diluição da fumaça líquida “B” e o tempo, tem-se um incremento significativo ($p < 0,05$) na oxidação de lipídios das amostras de linguiça tipo Calabresa.

Na literatura são poucos os trabalhos que relatam os efeitos da concentração da fumaça líquida e do tempo de contato desta com produtos cárneos na oxidação lipídica. Os valores de TBARs de 0,439 e 0,440 mg de MDA/kg estão dentro da faixa encontrada na literatura (Almeida, 2005; Gatellier *et al.*, 2007). Schwert *et al.* (2011) verificaram um acréscimo significativo ($p < 0,05$) nos teores de TBARs até o 40º dia de armazenamento a 20°C. Comparando a fumaça tradicional com a fumaça líquida em linguiça tipo Calabresa obtiveram valores de 0,56 e 0,44 mg de MDA/Kg, respectivamente. A fumaça líquida por conter compostos fenólicos que possuem propriedades antioxidantes contribuem para evitar a oxidação (KERRY, 2004).

Durante o período de armazenamento a 20°C houve flutuações nos valores de TBARs para os ensaios utilizando a fumaça “A”, o que também é relatado na

literatura para diversos produtos cárneos. Grau *et al.* (2001); Gatellier *et al.* (2007); Schwert *et al.* (2011) relataram que as flutuações no valores de TBARs se devem ao fato que o malonaldeído reage com uma larga escala de compostos ou pode formar dienos ou trienos, o que diminui a quantidade de MDA disponível para reagir com o ácido tiobarbitúrico, em consequência, os valores de TBARS avaliados são reduzidos ao longo do período.

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

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

4.1.2. Oxidação proteica – Grupos carbonil

Nas Tabelas 7 e 8 são apresentadas as Matrizes do planejamento fatorial 2² (valores codificados e reais) e resposta de grupos carbonil (nmol carbonil/mg proteína) para as amostras de linguiça tipo Calabresa tratadas com fumaça líquida “A” e “B” e avaliadas no período de 28 dias armazenadas a 20°C.

Tabela 7: Matriz do planejamento fatorial 2^2 (valores codificados e reais) e resposta de grupos carbonil (nmol carbonil/mg proteína) para as amostras de linguiça tipo Calabresa com fumaça “A” para os 28 dias de armazenamento a 20°C.

Ensaio	Variáveis independentes*		Grupos carbonil (nmol carbonil/mg proteína)				
	X ₁	X ₂	1º dia	7º dia	14º dia	21º dia	28º dia
1	-1 (1:2)	-1 (60)	1,64 ^c (±0,02)	3,67 ^b (±0,01)	3,70 ^{ab} (±0,01)	3,72 ^{ab} (±0,01)	3,75 ^a (±0,01)
2	1 (1:4)	-1 (60)	1,76 ^b (±0,06)	3,79 ^a (±0,01)	3,68 ^a (±0,20)	3,72 ^a (±0,17)	3,86 ^a (±0,06)
3	0 (1:3)	0 (105)	1,61 ^c (±0,04)	3,64 ^b (±0,01)	3,68 ^{ab} (±0,01)	3,69 ^{ab} (±0,01)	3,73 ^a (±0,01)
4	-1 (1:2)	1 (150)	1,67 ^b (±0,03)	3,70 ^a (±0,03)	3,77 ^a (±0,02)	3,78 ^a (±0,02)	3,83 ^a (±0,05)
5	1 (1:4)	1 (150)	1,59 ^b (±0,01)	3,66 ^a (±0,01)	3,74 ^a (±0,02)	3,74 ^a (±0,03)	3,79 ^a (±0,10)

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

Na Tabela 7, observa-se que os grupamentos de carbonil tiveram um aumento significativo ($p < 0,05$) acentuado do tempo 1º dia para o 7º dia de armazenamento. No entanto, do 7º até o 21º dia os valores se mantiveram praticamente estáveis para todos os ensaios, sendo que para a maioria dos ensaios não houve diferença significativa ($p < 0,05$) do 14º dia ao 28º dia. O maior valor de grupos carbonil observado (3,86 nmol de carbonil/mg de proteína) foi relativo ao ensaio 2 no 28º dia de armazenamento a 20°C, com o menor tempo de exposição (60 seg.) e maior diluição (1:4, v/v) da fumaça líquida.

A Figura 8 (a, b, c) apresenta os gráficos de Pareto com os efeitos estimados (valor absoluto) das variáveis testadas no planejamento fatorial 2^2 para os grupo carbonil das amostras de linguiça tipo Calabresa tratadas com a fumaça líquida “A” no 7º dia (a), 14º dia (b) e 28º dia (c) de armazenamento a 20°C. No 1º e 21º dia de armazenamento nenhuma das variáveis estudadas exerceram efeito significativo

($p < 0,05$) sobre o grupo carbonil, dentro da faixa estudada. No entanto, no 7º dia (Figura 8a) de armazenamento, o tempo de contato, influenciou significativamente ($p < 0,05$) no incremento do grupo carbonil, porém a diluição de fumaça líquida e a interação desta variável com o tempo de contato, diminuir os grupamentos carbonil. No 14º dia (Figura 8b), apenas a diluição favoreceu o aumento da oxidação de proteínas (carbonil). No entanto, no 28º dia (Figura 8c) o tempo de contato da fumaça líquida ocasionou um incremento no carbonil, porém a interação com a diluição o efeito foi negativo.

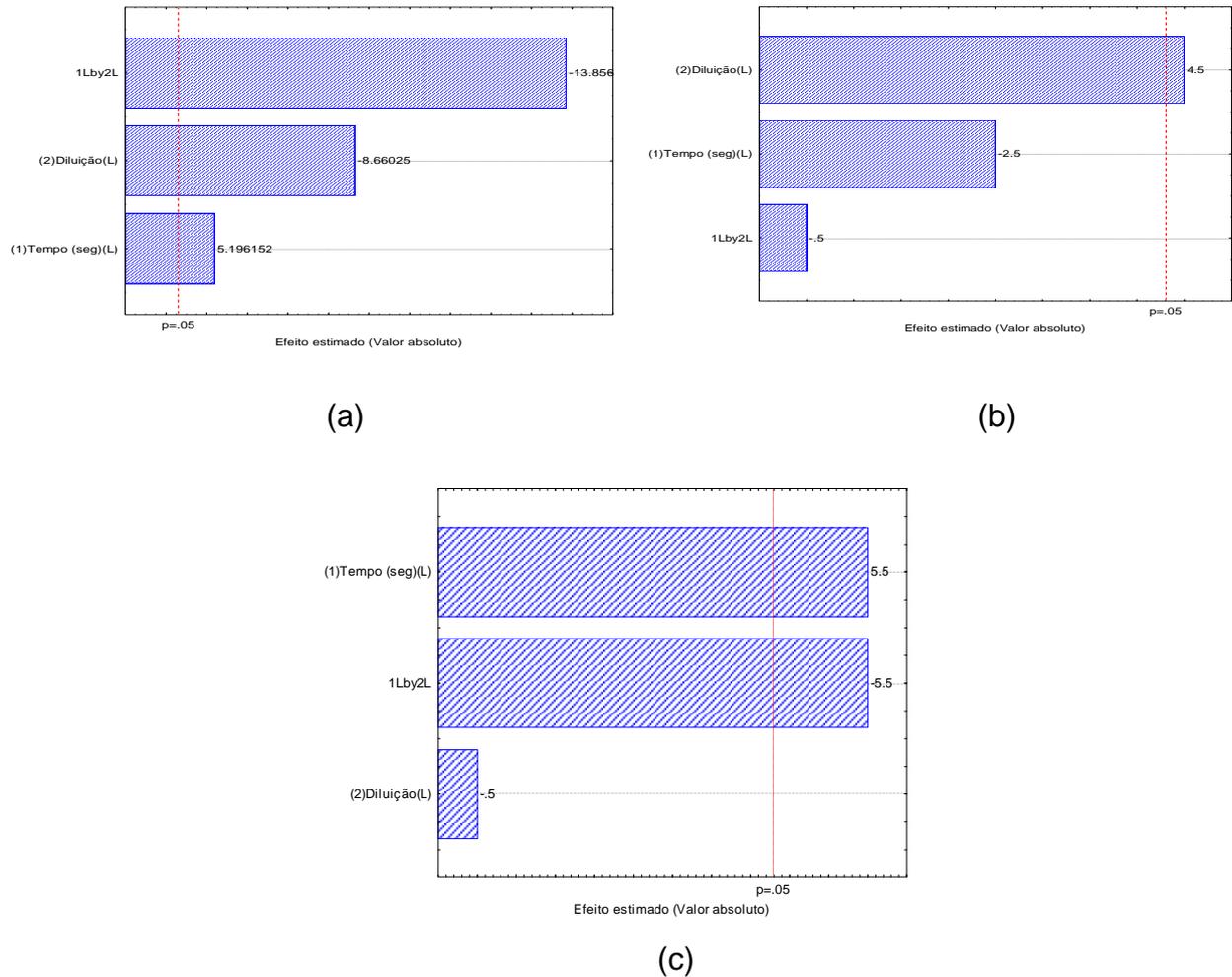


Figura 8: Gráfico de Pareto com o efeito estimado (valor absoluto) das variáveis estudadas no planejamento experimental 2^2 para os grupos carbonil de amostras de linguiça tipo Calabresa tratadas com fumaça líquida “A” no 7º dia (a), 14º dia (b) e 28º dia (c) de armazenamento a 20°C, respectivamente.

Na Tabela 8, observa-se que os grupamentos de carbonil tiveram um aumento significativo ($p < 0,05$) do 1º para o 7º dia de armazenamento, sendo que após este período o incremento não foi significativo. O maior teor do grupo carbonil foi observado para o ensaio 2, no 28º dia de armazenamento, de 4,04 nmol carbonil/mg proteína.

Tabela 8: Matriz do planejamento fatorial 2^2 (valores codificados e reais) e resposta de grupos carbonil (nmol carbonil/mg proteína) para as amostras de linguiça tipo Calabresa com fumaça B para os 28 dias de armazenamento a 20°C.

Ensaio	Variáveis independentes*		Grupos carbonil (nmol carbonil/mg proteína)				
	X_1	X_2	1º dia	7º dia	14º dia	21º dia	28º dia
1	-1 (1:1)	-1 (60)	1,67 ^b (±0,04)	3,69 ^a (±0,01)	3,74 ^a (±0,05)	3,79 ^a (±0,02)	3,82 ^a (±0,03)
2	1 (1:3)	-1 (60)	1,88 ^c (±0,02)	3,97 ^a (±0,04)	3,79 ^b (±0,01)	4,01 ^a (±0,01)	4,04 ^a (±0,02)
3	0 (1:2)	0 (105)	1,52 ^b (±0,09)	3,52 ^a (±0,11)	3,61 ^a (±0,02)	3,66 ^a (±0,06)	3,70 ^a (±0,01)
4	-1 (1:1)	1 (150)	1,67 ^b (±0,08)	3,76 ^a (±0,04)	3,74 ^a (±0,06)	3,79 ^a (±0,13)	3,81 ^a (±0,10)
5	1 (1:3)	1 (150)	1,97 ^b (±0,02)	3,86 ^a (±0,03)	3,85 ^a (±0,04)	3,78 ^a (±0,01)	3,84 ^a (±0,06)

* X_1 : fração da diluição (v/v); X_2 : tempo de contato (seg); Triplicata ensaios do ponto central; **Média ± (desvio padrão) seguidas de letras minúsculas nas linhas iguais não diferem estatisticamente á nível de 5% (Teste de Tukey).

A Figura 9 (a, b) apresenta os gráficos de Pareto com os efeitos estimados (valor absoluto) das variáveis testadas no planejamento fatorial 2^2 para os grupo carbonil das amostras de linguiça tipo Calabresa tratadas com a fumaça líquida “B” no 14º dia (a) e 28º dia (b) de armazenamento a 20°C.

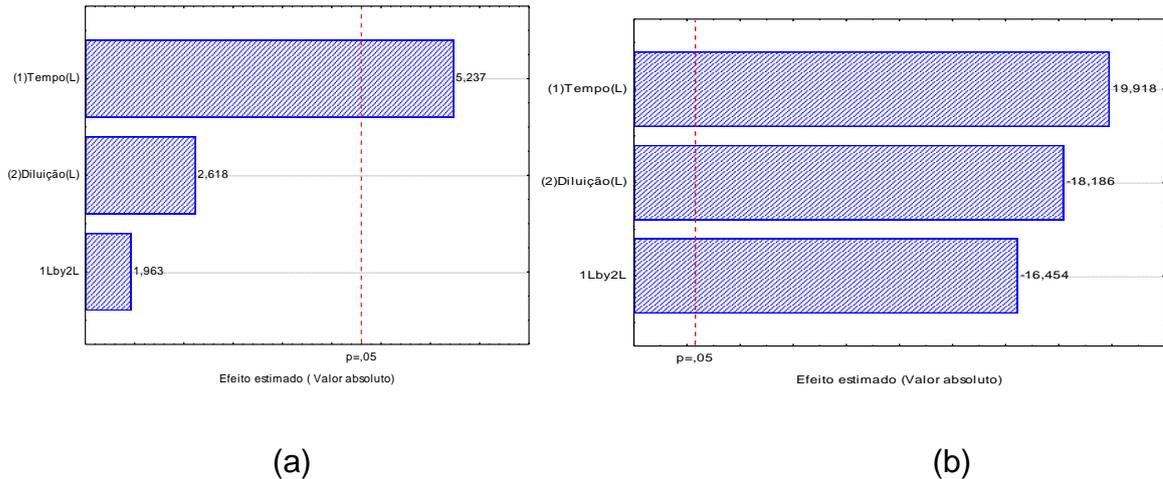


Figura 9: Gráfico de Pareto com os efeitos estimados (valor absoluto) das variáveis estudadas no planejamento experimental 2^2 para os grupos carbonil de amostras de linguiça tipo Calabresa tratadas com fumaça líquida “B” no 14º dia (a) e 28º dia (b) de armazenamento a 20°C, respectivamente.

No 14º dia (Figura 9a) e 28º dia (Figura 9b), o tempo exerceu uma influência significativa ($p < 0,05$) positiva para o aumento dos grupamentos carbonil, ou seja, quanto maior o tempo de contato com a fumaça líquida “B” com a amostra maior foi a oxidação proteica – Grupo carbonil. No entanto, no 28º dia a interação do tempo com a diluição, diminuíram a formação dos grupos carbonil. No 1º, 7º e 21º de armazenamento, nenhuma das variáveis estudadas exerceram efeito significativo, na faixa estuda.

Schwert *et al.* (2011) avaliando linguiças tipo calabresa tratadas com fumaça tradicional e líquida encontrou teores 1,38 e 1,15 nmol carbonil/mg proteína; respectivamente para os primeiros dias de armazenamento. Após 40 dias de armazenamento para a fumaça líquida comercial (marca “I”) os valores foram superiores (4,85 nmol carbonil/mg proteína) ao do presente estudo (Tabela 7 e 8).

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

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

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

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

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

Na Tabela 9 é apresentada a matriz do planejamentos fatorial 2^2 (valores codificados e reais) e resposta de grupos sulfidrilas ($\mu\text{moles/mg}$ de proteína) de amostras de linguiça tipo Calabresa tratadas com fumaça líquida comercial "A" e armazenadas por um período de 28 dias a 20°C. Verifica-se que os grupamentos sulfidrilas diminuíram significativamente ($p < 0,05$) a partir do 7º dia de armazenamento. Segundo BATIFOULIER *et al.* (2002) e SOYER & HULTIN (2000) a oxidação de proteínas está associada com uma diminuição dos grupos sulfidrilas, que são convertidos em dissulfetos.

Tabela 9: Matriz do planejamento fatorial 2^2 (valores codificados e reais) e resposta de grupos sulfidrilas ($\mu\text{moles/mg}$ de proteína) de amostras de linguiça tipo Calabresa tratadas com fumaça líquida “A” armazenadas a 20°C por 28 dias.

Ensaio	Variáveis independentes*		Grupos sulfidrilas ($\mu\text{moles/ mg}$ de proteína)				
	X_1	X_2	1º dia	7º dia	14º dia	21º dia	28º dia
1	-1 (1:2)	-1 (60)	77,16 ^a ($\pm 0,02$)	66,34 ^a ($\pm 0,66$)	20,51 ^b ($\pm 0,33$)	15,18 ^c ($\pm 0,04$)	12,24 ^d ($\pm 0,25$)
2	1 (1:4)	-1 (60)	45,74 ^a ($\pm 0,04$)	44,78 ^a ($\pm 0,54$)	20,5 ^b ($\pm 0,35$)	15,08 ^c ($\pm 0,50$)	12,11 ^d ($\pm 0,07$)
3	0 (1:3)	0 (105)	72,22 ^a ($\pm 0,82$)	70,72 ^a ($\pm 0,23$)	20,24 ^b ($\pm 0,31$)	17,66 ^c ($\pm 0,02$)	13,79 ^d ($\pm 0,36$)
4	-1 (1:2)	1 (150)	32,74 ^a ($\pm 0,93$)	31,85 ^a ($\pm 1,31$)	19,98 ^b ($\pm 0,09$)	13,99 ^b ($\pm 0,50$)	13,28 ^b ($\pm 0,02$)
5	1 (1:4)	1 (150)	33,99 ^a ($\pm 0,01$)	33,86 ^a ($\pm 0,46$)	20,88 ^b ($\pm 0,34$)	21,53 ^b ($\pm 0,19$)	15,79 ^c ($\pm 0,02$)

* X_1 : fração da diluição (v/v); X_2 : tempo de contato (seg); Triplicata ensaios do ponto central; **Média \pm (desvio padrão) seguidas de letras minúsculas nas linhas iguais não diferem estatisticamente á nível de 5% (Teste de Tukey)

A Figura 10 (a -, d) apresenta os gráficos de Pareto com os efeitos estimados (valor absoluto) das variáveis testadas no planejamento fatorial 2^2 para os grupo sulfidrilas das amostras de tipo Calabresa tratadas com a fumaça líquida “A” e armazenadas a 20°C . A fração da diluição exerceu efeito significativo ($p < 0,05$) negativo sobre o grupo sulfidrilas no 1º dia (Figura 10a) e 7º dia (Figura 10b), indicando que a medida que aumenta-se a diluição da fumaça líquida favorece a diminuição dos grupos sulfidrilas. No entanto, o tempo e a interação das variáveis influenciaram positivamente no 1º e 7º dia. Já, no 28º dia (Figura 10c) a diluição exerceu influencia ($p < 0,05$) positiva sobre os grupos sulfidrilas. No 14º e 21º dia nenhuma das variáveis influenciou, dentro da faixa estudada.

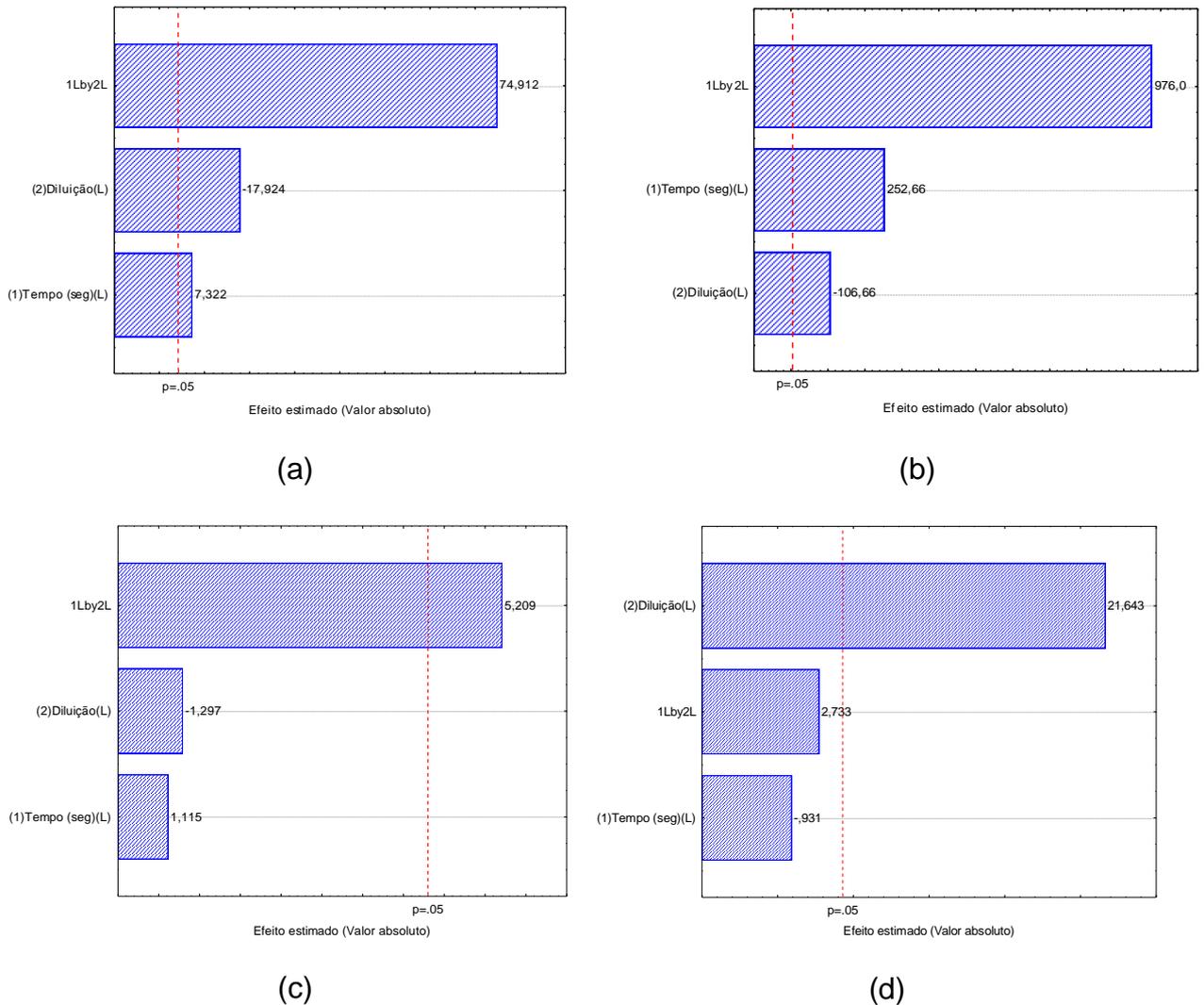


Figura 10: Gráfico de Pareto com os efeitos estimados (valor absoluto) das variáveis estudadas no planejamento experimental 2^2 para os grupos sulfidrilas de linguiça tipo Calabresa tratada com fumaça líquida “A” no 1º dia (a), 7ºdia (b), 14ºdia (c) e 28º dia (d) de armazenamento a 20°C, respectivamente.

Na Tabela 10 é apresentada a matriz do planejamentos fatorial 2^2 (valores codificados e reais) e resposta de grupos sulfidrilas ($\mu\text{moles/mg}$ de proteína) de amostras de linguiça tipo Calabresa tratadas com fumaça líquida comercial “B” e armazenadas por um período de 28 dias a 20°C. Verifica-se que os grupamentos sulfidrilas diminuíram ao longo de período de armazenamento, sendo que a maior queda (65,4 %) foi verificada no ensaio 1 ao 28 dias de armazenamento.

Tabela 10: Matriz do planejamento fatorial 2² (valores codificados e reais) e resposta de grupos sulfidrilas ($\mu\text{moles/mg}$ de proteína) de amostras de linguiça tipo Calabresa tratadas com fumaça líquida “B” armazenadas a 20°C por 28 dias

Ensaio	Variáveis independentes*		Grupos sulfidrilas ($\mu\text{moles/mg}$ de proteína)			
	X ₁	X ₂	1º dia	7º dia	21º dia	28º dia
1	-1 (1:1)	-1 (60)	37,73 ^a ($\pm 5,47$)	34,35 ^a ($\pm 0,69$)	14,52 ^b ($\pm 2,28$)	13,06 ^b ($\pm 0,23$)
2	1 (1:3)	-1 (60)	34,54 ^b ($\pm 0,02$)	44,87 ^a ($\pm 1,22$)	27,64 ^c ($\pm 1,79$)	22,52 ^d ($\pm 0,14$)
3	0 (1:2)	0 (105)	44,22 ^a ($\pm 1,41$)	44,27 ^a ($\pm 1,48$)	21,66 ^b ($\pm 1,11$)	21,17 ^b ($\pm 1,12$)
4	-1 (1:1)	1 (150)	40,11 ^a ($\pm 4,72$)	39,96 ^a ($\pm 4,51$)	24,41 ^b ($\pm 0,14$)	29,59 ^{ab} ($\pm 1,12$)
5	1 (1:3)	1 (150)	36,74 ^a ($\pm 7,27$)	38,11 ^a ($\pm 9,21$)	21,97 ^b ($\pm 2,71$)	21,66 ^b ($\pm 2,70$)

*X₁: fração da diluição (v/v); X₂: tempo de contato (seg); Triplicata ensaios do ponto central; **Média \pm (desvio padrão) seguidas de letras minúsculas nas linhas iguais não diferem estatisticamente a nível de 5% (Teste de Tukey).

A Figura 11 (a, b, c, d) apresenta os gráficos de Pareto com os efeitos estimados (valor absoluto) das variáveis testadas no planejamento fatorial 2² para os grupo sulfidrilas das amostras de linguiça tipo Calabresa tratadas com a fumaça líquida “B” e armazenadas a 20°C. A fração diluição influenciou ($p < 0,05$) positivamente sobre o grupo sulfidrilas, somente no 1º dia (Figura 11a). Já, no 7º, 14º e 28º dia, o tempo exerceu efeito significativo ($p < 0,05$) positivo e a interação influenciou negativamente sobre os grupos sulfidrilas.

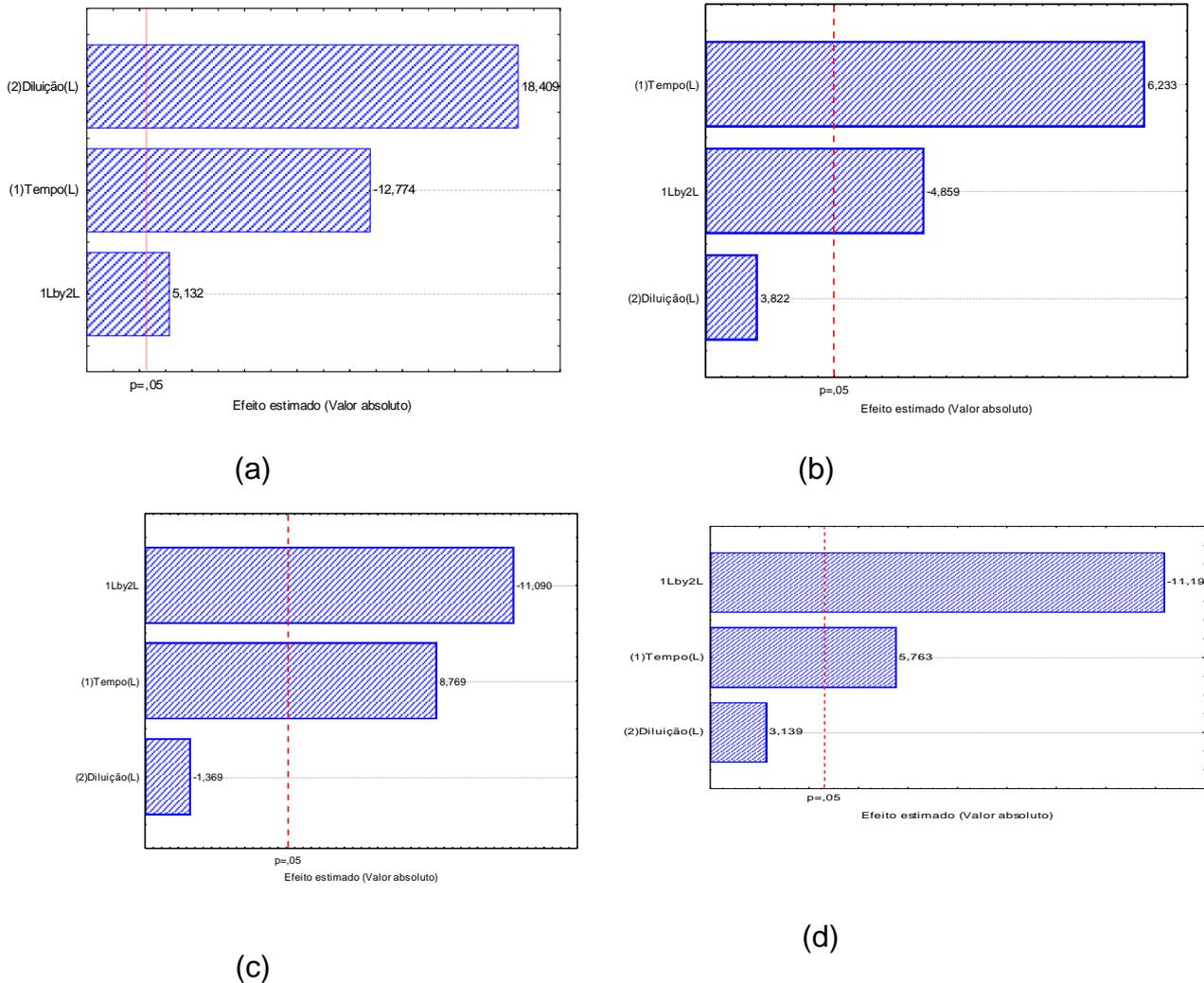


Figura 11: Gráfico de Pareto com o efeito estimado (valor absoluto) das variáveis estudadas no planejamento experimental 2^2 para os grupos sulfidrilas de linguiça tipo Calabresa tratada com fumaça líquida “B” no 1º dia (a), 7º dia (b), 21º dia (c) e 28º dia (d) de armazenamento a 20°C, respectivamente.

A diminuição no teor de grupos sulfidrilas foi relatado anteriormente em carne de frango, durante o armazenamento congelado (SOYER & HULTIN 2000), em carne de peru (BATIFOULIER *et al.*, 2002) e em polpa de peixe durante o armazenamento refrigerado (EYMARD *et al.*, 2009).

Soyer (2010) estudando o efeito da temperatura de congelamento e tempo de estocagem na oxidação lipídica e protéica em carne de frango, concluiu que ambos não tiveram influência significativa ($P < 0,01$) sobre o conteúdo de sulfidrilas da perna

de frango e carne de peito, com o teor médio de diminuição de 38,82-13,26 $\mu\text{mol}/\text{mg}$ proteína (queda 65,8 %) e carne de perna 27,62-18,29 $\mu\text{mol}/\text{mg}$ proteína (33,8% de queda) durante 6 meses de armazenamento.

Batifoulier *et al.* (2002) avaliando carne de peru mostrou que o valor inicial de grupos sulfidril livre (amostras suplementadas) foi de 90 $\mu\text{mol}/\text{mg}$ de proteína em comparação com 60 $\mu\text{mol}/\text{mg}$ na amostra controle. O conteúdo de sulfidril livre diminuiu quase 60 $\mu\text{mol}/\text{mg}$ de proteína em animais suplementados e a 40 $\mu\text{mol}/\text{mg}$ de proteína no controle, depois de 24 h.

4.1.3. Composição de ácidos graxos.

Os ácidos graxos foram determinados nas amostras de linguiças tipo Calabresa e os resultados estão apresentados nas Tabelas 11 a 14. Nas amostras de linguiça tipo Calabresa os ácidos graxos saturados encontrados foram os ácidos palmítico e esteárico e os insaturados foram os ácidos oléico e o linoléico. 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.

4.1.3.1 Ácidos graxos saturados.

Nas Tabelas 11 e 12 são apresentadas as matrizes dos planejamentos fatoriais 2^2 e a resposta em ácido palmítico (g/100g de amostra) para as amostras de linguiça tipo Calabresa tratadas com a fumaça líquida “A” e “B” armazenada a 20°C durante 28 dias.

Tabela 11: Matriz do planejamento fatorial 2^2 (valores codificados e reais) e comportamento do ácido palmítico (g/100g de amostra) nas amostras de linguiça tipo Calabresa tratadas com fumaça líquida “A” aos 28 dias de armazenamento a 20°C.

Ensaio	Variáveis independentes*		Teor de ácido palmítico (g/100 g de amostra)			
	X ₁	X ₂	1º dia	14º dia	21º dia	28º dia
1	-1 (1:2)	-1 (60)	1,46 ^c (± 0,02)	1,95 ^c (± 0,08)	3,61 ^b (± 0,28)	4,41 ^a (± 0,05)
2	1 (1:4)	-1 (60)	1,96 ^b (± 0,07)	1,97 ^b (± 0,09)	4,31 ^a (± 0,34)	2,58 ^b (± 0,01)
3	0 (1:3)	0 (105)	2,30 ^c (± 0,09)	1,80 ^c (± 0,01)	3,83 ^a (± 0,14)	3,35 ^b (± 0,06)
4	-1 (1:2)	1 (150)	2,41 ^b (± 0,05)	2,30 ^b (± 0,20)	4,19 ^a (± 0,10)	2,48 ^b (± 0,13)
5	1 (1:4)	1 (150)	3,33 ^a (± 0,08)	1,96 ^c (± 0,07)	2,90 ^b (± 0,09)	3,46 ^a (± 0,05)

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

Os efeitos das variáveis independentes de estudo podem ser melhor visualizadas pelos gráficos de Pareto apresentados na Figura 12 (a, c, d). Como é possível observar na Figura 12 os efeitos das variáveis de estudo, bem como a interação entre o tempo de contato da fumaça e a fração da diluição tiveram efeito sobre a composição do ácido palmítico à nível de 95% de confiança, sendo que a diluição apresentou efeito positivo no 1º e 14º dia de armazenamento, ou seja, indicando que a medida que a fumaça líquida for diluída ocorre um aumento no teor de ácido palmítico. Também foi verificado a interação negativa do tempo de contato com a fração de diluição no 14º e 28º dia de armazenamento

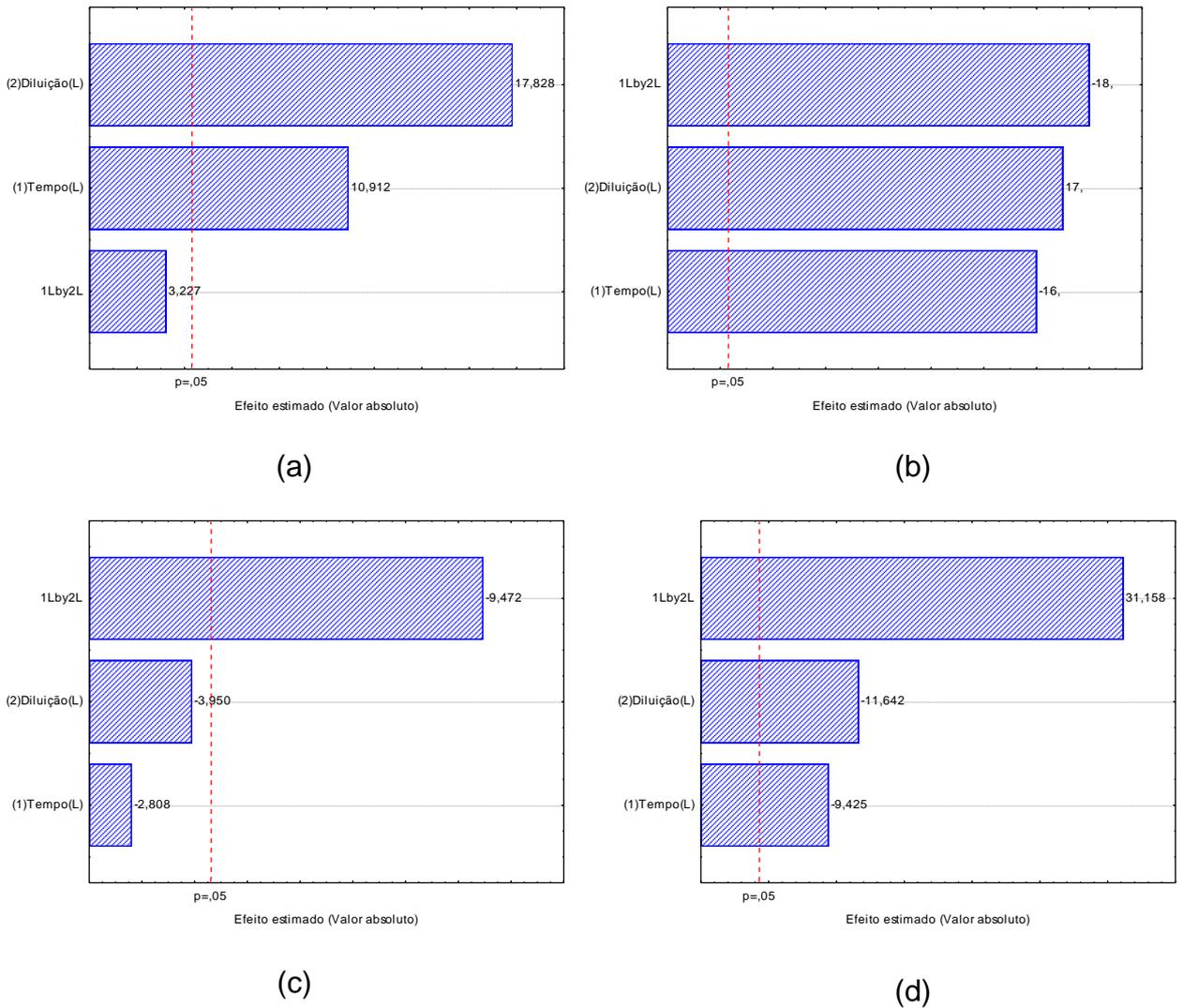


Figura 12: Gráfico de Pareto com os efeitos estimados (valor absoluto) das variáveis estudadas no planejamento fatorial 2^2 para o ácido palmítico em amostras de linguiça tipo Calabresa tratadas com fumaça líquida “A” no 1º dia (a), 14º dia (b), 21º dia (c) e 28º dia (d) de armazenamento a 20°C, respectivamente.

A composição de ácido palmítico para amostras de linguiça tipo Calabresa tratadas com fumaça líquida B (Tabela 12) apresenta diferença significativamente ($p < 0,05$) do 1º dia ao 21º dia de armazenamento estudado. E verifica-se que o teor de ácido palmítico apresentou um incremento em seus valores aos 28 dias de armazenamento, independente do ensaio com fumaça líquida realizado.

Tabela 12: Matriz do planejamento fatorial 2^2 (valores codificados e reais) e resposta em ácido palmítico (g/100g) nas amostras de linguiça tipo calabresa tratadas com fumaça líquida “B”, para os 28 dias de armazenamento a 20°C.

Ensaio	Variáveis independentes*		Teor de ácido palmítico (g/100g de amostra)		
	X ₁	X ₂	1º dia	21º dia	28º dia
1	-1 (1:1)	-1 (60)	3,18 ^b (± 0,06)	4,53 ^a (± 0,09)	3,39 ^b (± 0,09)
2	1 (1:3)	-1 (60)	2,14 ^c (± 0,09)	2,94 ^b (± 0,04)	3,44 ^a (± 0,06)
3	0 (1:2)	0 (105)	2,67 ^b (± 0,01)	4,16 ^a (± 0,17)	3,05 ^b (± 0,08)
4	-1 (1:1)	1 (150)	2,53 ^b (± 0,02)	3,13 ^a (± 0,04)	3,28 ^a (± 0,09)
5	1 (1:3)	1 (150)	2,50 ^b (± 0,04)	3,77 ^a (± 0,02)	3,88 ^a (± 0,01)

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

Os efeitos das variáveis independentes de estudo podem ser melhor visualizadas pelos gráficos de Pareto apresentados na Figura 13 (a, b, c). Demonstrando que houve interação positiva ($p < 0,05$) do tempo de contato com a fração de diluição no 1º, 21º e 28º dia de armazenamento.

Pelegrini (2007) relatou valores de 0,78 g/100 g de ácido palmítico em um embutido fermentado elaborado com 80 % de carne de ovelhas de descarte e 20 % de carne suína. Castro (2008) encontrou concentrações de ácido palmítico (C16:0) de 633 a 647 mg/100 g e de 561 a 590 mg/100 g (em base seca) para as amostras cruas e grelhadas de carne de frango, respectivamente. Bragagnolo (2001) analisando quatro cortes de carne suína (paleta, pernil, lombo e toucinho) encontrou cerca de 40 ± 2 % de ácidos graxos saturados para essas amostras.

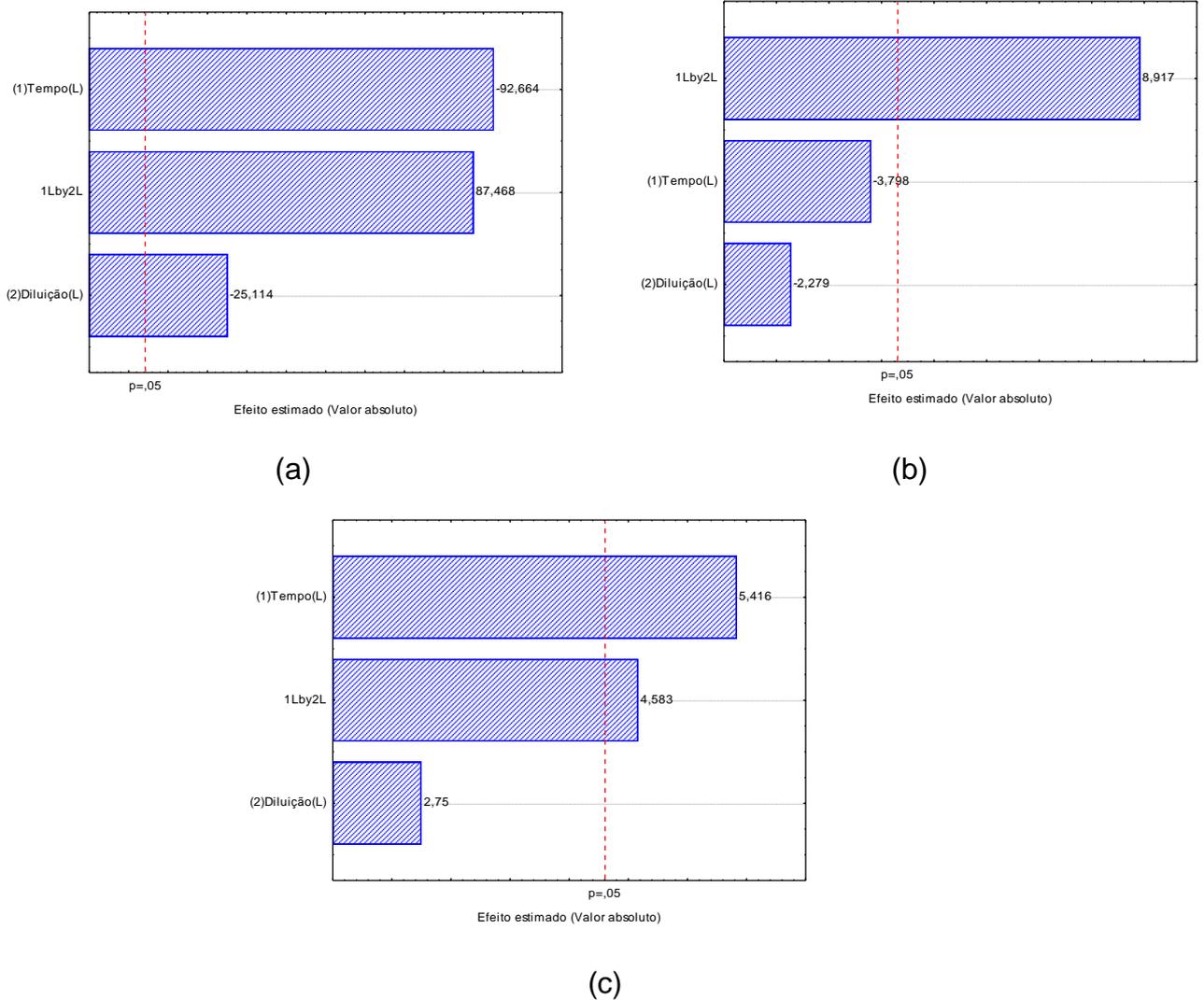
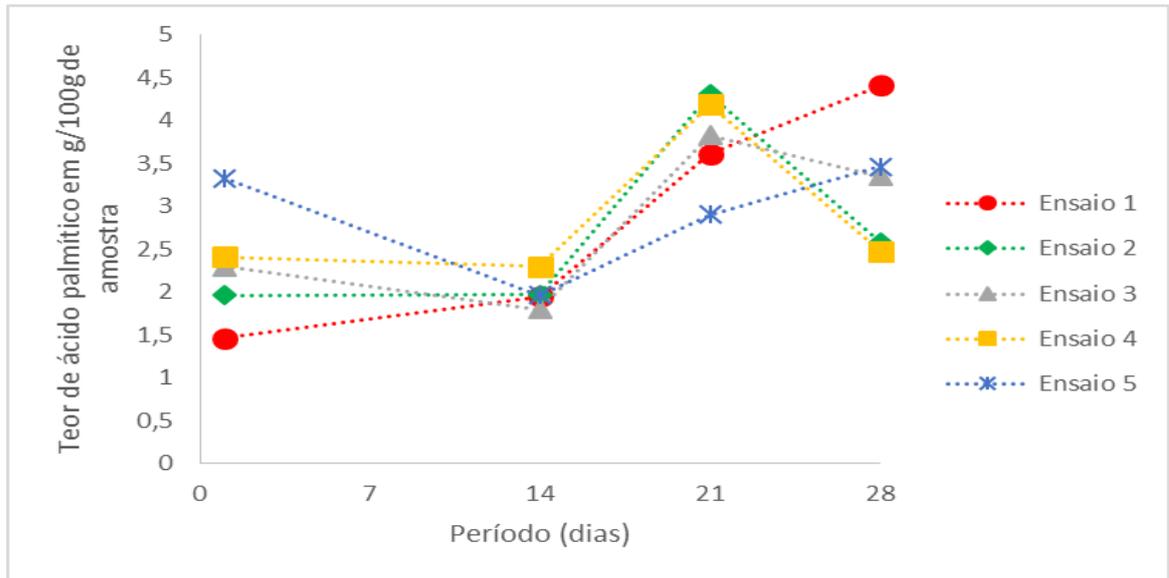
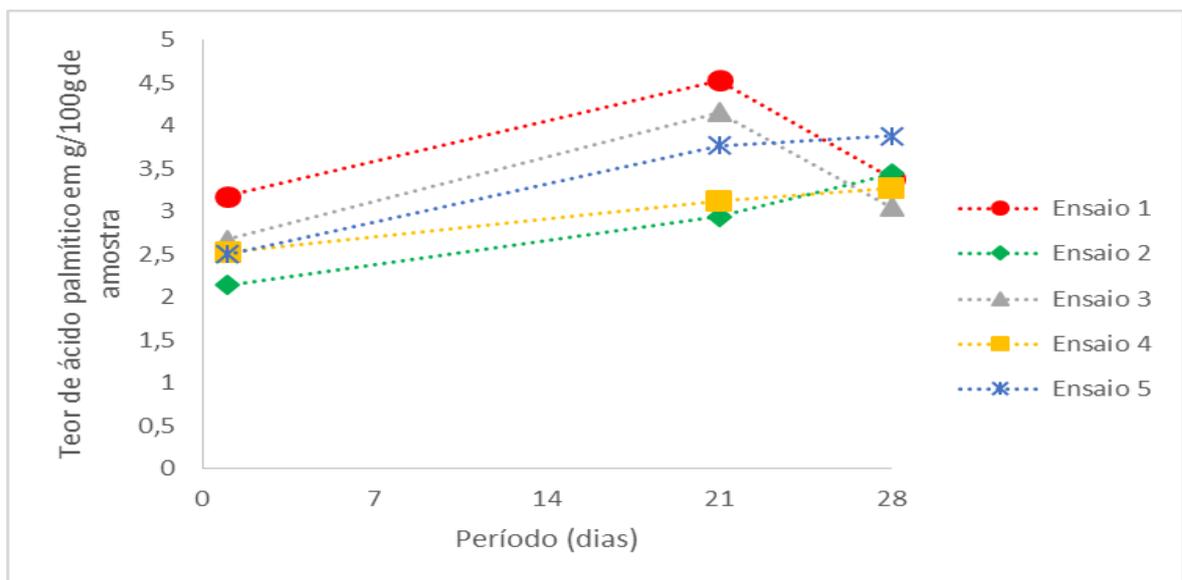


Figura 13: Gráfico de Pareto com os efeitos estimados (valor absoluto) das variáveis estudadas no planejamento fatorial 2^2 para o ácido palmítico em amostras de linguiça tipo Calabresa tratadas com fumaça líquida “B” para o 1º dia (a), 21º dia (b) e 28º dia (c) de armazenamento a 20°C, respectivamente.

A Figura 14 apresenta o comportamento do ácido palmítico para as amostras de linguiça tipo Calabresa do tratamento com fumaça líquida “A” (a) e “B” (b) durante o período de armazenamento (20°C) de 28 dias.



(a)



(b)

Figura 14: Comportamento do ácido palmítico para as amostras de linguiça tipo Calabresa do tratamento com fumaça líquida “A” (a) e “B” (b) durante o período de armazenamento (20°C) de 28 dias, respectivamente.

Como é possível observar (Figura 14a), que a composição de ácido palmítico para amostras de linguiça tipo Calabresa tratadas com fumaça líquida “A” apresenta pouca variação até o 14º dia de armazenamento estudado. Porém, verifica-se que o teor de ácido palmítico apresentou um incremento em seus valores aos 21 dias de armazenamento, independente do tratamento de fumaça líquida realizado. Ao final

do 21º dia de armazenamento a 20°C a amostra do ensaio 1 (Tabela 12 e Figura 14b) tratada com fumaça líquida “B”, correspondente ao menor tempo de contato (60') e a menor fração de diluição (1:1, v/v) foi o que apresentou o maior teor de 4,53 g/100 g de ácido palmítico.

Nas Tabelas 13 e 14 são apresentadas as matrizes dos planejamentos fatoriais 2² e resposta em ácido esteárico (g/100g de amostra) para as amostras de linguiça tipo Calabresa armazenada a 20°C durante 28 dias. De acordo com Tabela 13 e Figura 15 é possível observar que os valores de ácido esteárico tiveram uma flutuação no decorrer dos 28 dias avaliados. O máximo valor encontrado foi no ensaio 1 no 7º dia de armazenamento, onde o tempo de contato da fumaça com a amostra foi menor (60') e a fração da diluição menor (1:2, v/v).

Tabela 13: Matriz do planejamento fatorial 2² (valores codificados e reais) e resposta em ácido esteárico (g/100g) das amostras de linguiça tipo Calabresa tratadas com fumaça líquida “A” para os 28 dias de armazenamento a 20°C.

Ensaio	Variáveis independentes*		Teor de ácido esteárico (g/100g de amostra)				
	X ₁	X ₂	1º dia	7º dia	14º dia	21º dia	28º dia
1	-1 (1:2)	-1 (60)	4,08 ^{bc} (± 0,04)	4,88 ^a (± 0,05)	4,14 ^b (± 0,09)	3,73 ^d (± 0,01)	3,89 ^{cd} (± 0,03)
2	1 (1:4)	-1 (60)	4,10 ^a (± 0,01)	4,42 ^a (± 0,07)	4,07 ^a (± 0,02)	3,83 ^a (± 0,06)	4,67 ^a (± 0,87)
3	0 (1:3)	0 (105)	4,23 ^c (± 0,01)	4,66 ^a (± 0,02)	4,54 ^b (± 0,02)	4,01 ^d (± 0,01)	3,73 ^e (± 0,02)
4	-1 (1:2)	1 (150)	4,24 ^b (± 0,01)	4,79 ^a (± 0,01)	3,87 ^d (± 0,04)	4,12 ^{bc} (± 0,04)	4,07 ^c (± 0,01)
5	1 (1:4)	1 (150)	4,13 ^{ab} (± 0,02)	4,87 ^a (± 0,55)	4,01 ^{ab} (± 0,01)	4,07 ^{ab} (± 0,01)	3,69 ^b (± 0,01)

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

Os efeitos das variáveis independentes podem ser melhor visualizados na Figura 15 (a - e), onde apresenta-se os gráficos de Pareto com os efeitos estimados (valor absoluto) das variáveis testadas no planejamento fatorial 2^2 para o teor de ácido esteárico das amostras de linguiça tipo Calabresa para o 0^o, 7^o, 14^o, 21^o e 28^o dia de armazenamento. De modo geral o teor de ácido esteárico para os 5 ensaios uma ligeira queda após 14^o dia de armazenamento. Observa-se que no 1^o (Figura 15a) e 14^o (Figura 15c) dia de armazenamento a diluição exerceu um efeito positivo sobre o teor de ácido esteárico, ou seja, quanto mais diluída a fumaça maior foi o valor de ácido esteárico encontrado. No tempo de contato e na interação entre as variáveis foi verificado efeito negativo no 7^o dia (Figura 15b) de armazenamento. No entanto, no 28^o dia (Figura 15e) verifica-se efeito negativo da diluição e do tempo de contato, porém positiva ($P < 0,05$) da interação das variáveis, dentro da faixa estudada.

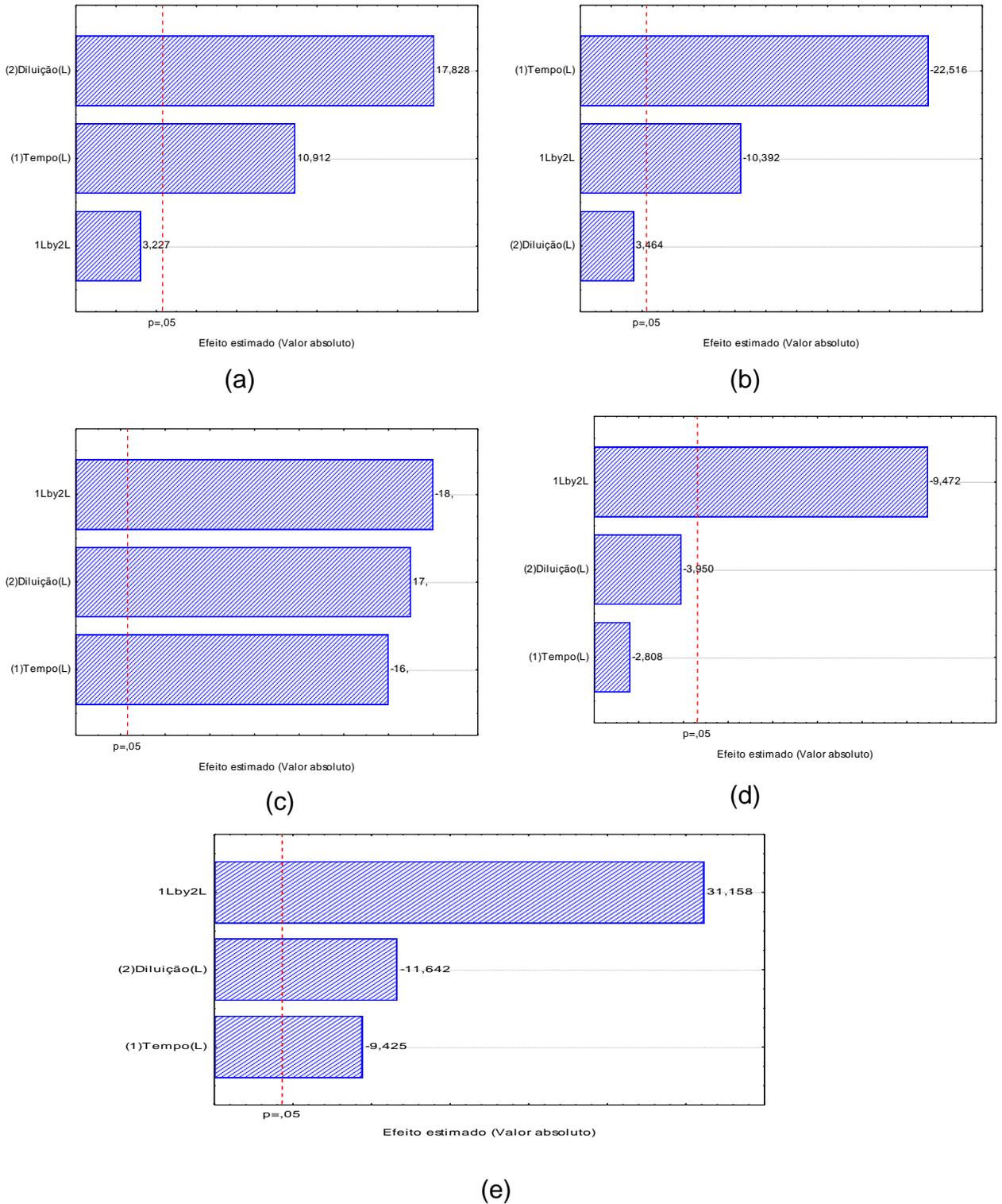


Figura 15: Gráfico de Pareto com o efeito estimado (valor absoluto) das variáveis estudadas no planejamento fatorial 2^2 para ácido esteárico de amostras de linguiça tipo Calabresa tratadas com fumaça líquida “A” no 1^o (a), 7^o (b), 14^o (c), 21^o(d) e 28^o (e) dia de armazenamento a 20°C, respectivamente.

Em relação aos ácidos graxos saturados, o ácido palmítico (Tabela 14) aumentou durante o período de armazenamento. Os efeitos das variáveis independentes podem ser melhor visualizados na Figura 15 (a - e), onde apresenta-se os gráficos de Pareto com os efeitos estimados (valor absoluto) das variáveis testadas no planejamento fatorial 2^2 para o teor de ácido esteárico das amostras de linguiça tipo Calabresa para o 1º, 7º, 14º, 21º e 28º dia de armazenamento.

Tabela 14: Matriz do planejamento fatorial 2^2 (valores codificados e reais) e resposta de composição de ácido esteárico (g/100g) das amostras de linguiça tipo Calabresa com fumaça B para os 28 dias de armazenamento (20°C).

Ensaio	Variáveis independentes*		Teor de ácido esteárico (g/100g de amostra)				
	X ₁	X ₂	1º dia	7º dia	14º dia	21º dia	28º dia
1	-1(1:1)	-1(60)	4,30 ^a (± 0,01)	4,63 ^a (± 0,01)	4,51 ^a (± 0,01)	4,14 ^b (± 0,04)	4,30 ^b (± 0,01)
2	1(1:3)	-1(60)	4,55 ^a (± 0,01)	4,63 ^a (± 0,01)	4,29 ^b (± 0,09)	4,52 ^a (± 0,01)	4,50 ^a (± 0,04)
3	0(1:2)	0(105)	4,48 ^b (± 0,01)	4,73 ^a (± 0,02)	4,17 ^c (± 0,08)	4,28 ^c (± 0,04)	4,19 ^c (± 0,01)
4	-1(1:1)	1(150)	4,53 ^b (± 0,04)	4,82 ^a (± 0,01)	4,50 ^b (± 0,01)	4,09 ^d (± 0,01)	4,27 ^c (± 0,02)
5	1(1:3)	1(150)	4,67 ^a (± 0,02)	4,60 ^a (± 0,03)	4,32 ^b (± 0,01)	4,37 ^b (± 0,08)	3,94 ^c (± 0,02)

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

Os efeitos das variáveis podem ser melhor visualizados na Figura 16 (a - e), onde apresenta-se os gráficos de Pareto com os efeitos estimados (valor absoluto) das variáveis testadas no planejamento fatorial 2^2 para o teor de ácido esteárico das amostras de linguiça tipo Calabresa para o 1º, 7º, 14º, 21º e 28º dia de armazenamento. Observa-se que no 1º (Figura 16a) dia de armazenamento a

diluição e o tempo exerceram um efeito negativo sobre o teor de ácido esteárico e efeito positivo na interação entre as variáveis. Na interação entre as variáveis foi verificado efeito negativo no 7º dia (Figura 16b) de armazenamento. No entanto, no 28º dia (Figura 16e) verifica-se efeito positivo da interação entre as variáveis e do tempo de contato, dentro da faixa estudada.

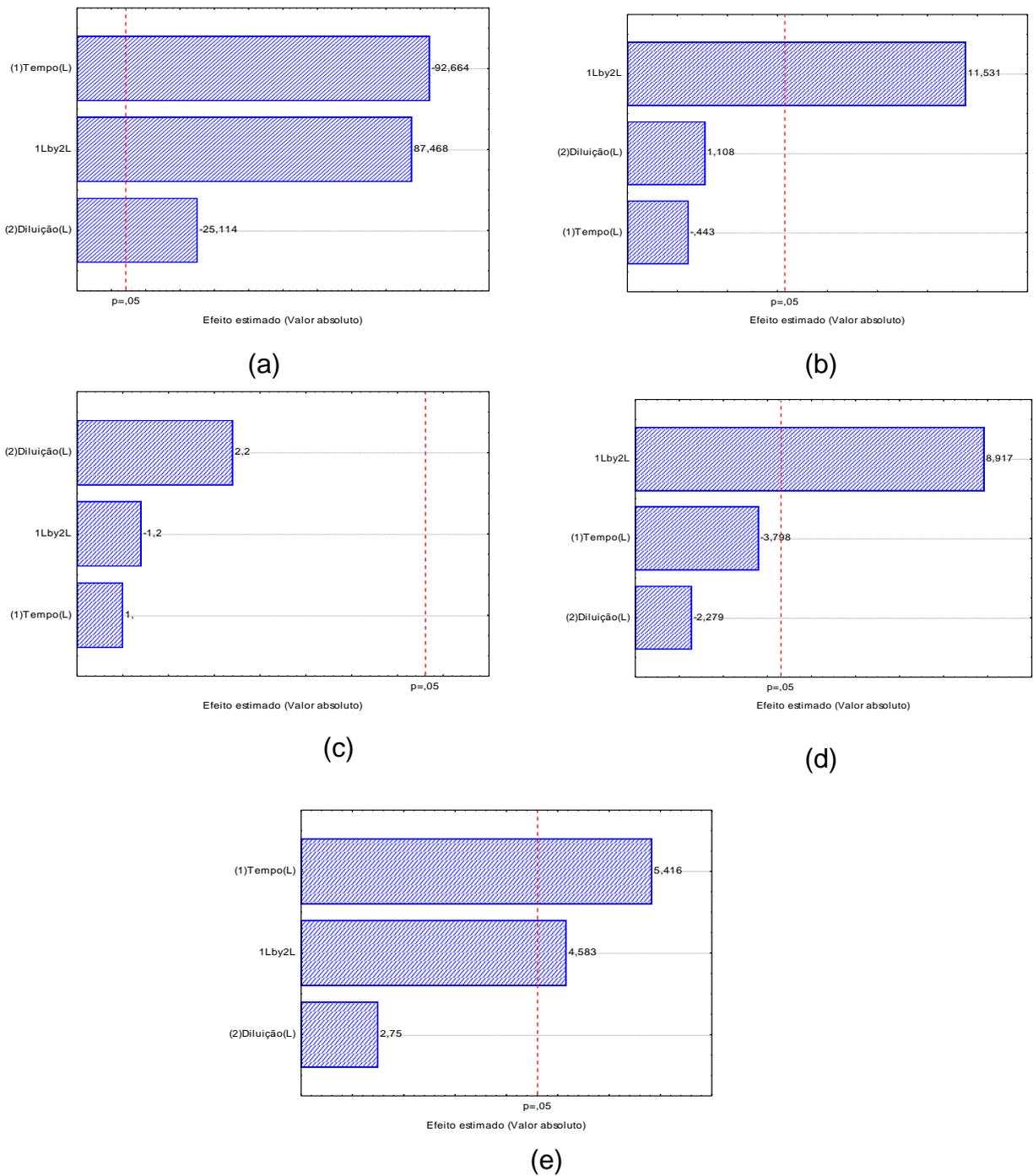
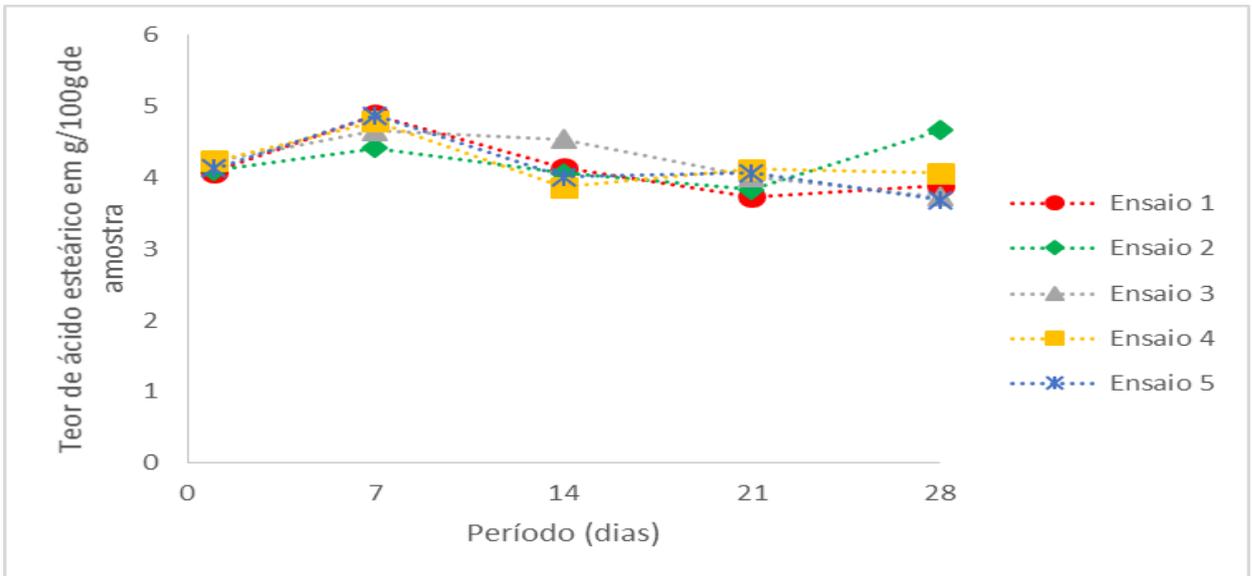
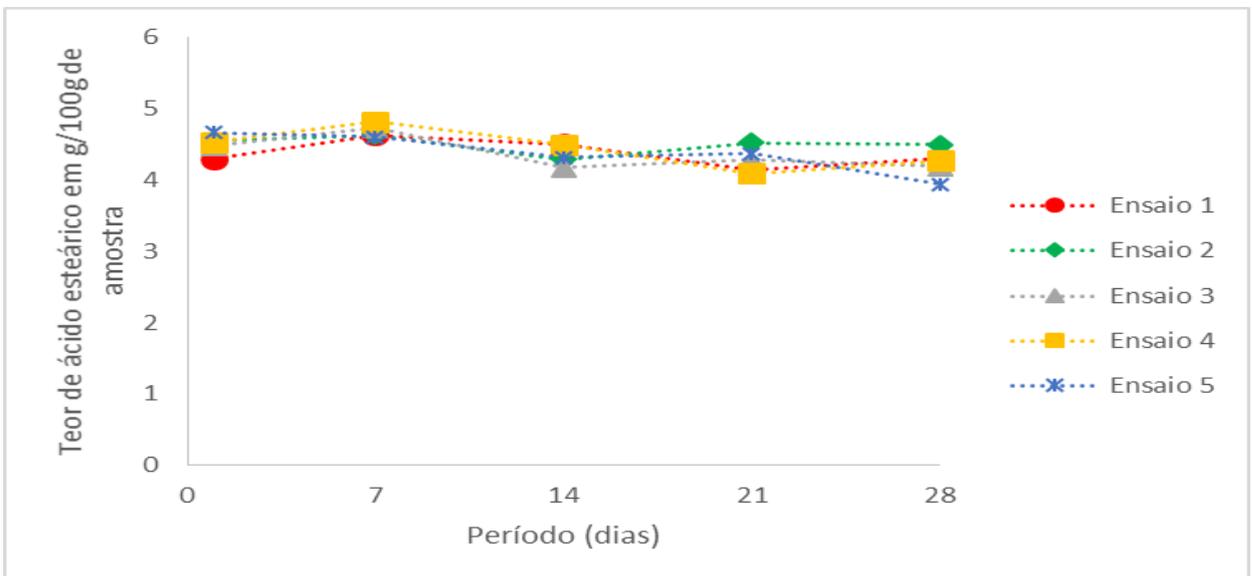


Figura 16: Gráfico de Pareto com o efeito estimado (valor absoluto) das variáveis estudadas no planejamento fatorial 2^2 para ácido esteárico da linguiça tipo Calabresa tratada com fumaça líquida “B” no 1º, 7º, 14º, 21º e 28º dia de armazenamento a 20°C, respectivamente.

A Figura 17 apresenta o comportamento do ácido esteárico com o armazenamento para as amostras tratadas com fumaças líquidas “A” e “B”. Observa-se que o ácido esteárico não apresentaram grande variação (no período de 28 dias de armazenamento).



(a)



(b)

Figura 17: Comportamento de ácido esteárico para amostras de linguiça tipo Calabresa do tratamento com a fumaça líquida A (a) e fumaça líquida B (b) durante o período de armazenamento de 28 dias (20°C), respectivamente.

Os ácidos graxos saturados são considerados hipercolesterolêmicos e os mais preocupantes, neste sentido, são mirístico (C14:0), láurico (C12:0) e palmitico (C16:0). Os ácidos graxos saturados são menos reativos e apresentam ponto de fusão superior em relação ao ácido graxo insaturados correspondente, de mesmo tamanho de cadeia, são normalmente encontrados na forma sólida (gordura) e em produtos de origem animal (CURI *et al.*, 2002). De acordo com American Heart Association (2001) a quantidade de ácidos graxos saturados recomendado para uma dieta de 2500 kcal deve ficar entre 19 a 28 g/dia.

O ácido esteárico (C18:0) tem função neutra, uma vez que no organismo se transforma imediatamente em ácido oléico (C18:1) (SINCLAIR, 1993, GRUNDY, 1994). Logo, observa-se que os teores de ácido palmítico e esteárico obtidos neste estudo são similares aos reportados na literatura. Poucos são os trabalhos encontrados que nos levam a uma ampliação na discussão acerca dos parâmetros que influenciam nos teores de ácido palmítico e ácido esteárico no produto investigado: linguiça tipo Calabresa.

4.1.3.2. Ácidos graxos insaturados

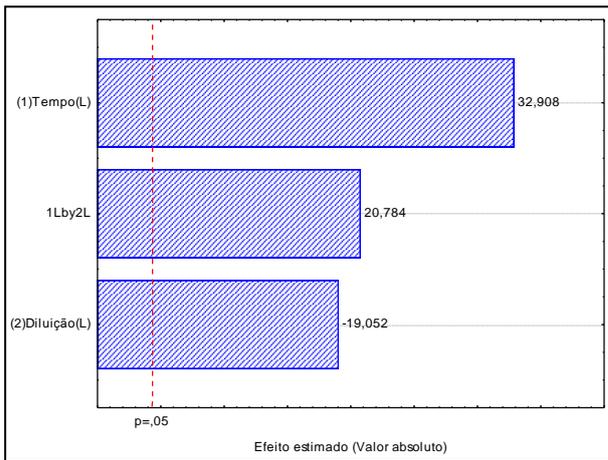
Nas Tabelas 15 a 18 são apresentadas as matrizes dos planejamentos fatoriais e resposta em ácido oléico (g/100g de amostra) para as amostras de linguiça tipo Calabresa tratadas com fumaças líquidas “A” e “B” e armazenadas a 20°C durante 28 dias, respectivamente. Dentre os ácidos graxos insaturados o ácido oléico (C18:1) foi o predominante na linguiça tipo Calabresa.

Tabela 15: Matriz do planejamento fatorial 2² (valores codificados e reais) e resposta em ácido oléico (g/100g) para a linguiça tipo Calabresa tratada com fumaça líquida “A”, aos 28 dias de armazenamento a 20°C.

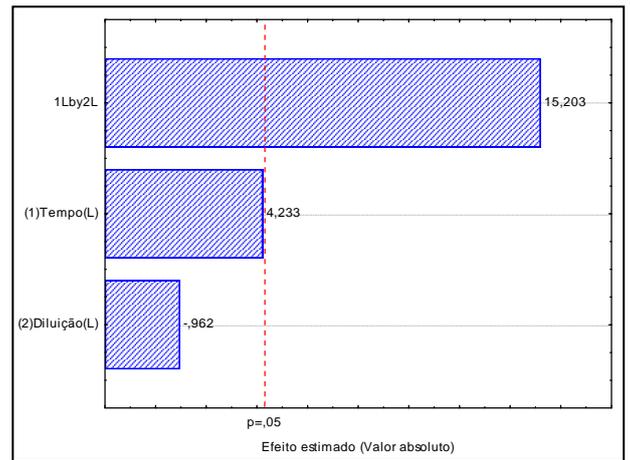
Ensaio	Variáveis independentes*		Teor de ácido oléico (g/100g de amostra)				
	X ₁	X ₂	0 dia	7º dia	14º dia	21º dia	28º dia
1	-1(1:2)	-1(60)	11,47 ^a (± 0,11)	11,33 ^a (± 0,04)	10,98 ^b (± 0,12)	10,43 ^c (± 0,14)	9,55 ^d (± 0,07)
2	1(1:4)	-1(60)	11,17 ^a (± 0,07)	11,59 ^a (± 0,03)	11,05 ^a (± 0,03)	9,86 ^a (± 0,24)	10,23 ^a (± 2,15)
3	0(1:3)	0(105)	10,76 ^a (± 0,06)	11,32 ^a (± 0,01)	10,88 ^a (± 0,01)	9,94 ^c (± 0,06)	10,46 ^b (± 0,02)
4	-1(1:2)	1(150)	10,72 ^b (± 0,01)	11,33 ^a (± 0,02)	10,75 ^b (± 0,04)	9,59 ^c (± 0,07)	10,72 ^b (± 0,06)
5	1(1:4)	1(150)	10,10 ^c (± 0,04)	11,68 ^a (± 0,17)	11,06 ^b (± 0,01)	10,60 ^c (± 0,02)	10,35 ^c (± 0,04)

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

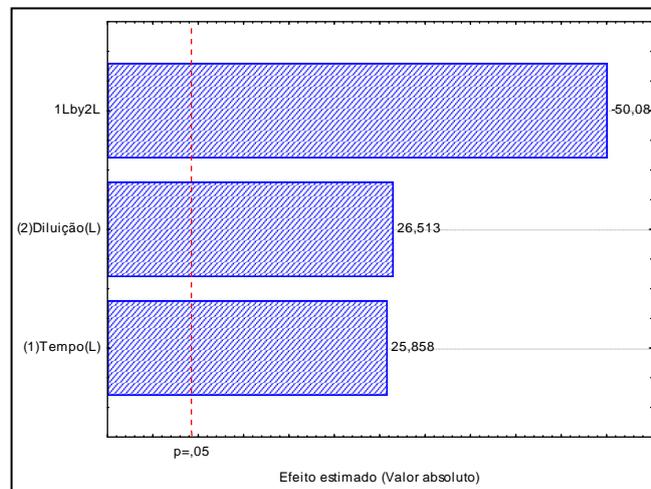
Na Tabela 15 observa-se que de modo geral houve leve decréscimo ($P < 0,05$) no teor de ácido oléico com a partir do 21º dia de armazenamento. A Figura 18 apresenta o gráfico de Pareto com os efeitos estimados (valor absoluto) das variáveis testadas no planejamento fatorial 2^2 para o 14º e 28º dia de armazenamento para o teor de ácido oléico das amostras de linguiça tipo Calabresa. Verifica-se comportamento distintos nos dias de armazenamento, sendo que no 14º (Figura 18^a) o tempo de contato e a interação com a fração da diluição exerceram um efeito ($P < 0,05$) positivo, já a diluição influenciou negativamente na composição do ácido oléico. No 21º (Figura 18^b), somente foi verificado efeito positivo da interação da variáveis. Porém, no 28º dia (Figura 18^c) o tempo e a diluição influenciaram positivamente.



(a)



(b)



(c)

Figura 18: Gráfico de Pareto com o efeito estimado (valor absoluto) das variáveis estudadas no planejamento fatorial 2^2 para teor de ácido oléico no 14^o (a), 21^o (b) e 28^o (c) dia de armazenamento a 20°C, respectivamente.

A Tabela 16 apresenta a matriz do planejamento fatorial 2^2 para o tratamento com a fumaça líquida “B” e resposta em ácido oléico (g/100g de amostra) para as amostras de linguiça tipo Calabresa e armazenadas a 20°C durante 28 dias.

Tabela 16: Matriz do planejamento fatorial 2^2 (valores codificados e reais) e resposta de composição de ácido oléico (g/100g) para a linguiça tipo Calabresa tratada com fumaça líquida “B”, aos 28 dias de armazenamento a 20°C.

Ensaio	Variáveis independentes*		Teor de ácido oléico (g/100g de amostra)				
	X ₁	X ₂	1º dia	7º dia	14º dia	21º dia	28º dia
1	-1 (1:1)	-1 (60)	10,07 ^b (± 0,01)	10,78 ^a (± 0,12)	10,79 ^a (± 0,02)	9,41 ^c (± 0,05)	9,97 ^b (± 0,04)
2	1 (1:3)	-1 (60)	10,66 ^b (± 0,07)	11,07 ^a (± 0,04)	11,01 ^a (± 0,06)	10,09 ^c (± 0,01)	9,85 ^c (± 0,09)
3	0 (1:2)	0 (105)	10,31 ^c (± 0,01)	10,93 ^b (± 0,01)	11,17 ^a (± 0,09)	9,60 ^d (± 0,04)	10,29 ^c (± 0,06)
4	-1 (1:1)	1 (150)	10,36 ^{bc} (± 0,07)	10,89 ^a (± 0,01)	10,68 ^{ab} (± 0,16)	10,10 ^c (± 0,03)	10,03 ^c (± 0,02)
5	1 (1:3)	1 (150)	10,30 ^b (± 0,02)	10,78 ^a (± 0,02)	10,79 ^a (± 0,02)	9,66 ^d (± 0,05)	9,91 ^c (± 0,01)

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

A Figura 19 apresenta o gráfico de Pareto com os efeitos estimados (valor absoluto) das variáveis testadas no planejamento fatorial 2^2 para o 1º, 7º, 14º e 28º dia de armazenamento para o teor de ácido oléico das amostras de linguiça tipo Calabresa tratadas com a fumaça “B”.

Observa-se na Figura 19 que no 1º dia (Figura 19a), 14º dia (Figura 19b) e no 21º dia (Figura 19c) que o tempo exerceu um efeito positivo sobre o teor de ácido oleico, já a diluição exerceu efeito negativo. No entanto, no 28º dia (Figura 19d) verifica-se efeito negativo do tempo de contato.

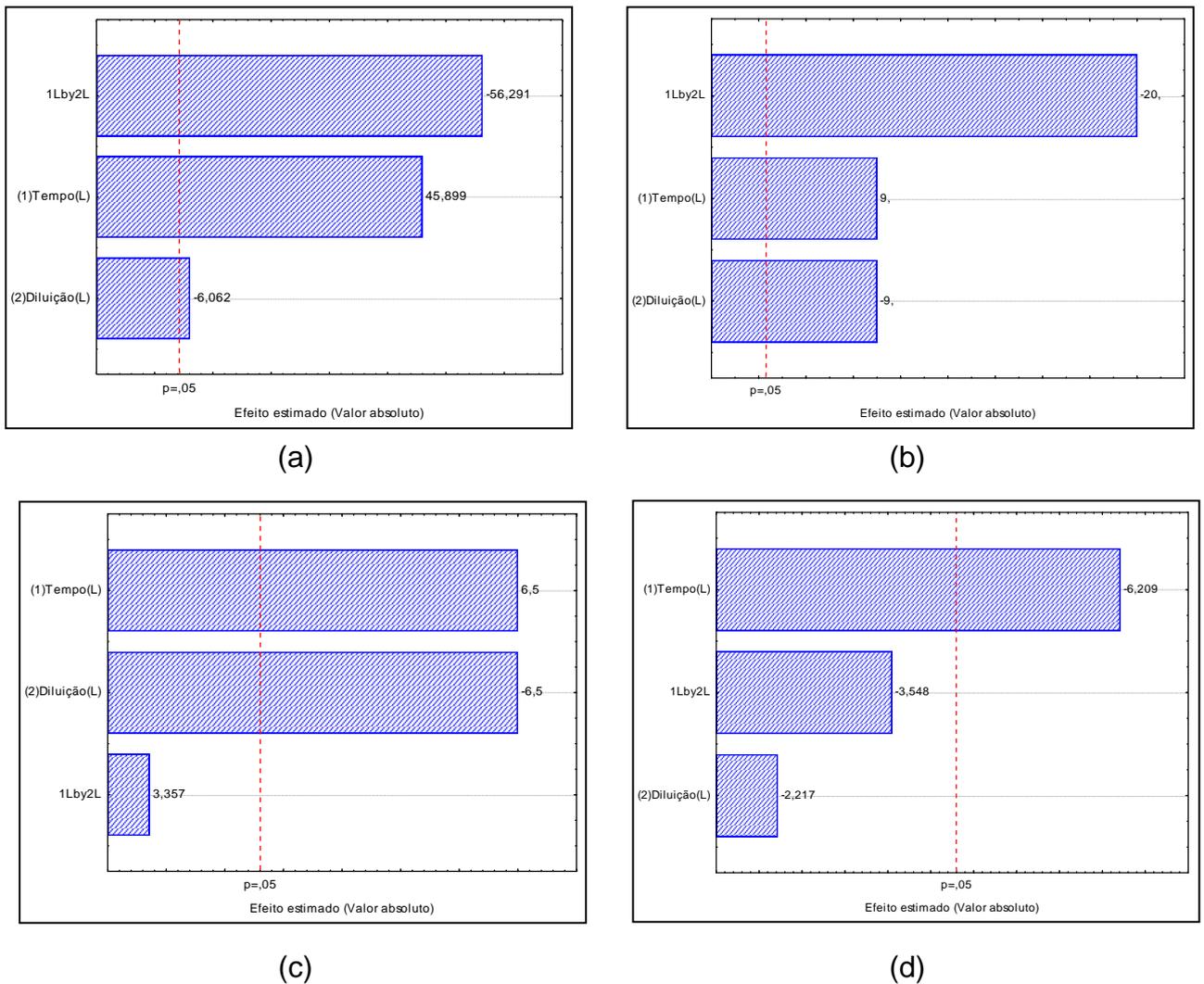
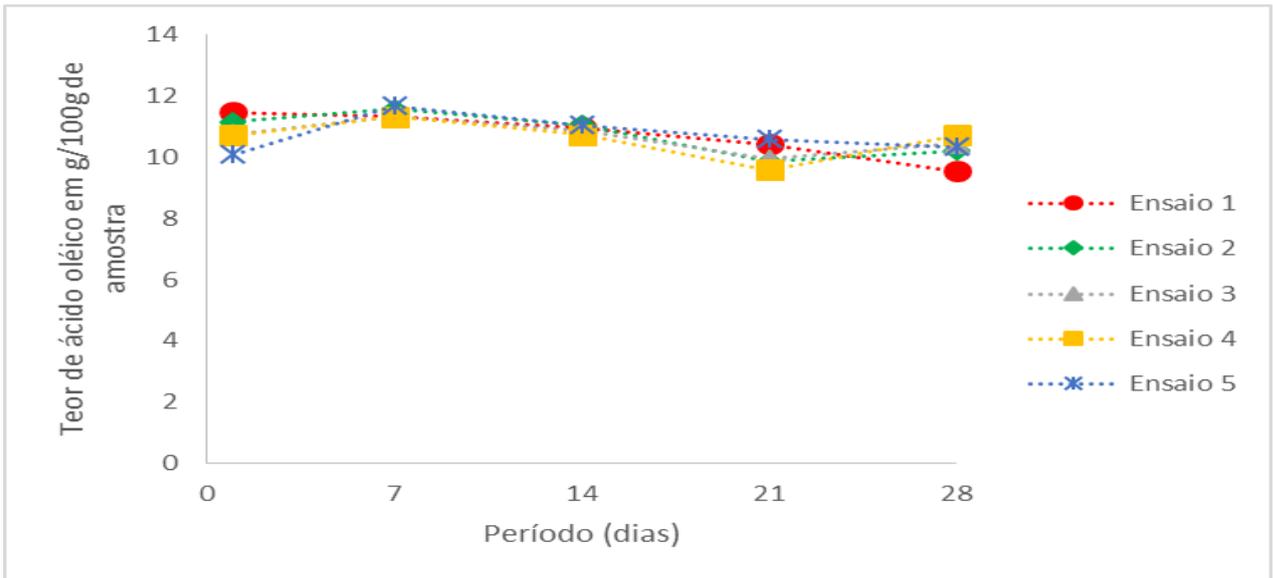


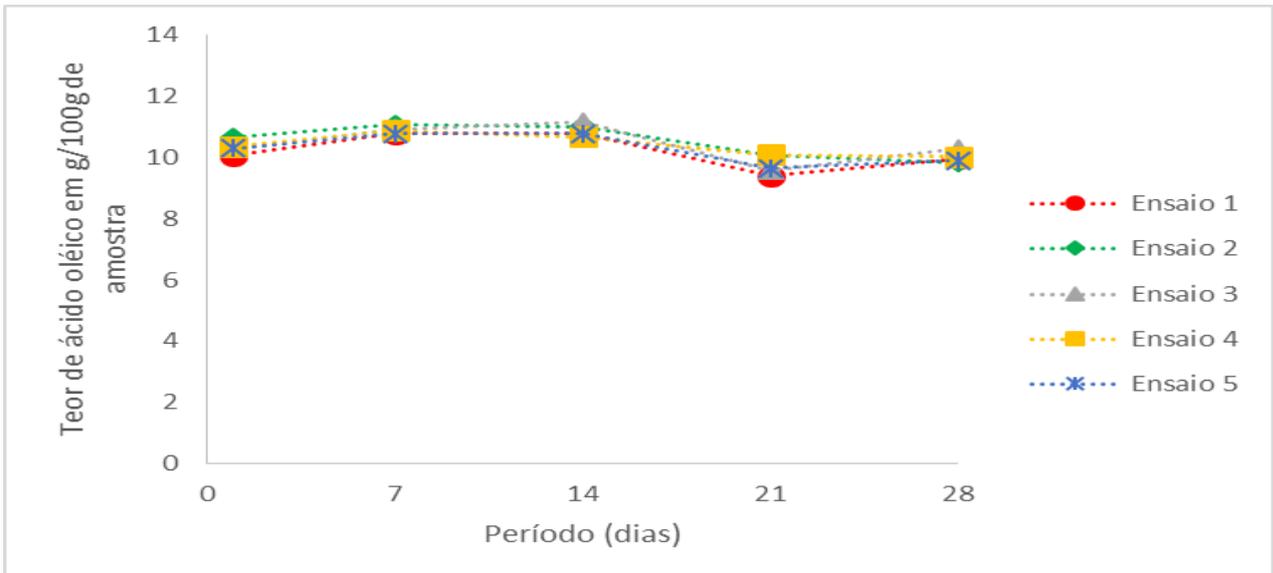
Figura 19: Gráfico de Pareto com o efeito estimado (valor absoluto) das variáveis estudadas no planejamento fatorial 2^2 para teor de ácido oléico das amostras de linguiça tipo Calabresa tratadas com a fumaça líquida “A”, no 1º (a) 14º (b), 21º (c) e 28º (d) dia de armazenamento a 20°C, respectivamente.

A Figura 20 apresenta o perfil do ácido oleico de amostras de linguiça tipo Calabresa tratadas com fumaça líquida com o decorrer do período de armazenamento a 20°C.

Pode ser observado nas Figura 20 a e b que os valores de ácido oleico apresentaram um leve aumento entre os dias 7º e 14º e reduzindo entre os dias 21º e 28º.



(a)



(b)

Figura 20: Comportamento de ácido oléico para amostras de linguiça tipo Calabresa do tratamento A (a) e B (b) durante o armazenamento a 20°C, respectivamente.

A Tabela 17 apresenta a matriz do planejamento fatorial 2^2 e a resposta em ácido linoléico (g/100g de amostra) para as amostras de linguiça tipo Calabresa tratadas com fumaça líquida "A" armazenadas a 20°C durante 28 dias.

Tabela 17: Matriz do planejamento fatorial 2^2 (valores codificados e reais) e resposta de composição de ácido linoléico (g/100g) para as amostras de linguiça tipo Calabresa com fumaça líquida “A” para os 28 dias de armazenamento a 20°C.

Ensaio	Variáveis independentes*		Teor de ácido linoléico (g/100g de amostra)				
	X ₁	X ₂	1º dia	7º dia	14º dia	21º dia	28º dia
1	-1(1:2)	-1(60)	0,31 ^{ab} (± 0,01)	0,35 ^a (± 0,01)	0,30 ^{ab} (± 0,01)	0,27 ^b (± 0,02)	0,32 ^{ab} (± 0,01)
2	1(1:4)	-1(60)	0,31 ^a (± 0,01)	0,34 ^a (± 0,01)	0,32 ^a (± 0,01)	0,31 ^a (± 0,02)	0,35 ^a (± 0,06)
3	0(1:3)	0(105)	0,33 ^{bc} (± 0,01)	0,34 ^a (± 0,01)	0,33 ^a (± 0,01)	0,31 ^a (± 0,01)	0,31 ^{bc} (± 0,01)
4	-1(1:2)	1(150)	0,32 ^b (± 0,01)	0,35 ^a (± 0,01)	0,28 ^c (± 0,01)	0,31 ^b (± 0,01)	0,31 ^b (± 0,01)
5	1(1:4)	1(150)	0,32 ^{ab} (± 0,01)	0,37 ^a (± 0,03)	0,31 ^b (± 0,01)	0,30 ^b (± 0,01)	0,29 ^b (± 0,01)

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

Observando a Tabela 17, verifica-se que praticamente não houve diferença no teor de ácido linoléico com o armazenamento. No 28º dia de armazenamento (Figura 21) foi verificado efeito negativo ($p < 0,05$) da interação da diluição e tempo, e também da diluição no 28º dia, ou seja, indicando que a medida que a fumaça líquida “A” é diluída, exerce um efeito na diminuição do teor de ácido linoléico de amostras de linguiça tipo Calabresa.

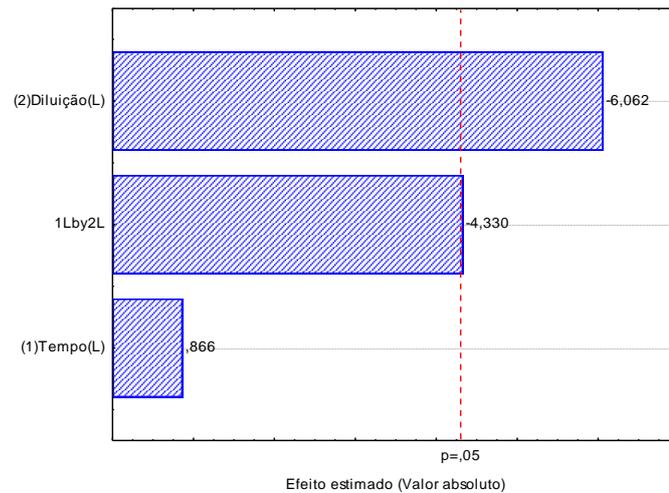


Figura 21: Gráfico de Pareto com o efeito estimado (valor absoluto) das variáveis estudadas no planejamento experimental 2^2 para teor de ácido linoléico das amostras de linguiça tipo Calabresa tratadas com fumaça líquida “A” no 28º dia de armazenamento a 20°C.

A Tabela 18 apresenta a matriz do planejamento fatorial 2^2 e a resposta em ácido linoléico (g/100g de amostra) para as amostras de linguiça tipo Calabresa tratadas com fumaça líquida “B” armazenadas a 20°C durante 28 dias. Verifica-se que praticamente não houve diferença no teor de ácido linoléico com o armazenamento. A linguiça tipo Calabresa defumada com a fumaça “B” apresentou teor máximo de 0,36 g/100g (ensaio 2), correspondendo ao menor tempo de exposição (60 seg) e a maior diluição (1:3, v/v). Porém, nenhuma das variáveis estudadas exerceram efeito significativo sobre o teor de ácido linoléico nos dias de armazenamentos.

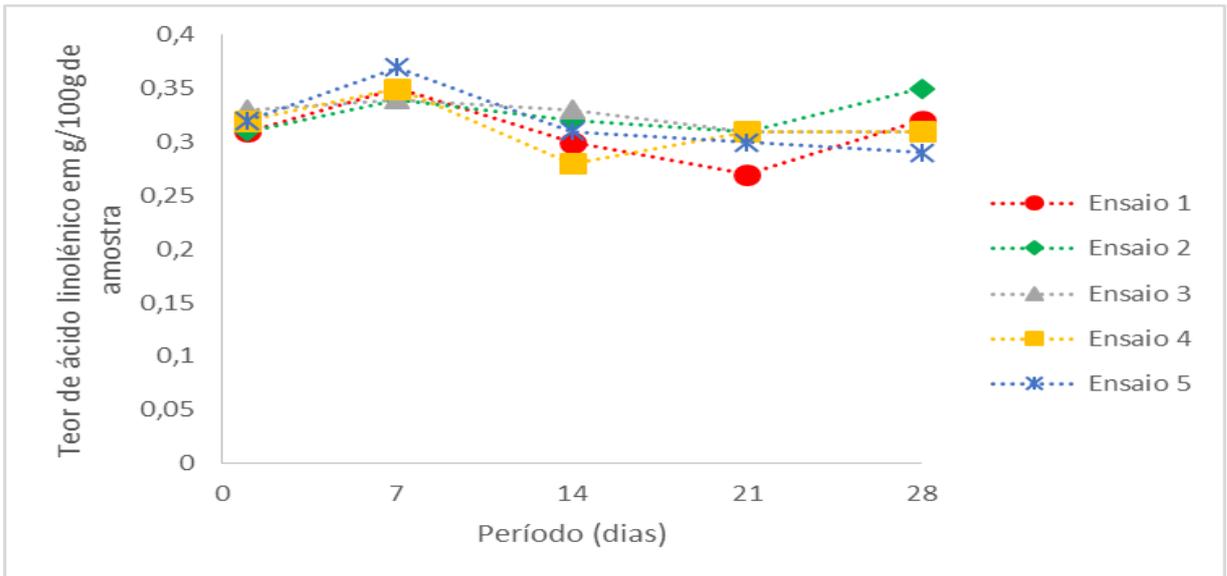
Tabela 18: Matriz do planejamento fatorial 2^2 (valores codificados e reais) e resposta em ácido linoléico (g/100g) para as amostras de linguiça tipo Calabresa tratadas com fumaça líquida “B” para os 28 dias de armazenamento a 20°C.

Ensaio	Variáveis independentes*		Teor de ácido linoléico (g/100g de amostra)				
	X ₁	X ₂	1º dia	7º dia	14º dia	21º dia	28º dia
1	-1(1:1)	-1(60)	0,34 ^a (± 0,01)	0,33 ^{ab} (± 0,01)	0,33 ^{ab} (± 0,01)	0,32 ^b (± 0,01)	0,35 ^a (± 0,01)
2	1(1:3)	-1(60)	0,36 ^{ab} (± 0,01)	0,35 ^{ab} (± 0,01)	0,33 ^b (± 0,01)	0,36 ^a (± 0,01)	0,36 ^a (± 0,01)
3	0(1:2)	0(105)	0,35 ^a (± 0,01)	0,34 ^a (± 0,01)	0,29 ^b (± 0,01)	0,32 ^{ab} (± 0,01)	0,34 ^a (± 0,01)
4	-1(1:1)	1(150)	0,36 ^a (± 0,01)	0,34 ^{ab} (± 0,01)	0,35 ^a (± 0,01)	0,32 ^b (± 0,01)	0,34 ^{ab} (± 0,01)
5	1(1:3)	1(150)	0,36 ^a (± 0,01)	0,33 ^b (± 0,01)	0,35 ^a (± 0,01)	0,35 ^a (± 0,01)	0,35 ^a (± 0,01)

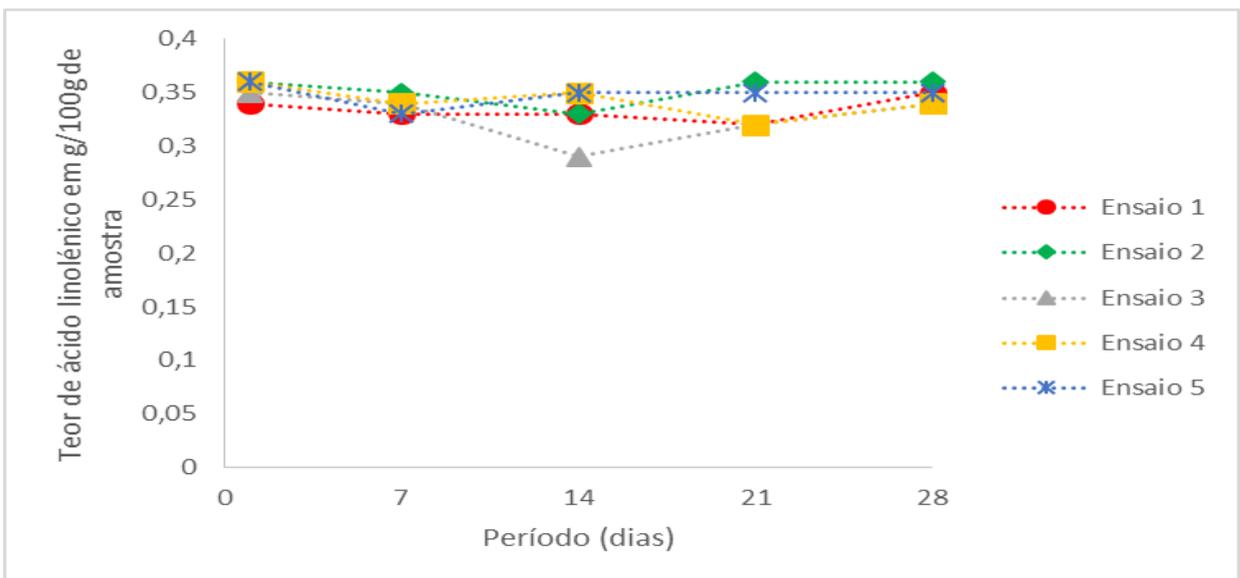
*X₁: fração da diluição (v/v); X₂: tempo de contato (seg); Triplicata ensaios do ponto central; **Média ± (desvio padrão) seguidas de letras minúsculas nas linhas iguais não diferem estatisticamente á nível de 5% (Teste de Tukey).

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

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



(a)



(b)

Figura 22: Comportamento de ácido linolênico para amostras de linguiça tipo Calabresa do tratamento A (a) e B (b) durante o armazenamento a 20°C, respectivamente.

Os ácidos graxos podem ser divididos em classes de acordo com a função que exercem em nosso organismo. Os ácidos graxos essenciais são aqueles que necessitam serem ingeridos a partir da alimentação. Dentre eles estão o ácido

linoléico e o ácido linolênico, os quais são necessários para a síntese de outros ácidos graxos. Uma vez ingeridos eles podem ser convertido em outros ácidos poliinsaturados como o Eicosapentaenóico, 22:5n-3, Docosahexaenóico, 22:6n- 3 e Araquidônico (20:4n-6) (NELSON & COX, 2002).

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

4.2. Determinação Objetiva de Cor

Nas Tabelas 19 e 20 são apresentadas as matrizes do planejamento fatorial e avaliações de luminosidade (L^*) para as amostras de linguiça tipo Calabresa com fumaça líquida A, armazenada a 20°C durante 28 dias.

Tabela 19: Matriz do planejamento fatorial 2^2 (valores codificados e reais) e avaliações de cor (L^*) de amostras de linguiça tipo Calabresa tratadas com fumaça líquida A aos 28 dias de armazenamento a 20°C.

Ensaio	Variáveis independentes*		Avaliação de cor (L^*)				
	X_1	X_2	0 dia	7º dia	14º dia	21º dia	28º dia
1	-1(1:2)	-1(60)	53,35 ^a (±1,70)	50,40 ^{ab} (±1,94)	38,92 ^c (±1,80)	44,52 ^{bc} (±4,13)	44,48 ^{bc} (±4,64)
2	1(1:4)	-1(60)	47,82 ^a (±0,78)	48,47 ^a (±1,21)	35,96 ^b (±0,85)	35,90 ^b (±2,46)	47,77 ^a (±1,35)
3	0(1:3)	0(105)	47,12 ^a (±0,87)	48,76 ^a (±1,94)	36,00 ^b (±2,35)	51,25 ^a (±6,54)	42,42 ^{ab} (±3,67)
4	-1(1:2)	1(150)	54,48 ^a (±1,15)	53,64 ^a (±1,08)	38,64 ^b (±1,73)	34,15 ^c (±2,20)	39,96 ^b (±1,43)
5	1(1:4)	1(150)	48,67 ^a (±1,52)	49,77 ^a (±1,60)	39,46 ^b (±2,46)	34,07 ^b (±3,05)	48,15 ^a (±1,34)

* X_1 : fração da diluição (v/v); X_2 : tempo de contato (seg); Triplicata ensaios do ponto central; **Média ± (desvio padrão) seguidas de letras minúsculas nas linhas iguais não diferem estatisticamente á nível de 5% (Teste de Tukey).

De acordo com a Tabela 19, observa-se que o maior valor de luminosidade para a linguiça tipo Calabresa tratada com fumaça “A”, foi encontrada no 1º dia no ensaio 4, tratamento este que corresponde a menor diluição e maior tempo de contato. Porém sem diferença significativamente ($p < 0,05$) entre os demais ensaios. As diluições 1:2 e 1:3, nos ensaios 1, 3 e 4, demonstraram diferença significativa ($p < 0,05$) no 1º e no 28º dia, indicando um escurecimento nas amostras. No 1º dia e 28º dia de armazenamento (Figura 23 a - b) foi verificado efeito negativo do tempo, e no 28º dia a interação entre o tempo e a diluição teve efeito positivo e a diluição apresentou efeito negativo.

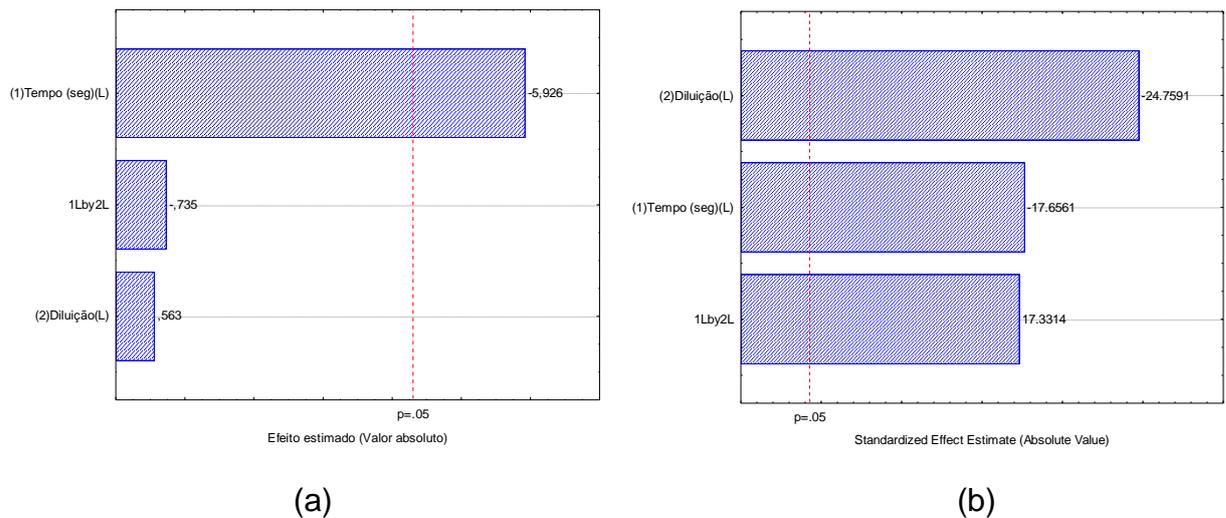


Figura 23: Gráfico de Pareto com o efeito estimado (valor absoluto) das variáveis estudadas no planejamento experimental 2^2 para a cor (L^*) em linguiça tipo Calabresa com fumaça A para o 1º dia (a) e 28º dia (b) de armazenamento a 20°C, respectivamente.

Na Tabela 20, apresenta a matriz do planejamento e a respostas para a cor L^* de amostras tratadas com a fumaça líquida B durante o armazenamento a 20°C.

Tabela 20: Matriz do planejamento fatorial 2^2 (valores codificados e reais) e avaliações de cor (L^*) de amostras de linguiça tipo Calabresa tratadas com fumaça líquida B aos 28 dias de armazenamento a 20°C.

Ensaio	Variáveis independentes*		Avaliação de cor (L^*)				
	X_1	X_2	0 dia	7º dia	14º dia	21º dia	28º dia
1	-1(1:1)	-1(60)	46,05 ^a (±0,50)	46,24 ^a (±1,37)	42,09 ^{ab} (±3,15)	37,01 ^{bc} (±2,26)	34,59 ^c (±4,50)
2	1(1:1)	-1(150)	51,33 ^a (±3,38)	50,31 ^a (±1,15)	43,39 ^b (±1,25)	33,91 ^c (±0,54)	35,43 ^c (±3,14)
3	0(1:2)	0(105)	57,74 ^a (±4,00)	55,02 ^a (±2,87)	44,45 ^b (±2,87)	43,71 ^b (±2,05)	34,44 ^c (±3,30)
4	-1(1:3)	1(60)	56,40 ^a (±2,93)	52,19 ^a (±0,53)	40,31 ^b (±1,40)	44,14 ^b (±1,22)	38,62 ^b (±3,37)
5	1(1:3)	1(150)	52,06 ^a (±2,94)	50,42 ^{ab} (±0,27)	40,14 ^c (±1,36)	40,48 ^c (±1,45)	44,82 ^{bc} (±3,14)

* X_1 : fração da diluição (v/v); X_2 : tempo de contato (seg); Triplicata ensaios do ponto central; **Média ± (desvio padrão) seguidas de letras minúsculas nas linhas iguais não diferem estatisticamente á nível de 5% (Teste de Tukey).

De acordo com a Tabela 20, observa-se que o maior valor de luminosidade para a linguiça tipo Calabresa com fumaça “B”, foi encontrada no tempo 1º dia no ensaio 3, tratamento este que corresponde ao ponto central. Conforme Figura 24 a fração da diluição exerceu efeito significativo ($p < 0,05$) positivo sobre a luminosidade nos 1º dia (a), 7º dia (b), 14º dia (c) e 21º dia (d) indicando que a medida que aumentasse a diluição da fumaça líquida favorece o aumento da luminosidade (L^*).

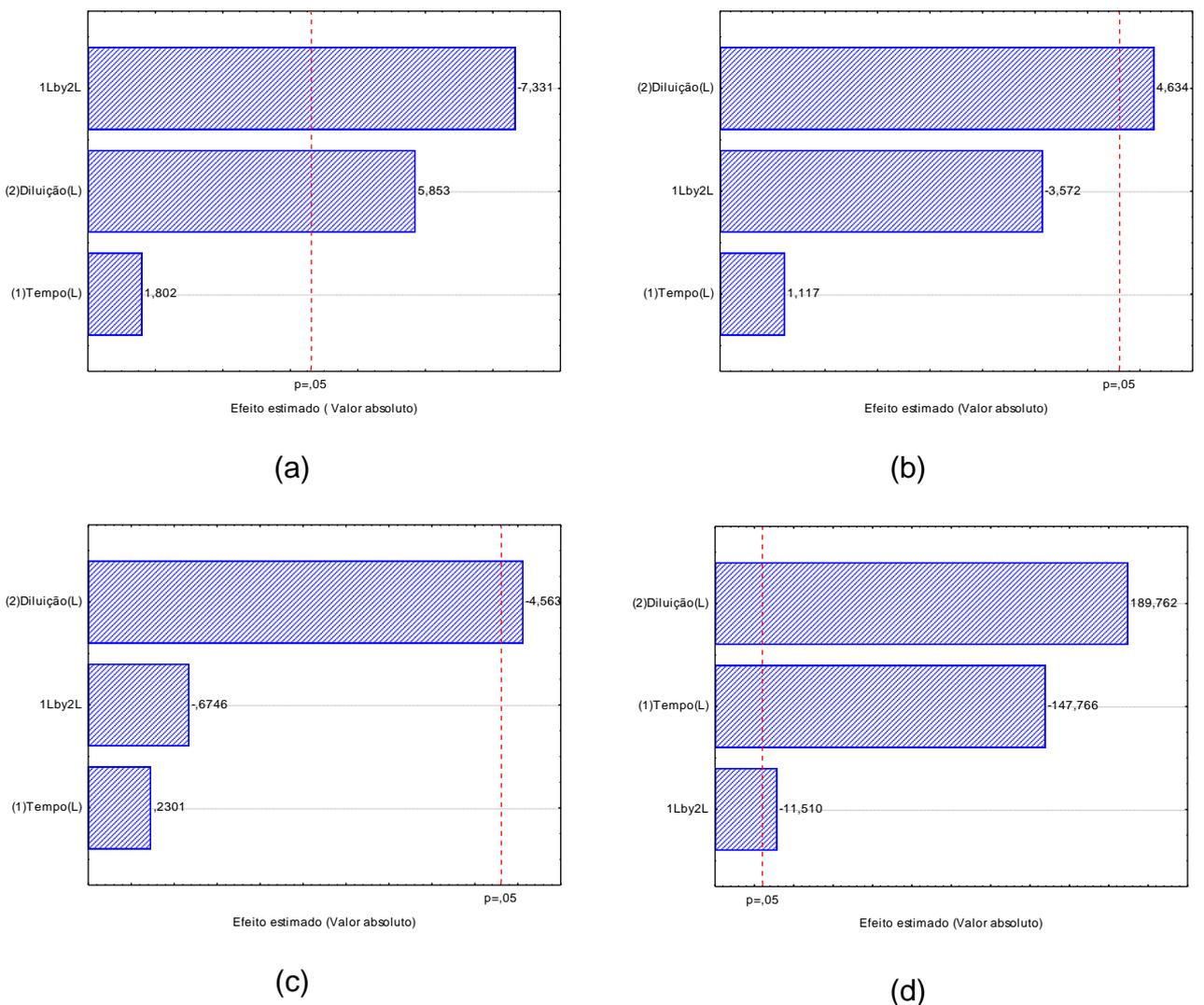


Figura 24: Gráfico de Pareto com o efeito estimado (valor absoluto) das variáveis estudadas no planejamento experimental 2^2 para a cor (L^*) em linguiça tipo Calabresa com fumaça B para o 1º dia (a), 7º dia (b), 14º dia (c) e 21º dia (d) de armazenamento a 20°C, respectivamente.

Nas Tabelas 21 e 22 são apresentadas as matrizes do planejamento fatorial e avaliações de cor (a^*) para as amostras de linguiça tipo Calabresa com fumaça líquida A, armazenada a 20°C durante 28 dias.

Tabela 21: Matriz do planejamento fatorial 2² (valores codificados e reais) e avaliações de cor (a^*) de amostras de linguiça tipo Calabresa tratadas com fumaça A aos 28 dias de armazenamento a 20°C.

Ensaio	Variáveis independentes*		Avaliação de cor (a^*)				
	X ₁	X ₂	0 dia	7º dia	14º dia	21º dia	28º dia
1	-1(1:2)	-1(60)	12,64 ^b (±1,60)	12,64 ^b (±1,60)	13,23 ^b (±1,25)	16,45 ^{ab} (±2,36)	18,54 ^a (±1,99)
2	1(1:4)	-1(60)	7,06 ^d (±1,09)	8,04 ^d (±1,10)	11,10 ^c (±0,73)	14,94 ^b (±0,77)	19,18 ^a (±0,78)
3	0(1:3)	0(105)	8,08 ^b (±0,56)	9,91 ^b (±1,69)	11,34 ^b (±1,05)	17,72 ^a (±2,02)	15,87 ^a (±1,20)
4	-1(1:2)	1(150)	11,89 ^a (±0,91)	11,75 ^a (±0,98)	13,44 ^a (±1,31)	13,86 ^a (±0,92)	13,44 ^a (±1,31)
5	1(1:4)	1(150)	9,83 ^c (±1,20)	10,80 ^c (±1,43)	12,98 ^{bc} (±0,91)	14,46 ^b (±1,42)	20,43 ^a (±0,89)

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

Observa-se pela Tabela 21, que nos ensaios os maiores valores foram encontrados entre o 21º e 28º dia, mostrando um aumento nos valores de (a^*), que representa a coloração vermelha desejada para produtos cárneos.

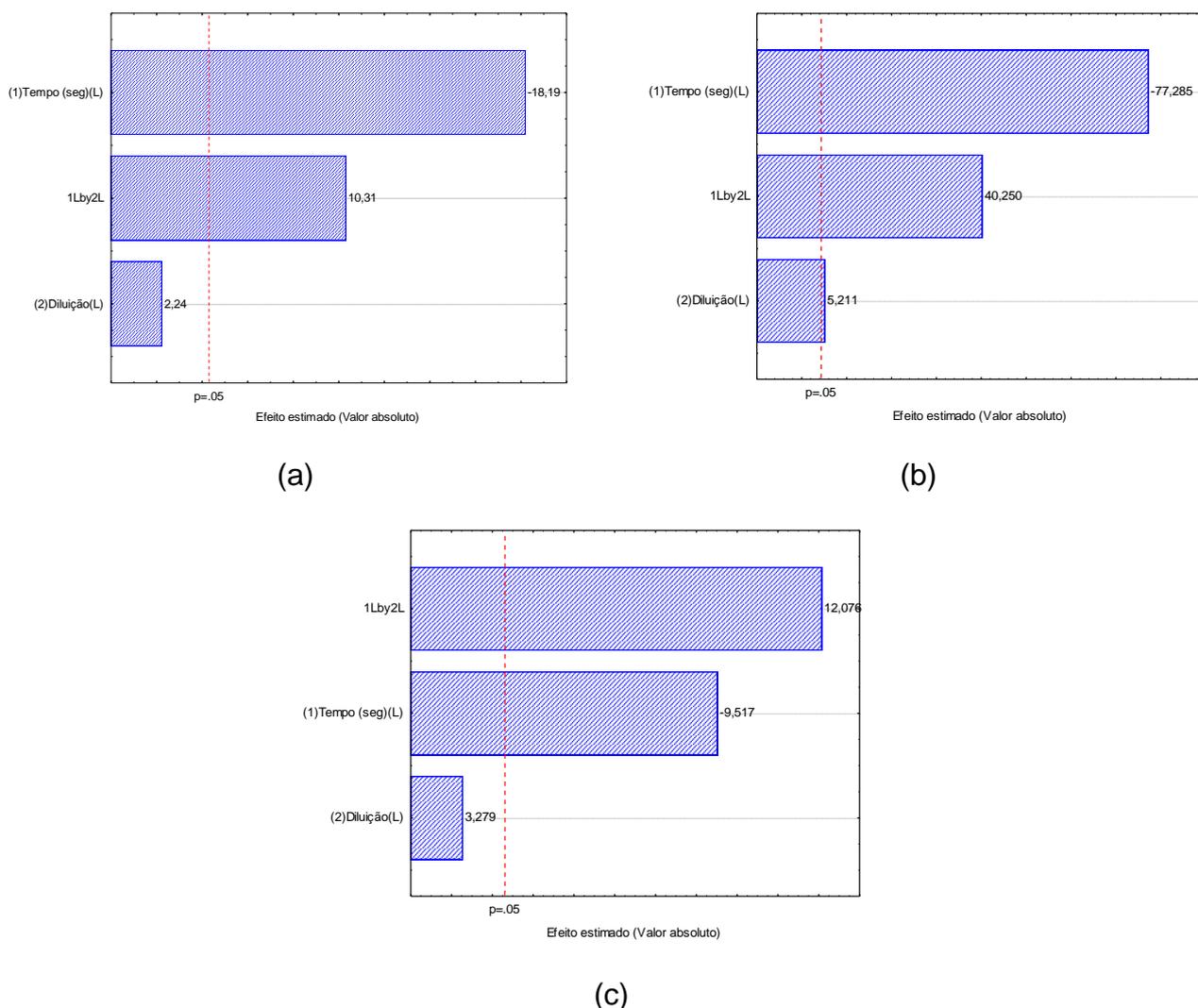


Figura 25: Gráfico de Pareto com o efeito estimado (valor absoluto) das variáveis estudadas no planejamento experimental 2^2 para a cor (a^*) em linguiça tipo Calabresa com fumaça A para o 1º dia (a), 7º dia (b) e 14º dia (c) de armazenamento, respectivamente.

De acordo com a Figura 25, observa-se que a fração tempo exerceu efeito significativo ($p < 0,05$) negativo, no 1º, 7º e 14º dia de avaliação, e a interação entre o tempo e a diluição exerceu efeito significativo ($p < 0,05$) positivo, neste períodos de armazenamento.

Nas linguiças tipo Calabresa tratadas com a fumaça líquida B (Tabela 22), observou-se o mesmo comportamento da fumaça A, ou seja, valores superiores de

(a*) foram encontrados entre os dias 21 e 28º dia de acompanhamento, sendo que o maior valor de (a*) encontrado foi de 20,43, na linguiça tipo Calabresa tratada com a fumaça líquida A, no ensaio 5 no 28º dia.

Tabela 22: Matriz do planejamento fatorial 2² (valores codificados e reais) e resposta em cor a* de linguiças tipo Calabresa tratadas com fumaça líquida B durante o armazenamento a 20°C.

Ensaio	Variáveis independentes*		Avaliação de cor (a*)				
	X ₁	X ₂	0 dia	7º dia	14º dia	21º dia	28º dia
1	-1(1:1)	-1(60)	6,92 ^b (±0,22)	7,21 ^b (±1,11)	13,93 ^a (±1,18)	13,25 ^a (±1,12)	15,72 ^a (±1,55)
2	1(1:3)	-1(60)	11,59 ^{ab} (±0,63)	9,70 ^b (±0,94)	13,39 ^a (±0,67)	11,20 ^{ab} (±0,28)	13,77 ^a (±1,73)
3	0(1:2)	0(105)	14,89 ^a (±2,97)	13,54 ^a (±2,41)	13,31 ^a (±1,29)	14,79 ^a (±0,69)	15,30 ^a (±1,26)
4	-1(1:1)	1(150)	13,62 ^{ab} (±1,44)	11,09 ^b (±0,31)	11,63 ^b (±0,88)	15,72 ^a (±0,20)	15,82 ^a (±1,19)
5	1(1:3)	1(150)	12,03 ^{bc} (±2,65)	11,29 ^c (±0,35)	12,55 ^{bc} (±0,62)	14,80 ^{ab} (±0,49)	15,98 ^a (±0,83)

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

A Figura 26 apresenta o gráfico de Pareto com os efeitos estimados (valor absoluto) das variáveis testadas no planejamento fatorial 2² para o 1º e 28º dia de armazenamento para a cor (a*) das amostras de linguiça tipo Calabresa tratadas com a fumaça “B”. Observa-se que a diluição e interação exercerão efeitos significativos (p<0,05) positivos, no 1º dia (Figura 26 a). No 21º dia (Figura 26 b), a diluição e o tempo tiveram efeito significativo (p<0,05) positivo.

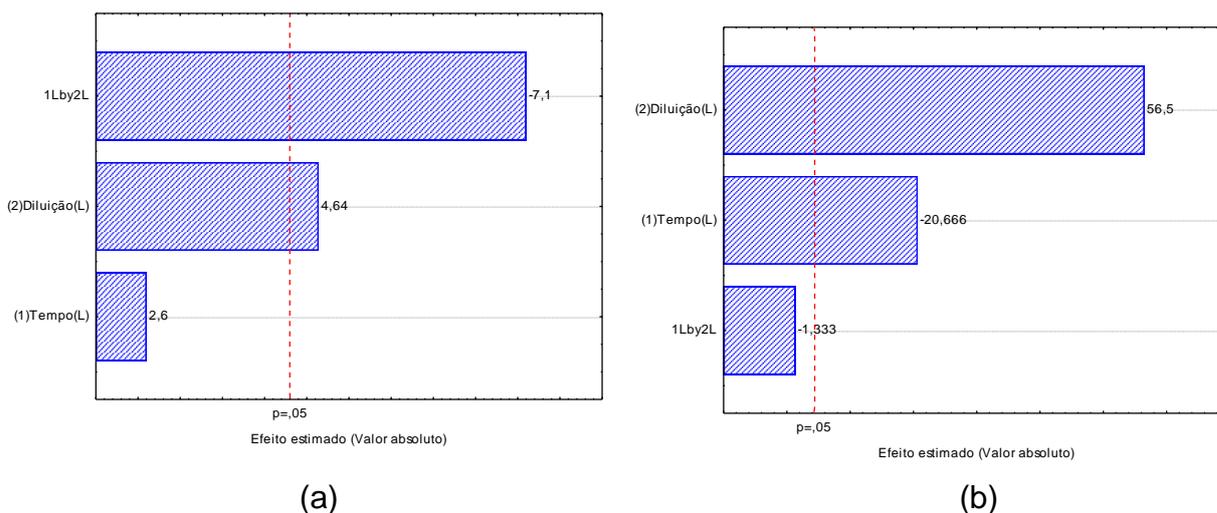


Figura 26: Gráfico de Pareto com o efeito estimado (valor absoluto) das variáveis estudadas no planejamento experimental 2^2 para a cor (a^*) em linguiça tipo Calabresa tratadas com fumaça líquida B para o 1º dia (a) e 21º dia (b) de armazenamento a 20°C, respectivamente.

Nas Tabelas 23 e 24 são apresentadas as matrizes do planejamento fatorial e avaliações de cor (b^*) para as amostras de linguiça tipo Calabresa com fumaça líquida “A”, armazenada a 20°C durante 28 dias. Observa-se na Tabela 23 que os valores mais altos de (b^*) foram encontrados no 28º dia de armazenamento nos tratamentos com maior diluição (1:4).

A Figura 27 mostra os gráficos de Pareto com o efeito estimado (valor absoluto), verifica-se que o tempo teve efeito significativo ($p < 0,05$) positivo no 1º dias (a) e 28º dia (b).

Tabela 23: Matriz do planejamento fatorial 2^2 (valores codificados e reais) e resposta em cor b^* de linguiças tipo Calabresa tratadas com fumaça líquida A durante o armazenamento a 20°C .

Ensaio	Variáveis independentes*		Avaliação de cor (b^*)				
	X_1	X_2	1º dia	7º dia	14º dia	21º dia	28º dia
1	-1(1:2)	-1(60)	12,28 ^{ab} (±1,61)	10,89 ^{ab} (±1,25)	8,67 ^b (±1,67)	13,13 ^{ab} (±3,43)	14,87 ^a (±2,66)
2	1(1:4)	-1(60)	8,26 ^{bc} (±1,15)	9,26 ^b (±1,15)	5,90 ^c (±0,91)	10,41 ^b (±1,35)	18,79 ^a (±0,98)
3	0(1:3)	0(105)	7,41 ^c (±0,48)	9,01 ^{bc} (±1,38)	6,13 ^c (±1,57)	14,54 ^a (±2,64)	12,81 ^{ab} (±1,83)
4	-1(1:2)	1(150)	11,36 ^a (±0,79)	11,10 ^{ab} (±0,94)	7,09 ^c (±1,45)	8,33 ^{abc} (±1,40)	8,03 ^{bc} (±1,00)
5	1(1:4)	1(150)	9,64 ^b (±1,21)	10,54 ^b (±1,41)	8,70 ^b (±1,50)	9,38 ^b (±2,24)	18,18 ^a (±0,96)

* X_1 : fração da diluição (v/v); X_2 : tempo de contato (seg); Triplicata ensaios do ponto central; **Média \pm (desvio padrão) seguidas de letras minúsculas nas linhas iguais não diferem estatisticamente á nível de 5% (Teste de Tukey)

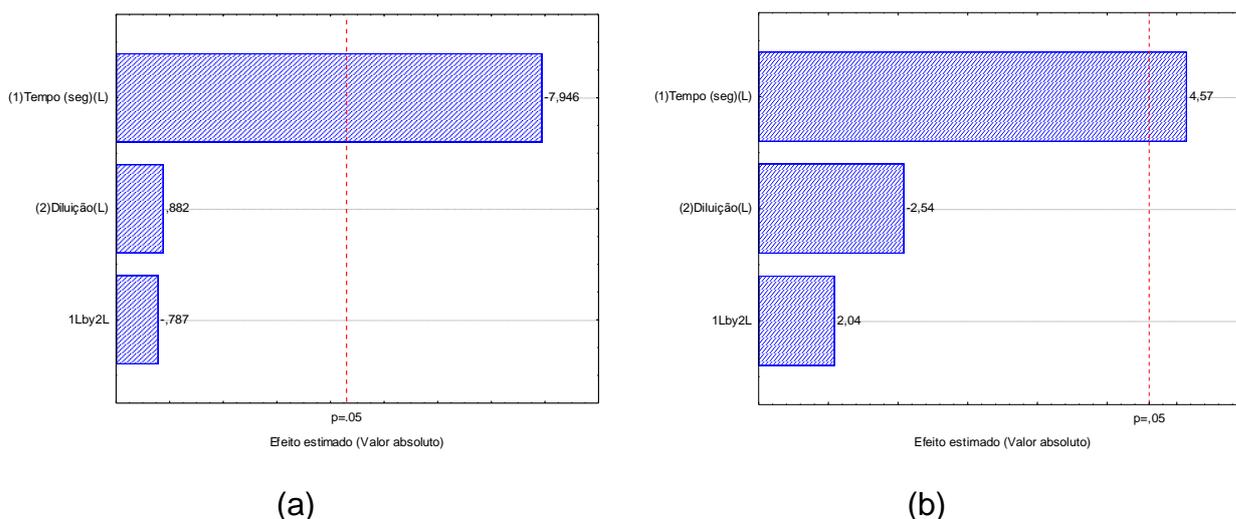


Figura 27: Gráfico de Pareto com o efeito estimado (valor absoluto) das variáveis estudadas no planejamento experimental 2^2 para a cor (b^*) em linguiça tipo Calabresa tratadas com fumaça líquida A para o 1º dia (a) e 28º dia (b) de armazenamento a 20°C , respectivamente.

Na Tabela 24 observa-se que não houve diferença significativa ($p < 0,05$) nos valores de (b^*) entre o 1º dia e o 28º dia para as amostras tratadas com fumaça líquida B.

Tabela 24: Matriz do planejamento fatorial 2^2 (valores codificados e reais) e resposta em cor b^* de linguiças tipo Calabresa tratadas com fumaça líquida B durante o armazenamento a 20°C.

Ensaio	Variáveis independentes*		Avaliação de cor (b^*)				
	X_1	X_2	1º dia	7º dia	14º dia	21º dia	28º dia
1	-1(1:1)	-1(60)	7,70 ^a (±0,26)	7,77 ^a (±1,03)	10,53 ^a (±2,34)	9,93 ^a (±1,99)	10,92 ^a (±2,63)
2	1(1:3)	-1(60)	10,57 ^a (±2,77)	10,07 ^a (±0,97)	10,98 ^a (±1,08)	7,71 ^a (±0,41)	9,50 ^a (±2,48)
3	0(1:2)	0(105)	15,24 ^a (±3,31)	13,77 ^a (±2,49)	10,75 ^a (±1,88)	12,56 ^a (±1,20)	12,01 ^a (±2,16)
4	-1(1:1)	1(150)	13,02 ^a (±1,99)	11,40 ^{ab} (±0,69)	7,78 ^b (±1,25)	11,45 ^{ab} (±0,44)	12,69 ^a (±2,21)
5	1(1:2)	1(150)	12,83 ^{ab} (±2,75)	12,07 ^{ab} (±0,37)	8,94 ^b (±0,99)	12,57 ^{ab} (±0,78)	14,93 ^a (±2,14)

* X_1 : fração da diluição (v/v); X_2 : tempo de contato (seg); Triplicata ensaios do ponto central; **Média ± (desvio padrão) seguidas de letras minúsculas nas linhas iguais não diferem estatisticamente á nível de 5% (Teste de Tukey).

Observa-se na Figura 28, que no 1º dia (a) o tempo e a diluição apresentaram efeito significativo ($p < 0,05$) positivo e no 21º dia (b), somente a fração diluição apresentou efeito significativo ($p < 0,05$) positivo.

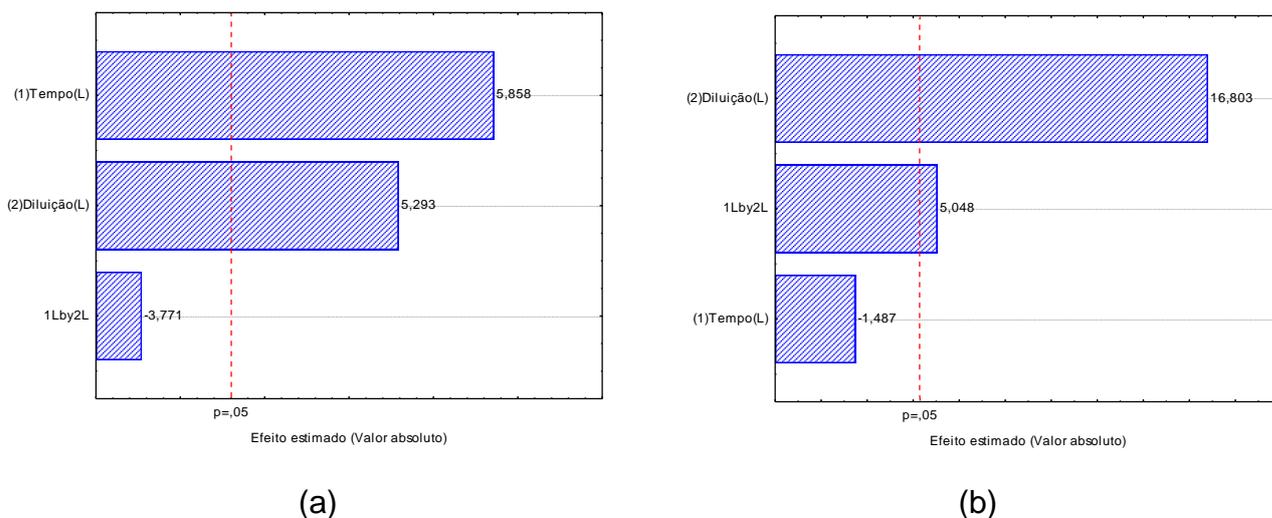


Figura 28: Gráfico de Pareto com o efeito estimado (valor absoluto) das variáveis estudadas no planejamento experimental 2^2 para a cor (b^*) em linguiça tipo Calabresa tratadas com fumaça líquida B para o 1º dia (a) e 21º dia (b) de armazenamento a 20°C, respectivamente.

SCHWERT *et al.* (2011) encontrou resultados nos tratamentos com fumaça líquida, em linguiça tipo calabresa, com menor tonalidade de amarelo e luminosidade, indicando um produto mais escuro utilizando fumaça líquida em comparação com o uso de fumaça tradicional.

4.3. Benzopirenos

Na Tabela 25 são apresentados os residuais de benzopireno para as amostras de linguiça tipo Calabresa com fumaça líquida A, B e defumação tradicional.

Tabela 25: Residual de benzopirenos ($\mu\text{g}/\text{kg}$) nas amostras de linguiça tipo calabresa com defumação líquida comercial A e B e defumação tradicional.

Amostra	Residual de Benzopirenos ($\mu\text{g}/\text{kg}$)
Fumaça líquida A	< 0,12 $\mu\text{g}/\text{kg}$
Fumaça líquida B	< 0,12 $\mu\text{g}/\text{kg}$
Defumação Tradicional	0,19 $\mu\text{g}/\text{kg}$

Os resultados de benzopireno nas amostras de linguiça tipo Calabresa com defumação líquida comercial A e B, os valores não foram possíveis de serem quantificados (limite mínimo de detecção do equipamento 0,12 $\mu\text{g}/\text{kg}$). Porém, a amostra de linguiça tipo Calabresa defumada tradicionalmente, o valor encontrado foi de 0,19 $\mu\text{g}/\text{kg}$.

Os produtos defumados com fumaça líquida, normalmente, são considerados baixos, devido a fumaça líquida passar por processo de filtração, destilação e o envelhecimento (Gonulalan et al , 2003; Simko, 2002) para remoção de benzopireno.

Segundo Pöhlmann *et al.* (2012), o controle da temperatura para uma geração de fumaça tradicional abaixo de 600°C é uma abordagem promissora para obtenção de baixos valores de hidrocarbonetos aromáticos policíclicos. A temperatura geração fumaça depende dos parâmetros do defumador (densidade de fumaça, velocidade do ventilador e umidade da madeira), os quais influencia diretamente na composição de substâncias fenólicas.

Os valores de temperatura atingidos no gerador de fumaça tradicional (queima de serragem), conforme observado na Figura 29 pela foto termográfica, chega a no máximo 300°C, valor este abaixo do encontrado por Pöhlmann et al, (2012) onde os maiores teores de compostos fenólicos foram detectados em linguiça defumada em temperaturas de geração de fumaça de 480°C a 520°C.

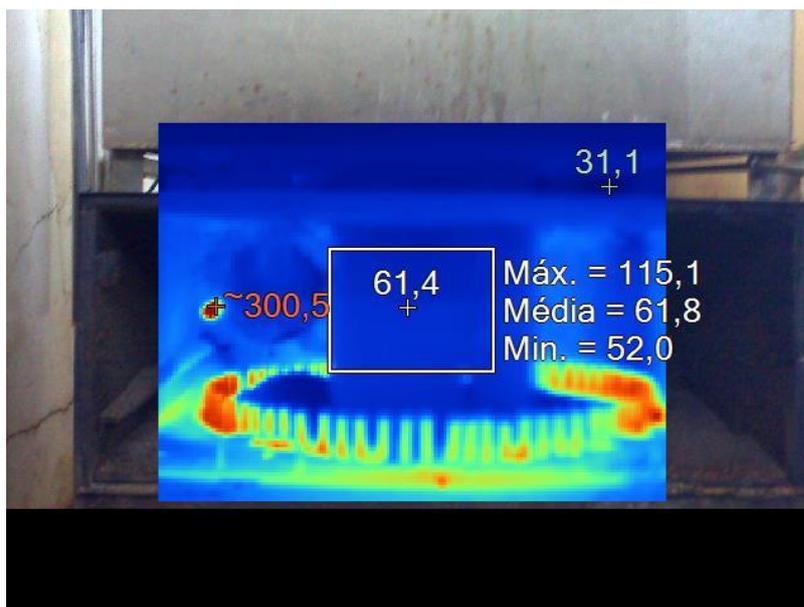


Figura 29: Foto termográfica do gerador de fumaça.

A Commission Regulation (EC) n. 208 (2005) introduziu um nível máximo de benzopireno de 5 µg/kg de peso úmido de carne defumada e defumados de carne, embora diferentes países europeus (Alemanha, Áustria, República Tcheca e República Eslovaca), haviam adotado previamente um limite máximo de 1 µg/kg. A União Europeia (UE) também estabeleceu um limite máximo permitido para benzopireno presente em alimentos como resultado do uso de agentes de sabor defumado de 0,03 µg/kg (Council of the European Communities, 1988).

De acordo com o Comitê Científico da Alimentação Humana (Comissão Europeia, 2005a) benzopireno pode ser usado como um marcador para a ocorrência e impacto de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos cancerígenos nos alimentos.

Hitzel et al (2013), em salsicha tipo Frankfurt defumada com o sistema tradicional, encontraram médias de benzopireno $3,51 \pm 0,92$ µg/kg de produto e também verificaram que diferentes tipos de madeira podem apresentar diferentes concentrações de benzopireno. Pöhlmann et al. (2012) em salsicha tipo Frankfurt defumada, encontraram valores de benzopireno variando na faixa de 0,11 a 0,48 µg/kg.

4.4. Avaliação Microbiológica - bactérias lácticas

Nas Tabelas 26 e 27 são apresentadas as matrizes do planejamento fatorial e contagem bactérias lácticas (Log UFC/g de amostra) para as amostras de linguiça tipo Calabresa tratadas com a fumaça líquida “A” e “B”, armazenada a 20°C durante 28 dias, respectivamente. Ao avaliar a evolução das bactérias lácticas com o decorrer do armazenamento (Tabela 26 e 27), verificou-se que após 28º dia de armazenamento, em ambos os tratamentos de defumação, apresentaram um perfil semelhante.

Com o decorrer do armazenamento a contagem de bactérias lácticas foi considerada elevada para este tipo de produto (7,70 a 9,04 \log_{10} UFC.g⁻¹), sendo semelhante ao encontrado em produtos cárneos fermentados (salame), cujo número varia de 7,00 a 8,00 \log UFC.g⁻¹ (MACEDO, 2005; LEBERT *et al.*, 2007). Porém foram semelhantes aos obtidos por MILANI *et al.* (2003) em linguiças frescas de frango armazenadas a 8°C, onde encontraram valores superiores a 10⁷ UFC/g de bactérias lácticas após 6 dias de armazenamento, o que correspondeu a um

aumento de aproximadamente 3 ciclos logarítmicos. No presente trabalho, os valores elevados na contagem de bactérias lácticas ($\sim 10^8$ UFC/g) esta relacionado também ao tipo de análise feita, ou seja somente na superfície do produto (cerca de 4 a 7 mm)

Tabela 26: Matriz do planejamento fatorial 2^2 (valores codificados e reais) e contagem bactérias lácticas (Log UFC/g de amostra) de amostras de linguiça tipo Calabresa tratadas com fumaça líquida A aos 28 dias de armazenamento a 20°C.

Ensaio	Variáveis independentes*		Bactérias Lácticas ** (Log UFC/g de amostra)				
	X ₁	X ₂	1º dia	7º dia	14º dia	21º dia	28º dia
1	-1(1:2)	-1(60)	6,40 ^e (± 0,09)	8,36 ^d (± 0,06)	8,13 ^c (± 0,02)	8,68 ^b (± 0,05)	8,99 ^a (± 0,01)
2	1(1:4)	-1(60)	5,18 ^a (± 0,10)	5,46 ^a (± 4,04)	8,45 ^a (± 0,07)	8,29 ^a (± 0,01)	8,91 ^a (± 0,08)
3*	0(1:3)	0(105)	4,71 ^e (± 0,08)	7,88 ^d (± 0,02)	7,22 ^c (± 0,06)	8,46 ^b (± 0,10)	8,17 ^a (± 0,04)
4	-1(1:2)	1(150)	5,48 ^d (± 0,07)	8,43 ^c (± 0,03)	8,66 ^b (± 0,01)	8,64 ^b (± 0,07)	9,04 ^a (± 0,01)
5	1(1:4)	1(150)	6,71 ^e (± 0,04)	8,03 ^d (± 0,09)	8,23 ^c (± 0,10)	8,86 ^b (± 0,10)	8,97 ^a (± 0,01)

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

Tabela 27: Matriz do planejamento fatorial 2² (valores codificados e reais) e contagem bactérias lácticas (Log UFC/g de amostra) de amostras de linguiça tipo Calabresa tratadas com fumaça líquida B aos 28 dias de armazenamento a 20°C.

Ensaio	Variáveis independentes*		Bactérias Lácticas (Log UFC/g de amostra)				
	X ₁	X ₂	1º dia	7º dia	14º dia	21º dia	28º dia
1	-1(1:1)	-1(60)	Ausente	5,42 ^c (± 0,44)	8,02 ^b (± 0,02)	8,18 ^a (± 0,03)	8,22 ^a (± 0,62)
2	1(1:3)	-1(60)	3,42 ^e (± 0,03)	7,92 ^d (± 0,01)	6,49 ^c (± 0,02)	7,46 ^b (± 0,22)	7,70 ^a (± 0,02)
3	0(1:2)	0(105)	Ausente	7,36 ^a (± 0,61)	8,43 ^a (± 0,03)	7,02 ^a (± 0,04)	7,70 ^a (± 1,21)
4	-1(1:1)	1(150)	Ausente	3,22 ^d (± 0,09)	7,41 ^c (± 0,33)	7,01 ^b (± 0,02)	8,22 ^a (± 0,13)
5	1(1:3)	1(150)	1,17 ^c (± 0,12)	7,67 ^a (± 0,45)	6,55 ^b (± 0,05)	7,80 ^a (± 0,30)	8,07 ^a (± 0,06)

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

RIBEIRO (2006) inoculou em linguiça Toscana bactérias lácticas entre 6,00 e 8,00 log UFC/g¹, que foram armazenadas a 5 e 15°C durante 12 dias, obteve-se número de colônias de bactérias próximo a 9,00 log UFC/g. Demonstrando que as bactérias lácticas se multiplicam a 5°C e próximo a 20°C, temperatura esta (20°C) empregada no presente estudo no armazenamento das linguiça tipo calabresa cozidas e defumadas.

4.5. Avaliação Sensorial

Nas Tabelas 28 e 29 são apresentadas as matrizes do planejamento fatorial 2² e avaliação sensorial para as amostras de linguiça tipo Calabresa tratadas com fumaça líquida “A” e “B” armazenadas a 20°C durante 28 dias. No teste sensorial avaliou-se quanto a amostra-tratamento diferiu-se da amostra-referência em relação a intensidade da alteração do sabor típico da linguiça tipo Calabresa, em uma escala mista de 9 pontos (0 - Nenhuma alteração ;1; 2 - Ligeiramente alterado; 3; 4- Moderadamente alterado; 5; 6 - Muito alterado; 7; 8 - Extremamente alterado). Verifica-se que as amostras dos ensaios 4 e 5 (Tabela 28 e Figura 30) tratadas com

fumaça líquida “A” apresentaram alterações do sabor típico mais acentuadas (moderadamente a muito alterado) a partir do 21º dia de armazenamento, quando comparadas as amostras tratadas com fumaça líquida “B”. No 28º dia não foi possível realizar as avaliações sensoriais das amostras dos ensaios 1, 3 e 5, pois apresentavam aspecto visual e odor alterado.

A Figura 31 (a, b) apresenta os gráficos de Pareto do 14º e 21º dia de armazenamento com os efeitos estimados (valor absoluto) das variáveis testadas no planejamento fatorial 2² para a análise sensorial das amostras de linguiça tipo calabresa tratadas com a fumaça líquida “A” e armazenadas a 20°C. A fração diluição exerceu efeito significativo ($p < 0,05$) positivo na alteração do produto no 14º dia (a) e negativa no 21º dia (b). No entanto, no 14º dia a interação e o tempo de contato isolado exerceram efeitos significativos ($p < 0,05$) negativos,.

Tabela 28: Matriz do planejamento fatorial 2² (valores codificados e reais) e avaliações sensorial de amostras de linguiça tipo Calabresa com fumaça “A” aos 28 dias de armazenamento.

Ensaio	Variáveis independentes*		Avaliação sensorial				
	X ₁	X ₂	1º dia	7º dia	14º dia	21º dia	28º dia
1	-1(1:2)	-1(60)	0 ^b	0 ^b	0,60 ^{ab}	1,30 ^a	1,60 ^a
2	1(1:4)	-1(60)	0 ^b	0,20 ^b	1,80 ^a	1,80 ^a	X
3	0(1:3)	0(105)	0 ^a	0 ^a	0,70 ^a	1,00 ^a	X
4	-1(1:2)	1(150)	0 ^c	0 ^c	1,80 ^b	5,20 ^a	4,80 ^a
5	1(1:4)	1(150)	0 ^b	0 ^b	1,50 ^a	4,20 ^a	X

*X₁: fração da diluição (v/v); X₂: tempo de contato (seg); Triplicata ensaios do ponto central; **Média seguidas de letras minúsculas nas linhas iguais não diferem estatisticamente á nível de 5% (Teste de Tukey). ND: não determinado.

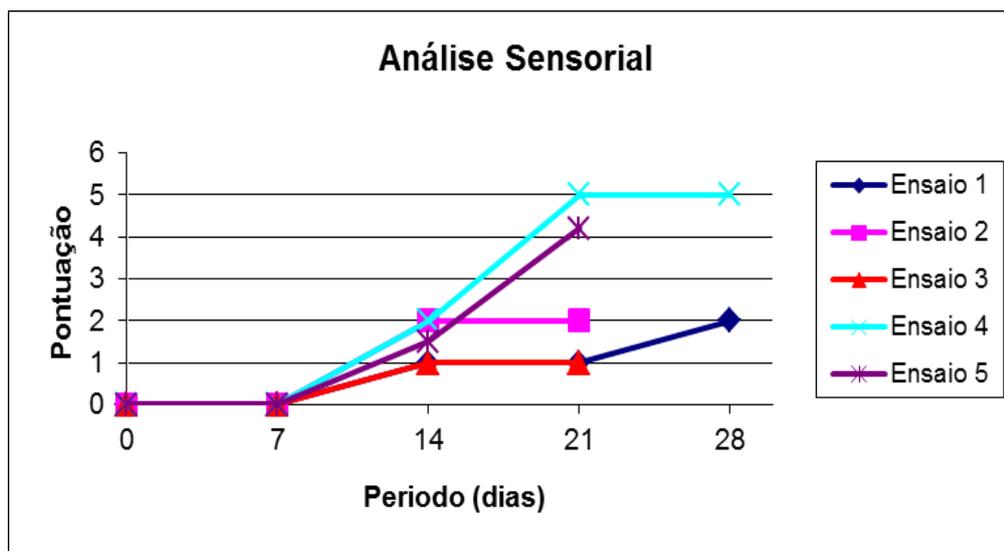


Figura 30: Análise sensorial para amostras de linguiça tipo Calabresa do tratamento A durante o período de armazenamento de 28 dias.

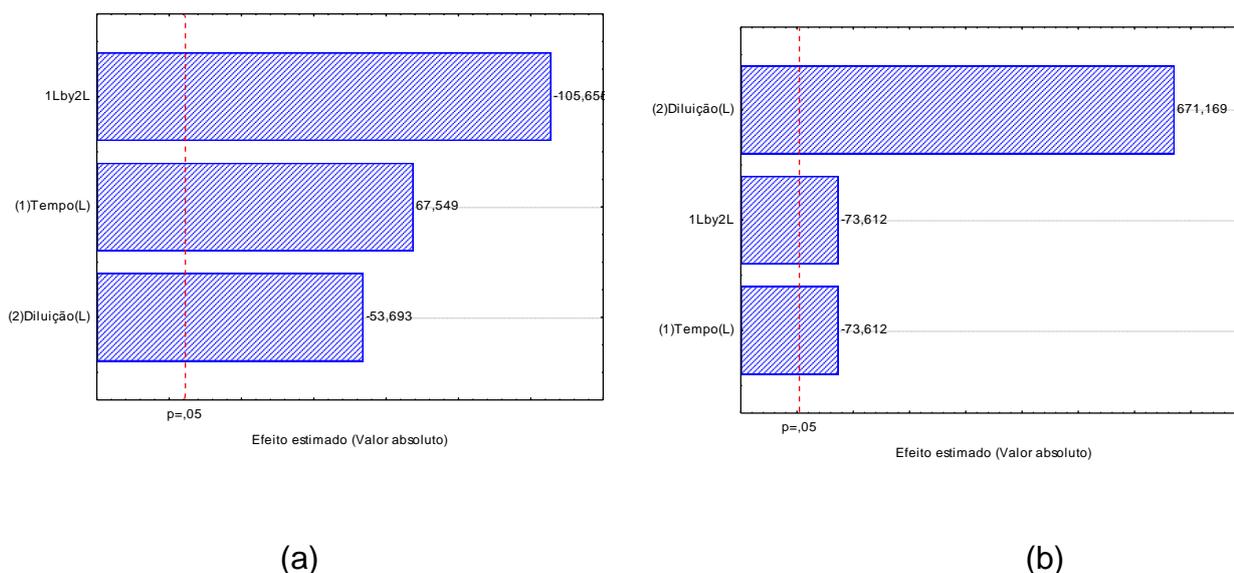


Figura 31: Gráfico de Pareto com o efeito estimado (valor absoluto) das variáveis estudadas no planejamento experimental 2^2 para avaliação sensorial em linguiça tipo Calabresa com fumaça A para o 14º dia (a) e 21º dia (b) de armazenamento, respectivamente.

Na Tabela 29 e Figura 32 mostra uma maior estabilidade nas características sensoriais do produto defumado com a fumaça “B”, não havendo grandes alterações no sabor até o 21º dia de armazenamento. No 28º dia não foi possível analisar sensorialmente os ensaios 1 e 4, devido a alterações no aspecto e odor do produto.

A Figura 33 (a, b) apresenta os gráficos de Pareto do 14° e 21° dia de armazenamento com os efeitos estimados (valor absoluto) das variáveis testadas no planejamento fatorial 2² para a análise sensorial das amostras de linguiça tipo Calabresa tratadas com a fumaça líquida “B” e armazenadas a 20°C. A fração diluição exerceu efeito significativo ($p < 0,05$) positivamente no 14° dia (a) e no 21° dia (b), a interação e o tempo exerceram efeito significativo ($p < 0,05$) negativamente no 14° dia (a) e no 21° dia.

Tabela 29: Matriz do planejamento fatorial 2² (valores codificados e reais) e avaliações sensorial de amostras de linguiça tipo Calabresa com fumaça B aos 28 dias de armazenamento.

Ensaio	Variáveis independentes*		Avaliação sensorial				
	X ₁	X ₂	1° dia	7° dia	14° dia	21° dia	28° dia
1	-1(1:1)	-1(60)	0 ^a	0 ^a	0,60 ^a	0,80 ^a	X
2	1(1:3)	-1(60)	0 ^b	0 ^b	0,40 ^{ab}	0,60 ^{ab}	1,20 ^a
3	0(1:2)	0(105)	0 ^b	0 ^b	0 ^b	1,11 ^{ab}	1,50 ^a
4	-1(1:1)	1(150)	0 ^b	0 ^b	0,30 ^b	1,80 ^a	X
5	1(1:3)	1(150)	0 ^c	0,10 ^{bc}	0,30 ^{bc}	1,20 ^b	2,40 ^a

*X₁: fração da diluição (v/v); X₂: tempo de contato (seg); Triplicata ensaios do ponto central; **Média seguidas de letras minúsculas nas linhas iguais não diferem estatisticamente á nível de 5% (Teste de Tukey) ND: não determinado.

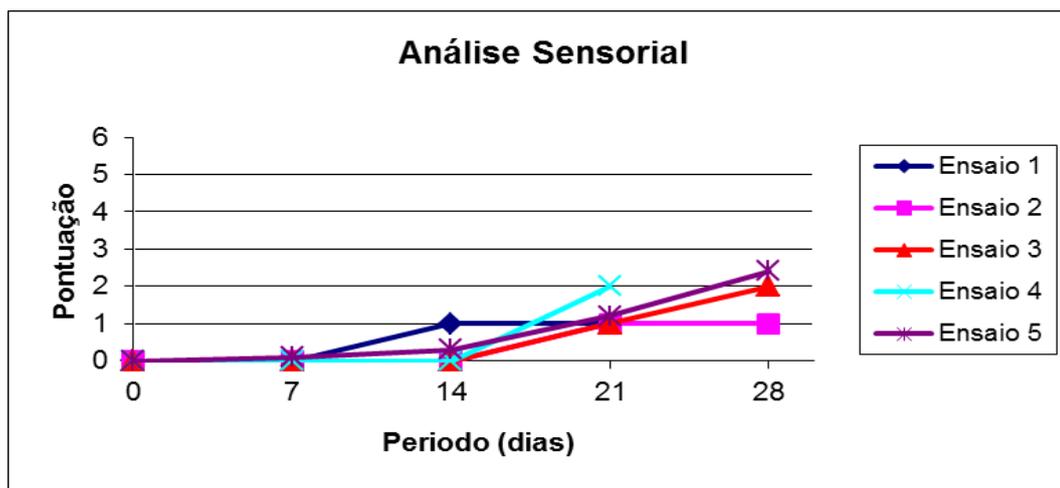


Figura 32: Análise sensorial para amostras de linguiça tipo Calabresa do tratamento B durante o período de armazenamento de 28 dias.

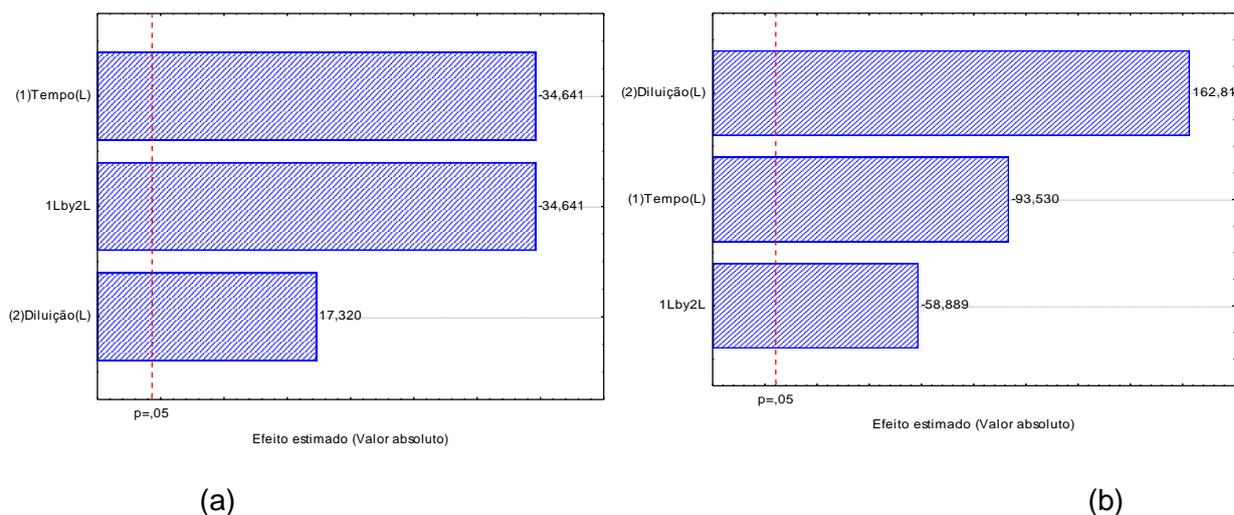


Figura 33: Gráfico de Pareto com o efeito estimado (valor absoluto) das variáveis estudadas no planejamento experimental 2^2 para avaliação sensorial em linguiça tipo Calabresa com fumaça B para o 14º dia (a), 21º dia (b), de armazenamento, respectivamente.

Com os resultados obtidos sensorialmente, percebemos que a fumaça B tem uma melhor estabilidade, obtendo resultados organolépticos com pontuações melhores que a fumaça A, assim sendo a melhor fumaça para a aplicação no presente estudo.

5. CONCLUSÕES E SUGESTÕES

5.1 CONCLUSÕES

- A fumaça “B” obteve os maiores valores de TBARs aos 28 dias de armazenamento, mesmo tendo uma diluição menor do que a fumaça “A”.
- Nas amostras de linguiça tipo Calabresa houve um aumento progressivo nos valores de TBARS, e aos 28 dias há diferença significativa ($p < 0,05$) nos tratamentos, quando comparados aos demais dias de armazenamento, com teor de 0,44 mg MDA/kg onde a fração da diluição foi de 1:4 (v/v) da fumaça “A” e tempo de contato de 60 e 150 seg, respectivamente.
- O teor médio de ácidos graxos insaturados foi de 13,1 g/100 g para a linguiça tipo Calabresa. Em relação aos ácidos graxos saturados verificou-se um incremento principalmente no teor de ácido palmítico com o decorrer do período de armazenamento, ao final do 28º dia no tratamento de fumaça líquida os teores foram de 2,48 a 4,41 g/100g de ácido palmítico.
- Em relação a oxidação proteica, verificou-se um aumento progressivo dos grupos carbonil com o período de armazenamento, de 1,59 a 4,04 nmol carbonil/mg proteína para a linguiça tipo Calabresa. Os grupos sulfidrilas sofreram um decréscimo com o decorrer do período de armazenamento, com faixa de variação de 77,16 a 12,11 μ moles/ mg de proteína.
- A fumaça líquida proporciona uma maior estabilidade de cor durante o tempo de armazenamento variando pouco a sua luminosidade (L^*).
- A fumaça Líquida B, mesmo apresentando maiores valores de TBARs, obteve maior estabilidade organoléptica, sendo a melhor fumaça entre as duas estudadas.
- A fumaça líquida proporciona um ganho de processo relativo a defumação natural, devido ao tempo de estufa, em torno de 37 %, o que pode vir a gerar um lucro muito grande se este tempo vir a ser ocupado com aumento de produção.
- Os resultados de benzopireno encontrado nas linguiças com fumaça líquida não foram possíveis de serem quantificados (limite de detecção $< 0,12 \mu\text{g/kg}$) A linguiça tipo Calabresa com defumação tradicional (natural) apresentou valor de 0,19 $\mu\text{g/kg}$, valores baixos quando comparado com o limite máximo estipulado pela União Europeia (5 $\mu\text{g/kg}$).

5.2 SUGESTÕES

A partir deste trabalho algumas sugestões são indicadas para trabalhos futuros:

Realizar destilação fracionada da fumaça líquida, no sentido de concentrar os componentes de interesse;

Caracterizar os componentes presentes na fumaça líquida, mediante análises cromatográficas;

Estudar componentes e/ou frações da fumaça líquida em produtos cárneos e seus efeitos divulgados, principalmente por fabricantes, com atividade antioxidante, antibacteriano e de melhoria nas características organolépticas (sabor e cor), porém pouco conhecidos cientificamente.

Utilizar componentes bactericidas ou bacteriostáticos associados com a fumaça líquida que possam vir a auxiliar na conservação do produto.

6.REFERÊNCIAS

- ADAMS, C. A. *Nutricines: food components in health and nutrition*. Nottingham: Nottingham University Press, 1999. 128p.
- ADEGOKE, G. O. *et al.* Antioxidants and lipid oxidation in foods: A critical appraisal. *Journal of Food Science and Technology*, v. 35, n. 4, p.283-298, 1998.
- ADICON IND. COM. ADITIVOS LTDA. *Usoa e processos de Fabricação. Aditivos. Fumaças liquidas naturais. Aplicação em produtos cárneos*. 1998.
- AHMAD, S.; SRIVASTAVA, P. K. Quality and shelf life evaluation of fermented suasages of buffalo meat with different levels of heart and fat. *Meat Science*, v. 75, p. 603-603, 2007.
- ALMEIDA, C. O - Avaliação físico-química e microbiológica de linguiça toscana porcionada e armazenada em diferentes embalagens, sob condições de estocagem similares às praticadas em supermercado; 2005 Campinas p. 603-603, 2007.
- ALAIZ, M. GIRÓN, J. Modification of histidine residues in bovine serum albumin by reaction with (E)-2-octenal. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v.42, p. 2094-2098, 1994.
- ALEXANDER, J. C. Biological effects due to changes in fats during heating. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, v. 55, n. 10, p. 711–717, 1978.
- ALEXANDER, J. W. Immunonutrition: The role of -3 fatty acids. *Nutrition*, v. 14, n. 7-8, p. 627–633, 1998.
- 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.
- AOAC - ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. *Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists*. 15th ed. Arlington: AOAC, 1990. 1298 p.
- ARAÚJO, J.M.A. *Química de Alimentos - Teoria e prática*. 3^a ed. Viçosa: UFV, 2005. 478p.
- ARAÚJO, J.M.A. *Química dos Alimentos - Teoria e prática*. 2^a ed. Viçosa: UFV, 1999. 416p
- AYNIÉS, L. E. *et al.* Interactions between lipids and milk proteins in emulsion. *Journal Food Science*, v. 57, p. 883-886, 1992.
- AUBOURG, S. P. Recent advances in assessment of marine lipid oxidation by fluorescence. Review. *Journal of the American Oil Chemists Society*, v. 76, p. 409-419, 1999.
- BAKER, A. *et al.* Reaction of Nacetylglucyllysine methyl ester with 2-alkenals: an alternative model for covalent modification of proteins. *Chemical Research in Toxicology*, v. 11, p. 730-740, 1998.
- BELITZ, H.; GROSCH, W. *Química de los alimentos*. 2^a Ed. Zaragoza: Editorial Acribia, S.A., 1992.
- BERRA, B.; MONTORFANO, G.; RIZZO, A. M. Omega-6 e omega-3: rationale per lo studio del loro rapporto. *Progress in Nutrition*, v. 7, n. 1, p. 24–33, 2005.

BLISKA, F. M. M.; VIANA, A.G. & FREITAS, M.H.A. Defumação de Produtos Cárneos. Ital, Campinas. 1996. 23p

BOBBIO, P. A.; BOBBIO, F.O. Química do processamento de alimentos. Ed. Varela, 2ª ed. 1992.

BORGSTRON, G. Principles of Food Science. Vol I. Food T& Nutrition Press, Inc. Westport. Connecticut. USA. 397p. 1976.

BÖHLEN, P.; *et al.* Fluorometric assay of protein in the nanogram range. Archives of Biochemistry and Biophysics, v. 155, p. 213-220, 1973.

BRADFORD, M.M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Anal Biochem. v 72 p 248-254, 1976.

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

BREWER, 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, 1993.

CANHOS, D. A. L., DIAS, E.L. Defumação. Tecnologia de Carne Bovina e Produtos Derivados, 2:311-323, 1983.

CASTRO, A. G. A. Química e a reologia no processamento dos alimentos, 295 p. 2002.

CHANG, S. S.; PETERSON, R. J.; HO, C. T. Chemical reactions involved in the deep-fat frying of foods. Journal of the American Oil Chemists' Society, v. 55, n. 10, p. 718-727, 1978.

CHOWDHURY, *et al.* Mass spectrometric identification of amino acid transformations during oxidation of peptides and proteins: modifications of methionine and tyrosine. Anal Chem, v. 67, p. 390-398, 1995.

Commission Regulation n. 208/2005. Official Journal of the European Communities. L34/3.

Council of the European Communities, Directive 88/388/EEC. Official Journal of the European Communities, L184. P. 61.

DABÉSN, 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 Lingüiça Toscana Congelada Armazenada em Diferentes Embalagens. 2008, Dissertação de Mestrado. Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões – Campus de Erechim, Erechim, RS.

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

DOORN, J. A.; PETERSEN, D. R. Covalent modification of amino acid nucleophiles by the lipid peroxidation products 4-hydroxy-2-nonenal and 4-oxo-2-nonenal. *Chemical Research in Toxicology*, v. 15, p. 1445-1450, 2002.

DOS SANTOS, E.; Avaliação das propriedades tecnológicas de tripas naturais submetidas ao tratamento com soluções emulsificantes. 2006. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, SC.

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

ESTÉVEZ, M.; VENTANAS, S.; CAVA, R. Effect of natural and synthetic antioxidants on protein oxidation and colour and texture changes in refrigerated stored porcine liver pâté. *Meat Science*, v. 74, p. 396-403, 2006

European Commission (2005^a). Commission Recommendation 2005/108/EC of 4 february 2005 on the further investigation into the level of polycyclic aromatic hydrocarbons in certain foods. *Official Journal of the European Union*, L34, 43-45.

FAO – Food and Agriculture Organization of the United Nations. Assessment and Management of Seafood Safety and Quality. Rome, 1985. I.V. Savic

FARMER, E. H. *et al.* The course and mechanism of autoxidation reactions in olefinic and polyolefinic substances, including rubber. *Trans. Faraday Soc.*, 1942. 348p.

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

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

FESSMANN, K.D. Smoking technology at a time of change. *Fleischwirtschaft*, 75 (9):1124-1126, 1995.

FRANKEL, E. N. Recent advances in lipid oxidation. *Journal of Science of Food and Agriculture*, v. 54, p. 495-511, 1991.

FRANKEL, E, N. Antioxidants in lipid foods and their impact on food quality. *Food Chemistry*, v. 57, p. 51-55, 1996.

FREY, W. *Fabricación fiable de embutidos*. Editorial Acribia, Zaragoza, Espanha. 1995. 194p.

FOMUSO, L. B.; CORREDIG, M.; AKOH, C. C. Effect of emulsifier on oxidative properties of fish oil-based structured lipid emulsions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 50, p. 2957-2961, 2002.

GAIO, I. Atividade antimicrobiana e antioxidante *in vitro* e em salame tipo italiano do óleo essencial de manjeriço (*Ocimum basilicum* L.), 2008. 141p. Dissertação de Mestrado. Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões – Campus de Erechim, Erechim, RS.

GARDNER, H. W. Lipid hydroperoxide reactivity with proteins and amino acids: *A review*. Journal of Agricultural and Food Chemistry, v. 27, p. 220-229, 1979.

GATELLIER, P.; GOMEZ, S.; GIGAUD, V.; BERRI, C.; BIHAN-DUVAL, E.L.; SANTE´-LHOUELLIER, V. Use of a fluorescence front face technique for measurement of lipid oxidation during refrigerated storage of chicken meat. Meat Science, v. 76, n. 3, p. 543- 547, 2007.

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

GORDON, M. H. The mechanism of antioxidant action *in vitro*. In: HUDSN, B.J.F. Food Antioxidants, London: Elsevier Applied Science, p.1-18. 1990.

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

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, 354p. 1994.

HIDALGO, F. J.; ZAMORA, R. Modification of bovine serum albumin structure following reaction with 4,5(E)-Epoxy-2(E)-heptenal. Chemical Research in Toxicology, v. 13, p. 501-508, 2000.

Hitzel, A., Pöhlmann, M., Schwägele, F., Speer, K., & Jira, W. (2013). Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH) and phenolic substances in meat products smoked with different types of wood and smoking spices. Food Chemistry, 139, 955-962.

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, 1998.

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.

HU, M.; MCCLEMENTS, D. J.; DECKER, E. A. Impact of whey protein emulsifiers on the oxidative stability of salmon oil-in-water emulsions. Journal of Agricultural and Food Chemistry, v. 51, p. 1435-1439, 2003.

ICMSF – International Commission on Microbiological Specifications for Foods. Ecologia Microbiana de los Alimentos. Volumen II. Zaragoza: Editorial Acribia S.A., 1980. 989 p.

ITAKURA, K.; UCHIDA, K.; OSAWA, T. A novel fluorescent malondialdehyde-lysine adduct. Chem Phys Lipids, v. 84, p. 75-79, 1996.

ITAL, Principios do Processamento de Embutidos Carneos. CTC,Campinas 2003.

JADHAV, S. J. *et al.* Lipid oxidation in biological and foods system. In: MADHAVI, D. L.; DESHPANDE, S. S.; SALUNKHE, D. K. Food antioxidants: Technological, toxicological and health perspectives. New York: Marcel Dekker, p. 5-63, 1996.

JOHNS, A. M., BIRKINSSHAW, L. H., LEDWARD, D.A. Catalysts of lipid oxidation in meat products. *Meat Science*, v. 25, p. 209-220, 1989.

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, 1992. Chap. 44, p. 821-836.

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

KAHL, R.; HILDEBRANDT, A.G. Methodology for studying antioxidant activity and mechanisms of action of antioxidants. *Food Chemical Toxicology*, v.24, n.10-11, p.1007-1014, 1986.

KANNER, J. Oxidative processes in meat and meat products: quality implications. *Meat Science*, v. 36, p. 169-189, 1994.

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

KIKUGAWA, K.; KATO, T.; HAYASAKA, A. Formation of dityrosine and other fluorescent amino acids by reaction of amino acids with lipid hydroperoxides. *Lipids*, v. 26, p. 922-929, 1991.

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

KRING, U.; BERGER, R.G. Antioxidant activity of some roasted foods. *Food Chemistry*, v. 72, p. 223-229, 2001.

LAWRIE, R. A. *Ciência da Carne*. Porto Alegre, Artmed, 2005, 384p.

LEAVER, J. *et al.* Chemical changes in κ -lactoglobulin structure during ageing of protein-stabilized emulsions. *Journal of Food Science & Technology*, v. 34, p. 503-508, 1999.

LEAVER, J.; LAW, A. J. R.; BRECHANY, E. Y. Covalent modification of emulsified κ -casein resulting from lipid peroxidation. *Journal of Colloid and Interface Science*, v. 210, p. 207-214, 1999a.

LEVITZKI, A.; ANBAR, M.; BERGER, A. Specific oxidation of peptides via their copper complexes. *Biochemistry*, v. 6, p. 3757-3765, 1967.

LEAVER, J.; LAW, A. J. R.; BRECHANY, E. Y. Covalent modification of emulsified κ -casein resulting from lipid peroxidation. *Journal of Colloid and Interface Science*, v. 210, p. 207-214, 1999.

LEBERT, I. *et al.* Diversity of microorganisms in the environment and dry fermented sausages of small traditional French processing units. *Meat Science*, v. 76, p. 112-122, 2007.

- 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.
- LORENZO, J. M.; MICHINEL, M.; LÓPEZ, M.; CARBALLO, J. Biochemical Characteristics of Two Spanish Traditional Dry-cured Sausage Varieties: Androlla and Botillo. *Journal of Food Composition and Analysis*, v. 13, p. 809-817, 2000
- LUND, M. N., HEINONEN, M., BARON, C. P., & ESTÉVEZ, M. Protein oxidation in muscle foods: A review. *Molecular Nutrition and Food Research*, v. 55, p. 83–95. 2011.
- MATOBA, T. *et al.* Damage of amino acid residues of protein after reaction with oxidizing lipids: estimation by proteolytic enzymes. *Journal Food Science*, v. 49, p. 1082-1084, 1984.
- MATSUSHITA, S. Specific interactions of linoleic acid hydroperoxides and their secondary degraded products with enzyme proteins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 23, p. 150-154, 1975.
- MILANI, L. I. G.; FRIES, L. L. M.; PAZ, P. B.; BELLE, M.; TERRA, N. N. Bioproteção de linguiça de frango. *Ciência e Tecnologia dos Alimentos*, v.23, n.2, p.161-166, 2003
- MOELLER, P., LINDER, D. How smoking has been made simple. *Meat Processing*, 1996
- 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.
- MUTHUKUMARASAMY, P.; HOLLEY, R. A. Microbiological and sensory quality of dry fermented sausages containing alginate-microencapsulated *Lactobacillus reuteri*. *International Journal of Food Microbiology*, v. 111, n. 2, p. 164-169, 2006
- NEWBURG, D. S.; CONCON, J. M. Malonaldehyde concentrations in food are affected by cooking conditions. *Journal of Food Science*, v. 45, n. 6, p. 1681–1687, 1980.
- OLIVO, R. *O Mundo das Carnes: ciência, tecnologia & Mercado* 2 ed. Criciúma, 214p. 2005.
- OLIVO, R. Alterações oxidativas em produtos cárneos. *Globalfood Sistemas, Ingredientes e tecnologia para Alimentos Ltda*, p. 9, 2005
- OLIVO, R. *O mundo do frango*. Criciúma: do Autor, p. 239-272, 2006.
- OLIVO, R., SHIMOKOMAKI, M. *Carnes: no caminho da pesquisa*. 2 ed. Cocal do Sul: Imprint, 2002. 155p.
- ORDÓÑEZ, J. A. *Tecnologia de Alimentos*, Porto Alegre, Artmed, 2005, 279p.
- OSAWA, C. C.; FELÍCIO, P. E.; GONÇALVES, L. A. G. Teste de TBA aplicado a carnes e derivados: métodos tradicionais, modificados e alternativos. *Quim. Nova*, v.28, n. 4, p 655 – 663, 2005
- OU, S.; KWOK, K.C.; WANG, Y.; BAO, H. An improved method to determine SH and S–S– group content in soymilk protein. *Food Chemistry*, v. 88, p. 317–320, 2004.

PANIANGVAIT, P. *et al.* Cholesterol oxides in foods of animal origin. *Journal of Food Science*, v. 60, n. 6, p. 1159–1174, 1995.

PÖHLMANN, M., Hitzel, A., Schwägele, F., Speer, K., & Jira, W. (2012). Contents of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH) and phenolic substances in Frankfurter-type sausage depending on smoking conditions using glow smoke. *Meat Science*, 90, 176-184.

PURCHAS, R. W. *et al.* 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.

RAMALHO, V. C.; JORGE, N. Antioxidantes utilizados em óleos, gorduras e alimentos gordurosos. *Química Nova*, v. 29, n. 4, 2006.

REYFTMANN, J. P. Sensitivity of tryptophan and related compounds to oxidation induced by lipid autoperoxidation. Application to human serum low- and high-density lipoproteins. *Biochimica et Biophysica Acta*, v. 1042, p. 159-167, 1990.

RIBEIRO, C. B. A., Isolamento, seleção e aplicação de cultivos iniciadores para melhoramento da qualidade da linguiça “tipo toscana” não defumada, 2006. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal do Paraná, Curitiba, PR.

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

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

ROSA, C. M. Purificação e mecanismo de ação de uma bacteriocina produzida por *Lactobacillus sake* 2a isolado de linguiça frescal. 2001. 97p. Tese (Doutorado e Ciência de Alimentos) – Faculdade de Ciências Farmacêutica da Universidade de São Paulo, São Paulo.

ROSE, D. P.; CONNOLLY, J. M. Omega 3 fatty acids as cancer chemopreventive agents. *Pharmacology & Therapeutics*, v. 83, n. 3, p. 217–244, 1999.

ROUBAL, W. T.; TAPPEL, A. L. Damage to proteins, enzymes and amino acids by peroxidizing lipids. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, v. 113, p. 5-8, 1966.

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.

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

SAMESHIMA, T. *et al.* Effect of intestinal *Lactobacillus* starter cultures on the behaviour of *Staphylococcus aureus* in fermented sausage. *International Journal of Food Microbiology*, v. 41, n. 1, p. 1-7, 1998.

SCHWERT, R.; VERLINDO, R.; CICHOSKI, A. J.; OLIVEIRA, D.; VALDUGA, E. Comparative evaluation of liquid and traditional smoke on oxidative stability, color and

sensory properties of Brazilian calabrese sausage. *CYTA - Journal of Food*, 9:2, 131-134, 2011

STADTMAN, E. R.; BERLETT, B. S. Fenton chemistry: amino acid oxidation. *Journal of Biological Chemistry*, v. 166, p. 17201-17211, 1991.

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

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.

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

TEXIDÓ, E. et al. Analysis of 5-hydroxymethylfurfural in foods by gas chromatography-mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, v. 1135, n. 1, p. 85-90, 2006.

TERRA, A. B. M.; FRIES, L. L. M.; TERRA, N. N. Particularidades na fabricação de salame. São Paulo: Livraria Varela, 2004. 152 p.

TERRA, N. N. Apontamentos de Tecnologia de Carnes. São Leopoldo: Ed. Unisinos, 216 p., 1998.

TERRA, N. N. ;BRUM, M. A. R.; Carnes e Seus Derivados – Técnicas de Controle de Qualidade. São Paulo: Nobel, 1998.

TERRA, N.N.; CICHOSKI, A.J.; FREITAS, R.J.S. Valores de nitrito e TBARS durante o processamento e armazenamento da paleta suína curada, maturada e fermentada. *Ciência Rural*, Santa Maria, v. 36, n. 3, p. 965-970, 2006

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

TORRES, E.A.F.S.; SHIMOKOMAKI, M.; FRANCO, B.D.G.M.; LANDGRAF, B.C.; CARVALHO, JR., B.C.; SANTOS, J.C. Parameters determining the quality of cherqui, in intermediate moisture meat products. *Meat Science*, v. 38, n. 2, p. 229-234, 1994

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

VOGT, W. Oxidation of methionyl residues in proteins: tools, targets and reversal. *Free Radical Biology and Medicine*, v. 18, p. 93-105, 1995.

YANG, A. *et al.* Warmed-over flavor and lipid stability of beef: effects of prior nutrition. *Food Chemical Toxicology*, v. 67, n. 9, p. 3309-3313, 2002.

WRITH, F. Tecnología de los embutidos escaldados. Editorial Acribia, Zaragoza, España. 1992

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

ZAMORA, R.; ALAIZ, M.; HIDALGO, F. J. Contribution of pyrrole formation and polymerization to the nonenzymatic browning produced by amino-carbonyl reactions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 48, p. 3152-3158, 2000

ZAMORA, R.; ALAIZ, M.; HIDALGO, F. J. Modification of histidine residues by 4,5-epoxy-3-alkenals. *Chemical Research in Toxicology*, v. 12, p. 654-660, 1999.