

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

KARINE CENCE

**SALAME COM CHÁ VERDE (*CAMELLIA SINENSIS*) E NITRITO/NITRATO
ENCAPSULADOS**

ERECHIM, RS – BRASIL.

2020

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

**SALAME COM CHÁ VERDE (*CAMELLIA SINENSIS*) E NITRITO/NITRATO
ENCAPSULADOS**

Karine Cence

Tese submetida ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos da URI-Campus Erechim, como requisito parcial à obtenção do Grau de Doutor em Engenharia de Alimentos, Área de concentração: Engenharia de Alimentos, da Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões – URI Erechim.

ERECHIM, RS – BRASIL.

2020

SALAME COM CHÁ VERDE (*CAMELLIA SINENSIS*) E NITRITO/NITRATO ENCAPSULADOS

Karine Cence

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

Comissão Julgadora:

Prof^a. Dr^a. Jamile Zeni
Orientadora (URI-Erechim)

Prof^a. Dr^a. Eunice Valduga
Orientadora (URI-Erechim)

Dr^a. Rosicler Colet
(URI-Erechim)

Prof^a. Dr^a. Geciane Toniazzi Backes
(URI-Erechim)

Dr. Rodrigo Schwert
(Aurora Alimentos–Chápeco)

Dr^a. Adriane Pegoraro Brustolin
(Aurora Alimentos–Erechim)

Erechim, 2020.

C395s Cence, Karine
Salame com chá verde (Camellia Sinensis) e nitrito – nitrato encapsulados /
Karine Cence. – 2020.
125 f.

Tese (doutorado) – Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das
Missões, Erechim, 2020.

“Orientação: Profa Dra Jamile Zeni, Profa Dra Eunice Valduga.”

1. Chá verde 2. Microencapsulação 3. Spray drying 4. Shelf life 5. Cultura
starter 6. Salame I. Título

C.D.U.: 664

Catálogo na fonte: bibliotecária Sandra Milbrath CRB 10/1278

AGRADECIMENTOS

A Deus pela valiosa oportunidade e pela força e coragem para a concretização de mais um objetivo em minha vida.

À minha família, que sempre me motivou e me apoiou, com muita paciência e compreensão nos momentos em que mais precisei. Em especial, aos meus pais, Nair e Waldecir, pelo suporte emocional, amor e incentivo, a minha irmã Keli, por estar sempre torcendo pelo meu sucesso.

As minhas orientadoras Prof^{as}. Dr^{as} Eunice Valduga e Jamile Zeni, por todos os momentos de compreensão e a grande ajuda no desenvolvimento deste trabalho, obrigada por acreditarem no meu trabalho e pelos ensinamentos ao longo destes anos de doutorado.

À Rosi (Dr^a. Rosicler Colet), pelos ensinamentos, auxílio em todas as análises no laboratório, paciência e sua grande amizade.

Agradeço imensamente à Marília Vendruscolo, bolsista de iniciação científica que esteve presente nesse projeto, meu muito obrigado, palavras não é o suficiente para agradecer a sua dedicação e comprometimento diante de todo o trabalho que realizamos.

À Aurora Alimentos pelo suporte financeiro e aos meus supervisores Monica Deboni e Volnei Marangon pela liberação para estudo para que assim realizasse minha qualificação profissional.

Sou grata as minhas amigas pelo apoio e incentivo em finalizar o doutorado.

Obrigada a todos que de alguma forma foram indispensáveis para a realização de mais uma etapa na minha vida profissional.

Dedicatória

A Deus, pela força e coragem.

“Lembremo-nos de que o homem interior se renova sempre. A luta enriquece-o de experiência, a dor aprimora-lhe as emoções e o sacrifício tempera-lhe o caráter”.

(Chico Xavier).

RESUMO

SALAME COM CHÁ VERDE (*CAMELLIA SINENSIS*) E NITRITO/NITRATO ENCAPSULADOS

O objetivo geral deste trabalho foi elaborar formulações de salame adicionando antioxidante natural de chá verde (*Camellia sinensis*) e avaliar a estabilidade do produto durante o *shelf life*, além do desenvolvimento de microcápsulas de cultura *starter* e sais de cura (nitrato e nitrito de sódio) e aplicação no salame avaliando a estabilidade do produto e aumento do residual de nitrito e aceitação do produto. Inicialmente elaborou-se formulações (F1, F2 e F3) variando as concentrações de chá-verde (0,008 a 0,016%), eritorbato de sódio (0,048 a 0,097%), nitrito de sódio (0 a 0,012%), nitrato de sódio (0 a 0,016%), sal de cura (0 a 0,189%) e glicose desidratada (0,589 a 0,959%), mantendo-se fixas as concentrações de carne suína, toucinho, água, sal refinado, pimenta e cultura *starter*. Para avaliação da estabilidade oxidativa avaliou-se a umidade, atividade de água, nitrato e nitrito de sódio, pH, acidez, TBARS e aceitação dos produtos durante 120 dias de armazenamento. A F1 se destacou na aceitação, com maior concentração inicial e residual de nitratos e nitritos até o 80º dia de armazenamento e menor oxidação lipídica, por apresentar na sua formulação 0,016% de chá verde, 0,012% de nitrito de sódio e 0,013% de nitrato de sódio e também, 0,081% de eritorbato de sódio e 0,806% de glicose desidratada. Os resultados do estudo indicaram que a adição de chá verde, associado ao nitrato/nitrito de sódio e eritorbato de sódio reduziram significativamente a formação de TBARS e não afetaram a qualidade sensorial do produto. Assim, este antioxidante natural pode ser facilmente utilizado em salame para melhorar a qualidade e fornecer produtos mais seguros. Posteriormente, produziu-se microcápsulas de cultura *starter* (*Staphylococcus xylosus*, *Staphylococcus carnosus*, e *Lactobacillus sakei*) com agente encapsulante composto por leite em pó integral (1,92%), maltodextrina (1,28%), trehalose (1,28%), frutoligossacarídeo (1,28%), hi-maize® 260 (0,64%) e tween 80 (0,1%), e secagem por *spray drying* variando a temperatura de entrada (70°C, 80°C e 100°C). Nas microcápsulas avaliou-se a atividade de água (*a_w*), umidade, contagem de células viáveis. Após a secagem por *spray drying* a taxa de sobrevivência da cultura *starter* encapsulada foi superior a 88% e na temperatura de 100°C a cápsula apresentou atividade de água de 0,206 e umidade de 1,5%. A aplicação das microcápsulas de cultura *starter* na produção de salame interferiu positivamente nas características físico-químicas e sensoriais do salame. O salame com a cultura encapsulada (F4) apresentou melhor aceitação pelos consumidores e um residual de nitrito até 120 dias de armazenamento. Na terceira etapa do estudo, produziu-se

microcápsulas de sais de cura (nitrato e nitrito de sódio) com agente encapsulante composto por maltodextrina (1,28%), trehalose (1,28%), frutoligossacarídeo (1,28%), hi-maize® 260 (0,64%) e tween 80 (0,1%), e secagem por *spray drying* variando a temperatura de entrada (70°C, 80°C e 100°C). Nas microcápsulas avaliou-se a atividade de água (aw), umidade. A cápsula que foi submetida à secagem a 100°C foi a que apresentou as melhores condições de aw (0,358) e umidade (2,2%). A aplicação das microcápsulas dos sais de cura (nitrato e nitrito de sódio) encapsulados na produção de salame interferiu positivamente nas características físico-químicas e sensoriais do salame, sendo possível se produzir salames com sais de cura (nitrato e nitrito de sódio) encapsulados. O salame com o sal de cura encapsulado (F5) apresentou uma ótima aceitação pelos consumidores e um residual de nitrito até 120 dias de armazenamento.

Palavras-chave: chá verde; oxidação; produto cárneo curado; cultura *starter*; nitrato e nitrito microencapsulação; *spray drying*; *shelf life*.

ABSTRACT

SALAMI WITH GREEN TEA (*CAMELLIA SINENSIS*) AND NITRITE/NITRATE ENCAPSULATED

The general objective of this work was to elaborate formulations of salami adding natural antioxidant of green tea (*Camellia sinensis*) and to evaluate the stability of the product during shelf life, in addition to the development of microcapsules of starter culture and salts of cure (sodium nitrate and nitrite) and application in salami, evaluating the stability of the product and increased nitrite residue and product acceptance. Initially, formulations were (F1, F2 and F3) varying concentrations of green tea (0,008 a 0,016%), sodium erythorbate (0,048 a 0,097%), sodium nitrite (0 a 0,012%), sodium nitrate (0 a 0,016%), healing salt (0 a 0,189%) and dehydrated glucose (0,589 a 0,959%), keeping the concentrations of pork, bacon, water, refined salt, pepper and starter culture starter. To assess oxidative stability, moisture, water activity, sodium nitrate and nitrite, pH, acidity, TBARS and product acceptance were evaluated during 120 days of storage. The F1 stood out in terms of acceptance, with a higher initial and residual concentration of nitrates and nitrites up to the 80th day of storage and less lipid oxidation, due to its formulation 0,016% with green tea, 0,012% of sodium nitrite and 0,013% of sodium nitrate and also, 0,081% of sodium erythorbate and 0,806% of dehydrated glucose. The results of the study indicated that the addition of green tea, associated with sodium nitrate/nitrite and sodium erythorbate significantly reduced the formation of TBARS and did not affect the sensory quality of the product. Thus, this natural antioxidant can be easily used in Salami to improve quality and provide safer products. Subsequently, culture microcapsules were produced starter (*Staphylococcus xylosus*, *Staphylococcus carnosus*, and *Lactobacillus sakei*) with encapsulating agent composed of whole milk powder (1,92%), maltodextrin (1,28%), trehalose (1,28%), fructooligosaccharide (1,28%), hi-maize® 260 (0,64%)) and tween 80 (0,1%), and spray drying by varying the inlet temperature (70°C, 80°C and 100°C). In the microcapsules, water activity (aw), humidity, viable cell count were evaluated. After spray drying, the survival rate of the encapsulated starter culture was greater than 88% and at 100°C the capsule showed water activity of 0,206 and humidity of 1,5%. The application of starter culture microcapsules in the production of salami interfered positively in the physicochemical and sensory characteristics of the salami. Salami with encapsulated culture (F4) showed better acceptance by consumers and a residual nitrite up to 120 days of storage. In the third stage of the study, microcapsules of healing salts (nitrate and nitrite) were produced with an encapsulating agent composed of maltodextrin (1,28%), trehalose (1,28%),

fructooligosaccharide (1,28%), maize® 260 (0,64%) and tween 80 (0,1%), and spray drying by varying the inlet temperature (70°C, 80°C and 100°C). In the microcapsules water activity (aw), humidity was evaluated. The capsule that was subjected to drying at 100°C showed the best conditions for aw (0,358) and humidity (2,2%). The application of the encapsulated curing salts microcapsules in the production of salami interfered positively in the physicochemical and sensory characteristics of the salami, making it possible to produce salamis with encapsulated curing salts. Salami with encapsulated curing salt (F5) showed excellent acceptance by consumers and a residual nitrite up to 120 days of storage.

Keywords: green tea; oxidation; cured meat product; culture starter; nitrate and nitrite; microencapsulation; spray drying; shelf life.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	17
1.1 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	20
2. OBJETIVOS	22
2.1. GERAL	22
2.2. ESPECÍFICOS	22
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	23
3.1. SALAME	23
3.2. PRODUÇÃO DE SALAMES.....	24
3.3. MATÉRIAS-PRIMAS, ADITIVOS E COADJUVANTES UTILIZADOS NA FORMULAÇÃO DE SALAME.....	27
3.3.1. MATÉRIAS-PRIMAS	27
3.3.2. GORDURA	27
3.3.3. SAL	28
3.3.4. SAIS DE CURA	29
3.3.5. AÇÚCARES	31
3.3.6. CONDIMENTOS E ESPECIARIAS.....	31
3.3.7. CULTURA <i>STARTER</i>	32
3.3.8. ANTIOXIDANTES	33
3.3.8.1. ANTIOXIDANTES NATURAIS.....	34
3.4. ALTERAÇÃO EM PRODUTOS CÁRNEOS	35
3.4.1. OXIDAÇÃO LIPÍDICA	35
3.4.2. ALTERAÇÕES MICROBIOLÓGICAS	37
3.4.3. ALTERAÇÕES SENSORIAIS.....	38
3.5. TECNOLOGIAS ALTERNATIVAS DE CONSERVAÇÃO	40
3.6. MICROENCAPSULAÇÃO	41
3.6.1. MATERIAIS ENCAPSULANTES.....	42
3.6.2. MÉTODOS DE MICROENCAPSULAÇÃO	43
3.6.2.1. SECAGEM POR ATOMIZAÇÃO (<i>SPRAY DRYING</i>)	44
3.7. ESTUDO DA ARTE – CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	45
3.8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	46
4. EFFECTS OF NATURAL ANTIOXIDANTS IN PROCESSING AND STABILITY OF ITALIAN TYPE SALAMI DURING STORAGE	54
4.1. INTRODUCTION.....	57

4.2.	MATERIAL AND METHODS.....	58
4.2.1.	ELABORATION OF SALAMI FORMULATIONS.....	58
4.2.2.	CHARACTERIZATION OF FORMULATIONS AND EVALUATION OF OXIDATIVE STABILITY.....	58
4.2.3.	ANALYTICAL DETERMINATIONS.....	59
4.2.4.	MICROBIOLOGICAL ANALYSIS.....	59
4.2.5.	SENSORY ANALYSIS.....	59
4.2.6.	STATISTICAL ANALYSIS.....	60
4.3.	RESULTS AND DISCUSSION.....	60
4.4.	CONCLUSIONS.....	70
4.5.	REFERENCES.....	70
5.	SALAME COM CULTURA <i>STARTER</i> ENCAPSULADA	75
5.1.	INTRODUÇÃO	75
5.2.	MATERIAL E MÉTODOS	77
5.3.	CULTURA <i>STARTER</i>	77
5.3.1.	FORMAÇÃO DA MICROCÁPSULA	77
5.3.2.	CARACTERIZAÇÃO DAS MICROCÁPSULAS	79
5.3.2.3.	MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA – MEV	79
5.3.2.4.	DIFRAÇÃO DE RAIOS X (DRX)	79
5.3.3.	ELABORAÇÃO DE FORMULAÇÕES DE SALAME COM CULTURA <i>STARTER</i> LIVRE E ENCAPSULADA	80
5.3.3.2.	ATIVIDADE DE ÁGUA	82
5.3.3.3.	pH.....	82
5.3.3.4.	NITRATO E NITRITO	82
5.3.3.5.	UMIDADE	83
5.3.3.6.	OXIDAÇÃO LIPÍDICA (TBARS).....	83
5.3.3.7.	ACIDEZ	84
5.3.3.8.	ANÁLISE SENSORIAL.....	84
5.3.4.	ANÁLISE ESTATÍSTICA	84
5.4.	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	85
5.4.1.	CARACTERIZAÇÃO DAS MICROCÁPSULAS DE CULTURA <i>STARTER</i>	85
5.4.2.	CARACTERIZAÇÃO DO SALAME COM A CULTURA <i>STARTER</i> LIVRE E ENCAPSULADA.....	88
5.4.3.	ANÁLISE SENSORIAL.....	95

5.4.4.	ANÁLISE MULTIVARIADA: ANÁLISE DOS COMPONENTES PRINCIPAIS E CORRELAÇÃO DE PEARSON	95
5.5.	CONCLUSÕES	98
5.6.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	98
6.	SALAME COM SAIS DE CURA ENCAPSULADOS	102
6.1.	INTRODUÇÃO	102
6.2.	MATERIAL E MÉTODOS	103
6.2.1.	FORMAÇÃO DA MICROCÁPSULA DE SAIS DE CURA (NITRATO E NITRITO DE SÓDIO)....	103
6.2.2.	CARACTERIZAÇÃO DAS MICROCÁPSULAS	104
6.2.3.	ELABORAÇÃO DE FORMULAÇÕES DE SALAME COM SAIS DE CURA LIVRES E ENCAPSULADOS	104
6.2.3.1.	ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS.....	105
6.2.3.2.	ANÁLISE SENSORIAL.....	105
6.2.4.	ANÁLISE ESTATÍSTICA	106
6.3.	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	106
6.3.1.	CARACTERIZAÇÃO DAS MICROCÁPSULAS DE NITRATO DE NITRITO DE SÓDIO	106
6.3.2.	CARACTERIZAÇÃO DO SALAME COM SAIS DE CURA LIVRES E ENCAPSULADOS	108
6.3.3.	ANÁLISE SENSORIAL.....	116
6.3.4.	ANÁLISE MULTIVARIADA: ANÁLISE DOS COMPONENTES PRINCIPAIS E CORRELAÇÃO DE PEARSON	116
6.4.	CONCLUSÕES	120
6.5.	REFERÊNCIAS.....	120
7.	CONSIDERAÇÕES FINAIS	123
8.	SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS	124

LISTA DE FIGURAS

Figura 4.1. Principal Component Analysis (PCA) of salami formulations on 0, 20, 40, 60, 80, 100 e 120 th day of storage.	69
Figura 5.1. Aspecto geral do <i>spray dryer</i> utilizado no encapsulamento (a) e representação esquemática dos componentes (b).....	78
Figura 5.2. Aspecto visual da microcápsula da cultura <i>starter</i> a 100°C.....	86
Figura 5.3. Fotomicrografias eletrônicas das microcápsulas de cultura <i>starter</i> (Aglomerado de microcápsulas de 20 µm – a e 10µm – b).....	87
Figura 5.4. Difrátogramas de raios X das amostras da microcápsula com (a) e sem a incorporação de cultura <i>starter</i> (b).....	87
Figura 5.5. Teor de nitrito das formulações F1 e F4 durante o período de armazenamento.....	91
Figura 5.6. Análise dos Componentes Principais (ACP) das formulações de salame no 0°, 20, 40, 60, 80, 100 e 120° dia de armazenamento, respectivamente.....	97
Figura 6.1. Aspecto visual da microcápsula de nitrato e nitrito de sódio a 100°C.....	107
Figura 6.2. Fotomicrografias eletrônicas das microcápsulas de nitrato e nitrito de sódio (Aglomerado de microcápsulas de 20 µm- a; 10 µm – b).....	107
Figura 6.3. Difrátogramas de raios X das amostras da microcápsula com (a) e sem (b) a incorporação de nitrato e nitrito.....	108
Figura 6.4. Teor de nitrito das formulações F1 e F5 durante o período de armazenamento.....	112
Figura 6.5. Análise dos Componentes Principais (ACP) das formulações de salame no 0°, 20, 40, 60, 80, 100, 120 e 135° dias de armazenamento, respectivamente.....	119

LISTA DE TABELAS

Tabela 4.1. Values of water activity (aw), moisture, protein, fat, nitrate and nitrite of formulations of Italian type Salami during storage.....	62
Tabela 4.2. Values of pH, acidity and TBARS of formulations of Italian type Salami during storage.	65
Tabela 4.3. Average score of tasters for the acceptability of formulations of Italian type Salami during storage.	67
Tabela 4.4. Pearson correlation matrix for the variables nitrite, nitrate, pH, aw, moisture, acidity, TBARS and acceptability (accep.) of salami formulations on 0, 20, 40, 60, 80, 100 e 120 th day of storage.	68
Tabela 5.1. Proporções utilizadas para a formação da microcápsula de cultura <i>starter</i> (50 ml de solução de tampão).....	77
Tabela 5.2. Variáveis de processo utilizadas no encapsulamento da cultura <i>starter</i> na secagem por <i>Spray Drying</i> com diferentes temperaturas.....	78
Tabela 5.3. Formulações utilizadas na aplicação da cultura <i>starter</i> encapsulada em salame.....	80
Tabela 5.4. Resultados de atividade de água, umidade e células viáveis para as microcápsulas de cultura <i>starter</i> submetidas à secagem em <i>spray drying</i> em temperaturas de 70, 80 e 100°C.....	85
Tabela 5.5. Atividade de água, umidade, nitrato e nitrito das formulações de Salame durante o armazenamento.....	90
Tabela 5.6. pH, acidez e TBARS das formulações de Salame durante o armazenamento.....	94
Tabela 5.7. Aceitabilidade das formulações de Salame durante o armazenamento.....	95
Tabela 5.8. Matriz de correlação (r) de Pearson para as variáveis nitrito, nitrato, pH, atividade de água (aW), umidade, acidez, aceitação, TBARS e índices de cor (L*, a*, b*) das formulações de salame (F1 – cultura livre e F4 – cultura encapsulada) no 0°, 30, 45, 60, 75, 90, 120 e 135° dias de armazenamento.....	96
Tabela 6.1. Proporções utilizadas para a formação da microcápsula de nitrato e nitrito de sódio (50 ml de solução de tampão).....	104
Tabela 6.2. Formulações utilizadas na aplicação do nitrato e nitrito encapsulado em salame.....	104

Tabela 6.3. Resultados de atividade de água e umidade para as microcápsulas de nitrato e nitrito de sódio submetido à secagem em spray drying em temperaturas de 70, 80 e 100°C.....	106
Tabela 6.4. Atividade de água, umidade, nitrato e nitrito das formulações de Salame durante o armazenamento.....	111
Tabela 6.5. pH, acidez e TBARS das formulações de Salame durante o armazenamento.....	115
Tabela 6.6. Aceitabilidade das formulações de Salame durante o armazenamento.....	116
Tabela 6.7. Matriz de correlação (r) de Pearson para as variáveis nitrito, nitrato, pH, atividade de água (aW), umidade, acidez, aceitação, TBARS e índices de cor (L*, a*, b*) das formulações de salame (F1 – sal de cura livre e F5 – sal de cura encapsulado) no 0°, 30, 45, 60, 75, 90, 120 e 135° dias de armazenamento.....	118

1. INTRODUÇÃO

A industrialização da carne suína vem para aperfeiçoar o processo produtivo, com maior variedade de produtos oriundos de uma mesma carcaça, visando agregar valor e, principalmente disponibilizando ao consumidor produtos com variações de sabores e formas (KAIPERS, 2017). A indústria alimentícia está voltada à produção de alimentos mais seguros e estáveis, garantindo maior período de armazenamento, porém sem comprometer a sua qualidade.

A carne é um alimento que possui elevado valor nutricional, porém é suscetível à deterioração por micro-organismos devido à sua atividade de água e pH favoráveis ao desenvolvimento microbiano (ZANARDI *et al.*, 2010).

A responsabilidade de produzir produtos de carne de alta qualidade, sustentáveis e econômicos cabe aos produtores, fabricantes, distribuidores e varejistas para garantir que as demandas dos consumidores sejam atendidas. Tratando-se de um produto tão perecível num mercado dinâmico, não é surpreendente que novas tecnologias estão constantemente a serem desenvolvidas e aplicadas dentro do setor de processamento de alimentos cárneos numa tentativa de melhorar certos atributos de qualidade da carne e prolongar a sua vida útil, armazenamento e estabilidade (ELKINGTON, 2004).

A produção de salames no Brasil compõe uma fatia significativa do mercado de produtos cárneos. Mudanças na busca de melhorar a qualidade, redução de custos e investimentos na tecnologia de produção, foram percebidas pelo mercado consumidor brasileiro (TERRA, 2005). Muito embora a tecnologia de processamento na indústria de carnes tenha avançado significativamente, aperfeiçoando métodos de preservação e armazenamento de produtos cárneos, a vida útil destes produtos sofre limitações significativas em função das transformações bioquímicas e microbiológicas que ocorrem nos mesmos, destacando-se, a oxidação lipídica como uma das causas mais importantes de deterioração de processamento e estocagem (BEAL *et al.*, 2011).

A oxidação lipídica, também denominada rancidez oxidativa, é uma das principais alterações que acometem as carnes e derivados, em razão da composição rica em lipídios e íons ferro, a utilização de processos como cocção e moagem, além do uso de cloreto de sódio, um reconhecido catalisador desta reação (ROCHA GARCIA *et al.*, 2002). O resultado das reações oxidativas nos alimentos é o surgimento de compostos oxigenados responsáveis pelas desagradáveis características organolépticas (GARCIA *et al.*, 2012). O desenvolvimento dos

processos oxidativos pode ser inibido por meio de alternativas como embalagens, utilizando vácuo ou atmosfera modificada, e o uso de substâncias antioxidantes (GARCIA *et al.*, 2012).

Produtos com alto teor de gordura, como produtos de carne processada, são mais suscetíveis a reações em cadeia oxidativa, que podem resultar em odores e sabores indesejáveis, bem como perda de nutrientes (HYGREEVA *et al.*, 2014). Consequentemente, é necessário contar com antioxidantes para prolongar a vida útil e preservar a qualidade do produto (OSWELL *et al.*, 2018). Em produtos cárneos, os antioxidantes são amplamente utilizados para prevenir oxidação e preservar os atributos sensoriais (RIBEIRO *et al.*, 2019). No entanto, devido às preocupações com a saúde, sobre a incorporação de aditivos sintéticos em alimentos, tem sido considerável o interesse em desenvolver ingredientes naturais e sistemas de ingredientes que podem ser empregados para substituir os antioxidantes sintéticos (OSWELL *et al.*, 2018). Nesse contexto, o uso de antioxidantes naturais em produtos cárneos surge como uma boa opção para reduzir o consumo de aditivos sintéticos, visto que são amplamente consumidos pela população em geral sem apresentar sinais de baixa toxicidade, além de realizar atividades benéficas à saúde humana (QI *et al.*, 2015).

A cor, o sabor e odor originais dos alimentos são geralmente os mais afetados pelos métodos tradicionais de processamento. Com isso, se torna necessário implantar métodos que preservam estas características, além de deixar componentes nutricionais mais bio-acessíveis (RIBERO, 2015). Uma maneira encontrada é a utilização de antioxidantes naturais e a microencapsulação.

A microencapsulação possui aplicabilidade em diferentes áreas, como farmacêutica, cosmética e agrotóxica, sendo também aplicada na área alimentícia, permitindo o desenvolvimento de produtos de grande interesse mercadológico e viabilidade econômica (PEREIRA *et al.*, 2018). A encapsulação de micro-organismos vem se destacando. Os micro-organismos vêm sendo microencapsulados para uso em alimentos (OLIVEIRA *et al.*, 2007). Segundo Jyothi *et al.* (2012), no processo de microencapsulação, pequenas partículas, denominadas núcleo ou princípio ativo, são rodeadas por um revestimento, ou encapsulante, formando pequenas cápsulas, cuja estrutura é relativamente simples, consistindo em uma pequena esfera com uma parede uniforme em torno dela.

A microencapsulação vem sendo aplicada com sucesso na proteção de substâncias sensíveis à temperatura, oxidação, umidade e reações indesejáveis, permitindo que os produtos microencapsulados tenham melhor potencial de uso (SILVA *et al.*, 2014). Uma das grandes vantagens da tecnologia de microencapsulação é a liberação controlada, cuja técnica permite ampliar a gama de aplicações de ingredientes em alimentos, sendo considerada não

apenas um adicional, mas também uma fonte de novos ingredientes com propriedades incomparáveis (PEREIRA *et al.*, 2018).

Assim, o uso de condimentos encapsulados em vez de condimentos livres pode efetivamente aliviar essas alterações, como oxidação lipídica e alterações organolépticas. De fato, é de conhecimento que o principal objetivo do encapsulamento é proteger o material encapsulado de condições ambientes diversas, como efeitos indesejáveis da luz, umidade e oxigênio. Além disso, os pós fornecem uma liberação controlada do material encapsulado no produto final, contribuindo para um aumento na vida útil dos produtos alimentícios (JYOTHI *et al.*, 2010).

Neste contexto, o presente trabalho tem como objetivo avaliar os efeitos da adição de antioxidantes naturais em salame, bem como características físico-químicas, microbiológicas e sensoriais durante o armazenamento. Produzir e avaliar os efeitos da adição de microcápsulas de cultura *starter* e sais de cura (nitrato e nitrito de sódio) em salame, bem como avaliar suas características físico-químicas e sensoriais durante a vida útil.

Esta tese de doutorado está estruturada em capítulos, sendo que os resultados obtidos estão divididos em três artigos (capítulo 4, 5 e 6). O capítulo 4 está escrito na língua inglesa, sendo este o artigo o qual já foi submetido a uma revista científica. A estrutura do trabalho segue a seguinte forma:

- Capítulo 1: Introdução do trabalho, apontando as justificativas do estudo.
- Capítulo 2: Objetivos, geral e específicos.
- Capítulo 3: Revisão Bibliográfica a respeito da produção de salame, alterações em produtos cárneos e a microencapsulação.
- Capítulo 4: Natural antioxidants in processing and storage stability of italian Type salami.
- Capítulo 5: Encapsulamento de cultura *starter* por *spray drying* e sua aplicação em salame.
- Capítulo 6: Encapsulamento de sal de cura (nitrato e nitrito) por *spray drying* e sua aplicação em salame.
- Capítulo 7: Conclusões e sugestões para trabalhos futuros.

1.1 Referências bibliográficas

- BEAL, P., FAION, A. M., CICHOSKI, A. J., CANSIAN, R. L., VALDUGA, A. T., DE OLIVEIRA, D., VALDUGA, E. Oxidative stability of fermented Italian-type sausages using mate leaves (*Ilexparaguariensis* St. Hil) extract as natural antioxidant. **International Journal of Food Sciences and Nutrition**, 62, 703 – 710, 2011.
- BORBA, H.; SCATOLINI-SILVA, A. M.; GIAMPIETRO-GANECO, A.; BOIAGO, M. M.; SOUZA, P. A. Características físico-químicas e sensoriais de embutido fresco de aves de descarte preparado com diferentes antioxidantes naturais. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, Salvador, v.13, n.2, 360-370, 2012.
- ELKINGTON, J. Enter the triple bottom line. **The Triple Bottom Line: Does It All Add Up**, 11(12), 1–16, 2004.
- GARCIA, C. E. R.; BOLOGNESI, V. J.; DIAS, J. F. G.; MIGUEL, O. G.; COSTA, C. K. Carotenoides bixina e norbixina extraídos do urucum (*Bixa orellana* L.) como antioxidantes em produtos cárneos. **Revista Ciência Rural**, Santa Maria, v. 42, n.8, 1510-1517, 2012.
- HYGREEVA, D.; PANDEY, M. C.; RADHAKRISHNA. Potential applications of plant based derivatives as fat replacers, antioxidants and antimicrobials in fresh and processed meat products. **Meat Science**, v. 98, 47- 57, 2014.
- KAIPERS, K. F. C. Efeito do extrato de alecrim (*rosmarinus officinalis*) como antioxidante em linguiça colonial. **Dissertação** (Mestrado em Tecnologia de Alimentos), Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Londrina, 2017.
- JYOTHI, N. V. N.; PRASANNA, P. M.; SAKARKAR, S. N.; PRABHA, K. S.; RAMAIAH, P. S.; SRAWAN G. Y. Microencapsulation techniques, factors influencing encapsulation efficiency. **Journal of Microencapsulation**, 27 (3), 187-197, 2010.
- JYOTHI, S. S.; SEETHADEVI, A.; PRABHA, K. S.; MUTHPRASANNA, P.; PAVITRA, P. Microencapsulation: a review. **International Journal of Pharma and Bio Sciences**, v. 3, 509-531, 2012
- OLIVERA, A. C.; MORETTI, T. S.; BOSCHINI, J. C.; BALIERO, C. C.; FREITAS, L. A. P.; FREITAS O.; FAVARO-TRINDADE, C. S. Microencapsulation of *B. lactis* (BI 01) and *L. acidophilus* (LAC 4) by Complex Coacervation Followed by Spouted-Bed Drying. **Drying Technology**, 25 (10), 1687-1693, 2007.
- OSWELL, N. J., THIPPAREDDI, H., PEGG, R. B. Practical use of natural antioxidants in meat products in the U.S.: A review. **Meat Science**, 145, 469 – 479, 2018.
- PEREIRA, K. C.; FERREIRA, D. C. M.; ALVARENGA, G. F.; PEREIRA, M. S. S.; BARCELOS, M. C. S.; COSTA, J. M. G. Microencapsulation and release controlled by the diffusion of food ingredients produced by spray drying: a review. **Food Technology**, 21, e2017083, 2018.
- QI, S.; HUANG, H.; HUANG, J.; WANG, Q.; WEI, Q. Lychee (*Litchi chinensis*Sonn.) seed water extract as potential antioxidant and anti-obese natural additive in meat products. **Food Control**, 50, 195–201, 2015.
- ROCHA GARCIA, C.E. YOUSSEF, E.Y.; OLIVO, R.; SHIMOKOMAKI, M. Antioxidantes utilizados na indústria cárnea: quais são os aditivos inibidores da rancidez nos produtos cárneos. **Revista Nacional da Carne**, v.26, n.299, 36-51, 2002.

- RIBEIRO, A. C. Efeito da adição de óleo essencial de pimenta (*Schinusterebinthifolius Raddi*) microencapsulado em queijo minas frescal. 2015. 86 f. **Dissertação** (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos), Universidade Federal do Espírito Santo, Alegre, 2015.
- RIBEIRO, J. S., SANTOS, M. J. M. C., SILVA, L. K. R., PEREIRA, L. C. L., SANTOS, I. A., LANNES, S. C. S., SILVA, M. V. Natural antioxidants used in meat products: A brief review. **Meat Science**, 148, 181 – 188, 2019.
- SELANI, M.M. SILVA, T.Z.; PACKER, V.G.; CONTRERAS-CASTILLO, C.J. Antioxidantes naturais em produtos cárneos. **Revista Nacional da Carne**. 33 (386), 70-79. Abril, 2009.
- SILVA, P. T. Microcápsulas Probióticas Aplicadas à Produção de Salame Tipo Italiano. **Tese de Doutorado**. Programação de Pós Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos. Universidade de Santa Maria (UFSM, RS), Santa Maria, 2014.
- SILVA, P.T.; FRIES, L. L. M; MENEZES, C. R.; HOLKEM, A. T.; SCHWAN, C. L.; WIGMANN, E. F; BASTOS, J. O.; SILVA, C. B. Microencapsulation: concepts, mechanisms, methods and some applications in food technology. **Ciência Rural**, Santa Maria, 44 (7), 1304-1311, July, 2014.
- SUMMO, C.; CAPONIO, F.; PASQUALONE, A. Effect of vacuum-packaging storage on the quality level of ripened sausages. **Meat Science**, 74 (2), 249-254, 2006.
- TERRA, N. Particularidades na fabricação do salame. **Revista Nacional da Carne**, São Paulo, n.341, 12 -18, 13º Catálogo, 2005.
- ZANARDI, E.; GHIDINI, S.; CONTER, M.; IANIERI, A. Mineral composition of Italian salami and effect of NaCl partial replacement on compositional, physico-chemical and sensory parameters, **Meat Science**, 86 (3), 742-747, 2010.

2. OBJETIVOS

2.1. Geral

O objetivo deste trabalho é avaliar características tecnológicas de salame adicionando antioxidantes naturais e o desenvolvimento de microcápsulas de cultura *starter* e sais de cura (nitrato e nitrito de sódio) e sua aplicação, visando o aumento da vida útil.

2.2. Específicos

Os objetivos específicos/metast são assim delineados:

- a) Elaborar diferentes formulações de salame com a adição de antioxidante natural (chá verde) variando a sua concentração para definição da melhor formulação a ser estudada;
- b) Caracterização físico-química (pH, atividade de água (aw), nitrato e nitrito, umidade, proteína, gordura, oxidação de lipídios (TBARS) e acidez), microbiológica (coliformes termotolerante, *Staphylococcus coagulase* positivo, *Salmonella* spp., *Listeria monocytogenes*) e sensorial das formulações elaboradas durante o armazenamento;
- c) Produzir microcápsulas de cultura *starter* e sais de cura (nitrato e nitrito de sódio) e avaliar durante o armazenamento as características físico-químicas (pH, atividade de água (aw), nitrato e nitrito, cor, umidade e sensoriais das formulações;
- d) Definir parâmetros operacionais de secagem para a cultura *strater* e sais de cura (nitrato e nitrito de sódio) por atomização (*spray drying*);
- e) Caracterizar morfológicamente e termicamente as microcápsulas formadas;
- f) Verificar as características sensoriais e físico-químicas como: pH, atividade de água (aw), umidade, oxidação lipídica (TBARS), acidez, residual de nitrito e nitrato de sódio e cor após a aplicação das microcápsulas de cultura *starter* e de nitrato e nitrito de sódio no produto durante a vida útil.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Neste capítulo é apresentada a revisão de literatura sobre a elaboração de salames, legislação brasileira em vigor, fatores que afetam a maturação, emprego de antioxidantes sintéticos e naturais, algumas alterações que ocorrem em produtos cárneos (oxidação de lipídeos e proteínas, cor, microbiológicas e sensoriais), bem como tecnologias alternativas de conservação de produtos cárneos durante a vida útil, como, por exemplo, a microencapsulação da cultura *starter* e do nitrato e nitrito de sódio.

3.1. Salame

Entende-se por salame, o produto cárneo industrializado, elaborado de carne suína ou mistura de carne suína e bovina, toucinho, com granulometria média entre 6 e 9 mm, embutido em envoltórios naturais ou artificiais, adicionado de ingredientes, curado, defumado ou não, fermentado, maturado e dessecado por tempo indicado pelo processo de fabricação (BRASIL, 2000).

Os embutidos fermentados, como os salames, são caracterizados pelas suas propriedades organolépticas, nutricionais, químicas e microbiológicas. Dois fatores básicos tornam este produto diferente dos demais embutidos: baixo teor de umidade e presença de ácido láctico, o que lhe confere sabor característico (SCHEIDT *et al.*, 2009).

Internacionalmente, os salames são classificados em dois grandes grupos de acordo com a tecnologia de fabricação e o pH final do produto. Os salames do norte da Europa são elaborados com carne bovina e suína, submetidos à fermentação de curta duração e rápida redução de pH. Os salames do sul da Europa ou Mediterrâneo apresentam em sua formulação, predominantemente, carne suína, a fermentação é longa, os valores de pH são sempre superiores a 5,0, características que, juntamente com a adição de especiarias, conferem ao produto aroma e sabor diferenciados (ROSELINO, 2016). A origem de embutidos crus fermentados no Brasil, como salame, tem seu início com a colonização de imigrantes alemães e italianos, principalmente na região sul do país, onde a industrialização desses produtos constitui um importante segmento da indústria de derivados cárneos (TERRA; FRIES; TERRA, 2004).

De acordo com o Ministério da Agricultura, Pecuária e do Abastecimento, Instrução Normativa 22, de 31 de julho de 2000, fixa a identidade e as características mínimas de qualidade que deverá obedecer o produto cárneo denominado Salame, determinando que os

salames devem ser constituídos dos seguintes ingredientes obrigatórios: carne suína (mínimo de 60%), toucinho, sal, nitrito e/ou nitrato de sódio e/ou potássio. Ainda, como ingredientes opcionais podem ser adicionados ao produto cárneo: carne bovina, leite em pó, açúcares, maltodextrina, proteína animal (proteínas lácteas, colágeno e outras), aditivos intencionais, vinho, condimentos, aromas e especiarias, substâncias glaceantes (revestimento externo) e coadjuvantes de tecnologia, cultivos iniciadores (*starters*). As características físico-químicas do produto poderão apresentar: atividade de água (a_w) (máx): 0,92, umidade (máx): 40%, gordura (máx): 35%, proteína (mín): 20%, carboidratos totais (máx): 4,0% (BRASIL, 2000).

Quanto à qualidade microbiológica, o processamento do salame requer cuidados especiais, desde a matéria-prima até a armazenagem e consumo (SAWITZKI, 2007). Com a finalidade de evitar riscos à saúde do consumidor, a legislação brasileira, estabelece padrões microbiológicos sanitários para produtos cárneos maturados, dessecados (presuntos crus, copas, salames, linguiças dessecadas, charque e *jerked beef*) devem estar em acordo com os seguintes padrões: Coliformes a 45°C, a tolerância para a amostra indicativa e para cada uma das duas amostras em cinco amostras analisadas é de 10^3 UFC/g; *Staphylococcus* coagulase positiva, a tolerância para a amostra indicativa é para uma amostra em cinco amostras analisadas é de 10^2 UFC/g; *Salmonella* sp. deve estar ausente tanto na amostra indicativa quanto nas cinco amostras analisadas (BRASIL, 2019).

O salame é um produto cárneo de elaboração tecnológica bem difundida, apresentando características sensoriais peculiares em termos de sabor, odor e textura (SAVOLDI *et al.*, 2019). Dentre as diversas características sensoriais do salame, o aroma e a cor constituem fatores decisivos no momento da aquisição do produto por parte do consumidor (MARCHESI *et al.*, 2006).

3.2. Produção de Salames

Salames são embutidos fermentados produzidos principalmente com carne suína e gordura, com a adição de sal, agentes de cura (nitrato e/ou nitrito), especiarias, açúcares e, eventualmente, as culturas. A fabricação de salame é altamente complexa, pois além de parâmetros do produto, vários fatores externos afetam as características do produto final. Temperatura, umidade relativa, velocidade do ar na fermentação e maturação, bem como tempo de maturação, determinação da queda do pH e atividade de água (a_w) do salame, afetando cor, sabor, aroma e textura (FEINER, 2006). Sua produção é frequentemente

conduzida em três etapas: formulação, fermentação e maturação/secagem (CAVALHEIRO *et al.*, 2010).

O preparo da massa consiste na moagem da matéria-prima e do toucinho até a granulometria que se deseja e a mistura dos demais ingredientes da formulação. Segundo Cence *et al.*, (2019) o pH das carnes utilizadas não deverá exceder 5,8, estando preferencialmente situado entre 5,4 e 5,8. A moagem do toucinho com temperatura elevada faz com que parte da gordura se emulsione, causando a formação de uma pseudo-emulsão que irá se colocar entre a massa e a tripa, dificultando a desidratação. Após a moagem, a matéria-prima é misturada com os demais ingredientes e é embutida em tripas (naturais ou artificiais) de diâmetro variável. Durante o embutimento, é muito importante retirar o oxigênio da massa cárnea, já que este interfere no desenvolvimento da cor e do sabor do produto final (CAMPAGNOL *et al.*, 2007). O produto é levado à câmara de maturação logo após o embutimento, onde se controla a temperatura e a umidade relativa, sendo estes, dois parâmetros importantes para se obter uma fermentação adequada. (CAMPAGNOL *et al.*, 2007).

A fabricação do salame se dá em duas fases: na primeira, há a fermentação com a ocorrência simultânea de acidificação e formação da cor; a segunda fase consiste na desidratação como decorrência da fermentação. Ao final deste período, o salame tipo Italiano deverá apresentar pH de 5,2 a 5,4 e atividade de água de 0,87, caracterizando o final do processo. Ambas as fases acima ocorrem em câmara de maturação com um controle de temperatura e umidade relativa (TERRA, 2005).

O processo fermentativo ocupa posição de alta relevância na fabricação de salame, pois contribui diretamente para geração de cor, sabor, aroma, textura e vida útil (TERRA, 1998; CENCE *et al.*, 2019).

A fermentação é fase crucial no processo de cura dos embutidos, constituindo o estágio em que a maioria das transformações físicas, bioquímicas e microbiológicas ocorre, estas são influenciadas pela matéria-prima e processo, e estão presentes nas propriedades organolépticas do produto final (TERRA; FRIES; TERRA, 2004; FIEIRA, 2014). É uma das mais antigas tecnologias utilizadas para conservação dos alimentos. Entretanto, a fermentação descontrolada pode produzir produtos inferiores ou mesmo inseguros para o consumo (ESSID *et al.*, 2007). A fermentação é considerada por muitos autores (SCHEIDT *et al.*, 2009) como a etapa mais importante do processamento do salame. Durante essa fase, ocorre a produção de ácido láctico e, conseqüentemente, o abaixamento do pH do embutido, que contribui

diretamente sobre o sabor levemente picante, a textura típica e a conservação do produto final (GARCIA *et al.*, 2000).

A fermentação pode ser natural ou iniciada com a adição de culturas, conhecidas como *starters* (GARCIA *et al.*, 2000). O uso de *starters* na fabricação de salame contribui para a redução do tempo de fabricação, confere melhor cor, aroma e sabor ao produto final, reduz a contaminação microbiológica com consequente aumento da vida útil do produto (TERRA, 1990; GARCIA *et al.*, 2000).

A maturação é muito importante para a produção de salames, uma vez que tem uma influência primária sobre as características físicas, químicas e microbiológicas dos produtos finais de carne de suína fermentada. Algumas das principais normas de qualidade e segurança, como a perda de peso do produto, a uniformidade do tempero, a presença de fissuras internas, bem como as transformações químicas e microbiológicas, podem estar relacionadas com a forma que a fase de amadurecimento é realizada e controlada. A perda de água é um aspecto crucial na maturação, pois é responsável pela redução de atividade de água, que determina limitações ao crescimento de muitos micro-organismos patogênicos e de deteriorantes (GRASSI; MONTANARI, 2005).

Durante a secagem, os embutidos perdem de 30% a 40% de seu peso inicial, sendo importante que a perda de umidade seja gradual, a fim de evitar a formação de rugosidade, ressecamento excessivo da casca e desprendimento da tripa. A crosta ressecada no produto impede a saída de água de seu interior, tornando o embutido muito "macio" principalmente aqueles com maior calibre, podendo causar prejuízo à sua conservação (SCHMITT, 2017). Caso as condições de secagem do embutido forem muito drásticas, ocorrerá formação de uma crosta seca na superfície que contribuirá para a manutenção da umidade no interior do produto, causando problemas de conservação devido à alta atividade de água da porção central do salame (MATTEI, 2014).

Segundo Campagnol (2007), os embutidos fermentados podem ser classificados em secos e semi-secos. Os embutidos semi-secos diferem dos secos por possuírem sabor mais picante, textura mais branda e menos rugosa, contendo aproximadamente 50% de água enquanto que os secos possuem 35% de umidade permanecendo em maturação por 10 a 100 dias.

3.3. Matérias-primas, Aditivos e Coadjuvantes utilizados na formulação de Salame

3.3.1. Matérias-primas

Normalmente, as carnes utilizadas na elaboração de embutidos fermentados são provenientes de suínos e bovinos (BEAL *et al.*, 2011). A carne suína (mínimo 60%) e a carne bovina a serem usadas devem obedecer as características gerais ideais para o produto como grau de maturação, pH, cor e capacidade de retenção de água (RITTER, 2016). Não é fácil padronizar a composição química da carne, já que existem muitas diferenças devido a fatores como a espécie, a raça, o sexo, a idade, o tipo de alimentação e o corte analisado. Os componentes majoritários da carne são a água (65 a 80 %), proteínas (16 a 22 %), gordura (3 a 13 %) (DALLA SANTA, 2008).

É necessário utilizar carne maturada com pH entre 5,5 e 5,7, para reduzir os defeitos de fabricação e dificultar a ação de bactérias que se desenvolvem em maiores valores de pH. O valor inicial de pH de 5,6 fica próximo ao ponto isoelétrico das proteínas, sendo o ponto em que a capacidade de retenção de água é mínima, liberando maior quantidade de solução hidroproteica durante a fragmentação (RITTER, 2016).

As características finais peculiares como sabor, cor e textura dos salames dependem também do tipo e da qualidade da carne utilizada. Cabe ressaltar que as condições de transporte e o manejo antes do abate, podem interferir na qualidade da carne e consequentemente, nas características finais do produto (DALLA SANTA, 2008). A qualidade microbiológica das matérias-primas a serem utilizadas na produção de salames é de suma importância.

3.3.2. Gordura

Entre os componentes básicos da carne, o mais variável, tanto do ponto de vista quantitativo como qualitativo é a gordura. A gordura se acumula principalmente em cavidade corporal, região subcutânea e inter e intramuscular. Além do papel fisiológico, a distribuição de gordura e o conteúdo relativo a vários ácidos graxos têm importância em relação a fatores relacionados com a palatabilidade (GUEVARA, 2014).

A gordura desempenha um papel importante na manutenção da qualidade dos embutidos fermentados, especialmente referentes à textura, suculência e sabor que ocorre devido ao alto teor de ácidos graxos saturados (FIEIRA, 2014).

As características da gordura utilizada são fundamentais para a qualidade final do produto, pois contribuem significativamente para o estabelecimento da estrutura e características organolépticas do salame. A rancificação das gorduras leva a formação de compostos que produzem alterações no *flavor* do produto, conferindo sabor típico de ranço e escurecimento dos salames (BEAL *et al.*, 2011). A rancificação também pode provocar o escurecimento dos salames (TERRA, 1998; DALLA SANTA, 2008). Além disso, a qualidade microbiológica final dos salames é fortemente influenciada pelas condições microbiológicas do toucinho, já que este não sofre ação significativa da fermentação (BEAL *et al.*, 2011). É importante a utilização de toucinho fresco e refrigerado ou congelado, a fim de reduzir as reações oxidativas dos lipídios, para a conservação do embutido (FIEIRA, 2014).

As gorduras presentes nas matérias-primas utilizadas na fabricação de salames, além da importante função tecnológica de contribuir com a formação das características finais, também podem determinar a vida útil do produto.

Segundo Dalla Santa (2008) além da diminuição da vida útil, a oxidação lipídica leva a formação de substâncias prejudiciais à saúde, como o malonaldeído capaz de causar mutações e câncer.

3.3.3. Sal

O cloreto de sódio desempenha quatro funções no embutido: dissolve-se na água para formar a salmoura, que atua no retardo do crescimento microbiano; solubiliza proteínas miofibrilares, facilitando a emulsificação das gorduras; aumenta a capacidade de retenção de água; contribui para o gosto característico, além do *flavor* cárneo natural (TERRA; FRIES; TERRA, 2004; RITTER, 2016).

Na elaboração da massa que vai ser empregada na fabricação do salame tipo italiano, adiciona-se entre 1,5 e 3,0% de NaCl (cloreto de sódio). Embutida a massa, leva-se à câmara de maturação, onde permanece durante 30 a 40 dias, ocorrendo nesse período desidratação e aumento da concentração do NaCl, que atinge valores entre 2,5 e 5,0%. Esta concentração de NaCl, somada ao baixo valor de atividade de água e ao pH ácido, assegura a estabilidade dos salames fabricados, permitindo sua conservação em temperatura ambiente (CICHOSKI *et al.*, 2009). O sal constitui ingrediente essencial, no desenvolvimento de propriedades funcionais e sensoriais. Em produtos cárneos, controla a textura, interferindo nas ligações da água com as proteínas miofibrilares, confere sabor, estabiliza a cor e protege contra o desenvolvimento microbiano (INSUMOS, 2013).

O sal também pode ter efeitos oxidativos indesejáveis nos produtos cárneos (TERRA; FRIES; TERRA, 2004), pois exerce efeito acelerador da oxidação da gordura. As carnes curadas acabam ficando mais sujeitas a rancidez oxidativa, e isto se deve ao fato do sal acelerar a ação da lipoxidase presente no músculo. A defumação reduz este efeito pela ação de antioxidantes fenólicos presentes na composição da fumaça (LAWRIE, 2005; RITTER, 2016).

Em concentração adequada, o sal inibe o crescimento microbiano devido ao aumento da pressão osmótica no alimento, reduzindo consequentemente a atividade de água. O sal em baixas concentrações faz a carne inchar e reter água, mas em altas concentrações, as proteínas são precipitadas e retém menos água (PARDI *et al.*, 2001; DEGENHARDT, 2006). Para Degenhardt (2006), o sal desempenha um papel importante na textura e aroma dos produtos cárneos reestruturados, possivelmente isto é devido ao fato de que o sal facilita a solubilização das proteínas miofibrilares e atua como um pró-oxidante nos sistemas cárneos, ativando componentes que aceleram a auto-oxidação dos lipídeos e interagindo com os tecidos da carne produzindo compostos aromáticos desejáveis.

3.3.4. Sais de Cura

O uso de nitratos e nitritos de sódio ou potássio tem a finalidade de desenvolver a cor característica da carne curada, agir como bacteriostático em meio ácido, contribuir para o desenvolvimento do aroma característico da carne curada e retardar o desenvolvimento da rancificação (ORDÓÑEZ *et al.*, 2005). Os efeitos adversos são representados principalmente pela metamioglobina tóxica e pela formação de nitrosaminas (BAÚ *et al.*, 2012). Níveis de nitrito entre 20 e 50ppm exercem ação antioxidante, enquanto que níveis entre 80 e 150ppm exercem ação conservante em produtos cárneos (TERRA *et al.*, 2008).

Os sais mais utilizados são o nitrato de sódio (NaNO_3) e o nitrito de sódio (NaNO_2). Nitrito é o agente ativo na cura e todas as reações têm algum tipo de relação com a química do nitrito. Entretanto, para produtos cárneos secos curados ou fermentados, o nitrato é requerido ao longo do processo de secagem para gradativamente gerar nitrito pelas bactérias nitrato redutoras (RITTER, 2016). Além da cura, utilizam-se nitrato e nitrito para o controle de vários micro-organismos patogênicos e deteriorantes. Dentre os patogênicos, cita-se *Clostridium botulinum*, em razão de causar o botulismo, considerada a mais séria das intoxicações alimentares (CDC, 2016).

As principais funções do nitrito nas carnes curadas é a formação da cor rosa avermelhada e sabor característico associado com carnes curadas, melhoramento da textura. Contribui para o desenvolvimento do *flavor*; além de servir como um antioxidante eficaz e agente antimicrobiano por si só, ou, em combinação com outros ingredientes. O nitrato pode ser reduzido a nitrito para executar a mesma função (SINDELAR; MILKOWSKI, 2011). Portanto, o nitrato presente naturalmente ou artificialmente e adicionado em soluções de cura deve ser convertido em nitrito pela microbiota da carne ou pela adição de bactérias que possuem atividade nitrato redutora (SEBRANEK; BACUS, 2007).

O nitrito age como outro obstáculo contra o crescimento de micro-organismos patogênicos que possam estar presentes na matéria-prima, principalmente contra o *Clostridium botulinum* (GIRARD, 1991; BEAL *et al.*, 2011). Ele pode ser adicionado diretamente ou pode ser obtido através da redução do nitrato, promovida pela ação de bactérias redutoras. A cor rósea é obtida devido à formação do pigmento nitrosomioglobina com o óxido nítrico proveniente da redução de nitrito (BEAL *et al.*, 2011). Entretanto, a adição excessiva de nitrito pode causar escurecimento da carne, promovendo a oxidação da mioglobina, que leva à formação da metamioglobina, substância que ocasiona o esverdeamento do produto (AGUIAR *et al.*, 2006).

A atividade antimicrobiana do nitrito sobre o *Clostridium botulinum* ocorre não pela inibição do processo de conversão de esporo em célula vegetativa (que sintetiza a toxina botulínica), mas sim pela inibição da divisão posterior das células vegetativas para formar colônias. Para a geração de cor, a adição de 10 a 50 ppm de nitrito é suficiente, porém para inibição de micro-organismos indesejáveis necessita-se de 150 a 200 ppm. O uso de quantidade mínima de 125 ppm de nitrito é recomendado para o efetivo controle de *Salmonella* no salame (RECH, 2010).

O nitrato não possui atividade antioxidante, mas torna-se funcional quando da sua redução para nitrito, atuando como reservatório de nitrito (TERRA; FRIES; TERRA, 2004). O nitrato atua como fonte de nitrito, permitindo que a carne mantenha um nível de nitrito eficaz para sua conservação. O nitrato é reduzido a nitrito mediante um processo bacteriano, mas para que a quantidade reduzida seja significativa, é necessário um número de bactérias razoavelmente alto, que pode ser prejudicial aos produtos cárneos curados e dificilmente sabe-se da quantidade de nitrito que pode formar-se. A tolerância ao nitrito varia amplamente entre diferentes grupos de bactérias, existindo diversas explicações das propriedades bacteriostáticas do nitrito (ORDÓÑEZ, 2005).

Segundo Brasil (2000), a legislação brasileira vigente prevê limites máximos de 0,015g/100g (150 ppm) e 0,03g/100g (300 ppm) respectivamente, para nitrito e nitrato de sódio para carnes e produtos cárneos, denominando estes produtos como conservantes. A concentração necessária para ocorrência dos diversos efeitos quando de seu emprego em produtos cárneos varia entre 30 e 50 ppm para o desenvolvimento de cor, entre 20 e 40 ppm para desenvolvimento de aroma, entre 80 e 150 ppm para o efeito conservante (TERRA *et al.*, 2006).

3.3.5. Açúcares

Os açúcares contribuem para melhorar o aroma da carne curada e servem de substrato para a produção de ácidos pelos micro-organismos presentes na carne ou pelas culturas adicionadas (CAMPAGNOL *et al.*, 2007). A variedade e a quantidade de carboidratos adicionados são importantes, pois determinam a velocidade da multiplicação das bactérias lácticas, já que quanto maior o peso molecular, menor será a velocidade da fermentação. A presença de açúcar cria condições redutoras durante o processo de cura, o que previne o desenvolvimento de aromas de oxidação (BEAL *et al.*, 2011).

O teor de glicose da carne bovina e da carne suína *in natura* é da ordem de 4,5 e 7 $\mu\text{mol/g}$, respectivamente, e seu uso como substrato para a produção de ácido láctico no salame não seria suficiente para gerar uma redução significativa do pH no embutido. Dessa forma, a acidez dos embutidos cárneos fermentados deve ser obtida com a adição de carboidratos fermentescíveis à massa dos produtos (DARDENGO, 2010).

3.3.6. Condimentos e Especiarias

Os condimentos mais utilizados são a pimenta branca e a pimenta preta e em menor quantidade a noz moscada e o alho. Nos últimos anos, visando melhorar o sabor e o aroma dos embutidos de fermentação rápida, também são utilizados alguns preparados aromáticos que conferem a esses produtos sabor de fundo equilibrado com notas curadas, os quais se assemelham ao sabor e ao aroma dos embutidos fermentados tradicionais (DARDENGO, 2010). Esses temperos e outros condimentos adicionados aos salames interferem diretamente ou pela regulação de reação autooxidativas no *flavor* e odor (FLORES *et al.*, 2004).

Além de contribuir com a formação de algumas características sensoriais dos salames, os condimentos também podem interferir no desenvolvimento dos micro-organismos. Alguns óleos essenciais presentes em condimentos impedem o desenvolvimento de micro-organismos deteriorantes e patogênicos. Por outro lado, outros condimentos, como o cravo da Índia e a noz moscada, podem favorecer o desenvolvimento das bactérias lácticas nos salames, aumentando a concentração de ácidos orgânicos no produto final, e consequentemente reduzindo a presença de alguns patógenos como a *Listeria monocytogenes* (SCHEIDT *et al.*, 2003).

3.3.7. Cultura Starter

As culturas *starters* são adicionadas a produtos cárneos para assegurar melhor confiabilidade ao produto em termos de saúde pública, com menor tempo de fermentação, e para obter um produto final de qualidade, com textura, aroma e sabor constante e aumentar a vida útil (BIASI *et al.*, 2007). Entre os fatores mais importantes que determinam as características e a qualidade de embutidos fermentados são a escolha da cultura *starter* e as condições ambientais que caracterizam a fermentação e maturação (TABANELLI *et al.*, 2012).

Inicialmente a fermentação era o resultado da ação dos micro-organismos contaminantes existentes na formulação sobre os açúcares, hoje há a utilização de culturas puras. O uso de culturas *starters* torna-se essencial para garantir a segurança do alimento, para refinar o sabor, aroma e textura, e também reduzir o tempo de processamento e consequentemente redução de custo (TERRA, 2003; IACUMIN *et al.*, 2006). Duas categorias de micro-organismos são comumente utilizadas como culturas *starters*, ou seja, as bactérias ácido lácticas que promovem a segurança e estabilidade do produto e *Staphylococcus coagulase negativa* responsáveis por estabilizar a cor, prevenir a rancificação e realçar compostos aromáticos dos produtos cárneos (DROSINOS *et al.*, 2005).

Segundo Dalla Santa (2008), vários critérios específicos devem ser considerados para seleção de culturas *starters* na aplicação em alimentos, dentre os quais estão às características da matéria-prima, a tecnologia a ser aplicada para a produção, à atividade metabólica e as características desejadas no produto final. Dessa forma, as características fisiológicas e bioquímicas dos micro-organismos, além de serem utilizadas para caracterizar as espécies, também são usadas como ferramenta para selecionar e classificar grupos de micro-organismos com potencial para uso industrial.

A cultura *starter* deve apresentar características ideais para sua utilização na fabricação de embutidos tais como: halotolerância, elevada velocidade de crescimento, temperatura ótima de crescimento em torno de 32°C, ser homofermentativa, não proteolítica, não lipolítica, não patogênica, não tóxica e não deve produzir sabores desagradáveis. A quantidade a ser adicionada à massa cárnea é de extrema importância, pois o número de micro-organismos do *starter* deve superar em dois ciclos logarítmicos o número de micro-organismos das carnes utilizadas como matéria prima (BIASI, 2010).

Durante a elaboração de embutidos fermentados, os micro-organismos desempenham papel decisivo. Sendo que a função das bactérias lácticas na fermentação de carnes é a rápida produção de ácido láctico, o que provoca a redução do pH inibindo a ação de micro-organismos patogênicos e aumentando a vida útil do produto processado. Outra função destas bactérias é a produção de *flavor* diferenciado e a desnaturação das proteínas (BUCKENHÜSKES, 1993; CARIONI *et al.*, 2001).

Além das culturas *starter* bacterianas, também são usadas culturas fúngicas *starter*, as quais devem prevenir a presença de fungos filamentosos indesejáveis, que possam produzir micotoxinas ou antibióticos, e permitir a obtenção de um produto mais uniforme com relação ao sabor, aroma e cor. Para tanto, a cultura deve ser bem adaptada ao meio cárneo e ser um bom competidor, já que um grande número de diferentes mofos tem sido capazes de colonizar a superfície dos embutidos (CASTRO *et al.*, 2000).

3.3.8. Antioxidantes

Antioxidantes são substâncias que retardam ou impedem danos proporcionados pela oxidação, como a rancificação e formação de *off-flavors* em alimentos, mesmo que presente em pequenas concentrações quando comparado com o agente oxidante (GUPTA, 2015).

Conforme Dalla Santa (2008), os antioxidantes são substâncias capazes de sequestrar ou impedir a formação de radicais livres. O mecanismo de ação dos antioxidantes está bem elucidado, sendo necessário que ele iniba a formação de radicais livres na iniciação da cadeia de oxidação ou interrompa sua propagação.

Os antioxidantes não podem reverter processos oxidativos, ou, impedir rancidez hidrolítica, apenas retardá-la (SARMENTO, 2002). Para ser empregado em alimentos, o antioxidante deve atender aos seguintes requisitos: ser compatível com o substrato; não conferir odor ou sabores estranhos ao produto; ser efetivo durante o período de estocagem do

produto alimentício; ser estável ao processo de aquecimento e ser facilmente incorporado ao alimento (MELO; GUERRA, 2002).

No setor alimentício são utilizados os antioxidantes sintéticos butil-hidroxi-tolueno (BHT) e butil-hidroxi-anisol (BHA) como estabilizantes de gorduras vegetais e animais em diversos produtos, tais como, carne, hambúrgueres, cachorros-quentes, cereais, chicletes, entre outros. A regulamentação que rege o uso de antioxidantes em alimentos e bebidas varia de país para país, e todos esses aditivos precisam ser descritos nas embalagens por sua categoria (antioxidante, conservante, cor) com o E-número ou nome (CIRIMINNA *et al.*, 2017). No Brasil, o uso de aditivos com função antioxidante em produtos cárneos é definido de acordo com o estabelecido na Portaria número 1004 de 11 de dezembro de 1998 - ANVISA, (BRASIL, 1998). Essa Portaria não autoriza o uso de antioxidantes em carnes frescas e congeladas *in natura*, mas permite a adição, por exemplo, de BHA e BHT em alguns produtos cárneos industrializados, em quantidades de 0,01 g de antioxidante por 100g de produto (PEREIRA, 2009).

Os antioxidantes sintéticos ainda são amplamente utilizados pela indústria de alimentos, devido seu alto poder antioxidante e baixo custo benefício, no entanto, por motivo de risco potencial à saúde, vêm sendo substituídos por antioxidantes naturais provenientes de diversas fontes de origem vegetal, considerados mais nocivos à saúde. Vale ressaltar ainda que alguns antioxidantes naturais apresentam maior atividade oxidativa que os produtos sintéticos (CONEGLIAN *et al.*, 2011).

3.3.8.1. Antioxidantes Naturais

Antioxidantes naturais podem ser incorporados na carne pela suplementação com óleos essenciais das rações dos animais ou podem ser diretamente adicionados aos diferentes tipos de carnes e seus subprodutos. Entretanto, devem ser utilizados sem comprometer suas propriedades sensoriais (LEÃO *et al.*, 2017).

A maioria dos antioxidantes naturais são obtidos através de ervas, especiarias, vegetais, frutas e sementes, onde os compostos fenólicos são as principais substâncias responsáveis pela sua atividade antioxidante. Extratos vegetais que apresentam compostos fenólicos são considerados fontes efetivas de antioxidantes, pois possuem alta atividade de doação de hidrogênio ou tem alta capacidade de absorver radicais livres. A atividade antioxidante desses compostos depende de seu esqueleto estrutural e padrão dos seus grupos funcionais (BREWER, 2011).

Vários estudos têm sido realizados visando o desenvolvimento de extratos naturais, oriundos de plantas, que apresentem propriedades antioxidantes para uso em produtos cárneos. Cunha *et al.*, (2018) relatam estudos com o uso de antioxidantes naturais em carne de ovino e caprino em termos de processos oxidativos, parâmetros instrumentais e atributos sensoriais. Verificando que o uso de antioxidantes naturais pode melhorar a vida útil destes cortes. Shah *et al.*,(2014) estudaram extratos vegetais como antioxidantes em diferentes tipos de carne e produtos à base de carne. Esses estudos mostram resultados promissores quanto ao uso de plantas. Esses extratos inibem a oxidação lipídica e degradação dos pigmentos da carne, ajudando assim a atrasar o início da rancidez e estabilizam a cor da carne. A aplicação desses extratos melhorou a qualidade geral sensorial e nutricional da carne e produtos à base de carne e, portanto, sua vida útil.

3.4. Alteração em Produtos Cárneos

As carnes são alimentos perecíveis e apresentam vida útil variável em função das condições de armazenamento. Desde a antiguidade, o homem sempre buscou preservar as características de qualidade da carne para manter a provisão dos alimentos, o desenvolvimento e a conservação da espécie, originando-se, assim, processos e tecnologias de transformação, inicialmente rudimentares e atualmente controláveis por padrões tecnológicos que permitem manter a qualidade do produto (OLIVEIRA *et al.*, 2005; BENEDICTI *et al.*, 2018). De modo geral, pode-se dizer que a qualidade da carne e da carcaça depende da interação de fatores intrínsecos e extrínsecos (SARCINELLI *et al.*, 2007).

Para os consumidores os alimentos adquiridos em restaurantes, lojas e supermercados devem ser seguros, porém vários são os fatores que podem afetar a ruptura do sistema de segurança alimentar e qualidade, em especial em salames. A seguir serão apresentados os principais mecanismos pelos quais a qualidade e segurança alimentar do produto estudado pode ser comprometido.

3.4.1. Oxidação Lipídica

Os produtos cárneos, devido à sua riqueza na composição em relação à umidade, proteínas, gorduras e outros nutrientes, são produtos bastante susceptíveis às alterações de ordem física, química e microbiológica (MATHIAS *et al.*, 2010).

A oxidação lipídica é uma das mais importantes causas da deterioração de alimentos, podendo conduzir à perda de cor, sabor, modificação da textura e formação de compostos tóxicos. A oxidação de lipídios e a alteração da cor causada por reações oxidativas são difíceis de serem controladas, principalmente devido à complexidade e variabilidade das reações envolvidas. Tais reações são de ordem físico-química, podendo ser potencializadas por ação microbiológica (ALCANTARA *et al.*, 2012).

A degradação de lipídios pode ser ocasionada por oxidação, hidrólise polimerização, pirólise e absorção de sabores e odores estranhos. Dentre estes fatores, a oxidação é a principal causa da deterioração de vários produtos biologicamente importantes, alterando diversas propriedades como qualidade sensorial (sabor, aroma, textura e cor), valor nutricional. Tais mudanças podem ter sua origem durante a produção, processamento, preservação, armazenamento e o preparo do alimento (OSAWA *et al.*, 2005; SOARES, 2012).

A oxidação lipídica em salames é considerada um dos aspectos mais significativos e necessário de ser discutido em relação à qualidade do produto, pois a gordura é um dos componentes em maior proporção no salame e susceptível a reações químicas indesejáveis. A oxidação lipídica conduz a descoloração, perda de valor nutricional e é o principal fator de rejeição dos produtos oxidados, desenvolvimento dos sabores rançosos. A rancidez dos alimentos não afeta apenas sensorialmente os produtos, como é também responsável pelo surgimento de compostos tóxicos associados a problemas de saúde, como as doenças circulatórias, o câncer e o envelhecimento. As reações oxidativas são favorecidas por fatores como a temperatura e a luz, porém, nos produtos cárneos, além destes promotores, a rancidez é estimulada por íons ferro presentes nas moléculas de mioglobina, proteínas que no animal vivo possuem a função de transportar o oxigênio e que são as responsáveis pela coloração das carnes vermelhas (GARCIA *et al.*, 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 poli-insaturados, cujo efeito benéfico na saúde dos consumidores é bem documentado (CAMPAGNOL, 2007).

Neste contexto, a oxidação lipídica pode ser considerada um processo auto catalítico, 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 útil (*shelf-life*) dos alimentos (KRING; BERGER, 2001). A oxidação lipídica em carnes pode ser acompanhada através do valor de TBARS.

A susceptibilidade da carne à oxidação lipídica tem sido estudada por diversos pesquisadores com a finalidade de buscar soluções para amenizar este problema. Com isto, estão sendo aplicadas diferentes tecnologias de processamento e armazenamento para aumentar o tempo de vida útil destes produtos, como embalagens a vácuo ou com atmosfera modificada, as quais se têm mostrado efetivas no retardo da oxidação (BEAL *et al.*, 2011).

3.4.2. Alterações Microbiológicas

Nos produtos cárneos fermentados a qualidade final e as características organolépticas, tecnológicas e microbiológicas são influenciadas pelo pH, atividade de água, composição dos lipídios, NO₂ e NaCl (CICHOSKI *et al.*, 2009).

O crescimento microbiano depende de parâmetros inerentes aos tecidos animais, nomeadamente parâmetros intrínsecos como o pH, a atividade da água, o potencial de oxidação-redução e os nutrientes disponíveis, bem como de parâmetros extrínsecos como a temperatura e a concentração de gases (nomeadamente presença ou ausência de oxigênio). Assim sendo, a carne e os produtos cárneos são alimentos muito perecíveis, a menos que sejam devidamente conservados e/ou armazenados em condições que retardem a atividade microbiológica (EFSA JOURNAL, 2003; JAY, 2005; LIDON; SILVESTRE, 2007).

Os padrões microbiológicos para produtos cárneos maturados, dessecados (salame) estão definidos na RDC nº 331, de 23 de dezembro de 2019 e Instrução Normativa nº 60, de 23 de dezembro de 2019, da Agência Nacional de Vigilância Sanitária, e são: ausência de *Salmonella* sp. em 25g do alimento, tolerância de no máximo 1×10^3 UFC/g para *Staphylococcus Coagulase* positiva e a tolerância de no máximo 1×10^2 UFC/g para *Escherichia coli* (BRASIL, 2019).

As alterações microbiológicas decorrem da ausência de condições higiênico-sanitárias, seja do local do processamento ou dos manipuladores, oferecendo condições para que se desenvolvam bactérias deterioradoras e patogênicas (IAL, 2008). Para Garcia *et al.* (2000), a variação das propriedades físicas e químicas do Salame Tipo Italiano são interdependentes durante o processamento e que assim, qualquer mudança proposta terá influência sobre o produto final.

Conforme Maciel *et al.* (2003), falhas no processo podem permitir a proliferação de patógenos como *Staphylococcus* e *Salmonella* os quais são responsáveis por surtos de doenças

transmitidas por alimentos envolvendo embutidos fermentados. De acordo com Forsythe (2002), a *Salmonella* pertence ao gênero da família *Enterobacteriaceae*, são bastonetes gram-negativos, aeróbicos facultativos e não formam esporos. Por não formarem esporos são relativamente sensíveis a temperaturas altas podendo assim, serem eliminados a 60°C, por tempo médio de 20 minutos, nesta temperatura. A presença de coliformes no alimento indica a contaminação durante o processo de fabricação. Os coliformes são bactérias gram-negativas, anaeróbias facultativas e usualmente utilizadas para avaliar a segurança e higiene alimentar.

Uma forma de conservar os produtos cárneos é o recurso à adição de aditivos alimentares, como por exemplo, conservantes como o nitrito, pois desta forma consegue-se suprir a necessidade de transportá-los a grandes distâncias, de armazená-los durante períodos de tempo mais longos e de expô-los ao consumidor de uma forma mais atraente (LIDON; SILVESTRE, 2007).

O nitrito é um forte agente inibidor de bactérias anaeróbias como o *Clostridium botulinum*, contribuindo ainda para o controle do crescimento de outros micro-organismos como a *Listeria monocytogenes*. O *Clostridium botulinum* é uma bactéria anaeróbia produtora de gás que se pode encontrar na água ou nos alimentos, com capacidade para formar esporos e produzir toxinas, algumas delas capazes de provocar botulismo (toxi-infecção alimentar grave) no homem. As condições que favorecem o crescimento do *Clostridium botulinum*, bem como a produção das respectivas toxinas, incluem um baixo teor de NaCl, um elevado teor de umidade, um valor de pH superior a 4,6 (pH ótimo igual a 7,0), produtos alimentares armazenados em condições restritas de oxigênio e uma temperatura acima da mínima necessária ao seu crescimento (EFSA JOURNAL, 2003; JAY, 2005).

3.4.3. Alterações Sensoriais

O aspecto de qualidade sensorial é o mais intimamente relacionado à qualidade percebida pelo consumidor e, conseqüentemente, à escolha do produto. Dessa maneira, as características de qualidade sensorial, tais como odor, sabor, textura, aparência, precisam ser monitoradas em diversos momentos: na percepção e escolha dessa qualidade, por meio de estudos do consumidor; no desenvolvimento ou processamento do produto, por estudos da influência dos ingredientes e da tecnologia do processamento; na padronização e no controle de qualidade de rotina; na estabilidade da qualidade sensorial durante o armazenamento, isto é, na determinação da vida útil do produto; e no momento da graduação ou avaliação do nível de qualidade do produto por testes de mercado (DUTCOSKY, 2013).

As características sensoriais da carne são os atributos que impressionam os órgãos do sentido, de maneira mais ou menos apetecível, e que dificilmente podem ser medidos por instrumentos (QUIDUTE, 2006). É o caso dos atributos cor, aroma, maciez, frescor, firmeza e palatabilidade. Sendo o primeiro envolvendo a aparência visual, o segundo a aparência tátil, o terceiro envolvendo uma apreciação da aparência visual e olfativa; o quarto uma apreciação visual e tátil, e o último, resultante de uma combinação de impressões visuais, olfativas e gustativas que se manifestam a partir da cocção, seguida da mastigação do alimento (SARCINEL *et al.*, 2007).

O *flavor* típico do salame vem de um processo complexo, que envolve a fermentação dos carboidratos, proteólise, lipólise, oxidação lipídica, condimentos, sais de cura e outros. O papel desempenhado pela lipólise é importante, pois os ácidos graxos liberados servirão de substrato para as mudanças oxidativas responsáveis pelo desenvolvimento do aroma (SHIMOKOMAKI; OLIVIO, 2006). O aroma é de grande importância. Alcantara *et al.* (2012) citaram que o aroma e o sabor da carne são desenvolvidos pelo aquecimento, da transformação de substâncias hidrossolúveis e lipossolúveis e volatilização de moléculas.

Os embutidos cárneos fermentados caracterizam-se pelo seu baixo teor de umidade e consequentemente baixa atividade de água, e pela presença de ácido lático em concentração que confere ao produto um sabor característico e agradável (DALLA SANTA, 2008).

A massa cárnea utilizada para produzir salames por fermentação espontânea deve conter quantidade suficiente tanto de bactérias lácticas (*Lactobacillus*) como de *Micrococcus* para o desenvolvimento adequado da fermentação, obtendo assim um produto seguro e com qualidade (COMI *et al.*, 2005).

Para Dalla Santa (2008) a grande maioria dos *Lactobacillus* é capaz de produzir peróxido de hidrogênio pela oxidação do lactato. Em certos alimentos isso é positivo, pois resulta na inibição de micro-organismos indesejáveis. Entretanto, em produtos cárneos, os peróxidos levam a descoloração visto que essas substâncias atacam os hemepigmentos. Em salames produzidos por fermentação espontânea tem sido verificada a predominância de *Lactobacillus sakei* e *Lactobacillus curvatus*, sendo que várias cepas dessas espécies produzem rapidamente H₂O₂. Culturas *starter* para a elaboração de salames devem apresentar pouca ou nenhuma capacidade de formação de peróxido de hidrogênio.

3.5. Tecnologias Alternativas de Conservação

A crescente demanda do mercado consumidor por produtos de alta qualidade revela a necessidade da utilização de novas tecnologias de conservação que propiciem segurança microbiológica na produção, aumentando a validade comercial, e que ainda proporcionem mínimas alterações bioquímicas, promovendo a manutenção da qualidade nutricional e sensorial dos alimentos (SILVA *et al.*, 2014).

A cor, o sabor e odor originais dos alimentos são geralmente os mais afetados pelos métodos tradicionais de processamento. Com isso, se torna necessário implantar métodos que preservam estas características, além de deixar componentes nutricionais mais bio-acessíveis (RIBERO, 2015). Uma maneira encontrada é a microencapsulação.

Um desafio para as indústrias alimentícias tem sido manter a estabilidade de ingredientes, nas condições desejadas, e, assim, transformá-los em substâncias mais estáveis, melhorando sua rentabilidade e controlando sua liberação. Nesse contexto, surge a microencapsulação, que é definida como a tecnologia de empacotamento de partículas sólidas, líquidas ou gasosas em microcápsulas envolvidas por um filme protetor, sendo que seus índices são liberados em taxas controladas, sob a influência de determinados estímulos (BAMPI, 2015). Tecnologia esta empregada principalmente pelas indústrias farmacêuticas e químicas, tendo uma vasta aplicação na indústria de alimentos.

A microencapsulação vem sendo aplicada com sucesso na proteção de substâncias sensíveis à temperatura, oxidação, umidade e reações indesejáveis, permitindo que os produtos microencapsulados tenham melhor potencial de uso. Seguindo este princípio, muitas indústrias no seguimento alimentício vêm utilizando a microencapsulação para o desenvolvimento de novos produtos, conferindo-lhes aumento do valor nutricional, além de permitir bioacessibilidade a substâncias que em outras condições seriam degradadas, aumentando também a vida útil dos produtos (SILVA *et al.*, 2014).

Dentre as várias aplicações dessa tecnologia na indústria de alimentos, a principal envolve a proteção de micro-organismos probióticos em ambientes nocivos para eficiente liberação nos locais alvo (DOHERTY *et al.*, 2011), bem como para a manutenção e a viabilidade das culturas probióticas durante o prazo de validade dos produtos alimentícios (SIMEONI *et al.*, 2014). No entanto, a preparação de um produto microencapsulado exige algumas etapas, sendo importante identificar: i) a necessidade para aplicação da técnica, ii) a escolha do agente encapsulante adequado e iii) a seleção do processo de preparação das microcápsulas (AZEREDO, 2005).

3.6. Microencapsulação

A microencapsulação pode ser considerada um processo de aprisionamento de um ingrediente ativo qualquer dentro de um material de revestimento, a fim de ser protegido contra fatores externos, tais como a luz, elevada concentração de oxigênio, calor e umidade, evitando a evaporação de compostos voláteis, minimizando sabores e odores desagradáveis, garantindo uma liberação controlada, além de permitir o desenvolvimento de produtos de alto valor agregado (COMUNIAN; FAVARO-TRINDADE, 2016).

Na tentativa de manter o estado de conservação dos produtos naturais por mais tempo, muitas técnicas passaram a ser exploradas. Dentre essas técnicas, a microencapsulação se destaca por compreender um conjunto de diversas técnicas que permitem o desenvolvimento de formulações, em que o seu conteúdo é protegido e sua liberação pode ser modificada com o objetivo de atuar num determinado local, por um determinado período de tempo e uma velocidade específica (ETCHEPARE *et al.*, 2015).

Segundo Sobrinho; Farias (2012) a microencapsulação é definida como a tecnologia de empacotamento de partículas sólidas, líquidas ou gasosas em microcápsulas seladas onde seus índices são liberados em taxas controladas sob a influência de determinados estímulos. Este procedimento envolve a incorporação de ingredientes alimentares, enzimas, células ou outros materiais em pequenas cápsulas. Os objetivos da encapsulação são estabilizar os materiais encapsulados, controlar suas reações oxidativas, controlar a sua liberação, controlar seu sabor, cor e/ou odor, prolongar a sua vida útil, reduzir sua volatilidade e reatividade e proteger os componentes contra perdas nutricionais, bem como aumentar a sua estabilidade sob condições ambientais adversas, tais como a presença de luz, oxigênio e valores extremos de pH (SILVA; MEIRELES, 2014).

O composto a ser encapsulado é designado por núcleo, recheio, material ativo ou fase interna, enquanto o agente encapsulante que forma o revestimento é denominado material polimérico ou polímero, material de parede, carreador, membrana ou casca. O núcleo pode ser composto por um ou mais substâncias e a casca pode ser constituída por uma ou mais camadas (CARNEIRO *et al.*, 2013; AZEREDO, 2005). Na grande maioria das vezes um material hidrofóbico é envolto por uma camada hidrofílica enquanto que um material hidrofílico é protegido por uma camada hidrofóbica (FILGUEIRAS *et al.*, 2013).

Para a indústria de alimentos essa tecnologia tem sido bastante utilizada, uma vez que facilita a aplicação de ingredientes instáveis, além de melhorar o processamento e a textura dos ingredientes devido a uma menor higroscopicidade, aumento da solubilidade e capacidade

de dispersão em diferentes tipos de materiais (COMUNIAN; FAVARO-TRINDADE, 2016). Além disso, existe a possibilidade de controle da liberação no local de ação dos compostos de interesse. A aplicação desta técnica tem como objetivos principais proteger o material ativo contra agentes atmosféricos, reduzindo, assim, interações que resultem em perda de coloração, aroma, sabor e valor nutricional; incorporar ingredientes como, por exemplo, temperos, aromas, vitaminas e minerais; inibir sabor, cor ou odor indesejável; promover melhor solubilidade; facilitar o manuseio; prolongar a vida útil de compostos alimentares e reduzir perda de voláteis (MENEZES *et al.*, 2012).

Segundo Andrade *et al.* (2011), a microencapsulação além de converter líquido à pó, ainda permite controlar a liberação de um determinado composto que possa atribuir sabor, odor ou que, de alguma forma, atue na conservação da qualidade do produto. Assim, nos últimos anos, com o conceito de liberação controlada do ingrediente encapsulado no lugar e no tempo certo, a microencapsulação de compostos bioativos se tornou muito atrativa. Mudança de pH, stress mecânico, tempo, temperatura, atividade enzimática, força osmótica dentre outros, são fatores que podem ser utilizados na liberação do ingrediente encapsulado (GOUIN, 2004).

3.6.1. Materiais Encapsulantes

Materiais encapsulados são geralmente referidos como material do núcleo, ingrediente ativo, fase interna ou carga. São os compostos considerados sensíveis na presença de alguns fatores. São de interesse para a indústria de alimentos, porém, por suas características de sensibilidade, necessitam de proteção, sendo esta alcançada pela microencapsulação. Já os materiais encapsulantes são denominados como material de parede, fase externa, e são os responsáveis pela proteção dos agentes ativos e formando as micropartículas ou matrizes (KAUSHIK *et al.*, 2015).

O material da parede é proveniente de compostos que cria uma rede cuja principal finalidade é à proteção do material do núcleo. Esses compostos geralmente são protetores hidrofílicos e/ou grupos hidrofóbicos, cuja seleção depende do material do núcleo e as características desejadas das microcápsulas, tais como, a natureza e a estabilidade do material a ser encapsulado (CARMO *et al.*, 2015). Os agentes encapsulantes são basicamente as substâncias que irão formar a película em torno do ingrediente funcional, sendo esses uns dos principais fatores que influenciam a estabilidade de compostos encapsulados (SOBRINHO; FARIAS, 2012). Também é classificado como matriz alimentícia, material de parede ou

material de revestimento. Existem vários tipos de agentes encapsulantes. O que realmente irá definir o tipo de matriz utilizada, bem como o processo de microencapsulação utilizado será a aplicação do produto final (FARIAS *et al.*, 2004).

No entanto, o agente encapsulante ideal deve manter as propriedades desejadas em concentrações elevadas, fáceis de trabalhar; capacidade de dispersar ou emulsionar o material ativo e assim estabilizar a emulsão produzida, ausência de reatividade com o material encapsulado durante o processamento e por períodos de armazenamento prolongado, capacidade para selar e prender o material ativo dentro de sua estrutura durante o processamento e o armazenamento, liberação completa do solvente ou de outros materiais, que são usados durante o processo de encapsulamento, capacidade de oferecer proteção máxima, ao material ativo, frente às circunstâncias ambientais como oxigênio, calor, luz, e umidade. Solúvel nos solventes aceitáveis pela indústria alimentar como água e álcool etílico. Capacidade de promover liberação controlada no tempo, local e condições desejadas e baixo custo (SOBRINHO; FARIAS, 2012). Sendo assim, cada tipo de encapsulante tem suas vantagens e desvantagens específicas para a encapsulação, a proteção, a entrega de ingredientes funcionais, assim como o custo, a facilidade de utilização, a biodegradabilidade e a biocompatibilidade (WEISS *et al.*, 2006).

Inúmeros materiais podem ser utilizados como agentes encapsulantes para obtenção de uma boa cobertura para a microcápsula. Além da goma arábica, outros materiais podem ser utilizados como agar, alginato e carragena; os carboidratos (amido, dextrinas e sacarose); as celuloses (carboximetilcelulose, acetilcelulose, nitrocelulose); os lipídeos (parafina, mono e diglicerídeos, óleos e gorduras); os materiais inorgânicos (sulfato de cálcio e silicatos); as proteínas glúten, caseína, gelatina e albumina (CARMO *et al.*, 2015).

No entanto, dificilmente um agente encapsulante apresentará isoladamente todas as propriedades necessárias para proteger o material ativo e promover a sua correta liberação, sendo necessária a mistura de dois ou mais componentes (DAIÚTO; CEREDA, 2003).

3.6.2. Métodos de Microencapsulação

Existem vários métodos para preparação de micropartículas e a escolha do método mais adequado depende de alguns fatores como, por exemplo, das propriedades do material ativo, das condições de produção e dos requisitos do produto final. Quanto à natureza do encapsulamento, os métodos podem ser divididos em três grupos principais: químicos, como inclusão molecular e polimerização; físicos, como *spray drying*, *spray congealing*, *pan*

coating, leite fluidizado, extrusão centrífuga; ou ainda físico-químicos como coacervação e separação de fases, emulsificação seguida da evaporação do solvente (BRASILEIRO, 2011).

Não há um método completamente eficiente para todas as condições a que estes possam ser aplicados. Cada método apresenta certos benefícios, mas também algumas limitações (ABBAS *et al.*, 2012), por isso a importância na escolha do método, que leva em consideração alguns fatores, como média do tamanho de partículas desejada, propriedades físico-químicas do ativo e do material de parede, aplicação das micropartículas, mecanismo de liberação que se quer, escala de produção industrial e valor do produto final (FAVARO-TRINDADE *et al.*, 2008).

Existem vários métodos de encapsulamento que podem ser aplicados, mas dentre eles há uma diferença fundamental que está no tipo de envolvimento ou aprisionamento do material ativo pelo agente encapsulante (PAULETTO, 2016). Os métodos utilizados para a microencapsulação podem ser divididos de acordo com a interação entre o material e o agente ativo:

- Métodos Químicos: inclusão molecular ou inclusão em complexos e polimerização interfacial.
- Métodos Físicos: *spray drying*, *spray chilling*, leite fluidizado, extrusão centrífuga com múltiplos orifícios, co-cristalização e liofilização.
- Métodos Físico-Químicos: coacervação simples e complexa, emulsificação seguida de evaporação de solvente, pulverização em agente formador de reticulação, lipossomas e lipoesferas (OLIVEIRA, 2014).

Para que as micropartículas possam ser facilmente incorporadas em alimentos, sem interferir com a textura e o sabor do alimento, é importante a escolha de um eficiente método de encapsulação e o composto utilizado de material de parede (OLIVEIRA, 2014).

3.6.2.1. Secagem por Atomização (*Spray Drying*)

A secagem por nebulização ou *spray drying* consiste em uma operação unitária através da qual um produto (solução, emulsão ou suspensão) é transformado do estado fluido para o estado sólido em forma de pó dentro de uma câmara, onde é feita a dispersão de gotículas do material, que entram em contato com um gás aquecido, em geral, o ar (CARMO *et al.*, 2015). O *spray drying* é bastante utilizado para microencapsulação de ingredientes (HIJO *et al.*, 2015). A encapsulação pode ser definida como a inclusão de pequenas partículas sólidas, gotículas líquidas ou gases em um material de revestimento (DRUSCH *et al.*, 2012), e permite

a formação de uma barreira física entre o meio externo e os materiais sensíveis do núcleo, protegendo esses compostos da umidade, pH e oxidação (NESTERENKO *et al.*, 2013).

Segundo Oliveira *et al.* (2009), a técnica de *Spray Drying* na indústria alimentícia é empregada principalmente para melhorar a estabilidade dos alimentos, aumentando o tempo de armazenamento e mantendo o valor nutritivo.

O primeiro passo sempre consiste na escolha do agente encapsulante adequado. Escolhido o agente encapsulante este é hidratado. Na emulsão resultante da solubilização do agente encapsulante é adicionado o ingrediente a ser encapsulado e, com a dispersão deste no agente encapsulante, obtém-se a mistura a ser atomizada no *spray-drying* (CONSTANT; STRINGHETA, 2002).

A mistura é injetada no *spray-drying* onde ocorre sua atomização direta através de um atomizador em uma câmara de secagem. A amostra atomizada entra em contato com um fluxo de ar quente (T_{Inlet}), onde a temperatura da mesma é pré-programada, ocorrendo à evaporação do solvente e a formação de pequenas gotículas de material seco, na forma esférica. Após a secagem, as partículas seguem em direção a parte inferior da câmara de secagem e são aspiradas por vácuo, no qual as partículas são coletadas e estocadas em um recipiente específico para esta função (PEREIRA, 2007).

Dentre as vantagens do emprego do *spray-drying*, estão incluídas o fato do processo ser econômico, flexível e produzir partículas de boa qualidade. A rápida evaporação da água da matriz polimérica durante a secagem e um menor tempo de resistência da amostra na câmara de secagem, faz com que a amostra permaneça a uma temperatura abaixo de 100°C, o que permite que o processo possa ser utilizado para substâncias termossensíveis (CONSTANT; STRINGHETA, 2002). É um método prático, econômico e mais comum para a obtenção de produtos em pó, com custo de processamento menor quando comparado a outros métodos (CAI; CORKE, 2000).

3.7. Estudo da Arte – Considerações Finais

Na revisão bibliográfica apresentada, pode-se observar que há um grande interesse por parte das indústrias alimentícias do setor cárneo em produzir alimentos com uma vida útil maior, porém sem comprometer a qualidade do produto. Para isso, as mesmas procuram desenvolver tecnologias alternativas para a conservação dos produtos. Neste contexto, surge o uso de antioxidantes naturais e de insumos encapsulados, como a cultura *starter* e os sais de cura, os quais vão sendo liberados no produto a taxas controladas a fim de garantir a vida útil

do salame. Neste sentido, o presente estudo, visa contribuir de forma significativa no processo de encapsulamento de sais de cura (nitrito e nitrato de sódio) e cultura *starter* para aplicação em salame, a fim de garantir o período de armazenamento do produto mantendo as características de qualidade do produto atendendo aspectos legais vigentes.

3.8. Referências Bibliográficas

- ABBAS, S.; WEI, C.; HAYAT, K.; XIAOMING, Z. Ascorbic acid: microencapsulation techniques and trends - a review. **Food Reviews International**, 343-374, 2012.
- AGUIAR, A.C.; VISENTAINER, J.E.L.; MATSUSHITA, M.; SOUZA, N.E.; VISENTAINER, J.V. Ingredientes na indústria de carnes – aspectos gerais. **Revista Nacional da Carne**, São Paulo, 18-23, 2006.
- ALCANTARA, M.; MORAIS, I. C. L.; SOUZA, C. M. O. C. C. Principais microrganismos envolvidos na deterioração das características sensoriais de derivados cárneos. **Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal**, 1-18, 2012.
- ANDRADE, L. P.; COSTA, J. M. G.; MARQUES, A. P.; PEREIRA, J.; BORGES, S. V.; BATISTA, L. R.; PICCOLI, R. H.; MENDONÇA, K. S. Avaliação da concentração mínima inibitória do óleo essencial de orégano microencapsulado. IN: XIII CONGRESSO CYTAL – AATA. Buenos Aires, Argentina, 19 a 21 DE Outubro, 2011.
- AZEREDO, H. M. C. Encapsulação: Aplicação à Tecnologia de Alimentos. **Alimentos e Nutrição**, 89-97, 2005.
- BAMPI, G. B. Microencapsulação de Probióticos por *Spray Chilling* e Aplicação em Barra de Cereal Salgada. **Tese** de Doutorado. Programa de Pós-graduação em Engenharia de Alimentos. Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões – URI. Erechim, 2015.
- BAÚ, T. R.; DIAS, C. A.; ALFARO, A. T. Avaliação da qualidade química e microbiológica de salsichas tipo Viena. **Revista Instituto Adolfo Lutz**. São Paulo, 207-210, 2012.
- BEAL, P., FAION, A. M., CICHOSKI, A. J., CANSIAN, R. L., VALDUGA, A. T., DE OLIVEIRA, D., VALDUGA, E. Oxidative stability of fermented Italian-type sausages using mate leaves (*Ilexparaguariensis* St. Hil) extract as natural antioxidant. **International Journal of Food Sciences and Nutrition**, 703-710, 2011.
- BENEDICTI, C. M.; SANTOS, L. R.; DROVAL, A. A. Utilização de Aipo em pó (*Aipium graveolens*) no processamento de linguiça toscana. **Brazilian Journal of Food Research**, Campo Mourão, 25-40, 2018.
- BIASI, V. Produção de salame tipo Italiano através da cura natural com extrato de aipo e acelga. **Dissertação** de Mestrado. Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia dos Alimentos. Universidade Federal de Santa Maria, 2010.
- BIASI, V.; BORTOLINI, F.; PIANOVSKI, P.B.; HUBER, E. Estudo do efeito da cultura starter sobre a microbiota da carne durante a fabricação de salame tipo italiano. **Revista Nacional da Carne**, São Paulo, 114-123, 2007.
- BUCKENHÜSKES, H.J. Selection criteria for lactic acid bacteria to be used as cultures for various food commodities. **FEMS Microbiology Reviews**, 253-272, 1993.

- BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA, Resolução nº 12 de 2 de janeiro de 2001. Regulamento Técnico sobre os padrões microbiológicos para alimentos. Brasília, 2001.
- BRASIL, Secretária de Vigilância Sanitária do Ministério da Saúde. Portaria nº 1004, de 11 de dezembro de 1998, republicada no Diário Oficial da União de 22 de março de 1999. Aprova Regulamento Técnico: “Atribuição de função de aditivos e seus limites máximos de uso para a categoria 8 – carne e produtos cárneos”, 1998.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA, Instrução Normativa nº 60 de 23 de dezembro de 2019 da Secretaria de Defesa Agropecuária do Ministério da Agricultura e do Abastecimento. Diário Oficial, 26 Dezembro de 2019.
- BRASILEIRO, J. S. F. Microencapsulação de compostos bioativos: inovação em diferentes áreas. 2011. 71f. **Dissertação** (Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade Fernando Pessoa – Porto, 2011.
- BREWER, M. S. Natural Antioxidants: sources, compounds, mechanisms of action, and potential applications. **Food Science and Food Safety**, 221–247, 2011.
- CAI, Y. Z.; CORKE, H. Production and properties of spray-dried *Amaranthus betacyanin* pigments. **Journal of Food Science**, 1248-1252, 2000.
- CAMPAGNOL, P. C.; FRIES, L. L. M.; TERRA, N. Salames: da seleção da matéria-prima à qualidade microbiológica. **Revista Nacional da Carne**, São Paulo, 36-41, 2007.
- CARMO, E. L.; FERNANDES, R. V. B.; BORGES, S. V. Microencapsulação por spray drying, novos polímeros e aplicações na tecnologia de alimentos. **Journal of Chemical Engineering and Chemistry**, 030-044, 2015.
- CARIONI, F. O.; PORTO, A. C. S.; PADILHA, J. C. F.; SANT’ANNA, E. S. Uso de culturas iniciadores para a elaboração de um embutido à base carne de pato (*Cairina moschata*) **Ciência de Tecnologia de Alimentos**, v.21, 337p. Campinas, 2001.
- CARNEIRO, H. C. F.; TONON, R. V.; GROSSO, C. R. F.; HUBINGER, M. D. Encapsulation efficiency and oxidative stability of flaxseed oil microencapsulated by spray drying using different combinations of wall materials. **Journal of Food Engineering**, 443-451, 2013.
- CASTRO, L. C.; LUCHESE, R. H.; MARTINS, J. F. P. Efeito do uso da cepa starter de *Penicillium nalgiovense* na qualidade de salames. **Food Science and Technology**, 20 (1) Campinas April, 2000.
- CAVALHEIRO, C. P.; TERRA, N. N.; FRIES, L. L. M.; MILANI, L. I. G.; REZER, A. P. S.; CAVALHEIRO, C. V.; MANFIO, M. Características físico-químicas de embutido curado fermentado com adição de carne de avestruz associada à de suíno. **Ciência Rural**, 447-452, 2010.
- CENCE, K.; SANTOS, P.; GARCIA, M. V.; COPETTI, M. V.; VALDUGA, E.; CANSIAN, R. L.; ZENI, J.; BACKES, G. T. Enzymatic biocontrol of spoilage fungi from salami. **Food Science and Technology**, 115, 108457, 2019.
- CENTER FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION - CDC. Botulism associated with canned chili sauce. Disponível em: <http://www.cdc.gov/botulism/botulism.htm>>. Acesso em: 29/11/2016.

- CICHOSKI, A. J.; ZIS, L. C.; FRANCESCHETTO, C. Características físico-químicas e microbiológicas da superfície do salame tipo italiano contendo solução de lactato de potássio. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, 546-552, 2009.
- CIRIMINNA, ROSARIA; MENEGUZZO, FRANCESCO; DELISI, RICCARDO; PAGLIARO, MARIO. Olive Biophenols as New Antioxidant Additives in Food and Beverage. **ChemistrySelect**, 1360-1365, 2017.
- COMI, G.; URSO, R.; IACUMIN, L.; RANTSIOU, K.; CATTANEO, P.; CANTONI, C.; COCOLIN, L. Characterization of naturally fermented sausages produced in the North East of Italy. **Meat Science**, 381-392, 2005.
- COMUNIAN, T. A.; FAVARO-TRINDADE, C. S. Microencapsulation using biopolymers as an alternative to produce food enhanced with phytosterols and omega-3 fatty acids : A review. **Food Hydrocolloids, Cambridge**, 442–457, 2016.
- CONEGLIAN, SABRINA MARCANTONIO; LIMA, BEATRIZ DA SILVA; SILVA, LORRAYNY GALORO DA; LAZZARI, CLAUDIA MARA; SERRANO, ROMÁN DAVID CASTAÑEDA; TONELLO, CLEITON LUIZ. Utilização de antioxidantes nas rações. **PUBVET**, v. 5, n. 5, ed. 152, Art. 1026, 2011.
- CONSTANT, P. B. L., STRINGHETA, P. C., Microencapsulação de Ingredientes Alimentícios, **Bol. SBCTA**, 12-18, 2002.
- CUNHA, L. C. M., MONTEIRO, M. L. G., LORENZO, J. M., MUNEKATA, P. E. S., MUCHENJE, V., FRANCISCO DE CARVALHO, F. A. L., CONTE-JUNIOR, C. A. Natural antioxidants in processing and storage stability of sheep and goat meat products. **Food Research International**, 379 – 390, 2018.
- DALLA SANTA, O. R. Avaliação da qualidade de salames artesanais e seleção de culturas starter para a produção de salame tipo italiano. **Tese** (Doutorado em Tecnologia de Alimentos, Setor de Tecnologia) - Universidade Federal do Paraná, 2008.
- DARDENGO, O. Desenvolvimento de Competências e Habilidades no Curso Técnico em Agroindústria do IFES – Campus de Alegre: Processamento de Produtos Fermentados Tipo Salame. **Dissertação** (Mestrado em Ciências). Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, 2010.
- DAIÚTO, E.R.; CEREDA, M.P. Amido como suporte na desidratação por atomização e em microencapsulação. In: Fundação Cargil. Culturas de Tuberosas Amiláceas Latino Americanas. São Paulo, Fundação Cargil, 449-474, 2003.
- DEGENHARDT, R. Sobrevivência de *Listeria Monocytogenes* em salame tipo italiano de baixa acidez produzido sob condições brasileiras de fabricação. **Dissertação** (Mestrado em Ciência dos Alimentos), Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2006.
- DOHERTY, S. B.; GEE, V. L.; ROSS, R. P.; STANTON, C.; FITZGERALD, G. F.; BRODKORB, A. Development and characterization of whey protein microbeads as potential matrices for probiotic protection. **Food Hydrocolloids**, 1604-1617, 2011.
- DUTCOSKY, S. D. **Análise sensorial de alimentos**, Curitiba (PR), 4 ed., p 33, 2013.
- DROSINOS, E. H.; MATARAGAS, M.; XIRAPHI, N.; MOSCHONAS, G.; GAITIS, F.; METAXOPOULOS, J. Characterization of the microbial flora from a traditional Greek fermented sausage. **Meat Science**, 307-317, 2005.

- EFSA Journal. Opinion of the Scientific Panel on Biological Hazards on a request from the Commission related to the effects of nitrites/nitrates on the microbiological safety of meat products. **EFSA Journal**, 1-34, 2003.
- ESSID, I.; ISMAIL, H. B.; AHMED, S. B. H.; GHEDAMSI, R.; HASSOUNA, M. Characterization and technological properties of *Staphylococcus xylosus* strains from a Tunisian traditional salted meat. **Meat Science**, 204-212, 2007.
- ETCHEPARE, M. A.; MENEZES, M. F. S. C.; RODRIGUES, L. Z.; CODEVILLA, C. R.; MENEZES, C. R.; Microencapsulação de compostos bioativos pelo método de extrusão. **Ciência e Natura**, v.37, Ed. Especial-Nano e Microencapsulação de compostos bioativos e probióticos em alimentos, 97– 105, 2015.
- FAVARO-TRINDADE, C. S.; PINHO, S. C.; ROCHA, G. A. Revisão: Microencapsulação de ingredientes alimentícios. **Brazilian Journal of Food Technology**, 103-112, abr. /jun. 2008.
- FEINER, G. **Meat products handbook. Practical science and technology**. Cambridge, England: Woodhead Publishing Limited, 2006.
- FIEIRA, C. Interferência de Diferentes Sais sobre a Cultura *Starter* de Salame Tipo Italiano. **Dissertação** (Mestrado em Tecnologia de Alimentos). Universidade Tecnológica Federal do Paraná – UTFPR, Londrina, 2014.
- FILGUEIRAS, C. T.; NAKASHIMA, A. Y.; SILVA, A. A.; BATISTELA, B. B.; CENTENARO, B. M.; VALVERDE, E. T.; CARAMIT, F. R.; SILVA, G. E.; MENEZES, J. L.; SANTOS, L. L.; ORTEGA, N. F.; SILVA, T. F.; PEIXOTO, T. S.; MENDOZA, V. S.; LIMA, F. F.; NOGUEIRA, T. Y. K; SANGINEZ-ARGANDOÑA, E. J. Desenvolvimento tecnológico: microencapsulação. In: XVIII ENAPET - Encontro Nacional dos Grupos PET da UFPE/UFRPE, Universidade Federal de Pernambuco e Universidade Federal Rural de Pernambuco: Recife, 2013.
- FLORES, M.; DURÁ, M. A.; MARCO, A.; TOLDRÁ, F. Effect of *Debaryomyces* spp. on aroma formation and sensory quality of dry-fermented sausages. **Meat Science**, 439-446, 2004.
- GARCIA, E. R. G.; YOSSEF, E. Y.; OLIVO, R.; SHIMOKOMAKI, M. Antioxidantes utilizados na indústria cárnea. **Revista Nacional da Carne**, São Paulo, 36-49, 2002.
- GARCIA, F. T.; GAGLEAZZI, U. A.; SOBRAL, P. J. A. Variação das propriedades físicas e químicas do salame tipo italiano durante secagem e fermentação. **Brazilian Journal of Food Technology**, 151-158, 2000.
- GIRARD, J. P. **Tecnología de la carne y de los productos cárnicos**. p.135, Ed. Acribia, Espanha, 1991.
- GOUIN, S. Microencapsulation: industrial appraisal of existing technologies and trends, Trends in **Food Science and Technology**, 330-347, 2004.
- GUEVARA, Y. E. D. Inclusão de Carne de Corvina (*micropogonias furnieri*) em Embutido do Tipo Salame Italiano. **Dissertação** (Mestrado em Engenharia e Ciência de Alimentos). Universidade do Rio Grande, Rio Grande, 2014.
- GUPTA, DEEPSHIKHA. Methods for determination of antioxidant capacity: A review. **International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research**, 546-566, 2015.
- GRASSI, A.; MONTANARI, R. Simulation of the thermodynamic patterns in an ascending flow ripening chamber, 2005. **Journal of Food Engineering**, 113-123, 2005.

- HIJO, A. A. C. T., COSTA, J. M. G., SILVA, E. K., AZEVEDO, V. M., YOSHIDA, M. I., BORGES, S. V. Physical and thermal properties of oregano (*Origanum vulgare* L.) essential oil microparticles. **Journal of Food Process Engineering**, 1-10, 2015.
- IACUMIN, L.; COMI, G.; CANTONI, C.; COCOLIN, L. Molecular and technological characterization of *Staphylococcus xylosus* isolated from naturally fermented Italian sausages by RAPD, Rep-PCR and Sau-PCR analysis. **Meat Science**, 281-288, 2006.
- INSTITUTO ADOLFO LUTZ (IAL). **Métodos físico-químicos para análise de alimentos**. São Paulo: Adolfo Lutz, 2008. 506, p. 1ª Ed., 2008.
- INSUMOS. O sal e seus substitutos. Aditivos e Ingredientes, 2013. Disponível em: <http://www.insumos.com.br/aditivos_e_ingredientes/materias/246.pdf>. Acesso em 25/11/2018.
- JAY, J. M. **Microbiologia de alimentos**. 6 ed., Porto Alegre: Artmed, 711p., 2005.
- KAUSHIK, P.; DOWLING, K. B.; KIM, B.; COLIN, J.; BENU A.; ADHIKARI, G.H. Microencapsulation of omega-3 fatty acids: A review of microencapsulation and characterization methods. **Journal of Functional Foods**, 868-881, 2015.
- KRING, U.; BERGER, R.G. Antioxidant activity of some roasted foods. **Food Chemistry**, 223-229, 2001.
- LAWRIE, R. A. **Ciência da Carne**. 6. ed. São Paulo: Artmed, 2005.
- LEÃO, L. L.; OLIVEIRA, F. S.; SOUZA, R. S.; FARIAS, P. K. S.; FONSECA, F. S. A.; MARTINS, E. R.; SOUZA, R. M. Uso de antioxidantes naturais em carnes e seus subprodutos. **Ciências Agrárias**, 94-100, 2017.
- LIDON, F.; SILVESTRE, M. M. **Indústrias Alimentares. Aditivos e Tecnologia**. Escolar Editora, 1ª edição, Lisboa, 2007.
- MACIEL, J. F.; TEIXEIRA, M.A.; MORAES, C.A.; GOMIDE, L.A.M. Antibacterial activity of lactic cultures isolated of Italian salami. **Brazilian Journal of Microbiology**. São Paulo, 121-122, 2003.
- MARCHESI, C. M.; CICHOSKI, A. J.; ZANOELO, E. F.; DARIVA, C. Influência das condições de armazenamento sobre os pigmentos cárneos e a cor do salame italiano fatiado. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, 697-704, 2006.
- MATHIAS, S. P.; ROSENTHAL, A.; GASPAR, A.; DELIZA, R.; SLONGO, A. P.; VICENTE, J.; MASSON, L. M.; BARBOSA, C. Alterações oxidativas (cor e lipídios) em presunto de peru tratado por Alta Pressão Hidrostática (APH). **Ciência Tecnologia de Alimentos**, Campinas, 852-857, 2010.
- MATTEI, F. J. Culturas iniciadoras (*Lactobacillus plantarum* AJ2 e *Staphylococcus xylosus* U5) nas propriedades tecnológicas de embutido produzido com associação de carne suína e de frango. **Dissertação** de mestrado. Departamento de Ciência e Tecnologia Agroindustrial. Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos. Universidade Federal de Pelotas, 2014.
- MELO; E. A.; GUERRA, N. B. Ação antioxidante de compostos fenólicos naturalmente presentes em alimentos. **Boletim da Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos**, 1-11, 2002.
- MENEZES, C. R.; BARIN, J. S.; CHICOSKI, A. J.; ZEPKA, L. Q.; LOPES, E. J.; FRIES, L. L. M.; TERRA, N. N. Microencapsulação de probióticos: avanços e perspectivas. **Ciência Rural**, Santa Maria, 2012.

- NESTERENKO, A.; ALRIC, I.; SILVESTRE, F.; DURRIEU, V. Vegetable proteins in microencapsulation: A review of recent interventions and their effectiveness. **Industrial Crops and Products**, Amsterdam, 469–479, 2013.
- OLIVEIRA, M. J.; ARAÚJO, W. M. C.; BORG, L. A. Quantificação de nitrato e nitrito em lingüiças do tipo frescal. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, 736-742, 2005.
- OLIVEIRA, I. R. W. Z.; FATIBELLO-FILHO, O.; FERNANDES, S. C.; VIEIRA, I. C. Imobilização da Lacase em Micropartículas de Quitosana obtidas por *Spray Drying* e usadas na construção de Biossensores. **Química Nova**, 1195-1201, 2009.
- OLIVEIRA, M. S. Desenvolvimento e caracterização de micropartículas lipídicas sólidas carregadas com hidrolisado proteico obtidas por spray chilling. **Dissertação** (Ciências) – Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da Universidade de São Paulo, 2014.
- ORDOÑEZ, J. A. P.; RODRIGUEZ, M. I. C.; ÁLVAREZ, L. F.; SANZ, M. L. G.; MINGUILLÓN, G. D. G. F.; PERALES, L. H.; CORTECERO, M. D. S. **Tecnologia de Alimentos: Alimentos de origem animal**. Porto Alegre: Artmed, 2, 279 p., 2005.
- OSAWA, C. C.; FELÍCIO, P. E.; GONÇALVES, L. A. G. Tese de TBA aplicado a carnes e derivados: métodos tradicionais, modificados e alternativos. **Química Nova**, 655-663, 2005.
- PARDI, M. C.; SANTOS, I. F.; SOUZA, E. R.; PARDI, H. S. **Ciência, Higiene e Tecnologia da Carne**. Volume II. Goiânia: Editora da UFG, 1147p., 2001.
- PAULETTO, F. B. Extração e encapsulamento de pigmentos da casca de jaboticaba sabará (*myrciaria jaboticaba* (vell.) O. Berg). 85 f. **Dissertação** de Mestrado. Programa de Pós-graduação em Engenharia de Alimentos. Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões – URI. Erechim, 2016.
- PEREIRA, M. G. Aplicação de Antioxidantes naturais em carne mecanicamente separada (CMS) de ave, 37-61p. **Dissertação** (Ciência e Tecnologia dos Alimentos) – Universidade Federal de Santa Maria, 2009.
- PEREIRA, T. Microencapsulação do Óleo Eugenol pelo Método de *Spray Drying*. **Trabalho de Conclusão de Curso**. Química Bacharelado. Centro de Ciências Físicas e Matemáticas – Departamento de Química. Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2007.
- QUIDUTE, P. E. Qualidade sensorial de carnes bovinas resfriadas e embaladas a vácuo em uma central de distribuição de uma rede de supermercados no Distrito Federal. Brasília, DF, 2006. Originalmente apresentada para obtenção do grau de especialista no curso de especialização em qualidade de alimentos, Universidade de Brasília, 2006.
- RECH, R. A. Produção de salame tipo italiano com teor de sódio reduzido. 2010. 69 f. **Dissertação** (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos), Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2010.
- RIBEIRO, A. C. Efeito da adição de óleo essencial de pimenta (*Schinusterebinthifolius Raddi*) microencapsulado em queijo minas frescal. 2015. 86 f. **Dissertação** (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos), Universidade Federal do Espírito Santo, Alegre, 2015.
- RITTER, A. R. C. Produção de salame tipo Italiano adicionado de culturas iniciadoras nativas e extrato de aipo (*Apium graveolens L.*) como fonte de nitrato. **Dissertação** (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos). Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel da Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2016.

- ROSELINO, M. N. Desenvolvimento de um embutido cárneo fermentado, com teores reduzidos de gordura e sais de cura, através da utilização de culturas probióticas. 2016. 198 f. **Tese** de Doutorado. Programa de Pós Graduação em Alimentos e Nutrição. Universidade Estadual Paulista. “Júlio de Mesquita Filho”. Faculdade de Ciências Farmacêuticas, 2016.
- SARCINELLI, M. F.; VENTURINI, K. S.; SILVA, L. C. Características da carne suína. **Boletim Técnico - PIE-UFES**. Universidade Federal do Espírito Santo – UFES, 2007.
- SARMENTO, C. M. P. Extração Supercrítica de Óleo de Farelo de Arroz e Obtenção de Frações Enriquecidas em Tocoferóis e Tocotrienóis. **Dissertação** (Mestrado em Engenharia de Alimentos). Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2002.
- SAVOLDI, D. C.; Kunrath, C. A.; De Oliveira, D. F.; Novello, C. R.; Coelho, A. R.; Marchi, J. F.; TONIAL, I. B. Características físicas e sensoriais de Salame Tipo Italiano com adição de própolis. **Revista de Ciências Agroveterinárias**, 18 (2), 2019.
- SAWITZKI, M. C. Propriedades Tecnológicas de *Lactobacillus Plantarum* Isolado de Salames Artesanais e Aplicado como Cultivo Iniciador em Salame Tipo Milano. **Tese** de Doutorado. Programa de Pós Graduação em Ciência dos Alimentos. Universidade Federal de Santa Catarina, 2007.
- SEBRANEK, J. G.; BACUS, J. N. Cured meat products without direct addition of nitrate or nitrite: what are the issues? **Meat Science**, 136–147, 2007.
- SINDELAR, J. J.; MILKOWSKI, A. L. Sodium nitrite in processed meat and poultry meats: a review of curing and examining the risk/benefit of its use. **American Meat Science Association**, 1–14, 2011.
- SILVA, P.T.; FRIES, L. L. M; MENEZES, C. R.; HOLKEM, A. T.; SCHWAN, C. L.; WIGMANN, E. F; BASTOS, J. O.; SILVA, C. B. Microencapsulation: concepts, mechanisms, methods and some applications in food technology. **Ciência Rural**, Santa Maria, 1304-1311, 2014.
- SILVA, E. K.; MEIRELES, M. A. A. Encapsulation of food compounds using supercritical technologies: applications of supercritical carbon dioxide as an antisolvent. **Food and Public Health**, 247–258, 2014.
- SILVA, E. R.; WANDERLEY, R. O. S.; MACHADO, A. V.; COSTA, R. O. Tecnologia de Conservação dos Alimentos pelo Uso de Aditivos Químicos. **Revista Brasileira de Agrotecnologia**, 10-14, 2014.
- SIMEONI, C.P.; ETCHEPARE, M.A.; MENEZES, C.R.; FRIES, L.M.; MENEZES, M.F.C.; STEFANELLO, F.S. Microencapsulação de probióticos: inovação tecnológica na indústria de alimentos. **Revista do Centro de Ciências Naturais e Exatas**. Santa Maria: UFSM. Revista Eletrônica em Gestão, Educação e Tecnologia Ambiental – REGET. 66-75, 2014.
- SOARES, J. M. Avaliação da Oxidação Lipídica e Protéica em Linguiças Calabresa e Toscana. **Dissertação** (Mestrado em Engenharia de Alimentos). Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões – URI, Campus de Erechim, 2012.
- SOBRINHO, E. C. S.; FARIAS, M. C. A microencapsulação na indústria alimentícia. **Infarma – Ciências Farmacêuticas**, 1-3, 2012.
- SCHEIDT, G. A.; MINIM, V. P. R.; GOMIDES, L. A. CHAVES, J. B. P.; VANETTI, M. C. D.; MINIM, L. A.; COIMBRA, J. S. R. Avaliação físico-química e sensorial de salame tipo italiano contendo diferentes concentrações de cravo-da-índia (*Eugenia caryophyllus*). **Ciência e Agrotecnologia**, Ed. Especial, 1576-1583, 2003.

- SCHEIDT, G. N.; PORTELLA, A. C. F.; PEREIRA, C. D.; WOICIECHWSKI, A. L. Efeito da Adição de Culturas Iniciadoras Sobre Características Físico-Químicas e Microbiológicas de Salame Tipo Italiano Durante os Períodos de Maturação e Armazenamento. **Revista Ciências Exatas e Naturais**, 2009.
- SCHMITT, B. Avaliação Sensorial do Uso de Diferentes Culturas Iniciadoras na Produção de Salame Tipo Italiano do Frigorífico Antônio Carlos. **Trabalho Conclusão do Curso** de Graduação em Engenharia de Alimentos Centro Tecnológico da Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis, 2017.
- SHAH, M. A., DON BOSCO, S. J., MIR, S. A. Plant extracts as natural antioxidants in meat and meat products. **Meat Science**, 21 – 33, 2014.
- SHIMOKOMAKI, M.; OLIVIO, R. **Atualidades em ciência e tecnologia de carnes**. São Paulo: Livraria Varela, p. 236, 2006.
- TABANELLI, G., COLORETTI, F.; CHIAVARI, C.; GRAZIA, L.; LANCIOTTI, R.; GARDINI, F. Effects of starter cultures and fermentation climate on the properties of two types of typical Italian dry fermented sausages produced under industrial conditions. **Food Control**, 416-426, 2012.
- TERRA, N. Particularidades na fabricação do salame. **Revista Nacional da Carne**, São Paulo, n.341, 12 -18, 13º Catálogo, 2005.
- TERRA, N. N. **Apontamentos de Tecnologia de Carnes**. São Leopoldo: UNISINOS, 216 p., 2003.
- TERRA, N. N. **Apontamentos de Tecnologia de Carnes**. São Leopoldo: UNISINOS, 216 p., 1998.
- TERRA, N. Nível tecnológico da produção de embutidos cárneos fermentados no Brasil: aplicação da biotecnologia em produtos cárneos. Centro de tecnologia de Carne/ ITAL, p.11, 1990.
- TERRA, N.; CICHOSKI, A. J; FREITAS, R. J. S. Aspectos microbiológicos e físico-químicos da parte interna da paleta suína curada, maturada e fermentada durante a etapa de processamento e armazenamento. **Ciência Rural**, Santa Maria, 1118-1124, 2008.
- TERRA, 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, 965 -970, maio-junho, 2006.
- TERRA, A. B.; FRIES, L. L. M.; TERRA, N. **Particularidades na fabricação de salame**. 1. Ed. São Paulo: Livraria Varela, 152 p. 2004.
- WEISS, J.; TAKHISTOV, P.; MCCLEMENTS, J. Functional Materials in Food Nanotechnology. **Journal of Food Science**, 107-116, 2006.

Artigo: Karine Cence, Marilia Jordana Vendruscolo, Rosicler Colet, Juliana Steffens, Jamile Zeni, Eunice Valduga. Effects of natural antioxidants in processing and stability of italian type salami during storage. **Brazilian Journal of Development** (ISSN 2525-8761), Curitiba, v. 6, n. 8, p. 55144-55160 aug. 2020. DOI: 10.34117/bjdv6n8-074

4. EFFECTS OF NATURAL ANTIOXIDANTS IN PROCESSING AND STABILITY OF ITALIAN TYPE SALAMI DURING STORAGE

EFEITOS DE ANTIOXIDANTES NATURAIS NO PROCESSAMENTO E ESTABILIDADE DO SALAME ITALIANO DURANTE O ARMAZENAMENTO

DOI: 10.34117/bjdv6n8-074

Recebimento dos originais: 08/07/2020 Aceitação para publicação: 10/08/2020

Karine Cence

Doutoranda em Engenharia de Alimentos pela Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões

Instituição: Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões – URI Erechim

Endereço: Avenida 7 de setembro, 1621 – Bairro Fátima, Erechim – RS, Brasil

E-mail: kahcence@hotmail.com

Marilia Jordana Vendruscolo

Graduanda em Engenharia de Alimentos pela Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões

Instituição: Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões – URI Erechim

Endereço: Avenida 7 de setembro, 1621 – Bairro Fátima, Erechim – RS, Brasil

E-mail: maajordanaa@gmail.com

Rosicler Colet

Doutora em Engenharia de Alimentos pela Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões

Instituição: Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões – URI Erechim

Endereço: Avenida 7 de setembro, 1621 – Bairro Fátima, Erechim – RS, Brasil

E-mail: rosicler.colet@yahoo.com.br

Juliana Steffens

Doutora em Engenharia Química pela Universidade Federal de São Carlos

Instituição: Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões – URI Erechim

Endereço: Avenida 7 de setembro, 1621 – Bairro Fátima, Erechim – RS, Brasil

E-mail: julisteffens@uricer.edu.br

Jamile Zeni

Doutora em Engenharia de Alimentos pela Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões

Instituição: Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões – URI Erechim

Endereço: Avenida 7 de setembro, 1621 – Bairro Fátima, Erechim – RS, Brasil

E-mail: jamilezeni@uricer.edu.br

Eunice Valduga

Doutora em Engenharia Química pela Universidade Federal de Santa Catarina

Instituição: Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões – URI Erechim

Endereço: Avenida 7 de setembro, 1621 – Bairro Fátima, Erechim – RS, Brasil

E-mail: veunice@uricer.edu.br

ABSTRACT

The aim of the study was to elaborate formulations of Italian type salami by adding natural antioxidant of green tea (*Camellia sinensis*) and to evaluate the stability during the shelf life. Formulations (F1, F2 and F3) were elaborated varying the concentrations of green tea (0.008 to 0.016%), sodium erythorbate (0.048 to 0.097%), sodium nitrite (0 to 0.012%), sodium nitrate (0 to 0.016%), curing salt (0 to 0.189%) and dehydrated glucose (0.589 to 0.959%), keeping fixed the concentrations of swine meat, bacon, water, refined salt, pepper and starter culture. To verify oxidative stability, the moisture, water activity, sodium nitrate and nitrite,

pH, acidity, TBARS and product acceptance were evaluated during 120 days of storage. F1 stood out in terms of acceptance, with a higher initial and residual concentration of nitrates and nitrites up to the 80th day of storage and less lipid oxidation, that has 0.016% green tea, 0.012% sodium nitrite, 0.013% sodium nitrate, 0.081% sodium erythorbate and 0.806% dehydrated glucose in its formulation. The results indicated that the addition of green tea, associated with sodium nitrate/nitrite and sodium erythorbate reduced the formation of TBARS and did not affect the sensory quality of the product. Thus, this natural antioxidant can be easily used in Salami to improve quality and provide safer products.

Keywords: green tea, oxidation, matured meat product, shelf life.

RESUMO

O objetivo do estudo foi elaborar formulações de salame adicionando antioxidante natural de chá verde (*Camellia sinensis*) e avaliar a estabilidade durante a estocagem. As formulações (F1, F2 e F3) foram elaboradas variando as concentrações de chá verde (0,008 a 0,016%), eritorbato de sódio (0,048 a 0,097%), nitrito de sódio (0 a 0,012%), nitrato de sódio (0 a 0,016%), sal de cura (0 a 0,189%) e glicose desidratada (0,589 a 0,959%), mantendo fixas as concentrações de carne suína, bacon, água, sal refinado, pimenta e cultura inicial. Para verificar a estabilidade oxidativa, foram avaliadas a umidade, atividade da água, nitrato e nitrito de sódio, pH, acidez, TBARS e aceitação do produto durante 120 dias de armazenamento. F1 se destacou em termos de aceitação, com maior concentração inicial e residual de nitratos e nitritos até o 80º dia de armazenamento e menor oxidação lipídica, que possui chá verde de 0,016%, nitrito de sódio de 0,012%, nitrato de sódio de 0,013%, eritorbato de sódio de 0,081% e glicose desidratada de 0,806% em sua formulação. Os resultados indicaram que a adição de chá verde, associada a nitrato/nitrito de sódio e eritorbato de sódio, reduziu a formação de TBARS e não afetou a qualidade sensorial do produto. Assim, este antioxidante natural pode ser facilmente usado no salame para melhorar a qualidade e fornecer produtos mais seguros.

Palavras-chave: chá verde, oxidação, produto cárneo curado, prazo de validade.

4.1. INTRODUCTION

One of the main causes of meat deterioration is the oxidative processes that occur in the conversion of muscle to meat, at meat processing or during storage (Cunha et al., 2018). The oxidative stability of meat depends on various intrinsic and extrinsic factors such as the concentration of pro-oxidants/antioxidant balance, degree of unsaturation, pH, and temperature as well as the composition of the protein and lipid fraction, which vary among different animal species (Oswell et al., 2018).

Lipid oxidation of meat products has deleterious effects on the organoleptic properties of these foodstuffs as well as the digestibility of key nutrients (García-Lomillo et al., 2017), causing changes in sensory (color, texture and flavor) and nutritional quality (Karakaya, et al., 2011; Shah et al., 2014; Oswell et al., 2018).

Additionally, some products that are especially susceptible to oxidative chain reactions (Jongberg et al., 2017). Consequently, it is often necessary to rely on antioxidants to prolong shelf life and preserve product quality. The use of antioxidants in food products is controlled by regulatory laws of a country or international standards (Karre et al. 2013).

In meat products, antioxidants are widely employed to prevent oxidation. The antioxidants can be of synthetic or natural origin. Are synthetic antioxidants the ascorbic acid, butylated hydroxytoluene (BHT), butylated hydroxyanisole (BHA), as well nitrites and nitrates (Formanek et al., 2001; Biswas et al., 2004; Jayathilakan et al., 2007; Pereira et al., 2015).

But the demand for natural antioxidants, especially of plant origin has increased in the recent years due to the growing concern among consumers about these synthetic antioxidants because of their potential toxicological effects (Oswell et al., 2018; Ribeiro et al., 2019). Among the plants with antioxidant properties used in meat products, the oregano (*Origanum vulgare*) (Shan et al., 2009; Prete et al., 2020), the rosemary (*Salvia rosmarinus*) (Fernandez-Lopez et al., 2003) and the sage (*Salvia officinalis*) (Mc Carthy, 2001) have components with recognized antioxidant activity such as carnosol, carnosic acid and rosmarinic acid. Studies also report the use of yerba mate (*Ilex paraguariensis*) (Terra et al., 2008; Beal et al., 2011, Coró et al., 2019), green tea (*Camellia sinensis*) and black tea (*C. sinensis*) (Rababah et al., 2011) that have flavonoids and phenolic acids in their composition.

In this sense, the main of the study was to elaborate formulations of Italian type salami by adding natural antioxidant of green tea (*C. sinensis*) and to evaluate the oxidative stability of the product during shelf life.

4.2. MATERIAL AND METHODS

4.2.1. Elaboration of salami formulations

Three formulations of Italian salami were elaborated in an industry located at Upper Uruguay of Rio Grande do Sul, under traditional processing conditions in accordance with current legislation (BRASIL, 2019). In the formulations (F1, F2 and F3) the concentrations of green tea were (F1 and F2 - 0.016% and F3 - 0.008%), sodium erythorbate (F1- 0.097%, F2 - 0.081% and F3 - 0.048%), sodium nitrite (F1 and F2 - 0.012% and F3 - absent), sodium nitrate (F1 - 0.016%, F2 - 0.013% and F3 - absent), curing salt (F1 and F2 - absent and F3 - 0.189%) and dehydrated glucose (F1 - 0.959%, F2 - 0.806% and F3 - 0.589%), keeping fixed the concentrations of swine meat, bacon, water, refined salt, pepper and starter culture (Lyocarni SBM-11), which consists of *Staphylococcus xylosus*, *Staphylococcus carnosus*, and *Lactobacillus sakei* (anti-listeria), which in combination ensures a uniform and controlled production of fermented sausages.

The raw materials were previously weighed, and then the swine meat (7°C) was ground, with an 8 mm disc and the bacon ($\leq 5^{\circ}\text{C}$) chopped into cubes. After, the meat and bacon were mixed in a mixer and also added the liquid and powders seasonings. After, the mass was embedded in a collagen artificial casing, previously hydrated. The pieces were hung on aluminum poles and sent to the smokers. The smoking of the pieces was carried out with natural smoke, remaining in these conditions until reaching an internal temperature of the smokehouse $38^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ and an internal temperature of the product $36^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$, for approximately 32 h.

The maturation and drying process was carried out in a curing room, remaining until reaching water activity ≤ 0.90 and a final pH between 4.8 and 5.6, defining the end of maturation. Maturation occurred in 28 days. After, the products were washed, removing the artificial casing, the samples were kept in a dry and cool place at room temperature, vacuum-packed and packed in secondary cardboard boxes.

4.2.2. Characterization of formulations and evaluation of oxidative stability

For the characterization and evaluation of oxidative stability, random samples ($n = 3$) from each formulation were selected. The analyzes of protein and total fat were carried out after the stage of smoking and on the 1st day of shelf life, and the moisture, water activity, pH

and acidity were performed on initial mass and during the shelf life of the products (20-120 days). Nitrate and nitrite were evaluated after smoking and during the shelf life of products and lipid oxidation (substances reactive to thiobarbituric acid - TBARS) during the shelf life of products (20-120 days).

4.2.3. Analytical determinations

The moisture, pH and acidity contents were determined according to the methodology described by AOAC (2012). The levels of nitrate and nitrite were obtained following the methodology described by BRASIL (2005). The substances reactive to thiobarbituric acid (TBARS) were performed according to the methodology described by Raharjo et al. (1992), modified by Wang et al. (2002), following recommendations by Shahidi et al. (1997). The water activity was performed on a water activity meter (AquaLab, series, 3TE).

4.2.4. Microbiological analysis

Microbiological analyzes were carried out in the 120th, on the industry laboratory in accordance with Normative Instruction 60, of December 23, 2019 (BRASIL, 2019) for thermotolerant coliforms, positive coagulase *Staphylococcus*, *Listeria* and *Salmonella* sp.

4.2.5. Sensory Analysis

The study was approved by the Research Ethics Committee (URI-Erechim), registered at Brasil Plataform under number 91375418.0.0000.5351.

The sensory analysis were performed by 30 untrained judges, of both sexes, with age group of 20 to 50 years old, employees of an industry located in the Upper Uruguay of Rio Grande do Sul. The sensory evaluation of the formulations (F1, F2 and F3) of Italian type salami was performed during the shelf life (1, 20, 40, 60, 80, 100 and 120 days) using a consumer acceptance test - structured hedonic scale with 9 points (9 - I liked it a lot and 1 - I disliked it a lot) (Dutcosky, 2013). The samples were prepared by cross-sectioning the salami pieces with an average thickness of 3 mm, discarding the ends, being distributed in a balanced way in plastic plates coded with random numbers of three digits.

4.2.6. Statistical Analysis

The results ($n = 3$) obtained were statistically treated by analysis of variance (ANOVA), followed by the averages differences comparison by the Tukey's test, with a 95% confidence level, using the Statistica 7.0 software. For the Pearson correlation analysis and Principal Component Analysis (PCA), the XLSTAT 2020 program, Free version, was used.

4.3. RESULTS AND DISCUSSION

The values of water activity (a_w) and moisture (Table 1) decreased ($p < 0.05$) during storage and differed between the formulations, where formulation F3 showing greater water activity and moisture until the end of storage, because F3 contains in its composition a higher concentration of green tea (0.024%), lower sodium erythorbate (0.048%) and dehydrated glucose (0.589%) and contains 0.189% curing salt. Formulations F1 and F2 on the 1st day of storage (28 days of maturation) and F3 on the 20th day of storage were within the limits stipulated by Brazilian legislation (BRASIL, 2000), which defines that salami ready for consumption must present a maximum water activity of 0.92 and a maximum moisture of 35% after the maturation period.

The values of a_w (0.88) on the 28th day of maturation (1 day of storage) (Table 1), are similar to those obtained by Wang et al. (2018), that obtained 0.93, 0.85 and 0.83 in samples of salami, chinese dry-cured sausage and chinese smoked-cured sausage, respectively. Settanni et al. (2020) when studying fresh swine sausage containing rosemary and green tea extracts during retail verified a_w of 0.83 in 45 days of maturation. Fieira et al. (2015) found 0.894 to 0.899 in samples of Italian type salami prepared with different salts and initial cultures. A possible explanation for the a_w observed in the present study, may be related to the composition of the samples (higher or lower proportions of the different components), as well as to the salami maturation site (Kunrath et al., 2017).

Alamprese et al. (2016) found for fresh swine salami moisture of 32 to 34% on the 20th day of storage and also found a linear decrease with storage. As the relative humidity in the fermentation and ripening rooms is constantly kept lower than the a_w of salami, there is a difference in vapor pressure that causes the removal of moisture through the out side layers of the products. The water loss has to occur at the right speed and to be as uniform as possible in order to avoid case hardening that is negative for both safety and texture of salami. In addition, if a product is not dried at a suitable speed, the desired firmness (or loss in weight) will be

obtained in longer time and every day of extended drying or ripening is very costly (Fernández et al., 2000).

Table 4.1. Values of water activity (aw), moisture, protein, fat, nitrate and nitrite of formulations of Italian type Salami during storage.

Period	aw*			Moisture (%)*		
	F1	F2	F3	F1	F2	F3
Mass	0.961 ^{aA} (0.001)	0.963 ^{aA} (0.002)	0.963 ^{aA} (0.002)	-	-	-
Smoke	0.956 ^{abAB} (0.002)	0.959 ^{aAC} (0.002)	0.952 ^{bB} (0.002)	54.88 ^{aA} (0.006)	53.16 ^{cA} (0.006)	53.35 ^{Ba} (0.0001)
1**	0.886 ^{Af} (0.012)	0.880 ^{Af} (0.010)	0.893 ^{Ag} (0.003)	34.06 ^{Cc} (0.006)	34.64 ^{Bb} (0.010)	36.52 ^{Aa} (0.0001)
20	0.856 ^{Cgh} (0.001)	0.861 ^{Bg} (0.004)	0.868 ^{Aj} (0.001)	33.82 ^{Cc} (0.010)	34.04 ^{Bc} (0.000)	35.15 ^{Ac} (0.006)
40	0.841 ^{abI} (0.008)	0.842 ^{abH} (0.008)	0.853 ^{Ak} (0.003)	33.68 ^{Bd} (0.010)	33.57 ^{Ce} (0.010)	34.75 ^{Ae} (0.010)
60	0.851 ^{bcGHI} (0.005)	0.846 ^{CH} (0.004)	0.867 ^{aJ} (0.006)	32.50 ^{cG} (0.006)	34.00 ^{bD} (0.001)	34.48 ^{aF} (0.006)
80	0.859 ^{cGH} (0.002)	0.867 ^{bG} (0.004)	0.878 ^{aHI} (0.003)	32.51 ^{cG} (0.006)	32.82 ^{bG} (0.001)	34.77 ^{aD} (0.006)
100	0.861 ^{cG} (0.002)	0.861 ^{cG} (0.002)	0.882 ^{aHI} (0.002)	33.34 ^{bE} (0.006)	33.18 ^{cF} (0.001)	34.06 ^{aG} (0.006)
120	0.848 ^{CH} (0.001)	0.847 ^{CH} (0.002)	0.862 ^{aJ} (0.001)	32.78 ^{bF} (0.010)	32.44 ^{cH} (0.010)	34.06 ^{aG} (0.006)
	Protein (%)			Fat (%)		
Smoke	19.74 ^{cB} (0.006)	20.54 ^{aB} (0.006)	19.91 ^{bB} (< 0.001)	18.46 ^{cB} (0.006)	19.52 ^{bB} (0.006)	20.10 ^{aB} (< 0.001)
1**	29.91 ^{aA} (0.006)	29.77 ^{bA} (0.006)	27.67 ^{cA} (< 0.001)	26.08 ^{bA} (0.010)	25.68 ^{cA} (0.006)	27.26 ^{aA} (< 0.001)
	Nitrate (ppm)*			Nitrite (ppm)*		
Smoke	137.44 ^{aA} (0.026)	128.45 ^{bA} (0.010)	32.48 ^{cA} (0.006)	1.45 ^{cC} (0.010)	0.76 ^{bD} (0.006)	2.17 ^{aB} (0.006)
1**	54.89 ^{aB} (0.006)	15.50 ^{bB} (0.006)	5.84 ^{cbB} (0.006)	1.14 ^{cE} (0.006)	1.31 ^{bB} (0.010)	1.63 ^{aC} (0.006)
20	43.03 ^{aC} (0.017)	8.31 ^{bC} (0.012)	5.08 ^{bC} (0.006)	0.94 ^{bD} (0.006)	0.84 ^{aC} (0.010)	1.09 ^{aD} (0.0001)
40	20.32 ^{aD} (0.006)	4.59 ^{bE} (0.006)	3.67 ^{cD} (0.021)	1.15 ^{cF} (0.0001)	0.55 ^{aF} (0.006)	0.91 ^{bF} (0.0001)
60	16.56 ^{aE} (0.006)	4.78 ^{cD} (0.010)	1.57 ^{cE} (0.006)	1.74 ^{bA} (0.006)	1.02 ^{cE} (0.0001)	1.83 ^{aA} (0.0001)
80	13.81 ^{aF} (0.006)	0.00 ^{cF} (0.000)	0.00 ^{aF} (0.000)	1.21 ^{aB} (0.006)	0.96 ^{bA} (0.001)	0.93 ^{cE} (0.006)
100	0.00 ^{aG} (0.000)	0.00 ^{aF} (0.000)	0.00 ^{aF} (0.000)	0.00 ^{aG} (0.000)	0.00 ^{aH} (0.000)	0.00 ^{aG} (0.000)
120	0.00 ^{aG} (0.000)	0.00 ^{aF} (0.000)	0.00 ^{aF} (0.000)	0.00 ^{aG} (0.000)	0.00 ^{aG} (0.000)	0.00 ^{aG} (0.000)

*Mean ± standard deviation followed by the same lowercase letters in lines and uppercase in columns do not differ statistically at 5 % level (Tukey's test). **28 days of maturation

In meat products, the protein content has several roles that determine the yield, quality, structure and sensory attributes (Olivo; Shimokomaki, 2006). According to the results (Table 1).

1), there is a small variation in the protein content from 19.74 to 20.54% after smoking, and at 28 days of maturation values from 27.67 to 29.91%. Kunrath et al. (2017) when studying the application and evaluation of propolis as a natural antioxidant in Italian type salami verified values that varied from 28.86 to 32.78% 28 days after production, values similar to those obtained in this study.

Lipid is considered an important constituent of this meat product, as it gives the products juiciness, flavor and aroma (Olivo; Shimokomaki, 2006). The formulations showed a fat level of 18.46 to 20.10% after smoking, and at 28 days of maturation, values of 25.68 to 27.26% (Table 1). These variations are considered normal in this type of product, due to the presence of ingredients such as bacon and the distribution of these in the mass of the product part, which was also verified by Zanardi et al. (2004) and Settanni et al. (2020). The formulations after maturation are in accordance with current legislation (BRAZIL, 2000) which fixes for proteins the minimum of 25% and for fat maximum of 32%.

As shown in Table 1, it can be seen that for nitrate there was a significant difference ($p < 0.05$) between the formulations after smoking and on the 1st day of storage (corresponding to 28 days of maturation). F1 showed a significant difference ($p < 0.05$) from the other formulations until the 80th day of storage, and the values obtained for such formulation are higher when compared with F2 and F3. On the 100th day of storage, it appears that there is no significant difference ($p > 0.05$) between the formulations, presenting residual zero for nitrate. However, for nitrite was observed a significant difference ($p < 0.05$) between the formulations up to the 80th day of storage and on the 100th and 120th the samples show residual zero for nitrite.

Nitrite is responsible for color development and also for antimicrobial action. In fermented meat, nitrite is reduced to nitric oxide through the action of the enzyme nitrite reductase and when the pH of the medium is between 5.6 and 6.2 (Ritter, 2016; Gaziano et al., 2007). In the process of curing meat products, the levels of nitrite and nitrate tend to decrease after some time of storage, because both nitrite and nitrate are converted into other substances.

The pH values (Table 2) of salami changed during the maturation period, showing a higher value at the beginning of manufacture (6.02 to 5.81). The decrease of pH until 28 days of maturation probably occurred due to the presence of *Lactobacillus* in the initial culture added to

the formulation, obtaining a pH between 5.14 to 5.10. Marangoni; Moura (2011) studied Italian type salami with addition of essential oil *Coriandrum Sativum* L. as an antioxidant activity and found pH values 5.10 to 5.29, close to those observed in the present study. Italian type salami is evaluated with the addition of *C. Sativum* L. essential oil as an antioxidant activity.

In general, the formulations shown an increase in pH until the 40th day of storage and in the period of 40 to 80th days there is a decrease in pH, and an increase in acidity, which may be due to the production of organic acids (Terra et al., 2006). However, in the period of 100 and 120th of storage there is an increase ($p < 0.05$) in the pH for F3 and F2.

The decline in the pH value during the first days of ripening (fermentation) is very important due to the inhibition of undesired bacteria, rate of conversion of colour, and formation of desired flavour in dry-fermented sausages (Bozkurt, 2006). Furthermore, such acidification has positive technological aspects, including the faster drying and improved texture as a result of protein denaturation and coagulation and increased reddening through the formation of nitric oxide and nitrosyl myoglobin (Ammor; Mayo, 2007; Wang et al., 2018). Acidification promotes a decrease in pH until reaching the isoelectric point of proteins, release of water in sausages, thus reducing water activity and promoting properties such as feasibility (Pinto et al., 2001).

F3 showed higher ($p < 0.05$) values for TBARS after the 40th day of storage, which had lower levels of green tea (0.008%), sodium erythorbate (0.048%) and glucose (0.589%) and 0.189% curing salt. The formulations F1 and F2 with the addition of 0.016% of green tea showed a significant reduction in oxidative activity compared to formulation F3, demonstrating the effectiveness of green tea against oxidative damage.

Table 4.2. Values of pH, acidity and TBARS of formulations of Italian type Salami during storage.

Period	pH			Acidity (g/100g)			TBARS (mg malonaldehyde/kg)		
	F1	F2	F3	F1	F2	F3	F1	F2	F3
Mass	5.99 ^{aA} (0.085)	6.02 ^{aA} (0.031)	5.81 ^{bA} (0.010)	-	-	-	-	-	-
After smoke	4.96 ^{bDE} (0.015)	5.05 ^{aCE} (0.017)	5.12 ^{aDE} (0.046)	10.41 ^{bH} (0.006)	10.00 ^{cH} (0.000)	14.43 ^{aH} (0.006)	-	-	-
1**	5.14 ^{aD} (0.040)	5.10 ^{bCE} (0.012)	5.11 ^{abD} (0.012)	19.00 ^{bG} (0.006)	19.21 ^{aF} (0.006)	15.22 ^{cG} (0.000)	0.034 ^{cE} (0.004)	0.049 ^{aE} (0.005)	0.043 ^{bG} (0.005)
20	5.37 ^{abC} (0.076)	5.31 ^{bB} (0.026)	5.55 ^{aBC} (0.140)	20.93 ^{aF} (0.006)	18.29 ^{cG} (0.006)	20.00 ^{bF} (0.006)	0.075 ^{cC} (0.004)	0.097 ^{aC} (0.002)	0.082 ^{bF} (0.002)
40	5.64 ^{aB} (0.096)	5.50 ^{bB} (0.035)	5.66 ^{aAB} (0.021)	33.85 ^{aA} (0.006)	26.87 ^{bD} (0.010)	23.84 ^{cD} (0.010)	0.062 ^{cD} (0.008)	0.081 ^{bD} (0.016)	0.105 ^{aE} (0.016)
60	5.39 ^{aC} (0.036)	5.38 ^{aB} (0.055)	5.39 ^{aC} (0.045)	23.38 ^{aE} (0.010)	21.67 ^{cE} (0.012)	21.77 ^{bE} (0.006)	0.120 ^{bA} (0.010)	0.122 ^{bA} (0.02)	0.140 ^{aB} (0.009)
80	4.75 ^{cH} (0.006)	4.96 ^{bCDE} (0.020)	5.09 ^{aDHI} (0.012)	27.49 ^{aD} (0.006)	27.35 ^{bC} (0.006)	25.91 ^{cC} (0.006)	0.102 ^{bB} (0.004)	0.104 ^{bB} (0.028)	0.124 ^{aD} (0.065)
100	5.01 ^{cDEF} (0.012)	5.13 ^{bBC} (0.026)	5.27 ^{aCDH} (0.006)	30.64 ^{aB} (0.006)	28.78 ^{cB} (0.006)	28.83 ^{bA} (0.006)	0.117 ^{bA} (0.012)	0.121 ^{bA} (0.018)	0.136 ^{aC} (0.026)
120	5.11 ^{cD} (0.110)	6.04 ^{aA} (0.190)	5.51 ^{bBC} (0.070)	30.27 ^{aC} (0.006)	29.89 ^{bA} (0.006)	28.65 ^{cB} (0.006)	0.103 ^{bB} (0.008)	0.104 ^{bB} (0.010)	0.145 ^{aA} (0.014)

*Mean $\pm$ standard deviation followed by the same lowercase letters in lines and uppercase in columns do not differ statistically at 5% level (Tukey's test). **28 days of maturation

There are reports in the literature that natural antioxidants reduce the formation of TBARS more than BHT (Tang et al., 2001; Bozkurt, 2006). Finding the natural equivalent of synthetic antioxidants is important for human health because some synthetic antioxidants have carcinogenic activity and their usage in the food industry is more than the natural antioxidants (Bozkurt, 2006).

Marangoni; Moura (2011) with analysis of TBARS indicated that the coriander oil was more effective than BHT as an antioxidant in Italian type salami, where the use of only coriander oil was more efficient than in conjunction with BHT, presenting a significant effect greater than the BHT in relation to the amount of malonaldehyde present in the sample.

Terra et al. (2003), evaluated the action of different concentrations (0.5% and 1.0%) of yerba mate antioxidant and synthetic antioxidant (BHA) (0.025%) in improving the quality of Italian type salami and found that 0.5% of yerba mate extract and BHA showed the best results. Then to use 0.5% of yerba mate extract can be used as a substitute for the antioxidant BHA in Italian type salami. The antioxidant capacity of these extracts is largely due to the presence of phenolic compounds of various classes that are inherent to the plants (Jiang; Xiong, 2016). Phenolic compounds function predominantly as primary antioxidants via hydrogen atom donation, and quench reactive free radicals. The delocalization of the radical species in the phenol significantly reduces the reactivity of the ensuing radical compound (Liebler et al., 1990). In addition to scavenging free radicals, plant phenolics can also function as secondary antioxidants and chelate metal ions (Estévez; Heinonen, 2010). The antioxidative property of green tea is due to the presence of catechins, apicatechins, epicatechin gallate, epigallocatechin, and epigallocatechin gallate (Higdon; Frei, 2003; Bozkurt, 2006; Nimse; Pal, 2015; Oswell et al., 2018; Schilling et al., 2018).

The results of the microbiological analyzes presented results for Thermotolerant Coliforms ($<1.0 \times 10$ CFU/g), positive coagulase *Staphyococcus* (Absence/25g), *Salmonella* (Absence/25g) and *Listeria* (Absence/25g) in the formulations F1, F2 and F3, stored at room temperature for 120 days, and are on the standards of the Normative Instruction 60, of December 23, 2019 (Brazil, 2019), thus being suitable for human consumption. Consequently, the effective combined factors such as low pH, reduced a_w , nitrate or nitrite addition has contributed to the preservation of cured meat products (Rocelle et al., 1996), associated with the quality of raw material and the Good Practices of Manufacturing adopted during processing.

Table 4 and Figure 1 shows Pearson's correlation and principal components analysis (PCA) of physical-chemical and sensory variables of the formulations (F1, F2 and F3) in 0, 20, 40, 60, 80, 100 and 120th day of storage, respectively.

In Figure 1 the variables are represented as vectors, the longer the vector, the better the explanation of the variability between the variables. The first (PC1) and second (PC2) dimensions explained 64.04% of the total variance. The main component 1 (PC1) accounted for 36.23%, while the main component 2 (PC2) accounted for 27.81%. There is discrimination between the formulations of Salami, mainly F3 in relation to F1 and F2. F3 is the closest to the variables of moisture and aw at 0, 20, 40, 60 and 80th day of storage. F2 had the largest TBARS from 40 days of storage. F1 stood out in terms of acceptance (Table 3, Figure 1), with a higher initial and residual concentration of nitrate and nitrite on the 80th day of storage, because presenting in its formulation 0.016% green tea, 0.012% sodium nitrite and 0.013% sodium nitrate and also 0.081% sodium erythorbate and 0.806% dehydrated glucose, which positively influenced the sensory characteristics and oxidative stability of the product during storage.

Table 4.3. Average score of tasters for the acceptability of formulations of Italian type Salami during storage.

Days of storage	Formulations		
	F1	F2	F3
0	6.83 ^{cA}	6.60 ^{aB}	6.57 ^{aB}
20	6.72 ^{dA}	6.52 ^{bB}	6.47 ^{bB}
40	7.19 ^{aA}	6.20 ^{aB}	6.33 ^{cB}
60	7.12 ^{aA}	6.09 ^{dC}	6.40 ^{bB}
80	7.13 ^{aA}	6.44 ^{cB}	6.31 ^{cB}
100	6.93 ^{bA}	6.00 ^{dB}	6.16 ^{dB}

*Mean ± standard deviation followed by the same lowercase letters in columns and uppercase in lines do not differ statistically at 5% level (Tukey's test).

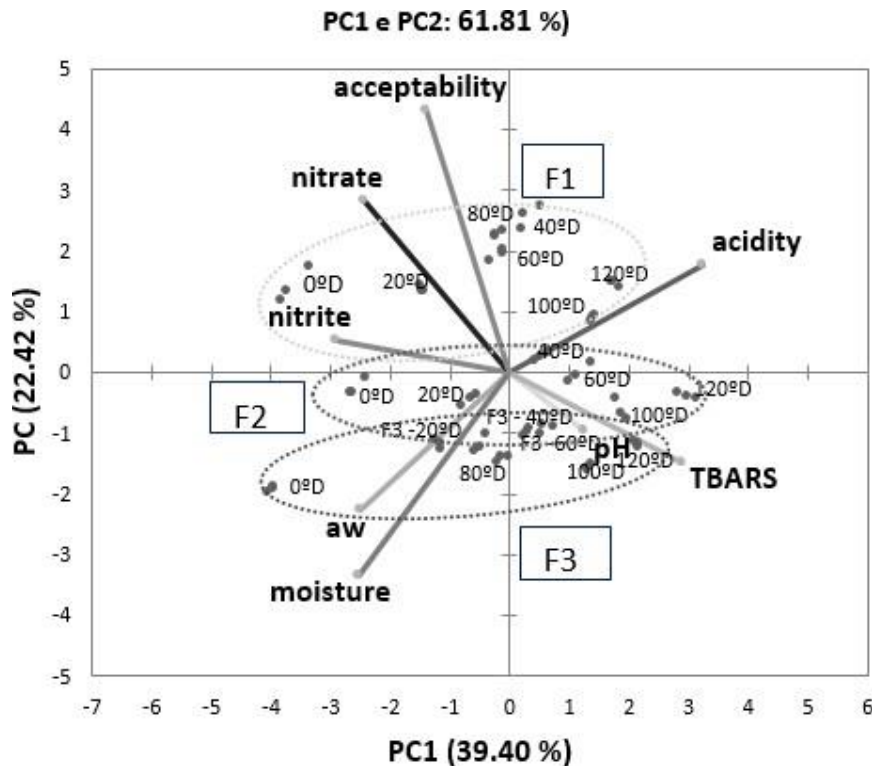
Table 44. Pearson correlation matrix for the variables nitrite, nitrate, pH, aw, moisture, acidity, TBARS and acceptability (accep.) of salami formulations on 0, 20, 40, 60, 80, 100 e 120th day of storage.

Variables	Nitrite	Nitrate	pH	aw	Moisture	Acidity	TBARS	Accep.
Nitrite	1							
Nitrate	0.366	1						
pH	-0.128	-0.072	1					
aw	0.228	0.141	-0.455	1				
Moisture	0.387	0.014	0.013	0.588	1			
Acidity	-0.635	-0.364	0.115	-0.507	-0.650	1		
TBARS	-0.372	-0.636	0.065	-0.261	-0.347	0.442	1	
Accep.	0.385	0.474	-0.369	-0.068	-0.212	0.048	-0.383	1

Values in bold the correlation > 0.47, significance level =0.05.

The values obtained by Pearson's correlation (Table 4) confirm the relationship between the parameters observed in PCA (Figure 1), where the nitrite concentration was negatively correlated ($p < 0.05$) with acidity ($r = -0.635$), indicating that by decreasing the nitrite content, the acidity of the product increases.

Figure 4.1. Principal Component Analysis (PCA) of salami formulations on 0, 20, 40, 60, 80, 100 e 120th day of storage.



Nitrate also is negatively correlated ($r = -0.636$) with TBARS and weakly correlated with acceptability ($r = 0.474$), indicating that by decreasing nitrate there is a tendency to increase oxidation and decrease acceptability. In addition, there is a positive correlation between aw and moisture ($r = 0.588$), and acidity is negatively correlated with nitrate ($r = -0.635$), aw ($r = -0.507$) and moisture ($r = -0.650$).

Thus, the results obtained indicated that the addition of green tea, associated with sodium nitrate/nitrite and sodium erythorbate reduces the formation of malonaldehydes, maintaining the oxidative stability and acceptance of the product during storage.

4.4. CONCLUSIONS

The natural antioxidant (green tea) was used in Italian Type Salami and its effect on safety and quality was investigated during the maturation periods. The addition of green tea, associated with sodium nitrate / nitrite and sodium erythorbate significantly reduced the formation of TBARS and did not affect the sensory quality of the product. Thus, this natural antioxidant can be easily used in Salami to improve quality and provide safer products.

ACKNOWLEDGMENTS

The authors thanks the National Council for Scientific and Technological Development (CNPq), Coordination for the Improvement of Higher Education Personnel (CAPES - Finance Code 001) and Research Support Foundation of the State of Rio Grande do Sul (FAPERGS).

COMPLIANCE WITH ETHICAL STANDARDS

The authors declare no potential conflicts of interest.

4.5. REFERENCES

- ALAMPRESE, C., FONGARO, L., CASIRAGHI, E. (2016). Effect of fresh pork meat conditioning on quality characteristics of salami. **Meat Science**, 119, 193 – 198.
- AMBROSIADIS, J., SOULTOS, N., ABRAHIM, A., BLOUKAS, J. G. (2004). Physicochemical, microbiological and sensory attributes for the characterization of Greek traditional sausages. **Meat Science**, 66 (2), 279 – 287.
- AMMOR, M. S., MAYO, B. (2007). Selection criteria for lactic acid bacteria to be used as functional starter cultures in dry sausage production: An update. **Meat Science**, 76 (1), 138 – 146.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS - AOAC. (2012). Official methods of analysis. 19. ed. Maryland: [s.n.].
- BEAL, P., FAION, A. M., CICHOSKI, A. J., CANSIAN, R. L., VALDUGA, A. T., DE OLIVEIRA, D., VALDUGA, E. (2011). Oxidative stability of fermented Italian-type sausages using mate leaves (*Ilexparaguariensis* St. Hil) extract as natural antioxidant. **International Journal of Food Sciences and Nutrition**, 62, 703 – 710.
- BISWAS, A. K., KESHRI, R. C., BISHT, G. S. (2004). Effect of enrobing and antioxidants on quality characteristics of precooked pork patties under chilled and frozen storage conditions. **Meat Science**, 66, 733 – 741.

- BOZKURT, H. (2006). Utilization of natural antioxidants: Green tea extract and *Thymbra spicata* oil in Turkish dry-fermented sausage. **Meat Science**, 73, 442 – 450.
- BRASIL. (2000). Instrução Normativa nº 22 de 31 Julho de 2000 da **Secretaria de Defesa Agropecuária do Ministério da Agricultura e do Abastecimento**. Diário Oficial, 03 Agosto 2000.
- BRASIL. (2005). Ministério da Saúde, **Agência Nacional de Vigilância Sanitária**. Métodos Físico- Químicos para Análise de alimentos/ Ministério da Saúde, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. – Brasília: Ministério da Saúde. 1018p.
- BRASIL. (2019). Instrução Normativa nº 60 de 23 de dezembro de 2019 da **Secretaria de Defesa Agropecuária do Ministério da Agricultura e do Abastecimento**. Diário Oficial, 26 Dezembro de 2019.
- CAMPAGNOL, P. C. B. (2007). Cultura Starter seleciona meio de cultura de plasma e antioxidante natural na elaboração de salame. 2007. 74 f. **Dissertação** (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria.
- CICHOSKI, A. J., TERRA, N. N., FREITAS, R. S. (2004). Teoria dos obstáculos (Hurdle technology) em produtos cárneos curados. **Higiene Alimentar**, 18, 33 – 36.
- CORÓ, F. A. G.; GAINO, V. O.; CARNEIRO, J.; COELHO, A. R.; PEDRÃO, M. R. (2019). Control of lipid oxidation in jerked beef through the replacement of sodium nitrite by natural extracts of yerba mate and propolis as antioxidant agente. **Brazilian Journal of Development**, 6 (1), 4834 – 4850.
- CUNHA, L. C. M., MONTEIRO, M. L. G., LORENZO, J. M., MUNEKATA, P. E. S., MUCHENJE, V., FRANCISCO DE CARVALHO, F. A. L., CONTE-JUNIOR, C. A. (2018). Natural antioxidants in processing and storage stability of sheep and goat meat products. **Food Research International**, 111, 379 – 390.
- DALLA SANTA, O. R. (2008). Avaliação da qualidade de salames artesanais e seleção de culturas starter para a produção de salame tipo italiano. (**Tese** de Doutorado – Tecnologia de Alimentos, Setor de Tecnologia). Universidade Federal do Paraná.
- DUTCOSKY, S. D. (2013). **Análise Sensorial de Alimentos**. Fourth ed. Champagnat – Pucpress, Curitiba.
- ESTÉVEZ M., HEINONEN, M. (2010). Effect of phenolic compounds on the formation of α -amoniadipic and γ -glutamic semialdehydes from myofibrillar proteins oxidized by copper, iron, and myoglobin. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 58, 4448 – 4455.
- FERNÁNDEZ, M., ORDÓÑEZ, J. A., BRUNA, J. M., HERRANZ, B., DE LA HOZ, L. (2000). Accelerated ripening of dry fermented sausages. **Trends in Food Science & Technology**, 11, 201 – 209.
- FERNANDEZ-LOPEZ, J., SEVILLA, L., SAYAS-BARBERA, E., NAVARRO, C., MARIN, F., & PEREZ-ALVAREZ, J. A. (2003). Evaluation of the antioxidant potential of hyssop (*Hyssopus officinalis* L.) and rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) extracts in cooked pork meat. **Journal of Food Science**, 68, 660 – 664.
- FIEIRA, C.; MARCHI, J. F; ALFARO, A. T. (2015). Substituição parcial do cloreto de sódio no salame italiano e influência nas propriedades sensoriais e na textura. **Acta Scientiarum Technology Maringá**, 37(2), 293 – 299.

- FORMANEK, Z., KERRY, J. P., HIGGINS, F. M., BUCKLEY, D. J., MORRISSEY, P. A., FARKAS, J. (2001). Addition of synthetic and natural antioxidants to alpha-tocopheryl acetate supplemented beef patties: Effects of antioxidants and packaging on lipid oxidation. **Meat Science**, 58, 337–341.
- GARCÍA-LOMILLO, J., GONZALEZ-SANJOSE, M.L., DEL PINO-GARCIA, R., ORTEGA-HERAS, M., MUÑIZ- RODRÍGUEZ, P. (2017). Antioxidant effect of seasonings derived from wine pomace on lipid oxidation in refrigerated and frozen beef patties. **Food Science and Technology**, 77, 85 – 91.
- GAZIANO, T. A., GALEA, G., REDDY, K. S. (2007). Scaling up intervention for chronic disease prevention: the evidence. **The Lancet**. 370, 1939 – 1946.
- HIGDON, J. V., FREI, B. (2003). Tea catechins and polyphenols: health effects, metabolism, and antioxidant functions. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, 43, 89 – 143.
- JAYATHILAKAN, K., SHARMA, G. K., RADHAKRISHNA, K., BAWA, A. S. (2007). Antioxidant potential of synthetic and natural antioxidants and its effect on warmed-over-flavour in different species of meat. **Food Chemistry**, 105, 908 – 916.
- JIANG, J., XIONG, Y. L. (2016). Natural antioxidants as food and feed additives to promote health benefits and quality of meat products: A review. **Meat Science**, 120, 107 – 117.
- JONGBERG, S., LUND, M. N., SKIBSTED, L. H. (2017). Protein Oxidation in Meat and Meat Products. Challenges for Antioxidative Protection. **Global Food Security and Wellness**, 315 – 337.
- KARAKAYA, M., BAYRAK, E., ULUSOY, K. (2011). Use of natural antioxidants in meat and meat products. **Journal of Food Science and Engineering**, 1, 1–10.
- KARRE, L., LOPEZ, K., & GETTY, K. J. K. (2013). Natural antioxidants in meat and poultry products. **Meat Science**, 94, 220 – 227.
- KUNRATH, C. A., SAVOLDI, D. C., MILESKI, J. P. F., NOVELLO, C. R., ALFARO, A. T., MARCHI, J. F., TONIAL, I. B. (2017). Application and evaluation of propolis, the natural antioxidant in Italian-type salami. **Brazil Journal of Food Technology**. Campinas, v. 20.
- LIEBLER, D. C., BAKER, P. F., KAYSEN, K. L. (1990). Oxidation of vitamin E: evidence for competing autoxidation and peroxy radical trapping reactions of the tocopheroxyl radical. **Journal of the American Chemical Society**, 112, 6995 – 7000.
- MARANGONI, C., MOURA, N. F. (2011). Antioxidant activity of essential oil from *Coriandrum Sativum* L. in Italian salami. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, 31(1), 124 – 128.
- MELO; E. A., GUERRA, N. B. (2002). Ação antioxidante de compostos fenólicos naturalmente presentes em alimentos. **Boletim da Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos**, 36 (1), 1 – 11.
- MC CARTHY, T. L., KERRY, J. P., KERRY, J. F., LYNCH, P. B., BUCKLEY, D. J. (2001). Assessment of the antioxidant potencial of natural food and plant extracts in fresh and previously frozen pork patties. **Meat Science**, 57, 177 – 184.
- NIMSE, S. B., PAL, D. (2015). Free radicals, natural antioxidants, and their reaction mechanisms. **RSC Advances**, 5, 27986 – 28006.
- OLIVO, R., SHIMOKOMAKI, M. (2006). **Fatores que influenciam como características das matérias- primas e suas implicações tecnológicas**. In: Shimokomaki, M.; Olivo, R.;

- Franco, B. D. G. M.; Terra, N. N. Atualidades em ciência e tecnologia de carnes. São Paulo: Livraria Varela, 236 p.
- OSWELL, N. J., THIPPAREDDI, H., PEGG, R. B. (2018). Practical use of natural antioxidants in meat products in the U.S.: A review. **Meat Science**, 145, 469 – 479.
- PEREIRA, L. F. S., INÁCIO, M. L. C., PEREIRA, R. C., ANGELIS-PEREIRA, M. C. (2015). Prevalência de Aditivos em Alimentos Industrializados Comercializados em uma Cidade do Sul de Minas Gerais. **Revista Ciências em Saúde**, v. 5.
- PIEDADE, K. R. (2007). Uso de ervas aromáticas na estabilidade oxidativa de filés de sardinha (*Sardinella brasiliensis*). **Dissertação** (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) Universidade de São Paulo, Piracicaba-SP.
- PINTO, M. F., PONSANO, E. H. G., HEINEMANN, R. J. B. (2001). Bactérias envolvidas no processamento de produtos cárneos – uma revisão. **Boletim do BCTA**, 35 (1-2), 109 – 116.
- PRETE, R. DE O.; SERAFIM, R. A.; DE SOUZA, D. F. M.; SAKANAKA, L. S.; YAMAGUCHI, M. M. (2020). Caracterização e aplicação de óleo de orégano como antioxidante natural em linguiça suína frescal. **Brazilian Journal of Development**, 6 (7), 44109 – 44118.
- RABABAH, T. M., EREIFEJ, K. I., ALHAMAD, M. N., AL-QUDAH, K. M., ROUSAN, L. M., AL-MAHASNEH, M.A., AL-U'DATT, M. H., YANG, W. (2011). Effects of green tea and grape seed and TBHQ on physicochemical properties of Baladi goat meats. **International Journal of Food Properties**, 14, 1208 – 1216.
- RAHARJO, S., SOFOS, J. N., SCHMIDT, G. R. (1992). Improved speed, specificity, and limit of determination of an aqueous acid extraction thiobarbituric acid-C18 method for measuring lipid peroxidation in beef. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 40 (50), 2182 – 2185.
- RIBEIRO, A. C. (2015). Efeito da adição de óleo essencial de pimenta (*Schinusterebinthifolius Raddi*) microencapsulado em queijo minas frescal. 86 f. **Dissertação** (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos), Universidade Federal do Espírito Santo, Alegre.
- RIBEIRO, J. S., SANTOS, M. J. M. C., SILVA, L. K. R., PEREIRA, L. C. L., SANTOS, I. A., LANNES, S. C. S., SILVA, M. V. (2019). Natural antioxidants used in meat products: A brief review. **Meat Science**, 148, 181 – 188.
- RITTER, A. R. C. (2016). Produção de salame tipo Italiano adicionado de culturas iniciadoras nativas e extrato de aipo (*Apium graveolens* L.) como fonte de nitrato. **Dissertação** (Mestrado em Ciencia e Tecnologia de Alimentos). Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel da Universidade Federal de Pelotas.
- ROCELLE, M., CLAVERO, S., LARRY, R. (1996). Survival of Escherichia coli O157:H7 in broth and processed salami as influenced by pH, water activity, and temperature and suitability of media for its recovery. **Applied and Environmental Microbiology**, 62 (8), 2735 – 2740.
- SETTANNI, L., BARBACCIA, P., BONANNO, A., PONTE, M., DI GERLANDO, R., FRANCIOSI, E., DI GRIGOLI, A., GAGLIO, R. (2020). Evolution of indigenous starter microorganisms and physicochemical parameters in spontaneously fermented beef, horse, wild boar and pork salamis produced under controlled conditions. **Food Microbiology**, 87, 103 – 385.

- SUMMO, C., CAPONIO, F., PASQUALONE, A. (2006). Effect of vacuum-packaging storage on the quality level of ripened sausages. **Meat Science**, 74 (2), 249-254.
- SCHILLING, M. W., PHAM, A. J., WILLIAMS, J. B., XIONG, Y. L., DHOWLAGHAR, N., TOLENTINO, A. C., KIN, S. (2018). Changes in the physiochemical, microbial, and sensory characteristics of fresh pork sausage containing rosemary and green tea extracts during retail display. **Meat Science**, 143, 199 – 209.
- SHAH, M. A., DON BOSCO, S. J., MIR, S. A. (2014). Plant extracts as natural antioxidants in meat and meat products. **Meat Science**, 98, 21 – 33.
- SHAHIDI, F; SYNOWIECKI, J. (1997). Protein hidrolizates from seal meat as phosphate alternatives in food processing applications. **Food Chemistry**, 60 (1), 29-32.
- SHAN, B., CAI, Y. Z., BROOKS, J. D., CORKE, H. (2009). Antibacterial and antioxidant effects of five spice and herb extracts as natural preservatives of raw pork. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, 89, 1879–1885.
- TANG, S., KERRY, J. P., SHEEHAN, D., BUCKLEY, D. J., MORRISSEY, P. A. (2001). Antioxidative effect of added tea catechins on susceptibility of cooked red meat, poultry and fish patties to lipid oxidation. **Food Research International**, 34, 651 – 657.
- TERRA, N. N., DE CARLI, E. M., TELLES, M. M., DREHMER, A. M. F., QUADROS, C. P., MALHEIROS, P. S., WAGNER, R.; FRIES, L. L. M. (2003). Antioxidante natural na melhoria da qualidade do salame tipo italiano. In: 2º Simpósio em Ciência de Alimentos (2003: Florianópolis). Anais. Florianópolis: SBCTA.
- TERRA, N. N., FRIES, L. L. M., KUBOTA, E. H. (2005). Natural antioxidants in mechanically deboned chicken meat and meat products protection. Projeto de pesquisa. 22 p. Departamento de Tecnologia e Ciência dos Alimentos. Centro de Ciências Rurais. Universidade Federal de Santa Maria, 2005.
- TERRA, N., CICHOSKI, A. J., FREITAS, R. J. S. (2006). Valores de nitrito e TBARS durante o processamento e armazenamento da paleta suína curada, maturada e fermentada. **Ciência Rural**, 36 (3), 965 – 970.
- TERRA, N. N., MILANI, L. I. G., FRIES, L. L. M., URNAU, D., CIROLINI, A., SANTOS, B. A. (2008). Extrato de erva-mate (*Ilex paraguariensis*) como antioxidante em carne de peru submetida a tratamento térmico. **Revista Higiene Alimentar**, 22, 189 – 193.
- WANG, B., PACE, R. D., DESSAI, A. P., BOVELL-BENJAMIN, A., PHILLIPS, B. (2002). Modified extraction method for determinating 2-Thiobarbituric acid values in meat with increased specificity and simplicity. **Journal of Food Science**, 67 (8), 2833 – 2836.
- WANG, X., ZHANG, Y., REN, H., ZHAN, Y. (2018). Comparison of bacterial diversity profiles and microbial safety assessment of salami, Chinese dry-cured sausage and Chinese smoked-cured sausage by high-throughput sequencing. **Food Science and Technology**, 90, 108 – 115.
- ZANARDI, E., GHIDINI, S., BATTAGLIA, A., CHIZZOLINI, R. (2004). Lipolysis and lipid oxidation in fermented sausages depending on different processing conditions and different antioxidants. **Meat Science**, 66, 415 – 423.

5. SALAME COM CULTURA *STARTER* ENCAPSULADA

Resumo

O objetivo deste trabalho foi produzir microcápsulas de cultura *starter* (*Staphylococcus xylosus*, *Staphylococcus carnosus*, e *Lactobacillus sakei*) com agente encapsulante composto por leite em pó integral (1,92%), maltodextrina (1,28%), trehalose (1,28%), frutoligossacarídeo (1,28%), hi-maize® 260 (0,64%) e tween 80 (0,1%), e secagem por *spray drying* variando a temperatura de entrada (70°C, 80°C e 100°C). Nas microcápsulas avaliou-se a atividade de água (*aw*), umidade, contagem de células viáveis. Após a secagem por *spray drying* a taxa de sobrevivência da cultura *starter* encapsulada foi superior a 88% na temperatura de 100°C a cápsula apresentou atividade de água de 0,206 e umidade de 1,5%. A aplicação das microcápsulas de cultura *starter* na produção de salame interferiu positivamente nas características físico-químicas e sensoriais do salame. O salame com a cultura encapsulada (F4) apresentou melhor aceitação pelos consumidores e um residual de nitrito até 120 dias de armazenamento.

Palavras-chave: cultura *starter*; microencapsulação; *spray drying*; *shelf life*.

5.1. Introdução

As culturas *starters* fazem parte da fabricação de produtos cárneos fermentados, como um aditivo tecnológico, e são constituídas por numerosas espécies de micro-organismos. São responsáveis pela: inibição dos micro-organismos indesejáveis, redução do tempo de fabricação, homogeneidade do produto, controle do metabolismo bacteriano melhorando as características sensoriais, facilidade de uso tecnológico, aumento do valor nutricional (FIEIRA *et al.*, 2017). A microencapsulação tem sido estudada como alternativa para manter a liberação controlada destes micro-organismos, visando atender a estas características tecnológicas, sensoriais e microbiológicas.

A microencapsulação é uma técnica de encapsulação de substâncias ativas através de um agente encapsulante, o qual as protege do ambiente adverso, evitando o efeito de sua exposição inadequada. O agente encapsulante forma uma cápsula que se desfaz através de estímulo específico, liberando as substâncias ativas no local ideal (SILVA *et al.*, 2014).

Segundo Sobrinho; Farias (2012) a microencapsulação é definida como a tecnologia de empacotamento de partículas sólidas, líquidas ou gasosas em microcápsulas seladas onde seus

índices são liberados em taxas controladas sob influência de determinados estímulos. Este procedimento envolve a incorporação de ingredientes alimentares, enzimas, células ou outros materiais em pequenas cápsulas. Segundo Burgain *et al.*, (2011) alguns métodos tem sido usados para encapsulação de probióticos, dentre eles pode se destacar o método por *spray drying*. Esse método envolve a atomização de uma emulsão ou de uma suspensão de probióticos e agentes de encapsulação em uma câmara de secagem por ar quente, resultando na rápida evaporação da água. As vantagens do método por *spray drying* são a sua rapidez e custo relativamente baixo. A técnica é altamente reprodutível e sua característica mais importante consiste na adequação para aplicações industriais.

Para a indústria de alimentos essa tecnologia tem sido bastante utilizada, uma vez que facilita a aplicação de ingredientes instáveis, além de melhorar o processamento e a textura dos ingredientes devido a uma menor higroscopicidade, aumento da solubilidade e capacidade de dispersão em diferentes tipos de materiais (COMUNIAN; FAVARO-TRINDADE, 2016). Além disso, existe a possibilidade de controle da liberação no local de ação dos compostos de interesse. A aplicação desta técnica tem como objetivos principais proteger o material ativo contra agentes atmosféricos, reduzindo, assim, interações que resultem em perda de coloração, aroma, sabor e valor nutricional; incorporar ingredientes como, por exemplo, temperos, aromas, vitaminas e minerais; inibir sabor, cor ou odor indesejável; promover melhor solubilidade; facilitar o manuseio; prolongar a vida de prateleira de compostos alimentares e reduzir perda de voláteis (MENEZES *et al.*, 2012).

Segundo Andrade *et al.* (2011), a microencapsulação além de converter líquido à pó, ainda permite controlar a liberação de um determinado composto que possa atribuir sabor, odor ou que, de alguma forma, atue na conservação da qualidade do produto. Assim, nos últimos anos, com o conceito de liberação controlada do ingrediente encapsulado no lugar e no tempo certo, a microencapsulação de compostos bioativos se tornou muito atrativa, cuja técnica permite ampliar a gama de aplicações de ingredientes em alimentos, sendo considerada não apenas um adicional, mas também uma fonte de novos ingredientes com propriedades incomparáveis (GOUIN, 2004).

Desta forma, o presente trabalho teve como objetivo produzir microcápsulas de cultura *starter* com diferentes agentes encapsulantes através de *spray drying* e avaliar sua aplicação em salame através de análises sensoriais e físico-químicas durante a sua vida de prateleira.

5.2. Material e Métodos

5.3. Cultura Starter

Cultura starter Lyocarni SBM-11 (*Staphylococcus xylosus*, *Staphylococcus carnosus*, e *Lactobacillus sakei*) Sacco Brasil com contagem de células $2,7 \times 10^{10}$ UFC/g (10,43 Log UFC/g)

5.3.1. Formação da microcápsula

Para a formulação do material de parede foram utilizados os seguintes ingredientes: leite em pó integral, maltodextrina, trehalose, frutoligossacarídeo, hi-maize® 260 e Tween 80 (solução 0,1%), a escolha destas variáveis foi baseada em dados da literatura (SILVA, 2014) com algumas modificações. Os agentes encapsulantes foram adicionados em um béquer, nas proporções conforme descrito na Tabela 5.1, juntamente com a solução tampão fosfato 0,05M pH 7,6, onde permaneceram hidratando sob homogeneização constante em agitador magnético por um período de 1h. Posteriormente, foi realizada a incorporação da cultura *starter* a matriz encapsulante, permanecendo por 1h em hidratação sob agitação.

Tabela 5.1. Proporções utilizadas para a formação da microcápsula de cultura *starter* (50 mL de solução de tampão).

Agente Encapsulantes	Proporções (% m/v)
Leite em pó integral	1,92
Maltodextrina	1,28
Trehalose	1,28
Frutoligossacarídeo	1,28
Hi-maize® 260	0,64
Tween 80	0,1

Decorrido o tempo de hidratação realizou-se o processo de secagem em *spray dryer* (Figura 5.1), (Lab Plant SD-05), com bico injetor de 0,5 mm de diâmetro. A alimentação foi realizada através de uma bomba peristáltica, durante o processo de secagem a amostra permaneceu sob agitação em temperatura ambiente. Na Tabela 5.2 estão descritas as variáveis de processos utilizadas na microencapsulação. Após o processo de secagem as amostras foram

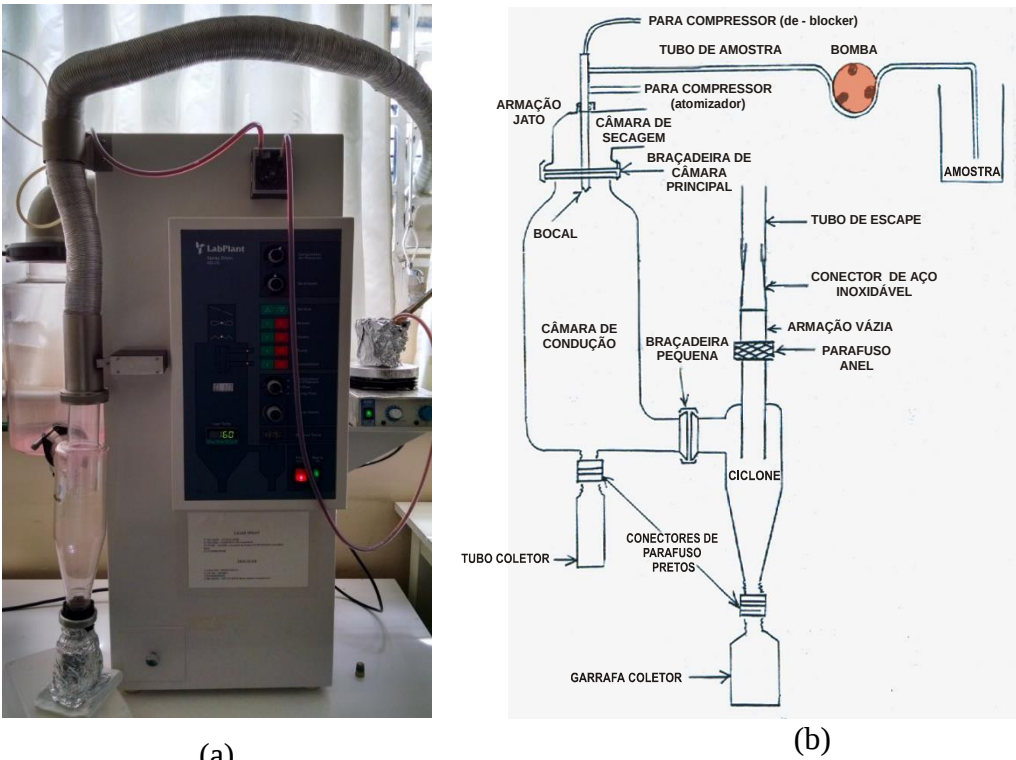
armazenadas em frascos de vidro âmbar em temperatura ambiente até o momento das análises de atividade de água (aw), umidade, contagem de células viáveis.

Tabela 5.2. Variáveis de processo utilizadas no encapsulamento da cultura *starter* na secagem por *Spray Drying* com diferentes temperaturas.

T_e (°C)	T_s (°C)	P (bar)	Vazão da amostra (mL/h)
70	40	0,7	140
80	46		280
100	52		315

Onde: T_e = temperatura de entrada do ar, T_s = Temperatura de saída do ar da câmara de secagem, P= pressão de entrada do ar.

Figura 5.1. Aspecto geral do *spray dryer* utilizado no encapsulamento (a) e representação esquemática dos componentes (b).



(a)

(b)

Fonte: Pauletto (2016).

5.3.2. Caracterização das Microcápsulas

A microcápsula contendo cultura *starter* com a melhor condição foi caracterizada em termos de umidade, atividade de água (aw), microscopia eletrônica (MEV) e difração de raios X (DRX) e viabilidade.

5.3.2.1. Umidade

O teor de umidade dos materiais de parede e das micropartículas obtidas foi determinado através de balança de infravermelho ID 200 (MARCONI), onde 3g de amostra foi mantida a 105°C até atingir peso constante. O teor de água é dado em %, sendo resultado da diferença da massa da amostra entre o seu t_0 (tempo inicial) e o t_f (tempo final).

5.3.2.2. Atividade de água

A atividade de água dos materiais de parede e das micropartículas obtidas foi determinada utilizando o equipamento Novasina AG (CH-8853, Lachen Swetzerland), após previa estabilização das amostras a 25°C.

5.3.2.3. Microscopia eletrônica de varredura – MEV

A análise morfológica da microcápsula foi obtida através de microscopia eletrônica de varredura – MEV, utilizando um microscópio marca Zeiss, modelo EVO LS25. Para o recobrimento da superfície das amostras com ouro foi utilizado um metalizador Quorum, SC 7620. As micrografias foram obtidas na tensão de 30 KV.

5.3.2.4. Difração de Raios X (DRX)

As análises por difração de raios X foram realizadas em um Rigaku MiniFlex II Desktop X-Ray Diffraktometer, utilizando radiação $\text{CuK}\alpha$ ($\lambda = 1,54 \text{ \AA}$). As análises foram realizadas em ângulo de 2Θ (1,5 a 65°), utilizando um tubo de raios X, voltagem de 30,0 (kV) e corrente de 15,0 (mA). Velocidade de varredura de 5°/min e 0,05 de passo.

5.3.2.5. Viabilidade da cultura *starter* encapsulada

A viabilidade da cultura *starter* encapsulada foi determinada pela contagem das células viáveis. Para tanto, 0,1g da microcápsula foi adicionada em tubos de ensaio contendo 1 mL de água peptona 0,1%, na sequencia realizou-se diluição seriada (10^{-4} a 10^{-9}), vale salientar que após cada diluição as amostras foram submetidas à agitação manual (GROSSO; FÁVARO-TRINDADE, 2004). A inoculação foi realizada em ágar MRS pela técnica de semeadura em profundidade e incubação a 37°C, em anaerobiose (GaspakTM EZ Anaerobe, BD), por 72 h (VINDEROLA; REINHEIMER, 2000). Os resultados da contagem da cultura *starter* foram expressos em Log UFC/g e também em taxa de sobrevivência (%), levando-se em consideração a contagem inicial e após o encapsulamento e secagem.

5.3.3. Elaboração de formulações de salame com cultura *starter* livre e encapsulada

As formulações estudadas de salame foram desenvolvidas em uma agroindústria situada no Alto Uruguai do Rio Grande do Sul, sob condições tradicionais de processamento de acordo com a Instrução Normativa N° 22, de 31 de Julho de 2000. Os ingredientes e quantidades de cada formulação são apresentados na Tabela 5.3.

Tabela 5.3. Formulações utilizadas na aplicação da cultura *starter* encapsulada em salame.

Ingredientes	Formulações (%)	
	F1*	F4
Carne Suína	87,096	87,096
Toucinho	8,710	8,710
Água	0,085	0,085
Sal Refinado	2,562	2,562
Glicose Desidratada	0,950	0,950
Cond. Salame	0,484	0,484
Pimenta	0,095	0,095
Eritorbato de Sódio	0,097	0,097
Cultura <i>Starter</i> livre	0,013	-
Cultura <i>Starter</i> encapsulada	-	0,013
Chá Verde	0,016	0,016
Nitrito de Sódio	0,012	0,012

Nitrato de Sódio	0,016	0,016
-------------------------	-------	-------

*Formulação definida a partir dos resultados do Capítulo 4.

As matérias-primas foram previamente pesadas e posteriormente a carne suína (7°C) foi moída, com disco 8 mm e o toucinho ($\leq 5^\circ\text{C}$) picado em cubos. Após essa etapa foi realizada a mistura das carnes e o toucinho e a cultura livre (F1) e/ou encapsulada (F4) em uma misturadeira, onde foram adicionados os temperos líquidos e os temperos em pós, previamente pesados.

Após o preparo da massa realizou-se o embutimento em tripa de colágeno não comestível, previamente hidratada. As peças foram penduradas em varas de alumínio e seguindo para os fumeiros. A defumação das peças foi realizada com fumaça natural, permanecendo nessas condições até atingir uma temperatura interna do fumeiro $38^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$ e uma temperatura interna do produto $36^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$, por um período de aproximadamente 32h.

O processo de maturação e secagem foi realizado em uma sala de cura, permanecendo até atingir a atividade de água $\leq 0,90$ e um pH final entre 4,8 e 5,6, definindo o término da maturação de aproximadamente 28 dias.

Finalizada a maturação os produtos foram lavados, removendo-se a tripa de colágeno não comestível, as amostras permanecerem em local seco e fresco em uma temperatura ambiente (25°C), embalados a vácuo em embalagem termoencolhível, dentro de caixas secundária de papelão, evitando, com isso exposição ao oxigênio de luminosidade até serem encaminhados para análises.

5.3.3.1. Análises Físico-Químicas

Foram coletadas amostras das duas formulações (F1 e F4), sendo para pH, atividade de água, nitrato e nitrito uma amostragem inicial da massa de cada formulação e uma amostragem de cada formulação após a defumação do produto. Após a maturação do salame realizaram-se análises sensoriais e análises físico-químicas de pH, atividade de água, nitrato e nitrito, umidade, oxidação lipídica (TBARS), acidez e cor durante a vida de prateleira (0, 30, 45, 60, 75, 90, 120 e 135 dias).

5.3.3.2. Atividade de Água

A atividade de água foi determinada em amostras previamente trituradas, utilizando-se o medidor de atividade de água Aqualad Models Series 3 and 3TE realizando-se a leitura $a_w/T^{\circ}\text{C}$ da amostra.

5.3.3.3. pH

As modificações de pH foram monitoradas em pHmetro DIGIMED calibrado com soluções tampão de pH 4, 7 e 10 em amostras preparadas pela mistura de 10g de salame e 100mL de água destilada (IAL, 2008).

5.3.3.4. Nitrato e Nitrito

O teor de nitrato e nitrito foi determinado conforme metodologia descrita por Brasil (2005). Da amostra previamente triturada e homogeneizada foram pesados 10g em seguida adicionou-se 5 mL de bórax e cerca de 40 mL de água destilada à temperatura acima de 70°C, esfriando-se à temperatura ambiente. Adicionou-se 2 mL de ferrocianeto de potássio e 2 mL de acetato de zinco, as amostras foram agitadas vigorosamente após cada adição. As amostras foram transferidas para um balão de 100 mL, aonde o mesmo permaneceu em repouso durante 30min em temperatura ambiente (20°C a 25°C). O mesmo procedimento foi realizado para o preparo do branco de reagentes (sem amostra). Completou-se o volume com água destilada. Agitou-se o conteúdo do balão vigorosamente e o mesmo foi filtrado em papel livre de nitrato e nitrito. Pipetou-se 10 mL do branco de reagentes e das amostras, respectivamente, para balões volumétricos âmbar de 25 mL, adicionou-se 5 mL de tampão e 10 mL de α -naftol. As amostras foram incubadas em estufa a uma temperatura de 25 a 30°C durante 30min. A leitura da absorbância foi realizada em espectrofotômetro UV/VIS a 474nm. O nitrato (NO_3) é reduzido a nitrito (NO_2) em coluna de cádmio metálico em meio alcalino. Pipetou-se 20 mL da amostra filtrada e adicionou-se 5 mL de tampão e passou-se a amostra pela coluna. Desprezou-se os 5 primeiros mL, e recolheu-se os demais em um balão de 100 mL. Após a adição da amostra passou-se água destilada pela coluna recolhendo o eluado até completar o volume do balão. Quando completou o volume do balão pipetou-se 10 mL do eluado recolhido em um balão volumétrico âmbar de 25 mL e adicionou-se 5 mL de tampão e 10 mL de α -naftol. As amostras

foram incubadas em estufa a uma temperatura de 25 a 30°C durante 30min. O produto resultante foi determinado espectrofotometricamente a 474nm, resultados expressos em ppm.

5.3.3.5. Umidade

A umidade foi determinada conforme metodologia descrita pela AOAC (2012). Primeiramente higienizaram-se os cadinhos de inox e colocou-se para secar em estufa, contendo uma quantidade de areia do mar e um bastão de vidro a 105°C por um período de 4h, com o intuito de eliminar qualquer interferência na análise. Posteriormente, os cadinhos foram resfriados em dessecador até temperatura ambiente e efetuou-se a pesagem dos mesmos. Da amostra previamente preparada, em uma balança analítica, foram pesados 5g da amostra e adicionou-se 5 mL de álcool etílico 96% e aquecidos a temperatura de 60 à 80°C, manteve-se o aquecimento até que o álcool evaporou. Em seguida as amostras foram dispostas em estufa com temperatura controlada a 105°C durante 6h. Após, o cadinho com amostra foi colocado para resfriamento em dessecador até atingir uma temperatura ambiente, sendo então pesada. Em seguida, o cadinho retornou para estufa por mais 2h, sendo então novamente resfriado e pesado. A operação foi repetida até a obtenção do peso constante. Os resultados foram expressos em porcentagem (%).

5.3.3.6. Oxidação Lipídica (TBARS)

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 Shahidi *et al.* (1997). Sendo pesadas, em um béquer de 50mL tarado, 5g de cada amostra triturada, seguindo com a adição de 0,5mL da solução BHT 0,15% (Butil hidróxi tolueno), 2mL de solução de sulfanilamida 0,5% e 18mL da solução de ácido tricloroacético 5% e deixando em repouso por 10min). Em uma alíquota de 2mL do filtrado, adicionou-se 2mL de TBA 0,08 mol/L e a reação foi conduzida em banho-maria (40°C) por 1h 30min. 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.

5.3.3.7. Acidez

A determinação da acidez total foi determinada conforme metodologia descrita por TERRA; BRUM (2002). Da amostra previamente preparada foram pesados em balança analítica 10g, em seguida as amostras foram diluídas em 200 mL de água destilada, trituradas durante 1min e transferidas para um balão volumétrico de 250 mL, onde foi completado com água destilada. Filtradas imediatamente através de papel filtro. Transferido 25 mL do filtrado para um erlenmeyer e adicionado 75 mL de água destilada juntamente com 3 gotas de solução alcoólica de fenolftaleína a 1% e em seguida realizou-se a titulação com solução de NaOH 0,1N, até o ponto de viragem (surgimento da cor rósea e/ou pH 8,2). A acidez total foi expressa em g de ácido oleico por 100g de amostra.

5.3.3.8. Análise Sensorial

A análise sensorial das formulações (F1 e F4) foi realizada em uma agroindústria situada no Alto Uruguai do Rio Grande do Sul, sob condições tradicionais de processamento de acordo com a legislação vigente (BRASIL, 2000). Foi realizado com uma equipe de 30 julgadores não treinados, de ambos os sexos, pertencentes a faixa etária de 20 a 50 anos. A avaliação sensorial das formulações de salame (cultura *starter* encapsulada e cultura livre) foi realizada durante a vida útil dos produtos (0, 30, 45, 60, 75, 90 e 120 dias), utilizando um teste de aceitação do consumidor (Apêndice A) utilizando uma escala hedônica estruturada de 9 pontos (9 - “gostei muitíssimo” e 1 - “desgostei muitíssimo”) (DUTCOSKY, 2013), sendo avaliado a aceitabilidade das formulações. As amostras foram preparadas mediante a corte transversal das peças de embutidos em forma de fatias finas com espessura média de três milímetros, descartando-se as extremidades, sendo distribuídas em pratos plásticos codificadas com números aleatórios de três dígitos, distribuição balanceada, juntamente com as amostras distribui-se água potável, pão branco e a ficha de avaliação.

O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa (URI-Erechim), com registro na Plataforma Brasil sob o número 91375418.0.0000.5351.

5.3.4. Análise Estatística

Os resultados (n=3) obtidos foram tratados estatisticamente pela análise de variância (ANOVA), seguida de comparação das diferenças das médias pelo teste de Tukey, com nível

de 95 % de confiança, com auxílio do software *Statistica* versão 8.0. Para a análise de correlação de Pearson e Análise dos Componentes Principais (ACP) utilizou-se o programa XLSTAT 2020, versão Free.

5.4. Resultados e Discussão

5.4.1. Caracterização das microcápsulas de Cultura *Starter*

A Tabela 5.4 apresenta os resultados de atividade de água, umidade e células viáveis para as microcápsulas submetidas à secagem em *spray drying* em temperaturas de 100, 80 e 70°C. Em relação à contagem e sobrevivência de células não há diferença entre as temperaturas de secagem utilizadas, sendo superior a 88% e a 100°C tem-se a menor atividade de água (0,206) e umidade (1,5%), sendo a melhor condição estudada.

As micropartículas apresentaram atividade água inferiores a 0,40 (Tabela 5.4), o que de acordo com Fávaro-Trindade *et al.* (2010) é positivo para a estabilidade dos microorganismos encapsulados, visto que há menos água disponível para reações bioquímicas, prolongando a viabilidade dos mesmos. Referente à umidade observa-se que as amostras apresentam valores inferiores a 5% o que está relacionado com a temperatura empregada no processo de secagem, pois quanto menor a umidade maior é a temperatura empregada. Segundo Guerin *et al.* (2017) a umidade recomendada para conservação das microcápsulas seja menor de 10%.

Tabela 5.4. Resultados de atividade de água, umidade e células viáveis para as microcápsulas de cultura *starter* submetidas à secagem em *spray drying* em temperaturas de 70, 80 e 100°C.

T _e (°C)	T _s (°C)	P (bar)	Vazão alimentação (mL/h)	Aw	Umidade (%)	Células viáveis (Log UFC/g)	Sobrevivência (%)
70	40		140	0,360	4,5	9,2	88,21
80	46	0,7	280	0,326	2,7	9,30	89,16
100	52		315	0,206	1,5	9,45	90,60

Onde: T_e= temperatura de entrada do ar, T_s= Temperatura de saída do ar da câmara de secagem, P= pressão de entrada do ar.

As Figura 5.2 e 5.3 apresentam o aspecto visual das microcápsulas formadas na temperatura de secagem de 100°C e as imagens de Microscopia Eletrônica de Varredura da microcápsula com a cultura *starter* encapsulada.

De acordo com Figura 5.3 foi possível observar que as microcápsulas apresentam um formato arredondado, sem poros ou rachaduras e também com a presença de algumas concavidades ou achatamentos na superfície. As concavidades ou achatamentos presentes nas superfícies das cápsulas são típicas de produtos secos por *spray drying* (FRITZEN-FREIRE *et al.*, 2013; NUNES *et al.*, 2018), normalmente resultantes das altas temperaturas de secagem ou, também, dependem do tipo de material encapsulante utilizado no processo (LIAN *et al.*, 2002).

As micrografias, também, permitem a visualização de aglomerações de micropartículas externas às esferas e aspecto de um sistema de "colmeias" que aprisionaram a cultura no meio encapsulante, tornando presumível a existência de uma proteção física às células por meio dos materiais encapsulantes.

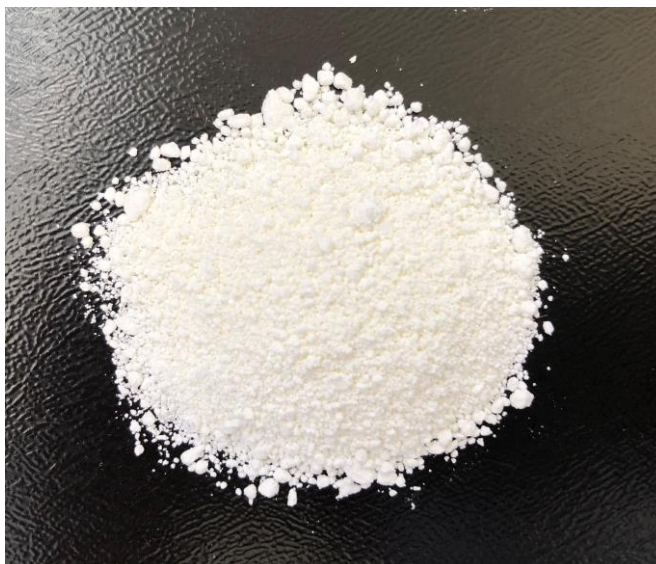
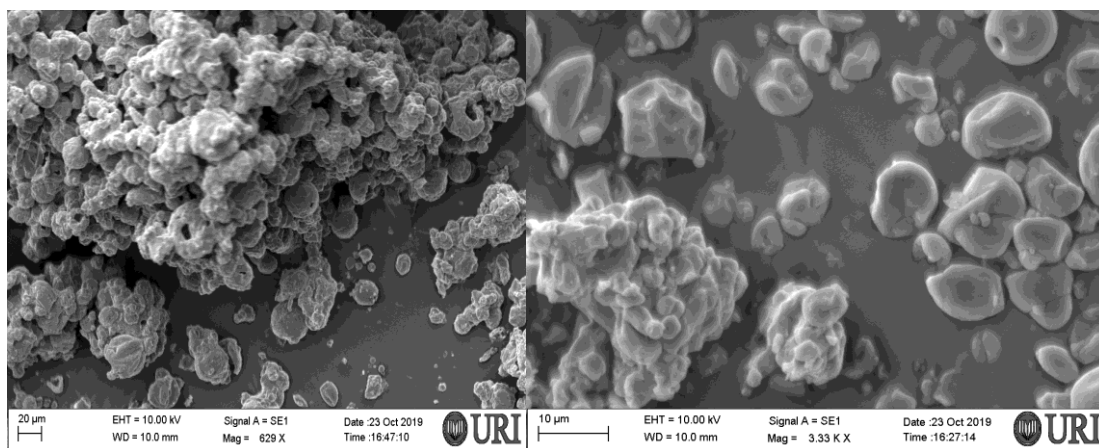


Figura 5.2. Aspecto visual da microcápsula de cultura *starter* a 100°C.

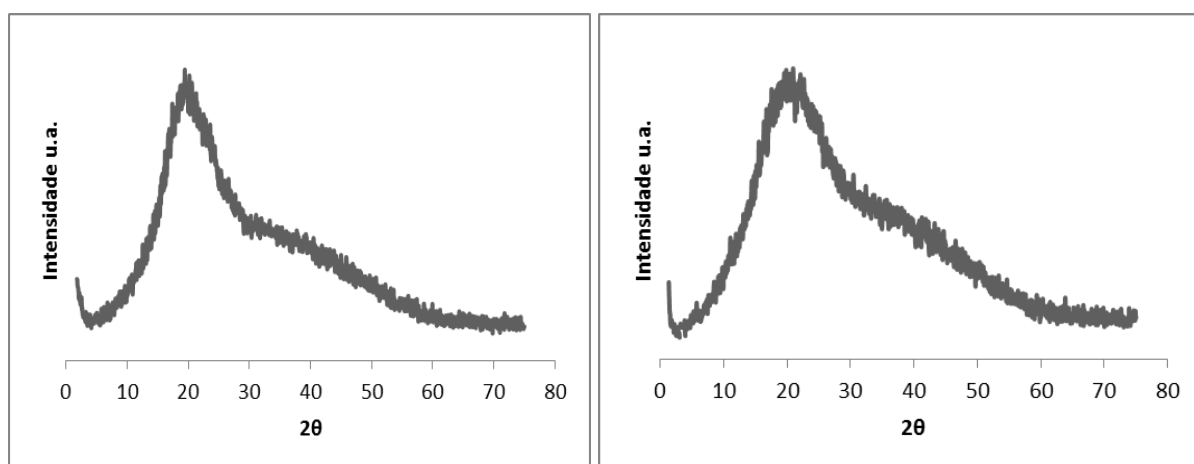


(a)

(b)

Figura 5.3. Fotomicrografias eletrônicas das microcápsulas de cultura *starter* (Aglomerado de microcápsulas de 20 µm – a e 10µm – b).

A Figura 5.4 apresenta os difratogramas de raios X das amostras da microcápsula com e sem a incorporação da cultura *starter*. Pode-se observar que ambas as amostras exibem um pico alargado em 20°, efeito característico de material amorfo, ou seja, nenhuma região cristalina foi evidenciada, comportamento esse semelhante ao relatado por Silva (2016) em microcápsulas com goma de cajueiro e maltodextrina como material de parede e chá verde como núcleo.



(a)

(b)

Figura 5.4. Difratogramas de raios X das amostras da microcápsula com (a) e sem a incorporação de cultura *starter* (b).

5.4.2. Caracterização do salame com a cultura *starter* livre e encapsulada

Na Tabela 5.5 são apresentados os teores de atividade de água, umidade, nitrato e nitrito da formulação F1 e F4 de salame durante o armazenamento. Os valores de atividade de água observados na massa não detectaram diferença significativa ($p>0,05$) entre a formulação F1 e F4 (Tabela 5.5). No 1º dia de armazenamento (salame maturado) também não foi observada diferença significativa ($p>0,05$) entre os tratamentos. Já a partir do período de 30 dias de armazenamento foi observada uma diferença significativa ($p<0,05$) entre os tratamentos até o final do seu armazenamento. A redução inicial é desejável, sendo decorrente do processo de secagem onde a água essencial para multiplicação de micro-organismos é retirada da massa de salame (TYÖPPÖNEN *et al.*, 2003).

A atividade de água diminui nos dois tratamentos (F1 e F4) durante o processamento, atingindo os valores abaixo do nível máximo de 0,92, de acordo com os limites estipulados pela legislação brasileira (BRASIL, 2000).

Já para umidade o limite estipulado pela legislação brasileira (BRASIL, 2000) é de no máximo 35% após o período de maturação, sendo que a formulação F1 atende este limite aos 60 dias de armazenamento e a formulação F4 aos 90 dias (Tabela 5.5). Este comportamento pode ser explicado pelo fato de que os micro-organismos encapsulados estavam aprisionados na microcápsula e influenciando na fermentação e redução de pH (Tabela 5.6) e consequentemente houve maior retenção de água. Segundo Mauriello *et al.* (2004) quando o pH se aproxima do ponto isoelétrico das proteínas (5,3) ocorre uma diminuição na capacidade de retenção de água, facilitando a desidratação e consequentemente a redução da atividade de água dos salames.

Conforme a Tabela 5.5 verifica-se que para nitrato não houve diferença significativa ($p<0,05$) entre as formulações somente aos 45 dias de armazenamento nos demais dias de armazenamento observou-se uma diferença significativa ($p>0,05$) entre as formulações. A partir dos 120 dias de armazenamento não se observa uma diferença significativa ($p<0,05$) entre as formulações, sendo que os valores obtidos para formulação F4 são mais altos quando comparados com a formulação F1, resultado este que pode ser possivelmente concedido ao fato da cultura *strater* encapsulada realizar a liberação do nitrato de forma mais lenta. Aos 135 dias de armazenamento observa-se que ambas as formulações apresentaram um residual de nitrato zero.

Já para nitrito (Tabela 5.5) observa-se que as amostras apresentaram diferença significativa ($p<0,05$) a partir da defumação, exceto aos 60 dias de armazenamento. Na

formulação F4 há um maior residual de nitrito após os 75 dias, mantendo até os 120 dias de armazenamento. Já a F1 aos 90 dias não há mais residual de nitrito. Resultado este que pode ser atribuído ao encapsulamento da cultura *starter*, ocorrendo a sua liberação (nitrito) de forma gradativa, mostrando-se a eficácia do encapsulamento da cultura, permitindo estender por mais 30 dias o nitrito residual na amostra. Desta forma, a Figura 5.5 apresenta o comportamento da F1 e F4 em relação ao consumo de nitrito com o decorrer do tempo de armazenamento, e após os 75 dias de armazenamento o comportamento pode ser representado por equações lineares (F1: $y = -0,0022x + 0,2534$; $R^2 = 0,65$ e F4: $y = -0,0064x + 0,8609$; $R^2 = 0,93$).

O nitrato não possui atividade antioxidante, mas é funcional na redução para nitrito. O nitrito atua na estabilização da cor; melhoramento da textura; contribui para o desenvolvimento do *flavor* e possui atividade antimicrobiana. O nitrito funciona como um quelante de metal, formando compostos nitrosos que possuem atividade antioxidante, além de converter proteínas heme em óxido nítrico estável (JAY, 2005).

Tabela 5.5. Atividade de água, umidade, nitrato e nitrito das formulações de Salame durante o armazenamento.

Período	Atividade de Água*		Umidade (%)*	
	F1	F4	F1	F4
Massa	0,969 ^{aA} (0,003)	0,965 ^{aA} (0,003)	-	-
Defumação	0,951 ^{bB} (0,002)	0,955 ^{aB} (0,001)	-	-
1**	0,897 ^{aC} (0,002)	0,894 ^{aC} (0,001)	37,03 ^{aA} (2,611)	37,31 ^{aA} (1,233)
30	0,828 ^{bE} (0,001)	0,856 ^{aD} (0,002)	37,67 ^{bA} (1,576)	39,49 ^{aA} (0,229)
45	0,815 ^{bF} (0,001)	0,849 ^{aE} (0,001)	37,14 ^{bA} (0,081)	38,74 ^{aA} (0,398)
60	0,834 ^{aDE} (0,001)	0,831 ^{aF} (0,003)	34,82 ^{bAB} (0,468)	38,55 ^{aA} (3,18)
75	0,835 ^{bD} (0,001)	0,841 ^{aG} (0,001)	32,79 ^{bB} (0,183)	37,69 ^{aA} (0,724)
90	0,831 ^{bE} (0,001)	0,835 ^{aF} (0,001)	31,34 ^{bB} (0,969)	34,36 ^{aA} (5,16)
120	0,827 ^{bE} (0,001)	0,834 ^{aG} (0,001)	31,21 ^{bB} (0,287)	34,57 ^{aA} (3,73)
135	0,818 ^{bF} (0,002)	0,838 ^{aD} (0,003)	31,16 ^{bB} (0,008)	34,87 ^{aA} (2,10)
	Nitrito (ppm)*		Nitrato (ppm)*	
Massa	9,58 ^{bA} (0,313)	14,01 ^{aA} (0,246)	98,01 ^{aA} (1,228)	99,35 ^{aA} (3,460)
Defumação	2,62 ^{aB} (0,045)	2,38 ^{bCD} (0,026)	71,41 ^{aB} (1,563)	57,86 ^{bB} (1,042)
1**	2,35 ^{aBC} (0,001)	2,20 ^{bE} (0,026)	63,97 ^{aC} (0,670)	41,09 ^{bC} (3,013)
30	2,24 ^{bC} (0,052)	2,68 ^{aB} (0,067)	47,90 ^{aD} (0,893)	34,29 ^{bD} (0,446)
45	2,36 ^{bBC} (0,026)	2,46 ^{aC} (0,022)	33,95 ^{aE} (0,781)	33,95 ^{aE} (0,558)
60	2,42 ^{aBC} (0,026)	2,42 ^{aC} (0,022)	35,99 ^{aE} (0,521)	28,71 ^{bE} (0,446)
75	0,04 ^{bD} (0,063)	0,43 ^{aF} (0,002)	28,48 ^{aF} (0,446)	25,02 ^{bEF} (0,112)
90	0,00 ^{bD} (0,000)	0,22 ^{aG} (0,001)	27,03 ^{aF} (0,112)	24,01 ^{bF} (1,042)
120	0,00 ^{bD} (0,000)	0,11 ^{aH} (0,007)	19,84 ^{aG} (1,042)	22,27 ^{aF} (1,311)
135	0,00 ^{aD} (0,000)	0,00 ^{aI} (0,000)	0,00 ^{aH} (0,000)	0,00 ^{aG} (0,000)

*Médias (desvios) seguidas de letras iguais minúsculas nas linhas e maiúsculas nas colunas não diferem estatisticamente à nível de 5% (Teste de Tukey); **28 dias de maturação.

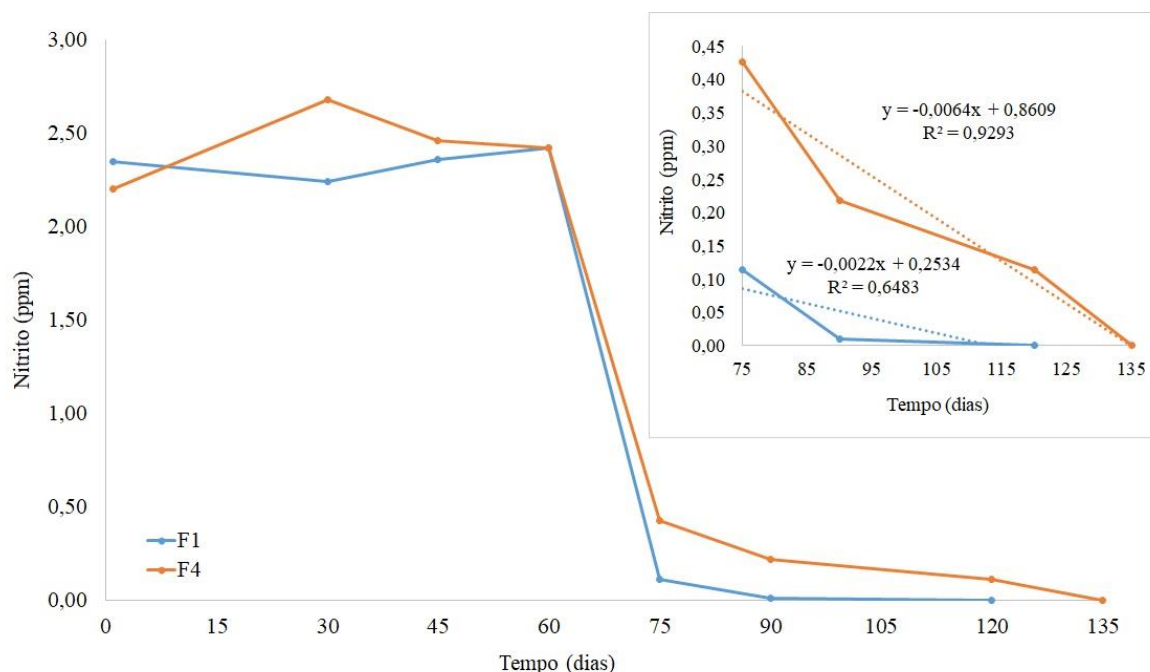


Figura 5.5. Teor de nitrito das formulações F1 e F4 durante o período de armazenamento.

Na Tabela 5.6 são apresentados os valores de pH, acidez e TBARS para formulação padrão e teste de salame durante o armazenamento. As formulações F1 e F4 apresentaram diferença significativa ($p > 0,05$) durante o armazenamento. Observou-se que a formulação F4 (cultura encapsulada) teve uma ação menos intensa na redução do pH durante o seu armazenamento, resultado este que pode ser atribuído possivelmente ao fato da cultura *starter* encapsulada (F4) ter tido sua atividade de fermentação reduzida por estar aprisionada na cápsula, sem acesso aos nutrientes. Esta diferença estatística relacionada às variações de pH observadas pode ser explicada pelo fato dos microorganismos encapsulados terem sua atividade metabólica reduzida, por estarem aprisionados na cápsula e, portanto, sem contato com nutrientes para promoverem a fermentação (RUIZ, 2011), ou seja, à proteção gerada pela cápsula nas bactérias lácticas, reduziu a interação com o meio, diminuindo a acidificação do produto.

A queda do pH para valores próximos a 5,0 nos primeiros dias de fermentação, reflete no efeito protetor contra microorganismos indesejáveis, conversão e estabilidade da cor, formação de compostos desejáveis de sabor e aroma (TYÖPPÖNEN *et al.*, 2003), além de alcançar o ponto isoelétrico das proteínas miofibrilares da carne, provocando perda de água e obtenção de textura no produto (CAMPOS, 2002). Muthukumarasamy e Holley (2006) obtiveram valor de pH 5,3 para *Lactobacillus reuteri* encapsulado ou não para o mesmo

período. Comportamento este semelhante ao observado por Ruiz (2011) em aplicação de microorganismos probióticos encapsulados em salame tipo italiano.

Além disso, verifica-se que houve um ligeiro aumento nos valores de pH da F4 entre no período de 60 a 90 dias de armazenamento. Esse aumento não apresenta um risco à segurança do produto, porque, ao mesmo tempo a atividade de água foi reduzida a níveis que desestimulam a multiplicação bacteriana. Aumento semelhante foi observado por Lee *et al.* (2009) em salames armazenados por 120 dias a temperatura ambiente de 25°C.

A verificação do pH dos produtos cárneos é utilizada como um dos critérios de sua qualidade. Nesse sentido, valores de pH inferiores a 6,2 tornam os produtos cárneos mais protegidos contra a ação de microorganismos indesejáveis (DURÁ *et al.*, 2004). Assim como no presente estudo, em que a adição de cultura *starter* encapsulada apresentou resultados satisfatórios, com valores de pH de 5,21 aos 90 dias no qual já apresenta umidade inferior a 35%. Este resultado está de acordo com Ambrosiadis *et al.* (2004) que destacam que o pH de salames tradicionais varia entre 4,6 e 6,1.

Os valores de acidez (Tabela 5.6) obtidos para o salame da formulação F1 e F4 diferiram estatisticamente ($p < 0,05$) até o período de 60 dias de armazenamento. A formulação F4 apresentou uma tendência de menor acidez, afirmando-se o fato de que os microorganismos adicionados na forma livre (formulação F1) apresentam forte atividade fermentativa. A acidez dos salames está coerente com a queda do pH e da atividade de água discutidas anteriormente. A produção de ácido lático ocorre devido a ação das bactérias ácido lácticas sobre os carboidratos diminuindo o pH e contribuindo para a formação do produto cárneo fermentado. O ácido lático caracteristicamente confere um *flavor* ácido, contribuindo para a desnaturação proteica, resultando na textura peculiar dos salames fermentados (BELEDELLI *et al.*, 2011).

Para os valores de TBARS observa-se que houve diferença significativa ($p < 0,05$) entre as formulações F1 e F4 no período de 30 a 90 dias de armazenamento, sendo que os maiores valores foram observados para a F1 (Tabela 5.6). Embora, a formulação F4 tem apresentado maior umidade e a_w quando comparada a F1, a mesma apresentou residual de nitrito até o final do armazenamento, e possivelmente seja um fator positivo na proteção contra a oxidação de lipídios. O aumento de TBARS observado durante o armazenamento, deve-se provavelmente à ação das enzimas lipolíticas que liberam ácidos graxos insaturados livres, principalmente o ácido linoléico, oléico e araquidônico, altamente susceptíveis à oxidação nos produtos cárneos e que são influenciadas por diversos fatores relacionados ao processo de fabricação, como a quantidade e o tipo de gordura empregados o teor de sal, nitrito/ nitrato

residual e de condimentos, o grau de moagem da carne, a temperatura de maturação, o pH e o potencial redox durante o processamento (CICHOSKI, 2004; PINTO, PONSANO E HEINEMANN, 2001).

Ressaltam-se os valores máximos observados para a F1 e F4 foram de 0,312 e 0,278 MDA/kg aos 75 e 120 dias de armazenamento, respectivamente. Esses valores foram inferiores aos reportados por Zanardi *et al.* (2002) de 0,33 mg de MDA/kg para o mesmo período em embutidos tipo milano. Embora que na literatura os valores de TBARS encontrados para salames são variáveis. Lorenzo *et al.* (2000), avaliando as características bioquímicas de salames tradicionais da Espanha, encontrou valores entre 0,15 a 2,96 mg de MAD/kg para o salame denominado de “Botillo” e de 0,27 a 15,4 mg de MAD/kg para o salame denominado de “Androlla”.

Tabela 5.6. pH, acidez e TBARS das formulações de Salame durante o armazenamento.

Período	pH		Acidez (g/100g)		TBARS (mg malonaldeído/kg)	
	F1	F4	F1	F4	F1	F4
Massa	6,08 ^{bA} (0,025)	6,35 ^{aA} (0,010)	-	-	-	-
Defumação	4,88 ^{bB} (0,006)	5,59 ^{aB} (0,015)	-	-	-	-
1**	4,81 ^{bC} (0,010)	5,48 ^{aC} (0,012)	10,42 ^{aE} (0,554)	9,87 ^{aD} (1,107)	0,168 ^{aE} (0,025)	0,166 ^{aB} (0,013)
30	4,64 ^{bE} (0,012)	5,04 ^{aE} (0,023)	16,42 ^{aD} (1,036)	8,77 ^{bE} (0,003)	0,199 ^{aD} (0,010)	0,173 ^{bB} (0,011)
45	4,67 ^{bDE} (0,010)	4,84 ^{aF} (0,035)	20,76 ^{aAB} (0,626)	17,94 ^{bC} (0,604)	0,242 ^{aC} (0,013)	0,185 ^{bB} (0,024)
60	4,70 ^{bD} (0,046)	5,26 ^{aD} (0,010)	20,17 ^{aBC} (0,055)	18,37 ^{bC} (0,304)	0,249 ^{aB} (0,049)	0,118 ^{bCD} (0,008)
75	4,64 ^{bE} (0,021)	5,22 ^{aD} (0,040)	19,21 ^{aC} (0,721)	19,05 ^{aC} (0,820)	0,312 ^{aA} (0,013)	0,143 ^{bBD} (0,017)
90	4,70 ^{bDE} (0,015)	5,21 ^{aD} (0,015)	20,80 ^{aBC} (0,041)	21,16 ^{aB} (0,599)	0,202 ^{aD} (0,001)	0,131 ^{bC} (0,004)
120	4,73 ^{bD} (0,015)	4,78 ^{aF} (0,017)	23,09 ^{aAB} (3,91)	24,15 ^{aA} (1,62)	0,261 ^{aCD} (0,004)	0,278 ^{aA} (0,009)
135	4,54 ^{bF} (0,026)	4,80 ^{aD} (0,006)	24,02 ^{aA} (2,61)	24,74 ^{aA} (3,28)	0,202 ^{aC} (0,021)	0,109 ^{aA} (0,008)

*Médias (desvios) seguidas de letras iguais minúsculas nas linhas e maiúsculas nas colunas não diferem estatisticamente à nível de 5% (Teste de Tukey); **28 dias de maturação.

5.4.3. Análise Sensorial

A avaliação sensorial do atributo aceitação global para o tempo 1 (salame maturado) apresentou diferença significativa ($p < 0,05$) entre as formulações. As pontuações variaram de 7,07 a 7,67 correspondentes com a classificação “gostei moderadamente” para a formulação padrão e “gostei muito” para a formulação F4, conforme pode ser observado na Tabela 5.7.

O tempo de armazenamento afetou as pontuações de aceitação global das amostras por apresentar diferença significativa entre as mesmas. O salame com a cultura *strater* encapsulada (F4) sobressaiu-se na aceitabilidade, sendo classificado como “gostei muito” na escala hedônica. De forma geral, a cultura encapsulada não afetou sensorialmente o produto.

Tabela 5.7. Aceitabilidade das formulações de Salame durante o armazenamento.

Período de Armazenamento	Formulações	
	F1	F4
1**	7,07 ^{cB}	7,67 ^{bA}
30	7,40 ^{aB}	7,87 ^{bA}
60	7,13 ^{bB}	8,04 ^{aA}
90	6,60 ^{dB}	7,30 ^{dA}
120	7,17 ^{bB}	7,60 ^{cA}

*Médias (desvios) seguidas de letras iguais minúsculas nas colunas e maiúsculas nas linhas não diferem estatisticamente a nível de 5% (Teste de Tukey). **28 dias de maturação.

5.4.4. Análise Multivariada: Análise dos componentes principais e correlação de Pearson

A Tabela 5.8 e Figura 5.6 apresentam a correlação de Pearson e análise dos componentes principais (ACP) das variáveis físico-químicas e sensorial das formulações de salame (F1 – cultura livre e F4 – cultura encapsulada) no 0°, 30, 45, 60, 75, 90, 120 e 135° dia de armazenamento, respectivamente.

Tabela 5.8. Matriz de correlação (r) de Pearson para as variáveis nitrito, nitrato, pH, atividade de água (aW), umidade, acidez, aceitação, TBARs e índices de cor (L*, a*, b*) das formulações de salame (F1 – cultura livre e F4 – cultura encapsulada) no 0°, 30, 45, 60, 75, 90, 120 e 135° dias de armazenamento.

Variável	Nitrito	Nitrato	pH	aw	Umidade	Acidez	Aceitação	TBARs	L*	a*	b*
Nitrito	1										
Nitrato	0,706	1									
pH	0,091	-0,061	1								
aw	0,315	0,477	0,493	1							
Umidade	0,511	0,295	0,546	0,356	1						
Acidez	-0,675	-0,715	-0,304	-0,692	-0,362	1					
Aceitação	0,290	-0,039	0,494	0,130	0,665	-0,199	1				
TBARs	-0,383	-0,378	-0,516	-0,255	-0,407	0,519	-0,316	1			
L*	-0,111	0,096	-0,450	-0,134	-0,347	0,318	-0,177	0,507	1		
a*	0,221	0,153	-0,608	-0,201	-0,497	-0,012	-0,309	0,402	0,556	1	
b*	-0,562	-0,592	-0,293	-0,523	-0,603	0,582	-0,243	0,627	0,306	0,349	1

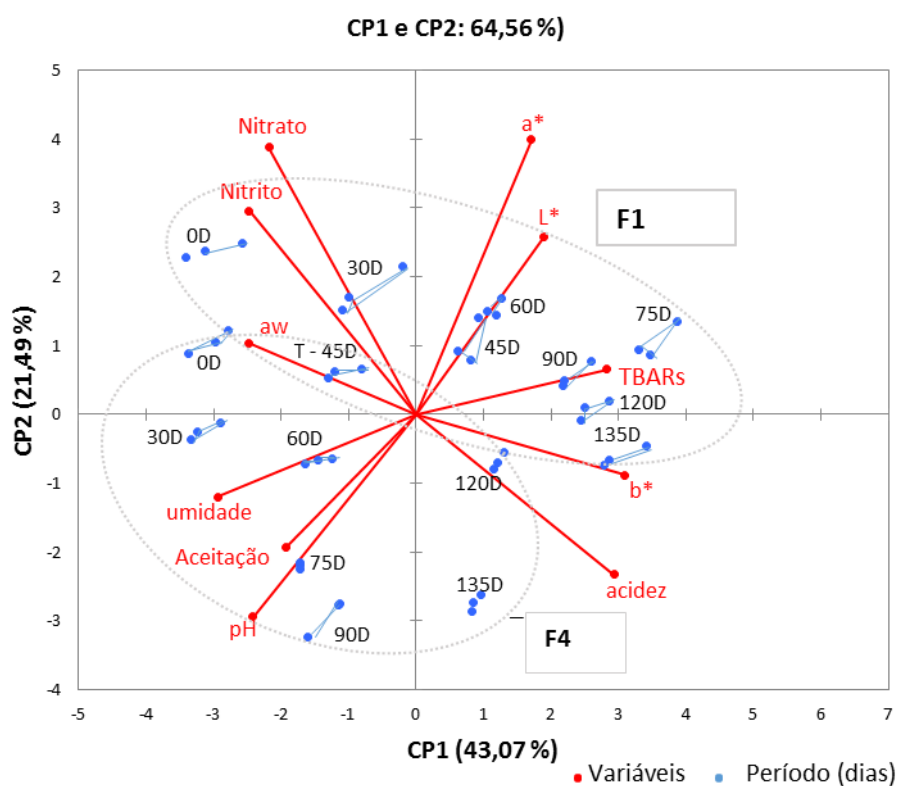
*Valores em negrito são diferentes a nível de significância 95% ($r > 0,477$).

No gráfico (Figura 5.6) da Análise dos Componentes Principais (ACP), as variáveis são representadas como vetores, quanto mais longo o vetor, melhor a explicação da variabilidade entre as amostras/formulações. As amostras em cada dia de armazenamento são representadas por triângulos, sendo cada vértice uma repetição (n =3).

Pela análise da Figura 5.6, a primeira (CP1) e segunda (CP2) dimensão explicaram 64,56 % da variância total. O componente principal 1 (CP1) respondeu por 43,07 %, enquanto ao componente principal 2 (CP2) por 21,49 %.

De acordo com a Figura 5.6, observa-se que houve discriminação entre as formulações de Salame (F1 – cultura livre e F4 – cultura encapsulada), sendo que a formulação F1 é a que se localiza mais próxima aos vetores (variáveis) nitrato e nitrato no 0 e 30º dia, cor L* no 45 e 60º dia, cor b* no 120 e 135º dia e TBARs no 75, 90, 120 e 135º dia de armazenamento. Já formulação com a cultura encapsulada apresentou maior umidade e pH até 90º dia, se destacando na aceitação até o 90º dia de armazenamento.

Figura 5.6. Análise dos Componentes Principais (ACP) das formulações de salame no 0º, 20, 40, 60, 80, 100 e 120º dia de armazenamento, respectivamente.



Os valores obtidos por meio de correlação de Pearson (Tabela 5.8) confirmam a relação entre os parâmetros observados na análise de componentes principais (Figura 5.5),

sendo que a concentração de nitrato foi correlacionado positivamente ($p < 0,05$) com nitrito ($r = 0,706$), e fracamente com a atividade de água ($r = 0,477$) e negativamente com a acidez ($r = -0,715$) e cor b^* ($r = -0,592$) indicando que medida que diminui a concentração de nitratos há um aumento na acidez. Além disso, o TBARs está fracamente correlacionado negativamente com o pH ($r = -0,516$). A aceitação foi influenciada positivamente pela umidade ($r = 0,665$) e pH ($r = 0,494$), nos quais os provadores consideraram a formulação F4 de melhor aceitação.

5.5. Conclusões

A aplicação da microcápsulas de cultura *startet* na produção de salame interferiu positivamente nas características físico-químicas e sensorias do salame. O salame com a cultura encapsulada (F4) apresentou melhor aceitação pelos consumidores. Além disso, esta formulação apresentou um residual de nitrito até 120 dias de armazenamento, sendo que a formulação (F1) com a cultura livre apresentou residual até os 60 dias de armazenamento.

5.6. Referências Bibliográficas

- AMBROSIADIS, J.; SOULTOS, N.; ABRAHIM, A.; BLOUKAS, J. G. Physicochemical, microbiological and sensory attributes for the characterization of Greek traditional sausages. **Meat Science**, 279-287, 2004.
- ANDRADE, L. P.; COSTA, J. M. G.; MARQUES, A. P.; PEREIRA, J.; BORGES, S. V.; BATISTA, L. R.; PICCOLI, R. H.; MENDONÇA, K. S. Avaliação da concentração mínima inibitória do óleo essencial de orégano microencapsulado. IN: XIII CONGRESSO CYTAL – AATA. Buenos Aires, Argentina, 19 a 21 de Outubro, 2011.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS - AOAC. Official methods of analysis. 19. ed. Maryland: [s.n.], 2012.
- BELEDELLI, B.; RIL, R. D.; TREICHEL, H. Avaliação de salame tipo italiano adicionado de selênio. **Perspectiva**, Erechim, 57-67, 2011.
- BURGAIN, J.; GAIANI, C.; LINDER, M.; SCHER, J. Encapsulation of probiotic living cells: From laboratory scale to industrial applications. **Journal of Food Engineering**, 467-483, 2011.
- BRASIL, Instrução Normativa nº 22 de 31 Julho de 2000 da **Secretaria de Defesa Agropecuária do Ministério da Agricultura e do Abastecimento**. Diário Oficial, 03 Agosto 2000.
- BRASIL. Ministério da Saúde, **Agência Nacional de Vigilância Sanitária**. Métodos Físico-Químicos para Análise de alimentos/ Ministério da Saúde, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. – Brasília: Ministério da Saúde. 1018p., 2005.

- CAMPOS, R. M. L. Influência da alimentação na qualidade da carcaça suína e do pernil para a fabricação do salame tipo Italiano. **Dissertação** de Mestrado. Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia dos Alimentos. Universidade Federal de Santa Maria. 2002.
- COMUNIAN, T. A.; FAVARO-TRINDADE, C. S. Microencapsulation using biopolymers as an alternative to produce food enhanced with phytosterols and omega-3 fatty acids : A review. **Food Hydrocolloids**, Cambridge, 442-457, 2016.
- CICHOSKI, A. J. Desenvolvimento de paleta suína curada maturada e fermentada com adição de *Staphylococcus xylosus*. **Tese** (Doutorado em Tecnologia de Alimentos), Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2004.
- DURÁ, M. A.; FLORES, M.; TOLDRÁ, F. Effect of *Debaryomyces* spp. On the proteolysis of dry-fermented sausages. **Meat Science**, 319-328, 2004.
- DUTCOSKY, S. D. **Análise Sensorial de Alimentos**. Fourth ed. Champagnat – Pucpress, Curitiba, 2013.
- FAVARO-TRINDADE, C. S.; SANTANA, A. S.; MONTERREY-QUINTERO, E. S.; TRINDADE, M. A.; NETTO, F. M. The use of spray drying technology to reduce bitter taste of casein hydrolysate. **Food Hydrocolloids**, 336–340, 2010.
- FRITZEN-FREIRE, C. B.; PRUDÊNCIO, E. S.; PINTO, S. S.; MUÑOZ, I. B.; AMBONI, R. D. M. C. Effect of microencapsulation on survival of Bifidobacterium BB-12 exposed to simulated gastrointestinal conditions and heat treatments. **LWT - Food Science and Technology**, 39-44, 2013.
- GOUIN, S. Microencapsulation: industrial appraisal of existing technologies and trends, Trends in **Food Science and Technology**, 330-347, 2004.
- GROSSO, C.R.F.; FÁVARO-TRINDADE, C.S. Stability of free and immobilized *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium lactis* in acidified milk and of immobilized *B. lactis* in yoghurt. **Brazilian Journal of Microbiology**, 151-156, 2004.
- INSTITUTO ADOLFO LUTZ (IAL). Métodos físico-químicos para análise de alimentos. São Paulo: **Adolfo Lutz**, 2008. 506, p. 1ª Ed., 2008.
- JAY, J. M. **Microbiologia de alimentos**. 6 ed., Porto Alegre: Artmed, 711p., 2005.
- LEE, K. T.; LEE, Y. K.; SON, S. K.; CHOI, S. H.; LEE, S. B. Changes in various quality characteristics of short-ripened salami during storage at chilled or room temperature. **Korean Journal for Food Science of Animal Resources**, Seoul, 24-33, Feb. 2009.
- LIAN, W. C.; HSIAO, H. C.; CHOU, C. C. Survival of bifidobacteria after spray-drying. **International Journal of Food Microbiology**, 79–86, 2002.
- 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**, San Diego, 809-817, 2000.
- MENEZES, C. R.; BARIN, J. S.; CHICOSKI, A. J.; ZEPKA, L. Q.; LOPES, E. J.; FRIES, L. L. M.; TERRA, N. N. Microencapsulação de probióticos: avanços e perspectivas. **Ciência Rural**, Santa Maria, 2012.
- MAURIELLO, G.; CASABURI, A.; BLAIOTTA, G.; VILLANI, F. Isolation and technological properties of coagulase negative staphylococci from fermented sausages of Southern Italy. **Meat Science**, Oxford, 149-158, 2004.

- MUTHUKUMARASAMY, P.; HOLLEY R. A. Microbiological and sensory quality of dry fermented sausages containing alginate-microencapsulated *Lactobacillus reuteri*. **International Journal of Food Microbiology**, 164-169, 2006.
- NUNES, G. L.; MOTTA, M. H.; CICHOSKI, A. J.; WAGNER, R.; MULLER, É. I.; CODEVILLA, C. F.; SILVA, C. DE B. DA; MENEZES, C. R. DE. Encapsulation of *Lactobacillus acidophilus* La-5 and *Bifidobacterium* Bb-12 by spray drying and evaluation of its resistance in simulated gastrointestinal conditions, thermal treatments and storage conditions. **Ciência Rural**, v. 48, n. 6, 2018.
- PAULETTO, F. B. Extração e encapsulamento de pigmentos da casca de jaboticaba sabará (*myrciaria jaboticaba* (vell.) O. Berg). 85 f. **Dissertação** de Mestrado. Programa de Pós-graduação em Engenharia de Alimentos. Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões – URI. Erechim, 2016.
- PINTO, M. F.; PONSANO, E. H. G.; HEINEMANN, R. J. B. Bactérias envolvidas no processamento de produtos cárneos – uma revisão. **Boletim da Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, 109-116, 2001.
- RAHARJO, S.; SOFOS, J. N.; SCHMIDT, G. R. Improved speed, specificity, and limit of determination of an aqueous acid extraction thiobarbituric acid-C18 method for measuring lipid peroxidation in beef. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 2182–2185, 1992.
- RUIZ, J. N. Aplicação de microrganismos probióticos nas formas livre e microencapsulada em salame tipo Italiano. **Dissertação** de Mestrado. Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia dos Alimentos. Universidade de São Paulo Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, 2011.
- SILVA, F. M. R. Encapsulamento de chá verde (*Camellia sinensis* var *assamica*) por “spray dryer” com goma de cajueiro/maltodextrina. **Dissertação** de Mestrado. Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos. Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2016.
- SILVA, P. T. Microcápsulas Probióticas Aplicadas à Produção de Salame Tipo Italiano. **Tese** de Doutorado. Programação de Pós Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos. Universidade de Santa Maria (UFSM, RS), Santa Maria, 2014.
- SILVA, P. T.; FRIES, L. L. M; MENEZES, C. R.; HOLKEM, A. T.; SCHWAN, C. L.; WIGMANN, E. F; BASTOS, J. O.; SILVA, C. B. Microencapsulation: concepts, mechanisms, methods and some applications in food technology. **Ciência Rural**, Santa Maria, 1304-1311, 2014.
- SOBRINHO, E. C. S.; FARIAS, M. C. A microencapsulação na indústria alimentícia. **Infarma – Ciências Farmacêuticas**, 1-3, 2012.
- SHAHIDI, F; SYNOWIECKI, J. Protein hydrolyzates from seal meat as phosphate alternatives in food processing applications. **Food Chemistry**, 29-32, 1997.
- TERRA, N. N.; BRUM, A. R. M, Carne e seus derivados. **Técnicas de Controle de Qualidade**, 2002.
- TYÖPPÖNEN, S.; PETÄJÄ, E.; MATTILA-SANDHOLM, T. Bioprotectives and probiotics for dry sausages. **International Journal of Food Microbiology**, 233-244, 2003.
- VINDEROLA, C. G.; REINHEIMER, J. Enumeration of *Lactobacillus casei* in the presence of *L. acidophilus*, *Bifidobacteria* and lactic starter bacteria in fermented dairy products. **International Dairy Journal**, 271-275, 2000.

- WANG, B.; PACE, R. D.; DESSAI, A. P.; BOVELL-BENJAMIN, A.; PHILLIPS, B. Modified extraction method for determining 2-Thiobarbituric acid values in meat with increased specificity and simplicity. **Journal of Food Science**, 2833- 2836, 2002.
- ZANARDI, E.; DORIGONI, V.; BADIANI, A.; CHIZZOLINI, R. Lipid and colour stability of Milano-type sausages: effect of packing conditions. **Meat Science**, Oxford, 7-14, 2002.

6. SALAME COM SAIS DE CURA ENCAPSULADOS

Resumo

O objetivo deste trabalho foi encapsular nitrato e nitrito de sódio pela técnica de secagem por *spray drying* variando a temperatura de entrada (70°C, 80°C e 100°C) com um agente encapsulante composto por maltodextrina (1,28%), trehalose (1,28%), frutoligossacarídeo (1,28%), hi-maize® 260 (0,64%) e tween 80 (0,1%), e avaliar características de qualidade do salame durante o armazenamento. Nas microcápsulas avaliou-se a atividade de água (*aw*), umidade. A microcápsula que foi submetida à secagem a 100°C foi a que apresentou as melhores condições de *Aw* (0,358) e umidade (2,2%). A aplicação das microcápsulas dos sais de cura (nitrato e nitrito de sódio) encapsulados na produção de salame interferiu positivamente nas características físico-químicas e sensoriais do salame, sendo possível se produzir salames com sais de cura (nitrato e nitrito de sódio) encapsulados. O salame com o sal de cura encapsulado (F5) apresentou uma ótima aceitação pelos consumidores e um residual de nitrito de 1,16 ppm aos 120 dias de armazenamento.

Palavras-chave: nitrato e nitrito; microencapsulação; *spray drying*; *shelf life*.

6.1. Introdução

Sais de cura, como nitrato e nitrito de sódio e de potássio, são largamente utilizados como aditivos alimentares no processamento de produtos cárneos. Os sais de nitrito, além de conservarem a carne contra a deterioração bacteriana, são fixadores de cor e agentes de cura (OLIVEIRA *et al.*, 2005). Os sais de nitrato e de nitrito de sódio têm como função inibir crescimento de algumas bactérias, especialmente o *Clostridium botulinum*, retardar o desenvolvimento da rancificação, além de conferir sabor e o tom avermelhado característico (ROSA; DEGÁSPARI, 2013). Neste contexto, a técnica de microencapsulação é uma tecnologia promissora e que já vem sendo utilizada para oferecer proteção aos aditivos utilizados no processo e permitir uma liberação controlada destes sais de cura, visando assim garantir sua eficiência até o final do armazenamento. A microencapsulação se destaca por compreender um conjunto de diversas técnicas que permitem o desenvolvimento de formulações, em que o seu conteúdo é protegido e sua liberação pode ser modificada com o objetivo de atuar num determinado local, por um determinado período de tempo e uma velocidade específica (ETCHEPARE *et al.*, 2015).

A microencapsulação pode ser considerada um processo de aprisionamento de um ingrediente ativo qualquer dentro de um material de revestimento, a fim de ser protegido contra fatores externos, tais como a luz, elevada concentração de oxigênio, calor e umidade, evitando a evaporação de compostos voláteis, mascarando sabores e odores desagradáveis, garantindo uma liberação controlada, além de permitir o desenvolvimento de produtos de alto valor agregado (COMUNIAN; FAVARO-TRINDADE, 2016). A técnica da encapsulação pode ser aplicada para diversos fins, como por exemplo, para proteger substâncias (aromas, antioxidantes, óleos poli-insaturados, vitaminas, fármacos, etc.) ou microorganismos do ambiente que as envolve, liberar as substâncias de forma controlada, diminuir o gosto e odor desagradáveis das substâncias, entre outras aplicações (NESTERENKO *et al.*, 2013).

Segundo Andrade *et al.* (2011), a microencapsulação além de converter líquido em pó, ainda permite controlar a liberação de um determinado composto que possa atribuir sabor, odor ou que, de alguma forma, atue na conservação da qualidade do produto. Assim, nos últimos anos, com o conceito de liberação controlada do ingrediente encapsulado no lugar e no tempo certo, a microencapsulação de compostos bioativos se tornou muito atrativa, cuja técnica permite ampliar a gama de aplicações de ingredientes em alimentos, sendo considerada não apenas um adicional, mas também uma fonte de novos ingredientes com propriedades incomparáveis (GOUIN, 2004).

Desta forma, o presente trabalho teve como objetivo encapsular nitrato e nitrito de sódio pela técnica de secagem por *spray drying* e avaliar características de qualidade do salame durante o armazenamento.

6.2. Material e Métodos

6.2.1. Formação da microcápsula de sais de cura (nitrato e nitrito de sódio)

Para a formulação do material de parede foram utilizados os seguintes agentes encapsulantes: maltodextrina, trehalose, frutoligossacarídeo, hi-maize® 260 e Tween 80 (solução 0,1%), a escolha destas variáveis foi baseada em dados da literatura (SILVA, 2014) com algumas modificações. Os agentes encapsulantes foram adicionados em um béquer, nas proporções conforme descrito na Tabela 6.1, juntamente com a solução tampão fosfato 0,05M pH 7,6, onde permaneceram hidratando sob homogeneização constante em agitador magnético por um período de 1h. Posteriormente, foi realizada a incorporação do sal de cura (nitrato e nitrito) a matriz encapsulante, permanecendo por 1h em hidratação sob agitação.

Tabela 6.1. Proporções utilizadas para a formação da microcápsula de nitrato e nitrito de sódio (50 mL de solução de tampão).

Agente Encapsulantes	Proporções (% m/v)
Maltodextrina	1,28
Trehalose	1,28
Frutoligossacarídeo	1,28
Hi-maize® 260	0,64
Tween 80	0,1

Decorrido o tempo de hidratação realizou-se o processo de secagem em *spray dryer* (Lab Plant SD-05), conforme as condições e especificações descritas no capítulo 5, Tabela 5.2 e Figura 5.1. Após o processo de secagem as amostras foram armazenadas em frascos de vidro âmbar em temperatura ambiente até o momento das análises de atividade de água (aw), umidade e aplicação no produto.

6.2.2. Caracterização das Microcápsulas

A microcápsula contendo nitrato e nitrito foi caracterizada em termos de umidade e atividade de água (aw), análise morfológica (MEV) e difração de raios X conforme metodologia descrita no item 5.3.2.1 a 5.3.2.4 do capítulo 5.

6.2.3. Elaboração de formulações de salame com sais de cura livres e encapsulados

Os ingredientes e quantidades de cada formulação são apresentados na Tabela 6.2 sob condições tradicionais de processamento de acordo com a Instrução Normativa Nº 22, de 31 de Julho de 2000.

Tabela 6.2. Formulações utilizadas na aplicação do nitrato e nitrito de sódio encapsulado em salame.

Ingredientes	Formulações (%)	
	F1*	F5
Carne Suína	87,096	87,096
Toucinho	8,710	8,710
Água	0,085	0,085

Sal Refinado	2,562	2,562
Glicose Desidratada	0,950	0,950
Cond. Salame	0,484	0,484
Pimenta	0,095	0,095
Eritorbato de Sódio	0,097	0,097
Cultura Salame Livre	0,013	0,013
Chá Verde	0,016	0,016
Nitrito de Sódio Livre	0,012	-
Nitrato de Sódio Livre	0,016	-
Nitrito de Sódio Encapsulado	-	0,012
Nitrato de Sódio Encapsulado	-	0,016

*Formulação definida a partir dos resultados do Capítulo 4.

O processo de elaboração das formulações seguiu os procedimentos conforme descritos no item 5.3.3 do capítulo 5, sendo que os sais de cura livre (nitrato e nitrito de sódio) (F1) e/ou encapsulados (F5) foram adicionados aos demais ingredientes na etapa de mistura. Finalizada a maturação seguiram-se os mesmos procedimentos descritos anteriormente, até o momento das análises.

6.2.3.1. Análises Físico-Químicas

Foram coletadas amostras das duas formulações (F1 e F5), sendo para pH, atividade de água, nitrato e nitrito uma amostragem inicial da massa de cada formulação e uma amostragem de cada formulação após a defumação do produto. Após a maturação do salame realizaram-se análises sensoriais e análises físico-químicas de pH, atividade de água, nitrato e nitrito, umidade, oxidação lipídica (TBARS), acidez e cor durante a vida útil (0, 30, 45, 60, 75, 90, 120 e 135 dias). Os procedimentos analíticos seguiram os descritos conforme os itens 5.3.3.2 a 5.3.3.7 (capítulo 5).

6.2.3.2. Análise Sensorial

A análise sensorial das formulações (F1 e F5) foi realizada conforme metodologia descrita anteriormente no item 5.3.3.8 (capítulo). O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética

em Pesquisa (URI-Erechim), com registro na Plataforma Brasil sob o número 91375418.0.0000.5351.

6.2.4. Análise Estatística

Os resultados (n=3) obtidos foram tratados estatisticamente pela análise de variância (ANOVA), seguida de comparação das diferenças das médias pelo teste de Tukey, com nível de 95 % de confiança, com auxílio do software Statistica versão 8.0. Para a análise de correlação de Pearson e Análise dos Componentes Principais (ACP) utilizou-se o programa XLSTAT 2020, versão Free.

6.3. Resultados e Discussão

6.3.1. Caracterização das microcápsulas de Nitrato de Nitrito de Sódio

A Tabela 6.3 apresenta os resultados de atividade de água, umidade para as microcápsulas submetidas a secagem em *spray drying* em temperaturas de 70, 80 e 100°C. A capsula que foi submetida a secagem a 100°C foi a que apresentou as melhores condições de A_w (0,358) e umidade (2,2%).

Tabela 6.3. Resultados de atividade de água e umidade para as microcápsulas de nitrato e nitrito de sódio submetido à secagem em *spray drying* em temperaturas de 70, 80 e 100°C.

T_e (°C)	T_s (°C)	P (bar)	Vazão alimentação (mL/h)	A_w	Umidade (%)
70	40	0,7	140	0,402	5,7
80	46		280	0,382	2,8
100	52		315	0,358	2,2

Onde: T_e = temperatura de entrada do ar, T_s = Temperatura de saída do ar da câmara de secagem, P= pressão de entrada do ar.

As Figura 6.1 e 6.2 apresentam o aspecto visual das microcápsulas formadas na temperatura de secagem de 100°C e as imagens de Microscopia Eletrônica de Varredura da microcápsula com os sais de cura (nitrato e nitrito de sódio) encapsulados.

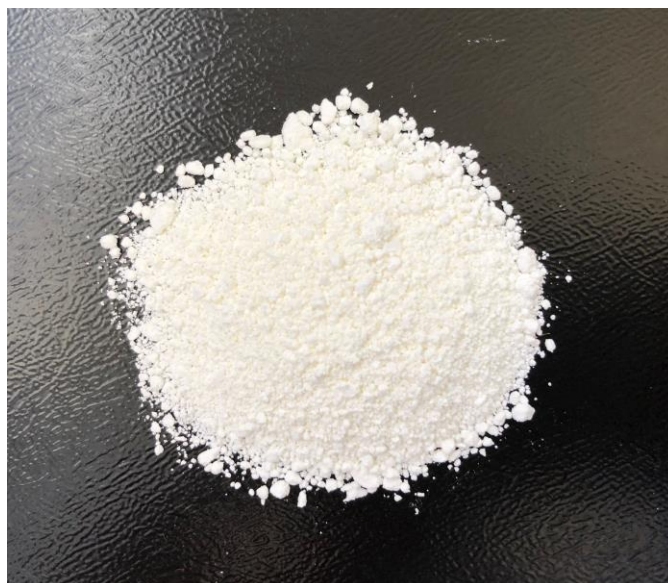


Figura 6.1. Aspecto visual da microcápsula de nitrato e nitrito de sódio a 100°C.

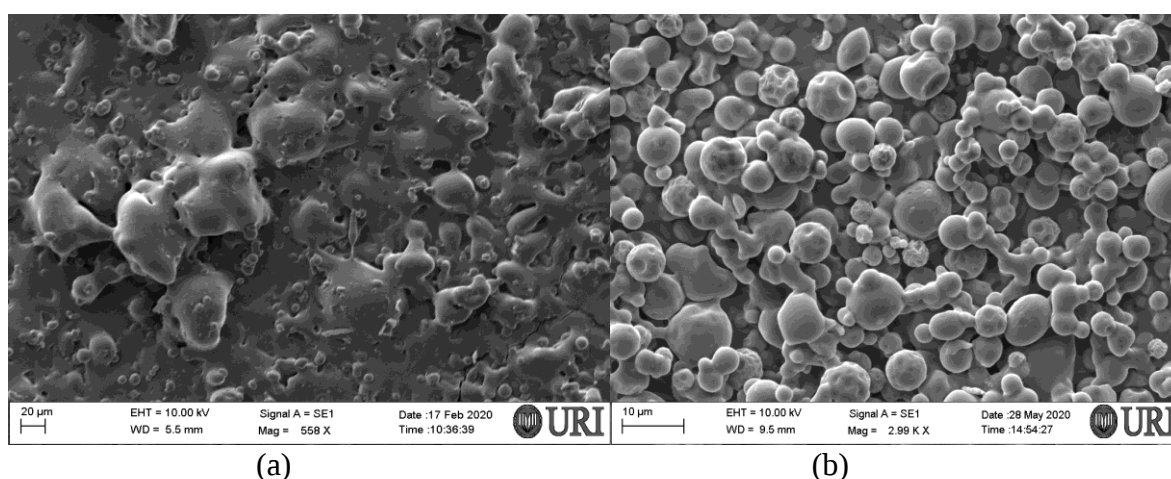


Figura 6.2. Fotomicrografias eletrônicas das microcápsulas de nitrato e nitrito de sódio (Aglomerado de microcápsulas de 20 μm- a; 10 μm – b).

Ao analisarmos a Figura 6.2a e 6.2b, observa-se que não são demonstradas mudanças significativas na morfologia das microcápsulas. É possível observar na superfície das amostras formas arredondadas, sugerindo uma tendência à formação de micropartículas esféricas.

A Figura 6.3 (a) e (b) apresentam os difratogramas de raios X das amostras da microcápsula com e sem a incorporação de nitrato e nitrito, respectivamente. Pode-se observar que ambas as amostras exibem um pico alargado em 20°, efeito característico de material amorfo, ou seja, nenhuma região cristalina foi definida.

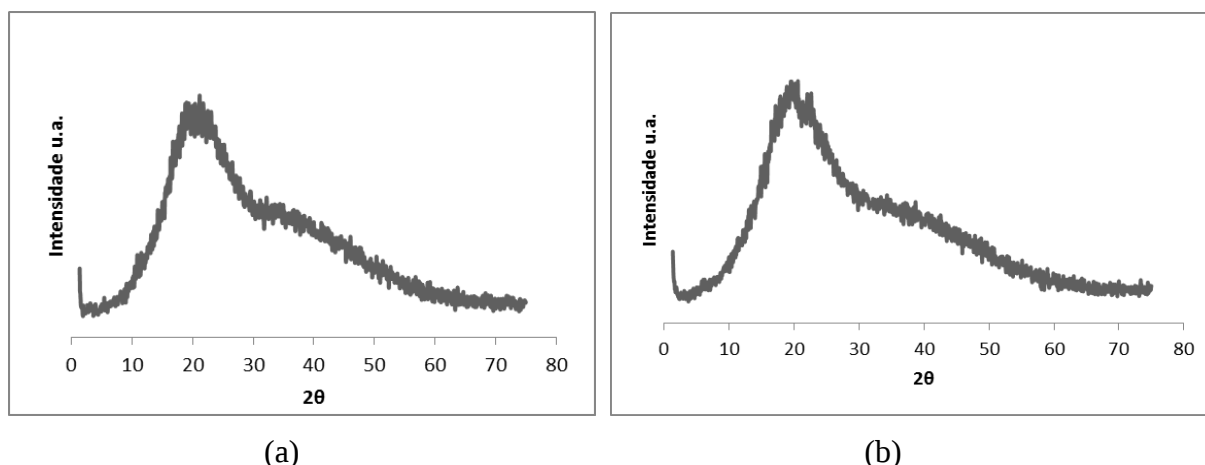


Figura 6.3. Difratomogramas de raios X das amostras da microcápsula com (a) e sem (b) a incorporação de nitrato e nitrito.

6.3.2. Caracterização do salame com sais de cura livres e encapsulados

Na Tabela 6.4 são apresentados os teores de atividade de água, umidade, nitrato e nitrito da formulação padrão (F1) e teste (F5) de salame durante o armazenamento.

De acordo com a Instrução Normativa nº 22 de 31/07/2000 – Regulamento Técnico de Salame, os salames produzidos devem apresentar uma atividade de água máxima de 0,92 e umidade máxima 40%.

A redução da umidade e consequentemente da atividade de água durante a etapa de maturação permite o desenvolvimento da textura e do *flavor*, característicos deste tipo de produto (FERNANDEZ *et al.*, 2000). Esse estudo apresentou valores de 28,86% (F1) e 36,70% (F5) após os 28 dias de maturação, correspondendo ao período 1 de armazenamento, o qual apresentou uma diminuição acentuada de umidade, principalmente para F1, quando comparadas as formulações dos estudos anteriores (capítulo 4 - 34,06% e 5 - 37,03%), sendo diversos os fatores que podem ter influenciado na redução da umidade, sendo eles: excesso de calor na etapa de defumação, posição do produto na sala de cura, ventilação, temperatura e umidade da sala de cura. A F1 e F5 atendem o limite estipulado pela legislação brasileira após os 28 dias de maturação (Tabela 6.4), o que indica que a umidade durante a maturação diminuiu, uma vez que depende de fatores internos e externos, bem como de uma fermentação láctica eficiente e do tempo necessário de cura (COMI *et al.*, 2005; SOYER; ERTAS; UZUMCUOGLU, 2005). Os maiores valores encontrados de umidade para o salame F5 podem ser explicados pelo fato de que o sal de cura encapsulados estavam aprisionados na microcápsula e, portando, não havendo contato com os demais nutrientes para promoverem a

fermentação, o que pode influenciar diretamente nos valores de pH, atividade de água e umidade.

Sendo a atividade de água um dos fatores mais relevantes para a multiplicação microbiana e desta forma influenciadora para a estabilidade dos alimentos, os valores observados para o salame teste (sal de cura encapsulado) foram ligeiramente mais altos que para o salame F5 (Tabela 6.4), mas em ambos os casos atenderam ao determinado pelo Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Salame (BRASIL, 2000). Estes resultados determinam a estabilidade dos mesmos relativamente às alterações microbianas indesejáveis. (AMBROSIADIS *et al.*, 2004). Quando comparada as amostras em relação a atividade de água (Tabela 6.4) observa-se que a partir do período de defumação foi observada uma diferença significativa ($p < 0,05$) entre os tratamentos até o final do seu armazenamento. O tratamento padrão obteve uma média de 0,831, enquanto o tratamento teste obteve um valor médio de 0,885, respectivamente, sendo que a formulação teste apresentou maior atividade de água até o final do seu armazenamento. Este parâmetro está coerente com o encontrado na determinação de pH, onde o teste apresentou os maiores valores. O pH e atividade de água são fatores determinantes para a estabilidade de salames durante o prazo de validade, inibindo a multiplicação de microorganismos deteriorantes e patogênicos. A atividade de água dos salames está de acordo com a legislação e semelhantes aos valores obtidos por Ruiz (2011) em salames tipo italiano com microcápsulas de *L. acidophilus* e *B. lactis* encapsulados em gordura interesterificada de palma e palmiste. Os valores de pH dos salames foram semelhantes, identificando que o sal de cura (nitrato e nitrito) encapsulado não gerou alterações nas características tradicionais do produto.

Conforme a Tabela 6.4 verifica-se que para nitrato ocorreu uma diferença significativa ($p < 0,05$) entre as formulações no primeiro dia de armazenamento (28 dias de maturação). Em seguida observa-se que não houve diferença significativa ($p > 0,05$) entre as formulações até os 90 dias de armazenamento. A partir dos 120 dias de armazenamento observa-se uma diferença significativa ($p < 0,05$) entre as formulações, sendo que os valores obtidos para formulação teste são mais baixos quando comparados com a formulação padrão, resultado este que pode ser justificado ao fato da não eficácia do encapsulamento do nitrato. Aos 135 dias de armazenamento observa-se que ambas as formulações apresentaram um residual de nitrato zero.

Já para nitrito (Tabela 6.4) observa-se que ocorreu diferença significativa ($p < 0,05$) no primeiro dia de armazenamento (28 dias de maturação). Observou-se que as amostras não apresentaram diferença significativa ($p > 0,05$) até os 75 dias de armazenamento. Apresentando

aos 45 dias de armazenamento uma diferença significativa ($p < 0,05$) entre as formulações F1 e F5. Já aos 90 dias de armazenamento observa-se uma diferença significativa ($p < 0,05$) entre as formulações, sendo que a formulação F1 apresentou um residual de nitrito menor que a F5, este comportamento se mantém até os 120 dias de armazenamento, apresentando neste período um valor médio de 0,25 ppm, valor este inferior ao encontrado para F5, respectivamente. Resultado este que pode ser atribuído pelo encapsulamento do sal de cura, ocorrendo a sua liberação (nitrito) de forma gradativa, mostrando-se a eficácia do encapsulamento do nitrito. A Figura 6.4 apresenta o comportamento da F1 e F5 em relação ao consumo de nitrito com o decorrer do tempo de armazenamento, comportamento este podendo ser representado por equações de polinomial de segunda ordem (F1: $y = -0,0002x^2 + 0,0067x + 2,3077$; $R^2 = 0,83$ e F5: $y = -0,0003x^2 + 0,0241x + 2,1755$; $R^2 = 0,81$).

Para produtos cárneos secos curados ou fermentados, o nitrato é requerido ao longo do processo de secagem para gradativamente gerar nitrito pelas bactérias nitrato redutoras (PEGG; SHAHIDI, 2004). Além da cura, utilizam-se nitrato e nitrito para o controle de vários microorganismos patogênicos e deteriorantes. Dentre os patogênicos, cita-se *Clostridium botulinum*, em razão de causar o botulismo, considerada a mais séria das intoxicações alimentares (CDC, 2019).

As principais funções do nitrito nas carnes curadas são formação da cor rosa avermelhada e sabor característico associado com carnes curadas, melhoramento da textura. Contribui para o desenvolvimento do *flavor*; além de servir como um antioxidante eficaz e agente antimicrobiano por si só, ou, em combinação com outros ingredientes. O nitrato pode ser reduzido a nitrito para executar a mesma função (SINDELAR; MILKOWSKI, 2011).

Tabela 6.4. Atividade de água, umidade, nitrato e nitrito das formulações de Salame durante o armazenamento.

Período	Atividade de Água*		Umidade (%)*	
	F1	F5	F1	F5
Massa	0,968 ^{aA} (0,004)	0,972 ^{aA} (0,004)	-	-
Defumação	0,818 ^{bC} (0,001)	0,858 ^{aD} (0,003)	-	-
1**	0,802 ^{bE} (0,003)	0,895 ^{aB} (0,002)	28,86 ^{bA} (0,52)	36,70 ^{aA} (0,001)
30	0,828 ^{bB} (0,001)	0,867 ^{aCD} (0,002)	26,85 ^{bAB} (0,39)	36,31 ^{aA} (0,58)
45	0,815 ^{bCD} (0,001)	0,862 ^{aD} (0,003)	27,12 ^{bAB} (0,83)	35,71 ^{aAB} (0,35)
60	0,812 ^{bD} (0,001)	0,896 ^{aCD} (0,008)	27,59 ^{bAB} (0,71)	34,35 ^{aB} (0,19)
75	0,818 ^{bC} (0,001)	0,872 ^{aCD} (0,006)	28,91 ^{bA} (0,62)	34,06 ^{aBC} (0,49)
90	0,819 ^{bC} (0,002)	0,878 ^{aC} (0,009)	25,99 ^{bB} (1,17)	33,23 ^{aBC} (1,12)
120	0,815 ^{bCD} (0,001)	0,876 ^{aC} (0,002)	26,90 ^{bAB} (1,36)	32,54 ^{aC} (0,73)
135	0,818 ^{bC} (0,002)	0,871 ^{aCD} (0,001)	27,06 ^{bAB} (0,34)	36,25 ^{aA} (0,42)
	Nitrito (ppm)*		Nitrato (ppm)*	
Massa	9,58 ^{aA} (0,31)	7,13 ^{bA} (0,22)	108,86 ^{aA} (1,90)	53,12 ^{bA} (1,10)
Defumação	2,15 ^{bBC} (0,05)	2,81 ^{aBC} (0,07)	48,35 ^{aB} (0,51)	22,20 ^{bB} (1,36)
1**	2,20 ^{aB} (0,07)	2,17 ^{aD} (0,001)	47,72 ^{aB} (0,001)	15,26 ^{bC} (0,14)
30	2,27 ^{bB} (0,11)	2,66 ^{aBC} (0,04)	23,82 ^{aCD} (1,15)	15,40 ^{bC} (0,001)
45	2,38 ^{aB} (0,05)	2,32 ^{aCD} (0,11)	25,19 ^{aC} (1,17)	15,12 ^{bC} (0,001)
60	2,23 ^{bB} (0,03)	3,03 ^{aB} (0,03)	20,77 ^{aCD} (3,43)	14,13 ^{bC} (0,42)
75	1,68 ^{bC} (0,36)	2,56 ^{aC} (0,07)	19,03 ^{aCD} (0,001)	4,51 ^{bD} (1,10)
90	0,32 ^{bD} (0,002)	1,64 ^{aE} (0,30)	18,63 ^{aD} (2,35)	3,87 ^{bD} (0,001)
120	0,25 ^{bD} (0,06)	1,16 ^{aF} (0,002)	6,72 ^{aE} (0,001)	3,32 ^{bD} (0,06)
135	0,00 ^{aE} (0,000)	0,00 ^{aG} (0,000)	0,00 ^{aF} (0,000)	0,00 ^{aE} (0,000)

*Médias (desvios) seguidas de letras iguais minúsculas nas linhas e maiúsculas nas colunas não diferem estatisticamente à nível de 5% (Teste de Tukey); **28 dias de maturação.

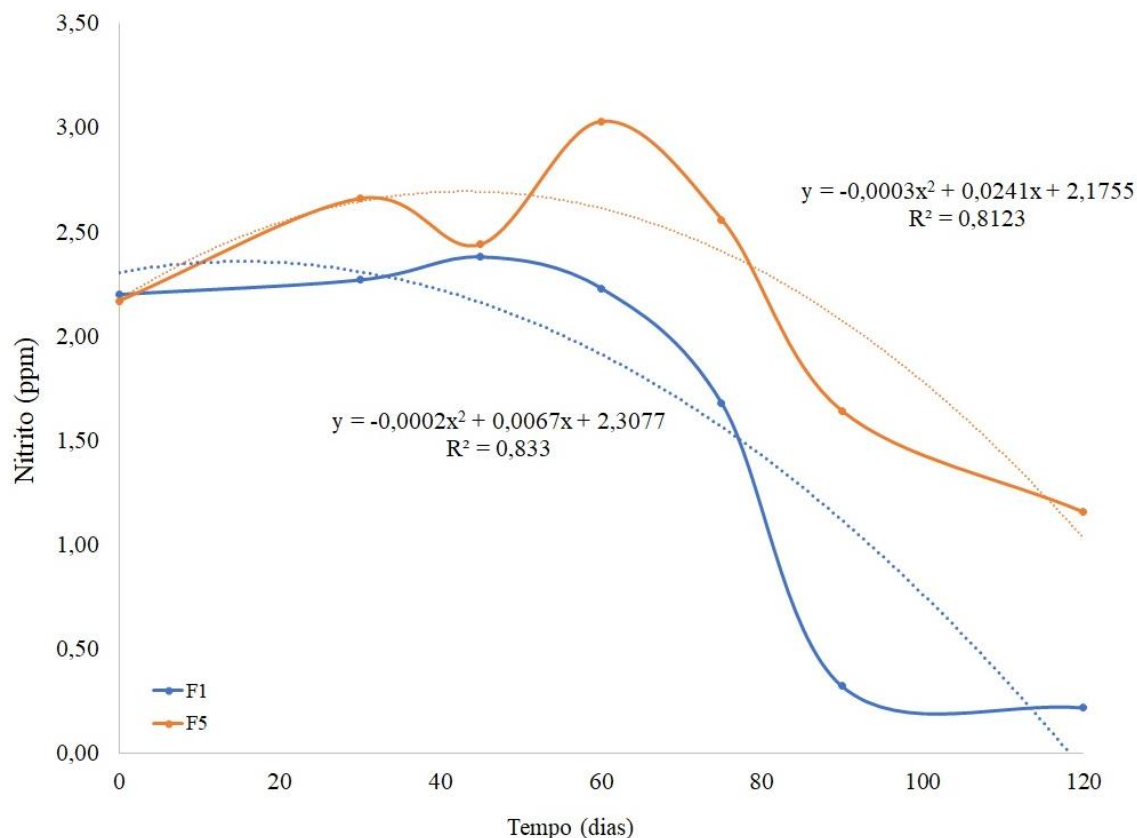


Figura 6.4. Teor de nitrito das formulações F1 e F5 durante o período de armazenamento.

Na Tabela 6.5 são apresentados os valores de pH, acidez e TBARS para formulação F1 e F5 de salame durante o armazenamento.

Considerando os resultados obtidos para a massa de salame verifica-se que não houve diferença significativa ($p > 0,05$) entre as médias de pH do padrão e do teste que variaram entre 6,09 e 6,10 (Tabela 6.5). Após a defumação observa-se uma queda no pH para ambas as formulações, apresentando uma diferença significativa ($p < 0,05$) entre as formulações. A queda do pH para valores próximos a 5,0 nos primeiros dias de fermentação reflete no efeito protetor contra microorganismos indesejáveis, conversão e estabilidade da cor, formação de compostos desejáveis de sabor e aroma (TYÖPPÖNEN *et al.*, 2003).

O pH do salame maturado (28 dias de maturação), correspondendo ao primeiro dia de armazenamento variou entre 4,41 e 4,67 apresentando uma diferença significativa ($p < 0,05$) entre as formulações. Esse resultado é similar aos valores reportados por Ruiz (2011), apresentando ao final de fermentação e secagem um pH entre 4,8 e 4,71 para salame tipo italiano com adição de probióticos livres e encapsulados. Aos 30 dias de armazenamento as formulações teste e padrão tiveram seus valores de pH elevados de 4,41 e 4,67 para 4,82 e 5,41 não apresentando diferença significativa ($p < 0,05$) entre si. Esse aumento no valor do pH

deve-se provavelmente ao aumento da atividade proteolítica, com a formação de peptídeos, aminoácidos e compostos nitrogenados não protéicos (HERRANZ *et al.*, 2003; DURÁ; FLORES; TOLDRÁ, 2004) e está de acordo com o encontrado em vários outros salames fermentados (GRECO *et al.*, 2005). Comportamento semelhante foi observado na produção de embutidos fermentados e secos (MACEDO *et al.*, 2008; OLESEN, MEYER; STAHNKE, 2004), em salame tipo Italiano (GARCIA, GAGLEAZZI; SOBRAL, 2000) e em embutidos fermentados semi-secos (HUGHES *et al.*, 2002).

Os altos valores de pH encontrados para a formulação F5, nitrato e nitrito encapsulado, quando comparados aos valores obtidos para a formulação F1, nitrato e nitrito na forma livre, devem-se, provavelmente, à proteção gerada pelas cápsulas, o que os impediu de interagir com o meio, reduzindo a acidificação. Conferindo assim a eficácia do microencapsulamento do sal de cura em relação à redução de acidificação do salame quando comparado com os resultados obtidos para o padrão.

Os valores de acidez (Tabela 6.5) obtidos para o salame F1 e F5 não diferiram estatisticamente ($p > 0,05$) aos 45 dias e 60 dias de armazenamento. Nos demais períodos constatou-se uma diferença significativa ($p < 0,05$) entre as formulações. Porém observa-se que os valores médios para o F1 e o F5 são similares. Afirmando-se o fato de que o sal de cura adicionado na forma encapsulada não reduziu a atividade fermentativa. As médias observadas de acidez dos salames são coerentes com a queda do pH e da atividade de água discutidas anteriormente.

Conforme os resultados obtidos para TBARS (Tabela 6.5) observa-se que não houve diferença estatística significativa ($p > 0,05$) entre as médias das formulações até os 30 dias armazenamento. Nas médias obtidas para o salame F5 no período de 30 dias de armazenamento observa-se uma redução na oxidação lipídica em relação ao período 1, indicando que o nitrato de nitrito de sódio encapsulado adicionado à formulação exerceu ação antioxidante sobre a rancificação dos lipídeos, porém não foi observada diferença significativa entre os tratamentos, F1 e F5. Após esse período verifica-se uma diferença significativa ($p < 0,05$) entre 45 e 75 dias de armazenamento. A partir dos 90 dias as amostras voltam a não apresentar diferença significativa ($p > 0,05$) entre si.

Para ambas as formulações observou-se um aumento de TBARS durante o armazenamento, porém a formulação F5 é a amostra que apresentou os menores valores médios de TBARS durante todo o período de armazenamento. Este aumento de TBARS durante o armazenamento deve-se provavelmente à ação das enzimas lipolíticas que liberam ácidos graxos insaturados livres, principalmente o ácido linoléico, oléico e araquidônico,

altamente susceptíveis à oxidação nos produtos cárneos e que são influenciadas por diversos fatores relacionados ao processo de fabricação, como a quantidade e o tipo de gordura empregados, o teor de sal e de condimentos, o grau de moagem da carne, a temperatura de maturação, o pH e o potencial redox durante o processamento, conforme justificativas apresentadas nos resultados obtidos por Cichoski (2004) e Pinto, Ponsano e Heinemann (2001).

Cichoski (2004) obteve valores de TBARS variando entre 0,03 e 1,04 mg de MAD/kg em paleta suína fermentada após 120 dias de armazenamento. Este mesmo autor relata que valores de TBARS inferiores a 1,59 mg de MAD/kg são considerados baixos para serem percebidos sensorialmente e não causam alarme para a saúde humana.

Tabela 6.5. pH, acidez e TBARS das formulações de Salame durante o armazenamento.

Período	pH		Acidez (g/100g)		TBARS (mg malonaldeído/kg)	
	F1	F5	F1	F5	F1	F5
Massa	6,09 ^{aA} (0,02)	6,10 ^{aA} (0,01)	-	-	-	-
Defumação	4,54 ^{bD} (0,03)	5,29 ^{aC} (0,01)	-	-	-	-
1**	4,41 ^{bE} (0,02)	4,67 ^{aD} (0,02)	13,15 ^{bC} (0,06)	16,02 ^{aA} (0,62)	0,262 ^{aA} (0,001)	0,218 ^{bA} (0,001)
30	4,82 ^{bB} (0,01)	5,41 ^{aB} (0,01)	16,79 ^{aB} (0,67)	14,99 ^{aC} (1,66)	0,269 ^{aA} (0,001)	0,193 ^{bA} (0,001)
45	4,80 ^{bB} (0,03)	5,27 ^{aC} (0,001)	18,63 ^{aA} (1,09)	16,43 ^{aA} (1,15)	0,269 ^{aA} (0,001)	0,128 ^{bBC} (0,004)
60	4,71 ^{bC} (0,02)	5,27 ^{aC} (0,01)	18,24 ^{aA} (0,70)	16,42 ^{aA} (1,14)	0,270 ^{aA} (0,008)	0,143 ^{bBC} (0,004)
75	4,72 ^{bC} (0,01)	5,27 ^{aC} (0,02)	14,55 ^{bC} (0,62)	16,04 ^{aA} (0,67)	0,290 ^{aA} (0,004)	0,120 ^{bC} (0,004)
90	4,83 ^{bB} (0,01)	5,29 ^{aC} (0,03)	14,55 ^{bC} (0,62)	16,04 ^{aA} (0,67)	0,301 ^{aA} (0,105)	0,185 ^{bAB} (0,001)
120	4,78 ^{bB} (0,01)	5,42 ^{aB} (0,01)	19,73 ^{aA} (1,88)	19,37 ^{aB} (0,68)	0,305 ^{aA} (0,034)	0,229 ^{bA} (0,045)
135	4,74 ^{bB} (0,01)	5,30 ^{aC} (0,01)	19,68 ^{aA} (0,68)	19,79 ^{aB} (0,37)	0,316 ^{aA} (0,015)	0,198 ^{bA} (0,009)

*Médias (desvios) seguidas de letras iguais minúsculas nas linhas e maiúsculas nas colunas não diferem estatisticamente à nível de 5% (Teste de Tukey); **28 dias de maturação.

6.3.3. Análise Sensorial

A análise sensorial da aceitação global para o período 1 (salame maturado) não apresentou diferenças estatísticas significativas ($p>0,05$) entre as formulações. As pontuações dos salames variaram de 7,53 a 7,55, respectivamente, entre “gostei moderadamente” para a formulação padrão e “gostei muito” para a formulação F5, conforme pode ser observado na Tabela 6.6.

De forma geral, o tempo de armazenamento não afetou as pontuações de aceitação global das amostras por apresentar diferença significativa apenas ao final do armazenamento, 120 dias. O salame com o sal de cura encapsulado (F5) apresentou uma boa aceitação, sendo classificado como “gostei moderadamente” na escala hedônica. Em geral, o nitrato e nitrito encapsulados não afetaram sensorialmente o produto.

Tabela 6.6. Aceitabilidade das formulações de Salame durante o armazenamento.

Período de Armazenamento	Formulações	
	F1	F5
1**	7,53 ^{aA}	7,55 ^{aA}
30	7,40 ^{cA}	7,43 ^{bA}
60	7,46 ^{bA}	7,49 ^{bA}
90	7,43 ^{bA}	7,10 ^{cA}
120	7,47 ^{bA}	6,63 ^{dB}

*Médias (desvios) seguidas de letras iguais minúsculas nas colunas e maiúsculas nas linhas não diferem estatisticamente à nível de 5% (Teste de Tukey). **28 dias de maturação.

6.3.4. Análise Multivariada: Análise dos componentes principais e correlação de Pearson

A Tabela 6.7 e Figura 6.5 apresentam a correlação de Pearson e análise dos componentes principais (ACP) das variáveis físico-químicas e sensorial das formulações de

salame (F1 – sal de cura livre e F5 – sal de cura encapsulado) no 0°, 30, 45, 60, 75, 90, 120 e 135° dia de armazenamento, respectivamente.

Na Tabela 6.7 há uma fraca correlação positiva do nitrito com o nitrato ($r=0,456$) e negativa com a acidez ($r=-0,454$) e com TBARs ($r=-0,469$). Por outro lado, o nitrato se correlaciona negativamente com o pH ($r=-0,618$), aw ($r=-0,530$) e acidez ($r=-0,575$) e positivamente com a aceitabilidade ($r=0,487$). Ressalata-se que a aceitabilidade foi correlacionada positivamente com o nitrato ($r=0,487$) e negativamente com o pH ($r=-0,556$). A umidade teve correlação positiva com o pH ($r=0,671$) e aw ($r=0,893$). Nas formulações onde houve diminuição do nitrito ($r=-0,469$), pH ($r=-0,688$), aw ($r=-0,684$) e umidade ($r=-0,793$) houve aumento do TBARS. A cor b^* também foi influenciada, sendo que diminuiu ao aumentar a aw, umidade e/ou ao diminuir o a^* e o TBARs.

Tabela 6.7. Matriz de correlação (r) de Pearson para as variáveis nitrito, nitrato, pH, atividade de água (aW), umidade, acidez, aceitação, TBARS e índices de cor (L*, a*, b*) das formulações de salame (F1 – sal de cura livre e F5 – sal de cura encapsulado) no 0°, 30, 45, 60, 75, 90, 120 e 135° dias de armazenamento.

Variáveis	Nitrito	Nitrato	pH	aw	Umidade	Acidez	Aceitação	TBARS	L*	a*	b*
Nitrito	1										
Nitrato	0,456	1									
pH	0,112	-0,618	1								
aw	0,108	-0,530	0,692	1							
umidade	0,312	-0,327	0,671	0,893	1						
acidez	-0,454	-0,575	0,170	-0,028	-0,099	1					
Aceitação	0,419	0,487	-0,556	-0,366	-0,295	-0,448	1				
TBARS	-0,469	0,214	-0,698	-0,684	-0,793	0,095	0,199	1			
L*	-0,010	0,366	-0,218	-0,100	0,011	-0,270	-0,047	0,080	1		
a*	-0,367	-0,165	-0,039	-0,066	-0,129	0,325	-0,116	0,138	-0,576	1	
b*	-0,377	0,188	-0,408	-0,491	-0,618	0,235	-0,060	0,567	-0,156	0,636	1

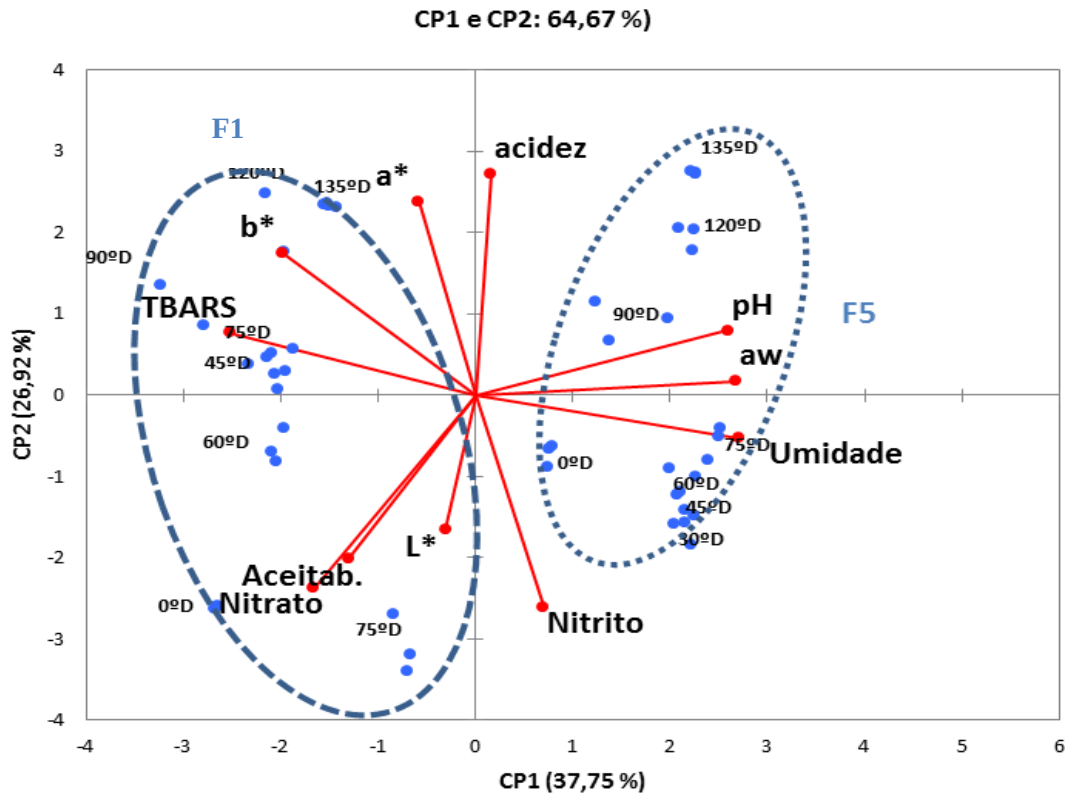
*Valores em negrito são diferentes à nível de significância 95% ($r > 0,45$).

No gráfico (Figura 6.5) da Análise dos Componentes Principais (ACP), as variáveis são representadas como vetores, quanto mais longo o vetor, melhor a explicação da variabilidade entre as amostras/formulações. As amostras em cada dia de armazenamento são representadas por triângulos, sendo cada vértice uma repetição (n =3).

Pela análise da Figura 6.5, a primeira (CP1) e segunda (CP2) dimensão explicaram 64,67 % da variância total. O componente principal 1 (CP1) respondeu por 37,75 %, enquanto ao componente principal 2 (CP2) por 26,92 %.

De acordo com a Figura 6.5, observa-se que houve discriminação entre as formulações de Salame (F1 – sais de cura livre e F5 – sais de cura encapsulado), sendo que a formulação F1 é a que se localiza mais próxima aos vetores (variáveis) TBARS no 45, 75 e 90º dia, cor a^* e b^* no 120 e 135º dia de armazenamento. A aceitabilidade, nitrato e o L^* aos 75 dias de armazenamento. Já para a formulação com o sal de cura encapsulado (F5) apresentou maior pH e aw nos 90, 120 e 135 dias de armazenamento e umidade nos dias 30, 45, 60 e 75.

Figura 6.5. Análise dos Componentes Principais (ACP) das formulações de salame no 0º, 20, 40, 60, 80, 100, 120 e 135º dias de armazenamento, respectivamente.



6.4. Conclusões

A aplicação do sal de cura (nitrato e nitrito de sódio encapsulado) na produção de salame interferiu positivamente nas características físico-químicas e sensoriais do salame. Há evidências de que o salame com o sal de cura encapsulado (F5) desenvolvido nesse trabalho, apresentou uma boa aceitabilidade pelos consumidores. Além disso, esta formulação apresentou um residual de nitrito até 120 dias de armazenamento. Já a formulação (F1) com o sal de cura livre apresentou residual até os 120 dias, porém em uma quantidade muito baixa.

6.5. Referências

- AMBROSIADIS, J.; SOULTOS, N.; ABRAHIM, A.; BLOUKAS, J. G. Physicochemical, microbiological and sensory attributes for the characterization of Greek traditional sausages. **Meat Science**, 279–287, 2004.
- ANDRADE, L. P.; COSTA, J. M. G.; MARQUES, A. P.; PEREIRA, J.; BORGES, S. V.; BATISTA, L. R.; PICCOLI, R. H.; MENDONÇA, K. S. Avaliação da concentração mínima inibitória do óleo essencial de orégano microencapsulado. In: **XIII Congresso CYTAL – AATA**. Buenos Aires, Argentina, 19 a 21 de outubro, 2011.
- BRASIL, Instrução Normativa nº 22 de 31 Julho de 2000 da **Secretaria de Defesa Agropecuária do Ministério da Agricultura e do Abastecimento**. Diário Oficial, 03 Agosto 2000.
- COMI, G.; URSO, R.; IACUMIN, L.; RANTSIOU, K.; CATTANEO, P.; CANTONI, C.; COCOLIN, L. Characterization of naturally fermented sausages produced in the North East of Italy. **Meat Science**, Oxford, 381-392, 2005.
- COMUNIAN, T. A.; FAVARO-TRINDADE, C. S. Microencapsulation using biopolymers as an alternative to produce food enhanced with phytosterols and omega-3 fatty acids: A review. **Food Hydrocolloids**, Cambridge, 442–457, 2016.
- CENTER FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION - CDC. **Botulism associated with canned chili sauce**. Disponível em: <<http://www.cdc.gov/botulism/botulism.htm>>. Acesso em: 28 Julho 2019.
- CICHOSKI, A. J. Desenvolvimento de paleta suína curada maturada e fermentada com adição de *Staphylococcus xylosus*. 2004.124 p. **Tese** (Doutorado em Tecnologia de Alimentos), Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2004.
- DURÁ, M. A.; FLORES, M.; TOLDRÁ, F. Effect of *Debaryomyces* spp. On the proteolysis of dry-fermented sausages. **Meat Science**, Oxford, 319-28, 2004.
- ETCHEPARE, M. A.; MENEZES, M. F. S. C.; RODRIGUES, L. Z.; CODEVILLA, C. R.; MENEZES, C. R.; Microencapsulação de compostos bioativos pelo método de extrusão. **Ciência e Natura**, v.37, Ed. Especial-Nano e Microencapsulação de compostos bioativos e probióticos em alimentos, 97– 105, 2015.

- GARCIA, F. T.; GAGLEAZZI, U. A.; SOBRAL, P. J. A. Variação das propriedades físicas e químicas do salame tipo Italiano durante secagem e fermentação. **Brazilian Journal of Food Technology**, Campinas, 151-158, 2000.
- GOUIN, S. Microencapsulation: industrial appraisal of existing technologies and trends, Trends in **Food Science and Technology**, 330-347, 2004.
- GRECO, M.; MAZZETTE, R.; De SANTIS, E. P. L.; CORONA, A.; COSSEDDU, A. M. Evolution and identification of lactic acid bacteria isolated during the ripening of Sardinian sausages. **Meat Science**, Oxford, 33-739, 2005.
- FERNÁNDEZ, M.; ORDÓÑEZ, J.A.; BRUNA, J.M.; HERRANZ, B.; HOZ, L. Accelerated ripening of dry fermented sausages. **Food Science & Technology**, 201-209, 2000.
- HERRANZ, B.; FERNÁNDEZ, M.; HIERRO, E.; BRUNA, J. M. ORDÓÑEZ, J. A.; de la HOZ, L. Use of *Lactobacillus lactis subsp. cremoris* NCDO 763 and α -ketoglutarate to improve the sensory quality of dry fermented sausages. **Meat Science**, Oxford, 151-163, 2003.
- HUGHES, M. C.; KERRY, J. P.; ARENDT, E. K.; KENNEALLY, P. M.; cSWEENEY, P. L. H.; O'NEILL, E. E. Characterization of proteolysis during the ripening of semidry fermented sausages. **Meat Science**, Oxford, 205-216, Oct. 2002.
- MACEDO, R. E. F.; PFLANZER Jr., S. B.; TERRA, N. N.; FREITAS, R. J. S. Desenvolvimento de embutido fermentados por *Lactobacillus* probióticos: características de qualidade. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, 509-519, 2008.
- NESTERENKO, A.; ALRIC, I.; SILVESTRE, F.; DURRIEU, V. Vegetable proteins in microencapsulation: A review of recent interventions and their effectiveness. **Industrial Crops and Products**, Amsterdam, 469– 479, 2013.
- OLESEN, P. T.; MEYER, A. S.; STAHNKE, L. H. Generation of flavour compounds in fermented sausages – the influence of curing ingredients, *Staphylococcus* starter culture and ripening time. **Meat Science**, Oxford, 675-687, 2004.
- OLIVEIRA, M. J.; ARAÚJO, W. M. C.; BORGIO, L. A. Quantificação de nitrato e nitrito em linguiças do tipo frescal. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, 736-742, 2005.
- PEGG, R. B.; SHAHIDI, F. Nitrite curing of meat: the N-nitrosamine problem and nitrite alternatives. Trumbull, USA: **Food and Nutrition** Press, 2004.
- PINTO, M. F.; PONSANO, E. H. G.; HEINEMANN, R. J. B. Bactérias envolvidas no processamento de produtos cárneos – uma revisão. **Boletim da Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, 109-116, 2001.
- ROSA, T. A. M.; DEGÁSPARI, C. H. Determinação quantitativa de nitrato e nitrito em salames tipo italianos comercializados na região de Colombo – Paraná. **Visão Acadêmica**, Curitiba, 2013.
- RUIZ, J. N. Aplicação de microrganismos probióticos nas formas livre e microencapsulada em salame tipo Italiano. **Dissertação** de Mestrado. Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia dos Alimentos. Universidade de São Paulo Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, 2011.
- SILVA, P. T. Microcápsulas Probióticas Aplicadas à Produção de Salame Tipo Italiano. **Tese** de Doutorado. Programação de Pós Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos. Universidade de Santa Maria (UFSM, RS), Santa Maria, 2014.

- SINDELAR, J. J.; MILKOWSKI, A. L. Sodium nitrite in processed meat and poultry meats: a review of curing and examining the risk/benefit of its use. **American Meat Science Association**, 1–14, 2011.
- SOYER, A.; ERTAS, A. H.; ÜZÜMCÜOĞLU, Ü. Effect of processing conditions on the quality of naturally fermented Turkish sausages (sucukus). **Meat Science**, Oxford, 135-141, 2005.
- TYÖPPÖNEN, S.; PETÄJÄ, E.; MATTILA-SANDHOLM, T. Bioprotectives and probiotics for dry sausages. **International Journal of Food Microbiology**, 233-244, 2003.

7. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A partir dos resultados obtidos ao longo deste trabalho, pode-se concluir que os objetivos propostos foram plenamente atingidos. Foi possível verificar que o antioxidante natural (chá verde) utilizado nas formulações em salame apresentou resultados satisfatórios, indicando que a adição de chá verde, associado ao nitrato/nitrito de sódio e eritorbato de sódio reduziu significativamente a formação de TBARS, não afetando a qualidade sensorial do produto. Assim, esse antioxidante natural pode ser facilmente ser utilizado em Salame para melhorar a qualidade e fornecer produtos mais seguros.

No que diz respeito à produção de microcápsulas de cultura *starter* e sais de cura (nitrato e nitrito de sódio) e sua aplicação na produção de salame, observou-se que a aplicação de ambas as micrcápsulas interferiram positivamente nas características físico-químicas e sensorias do salame. Apresentando uma excelente aceitabilidade pelos consumidores. Além disso, as formulações que tiveram a adição das microcápsulas (cultura strater e sal de cura) apresentaram um residual de nitrito até 120 dias de armazenamento, sendo que a formulações com a adição de cultura strater livre e sal de cura livre apresentou um residual de nitrito até 60 e 75 dias de armazenamento.

Através dos resultados obtidos para aplicação das microcápsulas (cultura *strater* e sal de cura) observa-se que ambas as microcápsulas atenderam o principal objetivo deste estudo, sendo o residual de nitrito até o final do armazenamento do salame, garatindo assim a vida útil até o final do seu armazenamento. Comprovando-se que a utilização das microcápsulas na elaboração de salame é viável.

8. SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

- Avaliar a aplicação de outros tipos de antioxidantes no salame, tais como: própolis e alecrim em diferentes concentrações;
- Realizar a formação de microcápsulas de chá verde e a sua caracterização;
- Aplicar a microcápsula de chá verde em salame, avaliando suas características físico-químicas e sensoriais, bem como sua vida útil;

APENDICE A

Ficha de avaliação sensorial para o teste de escala hedônica.

Ficha de Avaliação	
Avalie cada uma das amostras codificadas de Salame, use a escala abaixo para indicar o quanto você gostou ou desgostou de cada amostra.	
9 gostei muitíssimo	
8 gostei muito	
7 gostei moderadamente	
6 gostei ligeiramente	
5 nem gostei/nem desgostei	
4 desgostei ligeiramente	
3 desgostei moderadamente	
2 desgostei muito	
1 desgostei muitíssimo	
Amostra/Código	Pontuação
_____	_____
_____	_____
_____	_____
_____	_____
_____	_____