

**URI - CAMPUS ERECHIM**  
**DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS**  
**PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA DE ALIMENTOS**

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

**RODRIGO SCHWERT**

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

**ERECHIM, RS - BRASIL**

**AGOSTO DE 2009**

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

RODRIGO SCHWERT

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

Comissão Julgadora:

---

Prof<sup>o</sup>. Alexandre José Cichoski, D. Sc.  
Orientador

---

Prof<sup>a</sup>. Eunice Valduga, D. Sc.  
Orientadora

---

Prof<sup>o</sup> Ernesto Hashime Kubota, D. Sc.

---

Prof<sup>o</sup>. Rogério Luis Cansian, D. Sc.

Erechim, Agosto 2009

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

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

## **AGRADECIMENTOS**

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

A AURORA ALIMENTOS, na pessoa de Rodicler Bortoluzzi, pelo apoio, cooperação e incentivo à minha atualização profissional.

Aos professores Eunice Valduga e Alexandre Cichoski por quem tenho grande admiração e respeito.

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

Ao funcionário da Aurora Thiago Leite e Estagiário Roberto Verlindo, que muito contribuíram na execução dos trabalhos.

Aos Bolsistas da URI que muito contribuíram na execução dos trabalhos.

Aos meus cunhados: Graciele Salvi e Carlos Alberto Motta pela acolhida em sua casa durante esta jornada.

Aos meus pais pelo incentivo sempre.

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

“Deus não escolhe os capacitados, mas capacita os escolhidos.”

(Albert Einstein)

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

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

RODRIGO SCHWERT

Agosto/2009

Orientadores: Alexandre José Cichoski

Eunice Valduga

No Brasil, as linguiças são os produtos cárneos mais consumidos, com processamento relativamente simples e, empregando-se normas higiênico-sanitárias adequadas, a produção pode ser bastante rentável. Porém, é também um produto altamente perecível, uma vez que a extensiva manipulação inerente ao processo torna o produto vulnerável às alterações de ordem físico-química, microbiológica e organolépticas. Neste sentido, o objetivo deste trabalho foi avaliar a estabilidade de linguiça - tipo Calabresa cozida, submetida ao tratamento convencional de defumação (LCFT) e com aplicação de fumaça líquida (LCFL), armazenada a 5 e 20°C por um período de 120 dias. O acompanhamento da estabilidade foi realizado mediante determinações físico-químicas (oxidação de lipídios - TBARS, oxidação de proteínas,  $a_w$ , pH, acidez, cor objetiva e residual de nitrito), microbiológica (bactérias lácticas) e organolépticas (sabor e características visuais). Durante o período de armazenamento verificou-se o desenvolvimento de oxidação lipídica, sendo que após os 40 dias houve correlação com análise sensorial, onde o produto foi caracterizado por apresentar moderado sabor rancificado (oxidado), com valores de TBARS na faixa de 0,44 a 0,56 mg MDA/kg. Após os 60 dias de armazenamento os

dois tratamentos (LCFT e LCFL) armazenados à 20° C foram descaracterizados sensorialmente, pois foi detectado elevado sabor ranço. A linguiça Calabresa mostrou uma diminuição significativa ( $p < 0,05$ ) de pH até o 60º dia, principalmente nos tratamentos LCFT e LCFL armazenados a 20°C, com uma redução de aproximadamente 1,7 unidades, esta redução esta correlacionada com a alta contagem de bactérias lácticas ( $\sim 10^8$  UFC g<sup>-1</sup>). A oxidação protéica foi aumentando gradativamente com o armazenamento nos tratamentos, com valores de 1,15 a 7,69 nmol/mg de proteína. Na determinação objetiva da cor o tratamento com fumaça líquida apresentou menor tonalidade de coloração amarela luminosidade e/ou brilho, indicando que a fumaça líquida utilizada proporcionou aspecto visual mais escuro e com tonalidade inferior do amarelo em comparação a fumaça tradicional.

Palavras-chave: Linguiça; Calabresa; fumaça líquida e convencional; vida útil.



Abstract of Dissertation presented to Food Engineering Program as a partial fulfillment of the requirements for the Degree of Master in Food Engineering

## THE USE OF LIQUID SMOKE IN COOKED AND SMOKED CALABRESE SAUSAGE

RODRIGO SCHWERT

August/2009

Advisors: Alexandre José Cichoski

Eunice Valduga

In Brazil, the sausages are the most consumed meat products, with a processing relatively simple and, employing the hygienic-sanitary standards, the production can be really profitable. However, it is also a highly perishable product, once that the extensive manipulation inherent to the process makes the product vulnerable to the changes of physical-chemical, microbiological and organoleptic order. Accordingly, the objective of this work was to evaluate the sausage stability – cooked type Calabrese, submitted to the conventional smoke treatment (LCFT) and with the liquid smoke application (LCFL), stored at 5 and 20° C for a period of 120 days. The accompaniment of the stability was accomplished with physical-chemical determinations (lipids oxidation - TBARS, proteins oxidation,  $a_w$ , pH, acidity, objective and residual nitrite color), microbiological (lactics bacterias), and organoleptics (flavor and visual features). During the storage period was verified the lipidic oxidation development, considering that 40 days later there was a correlation with sensory analysis, where the product was featured by the moderate presentation of rancid (oxidized) flavor, with values of TBARS between 0,44 and 0,56 mg MDA/kg. After the 60 days of storage, both treatments (LCFT e LCFL) stored at 20°C were sensory uncharacterized, because it was detected high rancid flavor. The Calabrese Sausage showed a significant decrease ( $p < 0,05$ ) of pH until the 60<sup>th</sup> day, mainly in the LCFT

and LCFL treatments stored at 20°C, with a reduction of approximately 1,7 unities, this reduction is correlated with the high counting of lactic bacteria ( $\sim 10^8$  UFC g<sup>-1</sup>). The protein oxidation was increasing gradually with the storage in the treatments, with values of 1,15 to 7,69 nmol/MG of protein. In the objective determination of color the treatment with liquid smoke presented lower yellow hue coloring luminosity and/or brightness, indicating that the liquid smoke used provided a darker visual aspect and with an inferior hue of yellow comparing to the traditional smoke.

Key words: Sausage; Calabrese; liquid smoke and conventional; Shelf life.

# SUMÁRIO

AGRADECIMENTOS.....	v
RESUMO.....	viii
ABSTRACT.....	x
SUMÁRIO.....	xii
LISTA DE FIGURAS.....	xvi
LISTA DE TABELAS.....	xix
1. INTRODUÇÃO	21
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	23
2.1 Linguiça	23
2.2 Caracterização de Linguiça Calabresa	23
2.3 Processamento da Linguiça Calabresa Cozida e Defumada	24
2.4. Processo De Defumação	25
2.4.1. - <i>Definição e Efeitos da Defumação</i>	25
2.4.2. <i>Defumação Convencional</i>	28
2.4.3 <i>Fumaça Líquida</i>	33
2.5. Alterações De Produtos Cárneos	35
2.5.1 <i>Oxidação de lipídios</i>	35
2.5.2 - <i>Oxidação de Proteínas</i>	39
2.5.3 <i>Efeitos do nitrito em produtos curados</i>	44
2.5.4 <i>Microbiota da Linguiça</i>	44
2.6 Principais Características de Avaliação de Qualidade de Produtos Curados	46
2.6.1 <i>Cor</i>	46
2.6.2 <i>Umidade</i>	47
2.6.3 <i>Atividade de água (aw)</i>	48
2.6.4 <i>pH</i>	49
2.6.5 <i>Acidez</i>	49
3. MATERIAL E MÉTODOS	50
3.1 Preparo de Amostras	50
3.2. Determinações físico-químicas e microbiológicas	50
3.2.1. <i>Determinação de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS)</i>	50
3.2.2. <i>Determinação da oxidação das proteínas</i>	51
3.2.3. <i>Determinação de pH</i>	51
3.2.4. <i>Determinação de Atividade de água (aw)</i>	51
3.2.5. <i>Determinação da Acidez</i>	52
3.2.6. <i>Determinação Objetiva de Cor</i>	52
3.2.7. <i>Determinação de Nitrito</i>	52
3.2.8. <i>Análises Microbiológicas - Contagem de bactérias lácticas</i>	52
3.3. Análise sensorial	53

3.4. Análise estatística	53
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	54
4.1 - Determinação da Oxidação Lipídica	54
4.2. Oxidação De Proteínas	56
4.3. pH e Acidez	59
4.4. Atividade de Água (aw)	62
4.5 Determinação Objetiva De Cor	64
4.6 Nitrito	68
4.7. Contagem de Bactérias Lácticas	71
4.8. Avaliação Sensorial	74
5. CONCLUSÕES e sugestões	76
5.1 Conclusões	76
5.2 Sugestões para trabalhos futuros	77
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	78

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1- Reações químicas que envolvem a formação de nitrosaminas .....	32
Figura 2 – Esquema de produção para obtenção de fumaça líquida (KERRY).....	34
Figura 3 - Estrutura de resíduos de aminoácidos propensos à oxidação.....	40
Figura 4 - Representação esquemática das reações das proteínas com os lipídios oxidados (KAREL, SCHAICH e ROY, 1975).....	43
Figura 5 – Diagrama de Hunter Lab, com as variáveis L.a.b. ( OLIVO & OLIVO,2005) .....	47
Figura 6 – Evolução da oxidação lipídica - TBARS (mg malonaldeído/kg) na superfície da linguiça Calabresa cozida e submetida aos tratamentos de defumação convencional (LCFT) e de fumaça líquida (LCFL) e armazenadas a 5° e 20 °C durante 120 dias.....	55
Figura 7 – Evolução da oxidação Protéica (nmol/mg de proteína) na superfície da linguiça Calabresa cozida e submetida aos tratamentos de defumação convencional (LCFT) e de fumaça líquida (LCFL) e armazenadas a 5° e 20 °C durante 120 dias. ....	57
Figura 8 – Correlação da contagem das Bactérias lácticas e pH na superfície de amostras de linguiça Calabresa Cozida e submetidas aos tratamentos de defumação convencional (LCFT) e de fumaça líquida (LCFL) armazenada a 20 °C durante 120 dias.....	60
Figura 9 – Correlação do pH e Acidez durante o tempo de armazenamento a 5° (a) e 20 °C (b) da superfície das linguiças Calabresas cozidas e defumadas nos diferentes tratamentos (LCFT – linguiça Calabresa cozida com fumaça tradicional. LCFL - linguiça Calabresa cozida com fumaça líquida), respectivamente.....	62
Figura 10 – valores de atividade de água (aw) na superfície da linguiça Calabresa cozida e submetidas aos tratamentos de defumação convencional (LCFT) e de fumaça líquida, (LCFL) armazenadas a 5 e 20 °C durante 80 dias.....	64

Figura 11 - Luminosidade (L*) e cor amarela (b*) nos diferentes tratamentos de defumação (LCFT e LCFL) e condições de armazenamento (5 e 20°C) durante 120 dias. ....	67
Figura 12 – Aspecto visual da linguiça Calabresa cozida e submetida aos tratamentos de defumação tradicional e líquida, respectivamente.....	68
Figura 13 – Teor de Nitrito (ppm) da linguiça Calabresa cozida e submetida aos tratamentos de defumação convencional (LCFT) e de fumaça líquida (LCFL) e armazenadas a 5° e 20°C durante 120 dias. ....	70
Figura 14 – Evolução da contagem de Bactérias Lácticas (log10 UFC.g-1) na superfície da linguiça Calabresa cozida e submetida aos tratamentos de defumação convencional (LCFT) e de fumaça líquida (LCFL) e armazenadas a 5° e 20°C durante 120 dias.....	74

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1.</b> Características físico-químicas da linguiça Calabresa cozida e defumada .....	24
<b>Tabela 2.</b> Exemplo de formulação de linguiça calabresa defumada. ....	25
<b>Tabela 3.</b> Esquema representativo das etapas da reação de autooxidação. ....	37
<b>Tabela 4.</b> Evolução da oxidação lipídica - TBARS (mg malonaldeído/kg) na superfície da linguiça Calabresa cozida e submetida aos tratamentos de defumação convencional (LCFT) e de fumaça líquida (LCFL) e armazenadas a 5° e 20°C durante 120 dias.....	54
<b>Tabela 5.</b> Índice de oxidação protéica expresso em carbonil (nmol carbonil /mg proteína) na superfície da linguiça Calabresa cozida e submetida aos tratamentos de defumação convencional (LCFT) e de fumaça líquida (LCFL) e armazenadas a 5° e 20°C durante 120 dias. ....	57
<b>Tabela 6:</b> Valores pH na superfície da linguiça Calabresa Cozida e submetida aos tratamentos de defumação convencional (LCFT) e de fumaça líquida (LCFL) armazenada a 5 e 20°C durante 120 dias.....	59
<b>Tabela 7:</b> Valores de Atividade de Água na superfície da linguiça Calabresa cozida e submetida aos tratamentos de defumação convencional (LCFT) e de fumaça líquida (LCFL) armazenadas a 5° e 20°C durante 80 dias.....	63
<b>Tabela 8:</b> Valores médios da luminosidade (L*), cor vermelha (a*) e cor amarela (b*) nos diferentes tratamentos de defumação (LCFT e LCFL) e condições de armazenamento (5 e 20°C) durante 120 dias.....	66
<b>Tabela 9:</b> Teores de Residual de Nitrito (ppm) da linguiça Calabresa cozida e submetida aos tratamentos de defumação convencional (LCFT) e de fumaça líquida (LCFL) armazenada a 5 e 20°C durante 120 dias. ....	69
Nitrito (ppm).....	69
<b>Tabela 10:</b> Evolução da contagem de Bactérias Lácticas (log <sub>10</sub> UFC.g <sup>-1</sup> ) na superfície da linguiça Calabresa cozida e submetida aos tratamentos de defumação convencional (LCFT) e de fumaça líquida (LCFL) e armazenadas a 5° e 20°C durante 120 dias.....	72

**Bactérias Lácticas (log10 UFC.g-1)..... 72**

**Tabela 11:** Evolução sensorial (sabor ranço) de amostras de linguiça Calabresa cozida e submetida aos tratamentos de defumação convencional (LCFT) e de fumaça líquida (LCFL) e armazenadas a 5° e 20°C durante 60 dias ..... 75



## 1. INTRODUÇÃO

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

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

Atualmente a moderna indústria de embutidos conta com embutideiras a vácuo, envoltórios dos mais diversos tipos, estufas de cozimento e/ou defumação programadas por computador, instalações frigoríficas adequadas, embalagens e condimentos necessários para a fabricação de produtos seguros e de fácil preparação para o consumo. Estes são requisitos encontrados no atual estilo de vida, seja em ocasiões de entretenimento ou na rotina da alimentação.

Os alimentos cárneos, devido a sua riqueza de umidade, proteínas, gorduras e outros nutrientes, são produtos bastante susceptíveis a alterações de ordem físico-química e microbiológica. Entre estas alterações, a oxidação lipídica e a oxidação de pigmentos são difíceis de serem controladas devido a sua complexidade e variabilidade podendo ser potencializada pela ação de microrganismos. Os lipídios são importantes componentes dos produtos cárneos, conferindo características desejáveis de suculência, sabor, aroma, valor nutricional e propriedades

tecnológicas. Contudo, os mesmos são facilmente oxidáveis, levando a rancificação, com a produção de substâncias indesejáveis comprometendo a qualidade e a vida útil dos produtos (OLIVO, 2005). A complexidade do processamento dos produtos cárneos, e a necessidade de aumentar o período de armazenamento, tornam o produto muito vulnerável à deterioração (ARAUJO, 1999).

Neste contexto, o objetivo deste trabalho foi aplicar fumaça líquida, em comparação a fumaça tradicional em linguiça calabresa cozida, e acompanhar a estabilidade físico-química, microbiológica e sensorial durante 120 dias de armazenamento a temperatura de 5 e 20 °C.

Os objetivos específicos foram em: determinar a oxidação das gorduras, determinar os compostos carbonil, determinar os parâmetros físico-químicos (pH,  $a_w$ , acidez e nitritos), determinar a cor ( $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ ), determinar o desenvolvimento das bactérias lácticas e análise sensorial.

## **2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**

### **2.1 Linguiça**

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

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

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

### **2.2 Caracterização de Linguiça Calabresa**

Entende-se por linguiça o produto cárneo industrializado, obtido de carnes de animais de açougue adicionados ou não de tecidos adiposos, ingredientes, embutidos em envoltório natural ou artificial, e submetidos ao processo tecnológico adequado.

A linguiça para ser classificada como Calabresa deve ser obtida exclusivamente de carne suína, curada, e adicionada de ingredientes, devendo ter o sabor picante característico da pimenta calabresa, submetidas ou não ao processo de estufagem ou similar para desidratação e ou cozimento, sendo o processo de defumação opcional (BRASIL, 2000).

Nas linguiças denominadas tipo Calabresa que são submetidas ao processo de cozimento, é permitindo a adição de até 20 % de Carne Mecanicamente Separada (CMS) (Brasil, 2000).

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

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

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

Fonte: BRASIL (2000).

### **2.3 Processamento da Linguiça Calabresa Cozida e Defumada**

Embutidos são produtos resultantes da necessidade de aproveitamento da carne fresca e/ou congelada, especialmente resultante das partes menos nobres de carcaças de animais de açougue. Existem vários métodos de processamento com objetivo de desenvolver características organolépticas e propriedades desejáveis. As linguiças estão entre alguns dos produtos processados mais antigos e tradicionais, ainda com ampla aceitação e consumo (FAO, 1985).

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

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

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

**Tabela 2.** Exemplo de formulação de linguiça calabresa defumada.

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

Fonte: TERRA (1998).

## **2.4. Processo De Defumação**

### **2.4.1. - Definição e Efeitos da Defumação**

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

O nativo brasileiro já utilizava da técnica em pescados e animais de caça. É frequente na literatura o termo "moquear". O pescado ou a carne de animais de caça eram colocadas sobre uma queima de madeira, recebendo o aquecimento, e ao

mesmo tempo se desidratavam e absorviam a fumaça. A defumação mais técnica, seja artesanal ou industrial, foi introduzida no País, proveniente da Europa, na região Sul e Sudeste e depois disseminada para outras regiões, com o desenvolvimento do setor ( BLISKA, 1996).

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

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

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

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

O efeito da conservação se deve à somatória dos seguintes fatores: 1) secagem da superfície do produto, que inibe o crescimento de microrganismos, 2) da

elevação da temperatura, que age na velocidade das reações, 3) da quantidade depositada de compostos fenólicos, ácidos e algumas carbonilas que têm propriedades bacteriostáticas e 4) da quantidade depositada de fenóis e produtos da reação de Maillard que inibem a oxidação da gordura (CANHOS, 1983).

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

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

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

Produtos que não apresentam estes valores de atividade de água têm uma vida-de-prateleira menor. As técnicas de manipulação posteriores ao cozimento do produto defumado, tais como armazenamento, depelagem, embalagem, exposição ao ar, porcionamento, reduzem grandemente a estabilidade do produto defumado. Estes produtos requerem a utilização de outras tecnologias de conservação como a

refrigeração, embalagem a vácuo, embalagem em atmosfera modificada, proteção à luz, ou outro meio (MOELLER, 1996).

#### **2.4.2. Defumação Convencional**

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

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

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

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

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



na estufa permite boa deposição dos componentes do sabor, porém desenvolve pouca cor;

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

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

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

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

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

A hemicelulose não tem uma fórmula estrutural única. As madeiras duras contêm mais pentosanas, enquanto que nas moles pode predominar as hexosanas. A hemicelulose de hexosana origina compostos análogos à celulose. Já as hemiceluloses de pentosanas decompõem mais rapidamente com a ação do calor, e resultam em derivados do furano e de ácidos carboxílicos com cadeia aberta. É por esta razão que as madeiras duras geralmente geram mais ácidos que as moles (ITAL, 2003).

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

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

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

A composição e a densidade da fumaça dependem da temperatura de combustão e da proporção de ar fresco na câmara de combustão. A mecanização dos geradores permite o fluxo e volume uniforme de fumaça. Os conhecimentos atuais sobre a teoria da produção de fumaça, permitem que os parâmetros da formação desse aerosol sejam expressos em uma equação matemática. A composição da fumaça, entretanto, também depende da própria madeira, cuja composição não é constante ao longo do ano. A fumaça produzida em geradores a vapor super aquecido tem composição constante e contribui para a uniformidade da carne defumada (FESSMANN, 1995).

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

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

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

- a) Ácidos - O componente principal no grupo dos ácidos é o ácido acético e os mesmos contribuem para a coagulação das proteínas, na superfície do produto. Somado ao efeito da secagem forma a retícula ou pele. Em salsichas esta formação auxilia a depelagem das tripas celulósicas.
- b) Fenóis - Os fenóis são responsáveis pelo aroma e sabor de defumados e possuem ação antioxidante e bacteriostática. Podem reagir com as carbonilas e o

nitrito do produto. Podem se acoplar ao ácido sulfúrico resultando compostos sulfônicos, mas nas quantidades habitualmente consumidas não representa perigo. Os fenóis simples têm ação anticéptica, os polivalentes cresóis, catequinas podem sofrer nitrificação, também são inofensivos nas concentrações habituais.

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

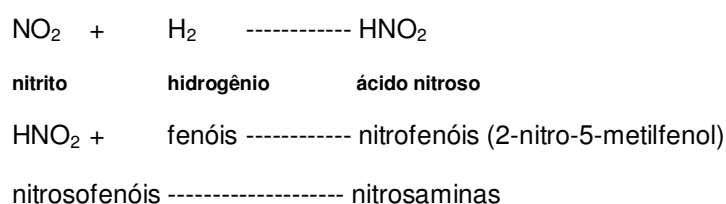


Figura 1- Reações químicas que envolvem a formação de nitrosaminas

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

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

### 2.4.3 Fumaça Líquida

A fumaça líquida natural é um produto comercial padronizado para ser aplicado em alimentos com a finalidade de promover a defumação. A fumaça líquida é obtida por um processo de combustão parcial de madeiras selecionadas, condensação ou extração em água da fumaça até a saturação, eliminação por decantação do alcatrão e por filtrações sucessivas para retirada dos hidrocarbonetos aromáticos policíclicos (HAP). A fumaça líquida assim produzida é relativamente estável (ADICON, 1998).

A fumaça líquida é obtida a partir da queima de pó de madeira em fornalhas de altas temperaturas por um processo chamado de *flash* pirólise (Figura 02). Quando fala-se de Pirólise parte-se da queima de madeira através de forno rotatório, obtendo a fumaça gasosa que é recolhida em tanques de água quente a 65°C, onde grande parte da fumaça gasosa é suspensa na água. O residual da fumaça gasosa é decantado como o alcatrão que contém os elementos nocivos para a saúde. O alcatrão serve como combustível para o forno rotatório. A fumaça em suspensão na água passará por uma série de etapas de sedimentação, filtração, concentração e maturação. Obtendo-se finalmente uma grande quantidade de diferentes tipos de fumaça líquida (ADICON, 1998).

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

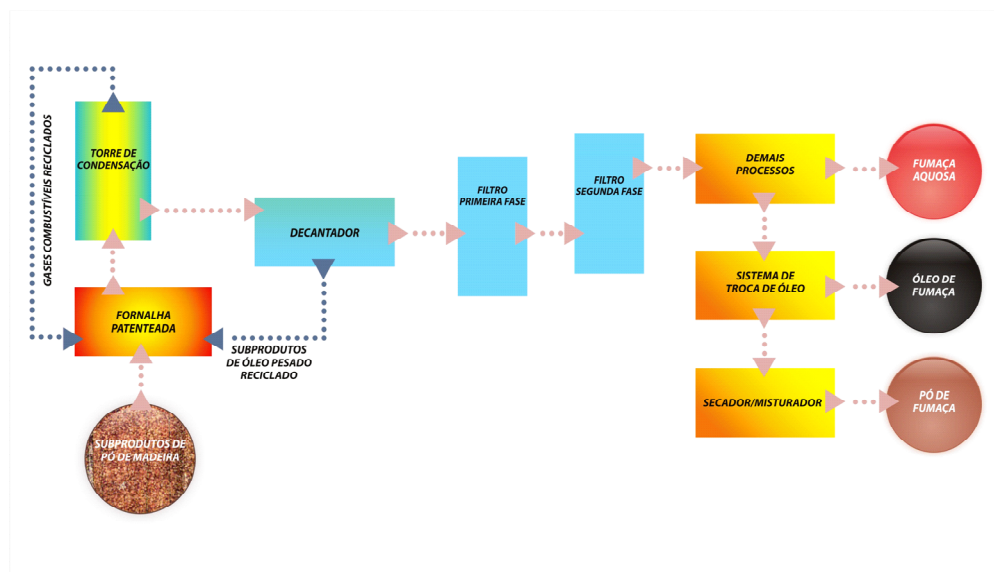


Figura 2 – Esquema de produção para obtenção de fumaça líquida (KERRY).

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

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

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

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

a) Compostos obtidos quando da pirólise da celulose: ácido acético, ácido fórmico, maltol, metil ciclopentenolone, etilciclopentenolone, dimetilciclopentenolone, furfural, 5-hidroximetilfurfural.

b) Compostos obtidos quando da pirólise da lignina: fenol; orto, meta e para-cresol; guaiacol; 4-metilguaiacol; 4-etilguaiacol; 4-propilguaiacol; pirocatecol; trimetilfenol; vanillin; 4-2-propilvanillone; 4-1-propilvanillone; acetovanillone; 2,4,5-trimetilbenzaldeído; 4-Hidroxiacetofenone; eugenol; Cis e Trans-isoeugenol; 2,6-dimetoxifenol; 4-metilsiringol; 4-etilsiringol; 4-propilsiringol; 4-acetosiringol; 4-2-propilsiringol; 4-1-propilsiringol; Cis e Trans 4-1-propenilsiringol; 4-2-propenilsiringol; siringaldeído.

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

## **2.5. Alterações De Produtos Cárneos**

### **2.5.1 Oxidação de lipídios**

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

A oxidação lipídica acarreta modificações nas características organolépticas dos produtos cárneos, como por exemplo, alterações de coloração da carne e da gordura, desenvolvimento de sabor e aroma desagradáveis e um decréscimo no valor nutritivo do produto, devido à diminuição no conteúdo de ácidos graxos poliinsaturados, cujo efeito benéfico na saúde dos consumidores é bem documentado (ALEXANDER, 1998; ROSE e CONNOLLY, 1999; BERRA, MONTORFANO e RIZZO, 2005).

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

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

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

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



**Tabela 3.** Esquema representativo das etapas da reação de autoxidação.

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

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

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

Nas fases de iniciação e propagação, a presença de radicais livres, que são moléculas extremamente reativas, é decisiva (ADAMS, 1999). Essas formas reativas são normalmente produzidas durante o metabolismo do oxigênio nos tecidos e são chamadas de espécies reativas de oxigênio (ROS do inglês Reactive Oxygen Species). Estes compostos dividem-se em radicais ( $O^2$  e  $HO\cdot$ ) ou não radicais ( $H^2O^2$ ). Alguns deles são produzidos durante o metabolismo aeróbio das células vivas, como o radical superóxido ( $O^2$ ), que é formado pela adição de um elétron

extra ao oxigênio molecular ( $O^2$ ), durante o processo de redução do oxigênio na cadeia respiratória mitocondrial. Mesmo apresentando pouca reatividade química, os compostos  $O^2$  e  $H^2O^2$ , quando expostos a determinados íons metálicos ( $Fe^{2+}$  e  $Cu^{2+}$ ), geram um radical livre altamente reativo, o radical hidroxila ( $HO\cdot$ ) (COMBS, 1998).

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

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

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

Na terceira fase, de terminação, suas características são o consumo de oxigênio tendendo a cair, diminuição dos peróxidos, e forte alteração sensorial, podendo haver alterações da cor e viscosidade (BOBBIO e BOBBIO, 1992). É a fase mais crítica, por ocasião do processamento, manuseio, moagem, trituração, cozimento e estocagem, determinando o rompimento da membrana celular, potencializado pela adição de água, adição de sal, temperatura, liberação de ferro, presença de oxigênio, ação microbiológica (OLIVO, 2005).

A estabilidade oxidativa dos alimentos é dependente do equilíbrio entre a composição e concentração do substrato e a presença de pró-oxidantes. A remoção do oxigênio, inativação de enzimas, proteção contra luz e íons metálicos são

importantes para evitar ou minimizar a oxidação lipídica. No entanto, estas medidas nem sempre são aplicáveis. A adição de antioxidantes constitui prática mais comum para aumentar a estabilidade dos lipídios (DECKER, 1998).

### **2.5.2 - Oxidação de Proteínas**

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

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

A oxidação das proteínas e dos aminoácidos é afetada por muitos fatores ambientais tais como o pH, temperatura, atividade de água, e a presença dos catalizadores ou dos inibidores. Além disso, as estruturas tridimensionais de cada

proteína afetam como as proteínas podem interagir com os lipídios (AYNIÉS *et al.*, 1992). A estabilidade física de uma emulsão proteína-estabilizada depende também da concentração da proteína na solução, no pH, e na temperatura (FOMUSO, CORREDIG, AKOH, 2002; HU, MCCLEMENTS, DECKER, 2003).

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

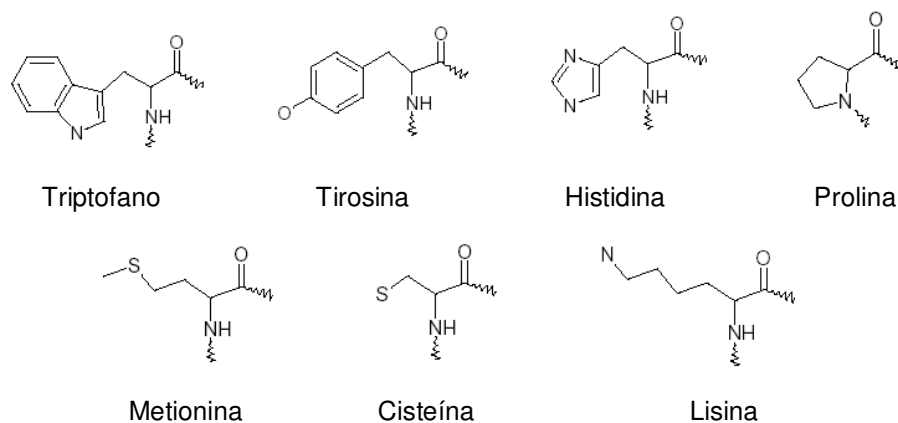


Figura 3 - Estrutura de resíduos de aminoácidos propensos à oxidação.

Os resíduos das metioninas perto da superfície das proteínas podem ser facilmente acessíveis à oxidação, e a proteína tornar-se-á mais hidrófila (VOGT, 1995). Por outro lado, se o resíduo da metionina for ligado parcialmente ou

totalmente em um agrupamento hidrofóbico formado com outros grupos hidrofóbicos, pode ser mais ou menos protegido da oxidação. Em alguns peptídeos os complexos de cobre mostraram a fragmentação em que o terceiro resíduo do aminoácido (da extremidade amino) é destruído (LEVITZKI, ANBAR e BERGER, 1967).

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

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

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

Na Figura 4 são mostrados os possíveis caminhos da oxidação de proteína na presença do oxigênio e produtos da oxidação de lipídios (KAREL, SCHAICH e ROY, 1975). O primeiro átomo de hidrogênio é abstraído da proteína (PH) por algum radical não-proteína ( $A^*$ ), e transfere a proteína ao radical da proteína ( $P^*$ ) (a). Em seqüência têm-se três possíveis maneiras para que o radical da proteína reaja: oxidação (b), transferência (c), ligação cruzada (d). Na oxidação, o radical da proteína está reagindo diretamente com o oxigênio que conduz à proteína-peróxil ( $PO_2$ ) e finalmente a cisão. Em transferência, o radical da proteína está abstraindo o hidrogênio de outros compostos presentes para dar forma à proteína ou ao hidroperóxido não-radical da proteína dependendo dos compostos participantes.

No mecanismo da ligação cruzada, a proteína inalterada está com ligação cruzada com os produtos da oxidação de lipídios tais como hidroperóxidos ou

aldeídos (B) ou dois radicais de proteína estão interagindo dando forma às ligações cruzadas de proteína-proteína (P-P) (KAREL, SCHAICH e ROY, 1975; HIDALGO e ZAMORA, 2000; ZAMORA, ALAIZ e HIDALGO, 2000). Além disso, a proteína-peróxil pode reagir com a proteína inalterada, e formar o oxigênio ligado da proteína-proteína.

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

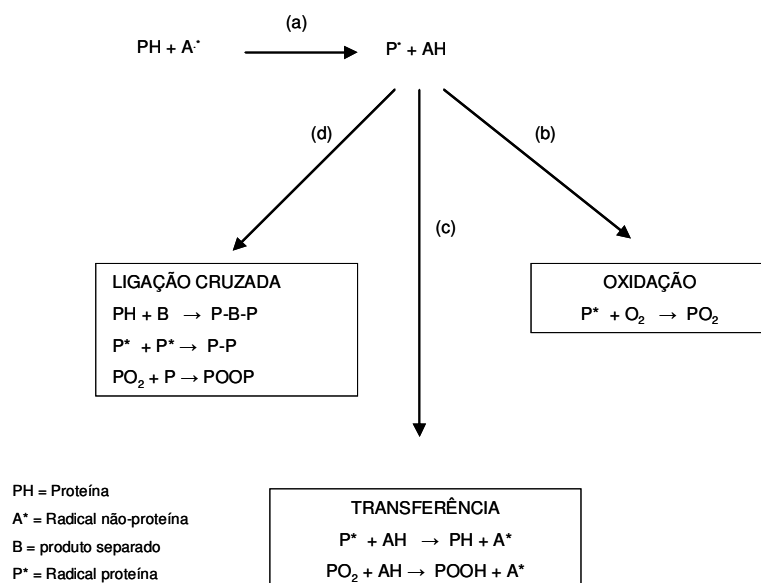


Figura 4 - Representação esquemática das reações das proteínas com os lipídios oxidados (KAREL, SCHAICH e ROY, 1975).

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

### **2.5.3 Efeitos do nitrito em produtos curados**

Os sais sódicos e potássicos de nitritos e nitratos são utilizados comumente em cura das carnes para desenvolver e fixar a cor, para inibir os microrganismos e para desenvolver sabores característicos. Aparentemente o constituinte funcional é o nitrito mais do que o nitrato. Os nitritos formam na carne óxido nítrico que reage com os compostos heme para dar nitrosomioglobina, que é o pigmento responsável da cor rósea avermelhada das carnes curadas. As avaliações organolépticas também indicam que o nitrito contribui para o sabor da carne curada ao atuar como antioxidante, se bem que os detalhes do processo não estão totalmente esclarecidos. Além disso, os nitritos (150 a 200 ppm) inibem o crescimento do gênero *Clostridium* em carnes curadas e em carnes enlatadas. Como inibidor deste tipo de microrganismo, o nitrito é mais eficaz a pH 5,0 – 5,5 que a valores de pH mais elevados; ainda que se desconhece o mecanismo antimicrobiano do nitrito, se tem sugerido que ocorram reações com os grupos sulfídricos para formar compostos que não são metabolizados pelos microrganismos em condições anaeróbicas (FENNEMA, 1993).

### **2.5.4 Microbiota da Linguiça**

A carne e seus produtos derivados apresentam alta susceptibilidade às contaminações bacterianas, provocando redução de suas propriedades nutritivas, alterações organolépticas indesejáveis e risco à saúde do consumidor, podendo veicular microrganismos patogênicos e/ou suas toxinas. Para impedir essas situações podem ser usados diversos métodos de conservação como salga, defumação, secagem, refrigeração, radiação, uso adequado de embalagens e fermentação (DABÉS; SANTOS; PEREIRA, 2001).

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

Numerosos fatores influenciam o tipo de microrganismo que contamina a carne e os produtos cárneos frescos. Esses fatores incluem a faixa de pH da carne;



a adição de sal, nitrito, açúcar, fumaça (líquida ou natural), acidulantes e o estado da carne (aquecida, fermentada, ou seca). Após o processamento, o tipo e a proporção de espoliação são influenciados pelo tipo de embalagem, temperatura de armazenamento, composição final do produto e sobrevivência ou contaminação de microrganismos. Coliformes, *Escherichia coli*, Enterococos, *Campylobacter*, *Staphylococcus aureus*, *Clostridium perfringens*, *Listeria monocytogenes* e *Salmonella* estão freqüentemente presentes na carne fresca, já que o processo de abate não apresenta nenhuma etapa bactericida. A freqüência e o nível dessas bactérias no animal recém abatido variam, dependendo das condições climáticas, criação, transporte, repouso e condições de processo. Em geral, todas elas, com exceção da *Salmonella*, *Campylobacter* e *L. monocytogenes* pode estar presente em nível em torno de  $10^1$  a  $10^2$  UFC/g. A *Salmonella*, quando presente, geralmente não pode exceder o nível de uma célula por 25 g na carne fresca (JOHNSTON & TOMPKIN apud VANDERZANT & SPLITTSTOESSER, 1992).

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

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

O tipo de embalagem utilizada é um fator de extrema importância e que influencia enormemente na flora microbiana do produto cárneo. Quando a carne é embalada a vácuo, em sistemas que promovem barreira a gases, altera-se radicalmente a atmosfera gasosa ao redor da superfície do produto. A pequena quantidade de oxigênio remanescente no interior da embalagem é consumida pela atividade metabólica da carne e de bactérias. Cria-se, assim, um microsistema anaeróbio (microanaeróbio) dentro da embalagem que, auxiliado pelo efeito inibitório do CO<sub>2</sub> liberado na respiração, retarda o crescimento de bactérias deterioradoras, como as *Pseudomonas*, permitindo a predominância de bactérias lácticas, que têm menor potencial de deterioração e crescimento limitado em baixas temperaturas. O

resultado é a vida-de-prateleira mais longa que a da carne fresca exposta ao ar (SARANTÓUPOLOS & OLIVEIRA, 1991).

A redução do pH e a utilização de carboidratos disponíveis parecem constituir o principal mecanismo de antagonismo microbiano. Sabe-se também que as bactérias lácticas produzem, além dos ácidos orgânicos, outras substâncias antagonistas, como peróxido de hidrogênio, radicais livres, diacetil, acetaldeído, isômeros D de aminoácidos, pequenas moléculas não-protéicas e bacteriocinas (DABÉS, SANTOS e PEREIRA, 2001).

## **2.6 Principais Características de Avaliação de Qualidade de Produtos Curados**

### **2.6.1 Cor**

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

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

Para a determinação objetiva da cor é usado um colorímetro programado com o sistema  $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$  de acordo com a CIALAB (Commission International for Illumination). O uso de  $L^*$  caracteriza os padrões determinados por esta comissão. O colorímetro fornece três variáveis, de acordo com o Diagrama de Hunter (Figura 5): Valor de  $L^*$ , situado no eixo vertical do diagrama, mede a luminosidade ou a porcentagem de refletância, variando de 0 (preto) para 100 (branco). Com esta informação é possível determinar objetivamente a cor da carne entre os padrões de qualidade determinados em Pálidas (PSE), Normal ou Escura (DFD).

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



Figura 5 – Diagrama de Hunter Lab, com as variáveis L.a.b. ( OLIVO & OLIVO,2005)

### 2.6.2 Umidade

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

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

Desta forma, para garantir-se que o tempo necessário para cozedura seja suficiente, a água é adicionada gelada ou na forma de gelo. A água adicionada também contribui com a viscosidade da emulsão, que deve ser tal, que não propicie a quebra desta. Quando a viscosidade é muito elevada, a susceptibilidade à quebra

durante o processo é maior. A quantidade de água adicionada durante o processamento depende muito da quantidade e da qualidade da proteína disponível na formulação, para que a água adicionada possa ficar retida no produto (FREY, 1995).

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

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

### **2.6.3 Atividade de água ( $a_w$ )**

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

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

Ao se adicionar um soluto em um líquido (solução, alimento, etc.) a evaporação das moléculas para a fase gasosa torna-se menor, conseqüentemente a pressão de vapor é reduzida. Com base nestes conceitos, a atividade de água ( $a_w$ )

de uma solução ou alimento é definida como relação entre a pressão de vapor da solução  $P$  e a pressão de vapor do solvente puro  $P_0$ , usualmente a água pura ( $=1$ ) na mesma temperatura (ANDDREO *et al.*, 2003).

#### 2.6.4 pH

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

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

No momento do abate, o músculo é mole e extensível, mas em poucas horas converte-se em uma estrutura inextensível e relativamente rígida, o que é conhecido como *rigor mortis* ou rigidez cadavérica. A maturação da carne ou resolução do *rigor mortis* compreende as mudanças posteriores ao desenvolvimento da rigidez cadavérica que determinam o relaxamento lento do músculo provocando amolecimento da carne após 3 a 4 dias de armazenamento em refrigeração (HONKAVAARA, 1998).

#### 2.6.5 Acidez

A acidez pode ser um fator básico na preservação do músculo ou ter um papel auxiliar, cujo efeito se combina com outros fatores tais como: conservadores químicos, temperatura, atividade de água e etc. As células de diferentes espécies microbianas apresentam tolerância distinta à acidificação interna, ou a acumulação de ânions, e suas membranas exibem características diversas quanto à permeabilidade por ácidos lipofílicos. Os ácidos orgânicos são bacteriostáticos mais eficientes, normalmente, a baixas temperaturas (ICMSF, 1980).

### 3. MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1 Preparo de Amostras

A linguiça Calabresa foi preparada conforme formulação padrão de uma agroindústria, situada no município de Chapecó – SC. Após a formulação as amostras de linguiça Calabresa foram submetidas a dois tratamentos de defumação: Tratamento 1 - Linguiça Calabresa com fumaça tradicional (LCFT), conforme processo atual da indústria; Tratamento 2 – Linguiça Calabresa com fumaça líquida (LCFL), o qual recebeu um banho com fumaça líquida.

Posteriormente, as amostras dos tratamentos foram acondicionadas em embalagens de Nylon Poli (Taxa de permeabilidade ao oxigênio menor 50,00 CC/m<sup>2</sup> dia) e armazenadas a temperatura de 5 e 20°C durante 120 dias.

#### 3.2. Determinações físico-químicas e microbiológicas

As determinações físico químicas (Oxidação de lipídios e proteínas, atividade de água, pH, acidez, cor objetiva e nitrito) e microbiológicas (Contagem de Bactérias lácticas) foram avaliadas a cada período de 20 dias de armazenamento a 5 e 20°C, com amostragem de 4 a 7 mm da camada superficial do produto.

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

##### 3.2.1. Determinação de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS)

Para avaliar a extensão da oxidação lipídica ocorrida nos tratamentos realizou-se o teste das substâncias reativas ao ácido 2 tiobarbitúrico (TBARS) de acordo com RAHARJO, SOFOS e SCHIMIDT (1992), modificado por WANG *et al.* (2002) em relação à interferência do açúcar na reação e seguindo recomendações

de SHAIDI et al., (1985) no que se refere à adição de sulfanilamida para as amostras que contém nitrito. A concentração foi calculada por espectrofotometria (Parkin Elmer modelo Lambda EZ150) a 531 nm usando uma curva padrão com TEP ( $1 \times 10^{-8}$  a  $1 \times 10^{-7}$  mol/mL). Os resultados foram expressos em miligramas de malonaldeído por quilograma de amostra (MDA mg/ Kg de amostra).

### **3.2.2. Determinação da oxidação das proteínas**

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

### **3.2.3. Determinação de pH**

Para a determinação de pH, 10 g de amostras foram retirados de porções de aproximadamente 3 gomos de lingüiça, acrescidas de 20 mL de água deionizada e homogeneizadas (Stomacher 400) por 1 minuto. O valor de pH foi determinado em potenciômetro digital (Digimed®), previamente calibrado a pH 4 e 7 (AOAC, 2000).

### **3.2.4. Determinação de Atividade de água ( $a_w$ )**

A atividade de água ( $a_w$ ), foi determinada pelo procedimento do Aqualad CX-2 Water Activity – System, efetuando-se a calibração do aparelho com água deionizada e solução de NaCl com 0,819 de  $a_w$  até sua estabilização, e em seguida feita à leitura da  $a_w/T^\circ\text{C}$  da amostra.

### **3.2.5. Determinação da Acidez**

Dez gramas de amostra foram diluídas em 200 mL de água destilada, triturados durante 1 minuto, transferidos para um balão volumétrico de 250 mL, onde o volume foi completado e a solução filtrada. Foi transferido 25 mL do filtrado para um erlenmeyer e adicionado de 75 mL de água destilada juntamente com 3 gotas de solução alcoólica de fenolftaleína a 1 % e a seguir realizada a titulação com solução de NaOH 0,1 N, até o ponto de viragem (pH = 8,2). A acidez total foi expressa em g de ácido láctico por 100 g de amostra (TERRA & BRUM, 1998).

### **3.2.6. Determinação Objetiva de Cor**

A cor objetiva foi determinada em colorímetro CR-400 Minolta Chromameter (Minolta Cia Ltda.), no espaço CIE  $L^*a^*b^*$ , onde  $L^*$  = luminosidade,  $a^*$  = intensidade da cor vermelha e  $b^*$  = intensidade da cor amarela (STEWART; ZIPSER e WATTS, 1965). As determinações foram realizadas diretamente na superfície dos produtos com remoção do líquido superficial com absorção em papel antes da leitura.

### **3.2.7. Determinação de Nitrito**

O teor de nitrito das amostras foi determinado segundo metodologia descrita pelas normas do Instituto Adolfo Lutz (BRASIL, 2005), utilizando o método de Griess-Ilosvay. Após a desproteínização das amostras, os filtrados obtidos foram submetidos à reação de cor com alfa-naftol e leitura em espectrofotômetro Parkin Elmer modelo Lambda EZ150 a 474 nm em relação a uma curva padrão (2 a 100µg/L).

### **3.2.8. Análises Microbiológicas - Contagem de bactérias lácticas**

Para a determinação microbiológica (Contagem de bactérias lácticas), alíquotas de 25 g da amostra, foram retiradas aleatoriamente, em gomos de lingüiça Calabresa, e transferidas para saco plástico estéril de *stomacher*, adicionadas de 225 mL de água peptonada 0,1 % estéril e homogeneizadas (Stomacher 400) por 2



minutos. Diluições seriadas subseqüentes foram também preparadas com água peptonada 0,1 % estéril.

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

### **3.3. Análise sensorial**

As avaliações sensoriais com degustadores treinados pela própria empresa foram realizadas a cada período de 20 dias. As amostras foram aquecidas em água (~90 °C), retiradas da água cortadas em rodela e distribuídas em embalagens codificadas.

Foi realizada na indústria em escala laboratorial, com equipe composta por 10 provadores treinados de ambos os sexos, de diferentes faixas etárias (20 a 50 anos). As amostras de linguiça Calabresa (~2 cm de arestas) foram distribuídas em recipientes plásticos codificados com números aleatórios de 3 dígitos, juntamente com a ficha de avaliação, em 2 sessões de avaliação sensorial, onde cada provador provou em cada sessão 3 amostras, expressando quanto a amostra-referência diferenciou da amostra-tratamento em relação a oxidação, em uma escala mista de 9 pontos (0 - Nenhum ranço; 1; 2 - Ligeiramente ranço; 3; 4- Moderadamente ranço; 5; 6 - Muito ranço; 7; 8 - Extremamente ranço).

### **3.4. Análise estatística**

As determinações foram realizadas em triplicatas. Os resultados das determinações físico-químicas e sensoriais foram tratados estatisticamente pela análise de variância (ANOVA), e comparação das médias pelo teste de Tukey com 5 % de significância ( $p < 0,05$ ), utilizando o *software* STATISTICA versão 6.1 (Statsoft Inc, USA).

#### 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Neste capítulo serão apresentados e discutidos os resultados obtidos no decorrer deste trabalho, constando do acompanhamento da estabilidade físico-química, microbiológica e sensorial da linguiça Calabresa cozida e defumada pelo processo convencional e de fumaça líquida, durante 120 dias de armazenamento a temperatura de 5 e 20 °C.

##### 4.1 - Determinação da Oxidação Lipídica

A evolução da oxidação lipídica (TBARS) na superfície (4 a 7mm) da linguiça Calabresa cozida e submetida aos tratamentos de defumação convencional (LCFT) e de fumaça líquida, (LCFL) armazenada a 5° e 20°C durante 120 dias, estão apresentadas na Tabela 4 e Figura 6, respectivamente.

**Tabela 4.** Evolução da oxidação lipídica - TBARS (mg malonaldeído/kg) na superfície da linguiça Calabresa cozida e submetida aos tratamentos de defumação convencional (LCFT) e de fumaça líquida (LCFL) e armazenadas a 5° e 20°C durante 120 dias.

Tratamentos	TBARS (mg malonaldeído/kg)*						
	0 dia	20ºdia	40ºdia	60ºdia	80ºdia	100ºdia	120ºdia
LCFT 20 °C	*0,34 <sup>bcb</sup>	0,28 <sup>cb</sup>	0,56 <sup>aa</sup>	0,41 <sup>ba</sup>	0,42 <sup>bab</sup>	0,41 <sup>bb</sup>	0,53 <sup>ab</sup>
	(±0,01)	(±0,01)	(±0,02)	(±0,02)	(±0,05)	(±0,03)	(±0,05)
LCFT 5 °C	0,34 <sup>cb</sup>	0,28 <sup>cAB</sup>	0,44 <sup>bb</sup>	0,40 <sup>ba</sup>	0,28 <sup>cc</sup>	0,48 <sup>bAB</sup>	0,69 <sup>aA</sup>
	(±0,01)	(±0,03)	(±0,05)	(±0,01)	(±0,03)	(±0,02)	(±0,01)
LCFL 20 °C	0,41 <sup>ca</sup>	0,32 <sup>dA</sup>	0,46 <sup>bcb</sup>	0,41 <sup>ba</sup>	0,49 <sup>ba</sup>	0,49 <sup>ba</sup>	0,55 <sup>ab</sup>
	(±0,01)	(±0,02)	(±0,02)	(±0,03)	(±0,02)	(±0,02)	(±0,02)
LCFL 5 °C	0,41 <sup>ca</sup>	0,29 <sup>dAB</sup>	0,56 <sup>ba</sup>	0,49 <sup>ca</sup>	0,38 <sup>cb</sup>	0,52 <sup>ba</sup>	0,66 <sup>aA</sup>
	(±0,01)	(±0,01)	(±0,02)	(±0,01)	(±0,02)	(±0,03)	(±0,04)

\*Médias (±desvio padrão) seguidas de letras minúsculas/ maiúsculas iguais nas linhas/colunas não diferem estatisticamente á nível de 5% (Teste de Tukey).

Conforme a Tabela 4, observa-se que os tratamentos de defumação (LCFT e LCFL) demonstraram comportamentos semelhantes, porém indicando diferença significativa ( $p < 0,05$ ) nos modos de conservação (5 e 20°C), aos 40, 80 e 120 dias

de armazenamento. De maneira geral, verificou-se um acréscimo significativo ( $p < 0,05$ ) nos teores de TBARS até o 40º dia nos tratamentos empregados de defumação e nas condições de armazenamento. Após este período ocorreram pequenas flutuações, com decréscimo aos 60 dias e aumento progressivo até o 120º dia de armazenamento (Tabela 4 e Figura 6), comportamento esse que também foi observado por ALMEIDA (2005) em linguiça Toscana resfriada. Diversos autores sugerem que a redução nos valores de TBARS observados em função do tempo de armazenamento, está associada provavelmente com o aumento das concentrações de produtos altamente polares, resultantes da polimerização dos produtos de oxidação secundária. Foi relatado que o malonaldeído (MDA) reage com uma larga escala de compostos ou pode formar dienos ou trienos de MDA, o que diminui a quantidade de MDA disponível para reagir com o ácido tiobarbitúrico, em consequência, os valores de TBARS avaliados são reduzidos (GRAU *et al.*, 2001; GATELLIER *et al.*, 2007).

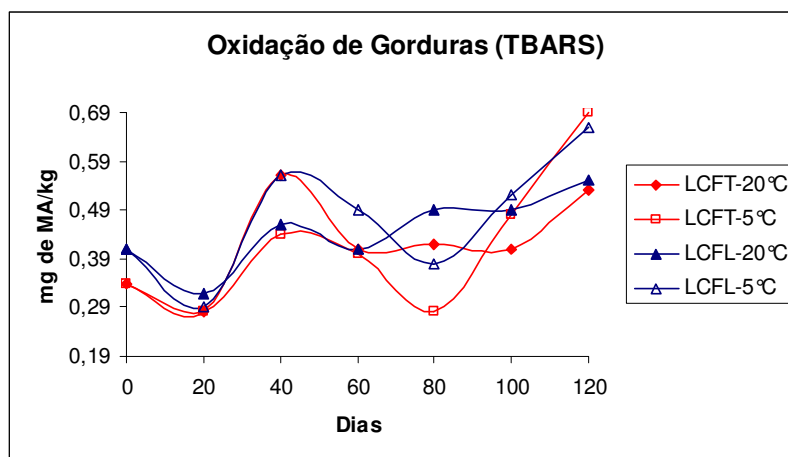


Figura 6 – Evolução da oxidação lipídica - TBARS (mg malonaldeído/kg) na superfície da linguiça Calabresa cozida e submetida aos tratamentos de defumação convencional (LCFT) e de fumaça líquida (LCFL) e armazenadas a 5° e 20°C durante 120 dias.

Os valores de TBARS encontrados nas linguiças Calabresa cozida pertencente aos diferentes tratamentos de defumação e condições de armazenamento foram menores do que 1,0 mg MDA/Kg, sendo que os teores máximos observados foram de 0,66 e 0,69 mg MDA/Kg nos tratamentos com fumaça tradicional e líquida resfriados a 5°C, respectivamente. De acordo com informações

da literatura, estes valores seriam detectados sensorialmente, fato esse que foi verificado aos 40 dias na avaliação sensorial (Tabela 11), caracterizando o produto como moderadamente ranço, com TBARS na faixa de 0,44 a 0,56 mg MDA/kg, respectivamente.

Vários trabalhos na literatura relatam a correlação entre o TBARS e características sensoriais do produto. AHMAD & SRIVASTAVA (2007), não verificaram odor de ranço em amostras de carne com valores de TBARS de 0,5 e 1,0 mg MDA/Kg. Os autores ainda relatam que valores de TBARS entre 1 a 2 mg MDA/KG situam-se na faixa detectada sensorialmente. O mesmo foi relatado por TORRES *et al.* (1994), onde a percepção de ranço em carnes cozidas ocorreu quando os valores de TABRS encontravam-se na faixa entre 0,6 a 2,0 mg MDA/kg. DE PAULA (2008), ao avaliar a oxidação lipídica de amostras de linguiça Toscana, armazenadas (-12°C) em diferentes embalagens (polietileno, nylon e EVOH) sem vácuo, verificou que a partir de 150 dias o sabor das amostras foi caracterizado como ligeiramente a moderadamente ranço pelo painel sensorial e os valores de TBARS foram de 0,405, 0,406 e 0,513 mg MDA/kg, respectivamente. SAGGIORATO (2008) analisou amostras da superfície de salame tipo Italiano contendo 0,75 mg g<sup>-1</sup> de óleo de manjeriço, aos 28 dias de processamento, e obteve valor de 0,35 mg MDA kg<sup>-1</sup>, sendo este valor não detectado sensorialmente. LORENZO *et al.* (2000), avaliaram as características bioquímicas de diferentes tipos de salames tradicionais da Espanha, encontraram valores entre 0,15 a 2,96 mg MDA/Kg para o salame denominado de “Botillo” e de 0,27 a 15,4 mg MDA/Kg para o salame denominado de “Androlla”.

#### 4.2. Oxidação De Proteínas

A evolução da oxidação protéica através da quantificação dos grupos carbonil (nmol carbonil/mg proteína) na superfície (4 a 7mm) da linguiça Calabresa cozida e submetida aos tratamentos de defumação convencional (LCFT) e de fumaça líquida, (LCFL) armazenada a 5° e 20°C durante 120 dias, estão apresentadas na Tabela 5 e Figura 7.

**Tabela 5.** Índice de oxidação protéica expresso em carbonil (nmol carbonil /mg proteína) na superfície da linguiça Calabresa cozida e submetida aos tratamentos de defumação convencional (LCFT) e de fumaça líquida (LCFL) e armazenadas a 5° e 20°C durante 120 dias.

Tratamentos	Carbonil (nmol carbonil /mg proteína)*						
	0 dia	20ºdia	40ºdia	60ºdia	80ºdia	100ºdia	120ºdia
<b>LCFT 20°C</b>	*1,38 <sup>fA</sup> (±0,49)	1,91 <sup>efA</sup> (±0,45)	3,11 <sup>dB</sup> (±0,33)	2,52 <sup>deB</sup> (±0,64)	4,27 <sup>cB</sup> (±0,26)	6,51 <sup>bA</sup> (±0,08)	7,64 <sup>aA</sup> (±0,17)
<b>LCFT 5°C</b>	1,38 <sup>dA</sup> (±0,49)	2,04 <sup>cdA</sup> (±0,30)	1,75 <sup>cdBC</sup> (±0,56)	2,97 <sup>cdB</sup> (±0,88)	3,42 <sup>cC</sup> (±0,15)	5,86 <sup>bAB</sup> (±0,71)	7,69 <sup>aA</sup> (±0,84)
<b>LCFL 20°C</b>	1,15 <sup>bA</sup> (±0,14)	1,63 <sup>bAB</sup> (±0,29)	4,85 <sup>aA</sup> (±0,83)	5,95 <sup>aA</sup> (±1,07)	6,25 <sup>aA</sup> (±0,29)	4,73 <sup>aB</sup> (±0,74)	6,34 <sup>aA</sup> (±0,14)
<b>LCFL 5°C</b>	1,15 <sup>bcA</sup> (±0,14)	1,10 <sup>cB</sup> (±0,07)	1,19 <sup>bcC</sup> (±0,17)	2,54 <sup>bB</sup> (±0,31)	2,43 <sup>bcD</sup> (±0,25)	5,27 <sup>aAB</sup> (±0,27)	6,26 <sup>aA</sup> (±1,23)

\*Médias (±desvio padrão) seguidas de letras minúsculas/ maiúsculas iguais nas linhas/columnas não diferem estatisticamente á nível de 5% (Teste de Tukey).

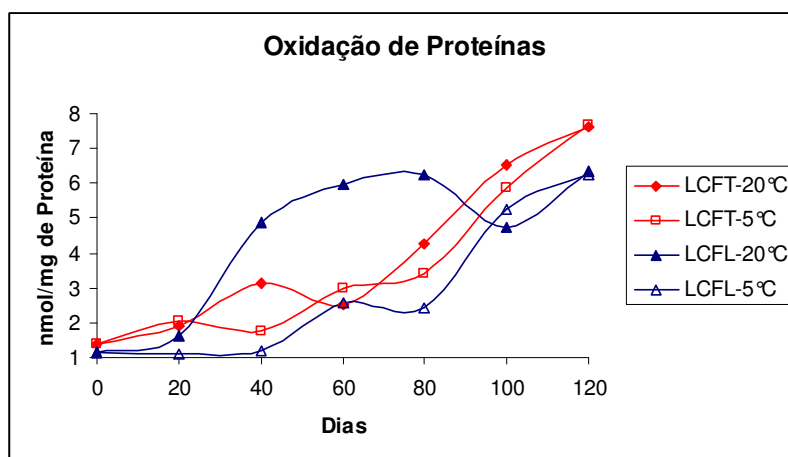


Figura 7 – Evolução da oxidação Protéica (nmol/mg de proteína) na superfície da linguiça Calabresa cozida e submetida aos tratamentos de defumação convencional (LCFT) e de fumaça líquida (LCFL) e armazenadas a 5° e 20°C durante 120 dias.

A formação dos compostos carbonils (aldeídos e cetonas) são uma das mais proeminentes mudanças nas proteínas oxidadas, servindo sua concentração como um indicativo de oxidação de proteínas (LEVINE *et al.*, 1990).

Os índices de carbonil no produto após o processamento (zero dia) para o tratamento LCFT e LCFL, não apresentaram diferença significativa ( $p < 0,05$ ), com teores de 1,38 e 1,15 nmol carbonil/ mg proteína; respectivamente. Estes resultados demonstram que o produto tratado com fumaça líquida não diferiu do produto com fumaça tradicional.

Nos tratamentos LCFT e LCFL armazenados a 5°C até o 80º dia não diferiram significativamente ( $p < 0,05$ ). Observou um aumento significativo nos valores a partir do 100º dia, com acréscimo de 71% para LCFT e de 117% para LCFL em relação ao 80º dia. Esse comportamento, com aumento significativo manteve-se até 120º dia para o tratamento com LCFT armazenado 5°C.

Os tratamentos armazenados a 20°C tiveram um comportamento diferenciado, com valores superiores aos de 5°C já aos 40 dias, diferindo significativamente. O tratamento LCFL a 20°C atingiu o maior valor aos 40 dias (4,85 nmol carbonil/ mg proteína) e manteve os valores elevados até o 80º dia (Tabela 5). Entre 100º e 120º dia não foram verificadas diferenças significativa ( $p < 0,05$ ) entre os tratamentos (LCFT e LCFL) e as condições de armazenamento (5 ou 20°C), com variações de 6,26 a 7,69 nmol carbonil /mg proteína. Uma das possíveis causas da elevação do grupo carbonil após 80 dias de armazenamento, principalmente a 20°C, poderá estar relacionado à oxidação de lipídios associada à reação de condensação de Maillard. Segundo VARNAM & SUTHERLAND, (1998) quando ocorre a reação de Maillard os aminoácidos sofrem desaminação/descarboxilação oxidativa pela degradação de Streck, sendo esse um dos mecanismos prováveis para a origem de numerosos compostos que apresentam o grupamento carbonil, como os aldeídos de cadeia ramificada, 2 e 3 - metilbutanal, fenilaldeído e alfa dicarbonilos. HOWELL, HERMAN e LI-CHAN (2001) e GERRARD *et al.* (2002) mostraram que a oxidação das proteínas está ligada à oxidação dos lipídios em produtos cárneos. Assim como PURCHAS *et al.* (2004) e ESTÉVEZ & CAVA (2004) que relataram significativa correlação entre ferro não-heme e o aumento dos processos oxidativos, podendo ser outra possível causa do aumento da oxidação de proteína da lingüiça tipo calabresa, constatado neste estudo.

Ao comparar os resultados do presente estudo com os relatados na literatura, verifica-se que mesmo após 120 dias de armazenamento, os teores foram semelhantes aos obtidos em Salsichas Frankfurters elaboradas com carne de suíno

branco (6 nmol de carbonil  $\text{mg}^{-1}$  de proteína), logo após o cozimento em imersão em água a 80°C durante 30 minutos e resfriadas a 4°C (ESTÉVEZ & CAVA, 2006). Porém em outros produtos tais como salame já foram verificados valores superiores com períodos de armazenamento menores, como o de SAGGIAROTO (2008) em salame tipo Italiano aos 21 dias, que obteve valores de 22,39 a 35,96 nmol carbonil/mg proteína .

### 4.3. pH e Acidez

A evolução do pH na superfície (4 a 7 mm) da linguiça Calabresa cozida e submetida aos tratamentos de defumação convencional (LCFT) e de fumaça líquida (LCFL) armazenada a 5 e 20°C durante 120 dias, encontram-se descritos na Tabela 6 e Figura 8

**Tabela 6:** Valores pH na superfície da linguiça Calabresa Cozida e submetida aos tratamentos de defumação convencional (LCFT) e de fumaça líquida (LCFL) armazenada a 5 e 20°C durante 120 dias.

Tratamentos	pH						
	0 dia	20ºdia	40ºdia	60ºdia	80ºdia	100ºdia	120ºdia
<b>LCFT 20°C</b>	6,35 <sup>aA</sup> (±0,09)	5,35 <sup>bB</sup> (±0,13)	4,68 <sup>cB</sup> (±0,20)	4,66 <sup>cB</sup> (±0,47)	5,75 <sup>bBC</sup> (±0,05)	4,05 <sup>dB</sup> (±0,06)	5,48 <sup>bA</sup> (±0,13)
<b>LCFT 5°C</b>	6,35 <sup>aA</sup> (±0,09)	6,30 <sup>abA</sup> (±0,14)	5,88 <sup>bcA</sup> (±0,19)	5,68 <sup>CA</sup> (±0,15)	6,60 <sup>aA</sup> (±0,20)	5,43 <sup>CA</sup> (±0,06)	5,87 <sup>bcA</sup> (±0,25)
<b>LCFL 20°C</b>	6,19 <sup>aA</sup> (±0,01)	4,96 <sup>bB</sup> (±0,11)	4,34 <sup>cdB</sup> (±0,19)	4,49 <sup>bcdB</sup> (±0,37)	4,81 <sup>bcC</sup> (±0,27)	4,03 <sup>dB</sup> (±0,14)	4,36 <sup>cdB</sup> (±0,21)
<b>LCFL 5°C</b>	6,19 <sup>aA</sup> (±0,01)	5,88 <sup>abA</sup> (±0,27)	5,80 <sup>abA</sup> (±0,24)	5,73 <sup>abA</sup> (±0,93)	5,86 <sup>abB</sup> (±0,18)	4,99 <sup>bAB</sup> (±0,35)	5,70 <sup>abA</sup> (±0,32)

\*Médias (±desvio padrão) seguidas de letras minúsculas/ maiúsculas iguais nas linhas/colunas não diferem estatisticamente á nível de 5% (Teste de Tukey).

A linguiça Calabresa pertencente aos quatro tratamentos mostrou uma diminuição de pH até o 60º dia (Tabela 6 e Figura 8), devido à liberação de ácido láctico, formado a partir da fermentação de hexoses pelas bactérias ácido lácticas.

Aos 60º dia a redução foi significativa ( $p < 0,05$ ) nos tratamentos armazenados a 20°C, com valores de pH de 4,66 e 4,49 para os tratamentos LCFT e LCFL, respectivamente. Isto está correlacionado com a alta contagem de bactérias lácticas encontradas neste período de armazenagem ( $\sim 10^8$  UFC  $g^{-1}$ ) conforme observado na Figura 8. Os dados encontrados mostram que principalmente nos tratamentos armazenados a 20°C ocorreu uma queda acentuada do pH, com uma redução de aproximadamente 1,7 unidades após 60 dias de armazenamento, sendo esta diminuição semelhante ao reportado em produtos maturados fermentados (salame) e não de amostras de linguiças onde a faixa de variação normalmente encontrada é de 5,6 a 6,0 (DE PAULA, 2008; ALMEIDA, 2005).

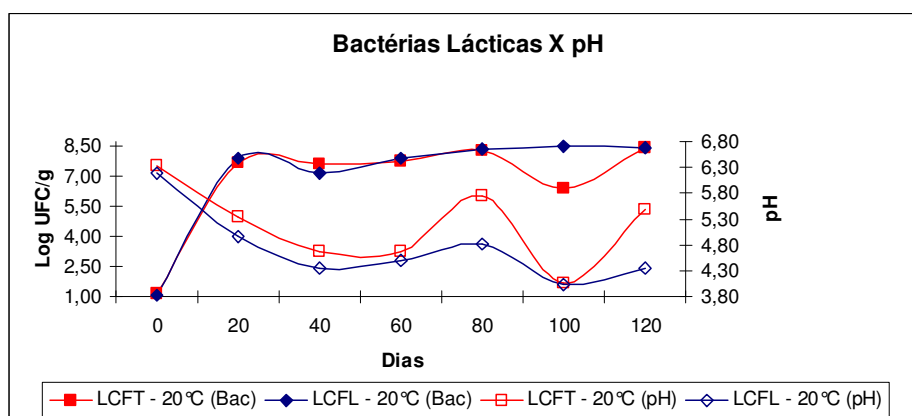


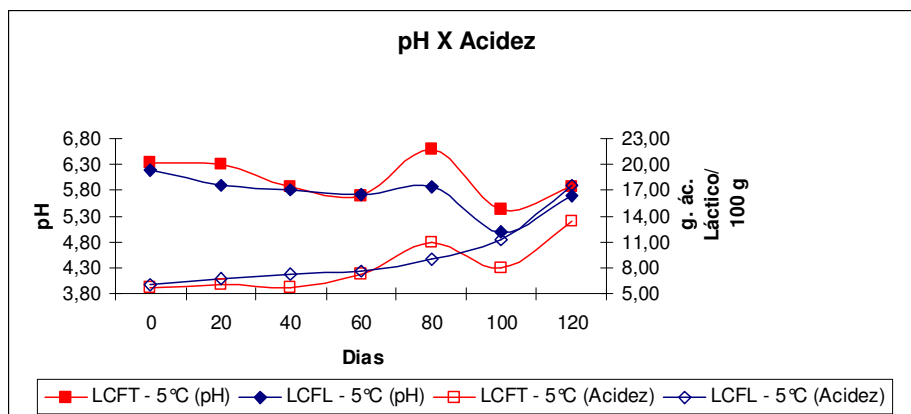
Figura 8 – Correlação da contagem das Bactérias lácticas e pH na superfície de amostras de linguiça Calabresa Cozida e submetidas aos tratamentos de defumação convencional (LCFT) e de fumaça líquida (LCFL) armazenada a 20°C durante 120 dias.

De modo geral, a partir do 80º dia (Tabela 6) observou-se um aumento gradativo e significativo ( $p < 0,05$ ) do pH, seguindo uma redução no 100º dia e novamente um aumento progressivo no 120º dia de armazenamento. De acordo com TERRA *et al.* (2004) em salame, a partir do 80º dia de armazenamento, os valores de pH sofreram aumento devido às reações de descarboxilação e desaminação de aminoácidos, que liberam amônia no meio, alcalinizando-o. Porém, aos 100º dia o pH pode ter sofrido nova redução devido à lipólise que libera ácidos graxos livres no meio, caracterizado pelo aumento significativo da acidez total no tratamento a 20°C (Figura 9 (a) e (b)), com valores de 8,0 e 15,3; 11,3 e 14,7ºg de

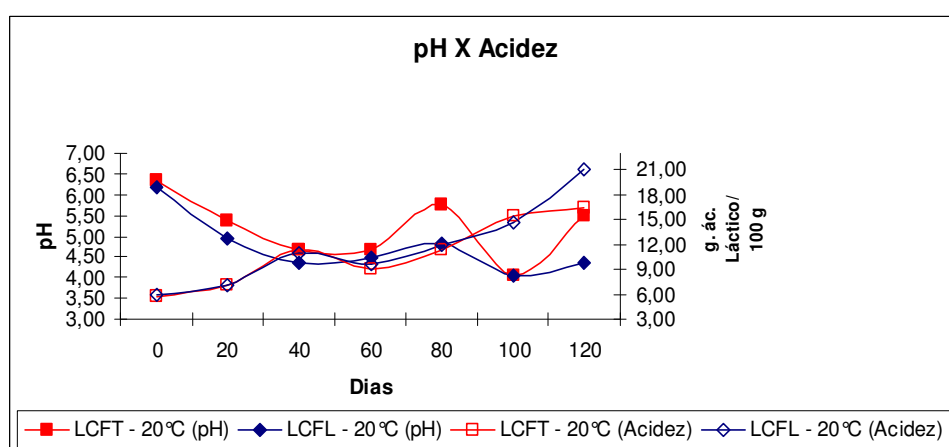


ac. Láctico/100 g de produto para os tratamentos LCFT a 5 e 20°C, LCFL a 5 e 20°C, respectivamente.

A literatura relata que pH menores que 5,0 são reportados para produto maturados fermentados sem ou com culturas adjuntas. GAIO (2008) observou em amostras de salame tipo Italiano armazenado a 22°C, valor médio de pH de 4,79 após 60 dias de processamento. MUTHUKUMARASAMY & HOLLEY (2006) observaram que em salames adicionados de cultura probiótica (*Lactobacillus reuteri*), os embutidos alcançaram valores médios de pH de 4,74 após 27 dias de processamento. SAMESHIMA *et al.* (1998) em salames adicionados de *L. rhamnosus* e *L. paracasei* mostraram valores de pH próximos a 4,4 no terceiro dia de fermentação. No entanto em trabalhos relatado com linguiças resfriadas (~5°C) observa-se pequenas variações no pH ( 5,5 a 6,0) no decorrer do armazenamento. BREWER *et al.* (1993) também reportaram que em seu estudo as alterações no pH de linguiça suína fresca, estocadas sob refrigeração, eram mínimas durante 21 dias. HEDRICK *et al.* (1994), os valores médios de pH da linguiça Toscana no início do experimento ficaram em torno de 5,85 e no final do experimento os valores caíram para 5,68 nas amostras em embalagem original, 5,57 naquelas embaladas a vácuo e apenas as amostras em embalagem permeável ao oxigênio permaneceram com pH 5,85. ALMEIDA (2005) ao avaliar o pH de linguiça Toscana, no 10º dia de armazenamento a 5°C, verificaram que os valores apresentaram-se menores nas amostras embaladas a vácuo (5,55) em comparação às amostras embaladas em filme permeáveis (5,86).



(a)



(b)

Figura 9 – Correlação do pH e Acidez durante o tempo de armazenamento a 5° (a) e 20°C (b) da superfície das linguiças Calabresas cozidas e defumadas nos diferentes tratamentos (LCFT – linguiça Calabresa cozida com fumaça tradicional. LCFL - linguiça Calabresa cozida com fumaça líquida), respectivamente.

#### 4.4. Atividade de Água ( $a_w$ )

Os valores de atividade de água ( $a_w$ ) na superfície da linguiça Calabresa cozida e submetidas aos tratamentos de defumação convencional (LCFT) e de fumaça líquida, (LCFL) armazenadas a 5 e 20°C durante 80 dias, estão apresentadas na Tabela 7 e Figura 10.

**Tabela 7:** Valores de Atividade de Água na superfície da linguiça Calabresa cozida e submetida aos tratamentos de defumação convencional (LCFT) e de fumaça líquida (LCFL) armazenadas a 5° e 20°C durante 80 dias.

Tratamentos	Atividade de água*				
	O dia	20ºdia	40ºdia	60ºdia	80ºdia
<b>LCFT 20°C</b>	0,966 <sup>ab</sup> (±0,01)	0,961 <sup>bb</sup> (±0,01)	0,957 <sup>cb</sup> (±0,01)	0,951 <sup>db</sup> (±0,01)	0,954 <sup>dbc</sup> (±0,01)
<b>LCFT 5°C</b>	0,966 <sup>ab</sup> (±0,01)	0,966 <sup>aA</sup> (±0,01)	0,961 <sup>bA</sup> (±0,01)	0,955 <sup>cA</sup> (±0,01)	0,952 <sup>dC</sup> (±0,01)
<b>LCFL 20°C</b>	0,968 <sup>aA</sup> (±0,01)	0,963 <sup>bAB</sup> (±0,01)	0,961 <sup>bA</sup> (±0,01)	0,957 <sup>cA</sup> (±0,01)	0,957 <sup>cAB</sup> (±0,01)
<b>LCFL 5°C</b>	0,968 <sup>aA</sup> (±0,01)	0,966 <sup>aA</sup> (±0,01)	0,960 <sup>bA</sup> (±0,01)	0,955 <sup>cA</sup> (±0,01)	0,961 <sup>bA</sup> (±0,01)

\*Médias (±desvio padrão) seguidas de letras minúsculas/ maiúsculas iguais nas linhas/columnas não diferem estatisticamente á nível de 5% (Teste de Tukey).

Observa-se pela Figura 10 que de maneira geral, houve uma redução de atividade de água com a evolução do período de armazenamento, sendo que nos tratamentos LCFT e LCFL a 20°C a redução já foi significativa ( $p < 0,05$ ) após 20º dia. No entanto, aos 40 e 60 dias (Tabela 7), somente o tratamento LCFT a 20°C que diferiu significativamente ( $p < 0,05$ ) dos demais. O fato da redução de Aw ser mais evidente no tratamento com fumaça tradicional, principalmente a 20°C, deve-se à diminuição da água livre, provocada pela transferência de calor indireta da fumaça na superfície do produto. Outro fator que deve ter ocasionado a redução da Aw da linguiça Calabresa cozida, pode estar relacionado com a diminuição do pH (Tabela 6) o que provocou a liberação de água do produto para a embalagem, sendo que esta queda foi mais pronunciada aos 60 e 100 dias de armazenamento nos tratamentos LCFT e LCFL a 20°C, com teores de 4,66 e 4,05 e 4,49 e 4,03, respectivamente. Segundo MAURIELLO *et al.* (2004) quando o pH se aproxima do ponto isoelétrico das proteínas (~5,0) ocorre uma diminuição na capacidade de retenção de água, facilitando a desidratação e conseqüentemente a redução na Aw. SOYER *et al.* (2005), ressaltam que além do pH, vários outros fatores podem

interferir na  $A_w$ , tais como a temperatura, tempo de defumação, umidade relativa do ambiente e também a quantidade de gordura do produto.

Os valores encontrados na atividade de água (0,951 a 0,968) foram superiores aos reportados por DOS SANTOS (2006) em linguiça Calabresa cozida, embalada em tripa naturais, submetida a tratamento com solução emulsificante (lecitina de soja) e defumada pelo processo tradicional, onde o teor médio, logo após o processamento foi de 0,944. Em linguiça fresca (Toscana) congelada (-12°C) armazenadas em embalagem PEBD, Nylon Poli e EVOH, os valores de  $a_w$  ficaram na faixa de 0,973 a 0,980, aos 77<sup>o</sup>, 112<sup>o</sup> e 144<sup>o</sup> dias de armazenamento (DE PAULA, 2008). SABATAKOU *et. al* (2001) encontraram em produtos cozidos defumados e não defumados,  $a_w$  entre 0,930 a 0,978.

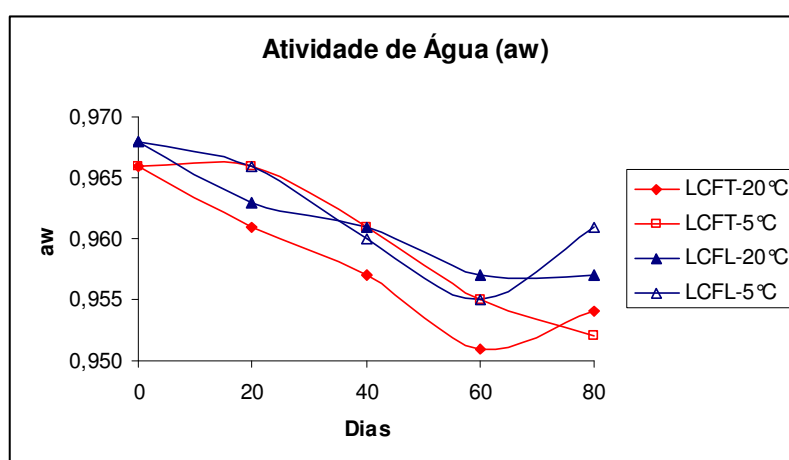


Figura 10 – valores de atividade de água ( $a_w$ ) na superfície da linguiça Calabresa cozida e submetidas aos tratamentos de defumação convencional (LCFT) e de fumaça líquida, (LCFL) armazenadas a 5 e 20 °C durante 80 dias.

#### 4.5 Determinação Objetiva De Cor

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

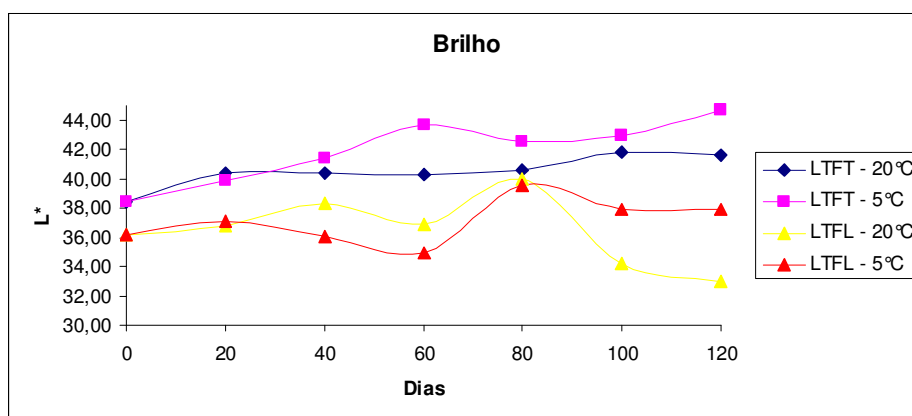
Na Tabela 8 e na Figura 11 são apresentados os valores médios da luminosidade ( $L^*$ ), cor vermelha ( $a^*$ ) e cor amarela ( $b^*$ ) na superfície de amostras de linguiça Calabresa cozida nos diferentes tratamentos de defumação (LCFT e LCFL) e condições de armazenamento (5 e 20°C) durante 120 dias. Observa-se que o tratamento LCFT a 5°C aos 60 dias de armazenamento diferiu significativamente a nível de 5% em relação a luminosidade ( $L^*$ ), porém não foram verificadas diferenças significativas em relação aos 80, 100 e 120 dias de armazenamento. Este tratamento foi o que perdeu coloração durante o armazenamento, obtendo-se um valor de  $L^*$  44,68 aos 120 dias e diferindo estatisticamente ( $p < 0,05$ ) dos demais tratamentos. Indicando que a temperatura influenciou na luminosidade, pois os tratamentos armazenados a 5°C os valores foram superiores ao final dos 120 dias, em comparação aos tratamentos armazenados a 20°C (Tabela 8).

Em relação à cor vermelha ( $a^*$ ) o tratamento LCFT a 20°C não apresentou diferença significativa a nível de 5 % durante o armazenamento. Isto também foi verificado para o tratamento LCFL a 20°C até os 80 dias de armazenamento, sendo que após constatou-se um decréscimo na coloração vermelha do produto. O mesmo comportamento foi observado para a coloração amarela ( $b^*$ ), onde aos 100 e 120 dias verificou-se menores valores (16,59 e 14,77) (Figura 11). RIZVI (1981), explica que estas oscilações da cor  $a^*$  dos produtos cárneos com o armazenamento, podem estar relacionadas à oxidação do pigmento nitrosohemocromo por agentes químicos, como o oxigênio, ou agentes microbianos, associado à luz, o que levam a formação de porfirinas verdes, amarelas ou incolores. No caso específico do tratamento LCFL a 20°C, possivelmente deve ter ocorrido à formação destes compostos, que resultaram na descoloração da superfície da linguiça Calabresa com fumaça líquida, associada ao fator temperatura.

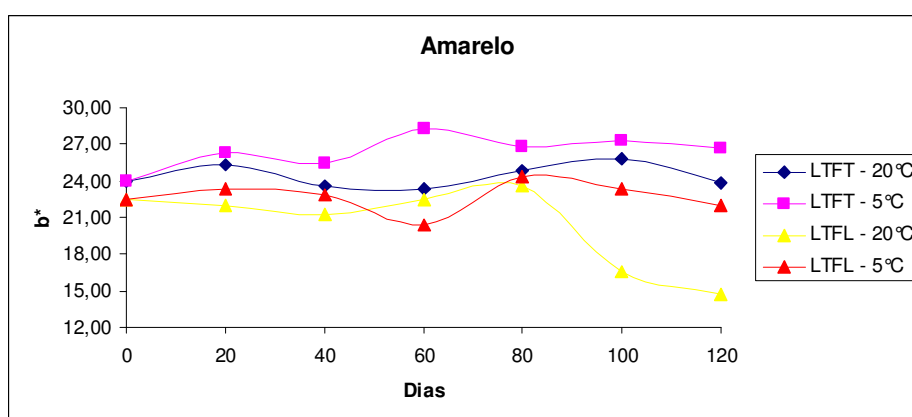
**Tabela 8:** Valores médios da luminosidade (L\*), cor vermelha (a\*) e cor amarela (b\*) nos diferentes tratamentos de defumação (LCFT e LCFL) e condições de armazenamento (5 e 20 °C) durante 120 dias.

Tratamentos	Período de armazenamento (dias)*						
	Zero	20	40	60	80	100	120
<b>Luminosidade (L*)</b>							
<b>LCFT 20°C</b>	38,40 <sup>aA</sup> (±1,22)	40,37 <sup>aA</sup> (±1,53)	40,35 <sup>aAB</sup> (±0,55)	40,26 <sup>aAB</sup> (±1,68)	40,54 <sup>aB</sup> (±0,62)	41,84 <sup>aA</sup> (±1,49)	41,65 <sup>aB</sup> (±1,95)
<b>LCFT 5°C</b>	38,40 <sup>dA</sup> (±1,22)	39,85 <sup>cdA</sup> (±1,20)	41,45 <sup>bcA</sup> (±0,92)	43,62 <sup>abA</sup> (±0,56)	42,54 <sup>abcA</sup> (±0,85)	42,91 <sup>abA</sup> (±1,79)	44,68 <sup>aA</sup> (±0,40)
<b>LCFL 20°C</b>	36,13 <sup>abA</sup> (±3,67)	36,80 <sup>abA</sup> (±1,66)	38,37 <sup>abBC</sup> (±1,48)	36,92 <sup>abBC</sup> (±1,93)	39,94 <sup>aB</sup> (±0,76)	34,19 <sup>bb</sup> (±2,23)	32,98 <sup>bd</sup> (±0,32)
<b>LCFL 5°C</b>	36,13 <sup>aA</sup> (±3,67)	37,08 <sup>aA</sup> (±2,53)	36,06 <sup>aC</sup> (±0,42)	34,90 <sup>aC</sup> (±1,27)	39,54 <sup>aB</sup> (±0,55)	37,94 <sup>aAB</sup> (±2,21)	37,94 <sup>aC</sup> (±0,05)
<b>Cor vermelha (a*)</b>							
<b>LCFT 20°C</b>	23,54 <sup>aA</sup> (±0,54)	23,68 <sup>aAB</sup> (±1,16)	22,59 <sup>aAB</sup> (±1,17)	23,13 <sup>aB</sup> (±0,54)	23,69 <sup>aB</sup> (±0,25)	22,78 <sup>aA</sup> (±0,12)	22,52 <sup>aB</sup> (±0,11)
<b>LCFT 5°C</b>	23,54 <sup>aA</sup> (±0,54)	22,77 <sup>abcA</sup> (±0,49)	21,96 <sup>bcA</sup> (±0,91)	23,53 <sup>aA</sup> (±0,84)	22,98 <sup>abA</sup> (±0,51)	22,79 <sup>abA</sup> (±0,76)	22,72 <sup>abA</sup> (±0,23)
<b>LCFL 20°C</b>	22,27 <sup>aA</sup> (±0,71)	22,77 <sup>aC</sup> (±0,47)	20,94 <sup>aB</sup> (±0,89)	22,20 <sup>aBC</sup> (±0,65)	22,27 <sup>aB</sup> (±1,24)	20,18 <sup>bc</sup> (±1,97)	18,28 <sup>bc</sup> (±0,91)
<b>LCFL 5°C</b>	22,27 <sup>abA</sup> (±0,71)	21,90 <sup>abBC</sup> (±1,04)	22,08 <sup>abA</sup> (±0,59)	21,33 <sup>bc</sup> (±0,59)	22,38 <sup>aB</sup> (±0,46)	22,27 <sup>abB</sup> (±1,72)	22,31 <sup>abB</sup> (±0,90)
<b>Cor amarela (b*)</b>							
<b>LCFT 20°C</b>	24,02 <sup>aA</sup> (±1,22)	25,32 <sup>aA</sup> (±0,39)	23,57 <sup>aA</sup> (±1,97)	23,29 <sup>aB</sup> (±1,44)	24,87 <sup>aA</sup> (±0,90)	25,85 <sup>aA</sup> (±0,01)	23,89 <sup>aA</sup> (±0,88)
<b>LCFT 5°C</b>	24,02 <sup>aA</sup> (±1,22)	26,24 <sup>aA</sup> (±0,56)	25,40 <sup>aA</sup> (±1,68)	27,25 <sup>aA</sup> (±0,54)	26,83 <sup>aA</sup> (±0,40)	27,31 <sup>aA</sup> (±0,65)	26,63 <sup>aA</sup> (±0,52)
<b>LCFL 20°C</b>	22,43 <sup>aA</sup> (±1,24)	22,04 <sup>aA</sup> (±1,54)	21,25 <sup>abA</sup> (±1,18)	22,51 <sup>aB</sup> (±0,46)	23,60 <sup>aA</sup> (±0,64)	16,59 <sup>abB</sup> (±0,20)	14,77 <sup>bb</sup> (±0,61)
<b>LCFL 5°C</b>	22,43 <sup>aA</sup> (±1,24)	23,29 <sup>aA</sup> (±1,45)	22,90 <sup>aA</sup> (±0,58)	20,43 <sup>aB</sup> (±0,90)	24,29 <sup>aA</sup> (±0,38)	23,39 <sup>aA</sup> (±1,49)	21,94 <sup>aA</sup> (±1,69)

\*Médias (±desvio padrão) seguidas de letras minúsculas/ maiúsculas iguais nas linhas/colunas não diferem estatisticamente à nível de 5% (Teste de Tukey).



(a)



(b)

Figura 11 - Luminosidade ( $L^*$ ) e cor amarela ( $b^*$ ) nos diferentes tratamentos de defumação (LTFT e LTFL) e condições de armazenamento (5 e 20°C) durante 120 dias.

De maneira geral, constatou-se que os tratamentos de fumaça líquida (LTFL - 20°C; LTFL - 5°C), apresentaram menor tonalidade de coloração amarela e luminosidade/brilho. Indicando que a fumaça líquida utilizada proporcionou ao produto um aspecto visual levemente mais escuro e com tonalidade inferior de amarelo, quando comparado a linguiça Calabresa cozida com defumação tradicional (Figura 11).

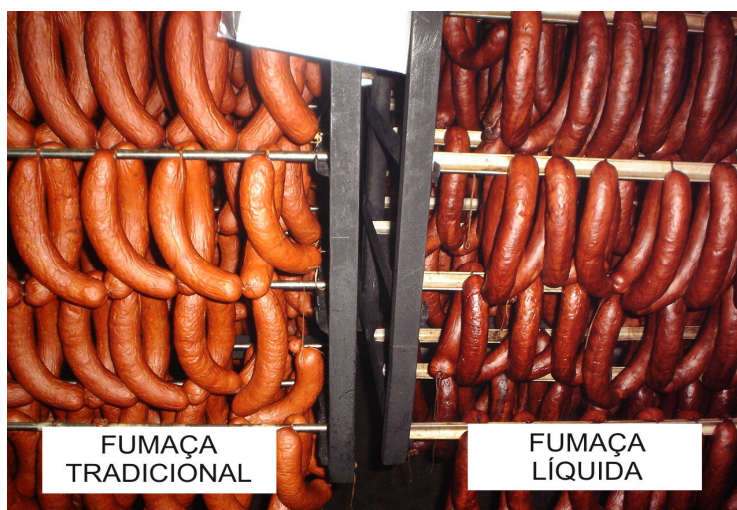


Figura 12 – Aspecto visual da linguiça Calabresa cozida e submetida aos tratamentos de defumação tradicional e líquida, respectivamente..

DOS SANTOS (2006) trabalhando com linguiça Calabresa defumada pelo processo tradicional encontrou para valores de  $L^*$  entre 38,65 a 49,50, da cor  $a^*$  entre 17,42 e 23,82 e para valores de  $b^*$  entre 18,78 e 24,24, após processamento respectivamente. Isto indica que a linguiça Calabresa analisada, no presente estudo, apresentou coloração levemente mais escura quando comparada ao do referido autor.

#### 4.6 Nitrito

A Tabela 9 e a Figura 13 apresentam os teores de Nitrito da linguiça Calabresa cozida e submetida aos tratamentos de defumação convencional (LCFT) e de fumaça líquida (LCFL) armazenada a 5 e 20°C durante 120 dias. Os níveis de nitrito ao longo do período de armazenamento da linguiça Calabresa foram avaliados com objetivo de verificar a redução dos teores ao longo do armazenamento e como as condições a que foram submetidas às amostras poderiam influenciar na qualidade da linguiça. Conforme discutido anteriormente o nitrito desenvolve importante papel sobre a estabilidade da oxidação lipídica e, portanto os níveis de teores residuais, mais que os efeitos sobre a cor, poderiam estar correlacionados a esse fator de



estabilidade e de qualidade da linguiça Calabresa adicionada de nitrito. Ressalta-se, que não houve qualquer intenção de analisar sob a ótica da fiscalização, uma vez que se trata de produto inspecionado e produzido por empresa que comercializa produtos derivados de carnes.

**Tabela 9:** Teores de Residual de Nitrito (ppm) da linguiça Calabresa cozida e submetida aos tratamentos de defumação convencional (LCFT) e de fumaça líquida (LCFL) armazenada a 5 e 20 °C durante 120 dias.

Tratamentos	Nitrito (ppm)*						
	0 dia	20ºdia	40ºdia	60ºdia	80ºdia	100ºdia	120ºdia
<b>LCFT 20 °C</b>	46,78 <sup>aA</sup> (±0,83)	2,35 <sup>bC</sup> (±0,42)	1,60 <sup>bCC</sup> (±0,21)	1,14 <sup>CB</sup> (±0,12)	0,94 <sup>CB</sup> (±0,14)	1,53 <sup>bCB</sup> (±0,04)	1,45 <sup>bCB</sup> (±0,13)
<b>LCFT 5 °C</b>	46,78 <sup>aA</sup> (±0,83)	27,06 <sup>bA</sup> (±0,79)	20,67 <sup>cA</sup> (±0,01)	2,53 <sup>dA</sup> (±0,08)	1,54 <sup>dA</sup> (±0,39)	2,71 <sup>dA</sup> (±0,38)	1,90 <sup>dA</sup> (±0,14)
<b>LCFL 20 °C</b>	24,06 <sup>aB</sup> (±4,66)	2,95 <sup>bC</sup> (±0,09)	1,73 <sup>bC</sup> (±0,03)	1,38 <sup>bB</sup> (±0,18)	0,95 <sup>bB</sup> (±0,04)	1,78 <sup>bB</sup> (±0,10)	1,46 <sup>bB</sup> (±0,11)
<b>LCFL 5 °C</b>	24,06 <sup>aB</sup> (±4,66)	23,99 <sup>aB</sup> (±0,24)	6,31 <sup>bB</sup> (±0,53)	2,67 <sup>cA</sup> (±0,06)	1,99 <sup>cA</sup> (±0,09)	2,80 <sup>cA</sup> (±0,36)	1,94 <sup>cA</sup> (±0,03)

\*Médias (±desvio padrão) seguidas de letras minúsculas/ maiúsculas iguais nas linhas/columnas não diferem estatisticamente á nível de 5% (Teste de Tukey).

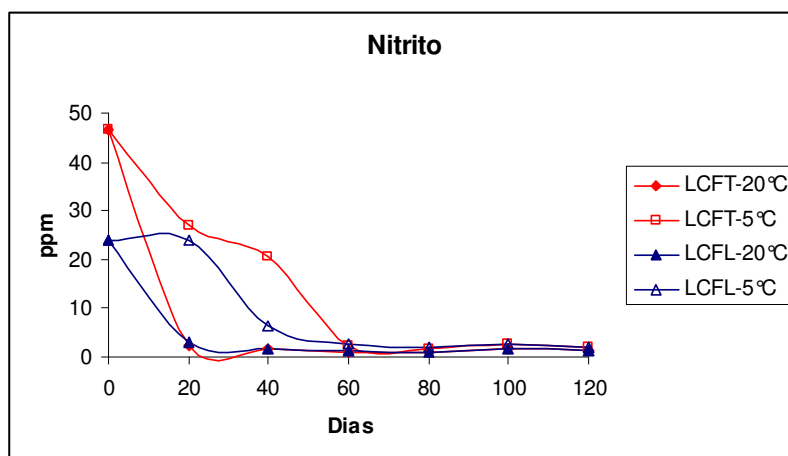


Figura 13 – Teor de Nitrito (ppm) da linguiça Calabresa cozida e submetida aos tratamentos de defumação convencional (LCFT) e de fumaça líquida (LCFL) e armazenadas a 5° e 20°C durante 120 dias.

Conforme a Tabela 9 e Figura 13 observa-se que existe diferença significativa ( $p < 0,05$ ) entre os tratamentos de defumação logo após o processamento (zero dia) no teor de Nitritos, sendo estes menores (24,06 ppm) no tratamento com fumaça líquida (LCFL). Possivelmente, a queda no teor de nitrito tenha sido mais acentuada no tratamento com fumaça líquida, devido ao fato do processo de cozimento ser mais agressivo, ficando em torno de 2 horas na estufa, até atingir 72°C na parte interna. Já o tratamento com fumaça tradicional o cozimento é lento e progressivo (~4 horas) para atingir a mesma temperatura internamente.

Após esse período verificou um comportamento semelhante para ambos os tratamentos de defumação, diferindo a nível de 5% somente os tratamentos armazenados a temperatura de 20°C, onde após 20 dias de armazenagem foi verificado níveis residuais baixos de nitritos (0,94 a 2,95 ppm), não diferindo estatisticamente ( $p < 0,05$ ) dos demais períodos de armazenagem. Esta redução está associada a elevada contagem de bactérias lácticas ( $\sim 10^8$  UFC g<sup>-1</sup>) levaram a formação de ácido láctico, e conseqüentemente redução de pH e com a temperatura de armazenagem (20°C), e sendo estes fatores favoráveis a redução do nitrito a óxido nítrico (FENNEMA, 1993).

No entanto, no tratamento LCFT a 5°C (Tabela 9) houve uma redução significativa ( $p < 0,05$ ) dos valores residuais de nitritos (46,78 a 2,53 ppm) nos

intervalos de tempo analisados até os 60 dias, e a partir deste período não foram verificados diferenças significativas em seus teores. No entanto no tratamento LCFL 5°C não houve diferença significativa em seus teores de nitrito até os 20 dias, sendo que a partir dos 60 dias, os níveis de residuais de nitrito permaneceram estáveis, com níveis de aproximadamente 2,00 ppm, até o final do período de armazenamento.

Segundo MØLLER *et al.* (2003), a descoloração oxidativa de carnes converte a nitrosomioglobina, MbFe(II)NO, para nitrato e metamioglobina, MbFe(III), não é apenas prejudicial à aparência, mas pode acarretar conseqüências para a estabilidade oxidativa de lipídios insaturados no produto cárneo, pois o pigmento heme férrico age como um pró-oxidante. O pigmento de produtos com presença de nitrito, MbFe(II)NO, tem mostrado propriedade antioxidante com a capacidade de retardar o desenvolvimento de rancidez. Portanto, o principal objetivo do uso de nitrito em linguiça é o oferecimento ao produto com características de cor e sabor típicos ao mercado brasileiro e, portanto a redução, principalmente, nos tratamentos LCFT e LCFL a 20°C, logo após 20 dias de armazenamento, deve ser considerada como um fator possível de causar alterações negativas sobre esses requisitos, bem como sobre o processo de oxidação lipídica.

CAMPBELL-PLATT & COOK (1995) destacam que menos de 50 mg/Kg de nitrito oriundos do nitrato são suficientes para a obtenção da cor característica de cura para embutidos. Essa quantidade deve ser atingida antes da queda de pH, provocada pelo crescimento de bactérias lácticas, uma vez que a enzima nitrato redutase bacteriana tem atividade insignificante em valores de pH menores que 5,4.

#### **4.7. Contagem de Bactérias Lácticas**

A evolução da contagem de bactérias lácticas na superfície da linguiça Calabresa cozida e submetida aos tratamentos de defumação convencional (LCFT) e de fumaça líquida (LCFL) e armazenadas a 5° e 20°C durante 120 dias, está apresentada na Tabela 10 e Figura 14.

**Tabela 10:** Evolução da contagem de Bactérias Lácticas ( $\log_{10}$  UFC.g-1) na superfície da linguiça Calabresa cozida e submetida aos tratamentos de defumação convencional (LCFT) e de fumaça líquida (LCFL) e armazenadas a 5° e 20°C durante 120 dias.

Tratamentos	Bactérias Lácticas ( $\log_{10}$ UFC.g-1)*						
	0 dia	20ºdia	40ºdia	60ºdia	80ºdia	100ºdia	120ºdia
LCFT 20°C	*1,13 <sup>CA</sup>	7,63 <sup>AA</sup>	7,55 <sup>aBC</sup>	7,75 <sup>AA</sup>	8,23 <sup>AA</sup>	6,41 <sup>bB</sup>	8,37 <sup>AA</sup>
	(±0,38)	(±0,19)	(±0,49)	(±0,49)	(±0,12)	(±0,69)	(±0,30)
LCFT 5°C	1,13 <sup>bA</sup>	7,65 <sup>AA</sup>	8,40 <sup>AA</sup>	8,40 <sup>AA</sup>	7,97 <sup>AA</sup>	7,44 <sup>aAB</sup>	7,69 <sup>aAB</sup>
	(±0,38)	(±0,38)	(±0,21)	(±0,69)	(±0,25)	(±0,16)	(±0,27)
LCFL 20°C	1,08 <sup>CA</sup>	7,87 <sup>AA</sup>	7,10 <sup>bC</sup>	7,90 <sup>AA</sup>	8,35 <sup>AA</sup>	8,47 <sup>AA</sup>	8,42 <sup>AA</sup>
	(±0,43)	(±0,05)	(±0,17)	(±0,16)	(±0,18)	(±0,31)	(±0,08)
LCFL 5°C	1,08 <sup>bA</sup>	7,12 <sup>AA</sup>	8,19 <sup>aAB</sup>	8,59 <sup>AA</sup>	7,28 <sup>aB</sup>	6,90 <sup>aB</sup>	7,39 <sup>aB</sup>
	(±0,43)	(±1,27)	(±0,09)	(±1,02)	(±0,12)	(±0,67)	(±0,42)

\*Médias ( $\pm$ desvio padrão) seguidas de letras minúsculas/ maiúsculas iguais nas linhas/colunas não diferem estatisticamente á nível de 5% (Teste de Tukey).

Ao avaliar a evolução das bactérias lácticas com o decorrer do armazenamento (Figura 14), verificou-se que após 20º dia de armazenamento, em ambos os tratamentos de defumação e nas condições de armazenamento, apresentaram um perfil semelhante. De acordo com a Tabela 10, somente verificou-se uma diminuição significativa ( $p < 0,05$ ) na contagem ( $6,41 \log_{10}$  UFC  $g^{-1}$ ), no tratamento LCFT a 20°C aos 100º dia de armazenamento.

Aos 20º e 60º dias de armazenamento não houve diferença significativa ( $p < 0,05$ ) entre os tratamento de defumação e nas condições de armazenamento da linguiça Calabresa cozida. No entanto, aos 40º dia de armazenamento ocorreu diferença significativa ( $p < 0,05$ ) entre as temperaturas de armazenamento empregadas (5° e 20°C), porém este comportamento não foi verificado ao 60 dias. Aos 80 dias, também foi verificado diferença significativa ( $p < 0,05$ ) entre temperaturas armazenamento nas linguiças que receberam fumaça líquida. Ressalta-se que neste período as amostras armazenadas a 5°C apresentaram o menor contagem de bactérias lácticas ( $7,28 \log_{10}$  UFC  $g^{-1}$ ) e diferindo dos demais tratamentos.

Com o decorrer do armazenamento (Tabela 10) a contagem de bactérias lácticas foi considerada elevada para este tipo de produto (6,41 a 8,59  $\log_{10}$ UFC.g<sup>-1</sup>), sendo semelhante ao encontrado em produtos cárneos fermentados (salame), cujo número varia de 7,00 a 8,00  $\log$  UFC.g<sup>-1</sup> (MACEDO, 2005; LEBERT *et al.*, 2007). Porém foram semelhantes aos obtidos por MILANI *et al.* (2003) em linguiças frescas de frango armazenadas a 8°C, onde encontraram valores superiores a 10<sup>7</sup> UFC/g de bactérias lácticas após 6 dias de armazenamento, o que correspondeu a um aumento de aproximadamente 3 ciclos logarítmicos. No presente trabalho, os valores elevados na contagem de bactérias lácticas (~10<sup>8</sup> UFC/g), após 20<sup>o</sup> dia sugerem ter ocorrido uma possível contaminação cruzada na linha de produção. Esta informação foi repassada ao setor de controle de qualidade, que realizou medidas corretivas e ao analisar um segundo lote de produção de linguiça Calabresa cozida com defumação tradicional após 30 dias de armazenamento a 5°C, apresentaram contagem de bactérias lácticas entre 1,00 e 3,00  $\log$  UFC.g<sup>-1</sup>.

LEBERT *et al.* (2007) verificaram que a média de bactérias lácticas em salames fermentados, elaborados por pequenas indústrias tradicionais da França, durante a fermentação e no produto final foi de 6,5 e 7,9  $\log$  UFC.g<sup>-1</sup>, respectivamente. Já MACEDO (2005) verificou que após 150 dias de armazenamento sob refrigeração, de salames elaborados com culturas probióticas, a quantidade desses microrganismos foi superior a 8  $\log$  UFC.g<sup>-1</sup>.

RIBEIRO (2006) inoculou em linguiça toscana bactérias lácticas entre 6,00 e 8,00  $\log$  UFC. g<sup>-1</sup>, que foram armazenadas a 5°C e 15°C durante 12 dias, obteve-se número de colônias de bactérias próximo a 9,00  $\log$  UFC. g<sup>-1</sup>. Demonstrando que as bactérias lácticas se multiplicam a 5°C e próximo a 20°C, temperaturas essas empregadas, no presente estudo no armazenamento das linguiça calabresa cozidas e defumadas.

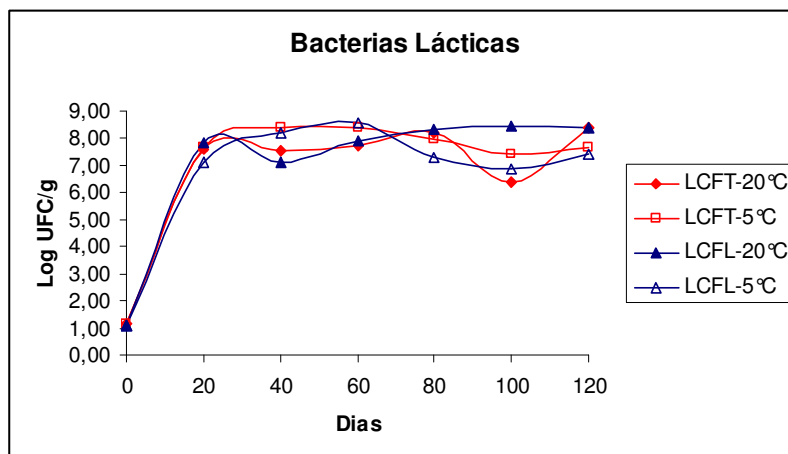


Figura 14 – Evolução da contagem de Bactérias Lácticas (log<sub>10</sub> UFC.g-1) na superfície da linguiça Calabresa cozida e submetida aos tratamentos de defumação convencional (LCFT) e de fumaça líquida (LCFL) e armazenadas a 5° e 20°C durante 120 dias.

#### 4.8. Avaliação Sensorial

A avaliação sensorial da linguiça Calabresa cozida e submetida aos tratamentos de defumação convencional (LCFT) e de fumaça líquida, (LCFL) armazenada a 5° e 20°C após 20, 40 e 60 dias de armazenamento, e as médias encontram-se descritas na Tabela 11. Os provadores avaliaram a rancificação em uma escala mista de 9 pontos (0 - Nenhum ranço; 1; 2 - Ligeiramente ranço; 3; 4- Moderadamente ranço; 5; 6 - Muito ranço; 7; 8 - Extremamente ranço) em relação amostra-referência (0 dia de armazenamento).

**Tabela 11:** Evolução sensorial (sabor ranço) de amostras de linguiça Calabresa cozida e submetida aos tratamentos de defumação convencional (LCFT) e de fumaça líquida (LCFL) e armazenadas a 5° e 20 °C durante 60 dias.

<i>Tratamento</i>	<i>Sabor*</i>		
	<b>20º dia</b>	<b>40º dia</b>	<b>60º dia</b>
<b>LTFT 20°C</b>	2,86 <sup>CA</sup> (±0,95)	3,87 <sup>BA</sup> (±0,62)	5,68 <sup>AA</sup> (±0,72)
<b>LTFT 5°C</b>	2,44 <sup>CA</sup> (±0,75)	3,67 <sup>BA</sup> (±1,03)	4,62 <sup>AB</sup> (±0,74)
<b>LTFL 20°C</b>	2,86 <sup>CA</sup> (±0,73)	3,55 <sup>BA</sup> (±0,55)	5,50 <sup>AA</sup> (±0,74)
<b>LTFL 5°C</b>	2,50 <sup>CA</sup> (±0,40)	3,60 <sup>BA</sup> (±0,60)	4,50 <sup>AB</sup> (±2,74)

\*Médias (±desvio padrão) seguidas de letras minúsculas/ maiúsculas iguais nas linhas/colunas não diferem estatisticamente à nível de 5% (Teste de Tukey).

Observa-se que a partir de 40 dias de armazenamento, as amostras apresentaram um moderado sabor ranço, não diferindo estatisticamente ( $p < 0,05$ ) entre os tratamentos. Neste período houve uma correlação da avaliação sensorial com a análise de TBARS, com valores de 0,44 a 0,56 mg MDA/kg. No entanto, após 60 dias as amostras armazenadas a 20 °C descaracterizaram o produto sensorialmente, pois foi detectado elevado sabor ranço (pontuação média 5,68 e 5,50, respectivamente).

Conforme citado anteriormente, alguns autores (TERRA, CICHOSKI; FREITAS, 2006; AHMAD; SRIVASTAVA, 2007) relatam correlações entre o ranço percebido sensorialmente e o determinado por análise de oxidação lipídica, citando que baixos valores de TBARS não são percebidos sensorialmente. Porém, neste trabalho as concentrações de 0,4 a 0,5 mg MA/kg já foram detectados sabores ligeiramente a moderadamente rancificados.

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

## 5. CONCLUSÕES E SUGESTÕES

### 5.1 Conclusões

Em função dos resultados obtidos no presente estudo, concluiu-se que:

- Os tratamentos de defumação tradicional e líquida apresentaram um comportamento semelhante em relação à oxidação lipídica, com acréscimo até os 40 dias e apresentando correlação com análise sensorial, onde o produto foi caracterizado por apresentar moderado sabor ranço, com valores de TBARS na faixa de 0,44 a 0,56 mg MDA/kg. Após os 60 dias de armazenamento os tratamentos à temperatura de 20° C foram descaracterizados sensorialmente, pois foi detectado elevado sabor ranço.
- O pH nos tratamentos armazenados a 20°C obtiveram uma redução maior que os tratamentos armazenados a temperatura de 5°C, esta redução esta correlacionada com a alta contagem de bactérias lácticas ( $\sim 10^8$  UFC/g) e conseqüentemente aumento da Acidez.
- Os tratamentos com fumaça líquida apresentaram menor tonalidade de coloração amarela e luminosidade/brilho. Indicando que a fumaça líquida utilizada proporcionou um aspecto visual levemente mais escuro e com tonalidade inferior do amarelo, quando comparado à linguiça Calabresa cozida com defumação tradicional.
- O tratamento com processo de defumação com fumaça líquida por ter o seu processo de cozimento diferente, obteve uma redução inicial de teores de nitrito maior que o tratamento defumado com fumaça tradicional. A redução dos valores residuais de nitrito são mais acentuados aos tratamentos armazenados a temperatura de 20°C dos armazenados a temperatura de 5°C.
- A contagem de bactérias lácticas após 20 dias de armazenamento foram consideradas elevadas ( $\sim 7 \log_{10}$  UFC.  $g^{-1}$ ) para o tipo de produto (linguiça Calabresa cozida e defumada), o que proporcionou a diminuição do pH, redução dos níveis residuais de nitrito e acidificação do produto.



- A fumaça líquida proporcionou uma redução no tempo de processamento de estufa em 37,5%, o que pode vir a gerar um lucro muito grande se este tempo vir a ser ocupado com aumento de produção.

## **5.2 Sugestões para trabalhos futuros**

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

- Avaliar outros tipos de fumaça líquida disponíveis no mercado que contenham componentes que possam auxiliar na conservação do produto;
- Realizar destilação fracionada da fumaça líquida, no sentido de concentrar os compostos de interesse;
- Caracterizar os componentes presentes na fumaça líquida, mediante análises cromatográficas;
- Estudar componentes e/ou frações da fumaça líquida em produtos cárneos e seus efeitos divulgados, principalmente por fabricantes, com atividade antioxidante, antibacteriano e de melhoria nas características organolépticas (sabor e cor), porém poucos conhecidos cientificamente.
- Utilizar componentes bactericidas ou bacteriostáticos associados com a fumaça líquida que possam vir a auxiliar na conservação do produto.

## 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADAMS, C. A. *Nutricines: food components in health and nutrition*. Nottingham: Nottingham University Press, 1999. 128p.

ADEGOKE, G. O.; KUMAR, M. V.; KRISHNA, A. G. G.; VARADARAJ, M. C.; SAMBIAH, K.; LOKESH, B. R. Antioxidants and lipid oxidation in foods: A critical appraisal. *Journal of Food Science and Technology*, v. 35, n. 4, p.283-298, 1998.

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

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

ALMEIDA, C. O. Avaliação físico-química e microbiológica de lingüiça toscana porcionada e armazenada em diferentes embalagens, sob condições de estocagem similares às praticadas em supermercado; 2005 Campinas p. 603-603, 2007.

ALAIZ, M. GIRÓN, J. Modification of histidine residues in bovine serum albumin by reaction with (E)-2-octenal. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v.42, p. 2094-2098, 1994.

ALEXANDER, J. C. Biological effects due to changes in fats during heating. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, v. 55, n. 10, p. 711–717, 1978.

ALEXANDER, J. W. Immunonutrition: The role of -3 fatty acids. *Nutrition*, v. 14, n. 7-8, p. 627–633, 1998.

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

AOAC - ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. *Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists*. 15<sup>th</sup> ed. Arlington: AOAC, 1990. 1298 p.

ARAÚJO, J. M. A. *Química de Alimentos - Teoria e prática*. 3<sup>a</sup> ed. Viçosa: UFV, 2005. 478p.

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

AYNIÉS, L. E.; Le Meste M.; Colas B.; Lorient D. Interactions between lipids and milk proteins in emulsion. *Journal Food Science*, v. 57, p. 883-886, 1992.

AUBOURG, S. P. Recent advances in assessment of marine lipid oxidation by fluorescence. Review. *Journal of the American Oil Chemists Society*, v. 76, p. 409-419, 1999.

BAKER, A.; ŽÍDEK, L.; WIESLER, D.; CHMELÍK, J.; PAGEL, M.; NOVOTNY, M. V. Reaction of Nacetylglucyllysine methyl ester with 2-alkenals: an alternative model for

covalent modification of proteins. *Chemical Research in Toxicology*, v. 11, p. 730-740, 1998.

BELITZ, H.; GROSCH, W. *Química de los alimentos*. 2ª Ed. Zaragoza: Editorial Acribia, S.A., 1992.

BERRA, B.; MONTORFANO, G.; RIZZO, A. M. Omega-6 e omega-3: rationale per lo studio del loro rapporto. *Progress in Nutrition*, v. 7, n. 1, p. 24–33, 2005.

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

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

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

BÖHLEN, P.; STEIN, S.; DAIRMAN, W.; UDENFRIEN, S. Fluorometric assay of protein in the nanogram range. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, v. 155, p. 213-220, 1973.

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

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

BREWER, M. S.; MC KEITH, F.; SPROULS, G. Sodium lactate effect on shelf life, sensory and physical characteristics of vacuum package fresh pork sausage. *Journal of Muscle Foods*, Trumbull, v. 4, p. 179-192, 1993.

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

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

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

CHOWDHURY, S. K.; ESHRAGHI, J.; WOLFE, H.; FORDE, D.; HLAVAC, A. G.; JOHNSTON, D. Mass spectrometric identification of amino acid transformations during oxidation of peptides and proteins: modifications of methionine and tyrosine. *Analytical Chemistry*, v. 67, p. 390-398, 1995.

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

DE PAULA, R.; Avaliação da Estabilidade de Lingüiça Toscana Congelada Armazenada em Diferentes Embalagens. 2008, Dissertação de Mestrado. Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões – Campus de Erechim, Erechim, RS.

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

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

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

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

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

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

**Formatado:** Fonte: (Padrão) Arial

**Formatado:** Fonte: (Padrão) Arial, Inglês (EUA)

FARMER, E. H.; BLOOMFIELD, G. F.; SUNDRALINGAM, A.; SUTTON, D. A. The course and mechanism of autoxidation reactions in olefinic and polyolefinic substances, including rubber. Transactions of the Faraday Society, 1942. 348p.

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

HONKAVAARA, M. Influence of PSE pork on the quality and economics of cooked, cured ham and fermented dry sausage manufacture. *Meat Science*, v. 24, p.201-207, 1998.

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

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

ICMSF – International Commission on Microbiological Specifications for Foods.

*Ecologia Microbiana de los Alimentos*. Volumen II. Zaragoza: Editorial Acirbia S.A., 1980. 989 p.

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

ITAL, *Princípios do Processamento de Embutidos Carneos*. CTC, Campinas 2003.

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

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

JOHNSTON, R. W.; TOMPKIN, R. B. Meat and poultry products. In: VANDERZANT, C. & SPLITTSTOESSER, D.F. (Ed.). *Compendium of methods for the microbiological examination of foods*. 3<sup>a</sup> ed. Washington: American Public Health Association, 1992. Chap. 44, p. 821-836.

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

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

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

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

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

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

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

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

LEAVER, J.; LAW, A. J. R.; BRECHANY, E. Y.; MCCRAE, C. H. Chemical changes in  $\beta$ -Lactoglobulin structure during ageing of protein-stabilized emulsions. *Journal of Food Science & Technology*, v. 34, p. 503-508, 1999.

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

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

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

LEBERT, I.; LEROY, S.; GIAMMARINARO, P.; LEBERT, A.; CHACORNAC, J. P.; BOVER-CID, S. Diversity of microorganisms in the environment and dry fermented sausages of small traditional French processing units. *Meat Science*, v. 76, p. 112-122, 2007.

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

LORENZO, J. M.; MICHINEL, M.; LÓPEZ, M.; CARBALLO, J. Biochemical Characteristics of Two Spanish Traditional Dry-cured Sausage Varieties: Androlla and Botillo. *Journal of Food Composition and Analysis*, v. 13, p. 809-817, 2000

MATOPA, T. *et al.* Damage of amino acid residues of protein after reaction with oxidizing lipids: estimation by proteolytic enzymes. *Journal Food Science*, v. 49, p. 1082-1084, 1984.

MATSUSHITA, S. Specific interactions of linoleic acid hydroperoxides and their secondary degraded products with enzyme proteins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 23, p. 150-154, 1975.

MILANI, L. I. G.; FRIES, L. L. M.; PAZ, P. B.; BELLE, M.; TERRA, N. N. Bioproteção de linguiça de frango. *Ciência e Tecnologia dos Alimentos*, v.23, n.2, p.161-166, 2003

MOELLER, P., LINDER, D. How smoking has been made simple. *Meat Processing*, 1996

MØLLER, J.K.S., JENSEN, J.S.; SKIBSTED, L.H.; DNÖCHEL, S. Microbial formation of nitrite-cured pigment, nitrosylmyoglobin, from metmyoglobin in model systems and smoked fermented sausages by *Lactobacillus fermentum* strains and a commercial starter culture. *European Food Research and Technology*, New York, v. 216, n. 6, p. 463-469, Jun., 2003.

MUTHUKUMARASAMY, P.; HOLLEY, R. A. Microbiological and sensory quality of dry fermented sausages containing alginate-microencapsulated *Lactobacillus reuteri*. *International Journal of Food Microbiology*, v. 111, n. 2, p. 164-169, 2006

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

OLIVO, R. O Mundo das Carnes: ciência, tecnologia & Mercado 2 ed. Criciúma, 214p. 2005.

- OLIVO, R. Alterações oxidativas em produtos cárneos. Globalfood Sistemas, Ingredientes e tecnologia para Alimentos Ltda, p. 9, 2005
- OLIVO, R. O mundo do frango. Criciúma: do Autor, p. 239-272, 2006.
- OLIVO, R., SHIMOKOMAKI, M. Carnes: no caminho da pesquisa. 2 ed. Cocal do Sul: Imprint, 2002. 155p.
- ORDÓÑEZ, J. A. Tecnologia de Alimentos, Porto Alegre, Artmed, 2005, 279p.
- PANIANGVAIT, P.; KING, A. J.; JONES, A. D.; GERMAN, B. G. Cholesterol oxides in foods of animal origin. *Journal of Food Science*, v. 60, n. 6, p. 1159–1174, 1995.
- PURCHAS, R. W.; RUTHERFURD, S. M.; PEARCE, P. D.; VATHER, R.; WILKINSON, B. H. P. Cooking temperature effects on the forms of iron and levels of several other compounds in beef semitendinosus muscle. *Meat Science*, V. 68, P. 201–207, 2004.
- RAMALHO, V. C.; JORGE, N. Antioxidantes utilizados em óleos, gorduras e alimentos gordurosos. *Química Nova*, v. 29, n. 4, 2006.
- REYFTMANN, J. P. Sensitivity of tryptophan and related compounds to oxidation induced by lipid autoperoxidation. Application to human serum low- and high-density lipoproteins. *Biochimica et Biophysica Acta*, v. 1042, p. 159-167, 1990.
- RIBEIRO, C. B. A. Isolamento, seleção e aplicação de cultivos iniciadores para melhoramento da qualidade da linguiça “tipo toscana” não defumada, 2006. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal do Paraná, Curitiba, PR.
- RIISPOA, Regulamento da inspeção industrial e sanitária de produtos de origem animal, Brasil 1952.
- RIZVI, S. S. H. Rheological properties of comminuted meat systems. *Food Technology*, Chicago, v. 35, n. 5, p. 238-243, 1981.
- ROSA, C. M. Purificação e mecanismo de ação de uma bacteriocina produzida por *Lactobacillus sake* 2a isolado de linguiça frescal. 2001. 97p. Tese (Doutorado e Ciência de Alimentos) – Faculdade de Ciências Farmacêutica da Universidade de São Paulo, São Paulo.
- ROSE, D. P.; CONNOLLY, J. M. Omega 3 fatty acids as cancer chemopreventive agents. *Pharmacology & Therapeutics*, v. 83, n. 3, p. 217–244, 1999.
- ROUBAL, W. T.; TAPPEL, A. L. Damage to proteins, enzymes and amino acids by peroxidizing lipids. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, v. 113, p. 5-8, 1966.
- SAGGIORATO, A. G.; Atividade Antifúngica e Antioxidante *in vitro* e na Superfície de Salame tipo Italiano do óleo essencial de manjeriço (*ocimum basilicum* L), 2008. Dissertação de Mestrado. Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões – Campus de Erechim, Erechim, RS.



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

SAMESHIMA, T.; MAGOME, C.; TAKESHITA, K.; TAKESHITA, K.; ARIHATRA, K.; ITOH, M.; KONDO, Y. Effect of intestinal *Lactobacillus* starter cultures on the behaviour of *Staphylococcus aureus* in fermented sausage. International Journal of Food Microbiology, v. 41, n. 1, p. 1-7, 1998.

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

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

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

TEIXIDÓ, E.; SANTOS, F. J.; PUIGNOU, L.; GALCERAN, M. T. Analysis of 5-hydroxymethylfurfural in foods by gas chromatography-mass spectrometry. Journal of Chromatography A, v. 1135, n. 1, p. 85-90, 2006.

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

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

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

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

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

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

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

YANG, A.; BREWSTER, M. J.; BEILKEN, S. L.; LANARI, M. C.; TAYLOR, D. G.; TUME, R. K. Warmed-over flavor and lipid stability of beef: effects of prior nutrition. *Food Chemical Toxicology*, v. 67, n. 9, p. 3309-3313, 2002.

WRITH, F. *Tecnologia de los embutidos escaldados*. Editorial Acribia, Zaragoza, Espanha. 1992

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

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