

**MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO**  
**UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS**  
**DEPARTAMENTO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AGROINDUSTRIAL**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE**  
**ALIMENTOS**



**Produção de salame tipo Italiano adicionado de culturas iniciadoras nativas e extrato de aipo (*Apium graveolens* L.) como fonte de nitrato**

**Ana Rita Carboni Ritter**

Pelotas, 2016

**Ana Rita Carboni Ritter**

**Produção de salame tipo Italiano adicionado de culturas iniciadoras nativas e extrato de aipo (*Apium graveolens* L.) como fonte de nitrato**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos da Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel da Universidade Federal de Pelotas, como requisito à obtenção do Título de Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos.

Comitê de orientação: Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Ângela Maria Fiorentini  
Prof Dr Wladimir Padilha da Silva

Pelotas, 2016

Universidade Federal de Pelotas / Sistema de Bibliotecas  
Catalogação na Publicação

R614p Ritter, Ana Rita Carboni

Produção de salame tipo italiano adicionado de culturas iniciadoras nativas e extrato de aipo (*Apium graveolens* L.) como fonte de nitrato / Ana Rita Carboni Ritter ; Ângela Maria Fiorentini, orientadora ; Wladimir Padilha da Silva , coorientador. — Pelotas, 2016.

87 f.

Dissertação (Mestrado) — Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas, 2016.

1. Embutido fermentado. 2. Cura natural. 3. Bactérias ácido lácticas. 4. Estafilococos coagulase negativa. I. Fiorentini, Ângela Maria, orient. II. , Wladimir Padilha da Silva, coorient. III. Título.

CDD : 664

**Banca examinadora:**

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Ângela Maria Fiorentini – UFPel (Presidente/Orientadora)

Prof. Dr. Celso Medina Fagundes- UFPel

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Eduarda Hallal Duval - UFPel

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Maristela Cortez Sawitzki - UNIPAMPA

“Nem olhos viram, nem ouvidos ouviram, nem jamais penetrou em coração humano o que Deus tem preparado para aqueles que o amam”.

Coríntios cap.2 vers.9

## **AGRADECIMENTOS**

A Deus, por guiar sempre meus passos e conceder-me forças para superar todos os obstáculos. Pois Dele é o Poder a Honra e a Glória para sempre amém.

Ao meu esposo amado Rafael Ritter, por todo o amor, compreensão e carinho nos momentos mais difíceis, pela paciência, ajuda e principalmente, por toda a colaboração na realização deste trabalho.

Aos meus familiares que tanto os amo, por todo amor incondicional, preocupação e apoio.

À minha orientadora, Professora Doutora Ângela Maria Fiorentini, por aceitar me orientar, por transmitir todo o seu conhecimento para que pudesse desenvolver este trabalho, pelo seu carinho, amizade e por confiar em meu trabalho.

Ao professor Doutor Wladimir Padilha da Silva por ter confiado em mim, por todo o apoio prestado e ensinamentos transmitidos e pela disponibilidade do laboratório de Microbiologia de alimentos.

Aos professores e funcionários do Departamento de Ciência e Tecnologia Agroindustrial da UFPEL, por todo auxílio prestado durante a execução deste trabalho, principalmente, ao professor Doutor Celso Medina Fagundes, aos professores Doutor Cesar Valmor Rombaldi, Doutor Fábio Clasen Chaves, Doutor Moacir Cardoso Elias e Doutor Mauricio de Oliveira, por toda simpatia, carinho e disponibilidade de seus laboratórios para o desenvolvimento do mesmo.

Aos meus queridos colegas Graciele, Guilherme, Juliana, Claudio, Fábio e Luciana, esta do laboratório de Grãos, por todo apoio e ajuda para que este trabalho se concretizasse, nas orientações ensinamentos e ajuda nas análises.

Às colegas do laboratório de microbiologia de alimentos, Louise, Isabela, Mariana, Carla pela compreensão nas minhas dúvidas e pelo auxílio com as análises quando necessário e a técnica do laboratório Andréia Saldanha.

À empresa Embutidos Bergmann, o Sr. Elias Bergmann pela liberação da câmara de maturação de salame e por todo o apoio, auxílio e disponibilidade para a realização deste trabalho.

À empresa Bremil, de Arroio do Meio, RS, a disponibilidade do técnico José Laureano dos Santos Junior, pelo fornecimento de sais de cura usado neste trabalho e, pelos demais produtos disponibilizados durante todo o curso.

À empresa Naturex de São Paulo pelo fornecimento e todo empenho para conseguir o extrato de aipo, vindo da Suíça.

Ao Frigorífico Marfrig – Pampeano, ao Sr. Marcos Francisco Fernandes, por permitir que uma parte da pesquisa fosse realizada na empresa.

Aos funcionários do Laboratório do Frigorífico Marfrig – Pampeano em especial a chefe do Laboratório Mikaela Bisio, por todo carinho e auxílio prestado em parte desta pesquisa.

À Universidade Federal de Pelotas e ao curso de Pós Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, pela oportunidade de realizar este trabalho.

À CAPES e a Secretaria da Ciência, Inovação e Desenvolvimento Tecnológico do Estado, pelo financiamento desta pesquisa.

Muito obrigada

## RESUMO

RITTER, Ana Rita Carboni. **Produção de salame tipo Italiano adicionado de culturas iniciadoras nativas e extrato de aipo (*Apium graveolens* L.) como fonte de nitrato**, 2016. 86f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Departamento de Ciência e Tecnologia Agroindustrial, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2016.

A indústria cárnea busca cada vez mais ampliar e diversificar a produção de embutidos cárneos e para satisfazer os consumidores, tem buscado elaborar novos produtos e novos ingredientes para o seu consumo. Sais de cura (nitrato e nitrito) são utilizados em produtos com o intuito de promover coloração desejada e evitar o desenvolvimento de micro-organismos, como especialmente *Clostridium botulinum*. No entanto, o uso não controlado destes conservantes pode acarretar danos à saúde dos consumidores. Devido a isto, há uma crescente busca por conservantes naturais. Neste contexto, objetivou-se elaborar salame tipo Italiano adicionado de culturas iniciadoras nativas e extrato de aipo como fonte natural de nitrato. Foi elaborado o produto, salame tipo Italiano, seguindo uma formulação base, mas diferindo quanto a origem dos sais de cura e a presença ou não de culturas iniciadoras nativas, gerando quatro diferentes tratamentos: (T1) culturas iniciadoras nativas (*Staphylococcus xylosus* AD1 e *Lactobacillus plantarum* AJ2) e extrato de aipo (*Apium graveolens* L.); (T2) extrato de aipo; (T3) culturas iniciadoras nativas e sal de cura comercial e (T4) sal de cura comercial. Realizaram-se análises de pH, acidez,  $a_w$ , quebra de peso, concentração de nitrito, nitrato, nitrito residual, força de cisalhamento, cor, TBARS, composição centesimal, análises microbiológicas, contagens de bactérias: bactérias ácido lácticas, estafilococos coagulase negativa, coliformes a 45 °C, estafilococos coagulase positiva, *Salmonella* spp. e análise sensorial. Todos os tratamentos apresentaram resultados físico-químicos e microbiológicos que atendem aos padrões da Legislação Brasileira e a cor típica de produto curado. O índice de aceitabilidade do produto (T1) pelos julgadores foi de 80%, sendo que os mesmos comprariam o produto de alguma forma, ou seja, seria adquirido sempre/muito frequentemente/frequentemente por 74,08% dos julgadores. Conclui-se que as culturas iniciadoras nativas contribuíram para a acidificação e segurança microbiológica, redução de nitrato a nitrito e na textura do salame tipo italiano, enquanto que o extrato de aipo foi eficiente como fonte de nitrato garantindo a estabilização da cor. Em virtude dos parâmetros físico-químicos microbiológicos e sensoriais conferidos ao produto, a adição de culturas iniciadoras nativas e a

aplicação de extrato de aipo como agente de cura mostrou-se uma alternativa viável para produção de salame tipo Italiano.

**PALAVRAS-CHAVE:** Embutido fermentado; cura natural; bactérias ácido lácticas; estafilococos coagulase negativa.

## ABSTRACT

RITTER, Ana Rita Carboni. **Italian salami type of production added native starter cultures and celery extract** (*Apium graveolens* L.) **as a source of nitrate**. 2016. 86f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Programa de Pós- Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Departamento de Ciência e Tecnologia Agroindustrial, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2016.

The meat industry is trying more and more to expand and diversify the production of meat sausages to please the consumers and it has focused on elaborating healthier products for consumption. Curing salts (nitrate and nitrite) are used in these products aimed to promote the desired color and avoid the proliferation of microorganisms, especially *Clostridium botulinum*. However, the indiscriminate use of these conservatives may results in harm for the consumers' health. Due to this, there is a growing search for natural preservatives. In this context, we aimed to elaborate an Italian-type salami added with native starter cultures and celery extract as a natural source of nitrate. The Italian type salami was produced following a base formula but differing in terms of the origin of the curing salts and the presence or not of native starter cultures, resulting in four different treatments: (T1) native starter cultures (*Staphylococcus xylosus* AD1 and *Lactobacillus plantarum* AJ2) and celery extract (*Apium graveolens* L.); (T2) celery extract; (T3) native starter cultures and commercial curing salt and (T4) commercial curing salt. Analyses of acidity,  $a_w$  (water activity), weight loss, nitrite, nitrate, residual nitrite, shearing force, color, TBARS, percent composition and bacteria count (lactic acid bacteria, coagulase negative staphylococcus, coliforms at 45 °C coagulase positive staphylococcus, *Salmonella* spp). and sensory analyses were carried out. All treatments presented physicochemical and microbiological results which meet the Standards of the Brazilian Legislation and the typical color of the cured product. The product acceptance (T1) by the judges was of 80% and the product would be somehow bought either always/quite frequently/frequently by 74,08% of the judges. It is concluded that the native starter cultures contributed for the acidification and microbiological safety, reduction of nitrate to nitrite and in the texture of the Italian type salami, while the celery extract was efficient as a source of nitrate assuring the stabilization of the color. Due to the physicochemical, microbiological and sensorial parameters given to the product, the addition of native starter cultures and the application of celery extract as a curing agent is seen as a feasible alternative for the production of Italian type salami.

**KEYWORDS:** Fermented sausage; natural curing; lactic acid bacteria; coagulase negative *staphylococcus*.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Conversão de nitrato de sódio a nitrito de sódio até óxido nítrico. Fonte: 28	
Figura 2 - Fluxograma de produção do salame tipo italiano.....	39
Figura 3 – Reações de cura na massa base da elaboração de salame contendo sal de cura comercial (a) e massa contendo extrato de aipo (b). .....	40
Figura 4 - Demonstrativo da variação dos valores de pH nos tratamentos, durante período de fermentação/maturação do embutido.....	50
Figura 5 - Demonstrativo da variação de acidez nos tratamentos durante período de fermentação/maturação de salame tipo italiano.....	52
Figura 6 - Demonstrativo da variação de atividade de água ( $a_w$ ) nos tratamentos durante período de fermentação/maturação de salame tipo italiano.....	54
Figura 7 - Demonstrativo da variação d de perda de peso nos tratamentos durante período de fermentação/maturação de salame tipo italiano.....	55
Figura 8 - Força de cisalhamento dos salames tipo Italiano.....	60
Figura 9 – Resultados dos parâmetros avaliados na análise sensorial dos salames tipo Italiano.....	67
Figura 10 - Resultados da intenção de compra do salame tipo Italiano com culturas iniciadoras nativas e extrato de aipo (T1).....	68

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Parâmetros físico-químicos para salame tipo Italiano.....	24
Tabela 2 - Parâmetros microbiológicos para salame tipo Italiano .....	25
Tabela 3 - Resultados de concentração de nitrato, nitrito e nitrito residual nos diferentes tratamentos de salame tipo Italiano .....	57
Tabela 4 - Variações de cor aos 26 dias de fermentação/maturação do salame tipo Italiano.....	59
Tabela 5 - Resultados de TBARS (mg de malonaldeído/Kg) no tempo final de maturação, nos diferentes tratamentos, de salame tipo Italiano .....	61
Tabela 6 - Composição centesimal dos salames tipo Italiano, aos 26 dias de maturação. ....	63
Tabela 7 – Informação nutricional do salame tipo Italiano T1, aos 26 dias de maturação. ....	65

## SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO .....	15
2 OBJETIVOS .....	18
2.1 Objetivo geral .....	18
2.2 Objetivos Específicos .....	18
3 REVISÃO DA LITERATURA .....	19
3.1 Carne.....	19
3.2 Produtos cárneos .....	20
3.2.1 Produtos cárneos fermentados .....	22
3.2.1.1 Salame tipo Italiano .....	24
3.2.1.1 Ingredientes Obrigatórios .....	25
4 MATERIAL E MÉTODOS .....	36
4.1 Material.....	36
4.2 Delineamento experimental.....	36
4.3 Fermentação e liofilização das culturas iniciadoras nativas .....	37
4.4 Elaboração de salame tipo italiano.....	38
4.5 Fermentação /Maturação do Salame Tipo Italiano.....	40
4.6 Análises físico-químicas .....	40
4.6.1 Determinação do pH .....	40
4.6.2 Acidez.....	41
4.6.3 Atividade de água ( $a_w$ ).....	41
4.6.4 Perda de peso .....	41

4.6.5 Nitrito e Nitrato .....	42
4.6.6 Cor.....	42
4.6.7 Textura - Força de cisalhamento.....	42
4.6.8 TBARS .....	42
4.7 Composição centesimal do salame tipo italiano.....	43
4.7.1 Determinação do Percentual de Umidade.....	43
4.7.2 Determinação do Percentual de Proteína – Método Kjeldahl.....	44
4.7.3 Determinação do Percentual de Gordura – Extração direta em Soxhlet .....	44
4.7.4 Determinação do Percentual de Cinzas .....	45
4.8 Informação nutricional do produto: salame tipo italiano (T1).....	46
4.9 Análises Microbiológicas .....	46
4.9.1 Bactérias ácido lácticas (BAL).....	46
4.9.2 Estafilococos coagulase negativa (ECN).....	47
4.9.3 Coliformes a 45°C .....	47
4.9.4 Estafilococos coagulase positiva.....	47
4.9.5 <i>Salmonella</i> spp.....	48
4.10 Análises sensorial .....	48
4.11 Análise estatística .....	49
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	50
5.1 Análises do salame tipo Italiano .....	50
5.2.1 Análises físico-químicas.....	50
5.2.1.1 Determinação de pH.....	50
5.2.1.2 Acidez.....	52
5.2.1.3 Atividade de água.....	53
5.2.1.4 Perda de peso .....	55
5.2.1.5 Nitrato e Nitrito .....	56
5.2.1.6 Cor.....	58
5.2.1.7 Textura – Força de Cisalhamento .....	59
5.2.1.8 TBARS .....	61
5.2 Composição centesimal dos salames .....	62
5.3 Informação nutricional .....	64
5.4 Análises Microbiológicas .....	65
5.5 Análise Sensorial.....	66
6 Conclusões.....	70

Referências .....	71
Apêndices.....	83

## 1 INTRODUÇÃO

A carne é um alimento que possui elevado valor nutricional, porém é suscetível à deterioração por micro-organismos devido à sua atividade de água e pH favoráveis ao desenvolvimento microbiano (ZANARDI et al., 2010). Para conservação de carnes, desde o início dos tempos, o homem vem utilizando vários métodos, como a secagem, a salga, o calor e a fermentação. Entre os produtos cárneos fermentados, o salame é um típico produto produzido em larga escala por muitas indústrias na região Sul do Brasil (SAWITZKI et al., 2008; TERRA; FRIES; TERRA, 2004).

Entende-se por salame, o produto cárneo industrializado, elaborado de carnes suínas ou suínas e bovinas, toucinho, adicionado de ingredientes, embutido em envoltórios naturais ou artificiais, curado, defumado ou não, fermentado, maturado e dessecado por tempo indicado pelo processo de fabricação (BRASIL, 2000).

O salame tipo Italiano fabricado no Brasil é, predominantemente, obtido a partir de carne suína (mínimo 60%), fermentado/maturado por aproximadamente trinta dias, com aroma e sabor suaves e valores de pH em torno de 5,4 (BRASIL, 2000; TERRA, 2005).

A aceitação de produtos cárneos depende, em grande parte, do seu sabor, determinado principalmente pelo gosto e pelos compostos voláteis, constituintes do aroma. No caso do salame, o aroma é oriundo de uma gama enorme de compostos presentes nos condimentos e na matéria-prima e/ou produzidos nas etapas de fermentação e maturação. As enzimas endógenas, enzimas microbianas e reações químicas são responsáveis pela transformação destes compostos, em voláteis (PEGG; SHAHIDI, 2004).

No passado, a fermentação da carne era efetuada espontaneamente, pela microbiota natural da carne *in natura* e do ambiente. Muitos países têm produtos cárneos tradicionais e querem manter as suas características, no entanto, a fermentação com a microbiota autóctone pode produzir alimentos sem qualidade em relação à segurança microbiológica. Neste sentido, o emprego de culturas iniciadoras em embutidos cárneos fermentados visa à obtenção de produtos inócuos, com controle do processo garantindo padronização quanto às características físico-químicas e propriedades organolépticas (ESSID et al., 2007).

Na obtenção de um produto fermentado padronizado ou com controle de processamento, mudanças bioquímicas e sensoriais devem ocorrer na massa cárnea, sob condições de temperatura e umidade controladas (CASABURI et al., 2007), para isso, é imprescindível a participação de bactérias ácido lácticas (BAL) e estafilococos coagulase negativa (ECN) (ESSID; HASSOUNA, 2013).

Espécies de ECN como *Staphylococcus xylosus*, é apontado como importante cultura iniciadora na fabricação de embutidos fermentados (ESSID et al., 2007). Esta espécie se destaca devido às suas contribuições tecnológicas, pois são responsáveis pela melhora da cor dos produtos decorrente da atividade nitrito e nitrato redutase, além de contribuir no *flavor* pela sua atividade proteolítica e lipolítica (GALGANO et al., 2003; MARTÍN et al., 2006). A BAL *Lactobacillus plantarum*, por sua vez, é importante na fermentação devido a sua habilidade de produzir ácido láctico, como principal produto da fermentação (LEROY et al., 2006).

Em relação ao processo fermentativo, as reações de cura nos produtos cárneos é mais uma característica importante que deve ser considerada. Um elemento básico de todas as misturas de cura é o cloreto de sódio (NaCl), pois tem um papel fundamental na estabilidade microbiológica e também tem uma influência importante sobre o sabor e textura na cura do salame (ZANARDI et al., 2010). Além de NaCl, nitrato ( $\text{NO}_3^-$ ) e nitrito ( $\text{NO}_2^-$ ) de sódio ou potássio são ingredientes utilizados na cura da carne.

O nitrito é o agente ativo na cura e, todas as reações têm algum tipo de relação com a química do nitrito. Entretanto, para produtos cárneos secos curados ou fermentados, o nitrato é requerido ao longo do processo de secagem para a lenta geração de nitrito, pelas bactérias ECN redutoras de nitrato, em meio ácido (PEGG; SHAHIDI, 2004). Além da cura, utilizam-se nitrato e nitrito para o controle de microorganismos, patogênicos e deteriorantes, principalmente *Clostridium botulinum*,

patógeno responsável por causar botulismo, considerada a mais séria das intoxicações alimentares (CDC, 2007; WOODS; WOOD, 1982).

Presença de nitrato e nitrito incluem vegetais, carnes curadas e processadas, pescados e frangos (nos quais nitrito é adicionado). As plantas são as fontes primárias de nitrato (80 a 95%), enquanto as carnes curadas e processadas são as fontes primárias de nitrito (SANTA MARIA, 2006; CORREIA et al., 2010; GILCHRIST; WINYARD; BENJAMIN, 2010).

A constante preocupação dos consumidores com as características dos alimentos que consomem, conduz ao desenvolvimento de produtos que, além de saudáveis, também promovam o bem-estar. Devido às percepções contraditórias da cura por nitrito em carnes, o desenvolvimento de cura natural ou orgânica, está tendo uma larga propagação e aceitação no mercado (SEBRANEK; BACUS, 2007; CORREIA et al., 2010; LU et al., 2015).

Nos últimos dez anos, houve um desenvolvimento contínuo de produtos curados com ingredientes naturais sendo destes o aipo, produzido para a demanda dos consumidores em relação às carnes. Os produtos cárneos curados podem receber a adição de extratos vegetais, em substituição aos sais de cura, pois são ricos naturalmente em nitrato e favorecem a formação da cor desejável. São várias as fontes vegetais de nitrato, dentre os quais destacamos o extrato de aipo (SEBRANEK et al., 2012). O extrato de aipo (*Apium graveolens*), líquido ou em pó, é considerado compatível com produtos cárneos, devido à ausência de pigmentação e sabor suave (SEBRANEK; BACUS, 2007; BIASI, 2010; BERTOL et al., 2012).

Tendo em vista, o grande interesse em agregar valor e ampliar a diversidade de produtos cárneos e, ainda, a crescente busca por produtos mais naturais, objetivou-se avaliar as propriedades tecnológicas das culturas iniciadoras nativas, *Staphylococcus xylosum* AD1/*Lactobacillus plantarum* AJ2 e extrato de aipo como fonte de nitrato em salame tipo italiano.

## **2 OBJETIVOS**

### **2.1 Objetivo geral**

Avaliar as propriedades tecnológicas das culturas iniciadoras nativas, *Staphylococcus xylosum* AD1/*Lactobacillus plantarum* AJ2 e extrato de aipo como fonte de nitrato na cura de salame tipo italiano.

### **2.2 Objetivos Específicos**

- Elaborar formulações de salame tipo Italiano com adição de extrato de aipo em substituição aos sais de cura comercial;
- Monitorar o desenvolvimento das culturas iniciadoras, durante a fermentação/maturação do salame;
- Verificar os parâmetros microbiológicos e físico-químicos, durante fermentação/maturação e no produto final;
- Avaliar a aceitação sensorial e intenção de compra do salame, ao término do período de maturação.

## 3 REVISÃO DA LITERATURA

### 3.1 Carne

A carne é um alimento altamente proteico (16 a 22%), composto também por água (65 a 80%), que é seu componente principal, gordura, cujo conteúdo é muito variável (3 a 13%) e cinzas (1,1 a 1,4%), que são bastante constantes. Em geral a carne bovina, suína e de frango são fontes de vitaminas B6 e B12. A maior parte das vitaminas da carne é relativamente estável no processo industrial ou culinário. A carne é uma excelente fonte de ferro e proporciona quantidades significativas de zinco, potássio, sódio e magnésio (PARDI et al., 2006). Bovinos, suínos, aves, ovinos e caprinos são as fontes mais comuns de carne para consumo humano (HOFFMAN; CAWTHORN, 2013).

Complexas situações envolvem a qualidade final da carne e da composição centesimal, pois dependem da espécie, linhagem, genética, sexo, idade, alimentação, função do músculo e sua composição química, bem como dos fenômenos fisiológicos e bioquímicos que ocorrem momentos antes do abate do animal, e durante e após a instalação do *rigor mortis*. Tais fatores e reações são de suma importância para que ocorra a transformação do músculo em carne (JOO et al., 2013).

A percepção da qualidade da carne para os consumidores é ampla e subjetiva. Reflete as diferenças regionais e nacionais, etnia e cultura, considerações políticas e econômicas, crenças individuais e ideologias, e informações no rótulo da embalagem (THOMPSON et al., 2008; KORZEN; LASSEN, 2010; NDOU; MUCHENJE; CHIMONYO, 2011; ZEPEDA et al., 2013). A qualidade da carne também é avaliada em suas características intrínsecas e extrínsecas, visuais, de

aparência, fabricação, aspectos nutricionais, segurança alimentar, confiança, credibilidade, aspectos químicos, físicos, sensorial (FAROUK et al., 2007; GRUNERT, 1997; TROY; KERRY, 2010).

Cor, marmoreio, maciez e suculência, são características intrínsecas à carne, além destas, a qualidade da carne depende da maneira que é produzida, apresentação da mesma, embalagem, origem e marca sendo estas extrínsecas (GRUNERT; BREDAHL; BRUNSO, 2004; TROY; KERRY, 2010). Para o consumidor, a maciez, suculência e sabor são considerações importantes na sua mesa, em contraste com a solubilidade das proteínas da carne e da capacidade destas em vincular água e gordura, que são parâmetros chave durante a fabricação. Algumas características, como alta capacidade de retenção de água, influencia a qualidade da carne tanto para o fabricante quanto para o consumidor em especial, para as carnes destinadas para fritar, grelhar ou assar. Essas definições convencionais de qualidade são baseadas nas características físicas e químicas da carne (FAROUK et al., 2007).

A carne e seus derivados são alimentos populares amplamente consumidos, sendo componentes essenciais nas dietas dos países desenvolvidos. Atualmente, os consumidores exigem produtos alimentares naturais e saudáveis, incluindo produtos à base de carnes, com melhores propriedades nutricionais (TRINDADE; OLIVEIRA, 2011).

Uma vez abatido o animal, a carne fica exposta à contaminação por uma diversidade de micro-organismos. Além disso, é preciso acrescentar o risco da presença de micro-organismos patogênicos causadores de intoxicações e infecções alimentares como *Campylobacter* spp., *Clostridium* spp., *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes* e *Salmonella* spp., *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* (TROY; KERRY, 2010; GORMLEY et al., 2011; JENSON; SUMNER, 2012; LAHOU et al., 2015).

### **3.2 Produtos cárneos**

Na antiguidade, o homem não tinha a concepção da presença de micro-organismos, mas percebiam que os alimentos deterioravam caso não fossem consumidos rapidamente. Para evitar isso, procurou buscar técnicas para ampliar a vida útil dos alimentos. Assim observou que as carnes se conservavam por mais

tempo depois de picá-las, misturá-las ao sal e ervas aromáticas e dessecá-las, após embuti-las, proporcionando um produto de sabor muito agradável. A elaboração de embutidos se iniciou por volta de 1500 a.C. Os embutidos crus tiveram sua origem na região do mediterrâneo, cujo clima é muito favorável para sua maturação (LÜCKE, 1994).

Com as modificações nas propriedades da carne fresca, o embutido cárneo é denominado processado, utilizando-se de técnicas como: trituração, adição de condimentos, modificação da cor ou tratamento pelo calor, dentre outras. A industrialização objetiva, principalmente, aumentar a vida útil, aproveitar produtos e subprodutos do abate, criar novos sabores, realçar certos cortes, melhorar a aparência, permitir melhor distribuição do processado cárneo, aumentar o valor comercial entre outros (BRESSAN; PÉREZ, 2001).

Shimokomaki (2006) destaca três componentes da carne considerados substratos primários que influenciam na qualidade desta matéria-prima para fins de processamento: a umidade, gordura e proteína. A percentagem destes componentes, seu tipo e seu estado físico-químico influenciam importantes parâmetros de qualidade necessários à industrialização e determinarão a qualidade final dos produtos.

Dentre as preocupações com a qualidade e alimentos seguros, enquadram-se as práticas de higiene. Para a elaboração de um produto de qualidade, o Regulamento Técnico sobre as Condições Higiênico-Sanitárias e de Boas Práticas de Elaboração para Estabelecimentos Elaboradores/Industrializadores de Alimentos (BRASIL, 1997), deve ser seguido. Outro ponto importante na fabricação de um alimento cárneo seguro, é a procedência da matéria-prima, que deverá atender aos processos de Inspeção prescritos no RIISPOA – “Regulamento de Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal” (BRASIL, 1952).

Três diferentes períodos, complementares e consecutivos, podem ser definidos na história dos produtos cárneos, em termos de realizações e oportunidades: a qualidade, período que iniciou cerca de 15 anos atrás com a introdução das ISOs (Sistema de Padronização da Qualidade); alimentos seguros, período que iniciou com a introdução da Análise dos Perigos e Pontos Críticos de Controle (APPCC); e a nutrição e saúde, período que está apenas começando. Problemas de saúde global, relacionados com a alimentação e indústria são cada vez maiores. Em relação aos produtos cárneos, o sódio e a qualidade da gordura em

termos da composição de ácidos graxos são as principais prioridades (VANDENDRIESSCHE, 2008).

Para que seja bem entendido e executado o processamento tecnológico das carnes é necessário que se faça um estudo das matérias-primas empregadas, dos envoltórios e recipientes utilizados e dos aditivos e condimentos de uso corrente nos variados produtos cárneos. Tais conhecimentos mostram-se indispensáveis para que se possa ter garantia de uma produção industrial qualificada, como é requerida no caso especial de um produto, de elevado valor comercial e com alto grau de perecibilidade, como a carne (PARDI et al., 2006).

### **3.2.1 Produtos cárneos fermentados**

A fabricação de um produto cárneo fermentado envolve, as etapas de fermentação e maturação. A fermentação tem duração de aproximadamente 7 dias e tem como característica o desenvolvimento da acidificação e formação de cor (PARDI et al., 2006). Durante esta fase, ocorre a produção de ácido láctico pelas bactérias ácido lácticas (BAL) homofermentativas que contribuem para a inibição de bactérias indesejáveis e com a perda de água, reduzindo a atividade de água. Na maturação ocorre uma maior desidratação do produto, assim como, hidrólise enzimática das proteínas e gorduras, gerando compostos que desempenham importante papel nas características sensoriais dos embutidos (LÜCKE, 1994). Nas duas etapas a sala de cura com controle de temperatura, umidade relativa e velocidade do ar, tem importância singular (SHIMOKOMAKI et al., 2006).

A fermentação é a grande responsável pelo desenvolvimento do *flavor* característico e a utilização de culturas iniciadoras tem sido realizada para melhorar a conservação do produto, através da redução do pH pela produção de ácidos orgânicos e produção de substâncias antimicrobianas, como bacteriocinas. Além disso, é responsável pelo desenvolvimento do sabor ácido característico de produtos fermentados e acelerar o processo de maturação. Várias espécies microbianas têm sido utilizadas na elaboração de produtos cárneos fermentados, com o objetivo de fornecer produtos com boa qualidade sanitária (BERNARDI; GOLINELI; CONTRERAS-CASTILLO, 2010).

Portanto, o processo fermentativo é uma forma de conservação dos produtos cárneos fermentados, os quais não precisam ser armazenados em temperatura de refrigeração, pois possuem boa estabilidade pela combinação de diversos fatores que atuam como obstáculos ao crescimento microbiano indesejável (ARNAU et al., 2007).

Os embutidos curados e fermentados condizem com as tendências atuais de consumo da população, devido ao fato de serem prontos para o consumo, terem caráter nutritivo, serem fáceis de conservar, podem ser utilizados individualmente ou para acompanhamento em preparações culinárias e, apresentam-se de variadas formas e sabor (MACEDO et al., 2008).

Apresentam também variações na sua composição, como por exemplo, diferenças na concentração de cloreto de sódio adicionado. Variações na umidade e atividade de água resultam das diferenças nos níveis iniciais dos ingredientes adicionados, bem como na composição final do produto (OLESEN; MEYER; STAHNKE, 2004).

São produtos conhecidos como salames, aqueles elaborados com carne de suíno, bovino ou mistura de ambos. Caracterizam-se por seu sabor forte e picante, produzido como consequência da fermentação bacteriana, que dá lugar o ácido láctico e outros compostos, com variação de pH entre 4,6 e 5,2 (PRICE; SCHWEIGERT, 1994). A acidificação da carne moída, durante a produção de embutidos secos, confere ao produto fatiabilidade, segurança, vida útil, aroma e gosto característicos (BUCKENHÜSKES, 1993).

Normalmente, são classificados como secos ou semi-secos, embora alguns possam ser considerados intermediários. Embutidos secos ou do tipo italiano contêm de 30 a 40% de umidade, não são defumadas ou processadas a quente e são consumidas geralmente sem cozimento (JAY, 2005).

O uso de bactérias iniciadoras na produção desses embutidos, visa acelerar os processos fermentativos, conferir melhor sabor e aroma, aumentar a vida útil e padronizar os embutidos fermentados. Também, a utilização de barreiras físicas e químicas para impedir o crescimento de micro-organismos deteriorantes e patogênicos pode ser inserida no contexto (TALON; LEROY; LEBERT, 2007).

### 3.2.1.1 Salame tipo Italiano

No Brasil, são produzidos em maior quantidade os salames tipo Italiano, Milano, Húngaro, Dinamarquês, Alemão e Salaminho (BRESSAN; PÉREZ, 2001). Regulamentado pela Instrução Normativa nº 22/2000, salame tipo Italiano, é definido como o produto cárneo industrializado, elaborado de carnes suínas ou suínas e bovinas, toucinho, adicionado de ingredientes, moídos em granulometria média entre 6 a 9 mm, embutidos em envoltórios naturais ou artificiais, curado, defumado ou não, fermentado, maturado e dessecado por tempo indicado pelo processo de fabricação (BRASIL, 2000).

Os ingredientes obrigatórios para fabricação do salame tipo italiano são: carne suína (mínimo de 60%), toucinho, sal, nitrito e/ou nitrato de sódio e/ou potássio. Opcionalmente, é aceita a adição de carne bovina, leite em pó, açúcares, maltodextrinas, proteínas lácteas, aditivos intencionais, vinho, condimentos, aromas e especiarias e substâncias glaceantes (revestimento externo). Como coadjuvantes de tecnologia, é permitido o uso de culturas iniciadoras (*starter*) (BRASIL, 2000).

A legislação brasileira estabelece ainda parâmetros físico-químicos (Tabela 1) e microbiológicos (Tabela 2) para salame tipo Italiano.

Tabela 1 - Parâmetros físico-químicos para salame tipo Italiano

Parâmetros	%
Umidade (máx.)	35
Proteína (mín.)	25
Gordura (máx.)	32
Carboidratos (máx.)	4
Atividade de água (máx.)	0,90
Fonte: (BRASIL, 2000)	

Tabela 2 - Parâmetros microbiológicos para salame tipo Italiano

Micro-organismos	Limite (Máx.)
Coliformes a 45°C /g	10 <sup>3</sup> UFC/g
<i>Staphylococcus</i> coagulase positiva /g	5 x 10 <sup>3</sup> UFC/g
<i>Salmonella</i> sp/25g	Ausência /25g

Fonte: (BRASIL, 2001)

### 3.2.1.1 Ingredientes Obrigatórios

#### Carne

A carne suína (mínimo 60%) e a carne bovina a serem usadas devem obedecer as características gerais ideais para o produto como grau de maturação, pH, cor e capacidade de retenção de água (PARDI et al., 2007).

É necessário utilizar carne maturada com pH entre 5,5 e 5,7, para reduzir os defeitos de fabricação e dificultar a ação de bactérias que se desenvolvem em maiores valores de pH. O valor inicial de pH de 5,6 fica próximo ao ponto isoelétrico das proteínas, sendo o ponto em que a capacidade de retenção de água é mínima, liberando maior quantidade de solução hidropoteica durante a fragmentação (SCHIFFNER; OPPEL; LÖRTZING, 2005).

De acordo com Terra (2005), a carne magra recomendada na fabricação de salames, é a oriunda de animais velhos, porque estes apresentam menor quantidade de água nos tecidos e coloração mais acentuada. É comum o uso de carnes congeladas, pois evita o desenvolvimento de bactérias indesejáveis.

#### Gordura

A gordura suína, ou toucinho, é a gordura saturada do tecido adiposo, da região dorso-abdominal do animal, entre o músculo *Longissimus dorsi* e a pele (OSPINA-E et al., 2010).

A gordura desempenha um papel importante na manutenção da qualidade dos embutidos fermentados, especialmente referentes à textura, suculência e sabor que ocorre devido ao alto teor de ácidos graxos saturados (MARIANSKI; MARIANSKI, 2009).

A seleção da gordura requer cuidados especiais, tendo em vista seu estado

de conservação, como também a cor, odor, sabor e consistência, características estas que variam de acordo com a espécie animal, raça, idade, alimentação, grau de engorda e estado geral do animal de que procede (PARDI et al., 2007). É importante a utilização de toucinho fresco e refrigerado ou congelado, a fim de reduzir as reações oxidativas dos lipídios, para a conservação do embutido (SCHIFFNER; OPPEL; LÖRTZING, 2005).

A oxidação dos lipídeos nos músculos é iniciada em nível de membranas celulares, que são ricas em ácidos graxos poli-insaturados. O grau e a extensão deste processo são influenciados por fatores pré-abate como alimentação e estresse hídrico, e pós-abate como pH, temperatura da carcaça, encolhimento pelo frio, desossa mecânica e moagem. Estes fatores, causam a compartimentalização celular e provocam desnaturações proteicas, com a liberação do ferro cataliticamente ativo da mioglobina. A interação do ferro e de outros agentes pró-oxidantes com os ácidos graxos polinsaturados, resulta na geração de radicais livres e na propagação das reações oxidativas. A extensão destas reações pode comprometer a qualidade final dos produtos processados durante a vida útil do produto. Por isso, é importante tomar medidas durante o processo tecnológico, como a manutenção de temperaturas controladas e ausência de luz (SHIMOKOMAKI et al., 2006).

### **Sal (NaCl)**

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

Para consumo humano, o sal é o cloreto de sódio cristalizado extraído de fontes naturais. Deve ser cristais brancos, de granulometria uniforme, inodoro, ter sabor salino-salgado próprio. Não pode apresentar sujidades, micro-organismos patogênicos ou impurezas. O sal constitui ingrediente essencial, no desenvolvimento de propriedades funcionais e sensoriais. Em produtos cárneos, controla a textura, interferindo nas ligações da água com as proteínas miofibrilares, confere sabor, estabiliza a cor e protege contra o desenvolvimento microbiano (INSUMOS, 2013).

O sal também pode ter efeitos oxidativos indesejáveis nos produtos cárneos

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

O sal é extensivamente usado devido aos benefícios que confere, tais como: a preservação e extensão da vida útil, prevenção de crescimento dos microorganismos, redução da atividade de água, controle da ação enzimática, facilidade para a extração de certas proteínas, contribuição para uma fermentação desejável, (TOLDRA, 2007).

O sal inibe o desenvolvimento de células microbianas pela ocorrência da plasmólise. A quantidade de cloreto de sódio e água é igual em ambos os lados da membrana celular, pois a água consegue passar em ambas as direções da membrana. Quando em uma solução salina de 5% no interior da célula, a concentração de água é maior, e por difusão a água vai da zona em que sua concentração é elevada para a zona de concentração baixa, ou seja, a água sai das células, deixando-as com aspecto contraído (ZEUTHEN; BOGH-SORENSEN, 2003).

As concentrações de NaCl de 1,0 - 1,5% resultam em produtos cárneos emulsificados instáveis e concentrações de 1,5 - 2,5% de NaCl são necessários para a formulação de produtos aceitáveis. As concentrações de NaCl dependem do pH do produto, da origem da carne e do tipo de produto. Entre 1,2 e 1,8% de NaCl fornecem liga adequada com pH elevado (6,0). Níveis reduzidos de NaCl têm resultado na diminuição da aceitabilidade do produto, devido a menor consistência e ao decréscimo de pontos na avaliação sensorial (PARDI et al., 2007).

O sal é adicionado nas formulações em concentrações de 2,5 a 3%, ocorrendo um aumento no produto dessecado. O NaCl em combinação com o nitrito de sódio (150ppm) com pH reduzido, forma um sistema inibidor, ou seja o sal potencializa as substâncias conservadoras, além de reduzir a atividade de água (VARNAN; SUTHERLAND, 1998).

### **Sais de cura**

Os sais mais utilizados são o nitrato de sódio ( $\text{NaNO}_3$ ) e o nitrito de sódio ( $\text{NaNO}_2$ ). Nitrito é o agente ativo na cura e todas as reações têm algum tipo de

relação com a química do nitrito. Entretanto, para produtos cárneos secos curados ou fermentados, o nitrato é requerido ao longo do processo de secagem para gradativamente gerar nitrito pelas bactérias nitrato redutoras (PEGG; SHAHIDI, 2004). Além da cura, utilizam-se nitrato e nitrito para o controle de vários microorganismos patogênicos e deteriorantes. Dentre os patogênicos, cita-se *Clostridium botulinum*, em razão de causar o botulismo, considerada a mais séria das intoxicações alimentares (CDC, 2016) .

Substâncias auxiliares são utilizadas como coadjuvantes de cura, tais como: açúcares, fosfatos, substâncias de natureza redutora como os ascorbatos e os eritorbatos. O ácido ascórbico, em associação com o nitrito previne o botulismo, além de ser agente redutor, antioxidante. Também reduz o estado de oxidação de muitos metais e a atividade catalítica. Os ascorbatos, além de contribuírem para a redução do nitrito residual, aceleram a formação da cor vermelha típica, e também inibem a síntese de nitrosaminas, substância a qual se atribuem propriedades carcinogênicas (SEBRANEK; BACUS, 2007; SINDELAR; MILKOWSKI, 2011).

Durante o processo de cura, o nitrito é convertido em ácido nitroso, que é reduzido a óxido nítrico (Figura 1). Este, por sua vez, converte a mioglobina em mioglobina nitrosa, pigmento vermelho, característico de produtos cárneos curados não cozidos. Com o aquecimento, a mioglobina nitrosa, forma um composto estável, o hemocromo, que é similar, porém com a porção globina desnaturada (ROÇA, 2005).

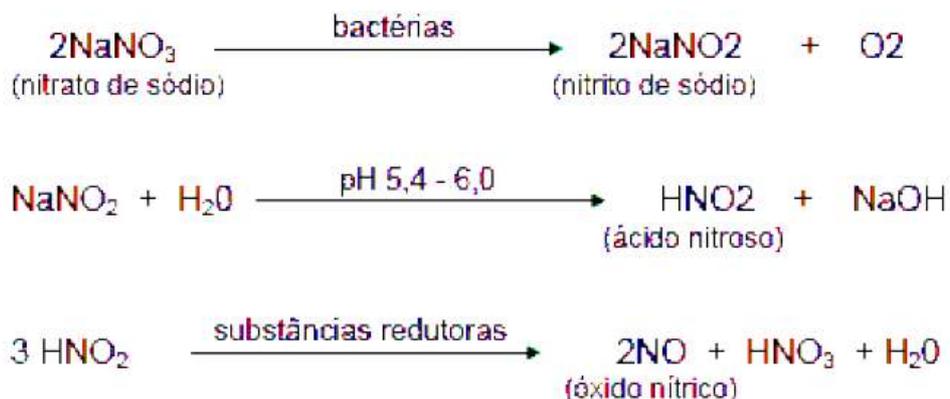


Figura 1 – Conversão de nitrato de sódio a nitrito de sódio até óxido nítrico. Fonte: FORREST et al, 1974.

As principais funções do nitrito nas carnes curadas são formação da cor rosa-avermelhada e sabor característico associado com carnes curadas, melhoramento

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

Grande parte do nitrito e nitrato desaparece durante a produção. Assim, estima-se que acima de 50% do nitrito adicionado é perdido em 24 horas e menos de 10% permanece depois de 7 dias. Desse modo, a quantidade de NO<sub>2</sub> consumida por uma pessoa em carnes curadas é muito menor que a quantidade adicionada (PARDI et al., 2007).

A legislação brasileira que regulamenta sobre o uso de aditivos em carnes e produtos cárneos, limita o uso de nitrito de sódio e/ou potássio em 150ppm, e o de nitrato de sódio e/ou potássio em 300ppm, ambos expressos como quantidade residual máxima (BRASIL, 1998).

### **Culturas iniciadoras**

Antes da década de 60, a fermentação era resultado da ação dos micro-organismos presentes naturalmente na carne ou através de contaminações, sobre os açúcares existentes nas formulações, com produção de ácido láctico. Com isso, os padrões de qualidade do produto não se mantinham uniformes. A partir de 1961, culturas puras de micro-organismos (bactérias, leveduras e mofos), denominadas culturas iniciadoras ou *starter*, passaram a ser utilizadas, resultando em produtos com melhor qualidade (TERRA, 2005).

As culturas iniciadoras, geralmente, são compostas por mais de um tipo de micro-organismo. São adicionadas nos produtos e desenvolvem-se a partir de processo fermentativo, com o objetivo de somar suas ações e obter um produto final de melhor qualidade (SIMONOVÁ et al., 2006).

Para que uma cultura seja selecionada como cultura iniciadora, esta precisa apresentar algumas características como: não ser patogênica, tóxica ou alergênica; possuir fenótipo e genótipo estável; ser competitiva em condições típicas do

processo (tolerância ao sal, nitrito, pH baixo, atividade de reduzir a água e temperatura de processo) fornece alguns benefícios tecnológicos (acidificação, preservação, formação do *flavor*, o que contribui com a segurança e qualidade); e ser identificável por métodos específicos (HAMMES; HERTEL, 1998).

As culturas iniciadoras fazem parte indissociável da tecnologia de fabricação de produtos cárneos fermentados, sendo constituídas por numerosas espécies de micro-organismos. As vantagens de sua utilização são tanto para o consumidor quanto para o fabricante. Dentre elas, inibição dos micro-organismos deteriorantes e patogênicos, redução do tempo de fabricação e fermentação, homogeneidade do produto, controle do metabolismo bacteriano melhorando as características sensoriais, facilidade de uso tecnológico e aumento do valor nutricional (ESSID et al., 2007).

As bactérias ácido lácticas (BAL), mais comumente utilizadas em produtos cárneos fermentados, são responsáveis pela rápida fermentação, que conduzem a uma diminuição do pH e, assim, a prevenção da deterioração. A acidificação abaixo do ponto isoelétrico das proteínas musculares, promove a diminuição da capacidade de retenção da água, facilitando a dessecação do produto, reduzindo o tempo de maturação (MIRALLES; FLORES; PEREZ-MARTINEZ, 1996).

*Lactobacillus plantarum* pertence ao grupo de BAL, é homofermentativa, Gram-positiva e catalase-negativa. Sawitzki et al. (2008), observaram que *L. plantarum* AJ2 se desenvolveu em pH entre 3,9 e 9,6 a 37 °C. Essas características de *L. plantarum* são apreciadas, pois a utilização de lactobacilos homofermentativos na produção de embutidos cárneos é desejável, uma vez que produzem somente ácido láctico, enquanto que os heterofermentativos produzem, além do ácido láctico, ácido acético, etanol e dióxido de carbono (GEISEN; LUCKE; KROCKEL, 1992). A formação desses compostos pode prejudicar a qualidade do embutido, em virtude de que a alta concentração de ácido acético contribui para o desenvolvimento de *flavor* desagradável e a alta quantidade de dióxido de carbono produz indesejáveis orifícios no produto (BUCKENHÜSKES, 1993).

Além de BAL, estafilococos coagulase negativa (ECN), tais como *Staphylococcus xylosus* e *Staphylococcus carnosus*, são utilizados para melhorar o sabor de embutidos cárneos fermentados (BERDAGUÉ et al., 1993). *S. xylosus* é a espécie dominante de ECN em salame italiano (COCOLIN et al., 2001; ROSSI et al., 2001).

As características fisiológicas e propriedades tecnológicas que *S. xylosus* possui são importantes para produtos cárneos fermentados como a produção de catalase, não produção de coagulase, formação de ácido a partir de glicose, sacarose, maltose, manose, lactose e xilose. Cerca de 80% das linhagens reduzem nitrato, de 40 a 70% possuem atividade lipolítica, a maioria possui atividade proteolítica, crescimento em 7,5%, 10% e 15% de NaCl e em temperaturas de 15 e 45°C (KLOSS; SCHLEIFER, 1986).

A atividade da enzima nitrato-redutase de *S. xylosus* merece destaque, uma vez que a ação desta promove a formação e estabilização da cor. Outra característica importante é a produção de catalase por parte do micro-organismo. A catalase evita a formação de compostos lipídicos de sabor e aroma indesejáveis ao produto final. Ainda, são responsáveis pelo desenvolvimento de substâncias aromáticas e ácidos orgânicos que têm importante papel no desenvolvimento do *flavor* (LÜCKE, 2000; SIMONOVÁ et al., 2006).

ECN fazem parte do grupo de cocos Gram-positivo e catalase positiva (GCC<sup>+</sup>). São micro-organismos presentes naturalmente em produtos cárneos artesanais. Espécies GCC<sup>+</sup> predominantes em embutidos cárneos naturalmente fermentados pertencem aos gêneros *Staphylococcus* (Família *Staphylococcaceae*) e *Kokuria* (Família *Micrococcaceae*) (MAURIELLO et al., 2004; DROSINOS et al., 2005; ESSID et al., 2007; FIORENTINI et al., 2009).

Fiorentini et al. (2009) demonstraram que, *Staphylococcus xylosus* AD1 isolado de embutidos com fermentação natural, apresentou crescimento durante a fermentação, estabilidade no processo de liofilização e conservação, ausência de produção de enterotoxinas e viabilidade para aplicação como cultura iniciadora de forma simples ou associada com bactérias lácticas na elaboração de embutidos fermentados.

Atualmente, a maioria das culturas iniciadoras comerciais disponíveis para produtos cárneos, possui uma mistura de BAL (gêneros *Lactobacillus* e *Pediococcus*) e cocos Gram positivo e coagulase negativa (gêneros *Staphylococcus* e *Kocuria*) (CASTILHO, 2014). Esses grupos são responsáveis pelas reações microbianas que ocorrem simultaneamente durante a fermentação (TOLDRÁ, 2010).

## Conservantes naturais

Devido às percepções contraditórias quanto ao consumo de produtos cárneos fermentados curados utilizando sais de cura, os consumidores têm optado pelo consumo de produtos não curados ou orgânicos. Aromas ou especiarias naturais e extrato de salsa ou aipo foram frequentemente listados como ingredientes utilizados em substituição ao nitrato comercial, uma vez que são de origem vegetal e são fonte significativa deste composto (SEBRANEK; BACUS, 2007). Todos os produtos curados independente da fonte de nitrato/nitrito e ou nitrito, devem seguir os aspectos legais da legislação, quanto a adição dos mesmos aos produtos e suas respectivas quantidades.

Os vegetais são bem conhecidos como fonte de nitrato e contém concentrações elevadas entre 1500 - 2800ppm, como por exemplo aipo, alface e beterraba (NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES, 1982). Na forma de extratos vegetais ou em pó, estão disponíveis comercialmente e podem ser usados como ingredientes em alimentos naturais e orgânicos. A análise de alguns extratos de vegetais comercialmente disponíveis mostraram que cenoura, aipo, beterraba e espinafre contem 171ppm, 2114ppm, 2273ppm e 3227ppm de nitrato, respectivamente. Após 10 dias de armazenamento à temperatura ambiente, níveis de nitrato nestes extratos diminuiu 14 a 22%. Nitritos não foram detectados inicialmente, mas as concentrações de 128 a 189ppm de nitrito foram encontrados após 10 dias à temperatura ambiente, provavelmente resultante de uma redução bacteriana de nitrato, pois o nitrato a partir do momento que é reduzido a nitrito, passam a ter a função de conservantes do produto, lembrando que o nitrito é princípio ativo da conservação.(SEBRANEK; BACUS, 2007).

A cura natural da carne ocorre pela adição da fonte natural de nitrato que é reduzido a nitrito por culturas iniciadoras com capacidade nitrato-redutora. Este processo vem sendo melhorado ao longo do tempo e, pelo desenvolvimento de um extrato vegetal concentrado de aipo (*Apium graveolens* var. dulce), observou-se uma concentração elevada de nitrato, em cerca de 3% (SEBRANEK et al., 2012).

Desde os anos 50, aipo em pó tem sido usado em produtos à base de carne como um agente aromatizante e, culturas iniciadoras para fermentação de linguiças. No entanto, só no final dos anos 1990 que o conceito de combinar estes dois

ingredientes para criar um processo de cura "natural" foi desenvolvido (SINDELAR, et al., 2007b). Aipo em pó estava originalmente disponível em sua forma de nitrato, porém foi posteriormente pré-convertido em nitrito por alguns processadores (SEBRANEK; BACUS, 2007). Considera-se que o aipo em pó pré-convertido contém em torno de 10.000 a 15.000ppm de nitrito de sódio (SINDELAR et al., 2010). No entanto, a adição de pó de aipo a carne processada é geralmente limitada a 0,2 - 0,4% do peso da formulação, pois níveis mais elevados do que estes podem desenvolver sabores indesejáveis (SINDELAR et al., 2007a). Contém uma quantidade significativa de nitrato de ocorrência natural, mas se não utilizada em combinação com culturas nitrato-redutoras, esta não será a melhor fonte alternativa de nitrito, pois não produzirá um produto curado padrão. Alahakoon et al. (2015) consideram que pela ausência de pigmentos e um sabor suave o extrato de aipo não prejudica o sabor dos produtos cárneos.

### **Qualidade sensorial de salames**

Dentre as características da qualidade sensorial, o *flavor* é muito importante. Enquanto a rejeição dos produtos é influenciada pela aparência (cor) e textura respectivamente, o *flavor* é a característica que convence o consumidor a comprar o produto. A cor da carne curada típica, é associada à formação do pigmento heme óxido nítrico, estabilizado pela desnaturação do componente globina (TERRA; FRIES; TERRA, 2004).

O *flavor* típico do salame vem de um processo complexo, que envolve a fermentação dos carboidratos, proteólise, lipólise, oxidação lipídica, condimentos, sais de cura e outros. O papel desempenhado pela lipólise é importante, pois os ácidos graxos liberados servirão de substrato para as mudanças oxidativas responsáveis pelo desenvolvimento do aroma (SHIMOKOMAKI et al., 2006).

Os compostos aromáticos fundamentais ao *flavor* são derivados do metabolismo, provindos tanto das mudanças de lipídios, proteínas, fração de carboidratos, interações entre o músculo e o metabolismo microbiano, como por reações químicas. Proteínas e lipídios estão sujeitos à hidrólise catalisada por enzimas da carne (tecido muscular e adiposo), facilitando o metabolismo de peptídeos, aminoácidos e ácidos graxos formados por micro-organismos (bactérias) (TERRA; FRIES; TERRA, 2004).

A fatiabilidade do produto cárneo ocorre em consequência da formação do gel, devido a acidificação que contribui para a desnaturação e geleificação das proteínas miofibrilares e liberação da água ligada, com a secagem (SCHIFFNER; OPPEL; LÖRTZING, 2005).

A formação da textura típica dos produtos cárneos fermentados inicia-se quando o desenvolvimento de BAL é favorecido pela presença de carboidratos no produto, promovendo a fermentação e consequente produção de ácidos (TERRA, 2005).

O salame deve conter uma consistência homogênea, capaz de resistir ao corte e ter fatiabilidade. Quando essas características não ocorrem, o produto apresenta crostas, buracos e massa sem consistência. Esses defeitos podem ser, consequência de embutimento sem a conveniente extração do ar ou um excesso de ventilação, secando rapidamente a parte externa, quando o ideal seria uma secagem lenta do meio interno para o externo. Se a amostra for pastosa ou mole, pode ter ocorrido defeito na escolha das matérias-primas, com pH alterado ou ainda a mistura de uma massa sem controle, fazendo com que a mesma perca o poder da emulsão (MASTROGIACOMO, 1983).

O processo de formação de liga é um processo físico-químico que envolve interações entre partículas de carne e gordura e proteínas liberadas durante a trituração e salga. O grau de ligação dependerá do nível de acidificação e do tempo de fermentação. À medida que os valores de pH reduzem (<5,3), o componente extraído da proteína atua na ligação entre as partículas de carne e gordura por meio da modificação de sua forma sol para gel, aumentando a consistência do produto (SERVIÇO BRASILEIRO DE RESPOSTAS TÉCNICAS, 2008).

A presença de ácidos promove a redução do pH até valores próximos da faixa em que se situa o ponto isoelétrico da maioria das proteínas da carne (pH 5,3 a 5,5), condição em que a capacidade de ligação da água pelas proteínas é reduzida (PINTO; PONSANO; HEINEMANN, 2001).

As moléculas de água, em pH neutro, são carregadas eletricamente, contendo cargas positivas e negativas, as quais encontram-se ligadas com os grupos reativos das proteínas miofibrilares, das proteínas sarcoplasmáticas e o colágeno da carne. A redução do pH, atingindo o ponto isoelétrico das proteínas da carne, é responsável pela diminuição do número de grupos reativos disponíveis para a ligação da água com as proteínas, havendo igualdade entre o número de grupos

reativos carregados positiva e negativamente, o que promove a repulsão entre as moléculas de água e proteínas (SILVA; JUNQUEIRA; SILVEIRA, 1997). Dessa forma, as moléculas proteicas aproximam-se uma das outras, havendo a formação de novas ligações que estabilizam a estrutura cárnea. Esse processo é caracterizado pelo encolhimento de produto e perda de água, sendo denominado sinérese (LIMA, 2009).

A influência dos ácidos produzidos promove uma agregação mais intensa e mais estável das proteínas, formando uma estrutura firme. Paralelamente, a diferença entre a atividade de água do produto e a umidade relativa da câmara de maturação faz com que haja perda de água por evaporação. Durante a fermentação e a secagem, devido à perda de água e a desnaturação proteica, ocorre substituição das ligações inicialmente instáveis por ligações de condensação estáveis e o sistema proteico viscoso inicial é transformado de seu estado em estado de gel coloidal. Essa estrutura é estabilizada por ligações ramificadas, proporcionando ao produto características de elasticidade e fatiabilidade (PINTO; PONSANO; HEINEMANN, 2001).

## **4 MATERIAL E MÉTODOS**

### **4.1 Material**

Na elaboração do produto as carnes inspecionadas de bovino, suíno e toucinho foram adquiridas no comércio local da cidade de Pelotas/RS.

O extrato de aipo (pó), obtido do vegetal *Apium graveolens* L., denominado de aipo foi fornecido pela empresa NATUREX Ingredientes Naturais Ltda., origem Suíça).

As culturas iniciadoras nativas SxLp (*Staphylococcus xylosus* AD1 e *Lactobacillus plantarum* AJ2) estavam armazenadas à – 80 °C, no Laboratório de Microbiologia de Alimentos/UFPel.

Conservante (sal de cura comercial - B002) e os condimentos para salame (B181) foram fornecidos pela empresa Bremil e antioxidante da empresa Kraki.

### **4.2 Delineamento experimental**

O experimento consistiu de duas repetições biológicas com quatro tratamentos cada réplica. Os tratamentos consistiram de: (T1) adição de culturas iniciadoras nativas e extrato de aipo; tratamento 2 (T2) sem adição de culturas iniciadoras nativas e extrato de aipo; tratamento 3 (T3) adição de culturas iniciadoras nativas e conservante comercial; tratamento 4 (T4) sem adição de culturas iniciadoras nativas e conservante comercial. Cada tratamento foi composto por 42 peças de salame de aproximadamente 290 g cada, totalizando 12 kg de massa por tratamento. Para as análises físico-químicas, a cada tempo ou dias de coleta, duas peças de cada tratamento foram coletadas, aleatoriamente (16 peças) e analisadas

em duplicatas. Para as análises microbiológicas foi coletada uma peça de cada tratamento e analisadas em duplicata (8 peças) nos tempos ou dias 0, 7, 14, 21 e 26, bem como a análise sensorial realizada no tempo ou dia final de maturação.

### **4.3 Fermentação e liofilização das culturas iniciadoras nativas**

Dada a importância às culturas iniciadoras, (SAWITZKI et al., 2007) e (FIORENTINI, A. M. et al., 2009), isolaram e caracterizaram molecularmente, a partir de embutidos artesanais na região Sul do Brasil, *Lactobacillus plantarum* AJ2 e *Staphylococcus xylosus* AD1, respectivamente e, confirmaram a possibilidade de seu uso como culturas iniciadoras na produção de salame tipo Milano. Tais culturas foram utilizadas na realização deste trabalho. Estas se encontravam armazenadas a -80 °C. Para a obtenção da massa celular necessária para a produção de salame, foi retirada uma alçada da cultura estoque em ágar TSA (Trypticase Soy Agar) de *Lactobacillus plantarum* AJ2 e inoculado em tubos contendo 9 mL do caldo MRS (Man Rogosa and Sharpes) (Merck, Darmstadt, Germany). O mesmo procedimento foi realizado com *Staphylococcus xylosus* AD1, porém inoculado em caldo BHI (Brain heart infusion) (Merck, Darmstadt, Germany). Ambos foram submetidos a incubação a 37 °C por 12 horas. Após este período de incubação, confirmado o crescimento visualmente através da turvação do meio, o volume de caldo contido no tubo foi transferido para frascos contendo 900 mL de seus respectivos caldos, seguindo para incubação (Agimax modelo AG - 45). A temperatura foi mantida em 37 °C com agitação constante de 100 oscilações/minuto, durante 8 horas, condições determinadas em testes preliminares. Para a obtenção da massa celular o volume dos frascos foi aliquotado para tubos de Falcon estéreis e centrifugados a 7.500 rpm durante 7 min a 4°C (Eppendorf, modelo Centrifuge 5430 R). Em seguida, foi realizado o descarte do sobrenadante e no tubo de Falcon contendo a massa celular foi efetuada a adição de 0,2mL de crioprotetor (leite em pó 10%), e passado para vial, seguindo para ultra-freezer e mantidos a -80 °C, até o momento da liofilização. A liofilização (Liotop, Liobras, Brasil), foi realizada por um período de 24 horas. Efetuou-se a contagem em placa contendo o meio específico para cada cultura, para determinar a concentração de células viáveis. O armazenamento das culturas liofilizadas se deu a -80 °C, até o uso na preparação do salame.

#### 4.4 Elaboração de salame tipo italiano

O salame foi produzido no laboratório de Processamento de produtos de origem animal da Universidade Federal de Pelotas sob condições tradicionais de acordo com a legislação vigente, matérias-primas selecionadas e boas práticas de fabricação (Figura 2). A carne suína, bovina e o toucinho resfriados, foram picados em pedaços de aproximadamente 4 a 5 cm e acondicionados em sacos plásticos com aproximadamente 2 kg cada saco para que o seu congelamento ocorresse o mais rápido possível a -18 °C.

Foram elaboradas quatro formulações correspondendo ao (T1) com culturas iniciadoras nativas SxLp (*Staphylococcus xylosus* AD1 e *Lactobacillus plantarum* AJ2) e com extrato de aipo; (T2) sem culturas iniciadoras nativas e com extrato de aipo; (T3) com culturas iniciadoras nativas SxLp e com sal de cura comercial; e (T4) sem culturas iniciadoras e com conservante comercial.

A formulação base consistiu-se de 70% de carne suína (pernil), 20% de carne bovina (dianteiro) e 10% de toucinho (costolombar). Os ingredientes foram sal (Diana) 2,7%, condimentos para salame (B181 Bremil) 0,50%, antioxidante (Kraki) 1,0%, leite em pó (Ninho Nestlé) 0,2%. Os citados a seguir foram adicionados, ou não, conforme o tratamento específico. Extrato de aipo (Naturex Ingredientes Naturais Ltda) 1,4%, sal de cura comercial (B002 Bremil) 0,3%, cultura iniciadora (*Staphylococcus xylosus* AD1) 0,0125%, cultura iniciadora (*Lactobacillus plantarum* AJ2) 0,0125%.

As carnes foram moídas separadamente em moedor de carne (Metvisa) com disco de 6mm e o toucinho moído em disco de 8mm. Após esta etapa foi realizada a mistura das carnes e toucinho em misturadeira (Skymesen). Assim que estava homogeneizada a massa, foi retida uma amostra da mesma para em seguida serem realizadas análises microbiológicas. Seguindo a etapa de produção, foi adicionado os condimentos, um por vez e, distribuídos por toda a superfície da massa e misturado novamente. Quando a temperatura da massa atingiu 18 °C, as culturas iniciadoras liofilizadas, na concentração de  $10 \log \text{ UFC.g}^{-1}$ , foram ressuspensas em água ultra pura a temperatura ambiente por 30 min e, após uma pré-homogeneização da massa com os ingredientes para evitar o contato direto das culturas com os ingredientes, deu-se a sua adição.

Após o descanso da massa, por 2 horas a temperatura de 5 °C (Figura 3), a mesma foi embutida em tripas de colágeno com calibre de 50mm de diâmetro (Global Casing IMP E EXP, Ucrânia), previamente hidratadas em água tépida e adicionado 1% de sal por 10 min, usando uma embutideira (Malta). As peças de salame foram moldadas e amarradas manualmente, pesando aproximadamente 250 a 300g cada peça, e etiquetadas.

Ao término de cada batelada de massa, foram retiradas amostras dos diferentes tratamentos, para análises do tempo 0 (T0) ou primeiro dia de produção, como contagem de BAL e ECN, determinação de pH, acidez, umidade,  $a_w$  e peso.

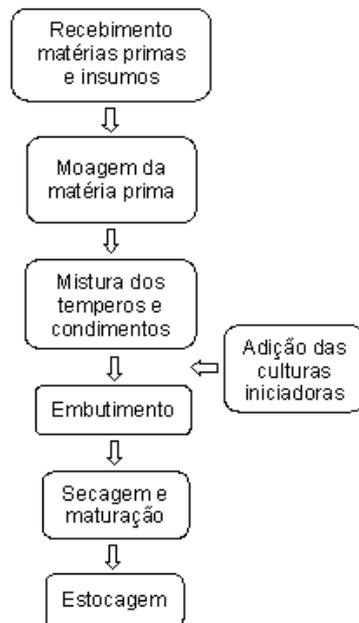


Figura 2 - Fluxograma de produção do salame tipo italiano.

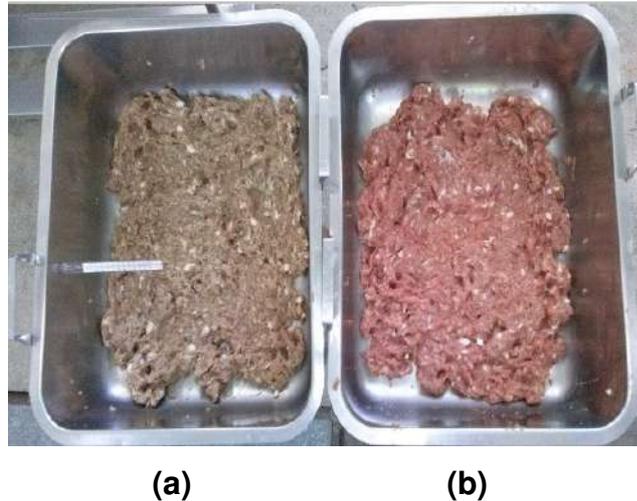


Figura 3 – Reações de cura na massa base da elaboração de salame contendo sal de cura comercial (a) e massa contendo extrato de aipo (b).

#### **4.5 Fermentação /Maturação do Salame Tipo Italiano**

Após identificadas, as amostras de salame foram penduradas em varas de inox para a sua sustentação, armazenados em câmara de maturação com variações de temperatura de 14 a 15 °C, umidade do ar de 76 a 79% e velocidade do ar entre 0,2 a 0,5 m/s, respectivamente, permanecendo nestas condições até atingir a atividade de água menor que 0,90, definindo o término da maturação.

#### **4.6 Análises físico-químicas**

As análises físico-químicas de pH, acidez,  $a_w$ , perda de peso, nitrito, nitrato, nitrito residual, cor, textura, TBARS e composição centesimal foram realizadas conforme os métodos descritos por AOAC (2012).

##### **4.6.1 Determinação do pH**

A determinação do pH das amostras de salame, foi realizada nos dias 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 14, 21 e 26 de acordo com o método descrito pela (AOAC, 2012). Aproximadamente 10g de amostra foram pesadas em um frasco e homogeneizada em 100 mL de água destilada agitando primeiramente manualmente e, depois com agitador magnético, até que as partículas ficassem uniformemente suspensas. O líquido foi utilizado para determinação do pH com leitura em pHmetro (Hanna 1 A,

Brasil) .

#### 4.6.2 Acidez

A acidez foi determinada por titulometria nos dias 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 14, 21 e 26 de acordo com o método descrito pela AOAC (2012). Para análise de acidez, 25 mL da solução de pH, foram retirados com auxílio de pipeta volumétrica (25 mL) e transferidos para erlenmeyer de 250 mL, adicionado algumas gotas do indicador fenolftaleína 1% (m/v) e, como titulante utilizou-se NaOH 0,001 M. O resultado foi expresso em percentual de ácido láctico, conforme a fórmula seguinte:

$$\%ac.lático = \left( \frac{Vgasto.fc.0,01.100}{(Pa/4)} \right) .0,09$$

Onde;

*Vgasto* = Volume gasto do titulante

*fc* = Fator de correção da solução titulante

0,01 = M da solução titulante

*Pa* = Peso amostra

0,09 = Conversão em ácido láctico

#### 4.6.3 Atividade de água ( $a_w$ )

A atividade de água ( $a_w$ ) foi determinada utilizando-se medidor de atividade de água (Novasina AG, Tecnal, Switzerland), a temperatura de 25 °C, nos dias 1, 3, 5, 7, 14, 21 e 26.

#### 4.6.4 Perda de peso

A perda de peso foi determinada pela relação entre a massa (peso) do salame obtida logo após seu preparo, e a massa (peso) após 1, 2, 3, 4, 5, 7, 14, 21 e 26 dias de maturação. As amostras foram pesadas individualmente, em balança analítica (Shimadzu, AUY 220, Brasil).

#### **4.6.5 Nitrito e Nitrato**

A determinação de nitrito e nitrato das amostras foi realizada no tempo 0 e nitrito residual aos 26 dias, conforme Instrução Normativa nº 20/99 - MAPA (BRASIL, 1999).

#### **4.6.6 Cor**

A cor dos salames, no produto final, foi obtida através dos parâmetros L, a\* e b\*, com medidas realizadas com colorímetro (Minolta CR 300, Japão). As amostras de salames foram fatiadas e colocados em placas de petri de vidro para facilitar a leitura. O parâmetro L\* indica a luminosidade e a\* e b\* são as coordenadas de cromaticidade, na qual L\*, varia de 0 (preto) a 100 (branco), a\*, varia do verde (-) ao vermelho (+) e b\*, varia do azul (-) ao amarelo (+). Foram realizadas leituras em 2 pontos da superfície de 3 fatias (15 mm de espessura) para cada amostra.

#### **4.6.7 Textura - Força de cisalhamento**

A textura, avaliada pela força de cisalhamento, foi realizada no produto final com auxílio de um texturômetro (TA.TX Plus Texture Analyzer). As amostras de salames foram cortadas em rodela: 5 rodela de cada amostra de 2 cm de espessura cada rodela e colocadas no texturômetro.

#### **4.6.8 TBARS**

Para a determinação das substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) foram adaptadas as metodologias propostas por Raharjo, Sofos e Schmidt (1992) e Yildiz-Turp e Serdaroglu (2010). Sendo pesadas, em tubos de Falcon, 3g de cada amostra, seguindo com adição de 18 mL da solução de ácido tricloroacético 5% (m/v) e 0,5 mL da solução de BHT (Butil hidróxi tolueno) 0,15% (m/v). A mistura foi homogeneizada por 1 minuto em agitador vórtex (ATS 100 – Arsec – SP, Brasil), e em seguida foi centrifugada a 7500 rpm por 6 minutos a 4 °C (Eppendorf, modelo Centrifuge 5430 R), retirado o sobrenadante com auxílio de pipeta e passado para balão volumétrico de 25 mL. O volume do balão de 25 mL foi completado com ácido

tricloroacético 5% e a solução foi misturada. Foram retirados 2 mL da solução do balão, aos quais foram adicionados 2 mL de solução de ácido tiobarbitúrico 0,08M (m/v) em solução de ácido acético 50%, em tubo de ensaio. Os tubos foram fechados e colocados em banho-maria a 80 °C por 30 minutos. Após resfriamento (10 minutos em água a temperatura ambiente), foi realizada a leitura da absorbância em espectrofotômetro (SP 220, Biospectro) a 531 nm. A absorbância lida foi multiplicada pelo fator de conversão 7,8 de mg de malonaldeído por quilograma de produto. Para a amostra considerada como branco, foram seguidas todas as etapas, porém sem adição da amostra de embutido. O resultado foi expresso em miligramas de malonaldeído por quilograma de amostra.

#### **4.7 Composição centesimal do salame tipo italiano**

A composição centesimal dos salames foi determinada ao final da maturação dos salames (26 dias), segundo os métodos descritos na (AOAC, 2012).

##### **4.7.1 Determinação do Percentual de Umidade**

Para a análise do percentual de umidade dos salames, primeiramente higienizou-se as cápsulas de alumínio e colocou-se para secar na estufa a 105 °C durante no mínimo 2h, com objetivo de eliminar qualquer interferência na análise. Após, as cápsulas foram resfriadas em dessecador permanecendo neles até a utilização.

Da amostra previamente preparada, foram pesados em balança analítica, 5g na cápsula de alumínio tarada, utilizando o auxílio de uma tenaz para evitar o contato com a cápsula que poderia gerar interferência nos resultados. A mesma foi colocada em estufa com temperatura controlada em 105 °C durante 6 horas. Posteriormente, a cápsula com a amostra dessecada foi colocada para resfriamento em dessecador até atingir a temperatura ambiente, sendo então pesada. Após, a cápsula retornou à estufa por mais 2h, sendo então novamente resfriada em dessecador e pesada. A operação foi repetida até a obtenção do peso constante.

O percentual (%) de umidade foi calculado conforme a equação (1):

$$\frac{100 \times N}{P} = \% \text{ Umidade}$$

Sendo: N - perda de massa em g

P - peso inicial da amostra em g

#### 4.7.2 Determinação do Percentual de Proteína – Método Kjeldahl

Da amostra previamente preparada, foram pesados em balança analítica 0,2g, em papel manteiga. O papel com a amostra foi transferido para um tubo de digestão, juntamente com 0,7g da mistura catalítica e 10 mL de ácido sulfúrico. Os tubos foram colocados no digestor e a temperatura ajustada manualmente, sendo primeiramente submetido a 150 °C/ 1h, seguido de 250 °C/1h e por fim a 350 °C, até completa digestão. Após, o equipamento foi desligado e os tubos mantidos no digestor até completo resfriamento. Para destilação, foi adicionado aproximadamente 15 mL de água destilada no tubo para dissolver a amostra, sendo transferido para o tubo de destilação. Em um erlenmeyer foi colocado 10 mL de ácido bórico 3 % e 3 gotas de indicador misto, a fim de coletar a amostra destilada. A amostra coletada foi titulada com ácido clorídrico 0,1 N, e o conteúdo de proteínas expresso em porcentagem através da equação abaixo:

$$\text{Proteína total (\%)} = \frac{V \times f \times 0,0014 \times 6,25 \times 100}{P(g)}$$

Onde:

V = volume gasto de HCl 0,1N

f = fator do HCl 0,1N

0,0014 = miliequivalente grama do nitrogênio

6,25 = fator de conversão geral do nitrogênio em proteína

P = peso da amostra em gramas

#### 4.7.3 Determinação do Percentual de Gordura – Extração direta em Soxhlet

Da amostra previamente preparada foram pesados em balança analítica 5g, em papel de filtro que é transferido, juntamente, com a amostra para o

cartucho de Soxhlet (Quimis, Q – 308-26B, Brasil). Os balões utilizados para a extração foram colocados em estufa a 105 °C, durante no mínimo 2h, com objetivo de eliminar qualquer interferência na análise. Posteriormente, foram resfriados em dessecador até atingir a temperatura ambiente, sendo então pesados. Nos balões foram colocados 200mL de éter de petróleo e então, foi acoplado ao extrator juntamente com o tubo extrator contendo o cartucho. Iniciada a extração, foi controlada a temperatura da placa de aquecimento de forma que o gotejamento manteve-se constante, em torno de 4 a 5 gotas por segundo. Após, no mínimo 6 horas de extração, o éter foi destilado e o balão com o resíduo foi colocado na estufa a 105 °C durante 1 hora e 30 min., sendo então, transferido para o dessecador até atingir a temperatura ambiente, para então ser pesado.

O percentual (%) de gordura foi calculado conforme a equação (2):

$$\frac{100 \times N}{P} = \% \text{ Gordura}$$

Sendo: N – peso da gordura em g

P - peso inicial da amostra em g

#### 4.7.4 Determinação do Percentual de Cinzas

Para a análise do percentual de cinzas dos salames, primeiramente, higienizou-se as cápsulas de porcelana e colocou-se na mufla (Quimis, Q. 318.24, Brasil) a 550 °C, durante no mínimo 1 h, com objetivo de eliminar qualquer interferência na análise. Após, as cápsulas foram resfriadas em dessecador permanecendo neles até a utilização. Da amostra previamente preparada foram pesados em balança analítica 5g na cápsula tarada. A mesma foi colocada em mufla durante 6 horas a 550 °C. Posteriormente, a cápsula com a amostra incinerada foi colocada para resfriamento em dessecador, até atingir a temperatura ambiente, sendo então pesada.

O percentual (%) de cinzas foi calculado conforme a equação (3):

$$\frac{100 \times N}{P} = \% \text{ Cinzas}$$

Sendo: N – peso das cinzas em g

P – peso inicial da amostra em g

#### **4.8 Informação nutricional do produto: salame tipo italiano (T1)**

A tabela com informações nutricionais de salame tipo Italiano com culturas iniciadoras nativas e extrato de aipo (T1), foi elaborada de acordo com as seguintes resoluções: Resolução RDC nº 360, de 23 de dezembro de 2003 - Aprova Regulamento Técnico sobre Rotulagem Nutricional de Alimentos Embalados, tornando obrigatória a rotulagem nutricional e Resolução RDC nº 359, de 23 de dezembro de 2003 - Aprova Regulamento Técnico de Porções de Alimentos Embalados para Fins de Rotulagem Nutricional.

#### **4.9 Análises Microbiológicas**

As análises microbiológicas foram realizadas nas amostras segundo recomendação de APHA (2002), para bactérias ácido lácticas, estafilococos coagulase negativa, coliformes a 45 °C , estafilococos coagulase positiva, e *Salmonella* spp. A contagem de BAL e ECN foi realizada na matéria-prima (carnes) e nos salames nos dias 0, 7, 14, 21 e 26 durante a maturação. As análises para determinar a presença dos patógenos foram realizadas aos 26 dias de maturação. Os resultados foram expressos em unidades formadoras de colônias por grama de amostra (Log UFC/g) ou para coliformes 45 °C número mais provável por grama de amostra (Log NMP/g) e para *Salmonella* spp. ausência ou presença em 25g.

##### **4.9.1 Bactérias ácido lácticas (BAL)**

Cada unidade amostral de 25g foi pesada em saquetas estéreis (Seward *stomacher*<sup>®</sup> 400 filter bags) e homogeneizada em *stomacher* (Interscience 78860 St Nom – France) por 1 minuto com 225mL de peptona de caseína 0,1% (Himedia). A seguir diluições decimais seriadas foram preparadas e semeadas na superfície do ágar De Man, Rogosa e Sharpe - MRS (Acumedia). As placas foram incubadas em jarra de anaerobiose a 37 °C por 72h. Após este período realizou-se a contagem de todas as colônias obtidas nas placas.

#### 4.9.2 Estafilococos coagulase negativa (ECN)

Cada unidade amostral de 25g foi pesada em saquetas estéreis (Seward stomacher<sup>®</sup> 400 filter bags) e homogeneizada em *stomacher* (Interscience 78860 St Nom – France) por 1 minuto com 225mL de peptona de caseína 0,1% (Himedia). A seguir diluições decimais seriadas foram preparadas e semeadas na superfície do ágar Sal Manitol - MSA (Kasvi). As placas foram incubadas a 37 °C por 48h. Após este período realizou-se a contagem de todas as colônias obtidas nas placas.

#### 4.9.3 Coliformes a 45°C

A determinação foi realizada utilizando-se a técnica do Número Mais Provável - NMP - em séries de três tubos. Cada unidade amostral de 25g foi pesada em saquetas estéreis (Seward stomacher<sup>®</sup> 400 filter bags) e homogeneizada em *stomacher* (Interscience 78860 St Nom – France) por 1 minuto com 225mL de peptona de caseína 0,1% (Himedia). As diluições decimais seriadas foram preparadas e inoculadas em tubos contendo Caldo Lauryl Sulfate Tryptose - LST (Oxoid). As culturas dos tubos com resultados presuntivos positivos (produção de gás) após 24 e 48h a 36 °C foram transferidas para caldo *Escherichia coli* - EC (Himedia) e incubados em banho-maria (Marconi MA – 127) a 44,5 °C por 24h, para confirmação da presença de coliformes a 45 °C.

#### 4.9.4 Estafilococos coagulase positiva

Cada unidade amostral de 25g foi pesada em saquetas estéreis (Seward stomacher<sup>®</sup> 400 filter bags) e homogeneizada em *stomacher* (Interscience 78860 St Nom – France) por 1 minuto com 225mL de peptona de caseína 0,1% (Himedia). As diluições decimais seriadas foram preparadas e semeadas na superfície do ágar Baird Parker - ABP (Himedia) suplementado com telurito de potássio a 1% (m/v) e emulsão de gema de ovo. As placas foram incubadas invertidas a 36 °C por 48h. As colônias suspeitas de cada amostra que se apresentavam negras com um halo de precipitação e um de transparência ao redor da colônia, foram selecionadas e

transferidas para Caldo Infusão Cérebro Coração - BHI (Acumedia) e incubadas a 36 °C por 24h para confirmação, através do teste de produção de coagulase.

#### **4.9.5 *Salmonella* spp.**

Vinte e cinco gramas de amostra foram pesadas em saquetas estéreis (Seward stomacher<sup>®</sup> 400 filter bags) e homogeneizadas em *stomacher* (Interscience 78860 St Nom – France) por 1 minuto em 225mL de água peptonada tamponada (Oxoid) e incubados a 36 °C durante 18 à 24h. Posteriormente, foi realizado o enriquecimento seletivo em caldo Rappaport Vassiliadis – RV (Acumedia) com incubação a 42 °C durante 24h e em caldo Tetrionato – TT (Acumedia) suplementado no momento do uso com 0,2 mL de iodo e 0,1mL de verde brilhante a 0,001% e incubado a 36 °C durante 24 horas. O plaqueamento diferencial foi realizado por transferência com alça de platina do caldo seletivo para placas de Agar Xilose Lisina Desoxicolato - XLD (Himedia) e Agar Entérico de Hectoen - HE (Himedia). As placas foram incubadas a 36 °C por 24 h para verificar o crescimento de colônias típicas de *Salmonella* spp. As colônias características de *Salmonella* spp. foram inoculadas em tubos com Agar Tríplice Açúcar Ferro - TSI (Himedia), Agar Ferro Lisina - LIA (Himedia) e Agar Urease - UA (Himedia). As colônias com reações típicas foram submetidas a teste sorológico utilizando soro polivalente (Probac do Brasil Produtos Bacteriológicos Ltda).

#### **4.10 Análises sensorial**

A avaliação sensorial foi realizada, ao final do período maturação e após os resultados das análises microbiológicas, aos 30 dias de maturação do embutido, com 54 julgadores não treinados, apreciadores do produto, utilizando-se o teste de aceitação com escala hedônica de 9 pontos (ABNT, NBR14141, 1998) e intenção de compra com escala verbal e numérica de 7 pontos (ABNT, NBR14141, 1998).

As amostras dos tratamentos T1, T2, T3 e T4 foram codificadas e apresentadas, aleatoriamente. Dos 54 julgadores, 39 foram mulheres e 15 homens, pertencentes a faixa etária de 20 a 50 anos. Avaliaram as amostras de salames quanto aos atributos de cor, odor, sabor, textura e aparência, como também a intenção de compra, conforme ficha de avaliação (Apêndice A). Todos os

participantes assinaram um termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE) (Apêndice B), concordando em participar voluntariamente das análises sensoriais.

O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa (UFPEL), com registro na Plataforma Brasil sob o número 28117314.1.0000.5317.

#### **4.11 Análise estatística**

Os resultados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e as médias comparadas pelo teste de Tukey com nível de 5% de significância. As análises estatísticas foram realizadas utilizando o programa Statistica 7.0.

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 Análises do salame tipo Italiano

#### 5.2.1 Análises físico-químicas

##### 5.2.1.1 Determinação de pH

A figura 4 mostra os valores de pH obtidos no decorrer do tempo de maturação.

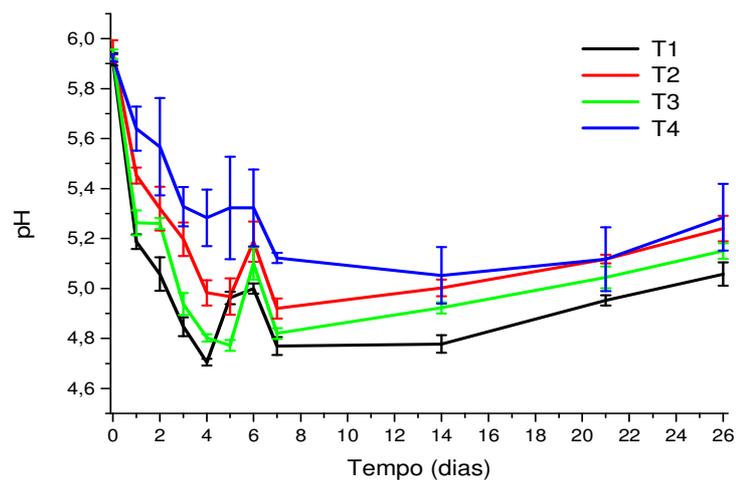


Figura 4 - Demonstrativo da variação dos valores de pH nos tratamentos, durante período de fermentação/maturação do embutido.

- T1: Com culturas iniciadora SxLp e extrato de aipo;
- T2: Sem culturas iniciadoras nativas e com extrato de aipo;
- T3: Com culturas iniciadoras SxLp e com sal de cura comercial;
- T4: Sem culturas iniciadoras nativas e com sal de cura comercial.

Culturas iniciadoras (SxLp) em T1 e T3 promoveram uma acentuada acidificação durante a fase de fermentação (primeiros 7 dias). Consequentemente, observou-se redução nos valores de pH, os quais não apresentaram diferença ( $p < 0,05$ ) entre os tratamentos. Com exceção, do 14º dia de maturação que no T1 a redução do valor abaixo dos demais tratamentos, além disso T1 e T3 apresentaram os menores valores de pH, independentemente do tempo de maturação. O comportamento do T4 que, após o 1º dia de maturação passou a apresentar os maiores valores de pH. O T2 até o 7º dia de maturação apresentou valores intermediários entre o T4 e os tratamentos T1 e T3, após esse período, os valores de pH de todos os tratamentos não apresentaram diferença significativa ( $p < 0,05$ ), aumentando até o tempo final da maturação.

A presença de culturas iniciadoras como *Lactobacillus plantarum* AJ2 produtoras de ácido lático influenciou no pH, pois os salames com esta cultura (T1 e T3) apresentaram menores valores de pH, em relação aos salames sem cultura (T2 e T4). O pH nos tratamentos que contém na sua formulação sal de cura comercial diferiu dos tratamentos com extrato de aipo somente até o 7º dia, após esse período o pH dos salames atingiu equilíbrio, não apresentando diferença significativa ( $p < 0,05$ ). Podemos dizer que o tratamento T1 foi o que se manteve sempre com pH abaixo dos demais tratamentos.

Terra; Fries e Terra (2004), também observaram que a partir do 7º dia de fabricação, os valores de pH aumentaram e, os autores consideraram que essa alteração ocorreu em razão das reações de descarboxilação e da desaminação dos aminoácidos, liberando amônia e alcalinizando o meio.

O pH estabilizou-se em 5,06 no T1, 5,24 no T2, 5,15 no T3 e 5,29 no T4 ao final do processo de maturação.

Segundo Price e Schweigert (1994), o pH dos embutidos fermentados varia entre 4,6 e 5,2. Já Ambrosiadis et al. (2004), destacam que o pH de salames tradicionais varia entre 4,67 a 6,09. Tabanelli et al. (2012) observaram uma diminuição do pH no decorrer do tempo de fermentação sendo os valores mais baixos alcançados após o 5º dia de fermentação seguido de aumento do pH até o final da maturação. Valores de pH menores em tratamentos com culturas iniciadoras em comparação com o outros tratamentos sem culturas iniciadoras foram observados por Ciuciu Simion et al. (2014).

### 5.2.1.2 Acidez

A figura 5 mostra os resultados referente a acidez das amostras, em função do tempo de maturação.

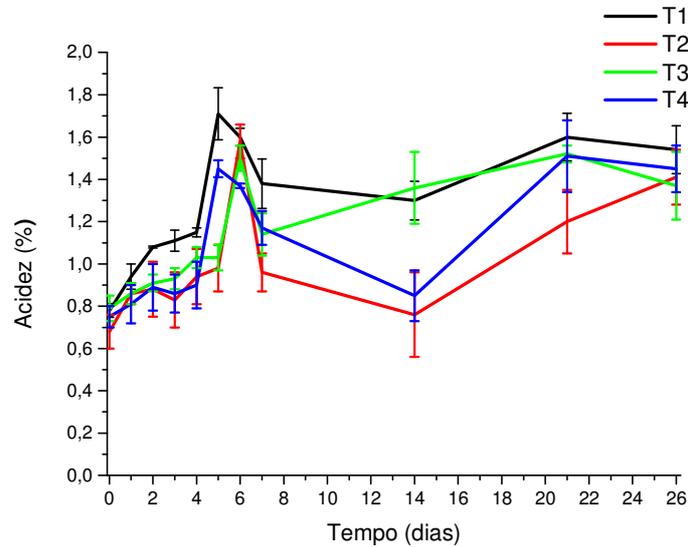


Figura 5 - Demonstrativo da variação de acidez nos tratamentos durante período de fermentação/maturação de salame tipo italiano.

T1: Com culturas iniciadoras SxLp e extrato de aipo;

T2: Sem culturas iniciadoras nativas e com extrato de aipo;

T3: Com culturas iniciadoras SxLp e com sal de cura comercial;

T4: Sem culturas iniciadoras nativas e com sal de cura comercial.

Analisando os resultados de acidez, observou-se que todos os tratamentos tiveram um aumento da mesma entre o 5º e 7º dia, sendo o seu pico no 6º dia de fermentação. O T1 mostrou valores de acidez superiores em relação aos demais tratamentos em todos os tempos de fermentação e maturação, com exceção no 14º dia.

A acidez do T1 é significativamente superior em relação aos demais tratamentos ( $p < 0,05$ ) indicando maior potencial de acidificação do meio pela cultura nativa de *Lactobacillus plantarum* AJ2. Provavelmente, o mesmo se deve ao tempo decorrido entre inoculação das culturas na massa cárnea e a análise. Neste tempo, as culturas iniciaram a acidificação do meio, porém, no tempo final de maturação (26 dias) o T1 e o T3 não apresentaram diferenças significativas entre si. No entanto, ambos diferem do tratamento T2 e T4 ( $p < 0,05$ ), comprovando uma acidificação superior para os tratamentos elaborados com culturas iniciadoras.

Se observarmos o T2, desde o início do processo de fermentação e maturação até o 5º dia, esteve com a menor acidez, sendo que no 6º dia teve um aumento significativo. No 7º dia teve uma queda significativa e este, vindo a decair até o 14º dia. A partir daí aumentando constantemente até o tempo final 26 dias de maturação. Já o T4 também teve um comportamento semelhante ao T2.

A acidificação é muito importante, pois inibe a microbiota indesejada, promove a queda do pH até atingir o ponto isoelétrico das proteínas fazendo com que o embutido libere água, diminuindo assim a atividade de água e conferindo propriedades como a fatiabilidade ao produto (PINTO; PONSANO; HEINEMANN, 2001). Segundo Terra et al. (2006), os principais gêneros de bactérias ácido lácticas, desejáveis para o processo de acidificação, são *Lactobacillus* e *Pediococcus*. Por serem homofermentativas, produzem apenas ácido láctico, desejado para fornecer a acidez necessária ao salame.

Sawitzki et al. (2008), testando *L. plantarum* AJ2 em salame Tipo Milano encontraram resultados para a acidez de 1,00 g/100g ácido láctico, resultado inferior ao encontrado neste estudo, apresentando valores de 1,54 para T1, 1,41 para T2, 1,37 para T3 e 1,45 para T4, aos 26 dias de maturação.

### **5.2.1.3 Atividade de água**

A figura 6 mostra os resultados obtidos para atividade de água dos salames avaliados, em função do tempo de maturação.

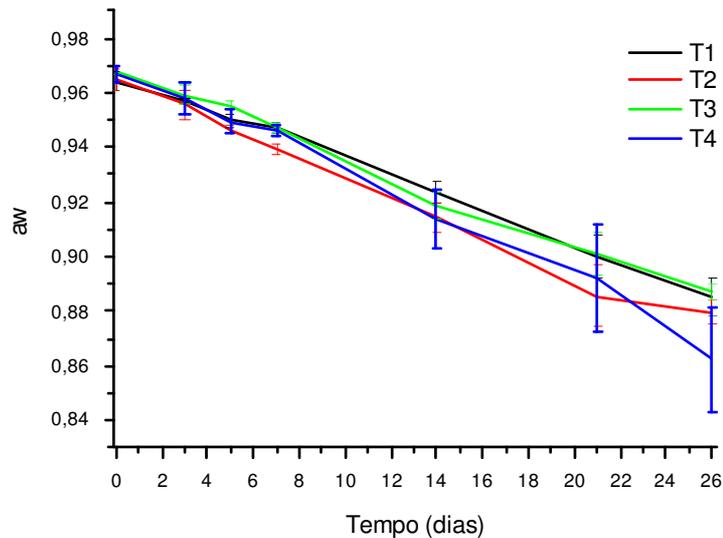


Figura 6 - Demonstrativo da variação de atividade de água ( $a_w$ ) nos tratamentos durante período de fermentação/maturação de salame tipo italiano.

T1: Com culturas SxLp e extrato de aipo;

T2: Sem culturas iniciadoras nativas e com extrato de aipo;

T3: Com culturas iniciadoras SxLp e com sal de cura comercial;

T4: Sem culturas iniciadoras nativas e com sal de cura comercial.

Os valores de  $a_w$  foram reduzindo gradativamente até o final do processo de fermentação e maturação, em todos os tratamentos. De maneira geral, os resultados não apresentaram diferenças significativas ( $p < 0,05$ ), entre os tratamentos para cada tempo de análise, com exceção no 5º dia de maturação em T3 que apresentou maior atividade de água, T2 no 7º dia com menor atividade de água, o T4 no 7º dia apresentou um leve aumento da atividade de água e este no final do processo de maturação, também apresentou a menor atividade de água entre os tratamentos.

Observa-se que os resultados apresentaram relação inversa com o tempo de armazenamento, ou seja, a atividade de água foi menor nos salames com 26 dias de maturação. A atividade de água do produto cárneo foi o principal parâmetro que determinou o período de maturação, produto pronto para o consumo, atingindo atividade de água ( $a_w$ ) de 0,86 a 0,88 aos 26 dias. Estes resultados estão de acordo com o regulamento técnico de identidade e qualidade do salame tipo italiano (BRASIL, 2000), que preconiza no máximo  $a_w$  de 0,90.

Aquilanti et al. (2007) verificaram valores de  $a_w$  em torno de 0,88 ao final do processamento de 45 dias de um típico salame tipo Italiano, com fermentação natural. Rech (2010), ao produzir salame tipo italiano com teor de sódio reduzido obteve resultados entre 0,885 e 0,900 aos 46 dias de maturação. Cavenaghi e

Oliveira (1999) destacam que, nos salames tipo Italiano nacionais, a  $a_w$  fica em torno de 0,816 e 0,868.

A redução de  $a_w$  auxilia na conservação do produto, pois valores inferiores a 0,91 limitam a multiplicação de bactérias. Assim os embutidos cárneos fermentados, por serem consumidos crus, devem apresentar baixa atividade de água.

#### 5.2.1.4 Perda de peso

A figura 7 mostra os resultados para perda de peso dos salames tipo Italiano, em função do tempo de maturação.

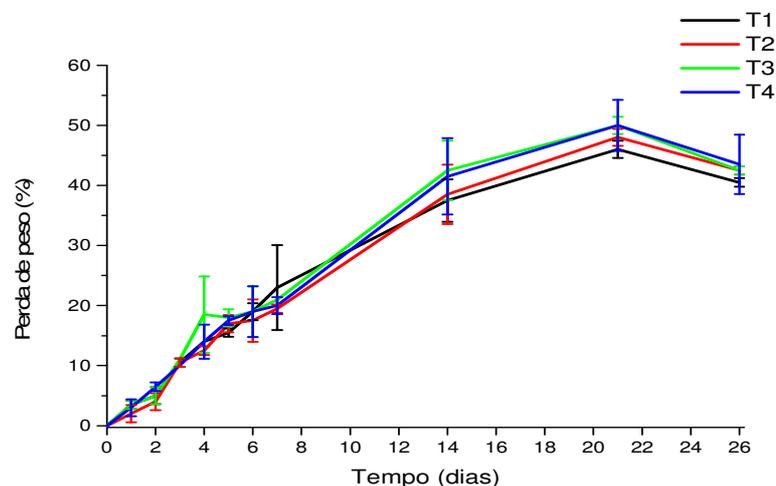


Figura 7 - Demonstrativo da variação de perda de peso nos tratamentos durante período de fermentação/maturação de salame tipo italiano.

T1: Com culturas iniciadora SxLp e extrato de aipo;

T2: Sem culturas iniciadoras nativas e com extrato de aipo;

T3: Com culturas iniciadoras SxLp e com sal de cura comercial;

T4: Sem culturas iniciadoras nativas e com sal de cura comercial.

Os resultados não apresentaram diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) entre os tratamentos, para cada tempo de análise. O decréscimo de peso do produto em função do tempo de maturação era esperado devido estar relacionado ao decréscimo do teor de água do produto. Esse decréscimo de atividade de água dos salames durante a maturação, contribui com a textura do produto final e com o desenvolvimento do *flavor* característico do salame (FERNÁNDEZ et al., 2000). Além disso, a perda de peso e consequente redução da atividade de água, aumenta a estabilidade e segurança dos alimentos por tornar-se uma barreira ao

desenvolvimento de bactérias deteriorantes e patogênicas (HUGAS; MONFORT, 1997).

A perda de peso do produto cárneo caracteriza-se pela perda de água e substâncias hidrossolúveis, tendo em vista a acidificação do produto durante a fase de fermentação, atingindo o ponto isoelétrico das proteínas miofibrilares, e conseqüentemente, ocorrendo maior liberação de água do produto (TERRA, 2005).

Cirolini et al. (2010), obteve resultados em torno de 43,26% de perda de peso, em salame tipo Italiano elaborado com culturas iniciadoras nativas, resultados similares com os deste estudo, que variou de 40,50% no T1 a 43,50% no T4. Valores semelhantes foram encontrados por Garcia-Varona et al. (2000) no processamento de salame tipo Italiano, com uma perda de peso da ordem de 44%. Também Reis e Soares (1998) obtiveram valores entre 38,4 e 43,7% em salames coloniais ao analisar a perda de peso.

Kunrath e Savoldi (2014), utilizando própolis como antioxidante em salame tipo italiano, obtiveram valores de 53% de perda de peso no mesmo período de maturação ao realizado neste trabalho. Bernardi (2010), obteve perda de peso em torno de 41% ao 32º dia para salame tipo italiano com própolis microencapsulado. Fatores que podem estar relacionados são a falta de controle da climatização da câmara de armazenamento, onde a quantidade de água eliminada é influenciada pela umidade relativa no interior da câmara de maturação, do tempo de processamento e da temperatura.

#### **5.2.1.5 Nitrato e Nitrito**

A tabela 3 apresenta os resultados de nitrato, nitrito (T0) ou dia de produção e nitrito residual após 26 dias de maturação dos salames tipo Italiano.

Tabela 3 - Resultados de concentração de nitrato, nitrito e nitrito residual nos diferentes tratamentos de salame tipo Italiano

Tratamentos	Tempo		
	0 dias		26 dias
	Nitrato(mg.kg <sup>-1</sup> )	Nitrito(mg.kg <sup>-1</sup> )	Nitrito residual (mg.kg <sup>-1</sup> )
T1	278,00 ± 20,00 <sup>b</sup>	ND*	6,43 ± 0,55 <sup>b</sup>
T2	371,50 ± 5,50 <sup>a</sup>	ND	8,53 ± 0,41 <sup>a</sup>
T3	ND	62,80 ± 2,60 <sup>a</sup>	<5,00 <sup>c</sup>
T4	ND	71,60 ± 0,80 <sup>a</sup>	<5,00 <sup>c</sup>

\* ND: Não determinado

T1: Com culturas iniciadoras SxLp e extrato de aipo;

T2: Sem culturas iniciadoras nativas e com extrato de aipo;

T3: Com culturas iniciadoras SxLp e com sal de cura comercial;

T4: Sem culturas iniciadoras nativas e com sal de cura comercial.

As médias seguidas de uma mesma letra na coluna, para cada tratamento, não diferem entre si a  $p < 0,05$  de significância pelo Teste de Tukey.

T1 e T2 apresentaram apenas nitrato no tempo inicial devido a adição do extrato de aipo conter apenas este composto, enquanto T3 e T4 apresentaram valores de nitrito, em virtude da composição do sal de cura comercial.

A cultura *S. xylosus* AD1 (ECN) utilizada na produção do salame tipo Italiano foi capaz de converter o nitrato presente no extrato de aipo, adicionado como agente de cura, em nitrito (T1). O nitrato adicionado aos produtos cárneos só tem ação se reduzido a nitrito. A redução ocorre devido à ação de bactérias ECN. Muitos estudos tem demonstrado que *S. xylosus* é capaz de reduzir o nitrato pela ação da enzima nitrato redutase (MAURIELLO et al., 2004; ESSID et al., 2007; FIORENTINI, et al., 2010).

O nitrito é responsável pelo desenvolvimento da cor e também pela sua ação antimicrobiana. Em fermentados cárneos, o nitrito é reduzido a óxido nítrico através da ação da enzima nitrito redutase e quando o pH do meio se encontra entre 5,6 e 6,2 (LÜCKE, 1994). Fiorentini et al. (2010) avaliaram as propriedades tecnológicas de *S. xylosus* U5, isolado de embutidos artesanais, como cultura iniciadora e obtiveram resultados positivos em relação a diminuição de nitrato e nitrito, durante a fermentação e maturação de salame tipo Milano.

Podemos observar que o teor de nitrito residual, ao final do tempo de maturação, diferiu ( $p < 0,05$ ) entre T1 e T2 (adicionados de extrato de aipo),

provavelmente porque no T1 teve a adição de *S. xyloso* AD1 mais a microbiota de ECN da carne, enquanto no T2, somente ECN estavam presentes na matéria-prima para realizar a conversão de nitrato a nitrito. Com relação ao T3 e T4 (uso de sais de cura comercial), podemos observar que os teores de nitrito residual foram mínimos ao final do tempo de maturação, diferindo estatisticamente dos tratamentos adicionados de extrato de aipo, em virtude das reações de cura ocorrerem mais rapidamente, pois não necessitou de tempo para conversão de nitrato a nitrito, reduzindo mais nitrito em ácido nitroso e óxido nítrico.

Segundo Pardi et al. (2007), grande parte do nitrito e nitrato desaparece durante a produção do embutido. Desse modo, a quantidade de  $\text{NO}_2$  consumida por uma pessoa, em carnes curadas, é muito menor que a quantidade adicionada.

Apesar da diferença, valores de nitrito residual no T1 e no T2 são considerados baixos ( $6,43 \text{ mg.kg}^{-1}$  e  $8,53 \text{ mg.kg}^{-1}$  respectivamente) e, não apresentam riscos de causar doenças ao consumidor. A legislação brasileira estabelece um limite máximo residual de nitrito de  $30 \text{ mg.kg}^{-1}$  de produto.

Biasi (2010) em estudo avaliando a substituição de nitrato comercial por extrato de aipo, observou resultados semelhantes ao encontrado neste estudo ( $6,43 \text{ mg.kg}^{-1}$ ) pois quando utilizado extrato de aipo, obteve  $7,88 \text{ mg.kg}^{-1}$  de nitrito residual. Também estudos com extrato de alecrim e aipo em salame colonial e mostraram resultados de nitrito residual baixo de  $3,64 \text{ mg.kg}^{-1}$  ao final do período de maturação (BERTOL et al., 2012).

Constatou-se que o nitrato presente no extrato de aipo pode ser utilizado como fonte de nitrito em embutidos cárneos, mas é necessário fornecer condições para que as reações ocorram, como presença de ECN e baixo pH pela produção de ácido láctico por BAL.

#### **5.2.1.6 Cor**

Aparência visual é um fator-chave na percepção do consumidor da qualidade sensorial, textura e sabor de carnes e produtos derivados. Um dos principais fatores que determinam a aparência de um produto cárneo fermentado é a sua cor (RUI et al., 2001; KERRY; KERRY; LEDWARD, 2002). A cor da carne pode ser influenciada pela umidade, teor de gordura e, também, pela quantidade de hemoproteína,

particularmente nas suas formas mioglobina-redox diferentes (KERRY; KERRY; LEDWARD, 2002).

A tabela 4 demonstra os resultados da análise de cor no produto final, dos diferentes tratamentos.

Tabela 4 - Variações de cor aos 26 dias de fermentação/maturação do salame tipo Italiano

Variável	Tratamentos			
	T 1	T 2	T 3	T 4
Cor				
L*	48,81±1,81 <sup>b</sup>	49,14±1,41 <sup>b</sup>	53,99±1,12 <sup>a</sup>	54,01±0,39 <sup>a</sup>
a*	15,34±0,90 <sup>a</sup>	11,59±0,75 <sup>b</sup>	16,49±0,21 <sup>a</sup>	15,20±1,38 <sup>a</sup>
b*	10,47±0,77 <sup>a</sup>	11,36±0,77 <sup>a</sup>	11,33±0,51 <sup>a</sup>	11,78±1,10 <sup>a</sup>

Letras iguais na mesma linha não diferem estatisticamente a 5% de confiança. L\* (Luminosidade), a\* (tendência ao vermelho) e b\* (tendência ao amarelo), possibilitando inferir que com a adição de extrato de aipo (T1 e T2), a cura do produto ocorreu da mesma forma que os sais de cura comercial (T3 e T4).

T1: Com culturas iniciadoras SxLp e extrato de aipo;

T2: Sem culturas iniciadoras nativas e com extrato de aipo;

T3: Com culturas iniciadoras SxLp e com sal de cura comercial;

T4: Sem culturas iniciadoras nativas e com sal de cura comercial

Dados obtidos por Sindelar et al. (2007a; 2007b), que observaram alterações na cor de salsichas e presunto curados, produzidos com adição de suco de vegetais em pó e sem sal de cura, estão de acordo com os obtidos neste estudo. Assim como, os estudos de Bertol et al. (2012), quando da obtenção de salame colonial com extrato de alecrim e aipo, aos 30 dias de maturação. A cor característica de embutidos secos fermentados é produzida pela interação entre os pigmentos da carne e nitratos e nitritos adicionados. O nitrato deve primeiro ser reduzido a nitrito, e este posteriormente é convertido em ácido nitroso, o qual é reduzido a óxido nítrico (NO). O óxido nítrico é o componente ativo que se combina com a mioglobina para formar mioglobina nitrosa, pigmento vermelho característico de produtos cárneos curados. Pela ação do aquecimento, a mioglobina nitrosa forma um pigmento estável, o hemocromo, também denominado nitroso hemocromogênio (ROÇA, 2005).

### 5.2.1.7 Textura – Força de Cisalhamento

Na figura 8 podemos visualizar os resultados obtidos para força de cisalhamento. Para o parâmetro avaliado, todos os tratamentos diferiram ( $p < 0,05$ )

significativamente entre si. Foram encontrados valores médios para textura de 3,18 Kgf, 5,47 kgf, 5,98 kgf e 8,21kgf para T1, T2, T3 e T4, respectivamente.

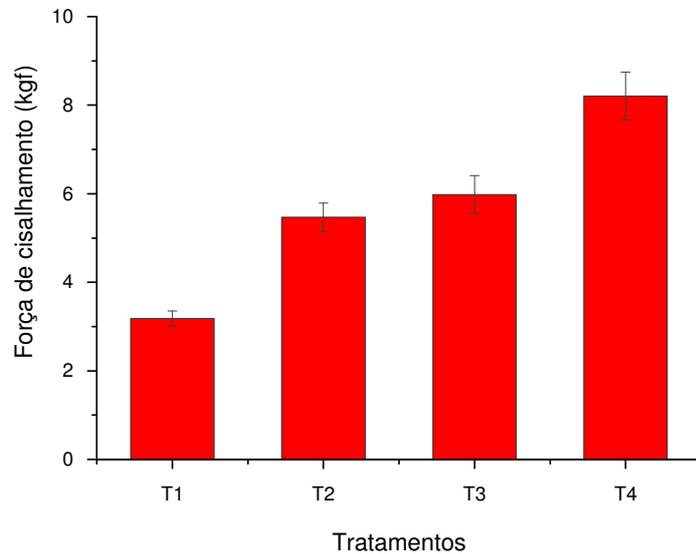


Figura 8 - Força de cisalhamento dos salames tipo Italiano.  
 T1: Com culturas iniciadora SxLp e extrato de aipo;  
 T2: Sem culturas iniciadoras nativas e com extrato de aipo;  
 T3: Com culturas iniciadoras SxLp e com sal de cura comercial;  
 T4: Sem culturas iniciadoras nativas e com sal de cura comercial.

Mattei (2014) ao avaliar a força de cisalhamento em embutido fermentado com carne de frango obteve resultados que variaram de 2,38 kgf a 2,72 kgf, os quais foram inferiores aos obtidos no presente estudo, no entanto Cavenaghi (2005) obteve, para embutidos fermentados, força de cisalhamento correspondendo a 3,4 kgf, similar a força necessária para o corte de salame do T1 neste estudo (3,18 Kgf).

Pode-se observar no presente estudo que, T1, (adicionado de extrato de aipo) e (culturas iniciadoras), apresentou menor força de cisalhamento se comparado aos outros tratamentos. Portanto, pode-se inferir que a adição de uma fonte natural de nitrato, combinada com a adição de culturas iniciadoras nativas contribuiu positivamente para a textura do salame, quanto ao parâmetro analisado.

De acordo com Kerry, Kerry e Ledward (2002), o desenvolvimento da textura durante a fermentação é determinado pela queda do pH, desconsiderando-se pequenas alterações no peso, enquanto que as mudanças da textura durante a etapa da maturação são determinadas pela perda de água.

Outro fator que influencia na textura dos salames é a fatiabilidade e firmeza, que ocorrem pela combinação da formação do gel, devido à coagulação das

proteínas solubilizadas pelo sal. Essa coagulação, por acidificação, envolve a formação de agregados mais estáveis e intensos, associados com a liberação de água. O gel formado é estabilizado pela liberação de água, que ocupa espaços entre os agregados e forma matriz que envolve gorduras e tecidos conectivos, determinando a textura dos embutidos (KERRY; KERRY; LEDWARD, 2002).

### 5.2.1.8 TBARS

A tabela 5 apresenta os resultados de TBARS, no tempo final de maturação do salame tipo italiano.

Tabela 5 - Resultados de TBARS (mg de malonaldeído/Kg) no tempo final de maturação, nos diferentes tratamentos, de salame tipo Italiano

Tratamentos	Tempo
	26 dias
T1	1,10 ± 0,05 <sup>a</sup>
T2	0,61 ± 0,31 <sup>a</sup>
T3	1,24 ± 0,09 <sup>a</sup>
T4	1,24 ± 0,23 <sup>a</sup>

As médias seguidas de uma mesma letra na coluna, para cada tratamento, não diferem entre si a  $p < 0,05$  de significância pelo Teste de Tukey

T1: Com culturas iniciadoras SxLp e extrato de aipo;

T2: Sem culturas iniciadoras nativas e com extrato de aipo;

T3: Com culturas iniciadoras SxLp e com sal de cura comercial;

T4: Sem culturas iniciadoras nativas e com sal de cura comercial.

A avaliação da oxidação lipídica quantifica o malonaldeído presente na amostra, um dos principais produtos da decomposição de peróxidos, formado durante o processo oxidativo, associado ao sabor de ranço nos alimentos (RAHARJO; SOFOS; SCHMIDT, 1992; YILDZ-TURP; SERDAROGLU, 2010). A aplicação de culturas iniciadoras com presença de enzimas catalase e nitrato redutase, tem relação com a atividade antioxidante no salame (FIORENTINI, et al., 2010). Dentre as culturas, encontram-se *Staphylococcus*, que possuem a enzima intracelular catalase, que atua na decomposição de peróxido de hidrogênio, a qual ajuda a prevenir a oxidação lipídica impedindo a formação de hidroperóxidos (BARRIÈRE, 2001).

Sawitzki et al. (2008) em seu estudo verificaram que os valores de TBARS aos 21 e 28 dias diminuíram de 1,58 para 1,45 mg de malonaldeído/Kg/amostra e de

1,55 para 1,47 mg de malonaldeído/Kg/amostra, em salame tipo Milano inoculado com *L. plantarum* AJ2 e no controle, respectivamente. Estes resultados corroboram com os obtidos neste trabalho (1,10, 0,61, 1,24 e 1,24 mg malonaldeído /kg). Ruiz-Moyano et al. (2011) observaram uma ligeira diminuição dos valores da concentração de TBARS aos 120 dias de armazenamento, quando comparados ao tempo de 90 dias em salame tipo italiano com aplicação de micro-organismos probióticos.

Valores de TBARS encontrados neste trabalho, também são similares aos valores encontrados por Mattei (2014), para os três tratamentos realizados de 0,77, 1,56 e 1,06 mg malonaldeído /kg, em salame produzido com carne suína e frango. O autor complementa ainda que, os valores encontrados na sua pesquisa são considerados baixos para percepção sensorial, e não comprometem a qualidade sensorial do embutido. Além, alguns compostos oriundos da lipólise podem ser precursores de *flavor* em embutidos fermentados.

Macedo (2005) encontrou concentrações de 2,75 e 2,52 mg de malonaldeído/Kg em salame tipo italiano com antioxidante natural de extrato de marcela aos 28 dias de maturação. Marangoni (2007) encontrou valores de TBARS no mesmo período de tempo, de 0,611 mg de malonaldeído/Kg para o tratamento com 0,01% de coentro em salame tipo italiano. Chicovski et al. (2011) encontraram valores de TBARS de 0,266 mg de malonaldeído/Kg com 0,75 mg.g<sup>-1</sup> de óleo essencial de manjeriço em salame.

Segundo Candogan & Kolsarici, (2003), considera-se valores aceitáveis abaixo de 1 mg malonaldehyde.kg<sup>-1</sup> produto, pois não apresentam nenhum risco para a saúde dos consumidores e não comprometem a qualidade sensorial de embutidos.

## **5.2 Composição centesimal dos salames**

A tabela 6 apresenta os resultados da composição centesimal dos salames tipo Italiano, aos 26 dias de maturação.

Tabela 6 - Composição centesimal dos salames tipo Italiano, aos 26 dias de maturação.

	Tratamentos			
	T1	T2	T3	T4
Umidade (%)	47,46 ± 2,23 <sup>a</sup>	46,37 ± 1,38 <sup>a</sup>	46,72 ± 0,39 <sup>a</sup>	41,62 ± 6,18 <sup>a</sup>
Proteínas (%)	29,73 ± 1,31 <sup>a</sup>	27,02 ± 1,01 <sup>b</sup>	26,15 ± 0,70 <sup>b</sup>	29,13 ± 1,09 <sup>a</sup>
Lipídeos (%)	19,79 ± 1,09 <sup>c</sup>	18,22 ± 0,15 <sup>c</sup>	23,31 ± 1,79 <sup>a</sup>	22,62 ± 0,69 <sup>b</sup>
Cinzas (%)	7,55 ± 0,09 <sup>a</sup>	7,69 ± 0,41 <sup>a</sup>	6,95 ± 0,29 <sup>a</sup>	7,47 ± 0,61 <sup>a</sup>

As médias seguidas de uma mesma letra na coluna, para cada tratamento, não diferem entre si a  $p < 0,05$  de significância pelo Teste de Tukey.\*

T1: Com culturas iniciadoras SxLp e extrato de aipo;

T2: Sem culturas iniciadoras nativas e com extrato de aipo;

T3: Com culturas iniciadoras SxLp e com sal de cura comercial;

T4: Sem culturas iniciadoras nativas e com sal de cura comercial.

De acordo com a tabela 6, é possível observar que o teor umidade e cinzas não diferiram entre os tratamentos.

A umidade responde, em parte, pelas características sensoriais, auxiliando no desenvolvimento e apreciação do sabor, pois as reações de lipólise e proteólise necessitam de meio aquoso para ocorrer, influenciando a cor, textura, firmeza do produto cárneo, aumentando a conservação e dificultando o desenvolvimento de micro-organismos (ORDOÑEZ, 2005).

O teor de umidade, após 26 dias de maturação, foi superiores aos preconizados na legislação vigente (BRASIL, 2000), que recomenda umidade menor que 35% após período de maturação. Prováveis fatores que podem ter contribuído para esta diferença, cita-se a umidade relativa do ar, velocidade do ar e a temperatura da câmara de maturação, que não apresentou muita variação nesses parâmetros durante o período de fermentação/maturação dos embutidos. O aumento do tempo de maturação possivelmente acarretaria na diminuição da umidade até os níveis preconizados pela legislação.

Fabbri et al. (2011) citam que a distribuição de gordura e dimensões do salame também podem influenciar na umidade, assim como a temperatura, umidade relativa e tempo de maturação.

Embutidos fermentados são produtos muito heterogêneos e com grandes variações em nível de ingredientes. Diferenças na concentração de cloreto de sódio e variações na umidade e atividade de água resultam das diferenças nos níveis iniciais de adição de sal, conteúdo de gordura e de várias condições utilizadas durante a secagem (OLESEN; MEYER; STAHNKE, 2004).

Lima (2009) teve resultados semelhantes aos encontrados neste estudo (variação de 47 a 41%) quando avaliaram a umidade de salame de cordeiro que apresentaram teores de 44 a 59%.

Em estudo realizado para quantificar os componentes e caracterizar salames tradicionais da Grécia, os teores de cinza encontrados foram entre 2,13% a 5,07% (AMBROSIADIS et al., 2004). Dalla Santa (2008), comparando amostras de salames artesanais, encontrou teores de cinzas entre 3,76% a 8,84%. E no presente estudo valores variaram de 6,95% a 7,69%, entre os diferentes tratamentos.

Com relação ao percentual dos demais componentes foi observada diferença significativa entre os tratamentos, ou seja, o teor de proteínas foi maior no T1 e no T4, enquanto o percentual de lipídeos foi maior no T3 e menor no T2. Embora no preparo dos salames tenha sido utilizado o mesmo percentual de carne bovina (20%), suína (70%) e toucinho (10%), que são os principais ingredientes a contribuírem com a composição de proteínas e lipídeos, a diferença entre os tratamentos possivelmente seja resultado da falta de uniformidade das amostras (toucinho e carne), bem como da pequena massa utilizada para as análises. Foi possível observar que tanto o teor de proteínas como o teor de lipídeos atenderam a legislação vigente (BRASIL, 2000) que estabelece mínimo de proteínas de 25% e máximo de gorduras de 32%.

### **5.3 Informação nutricional**

A informação nutricional apresentada na Tabela 7, refere-se ao produto, objeto deste estudo: salame tipo italiano com culturas iniciadoras nativas e curado com extrato de aipo, tratamento T1.

De acordo com a Agência Nacional de Vigilância Sanitária, as indústrias que produzem alimentos embalados de qualquer espécie devem informar, obrigatoriamente, os seguintes itens no rótulo do alimento: Valor Calórico, Carboidratos, Proteínas, Gorduras Totais, Gorduras Saturadas, Gordura Trans, Fibra Alimentar e Sódio. Regulamentado pela Resolução RDC nº 360, de 23 de dezembro de 2003 - Aprova Regulamento Técnico sobre Rotulagem Nutricional de Alimentos Embalados, tornando obrigatória a rotulagem nutricional e Resolução RDC nº 359, de 23 de dezembro de 2003 - Aprova Regulamento Técnico de Porções de Alimentos Embalados para Fins de Rotulagem Nutricional.

Tabela 7 – Informação nutricional do salame tipo Italiano T1, aos 26 dias de maturação.

INFORMAÇÃO NUTRICIONAL		
Porção de 40 g (4 fatias)		
	Quantidade por porção	%VD (*)
Valor Energético	182 kcal = 763 kJ	9
Carboidratos	0,64 g	0
Proteínas	11 g	15
Gorduras Totais	15 g	27
Gorduras Saturadas	5,4 g	25
Gorduras trans	0	0
Fibra Alimentar	0	0
Sódio	777 mg	32

\* Valores Diários de referência com base em uma dieta de 2.000 kcal, ou 8400 kJ. Seus valores diários podem ser maiores ou menores dependendo de suas necessidades energéticas.

Fonte: Engetecno, 2015

#### 5.4 Análises Microbiológicas

A estimativa da contagem de bactérias ácido-láticas na matéria-prima carne, utilizada para produção dos salames, foi de  $3,43 \log \text{UFC.g}^{-1}$ . Já a contagem de BAL no tempo zero (0) ou dia da produção foi de  $7 \log \text{UFC.g}^{-1}$ , permanecendo viáveis durante todo o processo de maturação, atingindo contagem de  $9 \log \text{UFC.g}^{-1}$  aos 7 dias de fermentação e mantendo-se em  $8 \log \text{UFC.g}^{-1}$ , ao final do período (26 dias).

Os lactobacilos se desenvolvem com muita rapidez durante os primeiros dias, causando o decréscimo rápido do pH. A taxa dessas bactérias permanece em níveis altos (aproximadamente  $10^8 \text{UFC/g}$ ), chegando a constituir a quase totalidade da microbiota total (ORDOÑEZ, 2005). Os resultados obtidos neste estudo são similares com os de outros trabalhos, onde se observa contagens de bactérias ácido láticas entre  $10^7$  a  $10^9 \text{UFC/g}$  ao produzirem embutidos fermentados com adição de extratos vegetais (BERNARDI et al., 2013; BERTOL et al., 2012).

No tempo final de maturação, observou-se que, em todos os tratamentos, as contagens medias ficaram em torno de  $8 \log \text{UFC.g}^{-1}$ , não havendo diferença significativa entre os tratamentos, mesmo nos tratamentos sem adição de culturas iniciadoras (T2 e T4), no entanto apresentavam BAL presentes na microbiota da carne.

Observou-se neste estudo que as culturas iniciadoras SxLp não foram inibidas pelo extrato vegetal adicionado no produto. Este resultado é muito importante, pois estas culturas são responsáveis pelas características físico-

químicas, microbiológicas e sensoriais dos embutidos (LEROY; VERLUYTEN; DE VUYST, 2006; SAWITZKI et al., 2008).

Diversos autores apontam um decréscimo das contagens de bactérias ECN durante os processos fermentativos de produção de embutidos fermentados devido a acidificação promovida pelas BAL (BERTOL et al., 2012; CIROLINI et al., 2010; MACEDO et al., 2008). No presente estudo isso não ocorreu, desde o início da fermentação até o final do período de maturação ECN permaneceram de 6 a 8 log UFC.g<sup>-1</sup>. Isso se deve, em virtude da elevada contagem de ECN na carne (8,78 log UFC.g<sup>-1</sup> e somado à adição de *S. xylosus* AD1 (T1 e T3).

Visando a identificação de BAL e ECN no produto, aleatoriamente, eram escolhidas das placas contendo ágar MRS e BHI, 3 colônias para confirmação, em cada período e para cada tratamento, sendo submetidas aos testes fenotípicos de coloração de Gram, morfologia, teste de catalase e específico para ECN incluído o teste de coagulase.

Não foi detectada a presença de micro-organismos patogênicos investigados nas amostras de salames, no final da maturação. A ausência destes micro-organismos, pode ser atribuído ao baixo pH, baixa  $a_w$ , presença de nitrato/nitrito, propriedades antimicrobianas de BAL (LU et al., 2015), bem como as Boas Práticas de Fabricação adotadas durante o processamento, ou ainda a ausência destes micro-organismos patogênicos no produto.

## 5.5 Análise Sensorial

Os resultados da análise sensorial de salames, teste de aceitação com escala hedônica de 9 pontos, estão apresentados na figura 9.

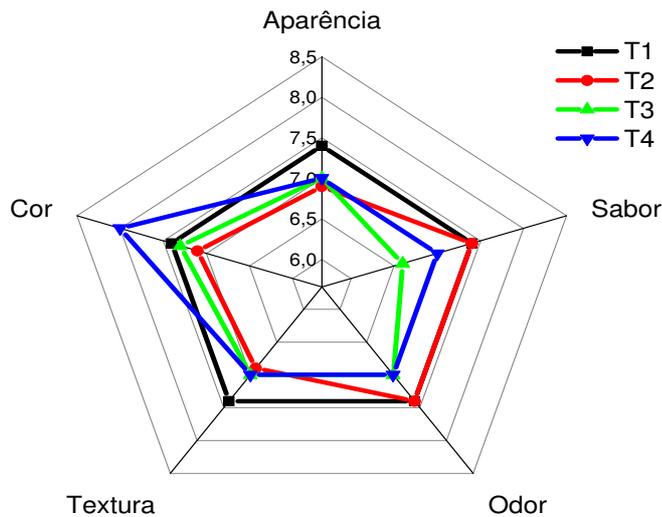


Figura 9 – Resultados dos parâmetros avaliados na análise sensorial dos salames tipo Italiano.  
 T1: Com culturas iniciadoras SxLp e extrato de aipo;  
 T2: Sem culturas iniciadoras nativas e com extrato de aipo;  
 T3: Com culturas iniciadoras SxLp e com sal de cura comercial;  
 T4: Sem culturas iniciadoras nativas e com sal de cura comercial.

É possível observar que as amostras apresentaram diferentes perfis sensoriais. Entre os resultados, destaca-se T1, que apresentou média intermediária entre gostei regularmente e gostei moderadamente, alcançando 7,5 pontos na escala hedônica, para todos os atributos sensoriais. Exceto para o atributo cor, que a média do T4 foi superior (8,0). A aceitabilidade do produto (T1) pelos julgadores foi de 80%. Em função do T1 ser o produto desenvolvido e, por ter apresentado a maior média no maior número de atributos sensoriais avaliados, esta amostra foi escolhida para avaliação da intenção de compra, e os resultados estão expressos na figura 10.

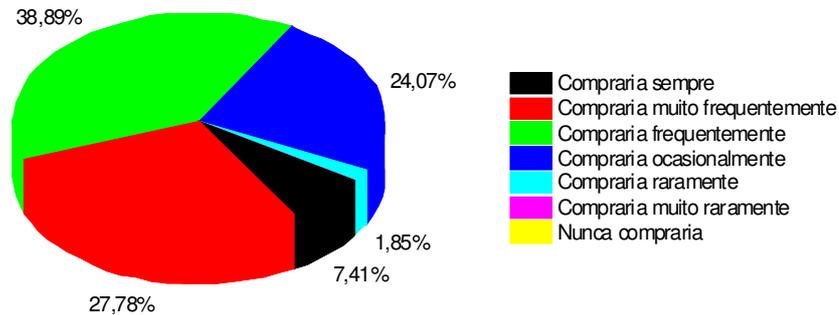


Figura 10 - Resultados da intenção de compra do salame tipo Italiano com culturas iniciadoras nativas e extrato de aipo (T1).

O salame do tratamento T1, apresentou boa aceitabilidade pelos julgadores, e todos comprariam esse produto, conforme figura 10. O produto desenvolvido seria adquirido sempre/muito frequentemente/frequentemente por 74,08% dos consumidores. Além disso, nenhum dos julgadores compraria muito raramente ou nunca comprariam esse produto e, apenas 1,85 % dos julgadores atribuíram nota de que comprariam raramente. As características sensoriais de um produto são resultado de uma interação complexa entre processos físico-químicos, bioquímicos e microbiológicos. Estes processos têm papel fundamental na formação e equilíbrio de compostos químicos e na modificação de moléculas responsáveis pela aparência e textura (CIUCIU SIMION et al., 2014).

O sabor é devido os compostos de baixo peso molecular como os açúcares, cloreto de sódio, aminoácidos, peptídeos, nucleotídeos, íons inorgânicos, amins e compostos nitrogenados (KAWAI; UNEYAMA; MIYANO, 2009), enquanto a textura está relacionada principalmente com os fenômenos de proteólise e capacidade de retenção de água (BUETTNER; SCHIEBERLE, 2000).

Em geral, a seleção de culturas iniciadoras inapropriadas, interfere negativamente nas características sensoriais de embutidos fermentados como a perda de sabor e aroma. O uso de culturas iniciadoras nativas são um diferencial nos atributos sensoriais de embutidos cárneos, conferindo-lhes atributos específicos (CIUCIU SIMION et al., 2014). Os resultados, neste estudo, indicam que a adição de

culturas iniciadoras nativas SxLp e extrato de aipo contribuíram positivamente para a aceitabilidade do produto.

## **6 Conclusões**

Os dados coletados neste estudo através dos parâmetros físico-químicos, microbiológicos e sensoriais conferidos ao produto, destacaram o potencial de produzir salame tipo Italiano, usando extrato de aipo como fonte de nitrato e culturas iniciadoras nativas SxLp. As culturas SxLp, contribuíram para a acidificação e segurança microbiológica, redução de nitrato a nitrito e textura do salame, o extrato de aipo foi eficiente como fonte de nitrato, sendo convertido a nitrito, estabilizando a cor do salame. Os mesmos mostraram-se uma alternativa viável para produção de salame tipo Italiano.

## Referências

ALAHAKOON, A. U. et al. Alternatives to nitrite in processed meat: up to date. *Trends in Food Science & Technology*, v. 45, n. 1, p. 37–49, 2015.

AMBROSIADIS, J. et al. Physicochemical, microbiological and sensory attributes for the characterization of Greek traditional sausages. *Meat Science*, v. 66, n. 2, p. 279–287, 2004.

AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION - APHA. **Compendium of methods for the microbiological examination of foods**. 4. ed. Washington: [s.n.], 2002.

AQUILANTI, L. et al. The microbial ecology of a typical Italian salami during its natural fermentation. **International Journal of Food Microbiology**, v. 120, n. 1-2, p. 136–145, 2007.

ARNAU, J. et al. Technologies to shorten the drying period of dry-cured meat products. **Meat Science**, v. 77, n. 1, p. 81–89, 2007.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS - AOAC. **Official methods of analysis**. 19. ed. Maryland: [s.n.], 2012.

BARRIÈRE, C. et al. Roles of superoxide dismutase and catalase of *Staphylococcus xylosus* in the inhibition of linoleic acid oxidation. **FEMS Microbiology Letters**, v. 201, n. 2, p. 181–185, 2001.

BERDAGUÉ, J. L. et al. Effects of starter cultures on the formation of flavour compounds in dry sausage. **Meat Science**, v. 35, n. 3, p. 275–287, 1993.

BERNARDI, S. **Funcionalidade de própolis livre e microencapsulada em salame**

**tipo Italiano.** 2010. 127 f. Dissertação (Mestrado em Ciência) - Escola Superior de Agricultura "Luiz Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2010.

BERNARDI, S. et al. Italian-type salami with propolis as antioxidant. **Italian Journal of Food Science**, v. 25, n. 4, p. 433–440, 2013.

BERNARDI, S.; GOLINELI, B. B.; CONTRERAS-CASTILLO, C. J. Aspectos da aplicação de culturas starter na produção de embutidos cárneos fermentados Review. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 13, n. 2, p. 133–140, 2010.

BERTOL, T. M. et al. Rosemary extract and celery-based products used as natural quality enhancers for colonial type salami with different ripening times. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 32, n. 4, p. 783–792, 2012.

BIASI, V. **Produção de salame tipo italiano através de cura natural com extratos de aipo e acelga.** 2010. 140f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos), Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2010.

BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. **Decreto nº 30.691 de 29 de março de 1952.** Dispõe sobre o Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal (RIISPOA). Brasília, DF, março, 1952.

BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. **Instrução normativa n.º 22, de 31 de julho de 2000.** Regulamento técnico de identidade e qualidade do salame tipo italiano. Brasília, DF, julho, 2000.

BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. **Métodos Analíticos Físico-Químicos, para Controle de Produtos Cárneos e seus Ingredientes - Sal e Salmoura.** Brasília, DF, julho, 1999.

BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. **Regulamento Técnico sobre as condições Higiênico-Sanitárias e de Boas Práticas de Fabricação para Estabelecimentos Elaboradores/Industrializadores de Alimentos.** Brasília, DF, setembro, 1997.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Resolução RDC nº 12, de 02 de janeiro de 2001.** Dispõe sobre o Regulamento Técnico Sobre Padrões Microbiológicos Para Alimentos. Brasília, DF, janeiro, 2001.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Portaria nº 1002 de 11 de dezembro de 1998.** Lista

os produtos, comercializados no país, enquadrando-os nas subcategorias que fazem parte da Categoria 8. Carnes e Produtos Cárneos. Brasília, DF, dezembro, 1998.

BRESSAN, M. C.; PÉREZ, J. R. **Tecnologia de Carnes e Pescado**. Lavras: UFLA/FAEPE, 2001.

BUCKENHÜSKES, H. J. Selection criteria for lactic acid bacteria to be used as cultures for various food commodities. **FEMS Microbiology Reviews**, v. 12, p. 253–272, 1993.

BUETTNER, A.; SCHIEBERLE, P. Exhaled odorant measurement (EXOM) — A new approach to quantify the degree of in-mouth release of food aroma compounds. **LWT - Food Science and Technology**, v. 33, p. 553–559, 2000.

CASABURI, A. et al. Biochemical and sensory characteristics of traditional fermented sausages of Vallo di Diano (Southern Italy) as affected by the use of starter cultures. **Meat Science**, v. 76, n. 2, p. 295–307, 2007.

CASTILHO, N. P. A. **Avaliação de protocolos alternativos para enumeração de culturas starters e bactérias lácticas utilizadas na produção de salame**. 2014. 66 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária), Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2014.

CAVENAGHI, A. D.; OLIVEIRA, M. N. Influência de algumas características físico-químicas e sensoriais na qualidade de salame tipo Italiano fabricado no Brasil. **Revista Nacional da Carne**, v. 263, p. 44–48, 1999.

CENTER FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION - CDC. **Botulism associated with canned chili sauce**. Disponível em: <<http://www.cdc.gov/botulism/botulism.htm>>. Acesso em: 27 jan. 2016.

CICHOSKI, A. J. et al. Lipid and protein oxidation in the internal part of italian type salami containing basil essential oil (*Ocimum basilicum* L.). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 31, n. 2, p. 436–442, 2011.

CIROLINI, A. et al. Salame tipo italiano elaborado com culturas starters nativas fermented italian sausage elaborated with native starter cultures. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 30, p. 171–179, 2010.

CIUCIU SIMION, A. M. et al. Effect of the use of selected starter cultures on some

quality, safety and sensorial properties of Dacia sausage, a traditional Romanian dry-sausage variety. **Food Control**, v. 35, n. 1, p. 123–131, 2014.

COCOLIN, L. et al. Denaturing gradient gel electrophoresis analysis of the 16S rRNA gene V1 region to monitor dynamic changes in the bacterial population during fermentation of italian sausages. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 67, n. 3-12, p. 5113–5121, 2001.

CORREIA, M. et al. Contribution of different vegetable types to exogenous nitrate and nitrite exposure. **Food Chemistry**, v. 120, n. 4, p. 960–966, 2010.

DALLA SANTA, O. R. **Avaliação da qualidade de salames artesanais e seleção de culturas starter para a produção de salame tipo italiano**. 2008. 133 f. Tese (Doutorado em Tecnologia de Alimentos), Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2008.

DROSINOS, E. H. et al. Characterization of the microbial flora from a traditional Greek fermented sausage. **Meat Science**, v. 69, n. 2, p. 307–317, 2005.

ESSID, I. et al. Characterization and technological properties of *Staphylococcus xylosus* strains isolated from a Tunisian traditional salted meat. **Meat Science**, v. 77, n. 2, p. 204–212, 2007.

ESSID, I.; HASSOUNA, M. Effect of inoculation of selected *Staphylococcus xylosus* and *Lactobacillus plantarum* strains on biochemical, microbiological and textural characteristics of a Tunisian dry fermented sausage. **Food Control**, v. 32, n. 2, p. 707–714, 2013.

FABBRI, A. et al. Numerical simulation of physical systems in agri-food engineering. **Journal of Agricultural Engineering**, v. 4, p. 1–7, 2011.

FAROUK, M. M. et al. Manufacturing functionality of chilled venison and Beef. **Journal of Food Quality**, v. 30, p. 764–782, 2007.

FERNÁNDEZ, M. et al. Accelerated ripening of dry fermented sausages. **Trends in Food Science and Technology**, v. 11, n. 6, p. 201–209, 2000.

FIORENTINI, A. M. et al. Influence of a native strain of *Staphylococcus xylosus* on the microbiological, physicochemical and sensorial characteristics on Milano salami type. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 53, n. 4, p. 961–974, 2010.

FIorentini, Â. M. et al. Phenotypic and molecular characterization of *Staphylococcus xylosum*: Technological potential for use in fermented sausage. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 52, n. June, p. 737–746, 2009.

GALGANO, F. et al. Influence of indigenous starter cultures on the free fatty acids content during ripening in artisan sausages produced in the basilicata region. **Food Technology and Biotechnology**, v. 41, n. 3, p. 253–258, 2003.

GARCÍA-VARONA, M. et al. Characterisation of Micrococcaceae isolated from different varieties of chorizo. **International Journal of Food Microbiology**, v. 54, n. 3, p. 189–195, 2000.

GEISEN, R.; LUCKE, F. K.; KROCKEL, L. Starter and protective cultures for meat and meat products. **Fleischwirtsch**, v. 72, n. 6, p. 894–898, 1992.

GILCHRIST, M.; WINYARD, P. G.; BENJAMIN, N. Dietary nitrate – Good or bad? **Nitric Oxide**, v. 22, n. 2, p. 104–109, 2010.

GORMLEY, F. J. et al. A 17-year review of foodborne outbreaks: describing the continuing decline in England and Wales (1992-2008). **Epidemiology and Infection**, v. 139, n. 5, p. 688–99, 2011.

GRUNERT, K. G. What's in a steak? A cross-cultural study on the quality perception of beef. **Food Quality and Preference**, v. 8, n. 3, p. 157–174, 1997.

GRUNERT, K. G.; BREDAHL, L.; BRUNSO, K. Consumer perception of meat quality and implications for product development in the meat sector—a review. **Meat Science**, v. 66, n. 2, p. 259–272, 2004.

HAMMES, W. P.; HERTEL, C. New developments in meat starter cultures. **Meat Science**, v. 49, n. 98, p. 125–138, 1998.

HOFFMAN, L. C.; CAWTHORN, D. Exotic protein sources to meet all needs. **Meat Science**, v. 95, n. 4, p. 764–771, 2013.

HUGAS, M.; MONFORT, J. M. Bacterial starter cultures for meat fermentation. **Food Chemistry**, v. 59, n. 4, p. 547–554, 1997.

INSUMOS. O sal e seus substitutos. **Aditivos e Ingredientes**, 2013. Disponível em:

<[http://www.insumos.com.br/aditivos\\_e\\_ingredientes/materias/246.pdf](http://www.insumos.com.br/aditivos_e_ingredientes/materias/246.pdf)>.

JAY, J. **Microbiologia de Alimentos**. Porto Alegre: Artmed, 2005.

JENSON, I.; SUMNER, J. Performance standards and meat safety — Developments and direction. **Meat Science**, v. 92, n. 3, p. 260–266, 2012.

JOO, S. T. et al. Control of fresh meat quality through manipulation of muscle fiber characteristics. **Meat Science**, v. 95, n. 4, p. 828–836, 2013.

KAWAI, M.; UNEYAMA, H.; MIYANO, H. Taste-active components in foods, with concentration on umami compounds. *Journal of Health Science*, v. 55, n. 5, p. 667–673, 2009.

KERRY, J.; KERRY, J.; LEDWARD, D. **Meat Processing. Improving Quality**. Cambridge: Woodhead Publishing Limited, 2002.

KLOSS, W. E.; SCHLEIFER, K. H. **Genus IV. *Staphylococcus*. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology**. Baltimore: Williams & Wilkins, 1986. p. 1013–1035.

KORZEN, S.; LASSEN, J. Meat in context. On the relation between perceptions and contexts. **Appetite**, v. 54, n. 2, p. 274–81, 2010.

KUNRATH, C. A.; SAVOLDI, D. C. **Própolis como antioxidante em produtos cárneos : aplicação e avaliação em salame tipo italiano**. 2014. 68 f. Trabalho de conclusão de curso (Graduação em Tecnologia de Alimentos), Universidade Tecnológica do Paraná, Francisco Beltrão, 2014.

LAHOU, E. et al. Effectiveness of inactivation of foodborne pathogens during simulated home pan frying of steak, hamburger or meat strips. **International Journal of Food Microbiology**, v. 206, p. 118–129, 2015.

LAWRIE, R. A. **Ciência da Carne**. 6. ed. São Paulo: Artmed, 2005.

LEROY, F.; VERLUYTEN, J.; DE VUYST, L. Functional meat starter cultures for improved sausage fermentation. **International Journal of Food Microbiology**, v. 106, p. 270–285, 2006.

LIMA, Í. A. **Elaboração e caracterização de salame de cordeiro Santa Inês**. 2009. 76 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos), Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, Itapetinga, 2009.

LU, S. et al. The effects of starter cultures and plant extracts on the biogenic amine accumulation in traditional Chinese smoked horsemeat sausages. **Food Control**, v. 50, p. 869–875, 2015.

LÜCKE, F.-K. Fermented meat products. **Food Research International**, v. 27, n. 3, p. 299–307, 1994.

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

MACEDO, R. E. F. et al. Desenvolvimento de embutido fermentado por *Lactobacillus* probióticos: características de qualidade. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 28, n. 3, p. 509–519, 2008.

MACEDO, R. E. F. **Utilização de culturas lácticas probióticas no processamento de produto cárneo fermentado**. 2005. 198 f. Tese (Doutorado em Tecnologia de Alimentos), Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2005.

MARANGONI, C. **Atividade antioxidante do óleo essencial de coentro (*Coriandrum sativum* L.) em salame italiano**. 2007. 132 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Ambientais), Universidade Comunitária Regional de Chapecó, Chapecó, 2007.

MARIANSKI, S.; MARIANSKI, A. **The Art of Making Fermented Sausage**. 2. ed. Florida: Bookmagic, 2009.

MARTÍN, B. et al. Molecular, technological and safety characterization of Gram-positive catalase-positive cocci from slightly fermented sausages. **International Journal of Food Microbiology**, v. 107, n. 2, p. 148–158, 2006.

MASTROGIACOMO. **Produtos Maturados**. 1983, Campinas: [s.n.], 1983.

MATTEI, F. J. **Culturas iniciadoras (*Lactobacillus plantarum* AJ2 e *Staphylococcus xylosus* U5) nas propriedades tecnológicas de embutido produzido com associação de carne suína e de frango**. 2014. 78 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Faculdade de Agronomia Eliseu

Maciel, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2014.

MAURIELLO, G. et al. Isolation and technological properties of coagulase negative staphylococci from fermented sausages of Southern Italy. **Meat science**, v. 67, n. 1, p. 149–58, 2004.

MIRALLES, M. C.; FLORES, J.; PEREZ-MARTINEZ, G. Biochemical tests for the selection of *Staphylococcus* strains as potential meat starter cultures. **Food Microbiology**, v. 13, p. 227–236, 1996.

NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES. **Alternatives to the current use of nitrite in foods**. Washington, DC: National Academy Press, 1982.

NDOU, S. P.; MUCHENJE, V.; CHIMONYO, M. Animal welfare in multipurpose cattle production systems and its implications on beef quality. **African Journal of Biotechnology**, v. 10, n. 7, p. 1049–1064, 2011.

OLESEN, P. T.; MEYER, A. S.; STAHNKE, L. H. Generation of flavour compounds in fermented sausages - The influence of curing ingredients, *Staphylococcus* starter culture and ripening time. *Meat Science*, v. 66, n. 3, p. 675–687, 2004.

OLIVEIRA, J. D. DE; SILVA, T. R. DOS S.; CORREIA, M. DAS G. DA S. Fatores determinantes da qualidade nutricional da carne bovina. **Cadernos de Graduação - Ciências Biológicas e da Saúde**, v. 1, n. 16, p. 37–46, 2013.

ORDOÑEZ, J. A. **Tecnologia de Alimentos**. Porto Alegre: Artmed, 2005.

OSPINA-E, J. C. et al. Development of combinations of chemically modified vegetable oils as pork backfat substitutes in sausages formulation. **Meat Science**, v. 84, n. 3, p. 491–497, 2010.

PARDI, M. C. et al. **Ciência, Higiene e Tecnologia da Carne**. 2. ed. Goiânia: Editora da UFG, 2006.

PARDI, M. C. et al. **Ciência, Higiene e Tecnologia da Carne: Tecnologia da Carne e de Subprodutos. Processamento tecnológico**. 2. ed. Goiânia: Editora UFV, 2007.

PEGG, R. B.; SHAHIDI, F. **Nitrite curing of meat: the N-nitrosamine problem and**

**nitrite alternatives.** Trumbull, USA: Food and Nutrition Press, 2004.

PINTO, M. F.; PONSANO, E. H. G.; HEINEMANN, R. J. B. Bactérias envolvidas no processamento de produtos cárneos – uma revisão. **Boletim do BCTA**, v. 35, n. 1-2, p. 109–116, 2001.

PRICE, J.; SCHWEIGERT, B. **Ciência de la carne y de los productos carnicos.** Zaragoza: Acribia, 1994.

RAHARJO, S.; SOFOS, J. N.; SCHMIDT, G. R. Improved speed, specificity, and limit of determination of an aqueous acid extraction thiobarbituric acid-C18 method for measuring lipid peroxidation in beef. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 40, n. 50 mL, p. 2182–2185, 1992.

RECH, R. A. **Produção de salame tipo italiano com teor de sódio reduzido.** 2010. 69 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos), Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2010.

RESURRECCION, A. V. A. Sensory aspects of consumer choices for meat and meat products. **Meat Science**, v. 66, n. 1, p. 11–20, 2004.

ROÇA, R. O. Cura de carnes. Botucatu: [s.n.], 2005. Disponível em: <<http://www.fca.unesp.br/outros/tcarne/textos/Roca111.pdf>>.

ROSSI, F. et al. Identification by 16S-23S rDNA intergenic region amplification, genotypic and phenotypic clustering of *Staphylococcus xylosus* strains from dry sausages. **Journal of Applied Microbiology**, v. 90, n. 3, p. 365–371, 2001.

RUI, Y. H. et al. **Meat fermentation technology.** New York: Marcel Dekker, 2001.

RUIZ-MOYANO, S. et al. Application of *Lactobacillus fermentum* HL57 and *Pediococcus acidilactici* SP979 as potential probiotics in the manufacture of traditional Iberian dry-fermented sausages. **Food Microbiology**, v. 28, n. 5, p. 839–847, 2011.

SANTAMARIA, P. Nitrate in vegetables: Toxicity, content, intake and EC regulation. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 86, n. 1, p. 10–17, 2006.

SAWITZKI, M. C. et al. *Lactobacillus plantarum* AJ2 isolated from naturally fermented

sausage and its effects on the technological properties of Milano-type salami. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 28, n. 3, p. 709–717, 2008.

SAWITZKI, M. C. et al. Phenotypic characterization and species-specific PCR of promising starter culture strains of *Lactobacillus plantarum* isolated from naturally fermented sausages. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 38, p. 547–552, 2007.

SCHIFFNER, N.; OPPEL, K.; LÖRTZING, D. **Elaboración casera de carne y embutidos**. Zaragoza: Acribia, 2005.

SEBRANEK, J. G. et al. Beyond celery and starter culture: Advances in natural/organic curing processes in the United States. **Meat Science**, v. 92, p. 267–273, 2012.

SEBRANEK, J. G.; BACUS, J. N. Cured meat products without direct addition of nitrate or nitrite: what are the issues? **Meat Science**, v. 77, n. 1, p. 136–147, 2007.

SERVIÇO BRASILEIRO DE RESPOSTAS TÉCNICAS. **Dossiê técnico – produção de embutidos crus curados – salame**. 2008. Disponível em: <<http://www.sbrt.ibict.br>>.

SHIMOKOMAKI, M. et al. **Atualidades em Ciência e Tecnologia de Carnes**. São Paulo: Livraria Varela, 2006.

SILVA, N.; JUNQUEIRA, V. C. A.; SILVEIRA, N. F. A. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos**. São Paulo: Livraria Varela, 1997.

SIMONOVÁ, M. et al. Characterization of *Staphylococcus xylosus* and *Staphylococcus carnosus* isolated from Slovak meat products. **Meat Science**, v. 73, n. 4, p. 559–564, 2006.

SINDELAR, J. J. et al. Development of a method to manufacture uncured, no-nitrate/nitrite-added whole muscle jerky. **Meat Science**, v. 86, n. 2, p. 298–303, 2010.

SINDELAR, J. J. et al. Effects of varying levels of vegetable juice powder and incubation time on color, residual nitrate and nitrite, pigment, pH, and trained sensory attributes of ready-to-eat uncured ham. **Journal of Food Science**, v. 72, n. 6, p. 388–395, 2007.

SINDELAR, J. J. et al. Effects of vegetable juice powder concentration and storage time on some chemical and sensory quality attributes of uncured, emulsified cooked sausages. **Journal of Food Science**, v. 72, n. 5, p. 324–332, 2007.

SINDELAR, J. J.; MILKOWSKI, A. L. Sodium nitrite in processed meat and poultry meats : a review of curing and examining the risk/benefit of its use. **American Meat Science Association**, v. 3, p. 1–14, 2011.

TABANELLI, G. et al. Effects of starter cultures and fermentation climate on the properties of two types of typical Italian dry fermented sausages produced under industrial conditions. **Food Control**, v. 26, n. 2, p. 416–426, 2012.

TALON, R.; LEROY, S.; LEBERT, I. Microbial ecosystems of traditional fermented meat products: The importance of indigenous starters. **Meat Science**, v. 77, n. 1, p. 55–62, 2007.

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

TERRA, N. N. **Apontamentos sobre tecnologia de carnes**. São Leopoldo: Editora Unisinos, 2005.

THOMPSON, J. M. et al. Beef quality grades as determined by Korean and Australian consumers. **Australian Journal of Experimental Agriculture**, v. 48, n. 11, p. 1380, 2008.

TOLDRÁ, F. **Handbook of Meat Processing**. Blackwell Publishing Ltda, 2010.

TOLDRÁ, F. Sodium reduction in foods: a necessity for a growing sector of the population. **Trends in Food Science & Technology**, v. 18, n. 11, p. 583, 2007.

TRINDADE, M.; OLIVEIRA, J. DE. Mortadella sausage produced with soybean oil instead of pork fat. **Italian Journal of Food Science**, v. 23, p. 72–80, 2011.

TROY, D. J.; KERRY, J. P. Consumer perception and the role of science in the meat industry. **Meat Science**, v. 86, n. 1, p. 214–226, 2010.

VANDENDRIESSCHE, F. Meat products in the past, today and in the future. **Meat Science**, v. 78, n. 1-2, p. 104–113, 2008.

VARNAN, A. H.; SUTHERLAND, J. P. **Carne y productos cárnicos: Tecnología, química y microbiología**. Zaragoza: Acribia, 1998.

WOODS, L. F.; WOOD, J. M. A note on the effect of nitrite inhibition on the metabolism of *Clostridium botulinum*. **The Journal of Applied Bacteriology**, v. 52, n. 1, p. 109–110, 1982.

YILDIZ-TURP, G.; SERDAROGLU, M. Effects of using plum puree on some properties of low fat beef patties. **Meat Science**, v. 86, n. 4, p. 896–900, 2010.

ZANARDI, E. et al. Mineral composition of Italian salami and effect of NaCl partial replacement on compositional, physico-chemical and sensory parameters. **Meat Science**, v. 86, n. 3, p. 742–747, 2010.

ZEPEDA, L. et al. A conceptual framework for analyzing consumers' food label preferences: An exploratory study of sustainability labels in France, Quebec, Spain and the US. **International Journal of Consumer Studies**, v. 37, n. 6, p. 605–616, 2013.

ZEUTHEN, P.; BOGH-SORENSEN, L. **Food Preservation Techniques**. USA: Wood Publishing Limited and CRC Press LLC, 2003.

## APÊNDICES

## Apêndice A

## Apêndice

Teste de escala hedônica estruturada				
Idade: ( )15-20 ( )20-25 ( )25-30 ( )30-35 ( )40-45 ( )45-50				Sexo: ( )F ( )M
Nome:			Data:	
<p><b>INSTRUÇÕES:</b> Você está recebendo 4 amostras de embutido fermentado. Por favor, prove as amostras da ESQUERDA para a DIREITA e avalie cuidadosamente cada um dos atributos sensoriais de acordo com o seguinte critério:</p> <p>9 - Gostei extremamente  8 - Gostei moderadamente  7 - Gostei regularmente  6 - Gostei ligeiramente  5 - Nem gostei, nem desgostei  4 - Desgostei ligeiramente  3 - Desgostei regularmente  2 - Desgostei moderadamente  1 - Desgostei extremamente</p>				
Atributo	Número das Amostras			
	638	417	324	902
Cor				
Sabor				
Odor				
Textura				
Aparência				

- Comentários:

Teste de intenção de compra – Amostra 638	
Nome:	Data:
<p><b>INSTRUÇÕES:</b> Após ter avaliado as amostras de embutido fermentado, indique o grau de certeza que demonstra o quanto você estaria disposto a comprar este produto, se o encontrasse à venda, de acordo com o seguinte critério:</p> <p>7 - Compraria sempre  6 - Compraria muito frequentemente  5 - Compraria frequentemente  4 - Compraria ocasionalmente  3 - Compraria raramente  2 - Compraria muito raramente  1 - Nunca compraria</p>	
	Número da amostra – Amostra 638
Critério	

## Apêndice B

MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO  
UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS  
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AGROINDUSTRIAL  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE  
ALIMENTOS

**Termo de Consentimento Livre e Esclarecido – TCLE**

Eu, **Ana Rita Carboni Ritter**, estou juntamente com uma equipe de pesquisadores, desenvolvendo a pesquisa intitulada: **Culturas iniciadoras nativas na produção de salame tipo italiano curado com extrato de aipo**, com o objetivo de verificar o efeito do extrato de aipo (vegetal) na cura e aceitabilidade de Salame Tipo Italiano, elaborado com culturas iniciadoras nativas.

O salame elaborado leva em sua formulação: carne suína e bovina, gordura suína, açúcar (sacarose), sal, alho, pimenta branca, sais de cura (nitrito e nitrato de sódio), extrato de aipo, culturas iniciadoras nativas (*Lactobacillus plantarum* AJ2 e *Staphylococcus xylosum* AD1). Após a fabricação, os salames serão armazenados em câmara de secagem onde permanecerão por 28 dias, quando então serão submetidos às análises propostas, e posteriormente a degustação do salame por voluntários, com a finalidade de verificar a aceitação do salame pelos mesmos.

Nesta pesquisa serão utilizados carnes e ingredientes (temperos) de qualidade, e o embutido será elaborado com toda a higiene e cuidados necessários, as bactérias foram isoladas de salame artesanal, identificadas e caracterizadas em estudos anteriores, e o aipo é um vegetal utilizado em molhos, sopas, não apresentando risco ao consumidor.

Declara-se também que a análise sensorial será realizada somente se os resultados das contagens de bactérias que são responsáveis por transmitir doenças estiverem de acordo com a exigência da legislação vigente, garantindo dessa forma, que o provador irá consumir um produto seguro.

A sua desistência poderá ser realizada a qualquer momento, sem qualquer tipo de prejuízo, represália ou ônus e esclarecimentos sobre a pesquisa serão fornecidos sempre que se fizer necessário.

Participarão desta análise sensorial somente os interessados que na reunião de esclarecimento sobre a pesquisa, tenham hábito de consumir embutidos cárneos e que não tenham reações alérgicas.

Se você estiver de acordo em participar, posso garantir que as informações fornecidas serão confidenciais e só serão utilizadas nesta pesquisa.

Pesquisador responsável: **Ana Rita Carboni Ritter**-(53) 99994475 arcarboni@yahoo.com.br  
Prof orientador: Dr<sup>a</sup> Ângela Maria Fiorentini - (53) 9138-7367 angefiore@gmail.com

Eu, \_\_\_\_\_, fui esclarecido (a) sobre a pesquisa, **Culturas iniciadoras nativas na produção de salame tipo italiano curado com extrato de aipo**, e concordo que os dados da minha avaliação sensorial do embutido fermentado sejam utilizados na realização da mesma.

Assinatura: \_\_\_\_\_

RG: \_\_\_\_\_

E-mail: \_\_\_\_\_

Fone: \_\_\_\_\_

Pelotas, \_\_\_\_ / \_\_\_\_ / \_\_\_\_\_