**Universidade de São Paulo
Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”**

**Funcionalidade de própolis livre e microencapsulada
em salame tipo Italiano**

Sabrina Bernardi

Dissertação apresentada para obtenção do título de
Mestre em Ciências. Área de concentração: Ciência e
Tecnologia de Alimentos

**Piracicaba
2010**

Sabrina Bernardi
Engenheira de Alimentos

**Funcionalidade de própolis livre e microencapsulada
em salame tipo Italiano**

Orientadora:
Profa. Dra. **CARMEN JOSEFINA CONTRERAS CASTILLO**

Dissertação apresentada para obtenção do título de Mestre
em Ciências. Área de concentração: Ciência e Tecnologia
de Alimentos

**Piracicaba
2010**

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
DIVISÃO DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - ESALQ/USP**

Bernardi, Sabrina

Funcionalidade de própolis livre e microencapsulada em salame tipo italiano / Sabrina
Bernardi. - - Piracicaba, 2010.
126 p. : il.

Dissertação (Mestrado) - - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", 2010.
Bibliografia.

1. Antioxidantes 2. Oxidação 3. Própolis 4. Salame - Qualidade 5. Vida-de-prateleira
Título

CDD 664.92
B523f

"Permitida a cópia total ou parcial deste documento, desde que citada a fonte – O autor"

Aos meus pais, Antonio Luiz Bernardi e
Márcia Antonia Libardi Bernardi por todo o
apoio, paciência, carinho e ensinamentos
desde o início da minha existência.

DEDICO

Ao Tony, por fazer parte da minha vida.

OFEREÇO

AGRADECIMENTOS

À minha orientadora, Prof^a. Dra. Carmen Josefina Contreras Castillo, meu imenso agradecimento pela dedicação, disposição a qualquer hora, aprendizados, confiança e amizade.

À minha família, meu pai Antonio Luiz e minha mãe Márcia pela força, paciência, dedicação e principalmente por fazer possível a minha graduação, e agora o mestrado. Meu eterno agradecimento.

Ao meu irmão Felipe pelo apoio, força e cooperação com as explicações estatísticas. Aos meus avôs Décio e Normélia, por todo o carinho e dedicação.

Ao meu amado Tony, por sempre estar presente mesmo a grande distância, sempre com amor e carinho, me incentivando e apoiando em todos os momentos.

À Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos (FZEA) e à Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” (ESALQ) pela excelência em minha formação.

À Prof^a. Dra. Carmen Sílvia Fávaro Trindade por todo o incentivo, amizade, cooperação e parceria para todo o andamento do projeto.

A toda equipe do Laboratório de Produtos Funcionais (LAPROF), da FZEA/USP, principalmente ao Felipe Correa da Silva pela grande ajuda com as análises microbiológicas e ao Marcelo Thomazini, por todo auxílio prestado.

À Carolina Rodrigues da Fonseca pelo grande auxílio nas análises microbiológicas.

À Prof^a. Dra. Angela Dulce Cavenaghi por toda ajuda e ensinamentos práticos, principalmente para os primeiros passos do desenvolvimento do projeto.

Ao Centro de Tecnologia de Carnes (CTC) do Instituto de Tecnologia de Alimentos (ITAL) pela colaboração, principalmente à Márcia Mayumi Harada Haguiwara pela ajuda com o processamento e à Dra. Eunice Akemi Yamada pelas sugestões à dissertação.

Ao Prof. Dr. Marco Antonio Trindade pela grande colaboração no projeto com o seu apoio nas análises sensoriais.

Ao Prof. Dr. Júlio Cesar de Carvalho Balieiro pelo grande auxílio com as análises estatísticas.

A toda equipe do Laboratório de Qualidade de Carnes, especialmente Miriam, Raq, Juliana, Priscila, Anna, Troppo, Massafera, D-Cinema, Damasko, Alessandra, (Ju²)ba, Lucy, Márcio e Allan por todo auxílio, amizade e companheirismo. Sucesso para todos.

À Roberta Teresa Rizzo Benatto, por todo apoio, amizade e companheirismo.

A todos os colaboradores diretos e indiretos do Departamento de Agroindústria, Alimentos e Nutrição por toda ajuda prestada no dia-a-dia, principalmente ao Jefferson Zambon pelo auxílio com a manutenção dos equipamentos.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pelo auxílio financeiro ao projeto e pela bolsa de estudo fundamentais a realização de todo o trabalho.

Às empresas Ibrac, Chr. Hansen, Viscofan e Cryovac que gentilmente forneceram insumos necessários para a realização dos processamentos de salame.

À banca examinadora pelas correções e sugestões.

A todos os julgadores da análise sensorial, que auxiliaram imensamente na realização e conclusão desta etapa.

E, por fim, a todos aqueles que contribuíram de alguma forma para a realização deste trabalho.

SUMÁRIO

RESUMO	9
ABSTRACT	11
1 INTRODUÇÃO	13
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	15
2.1 Salame	15
2.1.1 Padrões de qualidade	15
2.1.2 Características do processamento	16
2.1.3 Composição em ácidos graxos	18
2.2 Própolis	19
2.3 Microencapsulação	20
2.3.1 Microencapsulação por <i>spray drying</i>	21
2.3.2 Microencapsulação por coacervação complexa	21
2.3.3 Agentes encapsulantes	22
2.4 Oxidação lipídica	22
2.4.1 Reação de oxidação	23
2.4.2 Quantificação da oxidação lipídica	24
2.5 Ação dos antioxidantes	25
2.5.1 Antioxidantes sintéticos e sua potencial toxicidade	25
2.5.2 Antioxidantes naturais	26
2.6 Alteração da cor em salames	28
3 MATERIAL E MÉTODOS	31
3.1 Material	31
3.1.1 Ensaio 1	31
3.1.2 Ensaio 2	33
3.2 Métodos	35
3.2.1 Processamento dos salames	35
3.2.2 Avaliação da perda de peso	38
3.2.3 Determinação da oxidação lipídica	39
3.2.4 Determinação da acidez em ácido oléico	40
3.2.5 Avaliação do pH	41
3.2.6 Determinação da atividade de água	42
3.2.7 Parâmetros da cor instrumental	43
3.2.8 Avaliação microbiológica	44

3.2.9	Análise sensorial.....	46
3.2.10	Análises estatísticas	47
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	51
4.1	Ensaio 1	51
4.1.1	Processamento.....	51
4.1.2	Determinação da oxidação lipídica.....	52
4.1.3	Avaliação do pH.....	56
4.1.4	Acidez em ácido oléico	58
4.1.5	Atividade de água	60
4.1.6	Parâmetros de cor	61
4.1.7	Considerações finais sobre o ensaio 1.....	65
4.2	Ensaio 2	66
4.2.1	Processamento.....	66
4.2.2	Caracterização da massa	66
4.2.3	Perda de peso.....	69
4.2.4	Determinação da oxidação lipídica.....	72
4.2.5	Análises microbiológicas	76
4.2.5.1	Padrões microbiológicos	76
4.2.5.2	Bactérias lácticas.....	80
4.2.6	Acidez em ácido oléico	81
4.2.6	Avaliação do pH.....	85
4.2.7	Determinação da atividade de água.....	88
4.2.8	Parâmetros de cor	90
4.2.9	Análise sensorial	97
5	CONCLUSÃO	111
	REFERÊNCIAS	113

Funcionalidade de própolis livre e microencapsulada em salame tipo Italiano

RESUMO

Antioxidantes sintéticos são atualmente adicionados em salames, porém, devido à maior preocupação dos consumidores com a saúde e a toxicidade destes compostos, os antioxidantes naturais vêm sendo muito estudados. A própolis é um composto que apresenta várias propriedades biológicas, dentre elas a antioxidante. No entanto, devido ao seu sabor forte e dificuldade de solubilização, é pouco empregada em alimentos, sendo que técnicas de microencapsulação têm solucionado este tipo de problema. Assim sendo, o objetivo deste trabalho foi avaliar a funcionalidade da própolis livre e microencapsulada como antioxidante natural em salame tipo Italiano, verificando também os efeitos desta incorporação sobre as características de qualidade deste produto. Para isso, um ensaio (ensaio 1) com própolis microencapsulada por *spray drying* com dois agentes encapsulantes distintos, amido OSA (amido com anidrido octenil succínico) e goma arábica, foram aplicadas em diferentes concentrações em salames e comparadas com uma amostra padrão, isenta de própolis e antioxidante sintético. As amostras de salame adicionadas de 0,15% de própolis microencapsulada, tanto com amido OSA como goma arábica, mostraram-se eficientes no controle da oxidação lipídica durante o processo de secagem e maturação dos salames, diferindo consideravelmente do controle. Neste caso, o teor de acidez, cor instrumental e pH não foram afetados negativamente. Após os ensaios da estabilidade e propriedades das microcápsulas, em conjunto com os resultados do ensaio 1, um segundo ensaio foi realizado (ensaio 2), onde os salames foram divididos nos grupos *spray drying* e coacervação. A funcionalidade da própolis livre, microencapsulada por *spray drying* com dois agentes encapsulantes diferentes e por coacervação complexa, foi avaliada comparando-os com salames adicionados de eritorbato de sódio. Nestes ensaios foram verificadas a oxidação lipídica, a cor instrumental, o pH, a atividade de água, a acidez, além da realização de análises microbiológicas e sensoriais nos salames com até 90 dias de armazenamento. Durante o processamento, procedeu-se a análise de perda de peso dos salames para garantir a padronização do processo. Pelos resultados obtidos no ensaio 2, não foi possível diferenciar os tratamentos quanto ao efeito antioxidante da própolis nos salames na medida em que o aumento da oxidação lipídica no decorrer do armazenamento foi baixo, resultado confirmado pela não percepção da rancidez sensorialmente. No entanto, pela análise sensorial verificou-se que os salames com microcápsulas de própolis com amido OSA preparada pela técnica de *spray drying* foram tão aceitos quanto aqueles com eritorbato de sódio, além de não apresentar resultados negativos na avaliação da qualidade pelas análises propostas. Considerando que estas microcápsulas de própolis já mostraram ação antioxidante em salames no ensaio 1, em próximos estudos seria importante a avaliação da atividade antioxidante da própolis microencapsulada nos salames sob condições críticas de conservação para acelerar a taxa de oxidação lipídica e melhorar a visualização dos efeitos antioxidantes da própolis.

Palavras-chave: Salame; Própolis; Antioxidante; Oxidação; Qualidade; Vida útil

Functionality of free and microencapsulated propolis in salami

ABSTRACT

Synthetic antioxidants are currently added to salami, but due to greater concern for consumer health and toxicity of these compounds, natural antioxidants have been more studied. Propolis is a compound that has several biological properties, among them antioxidant. However, due to its strong flavor and difficulty of solubilization, it is little used in food, and microencapsulation techniques have solved such problems. Therefore, the objective was to evaluate the functionality of free and microencapsulated propolis as natural antioxidant in Italian salami, also verifying the effects of this incorporation on the quality characteristics of this product. For this, a test (test 1) with propolis microencapsulated by spray drying with two different encapsulating agents, OSA starch (starch with octenyl succinic anhydride) and arabic gum were applied at different concentrations in salami and compared with a control sample, free of propolis and synthetic antioxidant. The samples of salami with added 0.15% microencapsulated propolis, both with OSA starch and arabic gum, were effective in controlling lipid oxidation during the drying process and the ripening of salami, differing greatly from the control. In this case, the acidity, pH and instrumental color were not affected negatively. After testing the stability and properties of the microcapsules, together with the results of test 1, a second test was performed (test 2), where the sausages were divided into groups spray drying and coacervation. The functionality of free propolis, microencapsulated by spray drying with two different encapsulating agents and by complex coacervation, was evaluated by comparing them with salami added by sodium erythorbate. In these trials were checked lipid oxidation, instrumental color, pH, water activity, acidity, besides conducting the microbiological and sensory analysis in salamis up to 90 days of storage. During processing, weight loss analysis of sausages was carried to ensure standardization of the process. From the results obtained in test 2, was not possible to differentiate the treatments for antioxidant effect of propolis on salami in that the increase in lipid oxidation during storage was low, a result confirmed by no sensory perception of rancidity. However, the sensory analysis it was found that the salami with microcapsules of propolis with OSA starch prepared by spray drying technique was so widely accepted as those with sodium erythorbate, and no reported negative results in the quality assessment by the proposed analysis. Whereas these microcapsules of propolis have shown antioxidant activity in salami in test 1, in future studies would be important to evaluate the antioxidant activity of propolis microencapsulated in salami under critical conditions of storage for accelerate the rate of lipid oxidation and improve the visualization of the antioxidant effects of propolis.

Keywords: Salami; Propolis; Antioxidant; Oxidation; Quality; Shelf life

1 INTRODUÇÃO

Salame é um produto elaborado com carne e gordura cominuídos, misturado com sal, nitrato e/ou nitrito, açúcar e especiarias, embutido e submetido a um processo de fermentação e secagem. O produto final possui uma boa conservação e uma maior vida útil, como consequência da inibição de bactérias patogênicas e deteriorantes (HUGAS; MONFORT, 1997).

Em embutidos cárneos, é comum a elevada concentração de colesterol, lipídeos e ácidos graxos que são suscetíveis à oxidação lipídica, reação esta responsável pela alteração dos ácidos graxos e formação de óxidos de colesterol (BAGGIO; BRAGAGNOLO, 2006). Em função dessa grande quantidade de compostos e devido à complexidade e variabilidade da oxidação lipídica, este processo é de difícil controle (OLIVO, 2006) e pode ser afetado pelo tipo e extensão do armazenamento e processamento empregado, como a moagem e a mistura (NOVELLI et al., 1998). Logo, a rancidez, como também é conhecida a oxidação lipídica, é a deterioração mais importante que ocorre nesse tipo de produto, definindo sua vida útil por formar produtos indesejáveis do ponto de vista sensorial e por degradar vitaminas lipossolúveis e ácidos graxos essenciais (CECCHI, 1999).

Para o controle desse tipo de deterioração, além dos antioxidantes sintéticos utilizados atualmente pelas indústrias cárneas, é possível a aplicação de antioxidantes naturais para prolongar a vida útil dos embutidos cárneos como o salame. O desafio maior está em desenvolver esses produtos com a mesma qualidade e custo compatível com os convencionais, para assim atender a expectativa dos consumidores (BERNARDI; OETTERER; CONTRERAS-CASTILLO, 2008). Muitos compostos naturais de produtos apícolas de diferentes origens podem ter papel importante pela atividade antioxidante e antimicrobiana, contribuindo com a demanda por aditivos naturais e não-tóxicos (NAGAI et al., 2006), sendo que dentre eles, destaca-se a própolis.

A própolis é uma mistura complexa, formada por material resinoso e balsâmico, coletada pelas abelhas dos ramos, flores, pólen, brotos e exsudados de árvores (GHISABERTI, 1979; MARCUCCI, 1995) e de vários tipos de plantas (CHEMID, 1996). Diversos trabalhos têm sido publicados divulgando e revisando as propriedades

biológicas da própolis como a antimicrobiana, antifúngica, antiprotozoária, antioxidante e antiviral (MARCUCCI, 1995; BURDOCK, 1998).

Devido ao sabor forte e dificuldade de solubilização, a produção de própolis em maior escala e aplicação em diferentes formulações é dificultada. A microencapsulação, tecnologia relativamente nova que tem sido empregada com êxito na indústria de cosméticos, farmacêutica e alimentícia, pode solucionar essas limitações devido à capacidade de atenuar sabores indesejáveis, reduzir a volatilidade, higroscopicidade e reatividade, aumentar a solubilidade, além de possibilitar um aumento na estabilidade destes em condições ambientais adversas (BRANNON-PEPPAS, 1993; FAVARO-TRINDADE; PINHO; ROCHA, 2008).

Os embutidos cárneos como o salame, são muitas vezes considerados produtos menos saudáveis devido ao seu conteúdo de gordura e aditivos adicionados na formulação. Neste sentido, a adição de própolis com a finalidade de substituição de antioxidantes sintéticos poderia trazer benefícios à saúde, já que muitos deles são considerados potencialmente tóxicos. Esta substituição estaria contribuindo para o aumento do consumo desses produtos por uma parcela da população preocupada com a saúde.

A própolis tem grande potencial de aplicação na indústria de alimentos, porém, devido a algumas características particulares, sua utilização é limitada ou até mesmo inviável. Com isso, o estudo e o desenvolvimento de novas aplicações da própolis tornam-se extremamente positivos para os produtores de própolis, de alimentos e consumidores, que estariam adquirindo um produto com um aditivo natural e benéfico à saúde.

A adição da própolis em salame tipo Italiano também agregaria valor a este produto, que tem apresentado um consumo crescente e cujos consumidores são exigentes em termos de qualidade.

Com isso, o objetivo deste trabalho foi definir a melhor concentração e avaliar a função antioxidante da própolis nas formas livre e microencapsulada em salame tipo Italiano, acompanhando também seus efeitos sobre algumas características de qualidade do produto ao longo de sua vida útil.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Salame

A introdução dos produtos cárneos fermentados no Brasil, data da colonização por imigrantes alemães e italianos, principalmente na região sul do país. Este fenômeno social deu origem à industrialização deste produto, sendo que atualmente é um importante segmento da indústria cárnea (LAPPE, 2004). O salame tipo Italiano é um produto de alto valor agregado cujo consumo tende a aumentar e cujos consumidores são exigentes em termos de qualidade (GARCIA; GAGLEAZI; SOBRAL, 2000). É o tipo mais consumido nas regiões Sul e Sudeste brasileiro, sendo que no Brasil é predominantemente obtido a partir de carne suína e a maturação deste produto é de aproximadamente trinta dias, com aroma e sabor suaves após este período (TERRA, 1998).

Segundo Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade do Salame tipo Italiano, este embutido pode ser definido como um produto cárneo industrializado, elaborado de carne suína ou suína e bovina, toucinho, adicionado de ingredientes, embutido em envoltórios naturais ou artificiais, curado, defumado ou não, fermentado, maturado e dessecado. A presença de mofos característicos é consequência natural do seu processo tecnológico de fabricação. Deve conter obrigatoriamente um mínimo de 60% de carne suína, além de toucinho, sal, nitrito e/ou nitrato de sódio e/ou potássio (BRASIL, 2000).

2.1.1 Padrões de qualidade

A percepção de qualidade de um alimento pelos consumidores é resultado de uma complexa interação entre as características químicas, físicas, microbiológicas e sensoriais, assim como sua interação com fatores subjetivos e culturais (DELLAGLIO; CASIRAGHI; POMPEI, 1996).

Quanto ao padrão de qualidade do salame tipo Italiano, a legislação brasileira define que este deve apresentar no máximo 0,90 de atividade de água, conter no

máximo 35% de umidade, 32% de gordura e 4,0% de carboidrato e no mínimo 25% de proteína. Os atributos sensoriais de textura, cor, sabor e odor devem ser característicos do produto (BRASIL, 2000). A legislação brasileira não especifica os limites de valores para pH e acidez.

O salame faz parte de um grupo de produtos cárneos muito heterogêneos, com consideráveis variações nos níveis de ingredientes, teor de gordura, condições e velocidade de processo, entre outros (OLESEN; MEYER; STAHNKE, 2004).

2.1.2 Características do processamento

O salame é um produto classificado como de umidade intermediária, podendo ser armazenado a temperatura ambiente. Em seu processamento aplica-se uma combinação de fatores que contribuem para a manutenção de sua qualidade microbiológica e sensorial. Dentre esses fatores incluem-se o pH e a atividade de água reduzidos, presença de microbiota competitiva (cultura *starter*), aditivos como o nitrito e nitrato de sódio e presença de ácidos orgânicos, como o ácido láctico (LEISTNER, 2000).

A adição intencional de cultura *starter* tem o propósito de melhorar sua estabilidade, aumentar a vida útil por meio da inativação de microrganismos patogênicos e diversificar os produtos pela obtenção de novas características sensoriais (LÜCKE, 2000). Dentre os microrganismos atualmente utilizados como cultura *starter* destaca-se a utilização conjunta de *Staphylococcus xylosus* e o *Pediococcus pentosaceus*. O *S. xylosus* DD-34 apresenta atividade anaeróbia facultativa e temperatura ótima de crescimento de 30°C. É responsável pela formação de catalase, redução de nitrato a nitrito, assim como pelos processos de lipólise e proteólise. O *P. pentosaceus* PCFF-1 também é anaeróbio facultativo, apresenta desenvolvimento ótimo a 35°C e é responsável pela produção de ácido láctico (CHR. HANSEN, 2008), o que contribui para aumentar a segurança dos embutidos cárneos pela redução do pH. O ácido láctico coagula as proteínas solúveis da carne, reduz sua capacidade de retenção de água e contribui com o processo de secagem (LÜCKE, 2000), além de colaborar com o sabor e aroma característicos deste produto (BACUS,

1986). Por sua vez, a atividade nitrato redutase das cepas de *Staphylococcus* tem papel significativo na formação de óxido nítrico para a formação de nitrosomioglobina (GØTTERUP et al., 2008) e esses microrganismos também são responsáveis pela formação de importantes compostos voláteis nos embutidos (OLESEN; MEYER; STAHNKE, 2004). O *S. xylosus*, juntamente com *S. carnosus*, *S. saprophyticus* e *Kocuria varians* são as espécies de estafilococos coagulase negativa mais frequentemente utilizados como cultura *starter* comercial no processamento de embutido cárneo fermentado, sendo o primeiro, uma das espécies mais proteolíticas, com alta atividade nitrato redutase (BONOMO et al., 2009).

A fermentação é uma fase complexa do processo de elaboração dos salames, pois é o momento em que ocorre a maioria das alterações físicas, bioquímicas e microbiológicas (BERIAIN; PEÑA; BELLO, 1993). É influenciada pelas características da matéria-prima (BACUS, 1984) e do processo (RONCALÉS et al., 1991). Lizasco, Chasco e Beriain (1999) resumiram as transformações nas seguintes etapas: alteração na microbiota inicial, decréscimo nos valores de pH, redução do nitrato a nitrito para a formação de nitrosomioglobina, solubilização e geleificação das proteínas miofibrilares e sarcoplasmáticas, proteólise e lipólise. O processo de cura, caracterizado pela redução do nitrato a nitrito para formação de nitrosomioglobina, contribui com o desenvolvimento da textura, cor e sabor característicos do produto (OLESEN; MEYER; STAHNKE, 2004). A fermentação, associada com o uso de sais e à produção de ácido láctico, desnatura frações de proteínas sarcoplasmáticas e desestabilizam as proteínas miofibrilares, contribuindo com um importante aumento da firmeza do salame durante o processamento (GARCIA; GAGLEAZZI; SOBRAL, 2000).

Após a fermentação, inicia-se o processo de maturação e secagem, na qual o produto adquire consistência firme e fatiabilidade (BUCKENHÜSKES, 1993). Nesta etapa, pode-se desenvolver na superfície das peças de salame colônias brancas de bolores e leveduras que contribuem para as propriedades sensoriais desejáveis ao produto (LÜCKE, 2000), sendo um aspecto que revela uma boa condição de secagem (GALLI, 1993).

Com a diferenciação do processo produtivo, assim como a incorporação de culturas *starter*, pode ocorrer a formação de vários compostos diferentes provenientes

do metabolismo microbiano (DELLAGLIO; CASIRAGHI; POMPEI, 1996) que podem ser responsáveis por alterações sensoriais. Portanto, a soma das alterações microbiológicas, bioquímicas, físicas e sensoriais durante o processamento de salames, determina os parâmetros de qualidade da cor, textura, vida útil e sabor do produto final (KOTTKE et al., 1996).

2.1.3 Composição em ácidos graxos

O processo oxidativo afeta particularmente os ácidos insaturados linoléico (18:2, n-6) e oléico (18:1, n-9) dos lipídeos de embutidos cárneos como o salame (CHASCO; BERIANI; BELLO, 1993) na medida que são os principais ácidos graxos insaturados, além do ácido araquidônico, encontrados em animais (DRANSFIELD, 2008). A ação das fosfolipases sobre os fosfolipídeos da membrana celular do músculo resulta em um significativo aumento do número de ácido graxos insaturados livres no salame durante a maturação, principalmente os ácidos linoléico, oléico e araquidônico (ZANARDI et al., 2004). Em produtos cárneos com longo período de maturação, as fosfolipases têm grande atuação durante os primeiros cinco meses. No décimo mês, a quantidade de ácidos graxos livres gerados pela ação das fosfolipases diminui devido à alta suscetibilidade desses compostos à oxidação, havendo a formação de um grande número de substâncias voláteis e precursores de aromas. A temperatura de maturação, o teor de sal, o pH e o potencial redox do produto cárneo durante o processamento influenciam a ação das enzimas lipolíticas, podendo alterar as características sensoriais do produto final (CICHOSKI; TERRA, 2001).

Na Tabela 1 observam-se as variações encontradas nos teores de ácidos graxos em diferentes embutidos cárneos fermentados e secos. Os níveis de ácidos graxos mono e poliinsaturados estão associados com a possível ocorrência de oxidação lipídica e rancidez (HADORN et al., 2008).

Tabela 1 – Teor de ácidos graxos¹ (%) saturados (AGS), monoinsaturados (AGMI) e poliinsaturados (AGPI) observados em diferentes embutidos cárneos fermentados e secos

Produto	% ácidos graxos ¹		
	AGS	AGMI	AGPI
Embutidos cárneos fermentados e secos	40	45	15
Embutidos cárneos fermentados e secos	40	47	13
Embutidos cárneos fermentados e secos	47	46	7
Salames sicilianos	37	55	8
Salame tipo italiano	39	46	15
Salame tipo italiano	40	47	13
Salame Italiano padrão	39	49	12
Salame tipo Milano	36	47	17

Fonte: Zanardi et al. (2004), Hadorn et al. (2008), Moretti et al. (2004), Baggio e Bragagnolo (2008), Herranz et al. (2008), Del Mobile et al. (2009).

¹Referente ao total de lipídeos extraídos das amostras.

As diferenças observadas são, em geral, decorrentes do sistema de produção animal, alimentação, características genéticas, idade, peso, entre outros. Esses fatores afetam a fisiologia e bioquímica de maturação dos tecidos utilizada para fabricar produtos a base de carne. No entanto, as principais diferenças na composição de ácidos graxos é influenciada pela composição de ácidos graxos dos lipídeos presentes na alimentação do animal (HERRANZ et al., 2008), sendo que a composição de ácidos graxos do produto obtido pode variar dependendo da região em que foi produzido, assim como da formulação empregada.

2.2 Própolis

Própolis é uma resina coletada por abelhas da espécie *Apis mellifera* de diversas partes de plantas como brotos, botões florais e exsudados resinosos (GHISALBERTI, 1979). Tem mostrado diversas atividades biológicas como atividade antimicrobiana, antiinflamatória, cicatrizante, anestésica, antitripanossomal (GHISALBERTI, 1979; BANKOVA; POPOV; MAREKOV, 1989; KHAYYAL; ELGHAZALY; ELKHATIB, 1993;

KUJUMGIEV et al., 1999; MARCUCCI et al., 2001; ALENCAR, 2002; MONTPIED et al., 2003; CUNHA et al., 2004), anticariogênica (PARK et al., 1998; KOO et al., 1999; DUARTE et al., 2003), antiviral, antioxidante (BURDOCK, 1998; CHEN et al., 1996; ALENCAR, 2002; CHEN et al., 2003; KUMAZAWA; HAMASAKA; NAKAYAMA, 2004) e fitotóxica (GHISALBERTI, 1979). Atribuem-se aos flavonóides e ácidos fenólicos, grande parte das atividades biológicas constatadas para a própolis (FUNARI; FERRO, 2006).

Recentemente, a própolis brasileira foi classificada em 12 grupos, sendo que os grupos que apresentam melhor atividade antimicrobiana foram os grupos 3 (RS); 6 (BA); 12 (MG) (PARK; ALENCAR; AGUIAR, 2002; ALENCAR, 2002). Os autores verificaram diferenças qualitativas e quantitativas na composição química destes grupos de própolis pelas técnicas de Cromatografia Líquida de Alta Eficiência e Cromatografia Gasosa com Espectrometria de Massas. As própolis do grupo 3 mostraram a presença do éster do ácido dimetil dialil caféico, o qual é um composto altamente alergênico e comumente encontrado em própolis de climas temperados. Própolis do grupo 6 apresentaram uma composição química distinta dos demais grupos, principalmente pela completa ausência de flavonóides. Entretanto, este foi o grupo que apresentou as maiores atividades contra os microrganismos *Streptococcus mutans* e *Staphylococcus coagulase positiva*. As própolis do grupo 12 também apresentaram atividade antibacteriana e forte atividade antioxidante.

2.3 Microencapsulação

Microencapsulação é a tecnologia de empacotamento em finas partículas poliméricas aplicáveis em sólidos, gotículas de líquidos ou material gasoso, formando pequenas partículas denominadas microcápsulas, que podem liberar seu conteúdo sob velocidade e condições específicas (TODD, 1970).

Microcápsulas podem ser descritas como embalagens extremamente pequenas, compostas de um polímero como material de parede e um material ativo chamado de núcleo. O ingrediente ativo pode ser um aditivo alimentício, um medicamento ou outros

materiais. São geralmente empregadas para melhorar o desempenho do material ou criar novas aplicações (ARSHADY, 1993).

Os propósitos gerais da microencapsulação podem ser: fazer um líquido comportar-se como sólido, separar materiais reativos, reduzir toxicidade do material ativo, controlar liberação do material, reduzir volatilidade ou inflamabilidade de líquidos, atenuar o sabor de componentes amargos, aumentar a vida útil, proteger contra luz, água, calor (JACKSON; LEE, 1991), facilitar a manipulação do material encapsulado e promover a diluição homogênea do material encapsulado em uma formulação alimentícia (SHAHIDI; HAN, 1993).

Existem diversas técnicas que podem ser utilizadas para a microencapsulação de ingredientes alimentícios, sendo que a seleção do método depende da aplicação que será dada a microcápsula, tamanho desejado, mecanismo de liberação e propriedades físico-químicas tanto do material ativo quanto do agente encapsulante (JACKSON; LEE, 1991). Dentre essas técnicas, inclui-se o método por *spray drying* e coacervação complexa.

2.3.1 Microencapsulação por *spray drying*

A produção de microcápsulas por atomização, ou seja, pelo método *spray drying*, é a mais utilizada na indústria alimentícia (JACKSON; LEE, 1991). Oferece as vantagens de ser de baixo custo, haver grande diversidade e disponibilidade de equipamentos e permitir a utilização de uma grande variedade de materiais de paredes, porém, a dispersibilidade das cápsulas pode ser difícil devido à formação de partículas extremamente pequenas (BRANNON-PEPPAS, 1993).

2.3.2 Microencapsulação por coacervação complexa

A coacervação complexa é um dos métodos mais estudados, até por ser o mais antigo, e resulta da neutralização mútua de dois colóides carregados com cargas opostas em solução aquosa (SOUZA, 2005). Uma das maiores barreiras para utilização deste método é como conservar e comercializar essas cápsulas. Uma solução que tem

sido bastante aplicada é a desidratação do coacervato, normalmente por liofilização (GOUIN et al., 2004).

2.3.3 Agentes encapsulantes

Diversos materiais podem ser utilizados como cobertura para as microcápsulas, entre elas as gomas, os carboidratos, as celulosas, os lipídeos, os materiais inorgânicos e as proteínas (JACKSON; LEE, 1991).

As características de liberação do material ativo microencapsulado variam de acordo com a natureza do agente encapsulante, sendo que normalmente ocorrem devido a mecanismos como a variação de temperatura e de pH, solubilidade do meio, biodegradação, difusão, ruptura mecânica, permeabilidade seletiva, gradiente de concentração existente em relação à cobertura, entre outros (BRANNON-PEPPAS, 1993).

2.4 Oxidação lipídica

A oxidação lipídica é uma das causas mais importantes de deterioração durante o armazenamento de carnes e produtos cárneos (LADIKOS; LOUGOVOIS, 1990; MORRISSEY, et al., 1998), depois da deterioração microbiana, principalmente por sua complexidade e variabilidade. Apesar dos lipídeos serem importantes componentes dos produtos cárneos, conferindo características desejáveis de suculência, sabor, aroma, valor nutricional e propriedades tecnológicas, são facilmente oxidáveis (OLIVO, 2006). Este processo envolve a degradação de ácidos graxos insaturados em produtos secundários como os aldeídos, cetonas, alcoóis, ácidos e hidrocarbonetos (HERAS et al., 2003; OLIVO, 2006), degrada vitaminas lipossolúveis e ácidos graxos essenciais e afeta atributos sensoriais como o sabor, a cor, a textura e o valor nutritivo (AGUIRREZÁBAL et al., 2000; CHIZZOLINI; NOVELLI; ZANARDI, 1998; OSAWA; FELÍCIO; GOLÇALVES, 2005).

O excesso de oxidação pode atingir um nível de rancidez que o alimento não é mais aceito para o consumo humano, porém, mesmo antes desta condição ser atingida,

a oxidação lipídica pode formar moléculas tóxicas com possíveis danos para a saúde humana (ZANARDI et al., 2004). Alguns produtos da oxidação lipídica e alguns óxidos de colesterol em particular, são considerados agentes aterogênicos e parecem ter propriedades mutagênicas, carcinogênicas e citotóxicas (CHIZZOLINI; NOVELLI; ZANARDI, 1998).

2.4.1 Reação de oxidação

Os lipídeos podem ser oxidados por reações hidrolíticas, enzimáticas, fotoxidativas e autoxidativas, sendo esta última a principal (RAMALHO; JORGE, 2006).

O processo de autooxidação inicia-se na ligação carbono-hidrogênio adjacente à dupla ligação da cadeia, podendo ser catalisado e influenciado por um grande número de fatores ambientais (umidade, calor, luz e oxigênio), pela presença de metais (cobre, ferro e manganês) e de enzimas (ADAMS, 1999) e pelo grau de insaturação dos ácidos graxos do produto (DECKER et al., 1993). O mecanismo de oxidação lipídica é geralmente descrito como uma reação em cadeia constituída por três etapas distintas: iniciação, propagação e terminação (COSGROVE; CHURCH; PRYOR, 1987), onde ocorre formação de radicais livres que atuam como propagadores da reação, resultando em um processo autocatalítico. Dois radicais combinam-se formando produtos estáveis (RAMALHO; JORGE, 2006).

A extensão do processo de oxidação lipídica pode ser afetada por inúmeros fatores relacionados com as condições e tempo de armazenamento, a tecnologia de processamento (moagem, mistura, aquecimento, entre outros), os aditivos utilizados e o conteúdo de ácidos graxos insaturados da fração lipídica (CHIZZOLINI; NOVELLI; ZANARDI, 1998; SUMMO; CAPONIO; PASQUALONE, 2006), este último sendo de mais de 60% do total de ácidos graxos em embutidos cárneos fermentados e secos, como o salame. A fase mais significativa da oxidação lipídica ocorre durante o manuseio, processamento, armazenamento e cozimentos dos produtos (MORRISSEY et al., 1998).

Durante o armazenamento, uma das principais alterações que ocorrem na fração lipídica é a hidrólise dos triglicerídeos catalisada por lipases, onde se formam ácidos

graxos livres, que são muito importantes para as características de sabor (LIZARRAGA; MELGAR; BELLO, 1989). Esta reação também é conhecida como rancidez hidrolítica, a qual também pode ser responsável pela formação de odor desagradável. Os ácidos graxos livres de menor peso molecular apresentam sabor e odor desagradáveis (GAVA, 1978). A lipólise também aumenta o número de ácidos graxos insaturados livres no salame, principalmente o ácido linoléico, oléico e araquidônico (ZANARDI et al., 2004), tornando o produto mais suscetível à oxidação lipídica. Alguns autores sugerem que a lipólise ocorre principalmente em função das lipases contidas na carne (GARCIA et al., 1992).

2.4.2 Quantificação da oxidação lipídica

Não há nenhum método uniforme para avaliar todas as modificações da oxidação em um alimento, entretanto existem metodologias para monitorar o desenvolvimento da oxidação lipídica nos mesmos. Entre as metodologias analíticas disponíveis para acompanhar e compreender o processo de oxidação lipídica em alimentos, destaca-se a quantificação das substâncias reativas ao ácido 2-tiobarbitúrico (TBARS). O método permite quantificar o grau de oxidação lipídica do alimento baseado na reação entre o malonaldeído (MA) e o ácido 2-tiobarbitúrico (JO; AHN, 1998), formando um complexo cromogênio (Figura 1).

Fonte: Osawa; Felício; Gonçalves, 2005

Figura 1 – Reação entre o ácido 2-tiobarbitúrico (TBA) e o malonaldeído formando o composto colorido quantificado espectrofotometricamente a 532 nm

As substâncias reativas ao ácido 2-tiobarbitúrico são preferencialmente formadas a partir da clivagem de ácidos graxos com duplas ligações. Os hidroperóxidos formados podem originar compostos contendo grupamentos carbonílicos, sendo o malonaldeído o

principal alcadienal relacionado com o processo de oxidação lipídica (TARLADGIS; WATTS; YOUNATHAN, 1960).

O malonaldeído é um dialdeído de três carbonos com grupos carbonil nas posições C-1 e C-3. Pode ser encontrado em diversos alimentos, sobretudo nos gordurosos (ULU, 2004). Este composto é formado a partir da decomposição de hidroperóxidos, da oxidação secundária de compostos carbonílicos e da degradação oxidativa de aminoácidos ferro-dependentes (FERNANDEZ; PEREZ-ALVAREZ; FERNANDEZ-LOPEZ, 1997).

2.5 Ação dos antioxidantes

O emprego de antioxidantes em embutidos cárneos como o salame torna-se importante para amenizar os efeitos indesejáveis da oxidação lipídica e, conseqüentemente, auxiliar na garantia da qualidade e na segurança alimentar durante a vida útil do produto (BERNARDI; OETTERER; CONTRERAS-CASTILLO, 2008; CHIZZOLINI; NOVELLI; ZANARDI, 1998).

Os antioxidantes são classificados em primários e secundários, de acordo com a sua forma de ação protetora. Os primários atuam como redutores, ou seja, tem a capacidade de doarem átomos de hidrogênio, inibindo radicais livres. Por sua vez, os antioxidantes secundários, apresentam capacidade quelante sobre os metais catalíticos, impedindo estes elementos pró-oxidantes de reagirem (OLIVO, 2006).

2.5.1 Antioxidantes sintéticos e sua potencial toxicidade

A legislação brasileira atribui a função, os aditivos e seus limites máximos de uso para produtos secos, curados e/ou maturados, embutidos ou não, como é o caso do salame. Dentre esses aditivos, inclui aqueles que apresentam ação antioxidante. Na Tabela 2, encontram-se o número INS, o nome do antioxidante e sua concentração máxima permitida.

Tabela 2 – Antioxidantes comerciais e seus limites máximos (g/100g) permitidos para uso em produtos cárneos secos, curados e/ou defumados, embutidos ou não

INS ¹	Antioxidante	Concentração máxima (g/100g) ²
300	Ácido ascórbico (L-)	q.s.
301	Ascorbato de sódio	q.s.
302	Ascorbato de cálcio	q.s.
303	Ascorbato de potássio	q.s.
310	Galato de propila (PG)	0,01 ^{3,4}
315	Ácido isoascórbico	q.s.
316	Eritorbato de sódio, isoascorbato de sódio	q.s.
320	Butilhidroxianisol (BHA)	0,01 ^{3,4}
321	Butilhidroxitolueno (BHT)	0,01 ^{3,4}

Fonte: Brasil (2006).

¹INS: número de identificação no Sistema Internacional de Numeração (*International Numbering Systems*); ²q.s.: quantidade suficiente para o efeito desejado; ³Sós ou combinados sobre base gordurosa;

⁴Somente para carne desidratada.

Observa-se que apenas os antioxidantes PG, BHA e BHT apresentam restrição quanto ao limite máximo permitido para emprego em embutidos cárneos como o salame. Estudos têm demonstrado a possibilidade de esses antioxidantes sintéticos apresentarem algum efeito tóxico (PIEADDE, 2007) e atividade carcinogênica (BOZKURT, 2006). O eritorbato de sódio faz parte da composição básica de salame tipo Italiano, dentre outros produtos cárneos (BAGGIO; BRAGAGNOLO, 2008) e atualmente não apresenta restrição quanto ao seu emprego.

Apesar destes antioxidantes serem empregados em embutidos cárneos como o salame, questões relacionadas com sua segurança em conjunto com a preferência dos consumidores, tem contribuído com o aumento do interesse em novas pesquisas com antioxidantes naturais.

2.5.2 Antioxidantes naturais

O mercado de aditivos naturais encontra-se em expansão estimulado pela preferência dos consumidores (RÉVILLION; BRANDELLI; AYUB, 2000). Nos últimos

anos, os consumidores têm aumentado a demanda por alimentos seguros e estão especialmente preocupados com os efeitos na saúde de vários aditivos artificiais. Porém, os aditivos são muito importantes na manutenção da qualidade dos alimentos, principalmente por inibirem o crescimento de diversos microrganismos, tanto deteriorantes quanto patogênicos. Assim, o estudo de novos aditivos naturais e não tóxicos são necessários no intuito de substituir os aditivos artificiais (BERNARDI; OETTERER; CONTRERAS-CASTILLO, 2008; VICENTINI; CASTRO; CEREDA, 1999).

Antioxidantes naturais podem apresentar modos de ação que ainda não foram totalmente esclarecidos, mas a sua principal função já foi identificada. Geralmente eles atuam como aceptores de radicais livres (GHIRETTI et al., 1997). Além disso, a atividade antioxidante dos fenólicos é atribuída a sua capacidade de quelar metais, inibir a lipoxigenase e sequestrar radicais livres (DECKER, 1997).

Diversos trabalhos indicam a eficiência de antioxidantes naturais em embutidos cárneos, como no caso de extrato de marcela (*Achyrocline satureioides*) (CAMPAGNOL, 2007), alecrim (CORONADO et al., 2002; WASZKOWIAK; DOLATA, 2007; ESTÉVEZ; CAVA, 2006; NASSU et al., 2003), páprica, alho (AGUIRREZÁBAL et al., 2000), chá verde (BOZKURT, 2006), extrato de própolis aquoso e alcoólico (HAN; PARK, 1996a, 1996b), entre outros, sendo que neste último não se verificou as consequências nos parâmetros de qualidade dos embutidos, principalmente o sensorial, o que é de grande relevância já que a própolis apresenta sabor acentuado.

Bozkurt (2006) verificou que o extrato de chá verde e óleo de *Thymbra spicata* foram mais efetivos na prevenção de oxidação em embutido fermentado turco que o BHT. Além disso, o uso desses antioxidantes não interferiu no pH e índices de cor, diminuiu a formação de aminas biogênicas durante o processo de maturação e secagem, além de serem anticarcinogênicos, antimutagênicos, antivirais e antibacterianos.

Extrato alcoólico 0,4%, extrato aquoso 0,6% e resíduo de extrato seco 0,8% de própolis também foram eficientes no controle da oxidação lipídica de linguiça suína armazenada por 4 semanas a 5°C, com resultados de TBARS médios de 0,35 mg MDA/kg, inferior a 0,50 mg MDA/kg obtido para amostras controle e com antioxidante sintético (HAN; PARK, 2002). Porém, os autores não realizaram outras análises para

verificar alterações nos demais atributos de qualidade do produto, principalmente no que diz respeito aos atributos sensoriais, já que a própolis empregada na forma de extrato não mascara o seu sabor acentuado.

Na seleção de antioxidantes são desejáveis as seguintes propriedades: eficácia em baixas concentrações; ausência de efeitos sobre a cor, o odor e o sabor dos produtos; facilidade de aplicação; estabilidade nas condições de processamento e armazenamento e seus produtos de oxidação não podem ser tóxicos (RAMALHO; JORGE, 2006).

Em conjunto com a preferência do consumidor por produtos funcionais, o emprego de antioxidantes naturais em alimentos tem se tornado importante na indústria de alimentos.

2.6 Alteração da cor em salames

A cor é provavelmente o atributo de qualidade que mais contribui para o consumidor decidir pela aquisição de um determinado produto. A cor da carne depende de diversas condições internas e externas e principalmente da quantidade de mioglobina presente, principal proteína responsável pela cor da carne, a qual varia de teor para cada espécie e músculo (MANCINI; HUNT, 2005). A molécula de mioglobina consiste de um anel porfirínico unido a uma proteína globulina. No centro do anel existe um átomo de ferro, sendo que o seu estado químico influi diretamente na tonalidade de cor percebida pela visão humana. O ferro pode se apresentar na forma oxidada ou reduzida (OLIVO, 2006).

Medições instrumentais dos parâmetros L^* (luminosidade) e a^* (verde a vermelho) são simples e podem facilmente ser empregadas para a verificação da cor de carnes e produtos cárneos. Por outro lado, as cores representadas por b^* (azul a amarelo) não são típicas ou intuitivamente relacionadas com a carne. Com isso, torna-se difícil correlacionar com resultados sensoriais, já que para os provadores, mesmo treinados, é difícil um completo entendimento do descritor b^* (MANCINI; HUNT, 2005).

Durante o processo de cura dos salames pela ação de sais como o nitrito e nitrato de sódio, o óxido nítrico formado reage com a mioglobina resultando no

composto nitrosomioglobina, um pigmento vermelho característico de produtos curados crus (GONÇALVES, 2008).

Muitos autores acreditam que existe interdependência entre a oxidação lipídica e a oxidação da cor. A oxidação do pigmento pode catalisar a oxidação lipídica, a qual também pode ser induzida por outros componentes que possuem ferro e pelo ferro livre. Por outro lado, os radicais livres produzidos durante a oxidação lipídica podem oxidar o átomo de ferro ou desnaturar a molécula de mioglobina, alterando negativamente a cor dos produtos (MONAHAN et al., 1993). A severidade da degradação da cor e de lipídeos é provavelmente dependente das condições do ambiente de armazenamento, especialmente da quantidade de oxigênio residual nas embalagens. Correlação significativa foi observada entre os parâmetros de oxidação lipídica e da cor em embutidos embalados a vácuo (ZANARDI et al., 2002).

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Material

As matérias-primas cárneas (paleta suína, acém bovino e toucinho) foram adquiridas no comércio local da cidade de Piracicaba - SP. Os ingredientes não-cárneos (nitrito e nitrato de sódio, dextrose, tripolifosfato de sódio, glutamato monossódico, pimenta branca moída, coentro e alho em pó), além do eritorbato de sódio aplicado em um dos tratamentos, foram fornecidos pela empresa Ibrac® (Rio Claro - SP) e a cultura *starter* pela empresa Chr. Hansen® (Valinhos - SP). Outros insumos como as tripas de colágeno para embutimento dos salames e a embalagem plástica para acondicionamento dos produtos prontos foram doados pelas empresas Viscofan® (SÃO PAULO - SP) e Cryovac® (SÃO PAULO - SP), respectivamente.

A própolis nas formas livre e microencapsulada foram elaboradas e fornecidas pelo Laboratório de Produtos Funcionais (LAPROF) da Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos (FZEA) da Universidade de São Paulo (USP), campus de Pirassununga/SP. Estas amostras de própolis foram preparadas a partir de própolis verde (tipo 12) coletadas na cidade de Mogi Guaçu - SP. A atividade antioxidante do material, tanto na forma livre quanto microencapsulada por *spray drying* e coacervação completa, foi confirmada pelo laboratório em trabalho anterior a este, porém, ainda não publicado.

3.1.1 Ensaio 1

Para a elaboração dos salames do ensaio 1 preparou-se um lote de 31,15 kg de produto, conforme formulação da Tabela 3. A porcentagem dos ingredientes não-cárneos foi calculada com base na matéria-prima cárnea utilizada, considerada como 100%. A batelada produzida foi dividida em 7 tratamentos, de acordo com o tipo e quantidade de microcápsula de própolis a ser testada (Tabela 4).

Tabela 3 – Formulação padrão dos salames do ensaio 1

Matérias-primas e Ingredientes	%
<i>Matéria-prima cárnea</i>	
Paleta suína	60
Acém bovino	20
Toucinho	20
<i>Ingredientes não-cárneos</i>	
Nitrato de sódio	0,015
Nitrito de sódio	0,010
Sal refinado	2,500
Dextrose	0,750
Tripolifosfato de sódio	0,300
Glutamato monossódico	0,100
Pimenta branca moída	0,200
Coentro	0,100
Alho em pó	0,100
Cultura <i>starter</i> (Bactoferm F-1) *	0,0125
Água mineral	0,750

*Composta por *Staphylococcus xylosus* DD-34 e *Pediococcus pentosaceus* PCFF-1 (Contagem total de células: $>3,5 \times 10^{10}$ UFC/g).

Tabela 4 – Tratamentos controle e com microcápsulas de própolis com variação na concentração e agente encapsulante empregados nos salames do ensaio 1

Tratamento	%
Controle ¹	0
Microcápsula de própolis com amido OSA – MAS ²	0,10
Microcápsula de própolis com amido OSA – MAS ²	0,15
Microcápsula de própolis com amido OSA – MAS ²	0,20
Microcápsula de própolis com goma arábica – MGS ²	0,15
Microcápsula de própolis com goma arábica – MGS ²	0,25
Microcápsula de própolis com goma arábica – MGS ²	0,40

¹Ausente de própolis e antioxidante sintético comercial; ²Contém 9,55% de sólidos de própolis.

O ensaio 1 compreendeu apenas um processamento preliminar onde se utilizou as microcápsulas de própolis elaboradas pela técnica de *spray drying* devido a maior facilidade de preparação e menor custo para sua elaboração, além de se tratar apenas de um processamento para avaliar a melhor concentração a ser empregada nos ensaios posteriores. As microcápsulas foram preparadas na proporção de 1:6 com relação ao material encapsulante, ou seja, 1 parte de própolis para 6 partes de solução 30% do material encapsulante (amido OSA ou goma arábica).

3.1.2 Ensaio 2

Para o processamento dos salames do ensaio 2 e suas respectivas análises, o qual refere-se aos resultados obtidos de três processamentos realizados com a mesma formulação, parâmetros de processo e análises, preparou-se um lote de 54 kg de produto, conforme formulação da Tabela 5. Os ingredientes não-cárneos foram calculados com base na matéria-prima carne utilizada, a qual foi considerada como 100%. A formulação foi alterada com relação ao ensaio 1, pois se optou por adicionar novos ingredientes. A batelada produzida foi dividida em 5 tratamentos de acordo com o tipo de microcápsula de própolis, os quais foram divididos em dois grupos quanto a forma de microencapsulação da própolis (Tabela 6).

No ensaio 2, portanto, empregaram-se os diferentes tipos de microcápsulas, tanto quanto a forma de microencapsulação quanto ao material encapsulante (Figura 2). Para efeitos de comparação dos tratamentos, os salames foram divididos em dois conjuntos, aqueles com microcápsulas de própolis produzidas por meio da técnica de *spray drying* (MAS e MGS) e outro pela técnica de coacervação complexa com liofilização (MCC), sendo que nos dois conjuntos os salames com eritorbato de sódio (ES) e com própolis livre (PL) estão inseridos.

Para a determinação da quantidade a ser empregada de cada microcápsula, teve-se como referência os resultados obtidos no ensaio 1. A quantidade adicionada de própolis em cada tratamento, tanto a livre como a microencapsulada, foi calculada com base na concentração de sólidos de própolis presente em cada microcápsula, sendo

iguais para todos os tratamentos com própolis. O eritorbato de sódio foi escolhido como antioxidante sintético devido ao seu atual emprego na produção de salames.

Tabela 5 – Formulação padrão do salame tipo Italiano do ensaio 2

Ingredientes	%
<i>Matéria-prima cárnea</i>	
Paleta suína	60
Acém bovino	20
Toucinho	20
<i>Ingredientes não-cárneos</i>	
Nitrato de sódio	0,0400
Nitrito de sódio	0,0100
Sal refinado	2,5000
Dextrose	0,7500
Tripolifosfato de sódio	0,3000
Glutamato monossódico	0,1000
Pimenta branca moída	0,2500
Coentro	0,1000
Alho em pó	0,2000
Noz moscada	0,0500
Aroma de fumaça	0,0300
Cultura <i>starter</i> (Bactoferm F-1) *	0,0125
Água mineral	0,7500

*Composta por *Staphylococcus xylosus* DD-34 e *Pediococcus pentosaceus* PCFF-1 (Contagem total de células: $>3,5 \times 10^{10}$ UFC/g).

Tabela 6 – Tratamentos e concentrações (%) utilizados nos salames tipo Italiano do ensaio 2

Grupos	Tratamentos	%	Sigla
<i>Spray drying</i>	Eritorbato de sódio ¹	0,050	ES
<i>Spray drying</i>	Própolis livre ²	0,014	PL
<i>Spray drying</i>	Microcápsula de própolis com amido OSA ³	0,150	MAS
<i>Spray drying</i>	Microcápsula de própolis com goma arábica ³	0,150	MGS
Coacervação	Eritorbato de sódio ¹	0,050	ES
Coacervação	Própolis livre ²	0,014	PL
Coacervação	Microcápsula de própolis com pectina e proteína de soja ⁴	0,229	MCC

¹Antioxidante sintético usado comercialmente na produção de salames; ²Extrato de própolis desidratado em *spray dryer* e dissolvido em 0,1% de propileno glicol; ³Preparada pela técnica de *spray drying*, contendo 9,55% de sólidos de própolis; ⁴Preparada pela técnica de coacervação complexa, seguida de liofilização, contendo 6,27% de sólidos de própolis.

PL: própolis livre desidratada em *spray dryer*; MAS: microcápsula de própolis com amido OSA (*spray drying*); MGS: microcápsula de própolis com goma arábica (*spray drying*); MCC: microcápsula de própolis com pectina e proteína de soja (coacervação complexa e liofilização).

Figura 2 – Ilustração das formas de própolis utilizadas na diferenciação dos tratamentos dos salames do ensaio 2

3.2 Métodos

3.2.1 Processamento dos salames

As carnes bovina e suína, a uma temperatura de -4 a 0°C, foram moídas utilizando-se discos nº5 (5 mm) e nº10 (10 mm) respectivamente, em moedor da marca Hobart (modelo HB22-2). O toucinho, ainda congelado a uma temperatura de -18°C, foi moído em disco nº8 (8 mm).

A cultura *starter* foi hidratada 30 minutos antes de sua incorporação na massa, adicionando-se a água (temperatura ambiente) e a dextrose da formulação.

Na misturadeira da marca Beccaro (modelo MB-25), adicionaram-se primeiramente as carnes suína e bovina, seguido do toucinho. Após homogeneização das matérias-primas cárneas, adicionaram-se os ingredientes não-cárneos, sendo que a cultura *starter* pré-hidratada e o antioxidante (sintético ou própolis, conforme o tratamento) foram, respectivamente, os últimos a serem adicionados. Após homogeneização completa, coletou-se uma amostra de cada tratamento para realização das análises da massa conforme descritas nos itens 3.2.3 ao 3.2.8, sendo que a amostra da análise microbiológica (item 3.2.8) foi coletada após o embutimento.

O embutimento da massa foi realizado em uma embutideira manual em tripas de colágeno reconstituído (5,5 cm de diâmetro e 25 cm de comprimento) hidratadas em solução salina a 15% (150 g de sal refinado para 1 L de água) por 15 minutos antes de sua utilização. A diferenciação dos tratamentos foi feita por linhas coloridas utilizadas para fechar as extremidades do salame após o embutimento.

Posteriormente ao embutimento, as peças de salame foram dispostas aleatoriamente em carrinho de aço inoxidável e levadas à câmara com temperatura e umidade controladas (Figura 3A). Antes de iniciar o processo de fermentação foi feito a aspersão de uma mistura da cultura *starter*, dextrose e água nas superfícies do salame visando prevenir a multiplicação de microrganismos indesejáveis, conforme indicado por Cavenaghi¹ (informação verbal).

Durante a fermentação, empregou-se temperatura entre 23 e 25°C e umidade relativa entre 88 e 90%. Após o processo fermentativo (Figura 3B), determinado quando as peças de salame atingissem valores de pH entre 5,0 e 5,2, a temperatura foi reduzida até uma faixa entre 15 e 17°C e a umidade foi reduzida entre 1 e 2% ao dia, até atingir 75%, permanecendo com este parâmetro até o final do processo de secagem (Figura 3C). A umidade relativa do ambiente interno foi mantida com o auxílio de um umidificador acoplado à câmara, com exceção do processo fermentativo, onde a umidade do produto foi suficiente para manter a umidade relativa do ambiente. Todo o

¹ CAVENAGHI, A.D. Universidade da Grande Dourados.

processo de fermentação e secagem das peças de salame conduzidos na câmara foi realizado ao abrigo da luz.

Figura 3 – Ilustração das peças de salame antes da fermentação (A), após a fermentação (B) e ao final do processo de secagem (C), onde se observa a presença de colônias brancas de fungos na superfície das peças

O controle dos parâmetros de umidade relativa e temperatura foram conduzidos através de painel eletrônico do próprio equipamento sendo que os valores indicados neste painel foram acompanhados constantemente pelas medidas obtidas por um termômetro de bulbo seco e bulbo úmido presente no interior da câmara.

Com a finalização do processo de secagem, o qual foi determinado após 30 dias para o ensaio 1 e 32 dias e atividade de água inferior a 0,90 para o ensaio 2, retiraram-se manualmente as tripas e os salames foram acondicionados individualmente em embalagem plástica a vácuo (Figura 4) e armazenados ao abrigo da luz e à temperatura ambiente média de 25°C para a realização das análises de vida útil. A embalagem plástica utilizada para o acondicionamento dos salames se compôs de uma estrutura multicamadas de etileno-acetato de vinila (EVA), com permeabilidade máxima ao oxigênio de 30 cm³/m²dia e permeabilidade máxima ao vapor de água de 10 g água/m²dia (CRYOVAC, 2007).

Figura 4 – Amostras de salame tipo Italiano obtidos ao final do processamento do ensaio 2, embalados a vácuo e identificados individualmente

3.2.2 Avaliação da perda de peso

Com a finalidade de acompanhar a perda de peso das peças de salame durante o processo de secagem do ensaio 2, 3 peças aleatórias de cada tratamento obtidas de 3 locais diferentes do interior da câmara de secagem (frontal, lateral direita e lateral esquerda) foram identificadas individualmente com o auxílio de anilhas numeradas e pesadas diariamente até o final do processamento em balança semi-analítica (marca Marte – modelo AL500C).

Para o cálculo da porcentagem de perda de peso diária, empregaram-se os cálculos mostrados nas seguintes equações:

$$\%P_x = \frac{(mP_x) \times (\%P_{x-1})}{mP_{x-1}}$$

$$\%PP_x = 100 - \%P_x$$

Onde:

$\%P_x$ = porcentagem do peso total restante nas peças no dia x, sendo que $\%P_1$ corresponde ao primeiro dia de secagem, onde as peças apresentavam o peso completo, ou seja, 100%;

mP_x = média do peso de 3 peças do mesmo tratamento no dia x;

$\%P_{x-1}$ = porcentagem do peso total restante nas peças no dia (x-1), ou seja, porcentagem obtida no dia anterior;

mP_{x-1} = média do peso de 3 peças do mesmo tratamento obtida no dia x-1, ou seja, média dos pesos obtida no dia anterior;

$\%PP_x$ = porcentagem de peso perdida por cada tratamento no dia x com relação ao início do processamento.

3.2.3 Determinação da oxidação lipídica

Com a finalidade de mensurar a oxidação lipídica nos diferentes tratamentos de salame, empregou-se o método de quantificação das substâncias reativas ao ácido 2-tiobarbitúrico (TBARS), segundo metodologia proposta por BRUNA et al. (2001) e HOZ et al. (2004), com algumas adaptações.

Os aldeídos foram extraídos preparando-se um extrato ácido-aquoso, homogeneizado por 3 minutos em Ultra-Turrax, composto por 5 g de amostra triturada, 15 mL de ácido perclórico ($HClO_4$) a 0,38 M e 0,5 mL de solução etanólica do antioxidante butil hidroxi tolueno - BHT ($C_{15}H_{24}O$) a 0,19 M para evitar a oxidação durante a análise. O homogenato foi centrifugado a 3000 g ($\approx$ 4850 rpm) por 5 minutos e filtrado em *Whatman* n°54. Uma alíquota de 5 mL do extrato filtrado foi adicionado de 5 mL de solução de ácido 2-tiobarbitúrico – TBA ($C_4H_4N_2O_2S$) a 0,02 M e aquecido em banho-maria por 30 minutos a 100°C. Após resfriamento, a mistura foi centrifugada novamente a 3000 g ($\approx$ 4850 rpm) por 15 minutos. Durante o aquecimento ocorreu a formação do complexo colorido, cuja absorbância foi mensurada em espectrofotômetro Shimadzu (modelo UV-Vis mini 1240), no comprimento de onda de 532 nm.

Para quantificar o complexo colorido formado, fez-se necessária a elaboração de uma curva padrão, onde se utilizou o composto padrão 1,1,3,3 tetraetoxipropano - TEP ($[C_2H_5O_2]_2CHCH_2CH[OC_2H_5]_2$) cuja hidrólise ácida gera o malonaldeído na proporção de 1:1 mol. A concentração de TEP (em $\mu\text{mol/L}$) de cada ponto da curva foi calculada de acordo com a massa inicial de TEP da solução inicial. Os resultados obtidos com diferentes concentrações de TEP (0,05 a 2,9 $\mu\text{mol/L}$) foram plotados em gráfico de dispersão, com regressão linear, obtendo-se a equação de uma reta (com $R^2 > 0,99$). A equação obtida foi utilizada na obtenção dos valores das substâncias reativas ao ácido

2-tiobarbitúrico (TBARS) sendo que os resultados obtidos foram expressos em mg de malonaldeído por kg de amostra (mg MDA/kg).

Para a obtenção desses resultados, também se fez necessário a quantificação do teor de umidade das amostras (% água), o qual foi determinado por método gravimétrico com dessecação em estufa a 105°C, até peso constante (PREGNOLATTO; PREGNOLATTO, 1985).

Esta análise de quantificação da oxidação lipídica das amostras de salame foi realizada no ensaio 1, em duplicata, no 5º, 9º, 19º, 26º e 30º dia do processo de secagem dos salames na câmara. Já para o ensaio 2, o valor de TBARS foi determinado em triplicata no tempo 0 como caracterização da massa e nos salames com 1, 30, 60 e 90 dias de armazenamento. A amostragem para cada tratamento foi composta de 3 salames escolhidos aleatoriamente, triturados e homogeneizados, exceto no tempo 0, no qual uma amostra de aproximadamente 150 g foi coletada após homogeneização completa na misturadeira.

3.2.4 Determinação da acidez em ácido oléico

A análise de determinação de acidez em ácido oléico (g ácido oléico/100g gordura) foi conduzida segundo metodologia proposta pelo Ministério da Agricultura e do Abastecimento (BRASIL, 1999) para produtos cárneos e seus derivados, a qual fundamenta-se na neutralização dos íons de hidrogênio livre até o ponto de equivalência, utilizando-se hidróxido de sódio na presença do indicador fenolftaleína. A quantificação de acidez em ácido oléico nos salames foi realizada para acompanhar o processo de formação de ácidos graxos livres susceptíveis à oxidação lipídica.

Nesta análise, 100 g de amostra triturada foi homogeneizada com 250 mL de clorofórmio (CHCl_3 p.a.) por 2 a 3 minutos em triturador industrial (marca METVISA) e o extrato obtido foi imediatamente filtrado através de papel filtro qualitativo pregueado contendo cerca de 6 g de sulfato de sódio anidro (Na_2SO_4 p.a.). Um volume de 25 mL deste extrato foi adicionado de 25 mL de solução 95% (v/v) de álcool etílico ($\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$) neutralizado (pH 7,0) e de 5 gotas de solução alcoólica de fenolftaleína ($\text{C}_{20}\text{H}_{14}\text{O}_4$) a 1% e titulado com solução padronizada de hidróxido de sódio (NaOH) 0,1 N. Para a

determinação do peso da alíquota tomada, 25 mL do extrato foi transferido em placa de petri previamente tarada, e então o solvente foi evaporado em banho-maria a 60°C por 15 minutos e posteriormente foi seco em estufa a 105°C por um período de 30 minutos, sendo que após resfriamento em dessecador, obteve-se o peso da alíquota tomada. Para os cálculos de acidez utilizou-se a seguinte equação:

$$\text{Acidez em g de } \frac{\text{ác. oléico}}{100\text{g}} = \frac{(V - V') \times 0,28245 \times N \times 100}{p}$$

Onde:

V = volume (mL) de solução de hidróxido de sódio gastos na titulação da amostra;

V' = volume (mL) de solução de hidróxido de sódio gastos na titulação do branco;

0,28245 = fator de conversão do ácido oléico;

N = normalidade padrão da solução de hidróxido de sódio;

p = massa (g) da amostra da alíquota tomada (25 mL) após secagem em estufa.

A determinação do teor de acidez em ácido oléico foi realizada na massa (tempo 0) e no salame pronto (tempo 30), em duplicata, no caso do ensaio 1, e nos tempos 0, 1, 30, 60 e 90 dias, em triplicata, no ensaio 2, sendo que o tempo 0 foi considerado apenas para caracterização da massa. Para isso, utilizou-se uma amostragem de 3 salames de cada tratamento, escolhidos aleatoriamente, triturados e homogeneizados, exceto a massa (tempo 0), no qual uma amostra de aproximadamente 150 g foi coletada após homogeneização completa na misturadeira.

3.2.5 Avaliação do pH

As medições de pH foram realizadas utilizando-se um eletrodo de penetração de corpo de vidro (Figura 5). O aparelho utilizado foi um potenciômetro de punção da marca Oakton (pH 300 - série 35618), com compensação de temperatura, calibrado com solução tampão de pH 4,0 e 7,0.

Figura 5 – Ilustração das medições de pH nas amostras de salame

No ensaio 1, as medidas de pH foram realizadas nos dias 1, 2, 5, 9, 19, 26 e 30 do processamento dos salames, com 2 medições em 2 peças diferentes para cada tratamento, escolhidas aleatoriamente, totalizando 9 medições para cada ponto de análise. Já no ensaio 2, as medições foram realizadas na massa para efeito de caracterização e no fim da fermentação (tempo 0) e nos salames prontos com 1, 30, 60 e 90 dias de armazenamento, com 3 medições em 3 peças diferentes escolhidas aleatoriamente, totalizando 9 medições para cada ponto de análise, exceto a massa, cujo pH foi mensurado em 9 pontos distintos logo após homogeneização em misturadeira.

3.2.6 Determinação da atividade de água

A atividade de água foi determinada por medida direta utilizando-se o analisador Aqualab CX 2T (marca Decagon Devices Inc.) operando-se a temperatura de $25,0^{\circ}\text{C} \pm 0,3$. Para isso, fatias de aproximadamente 3 mm de espessura, sem as bordas e da parte central das peças de salames, foram dispostas em cápsulas próprias para a análise (Figura 6), com exceção da massa que foi distribuída no fundo da cápsula com o auxílio de uma espátula.

Figura 6 – Cápsula com amostra de salame utilizada para a determinação direta da atividade de água

Para o ensaio 1, a atividade de água foi determinada em duplicata, apenas para determinar o fim do processo de secagem. Já para o ensaio 2, procedeu-se a análise no tempo 0 como caracterização da massa e do salame com 1, 30, 60 e 90 dias de armazenamento, com uma medição para cada salame, sendo 3 salames de cada tratamento escolhidos aleatoriamente, totalizando assim 3 medições por tratamento.

3.2.7 Parâmetros da cor instrumental

Com a finalidade de verificar as alterações de cor no salame em função da aplicação dos tratamentos escolhidos, realizou-se medidas físicas dos parâmetros L^* (luminosidade), a^* (intensidade de vermelho/verde) e b^* (intensidade de amarelo/azul) do sistema CIELab, com fonte iluminante D65 e calibrado com porcelana padrão ($Y = 93,7$, $x = 0,3160$ e $y = 0,3323$) (INTERNATIONAL COMMISSION ON ILLUMINATION, 1978). Para esta medida física da cor, utilizou-se o colorímetro portátil Minolta Chroma Meter (modelo CR-400).

Para o ensaio 1, as medidas foram realizadas nos dias 1, 2, 9, 19, 26 e 30, em 2 peças por tratamento e com 2 medidas por peça. Já para o ensaio 2, as medidas foram realizadas nos tempos 0, 1, 30, 60 e 90 dias, em 3 peças de cada tratamento escolhidas aleatoriamente, com 3 medidas por peça, totalizando 9 medidas por tratamento. As medições no tempo 0 foram consideradas apenas como caracterização da massa. As medidas foram realizadas diretamente sobre as amostras, tomando-se o

cuidado de não mensurar sobre uma partícula de gordura aparente, conforme ilustrado na Figura 7.

Figura 7 – Ilustração do procedimento de análise de medida física da cor (L^* , a^* e b^*) das amostras de salame

3.2.8 Avaliação microbiológica

Com o intuito de avaliar a higiene e segurança do processamento, assim como os efeitos do processamento sobre as características microbiológicas do produto final, realizaram-se as contagens totais de *Staphylococcus* coagulase positiva, *Salmonella* spp. e coliformes termotolerantes a 45°C na massa (tempo 0) e no salame (tempo 1). Além disso, realizou-se também a contagem de bactérias lácticas, nos mesmos períodos, com o objetivo de se determinar a sua resistência ao processamento e aos tratamentos com própolis empregados.

As análises microbiológicas foram conduzidas no Laboratório de Produtos Funcionais do Departamento de Engenharia de Alimentos (ZEA) da Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos (FZEA) da Universidade de São Paulo (USP) em amostras de salame de todos os processamentos, com exceção dos microrganismos patogênicos, os quais foram quantificados apenas nos processamentos 1 e 3, o qual engloba os salames utilizados na análise sensorial.

Os procedimentos foram realizados em capela com fluxo laminar previamente exposto à luz UV por 40 minutos e os materiais utilizados foram previamente esterilizados em autoclave.

Uma amostra de 25 g foi coletada assepticamente, em embalagem plástica de polietileno estéril, da massa (tempo 0) logo após homogeneização e embutimento e de

3 peças de salame escolhidos aleatoriamente. A amostra foi adicionada de 225 mL de solução de água peptonada tamponada (caldo de pré-enriquecimento) e homogeneizada em homogeneizador de amostras da marca Marconi (modelo MA 440/CF) por 2 minutos, constituindo assim a diluição 10^{-1} . A partir desta diluição, obtiveram-se as diluições de 10^{-2} a 10^{-6} em tubos de ensaio estéreis com água peptonada 0,1%.

Para a análise presuntiva de *Salmonella* spp. utilizou-se o kit VIP® da Biocontrol, seguindo-se a metodologia para alimentos processados, conforme indicado pelo fabricante. Para isto, realizou-se o pré-enriquecimento onde a amostra na diluição 10^{-1} foi incubada a temperatura entre 35 a 37°C, de 6 a 8 horas. Posteriormente procedeu-se o enriquecimento seletivo, seguido da etapa de pós-enriquecimento, inativação e teste de positividade no kit VIP® em duplicata. Os resultados foram expressos como ausência ou presença em 25 g.

A contagem de coliformes termotolerantes foi realizada em duplicata nas diluições 10^{-1} a 10^{-3} utilizando-se placas Petrifilm™ da marca 3M, incubando-se a 45°C por 24 horas, sendo que os resultados foram expressos em UFC/g.

Para a contagem de *Staphylococcus* coagulase positiva, utilizaram-se as diluições de 10^{-1} a 10^{-6} para amostras da massa e de 10^{-1} a 10^{-4} para amostras de salame. Alíquotas de 0,1 mL de cada diluição selecionada foram inoculadas em duplicata sobre a superfície de placas estéreis com o ágar *Baird-Parker* (BP) e espalhadas por toda a sua superfície com o auxílio de alça de *Drigalski* até sua completa absorção pelo meio. Após incubação das placas na posição invertida a 35°C por 48 horas, coletaram-se 5 colônias típicas e 5 atípicas para enriquecimento em caldo BHI (Infusão cérebro-coração de boi) por 24 horas a 35°C e posterior teste de coagulação em plasma de coelho (BRASIL, 2003; LANCETTE; TANINI, 2001). Os resultados foram expressos em UFC/g.

A contagem das bactérias lácticas foi realizada a partir das diluições 10^{-3} a 10^{-6} , em duplicata, em placas estéreis com ágar MRS (DeMan, Rogosa, Sharpe Agar), fazendo-se a incubação *pour plate* para formar um ambiente de microanaerobiose, ou seja, uma camada fina de MRS, uma de amostra e outra camada de MRS. As colônias

foram enumeradas após 72 horas de incubação à temperatura de 37°C e os resultados foram expressos em UFC/g.

3.2.9 Análise sensorial

Com o objetivo de verificar o efeito dos tratamentos com própolis nas características sensoriais do salame tipo Italiano produzido, o mesmo foi avaliado sensorialmente empregando-se o Teste de Aceitação com escala hedônica de 9 pontos (1 = detestei a 9 = adorei). Utilizando esta escala, os provadores foram indicados a avaliar os atributos sensoriais de aparência, aroma, sabor e qualidade global, conforme ficha aplicada (Figura 8). A análise sensorial foi aplicada nos salames de apenas um processamento do ensaio 2 na medida que os provadores são considerados repetições.

Nome: _____ Idade: _____ Sexo: ☐ F ☐ M Data: _____ Ficha _____		
Você está recebendo uma amostra de SALAME TIPO ITALIANO . Por favor, avalie o produto utilizando a escala abaixo e marque o quanto você gostou ou desgostou das seguintes características:		
Número da amostra _____		
ESCALA 1 - Detestei 2 - Desgostei muito 3 - Desgostei moderadamente 4 - Desgostei ligeiramente 5 - Nem gostei/nem desgostei 6 - Gostei ligeiramente 7 - Gostei moderadamente 8 - Gostei muito 9 - Adorei	APARÊNCIA: _____	Comentários: _____
	AROMA: _____	Comentários: _____
	SABOR: _____	Comentários: _____
	QUALIDADE GLOBAL: _____	Comentários: _____

Figura 8 – Ficha de avaliação sensorial de salame tipo Italiano entregue aos provadores durante as seções de análise sensorial

Esta análise foi conduzida com provadores não treinados, consumidores de salame, de forma a se obter 50 avaliações por tratamento ao longo do armazenamento do produto (1, 30, 60 e 90 dias). As amostras foram servidas de forma aleatória, identificadas por 3 dígitos numéricos e em prato branco descartável.

Para cada provador foi servida 1 fatia de aproximadamente 2 mm de espessura de cada amostra (Figura 9), uma de cada vez, juntamente com um copo de água e um biscoito água e sal para serem ingeridos entre uma amostra e outra.

Figura 9 – Ilustração da forma de apresentação da amostra de salame tipo Italiano identificada por 3 dígitos numéricos, servida durante a análise sensorial

Esta análise foi conduzida no Laboratório de Análise Sensorial do Departamento de Agroindústria, Alimentos e Nutrição (LAN) da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” – ESALQ da Universidade de São Paulo – USP onde os provadores, em sua maioria, foram representados por alunos, professores e demais colaboradores do *campus*, os quais estavam cientes do experimento conduzido pela concordância com o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

3.2.10 Análises estatísticas

No ensaio 1 adotou-se o Delineamento Inteiramente Casualizado (DIC) em esquema fatorial 4x5 para cada tratamento estudado (MAS – microcápsula de própolis com amido OSA ou MGS – microcápsula de própolis com goma arábica) em diferentes concentrações, de acordo com o Modelo a:

$$Y_{ijk} = \mu + N_i + T_j + NT_{ij} + e_{ijk} \quad (\text{Modelo a})$$

Onde:

Y_{ijk} = valor observado para a variável em estudo (oxidação lipídica, valores instrumentais da cor L^* , a^* e b^* , pH e teor de ácido láctico), na repetição k , do dia de processo j e no nível de inclusão do tratamento MAS (ou MGS) i ;

μ = constante inerente a todas as observações (média);

N_i = efeito da i -ésima concentração do tratamento MAS ou MGS, sendo $i = 1$ (0,00%), 2 (0,10%), 3 (0,15%) e 4 (0,20%) para MAS ou $i = 1$ (0,00%), 2 (0,15%), 3 (0,25%) e 4 (0,40%) para MGS;

T_j = efeito do j -ésimo tempo de processo, sendo $j = 1$ (5 dias), 2 (9 dias), 3 (19 dias), 4 (26 dias) e 5 (30 dias);

NT_{ij} = efeito da interação da concentração i com o tempo de processo j ;

e_{ijk} = erro experimental associado a repetição k do dia de processo j e no nível de inclusão i , suposto NID $(0, \sigma_e^2)$.

Para a avaliação da perda de peso durante o processo de secagem dos salames dos ensaios considerou-se o Modelo b:

$$Y_{ijkl} = \mu + G_i + T_j + P_k + GT_{ij} + GP_{ik} + TP_{jk} + e_{ijkl} \quad (\text{Modelo b})$$

Onde:

Y_{ijkl} = valor observado para a variável perda de peso, na repetição l , do processamento de material k , no tempo de secagem j e no grupo comparativo i ;

μ = constante inerente a todas as observações (média);

G_i = efeito do i -ésimo grupo comparativo sendo $i = 1$ (ES), 2 (PL), 3 (MAS) e 4 (MGS) ou 1 (ES), 2 (PL) e 3 (MCC);

T_j = efeito do j -ésimo tempo de secagem, sendo $j = 1$ (1 dia), 2 (2 dias), 3 (3 dias), ..., e 32 (32 dias);

P_k = efeito do k -ésimo processamento do material experimental, sendo $k = 1$ (1º processamento), 2 (2º processamento) e 3 (3º processamento);

GT_{ij} = efeito da interação dupla do grupo comparativo i com o tempo de secagem j ;

GP_{ik} = efeito da interação dupla do grupo comparativo i com o processamento de material k ;

TP_{jk} = efeito da interação dupla do tempo de secagem j com o processamento de material k ;

e_{ijkl} = erro experimental associado a repetição l , do processamento de material k , tempo de secagem j e no grupo comparativo i , suposto NID $(0, \sigma_e^2)$.

Para a caracterização da massa, realizaram-se análises para as variáveis de oxidação lipídica em TBARS, pH, atividade de água, teor de acidez em ácido oléico e resultados de cor instrumental L^* , a^* e b^* considerando um modelo de Delineamento Inteiramente Casualizado (DIC), utilizando o Modelo c:

$$Y_{ij} = \mu + G_i + e_{ij} \quad (\text{Modelo c})$$

Onde:

Y_{ij} = valor observado para a variável em estudo (oxidação lipídica em TBARS, pH, atividade de água, teor de acidez em ácido oléico e valores de cor instrumental), na repetição j do grupo comparativo i ;

μ = constante inerente a todas as observações (média);

G_i = efeito do i -ésimo grupo comparativo, sendo $i = 1$ (ES), 2 (PL), 3 (MAS) e 4 (MGS) ou 1 (ES), 2 (PL) e 3 (MCC);

e_{ij} = erro experimental associado a repetição j do grupo comparativo i , suposto NID $(0, \sigma_e^2)$.

As variáveis de oxidação lipídica – TBARS, pH, cor instrumental – L^* , a^* e b^* , atividade de água e acidez em ácido oléico referentes ao período de estocagem, também foram analisadas segundo um DIC em esquema fatorial 4x4 ou 3x4, considerando o Modelo d:

$$Y_{ijk} = \mu + G_i + T_j + GT_{ij} + e_{ijk} \quad (\text{Modelo d})$$

Onde:

Y_{ijk} = valor observado para a variável em estudo (oxidação lipídica - TBARS, cor instrumental – L^* , a^* , b^* , pH, acidez em ácido oléico e atividade de água) na repetição k , do tempo de estocagem j e no grupo comparativo i ;

μ = constante inerente a todas as observações (média);

G_i = efeito do i -ésimo grupo comparativo, sendo $i = 1$ (ES), 2 (PL), 3(MAS) e 4 (MGS) ou 1 (ES), 2 (PL) e 3 (MCC);

T_j = efeito do j -ésimo tempo de estocagem, sendo $j = 1$ (1 dia), 2 (30 dias), 3 (60 dias) e 4 (90 dias);

NT_{ij} = efeito da interação do grupo comparativo i com o tempo de estocagem j ;

e_{ijk} = erro experimental associado a repetição k , do tempo de estocagem j e no grupo comparativo i , suposto NID ($0, \sigma_e^2$).

Para as análises sensoriais foi utilizado um modelo misto de acordo com os efeitos fixos utilizados no Modelo d, assim como a inclusão do efeito aleatório dos provadores, de acordo com as recomendações de O'MAHONY (1986).

Para todos os modelos estatísticos avaliados, com exceção do Modelo c, em caso de efeito principal dos grupos comparativos significativo, utilizou-se como procedimento de comparações múltiplas o Teste t de *Student*. Em caso de interações significativas, procederam-se os desdobramentos utilizando-se o Teste F e, quando necessário, foram realizadas ainda análises de regressão para os estudos de estabilidade. Todas as análises estatísticas foram realizadas com auxílio do programa *Statistical Analysis System*®, versão 9.1.3 (SAS, 1995), utilizando-se o procedimento PROC MIXED.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Ensaio 1

O ensaio 1 foi realizado com a finalidade de verificar qual a concentração mais adequada de própolis microencapsulada a ser empregada no salame, verificando principalmente se esta quantidade adicionada não apresentou baixo efeito antioxidante ou efeito pró-oxidante. Durante este ensaio foram avaliados a acidez, pH e parâmetros de cor instrumental do produto ao longo do processamento.

A escolha das concentrações das microcápsulas de própolis a serem adicionadas no salame no ensaio 1 foi realizada a partir de resultados da atividade antioxidante do material, fornecido pelo LAPROF, responsável pela preparação das microcápsulas (Tabela 7).

Tabela 7 – Atividade antioxidante (%) de diferentes concentrações (%) de microcápsulas de própolis com (MAS) e com goma arábica (MGS) produzidas pela técnica de *spray drying*

Tratamento	Concentração (%)	Atividade antioxidante (%)
MAS	0,06	34,60 ± 2,57
MAS	0,15	61,54 ± 4,01
MAS	0,30	87,59 ± 1,14
MGS	0,05	23,82 ± 1,23
MGS	0,20	72,20 ± 4,63
MGS	0,50	88,95 ± 3,26

4.1.1 Processamento

Para o processamento do ensaio 1, a carne bovina foi moída em disco mais fino, pois suas fibras apresentam maior espessura e resistência em comparação às da carne suína (MACEDO et al., 2008). Durante este ensaio, a câmara apresentou um problema no sistema de refrigeração e os salames não foram fermentados e maturados em temperatura adequada e consequentemente, não atingiram a atividade de água

desejada. Com isso, os salames do ensaio 1 não foram classificados como tipo Italiano, apenas como salames.

De acordo com as características de umidade e temperatura utilizadas no processamento, a etapa de fermentação foi finalizada após 24 horas do início do processo, quando as peças de salame atingiram o pH desejado. A fermentação, realizada a temperatura de 23 a 25°C, não corresponde à temperatura ótima dos microrganismos da cultura *starter*, pois temperaturas altas podem ocasionar problemas relacionados à segurança microbiológica do produto, além de excessiva acidificação e fusão das gorduras (NASSU; GONÇALVES; BESERRA, 2002). A faixa final de pH foi estipulada para garantir a segurança microbiológica do produto final, na medida em que estudos indicam que a fermentação deve ser conduzida até valores de pH inferiores a 5,3 (LÜCKE, 1994). Por sua vez, o processo de secagem foi conduzido por 30 dias.

4.1.2 Determinação da oxidação lipídica

A oxidação lipídica no decorrer do processamento dos salames dos tratamentos MAS – microcápsula de própolis com amido OSA (Figura 10) e MGS – microcápsula de própolis com goma arábica (Figura 11) apresentou interação significativa ($p < 0,05$) entre o tempo de processo e as diferentes concentrações das microcápsulas adicionadas.

A oxidação lipídica dos salames com microcápsulas de própolis do tratamento MAS aplicadas nas concentrações de 0,00% e 0,10% aumentou ao longo dos 30 dias de processo ($p < 0,05$). Neste caso, o valor de TBARS dos salames com 0,00% aumentou de 0,14 no 5º dia para 0,43 no 30º dia, o que corresponde a um aumento de 3 vezes. Esta elevação foi significativa em todos os tempos analisados ($p < 0,05$). Por sua vez, os salames com 0,10% apresentaram um aumento menos acentuado, correspondente a 1,7 vezes. Este aumento foi significativo a partir do 9º dia, com o máximo no 30º dia ($p < 0,05$). Os salames com concentrações de 0,15 e 0,20% permaneceram com valores de TBARS constantes neste mesmo período ($p > 0,05$), apresentando valores médios de 0,154 e 0,157 mg MDA/kg, respectivamente.

Figura 10 – Resultados observados (obs.) e estimados (est.) da oxidação lipídica (TBARS - mg MDA/kg) de diferentes concentrações (%) de MAS (microcápsula de própolis com amido OSA) em salames ao longo de 30 dias de processo

Figura 11 – Resultados observados (obs.) e estimados (est.) da oxidação lipídica (TBARS - mg MDA/kg) de diferentes concentrações (%) de MGS (microcápsula de própolis com goma arábica) em salames ao longo de 30 dias de processo

Os salames com ausência de microcápsula de própolis do tratamento MGS (0,00%) e com 0,40% de MGS apresentaram aumento linear ao longo de 30 dias de processo ($p < 0,05$). O valor de TBARS com 0,00% de concentração triplicou de 0,14 no 5º dia para 0,43 no 30º dia, com diferenciação significativa já do 5º ao 9º dia ($p < 0,05$), prolongando-se no decorrer do processo. O mesmo comportamento pode ser observado com 0,40%, porém, com um aumento apenas 0,5 vezes maior, significativo a partir do 26º dia de processo ($p < 0,05$). Por sua vez, os salames com 0,15 e 0,25% de própolis do tratamento MGS não apresentaram aumento estatisticamente significativo ($p > 0,05$) da oxidação lipídica no mesmo período, apresentando valores médios de 0,1587 e 0,1536 mg MDA/kg, respectivamente.

Analisando os resultados de oxidação lipídica obtidos para os tratamentos MAS e MGS em diferentes concentrações, observa-se que a incorporação de 0,15 e 0,20% de microcápsula de própolis com amido OSA e 0,15 e 0,20% de microcápsula de própolis com goma arábica foram efetivas e suficientes para o controle da oxidação lipídica nos salames ao longo do período de processamento de 30 dias. Além dos valores de TBARS permanecerem estatisticamente constantes no período analisado para estas concentrações, o tratamento com 0,00% (ausência de antioxidantes sintéticos ou própolis) apresentou um aumento acentuado e estatisticamente significativo no mesmo período. Apesar de estudos observarem que não ocorre oxidação lipídica significativa durante a secagem de embutidos fermentados e secos (FERNÁNDEZ; RODRÍGUEZ, 1991), este tratamento não apresentou a incorporação de antioxidantes sintéticos comerciais ou própolis, o que pode ter contribuído com a oxidação lipídica observada, já que para os demais tratamentos adicionados de própolis microencapsulada, o mesmo não foi observado em níveis tão acentuados.

Os salames dos tratamentos MAS e MGS aplicados na concentração de 0,10 e 0,40%, respectivamente, também apresentaram aumento significativo no valor de TBARS. A incorporação de 0,10% de microcápsula de própolis com amido OSA parece não ter sido tão suficiente para conter a oxidação lipídica nas amostras de salame ao longo do processamento. Por sua vez, os compostos fenólicos presentes na própolis podem apresentar atividade pró-oxidante em determinadas condições (DECKER, 1997), assim como outros antioxidantes quando aplicados em níveis elevados em um

sistema alimentício (MORRISSEY et al., 1998; RAMALHO; JORGE, 2006), o que pode explicar o aumento da oxidação dos salames com 0,40% do tratamento MGS.

Apesar das diferenças observadas entre os tratamentos ao final do processo de secagem (30 dias), os resultados de oxidação lipídica foram inferiores aqueles obtidos por Hoz et al. (2004), Bruna et al. (2001), Marco, Navarro e Flores (2008) e Chasco, Beriain e Bello (1993), os quais obtiveram valores próximos a 1 mg MDA/kg. Tais diferenças podem estar relacionadas à matéria-prima utilizada, formulação, condições de processo (temperatura e umidade relativa empregadas), assim como as características do produto final (pH e atividade de água), o que dificulta uma comparação mais adequada entre os resultados obtidos. Estudos realizados por Chasco, Beriain e Bello (1993) mostraram que há uma diferença significativa e acentuada entre amostras de salame, sendo um produto que reflete falta de homogeneidade entre diferentes processos industriais.

O fato do tratamento com 0,00% de própolis ter apresentado uma oxidação lipídica consideravelmente superior aos demais com própolis microencapsulada, indica a importância do uso de antioxidantes na formulação de embutidos cárneos fermentados e secos, já que, conforme mostrado, a oxidação lipídica pode ocorrer mesmo durante o processamento caso não haja incorporação de antioxidantes à formulação. Como outros embutidos cárneos fermentados e secos, sua produção envolve inúmeras etapas incluindo os processos de moagem, mistura, embutimento, fermentação e secagem por 20 dias ou mais, tempo no qual o oxigênio pode permear no produto, contribuindo com reações como a de oxidação lipídica (HOZ et al., 2004).

Os resultados obtidos para a oxidação lipídica ao longo do processamento de salames referente ao ensaio 1 indicam que a própolis microencapsulada correspondentes aos tratamentos MAS e MGS em concentrações de 0,15 a 0,20% e 0,15 a 0,25%, respectivamente, apresentam efeitos positivos consideráveis como antioxidantes nos salames estudados. Isto sugere também que os compostos fenólicos e flavonóides da própolis presentes nas microcápsulas puderam ser liberados e distribuídos na matriz cárnea. Neste caso, tanto o amido OSA como a goma arábica como agentes encapsulantes permitiram a liberação desses compostos.

4.1.3 Avaliação do pH

A Figura 12 e Figura 13 mostram a interação obtida entre os resultados de pH com o tempo de processo para os salames com diferentes concentrações do tratamento MAS e MGS, respectivamente.

O pH médio inicial da massa de salame (tempo 1) dos tratamentos MAS e MGS para as diferentes concentrações permaneceu entre 6,19 e 6,48, o que está coerente com a variação de 6,35 a 6,65 observada por Del Nobile et al. (2009) para salames Italianos, que podem ser decorrentes da matéria-prima e formulação empregadas.

A fermentação ocorreu em aproximadamente 24 horas, do dia 1 ao 2, onde observa-se uma redução significativa ($p < 0,05$) nos valores de pH de todos os tratamentos em função da produção de ácido láctico pelas bactérias lácticas adicionadas (BRUNA et al., 2001). Esta redução do pH até valores próximos de 5,0 foi considerado o final do processo de fermentação, onde então iniciou-se o processo de secagem, alterando-se os parâmetros do equipamento. A queda do pH nos primeiros dias de fermentação torna o ambiente protegido contra a ação indesejável de bactérias gram-negativas, constituindo a base para a segurança microbiológica deste produto (TYÖPPÖNEN; PETÄJÄ; MATTILA-SANDHOLM, 2003). Com o produto fermentado, iniciou-se o processo de secagem, onde a temperatura da câmara foi reduzida para interromper o processo de fermentação.

Figura 12 – Resultados observados (obs.) e estimados (est.) do pH de diferentes concentrações (%) de MAS (microcápsula de própolis com amido OSA) em salames ao longo de 30 dias de processo

Figura 13 – Resultados observados (obs.) e estimados (est.) do pH de diferentes concentrações (%) de MGS (microcápsula de própolis com goma arábica) em salames ao longo de 30 dias de processo

Os tratamentos, MAS e MGS, apresentaram uma redução significativa do pH ($p < 0,05$) a partir do 2º dia, com posterior aumento ao final do processo, com exceção dos salames com 0,00%, o qual não aumentou ao final do 30º dia. As variações de pH observadas, principalmente o seu aumento frequentemente observado nos últimos dias de secagem, pode estar relacionado com a concentração de proteínas tamponantes, formação de amônia, influências dos ácidos orgânicos oriundos da fermentação dos açúcares, aminas resultantes da proteólise ou pelas próprias enzimas tissulares (CAVENAGHI, 2005; CHAGAS, 1998; DEMEYER; VANDEKERCKHOVE; MOERMANS, 1979; MAURIELLO et al., 2004). Comportamento semelhante foi observado na produção de embutidos fermentados e secos (BRUNA et al., 2001; MACEDO et al., 2008; OLESEN; MEYER; STAHNKE, 2004), em salame tipo Italiano (GARCIA; GAGLEAZZI; SOBRAL, 2000) e em embutidos fermentados semi-secos (HUGHES et al., 2002).

Apesar das diferenças observadas entre os tratamentos ao final do processamento e considerando que a legislação brasileira não preconiza limites para o valor final de pH de salames (BRASIL, 2000), a média final obtida foi de 5,10, o que está coerente com os valores obtidos por Campagnol (2007) e Del Nobile (2009) para salames e suficiente para prevenir o crescimento de bactérias patogênicas. Além disso, observa-se que a incorporação das microcápsulas de própolis não afetou o pH das amostras, já que o mesmo foi reduzido normalmente em função da fermentação, sendo que não apresentou diferenças consideráveis com as amostras com 0,00% de própolis.

4.1.4 Acidez em ácido oléico

Na Tabela 8 observa-se o efeito significativo ($p < 0,05$) do tempo para o aumento da acidez dos salames do tratamento com microcápsula de própolis com amido OSA (MAS), o qual passou de 0,74 para 4,74 g ác. oléico/100g do tempo 1 ao 30, respectivamente. O efeito também foi significativo para as diferentes concentrações de MAS, conforme pode-se observar na Tabela 9. A acidez neste caso foi significativamente inferior ($p < 0,05$) para os salames com 0,10% de microcápsula, não diferindo apenas dos salames com 0,00% ($p > 0,05$). Os ácidos graxos livres insaturados

são mais suscetíveis à hidrólise do que os ácidos graxos saturados durante a maturação de embutidos, pois são mais propensos ao ataque das lipases (STAHNKE, 1995). Assim sendo, esta menor acidez observada para estes tratamentos mostra-se diretamente relacionada aos maiores índices de TBARS. A menor acidez verificada pode estar relacionada aos ácidos graxos livres, no caso o ácido oléico, que pode ter se oxidado, aumentando os valores de TBARS e, conseqüentemente, reduzindo os valores obtidos para a quantificação da acidez.

Tabela 8 – Médias de acidez (erro padrão) da massa (tempo 1) e dos salames (tempo 30) dos tratamentos com microcápsula de própolis com amido OSA (MAS)

Tempo (dias)	Acidez (g ác. oléico/100g)
1	0,74 ^b (0,02)
30	4,74 ^a (0,02)

^{a, b} Letras minúsculas diferentes na mesma coluna significa que as médias diferem estatisticamente entre si ($p < 0,01$).

Tabela 9 – Médias de acidez (erro padrão) dos salames com diferentes concentrações (%) de microcápsula de própolis com amido OSA (MAS)

Concentração (%)	Acidez (g ác. oléico/100g)
0,00	2,72 ^{ab} (0,02)
0,10	2,67 ^b (0,02)
0,15	2,81 ^a (0,02)
0,20	2,78 ^a (0,02)

^{a, b} Letras minúsculas diferentes na mesma coluna significa que as médias diferem estatisticamente entre si ($p < 0,01$).

Na Tabela 10 observam-se os resultados de acidez dos salames com diferentes concentrações de microcápsulas de própolis com goma arábica (MGS) em cada tempo analisado (massa – tempo 1 e salame pronto – tempo 30). No tempo 1, observa-se que a acidez daquele com 0,10% foi significativamente superior àquele com 0,00%, porém, não diferiu dos salames com 0,15 e 0,20%. Esta variação de 0,2 g/100g, apesar de significativa ($p < 0,05$), não se torna relevante para a diferenciação direta dos diferentes tratamentos já que se trata da massa dos salames e não dos salames prontos.

Tabela 10 – Médias de acidez (erro padrão) nos tempos 1 e 30 dias, de diferentes concentrações (%) de microcápsula de própolis com goma arábica (MGS) em salames

Concentração (%)	Acidez (g ác. oléico/100g)	
	Tempo 1	Tempo 30
0,00	0,69 ^b (0,04)	4,74 ^b (0,04)
0,10	0,89 ^a (0,04)	4,66 ^b (0,04)
0,15	0,81 ^{ab} (0,04)	5,08 ^a (0,04)
0,20	0,84 ^{ab} (0,04)	4,79 ^b (0,04)

^{a, b} Letras minúsculas diferentes na mesma coluna significa que as médias diferem estatisticamente entre si ($p < 0,01$).

No entanto, com a avaliação da acidez dos salames prontos (tempo de 30 dias), observa-se que aqueles com 0,15% de microcápsula de própolis apresentaram acidez significativamente superior aos salames das demais concentrações. Novamente a maior acidez relaciona com os menores índices de oxidação lipídica, justamente pela maior concentração de ácidos graxos livres (quantificado pelo ácido oléico) não oxidados. A quantidade de ácidos graxos livres pode reduzir com o tempo devido à alta suscetibilidade desses compostos à oxidação, havendo a formação de um grande número de substâncias voláteis e precursores do aroma (CICHOSKI; TERRA, 2001).

Rodriguez, Carballo e Lopez (2001) consideram que 2,31 a 3,94% de ácido oléico valores moderados para os produtos por eles avaliados, portanto, de acordo com estes autores, podemos dizer que os salames do presente estudo sofreram uma lipólise moderada.

4.1.5 Atividade de água

No ensaio 1, os salames passaram pelo processo de secagem até atividade de água média de 0,92, sendo que os valores específicos obtidos para cada tratamento podem ser observados na Tabela 11. A importância desta avaliação deve-se porque a disponibilidade de água influencia na atividade microbiana, enzimática e química, com isso determina a vida útil dos salames, assim como outros alimentos (FELLOWS, 2000).

Tabela 11 – Médias de atividade de água - A_w (erro padrão) das amostras de salames dos tratamentos MAS¹ e MGS² ao final do processamento do ensaio 1

Tratamentos	Concentração (%)	A_w
MAS	0,00	0,921 (0,001)
MAS	0,10	0,914 (0,001)
MAS	0,15	0,910 (0,001)
MAS	0,20	0,910 (0,001)
MGS	0,00	0,921 (0,001)
MGS	0,15	0,927 (0,000)
MGS	0,25	0,930 (0,001)
MGS	0,40	0,918 (0,001)

¹Microcápsula de própolis com amido OSA; ²Microcápsula de própolis com goma arábica.

Esta análise foi realizada com o objetivo de caracterizar o final do processo de secagem dos salames. Como pode-se verificar, a atividade de água dos salames obtidos foi superior a 0,90, ou seja, maior que o limite máximo permitido pelo regulamento técnico de identidade e qualidade de salame tipo Italiano (BRASIL, 2000). No entanto, com essa atividade de água, os produtos obtidos podem ser classificados apenas como salames, de acordo com o mesmo regulamento.

Conforme já discutido no item 4.1.1, a câmara de fermentação, secagem e maturação de salames apresentou problemas para manutenção dos parâmetros estabelecidos e, com isso, o processamento do ensaio 1 teve que ser interrompido para os devidos ajustes no equipamento.

4.1.6 Parâmetros de cor

A partir dos resultados estatísticos das médias obtidas para a medida instrumental da luminosidade (L^*) das amostras de salame dos tratamentos MAS e MGS, observou-se, respectivamente, efeito isolado do tempo (Figura 14) e interação entre tempo e concentração (Figura 15) para a redução de L^* .

Figura 14 – Resultados observados (obs.) e estimados (est.) da luminosidade (L^*) de MAS (microcápsula de própolis com amido OSA) em salame ao longo de 30 dias de processo

Figura 15 – Resultados observados (obs.) e estimados (est.) da luminosidade (L^*) de diferentes concentrações (%) de MGS (microcápsula de própolis com goma arábica) em salames ao longo de 30 dias de processo

A luminosidade instrumental dos salames do ensaio 1 apresentou uma redução linear estatisticamente significativa ($p < 0,05$) do 1º ao 30º dia, ou seja, os salames escureceram no decorrer do processo de produção, o que é decorrente do processo de cura e secagem das peças de salame (PÉREZ-ALVAREZ et al., 1999). Com a perda de umidade do produto e concentração dos demais compostos, ocorre redução da quantidade de luz refletida (CAVENAGHI, 1999).

Por sua vez, a intensidade de vermelho (a^*) aumentou significativamente nos salames no decorrer do tempo de processo, porém, sem influência das diferentes concentrações dos tratamentos, conforme mostrado na Figura 16.

Figura 16 – Resultados observados (obs.) e estimados (est.) da intensidade de vermelho (a^*) de MAS (microcápsula de própolis com amido OSA) e MGS (microcápsula de própolis com goma arábica) em salames ao longo de 30 dias de processo

O aumento de a^* está relacionado ao processo de cura e maturação dos salames e observa-se que os tratamentos MAS e MGS apresentaram comportamento semelhante no decorrer do processo. A reação da mioglobina, principal pigmento cárneo, com o óxido nítrico no processo de cura, forma o composto nitrosomioglobina, onde o óxido nítrico está ligado ao ferro heme. A nitrosomioglobina é o pigmento

característico de carnes curadas e é suscetível a oxidação (ZANARDI et al., 2002). O aumento de a^* ao longo do processamento também foi observado por Campagnol (2007) e Garcia, Gagleazzi e Sobral (2000) em salame tipo Italiano.

Ao contrário de a^* , a intensidade de amarelo (b^*) apresentou um decréscimo acentuado ao longo dos dias de processo (Figura 17), novamente sem efeito significativo das concentrações dos tratamentos aplicados, apenas do tempo de processo. O decréscimo observado em b^* foi semelhante para os dois tratamentos e é provavelmente decorrente do consumo de oxigênio pelos microrganismos da cultura *starter* durante sua fase de crescimento exponencial e, conseqüentemente, ao decréscimo de oximioglobina, que contribui consideravelmente para o valor de b^* . Além disso, a reação do óxido nítrico com a mioglobina para formar nitrosomioglobina também contribui para o decréscimo das concentrações de mioglobina e oximioglobina presentes, o que conduz na redução de b^* (PÉREZ-ALVAREZ et al., 1999).

Figura 17 – Resultados observados (obs.) e estimados (est.) da intensidade de amarelo (b^*) de MAS (microcápsula de própolis com amido OSA) e MGS (microcápsula de própolis com goma arábica) em salames ao longo de 30 dias de processo

Considerando o produto final obtido (tempo 30), os valores de L^* e b^* foram superiores e os de a^* inferiores aos obtidos por Campagnol (2007) para salame tipo Italiano, onde se empregou a mesma cultura *starter* do presente projeto. O maior L^* pode ser decorrente da maior atividade de água observada para os salames deste experimento, já que este pesquisador obteve atividade de água de 0,84. O menor valor de a^* pode refletir um menor teor de mioglobina da matéria-prima utilizada (CAVENAGHI, 2005) e o maior valor de b^* decorrente da menor formação de nitrosomioglobina (PÉREZ-ALVAREZ et al., 1999). Porém, os valores de a^* foram coerentes ao verificado em salames Italianos tradicionais encontrados no mercado brasileiro, com variação de 12,7 a 17,6 (CAVENAGHI, 2005) e L^* também foi semelhante ao valor de 44,57 obtido por Santa (2008) para salame tipo Italiano formulado com a mesma cultura *starter*.

A partir dos resultados obtidos para a cor instrumental dos salames, verifica-se que a adição de microcápsulas de própolis não afetou consideravelmente esta característica do produto, principalmente com relação à intensidade de vermelho (a^*), na medida em que os valores obtidos encontram-se adequados àqueles obtidos em outros estudos para produtos semelhantes.

4.1.7 Considerações finais sobre o ensaio 1

Apesar da impossibilidade de se atingir valores de atividade de água para classificar os salames obtidos no ensaio 1 como do tipo Italiano, os resultados de cor, pH e acidez foram coerentes com outros estudos para produtos semelhantes.

Como a própolis microencapsulada adicionada nas concentrações entre 0,15 e 0,25% foram efetivas no controle da oxidação lipídica nos salames ao longo do processamento, sem afetar negativamente as características de cor, pH e acidez dos produtos obtidos, procedeu-se a realização do ensaio 2. Para isso, optou-se por utilizar a própolis microencapsulada na concentração de 0,15% já que não diferiu ($p > 0,05$) das amostras com 0,20 e 0,25%. Além disso, considerou-se o fato de que na seleção de antioxidantes é desejável que os mesmos sejam eficazes em baixas concentrações (RAMALHO; JORGE, 2006).

4.2 Ensaio 2

4.2.1 Processamento

O ensaio 2 engloba o resultado de três processamentos realizados separadamente com o objetivo de verificar o efeito da própolis livre e microencapsulada em algumas características de qualidade do salame tipo Italiano, além da verificação da melhor forma de microencapsulação para se obter os efeitos desejados neste produto. As características de processamento foram iguais às realizadas para o ensaio 1, com exceção dos tratamentos e formulação empregada, conforme especificado no item Material e Métodos. Além disso, os salames do ensaio 2 foram secos por 32 dias com a finalidade de se obter os parâmetros desejados de atividade de água.

4.2.2 Caracterização da massa

A caracterização da massa dos salames teve como objetivo verificar o efeito das condições de processo sobre este produto. Na Tabela 12 observam-se os resultados de caracterização das massas para a preparação dos salames tipo Italiano do grupo *spray drying* e na Tabela 13 os resultados para o grupo coacervação.

Tabela 12 – Caracterização das massas dos salames tipo Italiano do grupo spray drying quanto a oxidação lipídica, L*, a*, b*, acidez, Aw e pH (erro padrão)

Tratamento	TBARS (mg MDA/kg)	L*	a*	b*	Acidez	Aw	pH
ES	0,45 ^a (0,06)	53,25 ^a (0,95)	17,14 ^{ab} (0,49)	14,60 ^a (0,34)	0,59 ^a (0,02)	0,972 ^a (0,002)	6,18 ^b (0,02)
PL	0,52 ^a (0,06)	54,32 ^a (0,95)	18,00 ^a (0,49)	15,28 ^a (0,34)	0,62 ^a (0,02)	0,971 ^a (0,002)	6,19 ^b (0,02)
MAS	0,53 ^a (0,06)	54,24 ^a (0,95)	16,84 ^{ab} (0,49)	15,05 ^a (0,34)	0,63 ^a (0,02)	0,971 ^a (0,002)	6,25 ^a (0,02)
MGS	0,52 ^a (0,06)	54,05 ^a (0,95)	15,99 ^b (0,49)	14,43 ^a (0,34)	0,63 ^a (0,02)	0,975 ^a (0,002)	6,17 ^b (0,02)

^{a, b}Letras diferentes na mesma coluna indicam que as médias diferiram estatisticamente entre si (p<0,05).

ES = eritorbato de sódio, PL = própolis livre, MAS = microcápsula de própolis com amido OSA (*spray drying*) e MGS = microcápsula de própolis com goma arábica (*spray drying*).

Tabela 13 – Caracterização das massas dos salames tipo Italiano do grupo coacervação quanto a oxidação lipídica, L*, a*, b*, acidez, Aw e pH (erro padrão)

Tratamento	TBARS (mg MDA/kg)	L*	a*	b*	Acidez	Aw	pH
ES	0,45 ^a (0,06)	53,25 ^a (0,94)	17,14 ^a (0,53)	14,60 ^a (0,31)	0,59 ^b (0,02)	0,972 ^a (0,002)	6,18 ^a (0,02)
PL	0,52 ^a (0,06)	54,32 ^a (0,94)	16,77 ^a (0,53)	15,28 ^a (0,31)	0,62 ^{ab} (0,02)	0,971 ^a (0,002)	6,19 ^a (0,02)
MCC	0,44 ^a (0,06)	55,52 ^a (0,94)	18,00 ^a (0,53)	15,04 ^a (0,31)	0,71 ^a (0,02)	0,970 ^a (0,002)	6,11 ^b (0,02)

^{a, b}Letras diferentes na mesma coluna indicam que as médias diferiram estatisticamente entre si (p<0,05).

ES = eritorbato de sódio, PL = própolis livre, MCC = microcápsula de própolis com pectina e proteína de soja (coacervação).

As massas dos salames dos grupos *spray drying* e coacervação não apresentaram diferença significativa ($p>0,05$) para os parâmetros de oxidação lipídica, luminosidade, intensidade de amarelo, e atividade de água (A_w), o que mostra padronização no processamento empregado para todos os tratamentos. Por sua vez, a intensidade de vermelho foi significativamente superior ($p<0,05$) para o tratamento PL, o qual diferiu estatisticamente apenas do tratamento MGS. Os tratamentos ES e MAS não diferiram dos demais tratamentos. No grupo coacervação não verificou-se diferença ($p>0,05$) para este parâmetro. As massas do grupo coacervação apresentaram diferença estatística para a acidez ($p<0,05$) enquanto que para o grupo *spray drying*, nenhuma diferença foi observada ($p>0,05$). Os valores de pH dos dois grupos apresentaram diferença significativa ($p<0,05$). No caso, o pH do salame do tratamento MAS do grupo *spray drying* e aqueles dos tratamentos ES e PL do grupo coacervação apresentaram valores significativamente superiores nos respectivos grupos. Apesar de verificadas algumas diferenças nas massas dos tratamentos aplicados, as mesmas não foram extremas a ponto de descaracterizar o produto no início do processamento. Além disso, estes parâmetros são alterados com o processo de fermentação, cura, secagem e maturação dos salames durante o processo.

O pH e o valor de TBARS encontrados para todos os tratamentos, tanto do grupo *spray drying* quanto o grupo coacervação, encontram-se inferiores à faixa de 6,35 a 6,65 e 0,11 mg MDA/kg, respectivamente, verificados em algumas massas de salame tipo Italiano (DEL NOBILE et al., 2009). A atividade de água obtida na massa encontra-se superior à 0,96 encontrado no início do processo de salame tipo Italiano em outro estudo (DEGENHARDT e SANT'ANNA, 2007). No entanto, o pH e a atividade de água da massa encontram-se coerentes com os valores de 6,0 e 0,97, respectivamente, observados na massa de salame tipo Italiano (GARCIA et al., 2000). Os valores de a^* e L^* obtidos para os tratamentos encontram-se superiores a 7,81 e 35, respectivamente, encontrados por Garcia et al (2000) nas massas de salame tipo Italiano.

Aro Aro et al. (2010) obtiveram valores de pH iniciais da massa entre 6,0 e 6,1, o que está coerente com os resultados obtidos neste experimento. Outros autores obtiveram pH entre 6,35 e 6,65 (DEL MOBILE et al., 2009) e 5,9 (ŽLENDER et al., 2009), ou seja, valores superiores e inferiores, respectivamente, àqueles observados.

As pequenas variações podem ser decorrentes da formulação e matéria-prima empregadas.

A maior acidez verificada para a massa dos salames do tratamento MCC do grupo coacervação mostra que a adição dessas microcápsulas pode ter acelerado o processo de lipólise, sem aumentar o valor de TBARS. Essa relação também foi observada por Zalacain et al. (1995). Como os salames foram produzidos com a mesma matéria-prima processadas da mesma forma, não se espera que tal diferença seja decorrente da acidez da própria gordura.

4.2.3 Perda de peso

A secagem do salame é uma etapa que deve ser muito controlada. Se as condições de secagem forem muito drásticas, ocorrerá formação de uma crosta seca na superfície do embutido que contribuirá para a manutenção da umidade em seu interior, o que pode causar problemas de conservação pela alta atividade de água na porção central do salame (GALLI, 1993). A determinação da perda de peso de embutidos secos como o salame é, portanto, uma medida que mostra indiretamente a quantidade de água eliminada pelo embutido durante o período de secagem e depende da temperatura, umidade relativa no interior da câmara de maturação e do tempo de processamento (GARCIA; GAGLEAZI; SOBRAL, 2000).

Verificou-se nos resultados de perda de peso uma interação estatisticamente significativa com o tempo de processo de secagem para os dois grupos de salames – *spray drying* (Figura 18) e coacervação complexa (Figura 19). No entanto, não se verificou um comportamento linear da secagem com o tempo. Até o 8º dia de secagem, tanto os salames do grupo *spray drying* quanto o de coacervação, já haviam perdido cerca de 20% de peso de um total de quase 41% ao final do 32º dia. Este comportamento do processo de secagem difere da perda de peso linear observado por Garcia, Gagleazzi e Sobral (2000) em salames tipo Italiano, mesmo com perda de peso de 44% ao final do processo de secagem, superior ao observado neste experimento.

Figura 18 – Resultados observados (obs.) e estimados (est.) de perda de peso (%) dos salames tipo Italiano do grupo *spray drying* durante os 32 dias de secagem

Figura 19 – Resultados observados (obs.) e estimados (est.) de perda de peso (%) dos salames tipo Italiano do grupo coacervação durante os 32 dias de secagem

Observa-se também que o perfil de perda de peso foi muito semelhante para os dois grupos de salame, inclusive com equações dos parâmetros estimados bem

próximas, ou seja, para os dois grupos estudados, a perda de peso foi semelhante e, portanto, padronizada.

Neste experimento, mesmo com a perda de peso não-linear dos salames dos dois grupos, não se observou a formação de crosta em sua superfície, como se pode verificar pelo corte apresentado na Figura 20.

Figura 20 – Ilustração de uma fatia de salame onde se observa que não ocorreu a formação de crosta na superfície da peça

Portanto, podemos dizer que os processos foram conduzidos de forma padronizada com relação aos parâmetros de umidade relativa e temperatura do ambiente da câmara de secagem. Outros autores obtiveram perda de peso entre 27 e 32% (GØTTERUP et al., 2008; MACEDO et al., 2008; ZANARDI et al., 2002), 35 e 45% (CIROLINI, 2008; ŽLENDER et al., 2009) e 59% (CAMPAGNOL, 2007), mostrando a grande variabilidade entre os processamentos de embutidos cárneos fermentados e secos, que pode ser decorrente da formulação, matéria-prima, processo, entre outros.

A perda de peso do produto ao longo do processo de secagem ocasiona redução de diâmetro e, conseqüentemente, do volume das peças. Apesar deste fato não ter sido estudado neste experimento, a perda de peso de 30 a 34% pode ocasionar redução entre 10 e 13% no diâmetro das peças (MACEDO et al., 2008). Garcia, Gagleazzi e Sobral (2000) observaram que com 44% de perda de peso, o volume das peças de salame tipo Italiano foram reduzidas em 43%.

Através do exposto, verifica-se que a incorporação da própolis não afetou diretamente o processo de secagem do salame tipo Italiano, assim como os materiais empregados como agentes encapsulantes, como o amido OSA, goma arábica, pectina e proteína de soja.

4.2.4 Determinação da oxidação lipídica

Além da caracterização da matéria-prima pela análise da massa de cada tratamento, a quantificação da oxidação lipídica do salame é importante para determinar sua qualidade ao longo da vida útil. A oxidação lipídica dos salames dos grupos *spray drying* (Figura 21) e coacervação (Figura 22) aumentou significativamente com o tempo de estocagem de 90 dias. Não se observou interação com os tratamentos estudados, ou seja, a oxidação lipídica aumentou ao longo do armazenamento independente do efeito dos tratamentos. Com isso, nem mesmo os salames com eritorbato de sódio diferenciaram-se daqueles com própolis.

Figura 21 – Resultados observados (obs.) e estimados (est.) da oxidação lipídica de salames tipo Italiano do grupo *spray drying* ao longo de 90 dias de armazenamento

Figura 22 – Resultados observados (obs.) e estimados (est.) da oxidação lipídica de salames tipo Italiano do grupo coacervação ao longo de 90 dias de armazenamento

Pelos resultados de caracterização da massa de cada tratamento de salame do grupo *spray drying* (Tabela 12) e coacervação (Tabela 13), observou-se que a oxidação lipídica pouco se alterou para os salames já prontos, os quais apresentaram valores médio de 0,49 mg MDA/kg na massa para 0,45 a 0,47 mg MDA/kg no 1º dia, para os dois grupos de salame.

Considerando a vida útil do produto de 90 dias, pouca variação foi observada na oxidação já que o TBARS aumentou de 0,45 a 0,47 mg MDA/kg no 1º dia aproximadamente 0,60 mg MDA/kg ao final do 90º dia de armazenamento para ambos grupos de salame.

Os tratamentos aplicados não apresentaram diferenciação significativa entre si nas condições de processamento e armazenamento aplicadas. O contato com metais através dos equipamentos utilizados, a incorporação de ar durante o embutimento, a temperatura empregada durante as etapas de fermentação e secagem parecem não ter afetado consideravelmente a oxidação lipídica da massa ao salame pronto. Durante o armazenamento, o pequeno aumento observado da oxidação lipídica pode ser decorrente de diversos fatores como o possível residual de oxigênio remanescente na

embalagem após o fechamento a vácuo, a taxa de permeabilidade ao oxigênio característico da embalagem e a temperatura de armazenamento de 25°C.

No presente experimento, os salames com 90 dias de armazenamento, tanto para o grupo *spray drying* quanto coacervação, apresentaram valores de TBARS consideravelmente inferiores às amostras de salames comerciais da Espanha, com TBARS ao redor de 1,1 mg MDA/kg (CHASCO; BERIAIN; BELLO, 1993), o qual não foi observado neste experimento com salames de até 90 dias de armazenamento. Outro estudo com salame tipo Italiano produzido com eritorbato de sódio e fermentado com cultura *starter* composta por *S. xylosus* e *P. pentosaceus* apresentou valor de TBARS de 0,5 mg MDA/kg na massa e, ao final de 90 dias de armazenamento, este valor aumentou para 1,7 mg MDA/kg (SANTA, 2008), aumento este bem acentuado e muito superior ao observado no presente experimento durante o armazenamento. Isto sugere que as condições de processamento e qualidade da matéria-prima foram adequadas a ponto de retardar o aumento da oxidação lipídica ao longo do armazenamento dos salames estudados. Outro fator que deve ser considerado é que não foi possível diferenciar os tratamentos quanto à oxidação lipídica apenas no período estudado, no caso, de 90 dias, mas os mesmos poderiam diferenciar-se em períodos mais prolongados de armazenamento. Além disso, como as peças foram embaladas à vácuo e armazenadas ao abrigo da luz, o aumento da oxidação lipídica pode ser retardado.

É de grande interesse a realização de estudos forçando a taxa de oxidação lipídica, o que pode ser atingido aumentando a superfície de contato do salame com o oxigênio atmosférico através do fatiamento e embalagem com filme plástico, uma vez que esta embalagem também é uma forma de comercialização deste produto. A presença do oxigênio pode contribuir consideravelmente com o valor de TBARS em embutidos cárneos fermentados. Amostras de embutidos fermentados e secos armazenados na presença de oxigênio por 90 dias apresentou um TBARS de 1,93 mg MDA/kg, sendo que nas amostras embaladas a vácuo não apresentou aumento da oxidação no mesmo período. O teor de aldeídos voláteis também mostrou alterações mais evidentes nas amostras em ambiente aeróbico (VALENCIA; ANSORENA; ASTIASARÁN, 2007). Outros estudos afirmam que a embalagem a vácuo é mais importante e apresenta maior efetividade no controle da oxidação lipídica que a adição

de antioxidantes na formulação (SUMMO et al., 2010), porém, o uso de antioxidantes ainda se faz necessário para auxiliar no controle dessa oxidação durante o armazenamento e posterior manipulação do produto.

A oxidação inicial da massa no ensaio 1 ficou entre 0,10 e 0,15 mg MDA/kg, bem inferior àquela observada na caracterização da massa do ensaio 2, com TBARS entre 0,44 e 0,53 mg MDA/kg. Com isso, os salames do ensaio 2 podem não ter apresentado aumento da oxidação como observado no ensaio 1, na medida que a matéria-prima já se apresentava com um grau superior de oxidação lipídica.

Outro fator que pode ter contribuído com a falta de significância dos tratamentos para uma diferenciação estatística ou com a interação entre tempo e tratamento pode estar relacionado à metodologia de quantificação de TBARS. Os resultados obtidos não foram repetitivos para o mesmo tratamento, no processamento e período analisado e entre os processamentos realizados, o que contribui com a menor significância e menor relação entre os fatores estudados. Esta falta de repetibilidade pode ser inerente à metodologia, uma vez que o malonaldeído pode se ligar às proteínas, aos aminoácidos, aos fosfolípidos com grupo amino e com ele mesmo, até mesmo quando a oxidação lipídica aumenta, não sendo quantificado no momento da análise (KWON; MENZEL; OLCOTT, 1965; MELTON, 1983). Comportamento semelhante foi observado durante 5 meses de maturação de salame Milano (GHIRETTI et al., 1997). No entanto, a metodologia proposta já foi utilizada recentemente por outros autores em embutidos cárneos fermentados e secos (BRUNA et al., 2001; HOZ et al., 2004), como é o caso do salame, sem problemas com erros referente à metodologia.

Os temperos adicionados no salame, como é o caso do alho, páprica, pimenta branca, coentro e noz moscada, já mostraram algum efeito antioxidante em outros estudos (YANISHLIEVA; MARINOVA; POKORNÝ, 2006), o qual pode ter contribuído com o retardamento de uma oxidação lipídica mais acentuada nas amostras.

Apesar dos resultados observados para o ensaio 2, deve-se lembrar que os resultados obtidos no ensaio 1 foram positivos e coerentes com outros estudos. Mesmo não sendo possível demonstrar através dos resultados obtidos no ensaio 2 que as microcápsulas de própolis apresentam efeito antioxidante nos salames, os resultados do ensaio 1 mostraram uma tendência positiva a respeito. As diferenças obtidas com

relação ao ensaio 1 podem ser decorrentes dos ajustes realizados no equipamento de processamento dos salames, já que os parâmetros de temperatura e umidade relativa puderam ser melhor controlados.

4.2.5 Análises microbiológicas

4.2.5.1 Padrões microbiológicos

A Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA, através da Resolução RDC nº 12 de 2 de janeiro de 2001, aprovou o regulamento técnico de padrões microbiológicos para alimentos, incluindo um item específico para produtos cárneos maturados como os salames. A Tabela 14 define o padrão microbiológico por amostra indicativa de salame para cada microrganismo previsto.

Tabela 14 – Tolerância permitida do grupo de microrganismos que devem ser pesquisados em salame tipo Italiano

Microrganismo	Tolerância (UFC/g)
Coliformes a 45°C	10 ³
<i>Staphylococcus</i> coagulase positiva	5 x 10 ³
<i>Salmonella</i> spp.	Ausência/25g

Fonte: BRASIL, 2001.

Na Tabela 15 encontram-se os resultados das análises microbiológicas obtidos para a massa e para o salame logo após a finalização de seu processo de secagem, o qual foi empregado nos testes sensoriais após confirmação de sua segurança microbiológica.

Tabela 15 – Resultados das análises microbiológicas realizadas nas massas e nos salames tipo Italiano de cada tratamento

Tratamentos	Coliformes a 45°C		Staphylococcus coagulase		Salmonella spp.	
	(UFC/g)		positiva (UFC/g)		(em 25 g)	
	massa	salame	massa	salame	massa	salame
ES	$1,70 \times 10^2$	<10	$5,57 \times 10^6$	<10	Ausente	Ausente
PL	$1,65 \times 10^2$	<10	$7,22 \times 10^6$	<10	Ausente	Ausente
MAS	<10	<10	$5,18 \times 10^6$	<10	Ausente	Ausente
MGS	$3,00 \times 10^1$	<10	$4,87 \times 10^6$	<10	Ausente	Ausente
MCC	$3,00 \times 10^1$	<10	$3,03 \times 10^6$	<10	Ausente	Ausente

ES = eritorbato de sódio; PL = própolis livre; MAS = microcápsula de própolis com amido OSA (*spray drying*); MGS = microcápsula de própolis com goma arábica (*spray drying*); MCC = microcápsula de própolis com pectina e proteína de soja (coacervação complexa e liofilização).

Observa-se a presença de coliformes e de *Staphylococcus coagulase* positiva na massa, no entanto, a legislação brasileira não define limites máximos, uma vez que exclui a obrigatoriedade de análise microbiológica de matérias-primas alimentares e produtos semi-elaborados, que não serão consumidos na forma que se apresentam. Porém, esta contagem não pode ser muito elevada a ponto de caracterizar um produto deteriorado, com seus padrões característicos alterados. Além disso, recomenda-se que o pH seja reduzido a valores inferiores a 5,3 antes da produção de toxinas por estes microrganismos onde, segundo o American Meat Institute – AMI (1982), isto deve ocorrer em 24 h quando o produto for fermentado a 38°C, o que foi seguido no processamento dos salames do presente experimento. Assim sendo, objetivo principal da análise microbiológica da massa, além da caracterização, foi observar o quanto o processamento aplicado auxiliou na redução da carga microbiana, já que tal processo emprega diversos obstáculos para o crescimento e desenvolvimento de microrganismos, como o pH reduzido, baixa atividade de água, presença de nitrito e nitrato de sódio, além da cultura *starter* competitiva (LEISTNER, 2000).

Os salames tipo Italiano do presente projeto apresentaram-se dentro dos padrões de qualidade microbiológica para coliformes a 45°C (Figura 23) e *Salmonella* spp (Figura 24). Os coliformes são contaminantes comuns de matéria-prima alimentícia, porém, usualmente não são encontrados em embutidos fermentados como resultado da

combinação dos efeitos do baixo pH, baixa atividade de água, presença de nitrito e ácido láctico. Esses fatores também têm sido efetivos contra outras bactérias indesejáveis (INCZE, 1998). Isso confirma os resultados verificados neste experimento, onde ocorreu uma redução considerável da contagem de coliformes da massa para o salame. Não se observou a presença de *Salmonella* spp. tanto em amostras da massa quanto dos salames.

A: Petrifilm® com colônias características de coliformes termotolerantes encontrados na massa. B: ausência de crescimento de coliformes em placa com amostra de salame tipo Italiano.

Figura 23 – Teste empregado para coliformes termotolerantes (45°C)

Figura 24 – Kit VIP® para *Salmonella*. A ausência de faixa azul no retângulo a direita indica a negatividade de sua presença em 25 g de amostra analisada

No caso da análise de *Staphylococcus* coagulase positiva, só foi possível a contagem das colônias em diluições mais elevadas, pois na produção dos salames a cultura *starter* utilizada foi composta por *Staphylococcus xylosus*, o qual também se desenvolve em ágar Baird-Park (BP) e apresentava-se com população elevada nos salames. Com o intuito de verificar se as colônias que estavam crescendo nas placas referentes às amostras de salame (Figura 25A) eram mesmo *Staphylococcus xylosus* foi plaqueada uma diluição somente da cultura *starter* pré-enriquecida em caldo BHI (Figura 25B) e pôde-se verificar que as colônias que cresceram possuíam características idênticas às que estavam crescendo nas placas referentes ao salame.

Além disso, após testes de coagulase, os mesmos foram negativos para todas as colônias avaliadas, verificando-se neste caso que não ocorreu crescimento e desenvolvimento de *Staphylococcus* coagulase positiva nos salames.

A: placa de uma amostra de salame mostrando possíveis colônias de *Staphylococcus xylosus*. B: placa da cultura *starter* mostrando as colônias características de *Staphylococcus xylosus*.

Figura 25 – Colônias em ágar *Baird-Park* (BP)

As bactérias lácticas podem ter auxiliado na redução da carga microbiana entre a massa e o salame na medida em que podem inibir seus competidores pela formação de ácido láctico, com consequente redução do pH (ARO ARO et al., 2010), e possíveis bacteriocinas. A sensibilidade ao ácido láctico pode variar com cada bactéria patogênica e depende simultaneamente da ação de outros fatores como a atividade de água e nitrito (LÜCKE, 2000). A interação com outros obstáculos como a reduzida atividade de água, baixo pH, presença de aditivos como o nitrito e nitrato de sódio e a presença da própolis, pode ter contribuído com a redução da carga microbiana observada, dificultando o desenvolvimento e crescimento desses microrganismos indesejáveis, além de manter a estabilidade destes produtos em temperatura ambiente.

A partir dos resultados obtidos nas análises microbiológicas pode-se concluir que os salames foram produzidos adequadamente no que diz respeito às boas práticas de fabricação e manipulação de alimentos e que se apresentavam aptos e seguros para o consumo durante a realização da análise sensorial.

4.2.5.2 Bactérias lácticas

As bactérias lácticas empregadas no processo de produção de salames são importantes para garantir a acidificação do produto pela produção de ácido láctico. Na Tabela 16 verificam-se os valores obtidos da contagem dessas bactérias na massa (tempo 0) logo após o embutimento e no salame tipo Italiano após a finalização do processo de secagem (tempo 1).

Tabela 16 – Contagens de bactérias lácticas (UFC/g) obtidas para amostras dos diferentes tratamentos da massa e do salame tipo Italiano com 1 dia de armazenamento

Tratamentos	Bactérias lácticas (UFC/g)	
	Massa	Salame tipo Italiano
ES	$2,25 \times 10^6$	$1,28 \times 10^7$
PL	$7,99 \times 10^6$	$2,42 \times 10^7$
MAS	$1,77 \times 10^6$	$3,13 \times 10^7$
MGS	$3,07 \times 10^6$	$2,44 \times 10^7$
MCC	$1,68 \times 10^6$	$2,23 \times 10^7$

ES = eritorbato de sódio; PL = própolis livre; MAS = microcápsula de própolis com amido OSA (*spray drying*); MGS = microcápsula de própolis com goma arábica (*spray drying*); MCC = microcápsula de própolis com pectina e proteína de soja (coacervação complexa e liofilização).

Apesar das diferenças observadas entre os tratamentos, os resultados obtidos estão coerentes com outros estudos onde se observaram contagens de 10^6 a 10^7 para a massa e 10^3 a 10^9 UFC/g em embutidos fermentados (BRUNA et al., 2001; MACEDO et al., 2008; STAHNKE, 1995; ARO ARO, 2010; DEL MOBILE, et al., 2009). Como se pode verificar, há uma grande variação decorrente das diferentes formulações e processamentos.

A cultura *starter* utilizada, além de resistir a um baixo pH (MACEDO et al., 2008; STAHNKE, 1995) e ao ambiente anaeróbico, por ser anaeróbia facultativa (CHR. HANSEN, 2008), resistiu à incorporação da própolis, a qual apresenta forte efeito inibitório contra o crescimento bacteriano, inclusive em carnes e produtos cárneos (NAGAI et al., 2006), porém, esta inibição não foi observada no caso das bactérias

láticas. A predominância de bactéria láctica durante o processamento empregado foi confirmada por valores obtidos para a contagem total de células viáveis, que, como esperado, foram similares ao obtido por Sanz et al. (1997). Do início do processamento ao fim do 34º dia de secagem, estes autores obtiveram contagens de bactérias láticas de $1,6 \times 10^6$ a $1,7 \times 10^6$ UFC/g.

A Figura 26 mostra uma placa com meio MRS contendo colônias de bactérias láticas presentes no salame.

Figura 26 – Ilustração das colônias de bactérias láticas em meio MRS, na diluição 10^6 , das amostras de salame tipo Italiano

4.2.6 Acidez em ácido oléico

Para os dois grupos de salames tipo Italiano estudados, verificou-se efeito significativo dos tratamentos e do tempo de armazenamento, sem interação entre esses dois fatores.

Os resultados de acidez dos salames do grupo *spray drying* (Figura 27) mostram que os salames com própolis livre (PL) e microcápsulas com goma arábica (MGS) apresentaram valores de acidez significativamente superiores ($p < 0,05$) que aqueles dos tratamentos com eritorbato de sódio (ES) e microcápsulas com amido OSA (MAS). Verificou-se também que no decorrer do tempo de armazenamento, a acidez dos salames do grupo *spray drying* aumentou significativamente (Figura 28).

^{a, b} Letras diferentes significa que as médias diferiram estatisticamente entre si ($p < 0,05$).

ES = eritorbato de sódio; PL = própolis livre; MAS = microcápsula de própolis com amido OSA (*spray drying*); MGS = microcápsula de própolis com goma arábica (*spray drying*).

Figura 27 – Resultados de acidez (g ác. oléico/100g) observados para cada tratamento de salame tipo Italiano do grupo *spray drying*

Figura 28 – Resultados observados (obs.) e estimados (est.) de acidez (g ác. oléico/100g) das amostras de salame tipo Italiano do grupo *spray drying* ao longo de 90 dias de armazenamento

Por sua vez, a acidez dos salames do grupo coacervação (Figura 29) foi significativamente superior ($p < 0,05$) para os tratamentos com própolis livre (PL) e com microcápsula de própolis com pectina e proteína de soja (MCC), e o aumento da acidez ao longo dos 90 dias de armazenamento apresentou comportamento semelhante aos resultados observados para o grupo *spray drying* (Figura 30).

^{a, b} Letras diferentes significa que as médias diferiram estatisticamente entre si ($p < 0,05$).

ES = eritorbato de sódio; PL = própolis livre; MCC = microcápsula de própolis com pectina e proteína de soja (coacervação complexa e liofilização).

Figura 29 – Resultados de acidez (g ác. oléico/100g) observados para cada tratamento de salame tipo Italiano do grupo coacervação

A acidez dos salames de cada tratamento, tanto do grupo *spray drying* quanto coacervação, resultou em valores variando de 12 a quase 14 g ác. oléico/100g de amostra, resultados estes do efeito significativo observado entre os tratamentos, sem efeito do tempo. Com relação ao aumento significativo da acidez com o tempo de armazenamento, independente do tratamento aplicado, observou-se uma elevação de 7 para 18 g ác. oléico/100g ao longo de 90 dias de armazenamento, o que corresponde a um acréscimo de mais de 150% na acidez. Segundo Kenneally et al. (1998), a quantidade de ácidos graxos livres em embutidos cárneos fermentados aumenta significativamente durante 50 dias, sendo que no presente experimento este aumento foi observado até o 90º dia pelo aumento da acidez.

Figura 30 – Resultados observados (obs.) e estimados (est.) de acidez (g ácido oléico/100g) das amostras de salame tipo Italiano do grupo coacervação ao longo de 90 dias de armazenamento

Uma maior acidez foi observada em embutidos cárneos fermentados e secos adicionados de lipases com 15 dias de secagem, com um maior desenvolvimento das propriedades sensoriais relacionadas à formação de produtos derivados do metabolismo lipídico. Estes salames apresentaram acidez de quase 5 g ácido oléico/100g neste período de secagem (ZALACAIN et al., 1995). Os resultados obtidos para o tempo 1 (aproximadamente 7g ácido oléico/100g) foi superior, o qual corresponde ao final de 32 dias de secagem, estão similares ao valor observado por estes autores em embutidos cárneos fermentados e secos, no entanto, o tempo de secagem para avaliação foi diferente.

Por sua vez, os valores obtidos neste experimento ao final dos 32 dias secagem (tempo 1) encontram-se semelhantes aos valores de 6,57 g ácido oléico/100g verificados em embutidos cárneos fermentados e secos ao final de 14 dias (ZALACAIN et al., 1997). No entanto, o tempo de processo deste último foi metade do primeiro, o que proporcionalmente indica uma acidez maior, o que provavelmente é decorrente da adição de lipases que aumentou a liberação de ácido oléico e demais ácidos graxos. Neste mesmo estudo, os autores observaram que apesar do aumento da acidez,

nenhuma rancidez se desenvolveu, o que pode explicar os baixos valores e baixo aumento da oxidação verificados nos salames tipo Italiano do grupo *spray drying* e coacervação.

Segundo Cichoski e Terra (2001), a quantidade de ácidos graxos livres pode ser reduzida com o tempo devido à alta suscetibilidade desses compostos à oxidação, ocorrendo a formação de um grande número de substâncias voláteis e precursores do aroma, no entanto, este fato não foi observado diretamente com relação ao ácido oléico, que apresentou um aumento considerável nos salames com relação ao tempo de estocagem.

4.2.6 Avaliação do pH

Os valores obtidos de pH para os salames tipo Italiano dos grupos *spray drying* (Figura 31) e coacervação complexa (Figura 32) apresentaram interação estatisticamente significativa entre tempo de armazenamento e tratamentos aplicados ($p < 0,05$), ou seja, o tempo e os tratamentos estudados de cada grupo de salame são interdependentes. O tempo 0 neste caso é representado pelo pH dos salames após finalização do processo de fermentação, onde observa-se que o pH foi reduzido entre 5,10 e 5,20 para os dois grupos.

No caso dos salames do grupo *spray drying* (Figura 31), o tratamento MAS (microcápsula de amido OSA) apresentou um aumento menos acentuado, permanecendo com valores de pH inferiores aos demais tratamentos. No entanto, esta diferença só foi estatisticamente significativa no 30º dia de armazenamento, onde os tratamentos PL (própolis livre) e ES (eritorbato de sódio) apresentaram os maiores valores e o tratamento MGS (microcápsula com goma arábica) não diferiu de nenhum outro tratamento. No 60º e 90º dia de armazenamento, os salames do tratamento MAS apresentaram valores de pH significativamente menores, permanecendo entre 5,52 e 5,58, enquanto os demais tratamentos apresentaram valores de pH variando de 5,62 a 5,78 no mesmo período.

ES = eritorbato de sódio; PL = própolis livre; MAS = microcápsula de própolis com amido OSA (*spray drying*); MGS = microcápsula de própolis com goma arábica (*spray drying*).

Figura 31 – Resultados observados (obs.) e estimados (est.) de pH dos diferentes tratamentos estudados em salame tipo Italiano do grupo *spray drying* ao longo de 90 dias de armazenamento

ES = eritorbato de sódio; PL = própolis livre; MCC = microcápsula de própolis com pectina e proteína de soja (coacervação complexa e liofilização).

Figura 32 – Resultados observados (obs.) e estimados (est.) de pH dos diferentes tratamentos estudados em salame tipo Italiano do grupo coacervação ao longo de 90 dias de armazenamento

Para os salames do grupo coacervação (Figura 32), também observou-se aumento do pH no decorrer dos 90 dias de armazenamento. Neste caso, o pH dos salames tipo Italiano não diferiram estatisticamente entre si ($p>0,05$) até o 60º dia de armazenamento. Aos 90 dias, o pH dos salames do tratamento ES foi consideravelmente superior (5,78) àqueles do tratamentos MCC (5,69) e PL (5,71), no entanto, diferença significativa foi observada apenas com relação ao tratamento MCC.

Apesar das diferenças estatísticas observadas entre os tratamentos, verifica-se que o processo fermentativo foi conduzido corretamente e o pH desejado de 5,0 a 5,2 foi obtido ao final da fermentação. Este decréscimo durante o processo fermentativo está relacionado à produção de ácido láctico pelas bactérias lácticas da cultura *starter*, o que ocasiona na redução do pH do meio. A obtenção de valores de pH inferior a 5,3 é importante no controle de bactérias como o *S. aureus* (LÜCKE, 1994).

O pH ao final do processo de secagem, para os salames tipo Italiano dos dois grupos, permaneceu entre 5,30 e 5,34, conforme valores de 5,2 a 5,4 indicados por Campagnol, Fries e Terra (2007) ao final do processo de secagem. Como se pode verificar, ocorreu um aumento de pH entre o final da fermentação e o término da secagem, sendo que este fato também foi observado por Scheid et al. (2003). Aumento semelhante foi observado em salames armazenados por 120 dias a temperatura ambiente de 25°C (LEE et al., 2009). Este aumento do pH pode estar relacionado com o efeito da concentração de proteínas tamponantes, formação de amônia e aminas resultantes da proteólise, pelas próprias enzimas tissulares ou pelo decréscimo da dissociação de eletrólitos presentes no meio (ARO ARO, et al., 2010; CAVENAGHI, 2005; CHAGAS, 1998; DEMEYER; VANDEKERCKHOVE; MOERMANS, 1979; MAURIELLO et al., 2004; BOLUMAR; NIETO; FLORES, 2001).

Apesar das variações observadas entre os tratamentos ao longo do tempo, os valores estão coerentes com aqueles obtidos para amostras comerciais de salame tipo Milano (pH entre 4,81 e 6,14) (NOVELLI et al., 1998) e com amostras de salame tipo Italiano comercializados no Brasil, onde o pH variou de 5,02 a 5,76 em avaliações de Cavenaghi e Oliveira (1999) e de 4,86 a 5,78 observado por Caccioppoli et al. (2006). Como se observa, mesmo os salames comerciais apresentam grande variabilidade de pH.

Apesar do Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Salame tipo Italiano (BRASIL, 2000) não especificar valores limites para o pH, verifica-se que o pH dos salames estudados encontram-se coerentes com os valores obtidos por outros autores para produtos similares.

4.2.7 Determinação da atividade de água

Após análise estatística dos resultados obtidos para a atividade de água dos salames no decorrer dos dias de armazenamento, verificou-se um efeito do tempo na variação da atividade de água das amostras, tanto para o grupo *spray drying* (Figura 33) quanto para coacervação (Figura 34). Ambos os grupos mostraram redução não linear da atividade de água dos salames no decorrer do armazenamento.

Figura 33 – Resultados observados (obs.) e estimados (est.) de atividade de água (A_w) das amostras de salame tipo Italiano do grupo *spray drying* ao longo de 90 dias de armazenamento

Figura 34 – Resultados observados (obs.) e estimados (est.) de atividade de água (A_w) das amostras de salame tipo Italiano do grupo coacervação ao longo de 90 dias de armazenamento

A maioria dos alimentos secos e de umidade intermediária, como é o caso do salame, geralmente são sistemas em desequilíbrio, ou seja, o alimento se apresenta em estado de instabilidade termodinâmica que pode durar além da vida útil (ALZAMORA et al., 2003). Assim sendo, de acordo com as condições ambientais de armazenamento do produto e da permeabilidade ao vapor d'água da embalagem, o produto tende a entrar em equilíbrio com as condições do ar ambiente, perdendo ou ganhando água (ANSELMO; MATA; RODRIGUES, 2008). Neste caso, pode ter ocorrido perda de água ao longo do armazenamento, provavelmente decorrente da menor umidade relativa do ambiente, porém, este controle não foi realizado no local de armazenamento. Além disso, a água livre pode ter se ligado a outros compostos presentes no meio, não sendo mais identificada por essa determinação. Comportamento semelhante foi observado por Lee et al. (2009) em salames armazenados por até 120 dias a temperatura ambiente de 25°C.

A redução observada na atividade de água da massa (0,970 a 0,975) para os salames prontos no tempo 1 (0,863) é desejável, sendo decorrente do processo de secagem, onde a água essencial para o crescimento de microrganismos é retirada da

massa do salame. Os microrganismos somente usam uma parte da água total remanescente (água livre) para sua multiplicação e metabolismo (KOTTKE et al., 1996), sendo que as bactérias responsáveis por alterações crescem somente em atividade de água superior a 0,90 (GARCÍA, 1996).

Os salames de todos os tratamentos atendem o parâmetro de atividade de água estabelecido pelo Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade do Salame tipo Italiano que é de no máximo 0,90 (BRASIL, 2000). Os valores obtidos também estão coerentes com amostras de salame tipo Italiano comercializados no Brasil, que apresentam variação entre 0,816 a 0,868 (CAVENAGHI; OLIVEIRA, 1999), de salames com atividade de água de 0,83 a 0,89 verificados por Herrero et al. (2007) e 0,879 observado por Žlender et al. (2009). Assim sendo, a incorporação de própolis livre e microencapsulada não afetaram os parâmetros de atividade de água característicos do produto.

4.2.8 Parâmetros de cor

A cor é um dos principais fatores que interfere na decisão de compra do consumidor, principalmente daqueles produtos ainda não conhecidos. Este atributo também tem a capacidade de atrair ou repelir a atenção de quem está se decidindo pela compra. A oxidação lipídica pode afetar a cor dos produtos cárneos ao longo do armazenamento na medida em que a nitrosomioglobina, pigmento cárneo responsável pela cor de produtos curados, é suscetível à oxidação (ZANARDI et al., 2002).

Através da análise estatística dos resultados obtidos para o parâmetro L^* do grupo *spray drying* (Figura 35), verificou-se uma interação estatisticamente significativa entre o tempo de armazenamento e os tratamentos estudados, ou seja, a variação de L^* está relacionada com o efeito dos tratamentos ao longo do tempo de armazenamento. Neste caso, os tratamentos PL e MGS permaneceram com valor de L^* constante ao longo do armazenamento, 40,20 e 39,75, respectivamente. Por sua vez, a luminosidade dos salames do tratamento ES reduziu linearmente com o tempo de estocagem, de 40,93 para 38,48. Já a luminosidade dos salames do tratamento MAS aumentaram até o 30º dia, com posterior redução, no entanto, apresentou o maior valor

de L^* nos dias 30 e 60 ($p < 0,05$), não diferindo dos tratamentos ES e PL no 30º dia e do tratamento PL no 60º dia. Neste caso, a variação observada pode ser decorrente da heterogeneidade do produto. As partículas de gordura evidentes ao se cortar o salame, mesmo com as medições não sendo realizadas sobre elas, podem contribuir com valores superestimados. Ghiretti et al. (1997) obtiveram resultados inconsistentes nas medições de cor de salame Milano devido à interferência das partículas de gordura neste tipo de embutido. Nos dias 1 e 90, os tratamentos não diferiram entre si ($p > 0,05$).

ES = eritorbato de sódio, PL = própolis livre, MAS = microcápsula de própolis com amido OSA (*spray drying*) e MGS = microcápsula de própolis com goma arábica (*spray drying*)

Figura 35 – Resultados observados (obs.) e estimados (est.) de luminosidade (L^*) dos diferentes tratamentos estudados em salame tipo Italiano do grupo *spray drying* ao longo de 90 dias de armazenamento

A luminosidade dos salames tipo Italiano do grupo coacervação apresentou redução linear com o tempo de armazenamento, porém, sem efeito dos tratamentos deste grupo (Figura 36). Neste caso, L^* reduziu ligeiramente de 40,86 para 39,38.

Figura 36 – Resultados observados (obs.) e estimados (est.) de luminosidade (L^*) das amostras de salame tipo Italiano do grupo coacervação ao longo de 90 dias de armazenamento

Do início do processamento, conforme resultados apresentados na caracterização da massa, até a obtenção do salame (tempo 1) observou-se uma redução de valores médios de L^* de 53,25 a 55,52 para 40,61 a 41,47 no caso do grupo *spray drying* e de 53,25 a 54,32 para 40,86 no grupo coacervação. Este declínio parece estar relacionado com o processo de cura, secagem e maturação dos salames. Principalmente o processo de secagem colabora com o decréscimo de L^* na medida em que ocorre concentração de sólidos no produto pela desidratação. O mesmo comportamento foi observado para o parâmetro L^* , para período semelhante no ensaio 1.

O parâmetro L^* é muito variável em salames italianos comercializados no Brasil, o qual pode variar de 35,10 (CAVENAGHI, 2005) a 49,67 (CAVENAGHI; OLIVEIRA, 1999). Em salames típicos italianos, também foram observados valores de L^* de 45,70 (DEL MOBILE et al., 2009). Com isso, os valores obtidos, apesar de algumas variações, encontram-se coerentes com aqueles obtidos para produtos similares. Isto também sugere que a incorporação de própolis livre e microencapsulada não interfere diretamente na luminosidade dos salames durante sua vida útil.

Com relação à intensidade de vermelho (a^*), apenas o tempo contribuiu de forma estatisticamente significativa com o aumento linear da intensidade de vermelho, tanto para os salames tipo Italiano do grupo *spray drying* (Figura 37) quanto coacervação (Figura 38). Os salames do grupo *spray drying* apresentaram a^* de 14,97 a 16,96 do 1º ao 90º dia de armazenamento. Comportamento muito semelhante foi observado para os salames do grupo coacervação, com aumento de 15,23 a 16,77 no mesmo período. Por se tratar de uma medida instrumental, esta pequena diferença, inferior a duas unidades, provavelmente não é perceptível visualmente ao ser humano.

Figura 37 – Resultados observados (obs.) e estimados (est.) da intensidade de vermelho (a^*) de amostras de salame tipo Italiano do grupo *spray drying* ao longo de 90 dias de armazenamento

Figura 38 – Resultados observados (obs.) e estimados (est.) da intensidade de vermelho (a^*) de amostras de salame tipo Italiano do grupo coacervação ao longo de 90 dias de armazenamento

Um fator que pode ter contribuído com o aumento de a^* para os dois grupos de salame é a presença de colônias de bactérias lácticas viáveis no salame ao final do processamento. Um dos microrganismos que compõe a cultura *starter* é o *Staphylococcus xylosus*, que apresenta atividade de redução de nitrato a temperatura ótima de 30°C, próxima à temperatura de armazenamento de 25°C. Este fato pode ter contribuído com a formação de nitrosomioglobina pela ação de redução do nitrato residual nos salames pelo *S. xylosus*. Além disso, a redução da luminosidade observada em alguns tratamentos pode ter contribuído com o aumento da intensidade de vermelho, pelo aumento de sua intensidade.

Do início do processamento, conforme valor de a^* observado na caracterização da massa ao final do processo (tempo 1) observou-se que o valor de a^* pouco se alterou, mesmo após o processo de cura e secagem, diferentemente do aumento observado no ensaio 1 para um período semelhante de processamento. Isto pode ser decorrente da matéria-prima utilizada, já que quanto maior a quantidade de mioglobina presente na matéria-prima maior será o valor de a^* (CAVENAGHI, 2005). Além disso,

com a redução da luminosidade em alguns tratamentos, a intensidade de vermelho também pode ser reduzida pelo escurecimento do produto.

Os valores de a^* obtidos para este experimento também mostram que não ocorreu oxidação da nitrosomioglobina dos salames ao longo do armazenamento, diferentemente de outros estudos que indicam uma correlação significativa entre os parâmetros de oxidação lipídica, a qual aumentou com relação ao tempo, e da cor em salames embalados a vácuo (ZANARDI et al., 2002).

Os valores obtidos estão coerentes com o encontrado em salame tipo Italiano comercializados no Brasil, com a^* variando de 12,7 a 17,6 (CAVENAGHI, 2005), porém um pouco menores aos valores de 17,5 a 17,8 observado por Garcia, Gagleazzi e Sobral (2000) e de 24,87 observado por Santa (2008) em salames tipo Italiano. Além disso, também são superiores ao valor de 7,99 observado por Del Mobile et al. (2009).

Observa-se também que a embalagem empregada apresentou barreira ao oxigênio e, em conjunto com o armazenamento ao abrigo da luz, foram suficientes para evitar a oxidação dos pigmentos cárneos, já que o índice de cor vermelha é mais afetado pelo oxigênio do que pela luz (MARCHESI et al., 2006).

No caso da intensidade de amarelo, observou-se apenas o efeito significativo do tempo, tanto para o grupo *spray drying* (Figura 39) quanto coacervação (Figura 40).

Este parâmetro de cor apresentou redução acentuada do tempo 0, conforme mostrado na caracterização da massa ao tempo 1, como também observado no ensaio 1. No caso dos salames do grupo *spray drying*, a redução foi de 14,43 a 15,28 na massa para 6,41 no salame do tempo 1. Por sua vez, os salames do grupo coacervação apresentaram comportamento bem semelhante, com b^* variando de 14,60 a 15,28 na massa para 6,50 no tempo 1. Esta redução pode estar relacionada ao consumo de oxigênio pelos microrganismos da cultura *starter*, durante sua fase de crescimento exponencial e, conseqüentemente, ao decréscimo de oximioglobina, que contribui consideravelmente para o valor de b^* . Além disso, a reação do óxido nítrico com a mioglobina para formar nitrosomioglobina também contribui para o decréscimo das concentrações de mioglobina e oximioglobina presentes, o que conduz na redução de b^* (PÉREZ-ALVAREZ et al., 1999).

Figura 39 – Resultados observados (obs.) e estimados (est.) da intensidade de amarelo (b*) das amostras de salame tipo Italiano do grupo *spray drying* ao longo de 90 dias de armazenamento

Figura 40 – Resultados observados (obs.) e estimados (est.) da intensidade de amarelo (b*) das amostras de salame tipo Italiano do grupo coacervação ao longo de 90 dias de armazenamento

Para os dois grupos de salame estudados, a intensidade de amarelo aumentou de aproximadamente 6,50 para próximo a 8,00 ao longo de 90 dias de armazenamento, o que pode ser decorrente da oxidação lipídica, já que um pequeno aumento foi observado no valor de TBARS neste mesmo período e para os mesmos tratamentos.

Apesar da variação observada na intensidade de amarelo no decorrer de 90 dias de armazenamento, os valores obtidos são coerentes com aqueles observados para salames tipo Italiano comercializados no mercado brasileiro, que apresentaram valores variando de 4,70 a 9,85 (CAVENAGHI, 2005; CAVENAGHI; OLIVEIRA, 1999).

4.2.9 Análise sensorial

No processo de desenvolvimento e melhoramento de produtos, a determinação da aceitação é de extrema importância. Os testes de aceitação requerem equipes não treinadas, com grande número de participantes que representem a população de consumidores atuais ou potenciais dos produtos (SCHEID, 2001). Neste caso, a análise sensorial do presente projeto foi conduzida com o intuito de verificar a aceitação da substituição do antioxidante sintético pela própolis na forma microencapsulada, considerada um composto natural.

Para a indústria de alimentos, a percepção de odores desagradáveis oxidados pelo sabor e odor por parte dos consumidores é o principal método de decisão quando um alimento já não é próprio para o consumo. Com isso, a avaliação sensorial torna-se um bom método para avaliar e monitorar a deterioração de produtos cárneos (GORDON, 2001).

4.2.9.1 Aparência

Após análise estatística dos resultados obtidos na avaliação sensorial do salame tipo Italiano, observou-se interação ($p < 0,05$) entre tempo de armazenamento e tratamentos estudados tanto no grupo de salames com microcápsulas produzidas pela técnica de *spray drying* e como no grupo coacervação.

Na Figura 41 observa-se a interação dos resultados de aparência para o grupo *spray drying*. Os tratamentos PL e MGS não apresentaram variação do atributo aparência ao longo do armazenamento, permanecendo com valores constantes de aproximadamente 7,1, classificados como “gostei moderadamente” na escala hedônica de 9 pontos. Por sua vez, a aceitação do atributo aparência dos salames referentes ao tratamento ES aumentou linearmente no decorrer do armazenamento, de 6,6 para 7,3, permanecendo também na classificação “gostei moderadamente”. Já aqueles referente ao tratamento MAS apresentaram um decréscimo até o 60º dia de 7,7 para 6,7, com posterior aumento no 90º dia, finalizando em 7,6, ou seja, a aceitação variou entre “gostei moderadamente” e “gostei muito”. Neste caso, os salames do tratamento MAS foram os mais aceitos de uma forma geral, diferindo dos demais ($p < 0,05$). No entanto, aqueles referentes os demais tratamentos também podem ser considerados adequados na medida em que a aparência permaneceu estável e constante para os tratamentos PL e MGS e crescente para o tratamento ES.

ES = eritorbato de sódio, PL = própolis livre, MAS = microcápsula de própolis com amido OSA (*spray drying*), MGS = microcápsula de própolis com goma arábica (*spray drying*).

Figura 41 – Resultados observados (obs.) e estimados (est.) do atributo sensorial aparência dos diferentes tratamentos de salames tipo Italiano do grupo *spray drying* ao longo de até 90 dias de armazenamento

Na Figura 42 verifica-se a interação dos resultados de aparência para o grupo de salame tipo Italiano com microcápsula produzida por coacervação complexa. Os tratamentos PL e MCC permaneceram com os valores do atributo aparência constantes no decorrer do armazenamento, com médias de 7,0 e 7,1, respectivamente, classificados como “gostei moderadamente” na escala hedônica de 9 pontos. Por sua vez, os salames do tratamento ES para este grupo também apresentaram aumento linear da aceitação do atributo aparência no mesmo período. Este aumento observado foi de 6,6 para 7,2, também permanecendo com classificação média de “gostei moderadamente”. Nos dias 1 e 30, os salames dos tratamentos PL e MCC foram os mais aceitos ($p < 0,05$), sendo que no 60º e 90º dia de armazenamento, não observaram-se diferenças estatísticas significativas ($p > 0,05$) entre as médias do atributo aparência para os salames do grupo coacervação.

ES = eritorbato de sódio, PL = própolis livre, MCC = microcápsula de própolis com pectina e proteína de soja (coacervação complexa).

Figura 42 – Resultados observados (obs.) e estimados (est.) do atributo sensorial aparência dos diferentes tratamentos de salames tipo Italiano do grupo coacervação ao longo de até 90 dias de armazenamento

De uma forma geral, os salames do tratamento MAS e MCC foram os tratamentos cuja aparência foram as mais aceitas ao longo dos 90 dias de

armazenamento para os grupos *spray drying* e coacervação, respectivamente. Os salames do tratamento ES foram os menos aceitos de uma forma geral nos dois grupos estudados. Pelos comentários realizados pelos provadores durante a análise sensorial, o tratamento MAS foi caracterizado principalmente por ter uma cor atrativa e o MCC por ser uniforme.

Os salames menos aceitos foram àqueles do tratamento ES, os quais foram caracterizados por apresentar formato irregular e com orifícios provenientes da saída da gordura, a qual se apresentava com aparência amolecida. Tais defeitos podem ser melhores visualizados na Figura 43. Segundo Yamada (2008), a perda de gordura durante o fatiamento pode ocorrer quando as propriedades de liga não forem bem desenvolvidas. Isto pode ser causado quando a mistura apresentar pH alto, se a mistura for insuficiente, se ocorrer proliferação de bactérias e resfriamento insuficiente das matérias-primas cárneas. No entanto, durante o processamento dos salames do presente experimento, o pH da mistura da massa do tratamento ES foi igual a 6,18, o que está coerente com os resultados observados por outros autores e também com os valores obtidos para os demais tratamentos. A mistura dos ingredientes foi conduzida de forma padronizada para todos os tratamentos e não se observou proliferação de bactérias patogênicas nos salames prontos.

Figura 43 – Ilustração de amostra de salame com aparência irregular e orifícios formados pela saída das partículas de gordura

Com relação à aparência irregular, observa-se que surgiram sulcos profundos apenas em um lado do produto, o que pode caracterizar que a secagem foi mais intensa neste lado do produto (YAMADA, 2008). Outro fator que pode ter contribuído

para este defeito no produto é o baixo ponto de fusão do toucinho e secagens drásticas contribuem para a formação de sulcos profundos e entrada de ar na massa. Como os salames foram preparados de forma individualizada, pode ter ocorrido diferença no embutimento da massa.

4.2.9.2 Aroma

Para o atributo sensorial aroma observou-se interação estatisticamente significativa entre tempo e tratamentos dos salames do grupo *spray drying*, conforme pode-se observar na Figura 44. Neste caso, os tratamentos ES, PL e MAS apresentaram valores no atributo aroma constantes no decorrer dos 90 dias de armazenamento, com médias ao redor de 7, classificado como “gostei moderadamente” pela escala hedônica de 9 pontos. A aceitação do aroma do salame do tratamento MGS aumentou até a metade do tempo de armazenamento, apresentando uma queda posterior, aproximando-se novamente ao valor inicial. No entanto, os valores médios deste tratamento ficaram entre 6,6 e 7,2, ou seja, também foram classificados como “gostei moderadamente”. Esta variação pode ser decorrente da variação da própria amostra dentro do tratamento. Não foi verificado diferença do aroma dos salames no 1º dia ($p>0,05$). No 30º dia, a aceitação dos tratamentos ES e MGS foram superiores aos demais ($p<0,05$), não diferindo apenas do tratamento MAS. No 60º dia, a aceitação do aroma do tratamento PL foi inferior aos demais ($p<0,05$) sendo que no 90º dia este tratamento não diferiu apenas do MGS. Deste modo, verifica-se que o tratamento MGS apresentou a maior variação de aceitação no decorrer dos 90 dias de armazenamento, e que, de uma forma geral, os salames do tratamento PL foram os menos aceitos e os ES e MAS os mais aceitos.

Por sua vez, os salames tipo Italiano do grupo coacervação apresentaram diferenciação estatística apenas com relação aos efeitos dos tratamentos aplicados (Figura 45), sem efeito do tempo de armazenamento. Os salames do tratamento ES apresentaram aceitação superior ($p<0,05$) àqueles dos tratamentos PL e MCC para o atributo aroma, o qual foi classificado como “gostei moderadamente” da escala hedônica.

ES = eritorbato de sódio, PL = própolis livre, MAS = microcápsula de própolis com amido OSA (*spray drying*), MGS = microcápsula de própolis com goma arábica (*spray drying*).

Figura 44 – Resultados observados (obs.) e estimados (est.) do atributo sensorial aroma dos diferentes tratamentos de salames tipo Italiano do grupo *spray drying* ao longo de até 90 dias de armazenamento

^{a, b} Letras diferentes significa que as médias diferiram estatisticamente entre si ($p < 0,05$).

ES = eritorbato de sódio; PL = própolis livre; MCC = microcápsula de própolis com pectina e proteína de soja (coacervação complexa e liofilização).

Figura 45 – Resultados do atributo sensorial aroma observados para cada tratamento de salame tipo Italiano do grupo coacervação

Os provadores caracterizaram o aroma dos tratamentos mais aceitos como característico, suave e agradável, tanto para o grupo *spray drying* quanto coacervação. Alguns provadores comentaram sobre a percepção do odor de própolis nos salames dos tratamentos menos aceitos, o que pode justificar a menor aceitação do aroma dos tratamentos PL e MCC. Neste caso, as microcápsulas de própolis produzidas com proteína de soja e pectina por coacervação complexa e liofilização (MCC), não foram eficientes em reter o aroma da própolis, o qual pode ser comparado com a própolis na forma livre (PL). As microcápsulas de própolis produzidas em *spray dryer* com amido OSA (MAS) como agentes encapsulantes mostrou-se mais eficiente na redução do aroma intenso da própolis, uma vez que este aroma não foi percebido.

Em nenhum momento qualquer provador indicou uma baixa aceitação do aroma dos salames em função do odor de ranço, mesmo com 90 dias de armazenamento. Valores de TBARS de 2,21 mg MDA/kg foi insuficiente para a detecção sensorial da rancidez em “Chorizo”, um típico embutido Espanhol fermentado e seco (DOMÍNGUEZ-FERNÁNDEZ; ZUMALACÁRREGUI-RODRÍGUEZ, 1991). Isso confirma que os salames permaneceram estáveis com relação à oxidação lipídica, confirmando os resultados obtidos para esta análise já que os valores de TBARS obtidos para variaram de 0,45 a 0,47 mg MDA/kg no 1º dia para aproximadamente 0,60 mg MDA/kg ao final do 90º dia de armazenamento. A menor aceitação do aroma dos tratamentos PL, MGS e MCC parecem estar relacionadas também ao maior índice de acidez, ou seja, a lipólise foi mais acentuada, onde pode ter ocorrido a maior liberação de ácidos graxos de baixo peso molecular, responsáveis pelo odor desagradável (GAVA, 1978).

4.2.9.3 Sabor

Os resultados estatísticos da avaliação sensorial do atributo sabor dos salames tipo Italiano do grupo *spray drying* mostraram interação entre tempo de armazenamento e tratamentos, conforme pode ser observado na Figura 46. Os tratamentos PL, MAS e MGS permaneceram com médias constantes no decorrer dos 90 dias de armazenamento, com aceitação de 6,6; 7,1 e 6,7, respectivamente. Por sua vez, os

salames do tratamento ES apresentaram aumento na aceitação do sabor no decorrer do mesmo período.

ES = eritorbato de sódio, PL = própolis livre, MAS = microcápsula de própolis com amido OSA (*spray drying*), MGS = microcápsula de própolis com goma arábica (*spray drying*).

Figura 46 – Resultados observados (obs.) e estimados (est.) do atributo sensorial sabor dos diferentes tratamentos de salames tipo Italiano do grupo *spray drying* ao longo de até 90 dias de armazenamento

No dia 1, os tratamentos não se diferenciaram entre si ($p > 0,05$). Já no decorrer do armazenamento, (30° ao 90° dia), o sabor dos salames dos tratamentos ES e MAS foram mais aceitos estatisticamente que àqueles dos tratamentos PL e MGS ($p < 0,05$). O tratamento MAS, portanto, pode ser comparado às amostras com eritorbato de sódio (ES), ou seja, a própolis microencapsulada por *spray drying* utilizando-se amido OSA como agente encapsulante não influenciou diretamente no sabor dos salames, sendo que o agente encapsulante e a tecnologia de microencapsulação empregadas foram mais eficientes na atenuação do sabor da própolis nos salames estudados.

A Figura 47 mostra a interação obtida entre tempo e tratamento dos salames tipo Italiano do grupo coacervação.

A aceitação do sabor dos salames do tratamento ES apresentou aumento linear no decorrer do armazenamento. Aqueles do tratamento PL permaneceram constantes

com média de 6,6 (entre “gostei ligeiramente” e “gostei moderadamente”), enquanto que a aceitação do sabor dos salames do tratamento MCC reduziu do 1º ao 30º dia de 6,7 a 6,2, com posterior aumento até o final do 90º dia de armazenamento de 6,2 a 6,7, ou seja, a aceitação do sabor variou entre “gostei ligeiramente” e “gostei moderadamente”. Até o 30º dia de armazenamento, os tratamentos não apresentaram diferenciação entre si ($p>0,05$). No 60º e 90º dia, os salames do tratamento ES foram mais aceitos no atributo sabor ($p<0,05$) que os salames dos tratamentos PL e MCC, os quais não se diferenciaram estatisticamente ($p>0,05$).

ES = eritorbato de sódio, PL = própolis livre, MCC = microcápsula de própolis com pectina e proteína de soja (coacervação).

Figura 47 – Resultados observados (obs.) e estimados (est.) do atributo sensorial sabor dos diferentes tratamentos de salames tipo Italiano do grupo coacervação ao longo de até 90 dias de armazenamento

A incorporação de microcápsula com pectina e proteína de soja produzida pela técnica de coacervação complexa não foi eficiente em amenizar o sabor do produto, os quais podem ser comparados à incorporação da própolis na forma livre (tratamento PL).

Observando-se os comentários dos provadores, verificou-se que justamente os tratamentos menos aceitos (PL, MGS e MCC) foram aqueles indicados com sabor não característico, com forte residual, pouco agradável e onde os provadores evidenciaram

a presença de própolis nas amostras. Isto sugere que as microcápsulas de própolis com goma arábica produzida pela técnica de *spray drying* (MGS) e aquela com proteína de soja e pectina, produzida pela técnica de coacervação complexa e liofilização (MCC), liberaram os compostos responsáveis pelo sabor característico da própolis, o qual pode ser identificado durante a análise sensorial no momento da ingestão do produto. No caso do salame do tratamento MAS o qual apresenta microcápsula com amido OSA, as microcápsulas parecem ter retido os compostos da própolis responsáveis pelo seu sabor característico durante todo o tempo de armazenamento do produto, uma vez que os provadores não perceberam a presença da própolis.

4.2.9.4 Qualidade Global

A avaliação sensorial do atributo qualidade global dos salames do grupo *spray drying* apresentou interação estatisticamente significativa entre os tratamentos no decorrer do tempo de armazenamento (Figura 48). A aceitação do atributo qualidade global dos salames do tratamento ES aumentou linearmente com o tempo, de 6,9 no dia 1 até 7,5 aos 90 dias, ou seja, variou entre “gostei moderadamente” e “gostei muito”. O tratamento PL também apresentou comportamento linear, porém, de forma decrescente, de 7,1 (“gostei moderadamente”) para 6,4 (“gostei ligeiramente”) no mesmo período. O tratamento MAS apresentou uma redução até o 60º dia de 7,6 para 6,8, com posterior aumento ao final do armazenamento até 7,2, ficando entre “gostei muito” e “gostei moderadamente” na escala hedônica utilizada. Por sua vez, a qualidade global do salame do tratamento MGS permaneceu com média constante de 6,9 (“gostei moderadamente”) durante todo o armazenamento, ou seja, sua qualidade global se manteve estável durante todo o período de armazenamento.

ES = eritorbato de sódio, PL = própolis livre, MAS = microcápsula de própolis com amido OSA (*spray drying*), MGS = microcápsula de própolis com goma arábica (*spray drying*).

Figura 48 – Resultados observados (obs.) e estimados (est.) da qualidade global dos diferentes tratamentos de salames tipo Italiano do grupo *spray drying* ao longo de até 90 dias de armazenamento

De acordo com os resultados estatísticos observados, no dia 1 os salames do tratamento MAS apresentaram a maior aceitação no atributo qualidade global, diferenciando do tratamento ES, o qual apresentou a menor aceitação ($p < 0,05$). No 30° e 60° dia, não se verificou diferença estatística na qualidade global dos salames estudados do grupo *spray drying* ($p > 0,05$). No entanto, no 90° dia de armazenamento, os salames MAS novamente apresentaram a maior aceitação, agora juntamente com os salames ES devido ao seu comportamento de aumento linear, sendo que os tratamentos PL e MGS foram os menos aceitos ($p < 0,05$).

Neste caso, pode-se observar que para o grupo *spray drying*, os salames do tratamento MAS apresentaram o atributo qualidade global mais aceito que os demais tratamentos no decorrer dos 90 dias de armazenamento, mesmo com a não diferença estatística observada no 30° e 60° dia de armazenamento, já que foram estatisticamente superiores no 1° e 90° dia. Além disso, a aceitação global do tratamento MAS foi semelhante, com exceção do 1° dia, ao tratamento ES com eritorbato de sódio, o qual é atualmente usado nos salames comerciais.

Quanto aos salames tipo Italiano do grupo coacervação, observou-se apenas efeito estatisticamente significativo dos tratamentos deste grupo (Figura 49). Neste caso, os salames tipo Italiano do tratamento ES foram os mais aceitos quanto ao atributo qualidade globais, estatisticamente superiores aos demais, com valor médio de 7,1 (gostei moderadamente) ($p < 0,05$). Os salames PL e MCC foram os menos aceitos com aceitação média de 6,7.

^{a, b} Letras diferentes significa que as médias diferiram estatisticamente entre si ($p < 0,05$).

ES = eritorbato de sódio; PL = própolis livre; MCC = microcápsula de própolis com pectina e proteína de soja (coacervação complexa e liofilização).

Figura 49 – Resultados do atributo sensorial qualidade global observados para os tratamentos de salame tipo Italiano do grupo coacervação

No caso do grupo coacervação, observa-se novamente que os salames dos tratamentos PL e MCC foram os menos aceitos quanto à qualidade global, provavelmente influenciado pela menor aceitação do aroma e sabor dos salames referentes a estes tratamentos. Neste caso, observa-se mais uma vez que as características de aroma e sabor são essenciais na aceitação ou rejeição de um embutido cárneo como o salame.

De forma geral, a partir dos resultados obtidos pela análise sensorial dos salames, observa-se que aqueles referente ao tratamento MAS, referente ao grupo *spray drying*, foram os mais aceitos na aparência, aroma, sabor e qualidade global,

muitas vezes não diferenciando-se ou sendo até mesmo superior àqueles com eritorbato de sódio (ES). Dessa forma, com o uso de microcápsula de própolis com amido OSA (MAS) produzida pela técnica de *spray drying* pode-se substituir o uso de eritorbato de sódio sem afetar as características sensoriais deste produto já que os resultados foram similares. Por sua vez, os salames ES foram os mais aceitos para os mesmos atributos no grupo coacervação, com exceção da aparência, onde o tratamento MCC foi o mais aceito.

5 CONCLUSÃO

A própolis microencapsulada com amido OSA pela técnica de *spray drying* é a mais indicada para substituição dos antioxidantes sintéticos em salame tipo Italiano na medida em que mostrou efeito antioxidante no produto, sem afetar suas características de qualidade, sendo similar ao uso de eritorbato de sódio. No entanto, mais estudos são necessários avaliando-se a incorporação desta microcápsula em salames sob condições críticas de armazenamento.

REFERÊNCIAS

- ADAMS, C.A. Oxidation and antioxidants. In:_____. **Nutrines: food components in health and nutrition**. Nottingham: Nottingham University Press, 1999. chap. 2, p. 11-32.
- AGUIRREZÁBAL, M.M.; MATEO, J.; DOMÍNGUEZ, M.C.; ZUMALACÁRREGUI, J.M. The effect of paprika, garlic and salt on rancidity in dry sausages. **Meat Science**, Oxford, v. 54, n. 1, p. 77-81, Jan. 2000.
- ALENCAR, S.M. **Estudo fitoquímico da origem botânica da própolis e avaliação da composição química de mel de *Apis mellifera* africanizada de diferentes regiões do Brasil**. 2002, 120 p. Tese (Doutorado em Ciência de Alimentos) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2002.
- ALZAMORA, S.M.; TAPIA, M.S.; LÓPEZ-MALO, A.; WELTI-CHANES, J. The control of water activity. In: ZEUTHEN, P.; BØGH-SØRENSEN, L. (Ed.). **Food preservation techniques**. Washington: CRC Press, 2003. chap. 08.
- AMERICAN MEAT INSTITUTE – AMI. **Good manufacturing practices, fermented dry and semi-dry sausage**. Washington: American Meat Institute, 1982.
- ANSELMO, G.C.S.; MATA, M.E.R.M.; RODRIGUES, E. Comportamento higroscópico do extrato seco de urucum (*Bixa Orellana* L.). **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 32, n. 6, p. 1888-1892, nov./dez. 2008.
- ARO ARO, J.M.; NYAM-OSOR, P.; TSUJI, K.; SHIMADA, K.-I.; FUKUSHIMA, M.; SEKIKAWA, M. The effect of starter cultures on proteolytic changes and amino acid content in fermented sausages. **Food Chemistry**, Oxford, v. 119, p. 279-285, 2010.
- ARSHADY, R. Microcapsules for food. **Journal of Microencapsulation**, Abingdon, v. 10, n. 4, p. 413-435, 1993.
- BACUS, J.. Meat fermentation. **Food Technology**, Chicago, v. 38, n. 6, p. 59-63, 1984.
- _____. **Utilization of microorganisms in meat processing**. Letchworth: Research Studies Press, 1986. 170p.
- BAGGIO, S.R.; BRAGAGNOLO, N. Cholesterol oxide, cholesterol, total lipid and fatty acid contents in processed meat products during storage. **Food Science and Technology**, London, v. 39, n. 5, p. 513-520, June 2006.
- _____. Lipid fraction quality evaluation of Brazilian meat-based products. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, São Paulo, v. 19, n. 3, p. 463-470, 2008.
- BANKOVA, V.; POPOV, S.; MAREKOV, N. L. Isopentenyl cinnamates from poplar buds and propolis. **Phytochemistry**, Oxford, v. 28, n. 3, p. 871-873, 1989.

BERIAIN, M.J.; PEÑA, M.P.; BELLO, J.A study of the chemical components which characterize Spanish saucisson. **Food Chemistry**, Oxford, v. 48, p. 31-37, 1993.

BERNARDI, S.; OETTERER, M.; CONTRERAS-CASTILLO, C.J. Embutidos Cárneos: Melhoria no valor nutritivo e aplicação de antioxidantes naturais. **Revista Nacional da Carne**, São Paulo, v. 32, n. 378, p. 30-38, ago. 2008.

BOLUMAR, T.; NIETO, P.; FLORES, J. Acidity, proteolysis and lipolysis changes in rapid-cures fermented sausage dried at different temperatures. **Food Science and Technology International**, London, v. 7, n. 3, p. 269-276, 2001.

BONOMO, M.G.; RICCIARDI, A.; ZOTTA, T.; SICO, M.A.; SALZANO, G. Technological and safety characterization of coagulase-negative *Staphylococci* from traditionally fermented sausages of Basilicata region (Southern Italy). **Meat Science**, Oxford, v. 83, p. 15-23, 2009.

BOZKURT, H. Utilization of natural antioxidants: Green tea extract and *Thymbra spicata* oil in Turkish dry-fermented sausage. **Meat Science**, Oxford, v. 73, n. 3, p. 442-450, Jul. 2006.

BRANNON-PEPPAS, L. Controlled release in the food and cosmetics industries In: EL-NOKALY, M.; PIATT, D.M.; CHARPENTIER, B.A. (Ed.). **Polymeric delivery systems: properties and applications**. 5 ed. th. Oxford (USA): Oxford University Press, 1993. chap. 3, p. 42-52. (ACS Symposium Series).

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 20, de 21 de julho de 1999. Oficializa os métodos analíticos físico-químicos, para controle de produtos cárneos e seus ingredientes – sal e salmoura, em conformidade ao anexo desta instrução normativa, determinando que sejam utilizados no sistema de laboratório animal do departamento de defesa animal. **Diário Oficial**, Brasília, 27 jul. 1999. Seção 1, p. 10.

_____. Instrução Normativa nº 22, de 31 de julho de 2000. Aprovar os regulamentos técnicos de identidade e qualidade de copa, de jerked beef, de presunto tipo Parma, de presunto cru, de salame, de salaminho, de salame tipo alemão, de salame tipo calabês, de salame tipo friolano, de salame tipo napolitano, de salame tipo hamburguês, de salame tipo italiano, de salame tipo milano, de linguiça colonial e pepperoni. **Diário Oficial**, Brasília, 03 ago. 2000. Seção 1, p. 15.

_____. Instrução Normativa nº 51, de 29 de dezembro de 2006. Adotar o Regulamento Técnico de Atribuição de Aditivos, e seus Limites das seguintes Categorias de Alimentos 8: Carne e Produtos Cárneos, na forma do anexo à presente Instrução Normativa. **Diário Oficial**, Brasília, 11 jan. 2007. Seção 1.

_____. Instrução Normativa nº 62, de 26 de agosto de 2003. Oficializa os métodos analíticos oficiais para análises microbiológicas para controle de produtos de origem animal e água. **Diário Oficial**, Brasília, 18 set. 2003. Seção 1, p. 14.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução RDC nº 12**, de 2 de janeiro de 2001. Aprova o regulamento técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos, em anexo. Disponível em: <<http://e-legis.anvisa.gov.br/leisref/public/showAct.php?id=144&word=>>. Acesso em: 30 out. 2008.

BRUNA, J.M.; ORDÓÑEZ, J.A.; FERNÁNDEZ, M.; HERRANZ, B.; de la HOZ, L. Microbial and physico-chemical changes during the ripening of dry fermented sausages superficially inoculated with or having added an intracellular cell-free extract of *Penicillium aurantiogriseum*. **Meat Science**, Oxford, v. 59, p. 87-96, 2001.

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

BURDOCK, G.A. A review of the biological properties and toxicity of bee propolis. **Food and Chemical Toxicology**, Oxford, v. 36, n. 4, p. 347-363, 1998.

CACCIOPPOLI, J.; CUSTÓDIO, F.B.; VIEIRA, S.M.; COELHO, J.V.; GLÓRIA, M.B.A. Aminoácidos bioativos e características físico-químicas de salames tipo italiano. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 58, n. 4, p. 648-657, 2006.

CAMPAGNOL, P.C.B. **Cultura starter produzida em meio de cultura de plasma suíno e antioxidante natural na elaboração do salame**. 2007. 74 p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2007.

CAMPAGNOL, P.C.B.; FRIES, L.L.M.; TERRA, N.N. Salames: da seleção da matéria-prima à qualidade microbiológica. **Revista Nacional da Carne**, São Paulo, ano 31, n. 362, p. 36-42, abr. 2007.

CAVENAGHI, A.D. **Elaboração de embutidos fermentados cozidos com carne de coxa de frango**. 2005. 181 p. Tese (Doutorado em Tecnologia de Alimentos) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2005.

_____. **Uso da associação de culturas starter na fabricação do salame tipo italiano**. 1999. 151 p. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 1999.

CAVENAGHI, A.V.; OLIVEIRA, M.N. Influência de algumas características físico-químicas e sensoriais na qualidade de salame tipo italiano fabricado no Brasil. **Revista Nacional da Carne**, São Paulo, v. 23, n. 263, p. 44-48, jan. 1999.

CECCHI, H.M. **Fundamentos teóricos e práticos em análise de alimentos**, Campinas: Ed. da Unicamp, 1999.

CHAGAS, S.S. **Redução do tempo de Fabricação do salame tipo italiano**. 1998. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 1998.

CHASCO, J.; BERIAIN, M.J.; BELLO, J. A study of changes in the fat content of some varieties of dry sausage during the curing process. **Meat Science**, Oxford, v. 34, n. 2, p. 191-204, 1993.

CHEMID. **A chemical database sponsored by the National Library of Medicine**. Bethesda, MD, 1996.

CHEN, C.N.; WU, C.L.; SHY, H.S.; LIN, J.K. Cytotoxic prenylflavanones from Taiwanese propolis. **Journal of Natural Products**, Washington, v. 66, p. 503-506, 2003.

CHEN, D.F.; ZHANG, S.X.; CHEN, K.; ZHOU, B.N.; WANG, P.; COSENTINO, L.M.; LEE, K.H. Two new lignans, interiotherins A and B, as anti-HIV principles from Kadsura interior. **Journal of Natural Products**, Washington, v. 59, n. 11, p. 1066-1068, 1996.

CHIZZOLINI, R.; NOVELLI, E.; ZANARDI, E. Oxidation in traditional mediterranean meat products. **Meat Science**, Oxford, v. 49, n. 1, p. 87-99, 1998. Supplement.

CHR. HANSEN. **Bactoferm F-1**: especificação de produto. Valinhos: Chr. Hansen Ind. e Com, 2008. 2 p.

CICHOSKI, A.J.; TERRA, N.N. Lipólise e a qualidade sensorial dos produtos cárneos. **Higiene Alimentar**, Itapetininga, v. 15, n. 85, p. 36-40, jun. 2001.

CIROLINI, A. ***Staphylococcus xylosus* e *Lactococcus lactis* spp *lactis* natives utilizados na elaboração de salame tipo Italiano**. 2008. 96 p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2008.

CORONADO, S.A.; GRAHAM, R.T.; DUNSHEA, F.R.; SHAH, N.P. Antioxidant effects of Rosemary extract and whey powder on the oxidative stability of wiener sausages during 10 months frozen storage. **Meat Science**, Oxford, v. 62, n. 2, p. 217-224, Oct. 2002.

COSGROVE, J.P.; CHURCH, D.F.; PRYOR, W.A. The kinetics of autoxidation of polyunsaturated fatty acids. **Lipids**, Columbia, v. 2, n. 5, p. 299-304, 1987.

CRYOVAC. **BB494**: incolor, side seal, liso. Sec. vendas: Sealed Air Cryovac, 2007. 2 p.

CUNHA, I.B.D.S.; SALOMAO, K.; SHIMIZU, M.; BANKOVA, V.S.; CUSTODIO, A.R.; DE CASTRO, S.L.; MARCUCCI, M.C. Antitrypanosomal activity of Brazilian propolis from *Apis mellifera*. **Chemical & Pharmaceutical Bulletin**, Tokyo, v. 52, n. 5, p. 602-604, 2004.

DECKER, E.A. Phenolics: prooxidants or antioxidants? **Nutrition Reviews**, Malden, v. 55, n. 11, p. 396-407, 1997.

DECKER, E.A.; CRUM, A.D.; SHATHAN, N.C.; MORRISSEY, P.A. Catalysis of lipid oxidation by iron originating from an insoluble fraction of beef diaphragm muscle. **Journal of Food Science**, Malden, v. 58, n. 2, p. 233-236, 1993.

DEGENHARDT, R.; SANT'ANNA, E.S. Survival of *Listeria monocytogenes* in low acid Italian sausage produced under Brazilian conditions. **Brazilian Journal of Microbiology**, São Paulo, v. 38, p. 309-314, 2007.

DEL NOBILE, M.A.; CONTE, A.; INCORONATO, A.L.; PANZA, O.; SEVI, A.; MARINO, R. New strategies for reducing the pork back-fat content in typical Italian salami. **Meat Science**, Oxford, v. 81, p. 263-269, 2009.

DELLAGLIO, S.; CASIRAGHI, E.; POMPEI, C. Chemical, physical and attributes for the characterization of an Italian dry-cured sausage. **Meat Science**, Oxford, v. 42, n. 1, p. 25-35, 1996.

DEMEYER, D.I.; VANDEKERCKHOVE, P.; MOERMANS, R. Compounds determining pH in dry sausage. **Meat Science**, Oxford, v. 3, n. 3, p. 161-167, Jul. 1979.

DOMÍNGUEZ-FERNÁNDEZ, M.C.; ZUMALACÁRREGUI-RODRÍGUEZ, J.M. Lipolytic and oxidative changes in "Chorizo" during ripening. **Meat Science**, Oxford, v. 29, n. 2, p. 99-107, 1991.

DRANSFIELD, E. The taste of fat. **Meat Science**, Oxford, v. 80, n. 1, p. 37-42, Sept. 2008.

DUARTE, S.; KOO, H.; BOWEN, W.H.; HAYACIBARA, M.F.; CURY, J.A.; IKEGAKI, M.; PARK, Y.K.; ROSALEN, P.L. Effect of a novel type of propolis and its chemical fractions on glucosyltransferases and on growth and adherence of mutans streptococci. **Biological & Pharmaceutical Bulletin**, Tokyo, v. 26, n. 4, p. 527-531, 2003.

ESTÉVEZ, M.; CAVA, R. Effectiveness of Rosemary essential oil as an inhibitor of lipid and protein oxidation: Contradictory effects in different types of frankfurters. **Meat Science**, Oxford, v. 72, n. 2, p. 348-355, Feb. 2006.

FAVARO-TRINDADE, C.S.; PINHO, S.C.; ROCHA, G.A. Revisão: Microencapsulação de ingredientes alimentícios. **Brazilian Journal of Food Technology**, Campinas, v. 11, n. 2, p. 103-112, abr./jun. 2008.

FELLOWS, P. Properties of foods and processing theory. In: _____ **Food processing technology: principles and practice**. Boca Raton: CRC Press, 2000, chap. 1, p. 9-62.

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

FERNÁNDEZ, M.C.D.; RODRÍGUEZ, J.M.Z. Lipolytic and oxidative changes in "chorizo" during ripening. **Meat Science**, Oxford, v. 29, n. 2, p. 99-107, 1991.

FUNARI, C.S.; FERRO, V.O. Análise de própolis. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 26, n. 1, p. 171-178, 2006.

GALLI, F. Os embutidos: como fabricá-los. **Revista Nacional da Carne**, São Paulo, v. 17, n. 194, p. 14-27, abr. 1993.

GARCÍA, B.M. Factores que influncian la supervivência y la multiplicacion de los microorganismos em los alimentos. **Alimentaria**, Madrid, v. 34, n. 274, p. 19-25, 1996.

GARCIA, F.T.; GAGLEAZZI, U.A.; SOBRAL, P.J.A. Variação das propriedades físicas e químicas do salame tipo Italiano durante secagem e fermentação. **Brazilian Journal of Food Technology**, Campinas, v. 3, n. 48, p. 151-158, 2000.

GARCIA, M.L.; SELGAS, M.D.; FERNANDEZ, M.; ORDOÑEZ, J.A. Microorganisms and lipolysis in the ripening of dry fermented sausages. **International Journal of Food Science and Technology**, Malden, v. 27, n. 6, p. 675-682, Dec. 1992.

GAVA, A.J. **Princípios de tecnologia de alimentos**. São Paulo: Nobel, 1978, 286p.

GHIRETTI, G.P.; ZANARDI, E.; NOVELLI, E.; CAMPANINI, G.; DAZZI, G.; MADARENA, G.; CHIZZOLINI, R. Comparative evaluation of some antioxidants in salame Milano and mortadella production. **Meat Science**, Oxford, v. 47, n. 1-2, p. 167-176, Sept./Oct. 1997.

GHISALBERTI, E.L. Propolis: a review. **Bee World**, Cardiff, v. 60, p. 59-84, 1979.

GONÇALVES, J.R. Classificação dos embutidos cárneos. In: LEMOS, A.L.S.C.; YAMADA, E.A.; HAGUIWARA, M.M.H. (Ed.). **Processamento de embutidos cárneos**. Campinas: CTC-ITAL, 2008, p. 7-17.

GORDON, M.H. Measuring antioxidant acitivity. In: POKORNY, J.; YANISHLIEVA, N.; GORDON, M.H. (Ed.). **Antioxidants in food: practical applications**. Washington DC: CRC Press, 2001. chap.4.

GØTTERUP, J.; OLSEN, K.; KNØCHEL, S.; TJENER, K.; STAHNKE, L.H.; MØLLER, J.K.S. Colour formation in fermented sausages by meat-associated staphylococci with different nitrite- and nitrate-reductase activities. **Meat Science**, Oxford, v. 78, n. 4, p. 492-501, Apr. 2008.

GOUIN, S. Microencapsulation: industrial appraisal of existing technologies and trends. **Trends in Food Science and Technology**, London, v. 15, n. 7-8, p. 330-347, 2004.

HADORN, R.; EBERHARD, P.; GUGGISBERG, D.; PICCINALI, P.; SCHLICHTERLE-CERNY, H. Effect of fat score on the quality of various meat products. **Meat Science**, Oxford, v. 80, n. 3, p. 765-770, Nov. 2008.

HAN, S.K.; PARK, H.K. A study on the preservation of meat products with water extracted propolis (WEP). **Korean Journal of Animal Science**, Seoul, v. 38, n. 6, p. 605-612, 1996a. Abstract.

_____. Accumulation of thiobarbituric acid-reactive substances in cured pork sausages treated with propolis extracts. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, Chichester, v. 82, p. 1487-1789, 2002.

_____. Effect of ethanol extracted propolis (EEP) on fat oxidation of meat products. **Korean Journal of Animal Science**, Seoul, v. 38, n. 1, p. 94-100, 1996b. Abstract.

HERAS, A. de las; SCHOCH, A.; GIBIS, M.; FISCHER, A. Comparison of methods for determining malonaldehyde in dry sausages by HPLC and the classic TBA test. **European Food Research and Technology**, New York, v. 217, p. 180-184, 2003.

HERRANZ, B.; ORDÓÑEZ, J.A.; HOZ, L. de la; HIERRO, E.; SOTO, E.; CAMBERO, M.I. Fatty acid composition of salami from different countries and their nutritional implications. **International Journal of Food Sciences and Nutrition**, Oxon, v. 59, n. 7-8, p. 607-618, Nov./Dec. 2008.

HERRERO, A.M.; ORDÓÑEZ, J.A.; de AVILA, R.; HERRANS, B.; de la HOZ, L.; CAMBERO, M.I. Breaking strength of dry fermented sausages and their correlation with texture profile analysis (TPA) and physic-chemical characteristics. **Meat Science**, Oxford, v. 77, n. 3, p. 331-338, Nov. 2007.

HOZ, L. ; D'ÁRRIGO, M.; CAMBERO, I.; ORDÓÑEZ, J.A. Development of an *n*-3 fatty acid and α -tocopherol enriched dry fermented sausage. **Meat Science**, Oxford, v. 67, n. 3, p. 485-495, Jul. 2004.

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

HUGHES, M.C.; KERRY, J.P.; ARENDT, E.K.; KENNEALLY, P.M.; McSWEENEY, P.L.H.; O'NEILL, E.E. Characterization of proteolysis during the ripening of semi-dry fermented sausages. **Meat Science**, Oxford, v. 62, n. 2, p. 205-216, Oct. 2002.

INCZE, K. Dry fermented sausages. **Meat Science**, Oxford, v. 49, p. 169-177, 1998. Supplement.

INTERNATIONAL COMMISSION ON ILLUMINATION. Recommendations on Uniform Color Spaces, Color Difference Equations, Psychometric Color Terms. **Bureau Central de la CIE**, Paris, n. 2, 1978. Supplement.

JACKSON, L.S.; LEE, K. Microencapsulation and Food Industry. **Lebensmittel-Wissenschaft & Technologie**, London, v. 24, n. 4, p. 289-297, 1991.

JO, C.; AHN, D.U. Fluorometric analysis of 2-thiobarbituric acid reactive substances in turkey. **Poultry Science**, Savoy, v. 77, p. 475-480, 1998.

KENNEALLY, P.M.; SCHWARZ, G.; FRANSEN, N.G.; ARENDT, E.K. Lipolytic starter culture effects on production of free fatty acids in fermented sausages. **Journal of Food Science**, Malden, v. 63, n. 3, p. 538-543, May 1998.

KHAYYAL, M.T.; ELGHAZALY, M.A.; ELKHATIB, A.S. Mechanisms involved in the antiinflammatory effect of propolis extract. **Drugs under Experimental and Clinical Research**, Carouge, v. 19, n. 5, p. 197-203, 1993.

KOO, H.; ROSALEN, P.L.; CURY, J.A.; PARK, Y.K.; IKEGAKI, M.; SATTTLER, A. Effect of *Apis mellifera* propolis from two Brazilian regions on caries development in desalivated rats. **Caries Research**, Basel, v. 33, n. 5, p. 393-400, 1999.

KOREL, F.; ACTON, J. Composition of fermented sausages in the USA retail market. **Fleischwirtschaft International**, Frankfurt, n. 4, p. 35-38, Nov. 2002.

KOTTKE, V.; DAMM, H.; FISCHER, A.; LEUTZ, U. Engineering aspects in fermentation of meat products. **Meat Science**, Oxford, v. 43, n. S, p. S243-S255, 1996.

KUJUMGIEV, A.; TSVETKOVA, I.; SERKEDJIEVA, Y.; BANKOVA, V.; CHRISTOV, R.; POPOV, S. Antioxidant activity of propolis of different geographic origin. **Journal of Ethnopharmacology**, Clare, v. 64, n. 3, p. 235-240, 1999.

KUMAZAWA, S.; HAMASAKA, T.; NAKAYAMA, T. Antioxidant activity of propolis of various geographic origins. **Food Chemistry**, Oxford, v. 84, n. 3, p. 329-339, 2004.

KWON, T.-W.; MENZEL, D.B.; OLCOTT, H.S. Reactivity of malonaldehyde with food constituents. **Journal of Food Science**, Malden, v. 30, p. 808-813, 1965.

LADIKOS, D.; LOUGOVOIS, V. Lipid oxidation in muscle foods: a review. **Food Chemistry**, Oxford, v. 35, n. 4, p. 295-314, 1990.

LANCETTE, G.A.; TANINI, S.R. *Staphylococcus aureus*. In: DOWNES, F.P.; ITO, K. (Ed.). **Compendium of methods for the microbiological examination of foods**. 4th ed. Washington: American Public Health Association, 2001. p. 387-403.

LAPPE, R. **Influência da utilização do extrato hidroalcoólico de própolis sobre o desenvolvimento de fungos e características físico-químicas e sensoriais do salame tipo Italiano**. 2004. 62 p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2004.

LEE, K.T.; LEE, Y.K.; SON, S.K.; CHOI, S.H.; LEE, S.B. Changes in various quality characteristics of short-ripened salami during storage at chilled or room temperature. **Korean Journal for Food Science of Animal Resources**, Seoul, v. 29, n. 1, p. 24-33, Feb. 2009. Abstract.

LEINSTNER, L. Review: basic aspects of food preservation by hurdle technology. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v. 55, p. 181-186, 2000.

LIZARRAGA, T.; MELGAR, J.; BELLO, J. Estudio de los cambios químicos em los componentes grasos del chorizo con El proceso de curación. **Grasas y Aceites**, Seville, v. 40, p. 370-375, 1989.

LIZASCO, G.; CHASCO, J.; BERIAIN, M.J. Microbiological and biochemical changes during ripening of salchichón, a Spanish dry cured sausage. **Food Microbiology**, London, v. 16, p. 219-228, 1999.

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

_____. Review: Utilization of microbes to process and preserve meat. **Meat Science**, Oxford, v. 56, n. 2, p.105-115, Oct. 2000.

MACEDO, R.E.F.; PFLANZER Jr., S.B.; TERRA, N.N.; FREITAS, R.J.S. Desenvolvimento de embutido fermentados por *Lactobacillus* probióticos: características de qualidade. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 28, n. 3, p. 509-519, jul./set. 2008.

MANCINI, R.A.; HUNT, M.C. Review: Current research in meat color. **Meat Science**, Oxford, v. 71, n. 1, p. 100-121, Sept. 2005.

MARCHESI, C.M.; CICHOSKI, A.J.; ZANOELO, E.F.; DARIVA, C. Influência das condições de armazenamento sobre os pigmentos cárneos e a cor do salame italiano fatiado. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 26, n. 3, p. 697-704, 2006.

MARCO, A.; NAVARRO, J.L.; FLORES, M. The sensory quality of dry fermented sausages as affected by fermentation stage and curing agents. **European Food Research and Technology**, New York, v. 226, n. 3, p. 449-458, 2008.

MARCUCCI, M.C. Propolis: chemical composition, biological properties and therapeutic activity. **Apidologie**, Les Ulis, v. 23, p. 83-99, 1995.

MARCUCCI, M.C.; FERRERES, F.; GARCIA-VIGUERA, C.; BANKOVA, V.S.; de CASTRO, S.L.; DANTAS, A.P.; VALENTE, P.H.M.; PAULINO, N. Phenolic compounds from Brazilian propolis with pharmacological activities. **Journal of Ethnopharmacology**, Clare, v. 74, n. 2, p. 105-112, 2001.

MAURIELLO, G.; CASABURI, A.; BLAIOTTA, G.; VILLANI, F. Isolation and technological properties of coagulase negative staphylococci from fermented sausages of Southern Italy. **Meat Science**, Oxford, v. 67, n. 1, p. 149-158, May 2004.

MELTON, S.L. Methodology for following lipid oxidation in muscle foods. **Food Technology**, Chicago, v. 37, n. 7, p. 105-111, 1983.

MONAHAN, F.J.; CRACKEL, R.L.; GRAY, J.I.; BUCKLEY, D.J.; MORRISSEY, P.A. Catalysis of lipid oxidation in muscle model systems by haem and inorganic iron. **Meat Science**, Oxford, v. 34, n. 1, p. 95-106, 1993.

MONTPIED, P.; BOCK, F. de; RONDOUIN, G.; NIEL, G.; BRIANT, L.; COURSEAU, A.S.; LERNER-NATOLI, M.; BOCKAERT, J. Caffeic acid phenethyl ester (CAPE) prevents inflammatory stress in organotypic hippocampal slice cultures. **Molecular Brain Research**, Amsterdam, v. 115, n. 2, p. 111-120, 2003.

MORETTI, V.M.; MADONIA, G.; DIAFERIA, C.; MENTASTI, T.; PALEARI, M.A.; PANSERI, S.; PIRONE, G.; GANDINI, G. Chemical and microbiological parameters and sensory attributes of a typical Sicilian salami ripened in different conditions. **Meat Science**, Oxford, v. 66, n. 4, p. 845-854, Apr. 2004.

MORRISSEY, P.A.; SHEEHY, P.J.A.; GALVIN, K.; KERRY, J.P.; BUCKLEY, D.J. Lipid stability in meat and meat products. **Meat Science**, Oxford, v. 49, n. 1, p. 73-86, 1998. Supplement.

NAGAI, T.; INOUE, R.; KANAMORI, N.; SUZUKI, N.; NAGASHIMA, T. Characterization of honey from different floral sources. Its functional properties and effects of honey species on storage of meat. **Food Chemistry**, Oxford, v. 97, p. 256-262, 2006.

NASSU, R.T.; GONÇALVES, L.A.G.; BESERRA, F.J. Utilização de diferentes culturas *starter* no processamento de embutido fermentado de carne de caprinos. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 32, n. 6, p. 1051-1055, 2002.

NASSU, R.T.; GONÇALVES, L.A.G.; SILVA, M.A.A.P.; BESERRA, F.J. Oxidative stability of fermented goat meat sausage with different levels of natural antioxidant. **Meat Science**, Oxford, v. 63, n. 1, p. 43-49, 2003.

NOVELI, E.; ZANARDI, E.; GHIRETTI, G.P.; CAMPANINI, G.; DAZZI, G.; MADARENA, G.; CHIZZOLINI, R. Lipid and cholesterol oxidation in frozen stored pork, salame milano and mortadella. **Meat Science**, Oxford, v. 48, n. 1-2, p. 29-40, Jan./Feb. 1998.

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

OLIVO, R. Alterações oxidativas em produtos cárneos. In: SHIMOKOMAKI, M.; OLIVO, R.; TERRA, N.N.; FRANCO, B.D.G.M. **Atualidades em ciência e tecnologia de carnes**. São Paulo: Varela, 2006. Cap. 15, p. 155-163.

O'MAHONY, M. **Sensory evaluation of food**: statistical methods and procedures. New York : M. Dekker, 1986, 487 p.

OSAWA, C.C.; FELÍCIO, P.E.; GONÇALVES, L.A.G. Teste de TBA aplicado a carnes e derivados: métodos tradicionais, modificados e alternativos. **Química Nova**, São Paulo, v. 28, n. 4, p. 655-663, 2005.

PARK, Y.K.; ALENCAR, S.M.; AGUIAR, C.L. Botanical origin and chemical composition of Brazilian propolis. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 50, n. 9, p. 2502-2506, 2002.

PARK, Y.K.; KOO, M.H.; IKEGAKI, M.; CURY, J.A.; ROSALEN, P.L.; ABREU, J.A.S. Antimicrobial activity of propolis on oral microorganisms. **Current Microbiology**, Peoples, v. 36, n. 1, p. 24-28, 1998.

PÉREZ-ALVAREZ, J.A.; SAYAS-BARBERÁ, M.E.; FERNÁNDEZ-LOPEZ, J.; ARANDA-CATALÁ, V. Physicochemical characteristics of Spanish-type dry-cured sausage. **Food Research International**, Amsterdam, v. 32, p. 599-607, 1999.

PIECADE, K.R. **Uso de ervas aromáticas na estabilidade oxidativa de filés de sardinha (*Sardinella brasiliensis*) processados**. 2007. 160 p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2007.

PREGNOLATTO, W.; PREGNOLATTO, N.P. **Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz: métodos químicos e físicos para análise de alimentos**. 3ed. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 1985.

RAMALHO, V.C.; JORGE, N. Antioxidantes utilizados em óleos, gorduras e alimentos gordurosos. **Química Nova**, São Paulo, v. 29, n. 4, p. 755-760, 2006.

RÉVILLION, J.P.; BRANDELLI, A.; AYUB, M.A.Z. Produção de extratos de leveduras de uso alimentar a partir de soro de queijo: abordagem de elementos técnicos e mercadológicos relevantes. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 20, n. 2, maio/ago. 2000.

RODRIGUEZ, M.P.; CARBALLO, J.; LOPEZ, M. Characterization of the lipid fraction of some Galician (NW of Spain) traditional meat products. **Grasas y Aceites**, Seville, v. 52, n. 5, p. 291-296, Sep.-Oct. 2001.

RONCÁLES, P.; AGUILERA, M.; BELTRAN, J. H.; JAIME, I. E.; PEIRO, J. M. The effect of natural or artificial casing on the ripening and sensory quality of a mould-covered dry sausage. **International Journal of Food Science Technology**, Malden, v. 26, p. 83-89, 1991.

ROSEIRO, L.C.; GOMES, A.; GONÇALVES, H.; SOL, M.; CERCAS, R.; SANTOS, C. Effect of processing on proteolysis and biogenic amines formation in a Portuguese traditional dry-fermented ripened sausage “*Chouriço Grosso de Estremoz e Borba PGI*”. **Meat Science**, Oxford, v. 84, n. 1, p. 172-179, 2010.

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

SANZ, Y.; FLORES, J.; TOLDRÁ, F.; FERIA, A. Effect of pré-ripening on microbial and chemical changes in dry fermented sausages. **Food Microbiology**, London, v. 14, p. 575-582, 1997.

SAS. **User's Guide**: basic and statistic. Cary: SAS, 1965. 1686 p.

SCHEID, G.A. **Avaliação sensorial e físico-química de salame tipo Italiano com diferentes concentrações de cravo-da-Índia (*Eugenia caryophyllus*)**. 2001. 94 p. Dissertação (M.S. Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade de Viçosa, Viçosa, 2001.

SCHEID, G.A.; MINIM, V.P.R.; GOMIDE, L.A.; CHAVES, J.B.P.; VANETTI, M.C.D.; MINIM, L.A.; COIMBRA, J.S.R. Avaliação físico-química e sensorial de salame tipo italiano contendo diferentes concentrações de cravo-da-índia (*Eugenia caryophyllus*). **Ciência Agrotécnica**, Lavras, p. 1576-1583, dez. 2003. Edição Especial.

SHAHIDI, F.; HAN, X.Q. Encapsulation of food ingredients. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, Boca Raton, v. 33, n. 6, p. 501-547, 1993.

SØRENSEN, G.; JØRGENSEN, S.S. A critical examination of some experimental variables in the 2-thiobarbituric acid (TBA) test for lipid oxidation in meat products. **Zeitschrift für Lebensmittel Untersuchung und Forschung**, New York, v. 202, n. 3, p. 205-210, 1996.

SOUZA, M.S.M. **Ativos microencapsulados encontram mais aplicações**. Disponível em: <<http://www.quimica.com.br/revista/qd388/microencap1.htm>>. Acesso em: 20 ago. 2007.

STAHNKE, L.H. Dried sausages fermented with *Staphylococcus xylosus* at different temperatures and with different ingredient levels – Part I. Chemical and bacteriological data. **Meat Science**, Oxford, v. 41, n. 2, p. 179-191, 1995.

SUMMO, C.; CAPONIO, F.; PARADISO, V.M.; PASQUALONE, A.; GOMES, T. Vacuum-packed ripened sausages: evolution of oxidative and hydrolytic degradation of lipid fraction during long-term storage and influence on the sensory properties. **Meat Science**, Oxford, v. 84, p. 147-151, 2010.

SUMMO, C.; CAPONIO, F.; PASQUALONE, A. Effect of vacuum-packaging storage in the quality level of ripened sausages. **Meat Science**, v. 74, n. 2, p. 249-254, Oct. 2006.

TARLADGIS, B.G.; WATTS, B.M.; YOUNATHAN, M.T. A distillation for the quantitative determination of malonaldehyde in rancid foods. **Journal of the American Oil Chemist's Society**, Chicago, v. 37, p. 44-48, 1960.

TERRA, N.N. **Apontamentos de tecnologia de carnes**. São Leopoldo: Editora Unisinos, 1998. 216 p.

TODD, R.D. Microencapsulation and the flavour industry. **Flavour Industry**, London, v. 1, n. 11, p. 768-771, 1970.

TYÖPPÖNEN, S.; PETÄJÄ, E.; MATTILA-SANDHOLM, T. Bioprotectives and probiotics for dry sausages. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v. 83, n. 3, p. 233-244, 2003.

ULU, H. Evaluation of three 2-thiobarbituric acid methods for the measurement of lipid oxidation in various meats and meats products. **Meat Science**, Oxford, v. 67, n. 4, p. 638-687, Aug. 2004.

VALENCIA, I.; ANSORENA, D.; ASTIASARÁN, I. Development of dry fermented sausages rich in docosahexaenoic acid with oil from microalgal *Schizochytrium* sp.: Influence on nutritional properties, sensorial quality and oxidation stability. **Food Chemistry**, Oxford, v. 104, p. 1087-1096, 2007.

VICENTINI, N.M.; CASTRO, T.M.R.; CEREDA, M.P. Influência de película de fécula de mandioca na qualidade pós-colheita de frutos de pimentão (*Capsicum annuum* L.). **Ciência e Tecnologia de alimentos**, Campinas, v. 19, n.1, p. 127-130, jan./abr. 1999.

WASZKOWIAK, K.; DOLATA, W. The application of collagen preparations as carries of Rosemary extract in the production of processed meat. **Meat Science**, Oxford, v. 75, n. 1, p. 178-183, Jan. 2007.

YAMADA, E.A. Defeitos em embutidos cárneos. In: LEMOS, A.L.S.C.; YAMADA, E.A.; HAGUIWARA, M.M.H. **Processamento de embutidos cárneos**. Campinas: CTC – ITAL, 2008, p. 197-213.

YANISHLIEVA, N.V.; MARINOVA, E.; POKORNÝ. Natural antioxidants from herbs and spices. **European Journal of Lipid Science and Technology**, Weinheim, v. 108, p. 776-793, 2006.

ZALACAIN, I.; ZAPELENA, M.J.; ASTIASARÁN, I.; BELLO, J. Dry fermented sausages elaborated with lipase from *Candida cylindracea*. Comparison with traditional formulations. **Meat Science**, Oxford, v. 40, p. 55-61, 1995.

ZALACAIN, I.; ZAPELENA, M.J.; PAZ DE PEÑA, M.; ASTIASARÁN, I.; BELLO, J. Use of lipase from *Rhizomucor miehei* in dry fermented sausages elaboration: microbial, chemical and sensory analysis. **Meat Science**, Oxford, v. 45, n. 1, p. 99-105, jan. 1997.

ZANARDI, E.; DORIGONI, V.; BADIANI, A.; CHIZZOLINI, R. Lipid and colour stability of Milano-type sausages: effect of packing conditions. **Meat Science**, Oxford, v. 61, n. 1, p. 7-14, May 2002.

ZANARDI, E.; GHIDINI, S.; BATTAGLIA, A.; CHIZZOLINI, R. Lipolysis and lipid oxidation in fermented sausages depending on different processing conditions and different antioxidants. **Meat Science**, Oxford, v. 66, n. 2, p. 415-423, Feb. 2004.

ŽLENDER, B.; GAŠPERLIM, L.; ROGELJ, I.; POLAK, T.; BERČIČ, T. Properties of dry fermented sausages with the addition of probiotic and prebiotic. In: 55th International Congress of Meat Science and Technology (ICoMST), 2009, Copenhagen. **Proceedings: The 55th International Congress of Meat Science and Technology**. Copenhagen: p. 1491-1495, 2009. Disponível em: <<http://www.icomst2009.dk.kappa.headline.dk/index.php?id=4048>>. Acesso em: 26 out. 2009.