

**PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DO PARANÁ
ESCOLA DE CIÊNCIAS DA VIDA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL**

KARINA STELLA SUCKOW

**EFEITOS DA REDUÇÃO COMBINADA DE SÓDIO E GORDURA ANIMAL SOBRE
AS CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS, MICROBIOLÓGICAS E SENSORIAIS
DE EMBUTIDO CÁRNEO FERMENTADO PROBIÓTICO**

Effects of the combined reduction of sodium and animal fat on the physico-chemical,
microbiological and sensory characteristics of probiotic dry fermented sausages

CURITIBA

2017

KARINA STELLA SUCKOW

**EFEITOS DA REDUÇÃO COMBINADA DE SÓDIO E GORDURA ANIMAL SOBRE
AS CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS, MICROBIOLÓGICAS E SENSORIAIS
DE EMBUTIDO CÁRNEO FERMENTADO PROBIÓTICO**

Effects of the combined reduction of sodium and animal fat on the physico-chemical,
microbiological and sensory characteristics of probiotic dry fermented sausages

Dissertação apresentada ao Programa
de Pós-Graduação em Ciência Animal,
área de concentração Saúde,
Tecnologia e Produção Animal, da
Escola de Ciências da Vida da
Pontifícia Universidade Católica do
Paraná, para obtenção do título de
Mestre em Ciência Animal.

Orientador(a): Prof.^a Dr^a Renata
Ernlund Freitas de Macedo

CURITIBA

2017

TERMO DE APROVAÇÃO
(Responsabilidade da Secretaria do PPGCA)

(Entregue pela secretaria)

SUMÁRIO

AGRADECIMENTOS	vii
FORMATO DA DISSERTAÇÃO	viii
RESUMO GERAL	ix
ABSTRACT	xi
LISTA DE ABREVIATURAS	xiii
LISTA DE TABELAS	xiv
LISTA DE FIGURAS	xvi
CAPÍTULO 1	1
1 INTRODUÇÃO	1
1.1 EMBUTIDOS CÁRNEOS	3
1.1.1 Funções tecnológicas do sódio e gordura em produtos cárneos.....	5
1.1.1.1 Cloreto de sódio NaCl.....	5
1.1.1.2 Gordura.....	6
1.1.1.3 Implicações à saúde relacionadas ao consumo excessivo de sódio e gordura.....	7
1.1.1.4 Utilização de culturas probióticas.....	8
REFERÊNCIAS	12
CAPÍTULO 2 EVALUATION OF PHYSICO-CHEMICAL CHARACTERISTICS DURING THE MANUFACTURE OF LOW FAT AND SODIUM PROBIOTIC DRY FERMENTED SAUSAGE WITH THE ADDITION OF KCL AND COCONUT OIL	19
ABSTRACT	19
RESUMO	20
2.1 INTRODUCTION	21
2.2 MATERIAL AND METHODS	23
2.3 RESULTS AND DISCUSSION	25
CONCLUSION	28
REFERENCES	29
CAPÍTULO 3 EFEITOS DAS REDUÇÕES COMBINADAS DE SÓDIO E GORDURA ANIMAL SOBRE AS CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS, MICROBIOLÓGICAS E SENSORIAIS DE EMBUTIDOS CÁRNEOS FERMENTADOS PROBIÓTICOS	33
RESUMO	33
ABSTRACT	34
3.1 INTRODUÇÃO	35
3.2 MATERIAL E MÉTODOS	37
3.2.1 Preparação dos inóculos.....	37
3.2.2 Processamento dos embutidos.....	38
3.2.3 Determinação do pH.....	39
3.2.4 Determinação de Aw.....	39
3.2.5 Determinação de cor instrumental.....	39

3.2.6 Perda de peso.....	40
3.2.7 Composição proximal.....	40
3.2.8 Teor de sódio.....	40
3.2.9 Determinação da oxidação lipídica.....	40
3.2.10 Análise microbiológica.....	40
3.2.11 Avaliação sensorial.....	41
3.2.12 Análise estatística.....	42
3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	42
3.3.1 Efeitos sobre parâmetros físico-químicos dos embutidos cárneos fermentados probióticos.....	42
3.3.1.1 pH e Aw.....	42
3.3.1.2 Cor instrumental.....	44
3.3.1.3 Perda de peso.....	45
3.3.1.4 Composição proximal.....	46
3.3.1.5 Teor de sódio.....	47
3.3.1.6 Oxidação lipídica.....	49
3.3.1.7 Análise microbiológica.....	50
3.3.1.8 Análise sensorial.....	53
4 CONCLUSÃO.....	54
REFERÊNCIAS.....	55
CAPÍTULO 4.....	63
CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	63

“Jamais considere seus estudos como uma obrigação, mas como uma oportunidade invejável para aprender a conhecer a influência libertadora da beleza do reino do espírito, para seu próprio prazer pessoal e para proveito da comunidade à qual seu futuro trabalho pertence”.

Albert Einstein

Dedico este trabalho à minha família, em especial a Leandro, Gustavo e Gabriela,
meus maiores incentivadores e parceiros nessa caminhada.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por ter me proporcionado a vida, por ter me dado forças, me ajudado a persistir e ser abençoada com sua presença constante ao meu lado.

Agradeço imensamente a minha querida e amada família, meus pais Emerson e Josiane e irmã Arielli e aos meus sogros José Valdir e Elvina, sem vocês a tarefa seria bem mais difícil.

Um agradecimento em especial aos que fazem parte da minha vida diariamente, meu marido Leandro, meu maior incentivador, meu ombro amigo, um dos meus ajudantes em dias de muitas análises e sem dúvidas, a pessoa que mais acredita e incentiva meu crescimento profissional e acadêmico.

Aos meus filhos Gustavo e Gabriela, que nesse período sentiram minha ausência, mas sempre que podiam, estavam por perto, me demonstrando carinho, me fazendo acreditar que tudo seria possível.

À minha orientadora, Renata Ernlund Freitas de Macedo, por todos os conhecimentos adquiridos, pela paciência em sanar minhas dúvidas e pelas trocas de experiências, pela oportunidade de poder realizar essa etapa de crescimento profissional e a amizade adquirida.

A todos os colegas que adquiri neste período e ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal pela agradável acolhida, aos colegas de trabalho, aos colaboradores dos laboratórios, os meus mais sinceros agradecimentos.

FORMATO DA DISSERTAÇÃO

A presente dissertação é composta por capítulos.

O capítulo 1 apresenta uma introdução geral e a contextualização dos objetivos de estudo desta dissertação, contendo referências bibliográficas.

O capítulo 2 trata-se de uma comunicação breve, contendo resultados de um experimento preliminar que avaliou os efeitos da redução de NaCl e substituição por KCl, e da redução de toucinho e substituição por óleo de coco sobre parâmetros físico-químicos de salames adicionados de cultura probiótica.

O capítulo 3 trata-se do artigo científico completo referente a experimento realizado com base nos resultados preliminares, visando a avaliação da redução de NaCl e de toucinho sobre parâmetros físico-químicos (pH, atividade de água, cor instrumental e oxidação lipídica), parâmetros microbiológicos (contagem de *L. plantarum* 343 e *S. xylosus*), teor de sódio, perda de peso, composição proximal e características sensoriais de salame probiótico.

O capítulo 4 finaliza esta dissertação com considerações finais e sugestões para estudos futuros.

RESUMO GERAL

Embutidos cárneos fermentados são produtos promissores para a veiculação de probióticos, pelo fato de serem processados e consumidos sem aquecimento. Entretanto, apresentam como desvantagens o alto teor de sódio e de gordura. A maior preocupação dos consumidores com a qualidade nutricional e os recentes acordos firmados entre órgãos de saúde e as indústrias alimentícias têm despertado o interesse em desenvolver novos produtos mais saudáveis e funcionais. O objetivo deste estudo foi elaborar um salame funcional, utilizando cultura láctica iniciadora indígena, potencialmente probiótica, com redução de sódio e gordura animal, e avaliar seus efeitos sobre as características físico-químicas, microbiológicas e sensoriais. Em um estudo preliminar, verificou-se o efeito da redução de NaCl e substituição por KCl e da redução de toucinho e substituição por óleo de coco sobre parâmetros físico-químicos de salames adicionados de cultura probiótica. Os salames receberam cultura *starter* comercial e cultura probiótica de *Lactobacillus plantarum*. Neste estudo, verificou-se que a redução ou substituição de NaCl por KCl (25%), bem como a simples redução de toucinho (25%), não afetou negativamente a maioria dos parâmetros físico-químicos dos salames. Contudo, a adição de óleo de côco ocasionou defeitos de cor nos produtos, sugerindo que seu uso como substituição do toucinho não seja recomendado para salames probióticos. A partir dos resultados desse primeiro estudo, um segundo experimento foi realizado, com a produção de cinco lotes de salame, que receberam como cultura mista iniciadora, a cultura láctica probiótica *Lactobacillus plantarum* 343 e a cultura micrococácea *Staphylococcus xylosum*. Os lotes foram divididos nos seguintes tratamentos: TC (formulação tradicional), T1 (redução de 25% de toucinho e sódio em relação ao TC), T2 (redução de 25% de toucinho e 50% de sódio em relação ao TC), T3 (redução de 50% de toucinho e 25% de sódio) e T4 (40% de redução de toucinho e sódio em relação ao TC). Os salames foram maturados em câmara de maturação sob condições de temperatura variando entre 25° a 18° C e umidade relativa inicial em 91% e final 85% controladas por 28 dias. A cada 7 dias, peças dos embutidos foram avaliadas para parâmetros físico-químicos (pH, atividade de água-Aw, cor e oxidação lipídica) e microbiológicos (contagem de *L. plantarum* 343 e *S. xylosum*). Após processamento, os embutidos foram submetidos às determinações de teor de sódio, perda de peso, composição proximal e à avaliação sensorial de aceitabilidade. Todos os resultados foram analisados por ANOVA e teste de Tukey (P<0,05). A redução de sódio em 50% no T2 influenciou nos valores de pH e na Aw, que se apresentaram mais altas neste tratamento. A luminosidade (L*) foi afetada pelo teor de gordura do produto, sendo o TC o de maior luminosidade. A intensidade de cor vermelha (a*) e cor amarela (b*) foram maiores no T2, possivelmente devido à maior quantidade proporcional de carne no produto, em virtude do teor reduzido de gordura. Seguindo a mesma tendência, a saturação de cor (C*) também foi maior nos tratamentos com reduções de sódio e gordura (T2, T3 e T4) do que no controle, indicando coloração mais intensa. A perda de peso durante o processamento foi maior nos tratamentos com maiores reduções de gordura. Na composição proximal, observou-se uma redução significativa dos teores de lipídios nos tratamentos elaborados com reduções a partir de 25% de gordura. A oxidação lipídica foi maior nos tratamentos com maiores reduções de sódio. A cultura probiótica de *L. plantarum* 343 apresentou crescimento na matriz cárnea, com manutenção da contagem nos valores recomendados para efeito probiótico. A redução no teor de sódio e de gordura animal e a substituição da cultura láctica iniciadora tradicional por

uma cultura probiótica indígena não alterou negativamente as características sensoriais dos embutidos fermentados. Entre as formulações testadas, a formulação do T4 (32% de redução de sódio e 36% de gordura animal) mostrou-se a mais interessante sob o ponto de vista nutricional e tecnológico, apresentando índice de aceitabilidade sensorial acima de 97% e atingindo as recomendações para classificação de alimento *light* para sódio e gordura.

Palavras-chave: salame, probióticos, reduções combinadas de sódio e gordura, *Lactobacillus plantarum*

ABSTRACT

Fermented sausages are promising products for the delivery of probiotics because they are consumed without previous heating. However, they have high sodium and fat content. The increase in human concern about the nutritional value of the food and the recent agreements between health agencies and the food industry have aroused the interest of the meat industry in developing healthier and functional products. The objective of this study was to develop a functional fermented sausage, with the addition of an indigenous probiotic lactic acid starter culture, with combined reduction of sodium and animal fat, and to evaluate its effects on the physicochemical, microbiological and sensorial characteristics of the product. In a preliminary study, the effect of NaCl reduction and KCl addition, and the reduction of backfat and replacement by coconut oil on the physicochemical parameters of probiotic-fermented sausage was assessed. Sausages were inoculated with a commercial starter culture and a probiotic culture of *Lactobacillus plantarum*. In this study, the reduction or the substitution of NaCl by KCl (25%), as well as the solely reduction of backfat (25%), did not negatively affect most of physicochemical parameters of sausages. However, the addition of coconut oil caused color defects in the products, suggesting that their use as a substitute for pork backfat is not recommended in fermented sausages. From the results of this first study, a second experiment was carried out, with the production of five batches of salami, using the probiotic culture *Lactobacillus plantarum* 343 and a commercial micrococci culture, *Staphylococcus xylosus*. Batches were assigned into the following treatments: TC (traditional formulation), T1 (25% fat and sodium reduction), T2 (25% fat and 50% sodium reduction), T3 (50% fat and 25% sodium reduction) and T4 (40% fat and sodium reduction). The sausages were ripened at controlled temperature and relative humidity conditions for 28 days. At 7 day-intervals, samples were withdrawn and physical chemical (pH, Aw, instrumental color and lipid oxidation) and microbiological (count of *L. plantarum* 343 and *S. xylosus*) parameters were assessed. After processing, the sausages were subjected to the determinations of sodium content, weight loss, proximal composition and to acceptability sensory evaluation. The results were analyzed by ANOVA and means compared by Tukey test ($P < 0.05$). The reduction of sodium by 50% in T2 influenced the pH and Aw values, which were higher in this treatment. The luminosity (L^*) was affected by fat content of the product, for which TC showed greater values. Redness (a^*) and yellowness (b^*) were higher in T2 since the reduced fat content increases the lean meat proportion in the product. The color saturation (C^*) was also higher in the treatments with sodium and fat reductions (T2, T3 and T4) than in the control. Weight loss during processing was higher in treatments with higher fat reductions. With regards to the proximal composition, there was a significant reduction of the lipid content in treatments with reductions from 25% fat. Lipid oxidation was higher in treatments with higher sodium reductions. The count of probiotic culture *L. plantarum* 343 was maintained until the end of processing above the recommended number for the probiotic effect. The reduction in sodium and animal fat content and the substitution of the traditional lactic acid starter by an indigenous probiotic culture did not negatively affect the sensory characteristics of the fermented sausages. Among the formulations tested, the formulation T4 (32% sodium and 36% animal fat reduction) was the most interesting from a nutritional and technological point of view, showing sensory acceptability index higher than 97% and reaching the recommendations for its classification as a *light* meat product.

Keywords: dry fermented sausages, probiotics, combined reductions in sodium and fat, *Lactobacillus plantarum*

LISTA DE ABREVIATURAS

µL	microlitro
Aw	Atividade de água
BAL	Bactérias ácido lácticas
DCNT	Doenças Crônicas Não Transmissíveis
FAO	Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura
g	grama
GRAS	Generally Recognized as Safe
MAPA	Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento
mg	miligrama
mL	mililitro
mm	milímetro
NaCl	Cloreto de sódio
OMS	Organização Mundial da Saúde
OPAS	Organização Panamericana de Saúde
pH	Potencial hidrogeniônico
TBA	Ácido tiobarbitúrico
TBARS	Substâncias reativas ao ácido – tiobarbitúrico
TCA	Ácido tricloroacético
TGI	Trato gastrointestinal
UFC	Unidade Formadora de Colônia
UR	Umidade relativa
WHO	Organização Mundial da Saúde

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 2

	Página
Table 1. Levels of sodium chloride, potassium chloride, pork fat and coconut oil used in dry-fermented sausages formulations.....	23
Table 2. Time- course evolution of pH and Aw in probiotic dry-fermented sausages with different sodium and pork fat content....	26
Table 3. Instrumental color values in probiotic dry-fermented sausages with different sodium and pork fat content at the end of processing period (28 days).....	27

CAPÍTULO 3

Tabela 1. Matérias primas e ingredientes utilizados na fabricação dos embutidos cárneos fermentados probióticos.....	38
Tabela 2. Condições de temperatura e umidade relativa do ar utilizadas na câmara durante o período de maturação dos embutidos.....	39
Tabela 3. Valores de médias (\pm erro padrão) dos valores de pH e Aw durante o processamento dos embutidos cárneos fermentados probióticos.....	44
Tabela 4. Médias (\pm erro padrão) de cor instrumental no final do processamento dos embutidos probióticos (28 dias).....	44
Tabela 5. Valores médios (\pm erro padrão) para composição proximal (g/100g) das diferentes formulações ao final do período de maturação (28 dias).....	46
Tabela 6. Teor final de sódio (média \pm erro padrão) e redução de teor de sódio em relação ao controle obtidos nas diferentes formulações de embutido fermentado probiótico.....	47

Tabela 7. Valores médios (\pm erro padrão) de malonaldeído (mg/kg) para as diferentes formulações e etapas de processamento..... 49

Tabela 8. Médias (\pm erro padrão) das características sensoriais de embutido cárneo fermentado probiótico com reduções combinadas de sódio e gordura..... 54

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO 2

Página

Figure 1. Biplot of two principal components computed from the instrumental color coordinates in probiotic-dry-fermented sausages with different sodium and pork fat content..... 28

CAPÍTULO 3

Figura 1. Médias (\pm erro padrão) das contagens de *Staphylococcus xylosus* em embutido cárneo fermentado probiótico com combinações de reduções de sódio e gordura..... 51

Figura 2. Médias (\pm erro padrão) das contagens de *Lactobacillus plantarum* 343 em embutido cárneo fermentado probiótico com combinações de reduções de sódio e gordura..... 52

CAPITULO 1

1 INTRODUÇÃO

A atual influência no estilo de vida e dieta da população na indústria alimentícia vem acompanhada do desafio de atender à demanda dos consumidores por produtos atrativos visualmente, gosto agradável e que visem a saúde. A reformulação de produtos com o objetivo de substituir ou reduzir ingredientes tais como gordura, sal (NaCl), aditivos alimentares e conservantes, ou ainda, modificar favoravelmente o perfil de ácidos graxos e promover uma expressiva diminuição do seu valor calórico, é uma estratégia da indústria para diminuir a associação entre o consumo de alguns produtos alimentícios e problemas de saúde como a obesidade, diabetes e a hipertensão (Oliveira et al., 2013; Sidira et al., 2016).

O desenvolvimento de formulações com ingredientes funcionais como prebióticos (Felisberto et al., 2015) e probióticos (Aymerich e Garrig, 2015), podem promover efeito benéfico ao organismo. Em 2011, o mercado de probióticos faturou cerca de US\$ 27,9 bilhões e a previsão para 2018 é chegar a US\$ 44,9 bilhões (Sybesma et al., 2015), demonstrando um crescente interesse da população na aplicação destes ingredientes funcionais

As principais bactérias probióticas são dos gêneros *Lactobacillus* e *Bifidobacterium*. Dentre os *Lactobacillus* pode-se citar *Lactobacillus acidophilus* (Neish, 2017), *Lactobacillus helveticus*, *Lactobacillus casei* (Macedo et al., 2008; Sidira et al., 2015), *Lactobacillus plantarum* (Corbo et al., 2013; Arief et al., 2014; Rubio et al., 2014; Chen et al., 2016; Yadav, 2017) e *Lactobacillus rhamnosus* (Macedo et al., 2008; Liu et al., 2017). Comercialmente, os

probióticos são adicionados principalmente em derivados lácteos como leites fermentados (Granato et al., 2010), iogurtes (Rutella et al., 2016), queijos (Chaves e Gigante, 2016), sorvetes (Cruxen et al., 2017) e sobremesas (Silva et al., 2012). Porém, outros alimentos, como embutidos cárneos fermentados, prontos para o consumo, também são passíveis de receberem a adição desses microrganismos, aumentando assim a sua funcionalidade (Rubio et al., 2014; Sidira et al., 2014; Jofré et al., 2015).

Entre as carnes mais consumidas no Brasil, a carne suína encontra-se em terceiro lugar, totalizando uma produção de 2.870 milhões de toneladas. Desse total, 89% da produção é destinada para a fabricação de derivados cárneos, movimentando em média R\$ 2,5 bilhões de reais (IBGE, 2015).

Embutidos cárneos são fontes importantes de vitaminas, minerais e proteínas de alto valor biológico, porém alguns derivados como os salames possuem altos teores de gordura e sódio (20-30% e 2-4%, respectivamente) (Ojha et al., 2015). Salames são preparados a partir de carnes cruas, compondo-se de dois terços de carne magra e um terço de gordura, e são elaborados com variadas formulações, utilizando diferentes tecnologias, tipos de carnes, condimentos e aditivos (Ojha et al., 2015).

Diante de um cenário que apresenta relação direta entre doenças crônicas não transmissíveis (DCNT), como obesidade, diabetes, doenças cardiovasculares e alguns tipos de câncer, com o excesso de ingestão de sódio e gorduras nos alimentos, principalmente nos produtos prontos para o consumo, a Organização Mundial de Saúde (OMS) estabeleceu limites de ingestão em no máximo 2 gramas de sódio por dia, equivalente a 5 gramas de sal, e de até 30% de gordura no consumo calórico total. Contudo, o teor médio

de sódio consumido tem ultrapassado em até três vezes os valores diários recomendados (WHO, 2011). Nesse sentido, iniciativas para a redução do consumo de sódio e gordura vêm sendo apoiadas e estimuladas por organizações internacionais, como a OMS e a Organização Pan-Americana de Saúde (OPAS), procurando também agregar iniciativas regionais e globais, para que os impactos dessas políticas sejam integrados (BRASIL, 2013).

A revisão de formulações de variados produtos cárneos, por meio da redução e/ou substituição parcial ou total de ingredientes como a gordura e o sal tem chamado atenção da indústria processadora. Esses produtos podem ser alternativas para a minimização das DCNT, melhorando a qualidade de vida da população (Oliveira et al., 2013).

As tendências mundiais sobre a alimentação apresentam indicativos de maior interesse dos consumidores para certos alimentos, buscando maior valor nutritivo, benefícios às funções fisiológicas do organismo humano, tornando esse mercado cada vez mais crescente (Rouhi et al., 2013). Neste caso, a elaboração de um salame probiótico com reduções de sódio e gordura, passa a ser uma alternativa promissora para atender um mercado que cada vez mais exigente e atento para o consumo de produtos mais saudáveis.

1.1 EMBUTIDOS CÁRNEOS

Estudos apontam que os produtos cárneos são utilizados pelos seres humanos como fonte de alimentos há milhares de anos, tratando-se de importante fonte de proteína, gordura, aminoácidos essenciais, minerais,

vitaminas e outros nutrientes, ganhando destaque nas dietas do mundo todo, com seu apelo sensorial e saciedade proporcionada (Arief et al., 2014).

Embutidos cárneos fermentados eram produzidos tradicionalmente para a conservação da carne, prevenindo a escassez e o desperdício. Atualmente, têm-se uma produção em larga escala, sendo muito apreciados por possuírem um *flavor* único. A salga, secagem e fermentação destacam-se como as mais antigas formas de conservação dos alimentos e seguem sendo usadas na preservação do salame (Han et al., 2017).

Internacionalmente, os salames são classificados em dois grupos de acordo com o pH final do produto e a tecnologia de fabricação. Os salames do norte da Europa são elaborados com carne bovina e suína, submetidos à fermentação de curta duração e rápida redução de pH, deixando uma característica mais picante no sabor. Os salames do sul da Europa ou Mediterrâneo apresentam em sua formulação, predomínio de carne suína, com valores de pH sempre superiores a 5,0 e longo período de fermentação. (Talon et al., 2007).

O salame resulta das mudanças bioquímicas, microbiológicas, físicas e sensoriais que ocorrem em uma mistura de carne durante processamento sob condições de temperatura e umidade relativa (UR) definidas, enfrentando basicamente duas fases. Na primeira, há a fermentação conduzida por microbiota natural ou microrganismos adicionados intencionalmente, com o intuito de desenvolver aroma, cor, sabor e frequentemente capazes de reduzir nitrato a nitrito. Há também a adição de bactérias como *Lactobacillus*, *Pediococcus* e *Enterococcus*, responsáveis principalmente pelo procedimento de acidificação via glicólise e contribuindo para a preservação do produto. A

grande diversidade de bactérias lácticas em salames está ligada as práticas de fabricação (Fontana et al., 2012).

A segunda fase, conhecida como maturação, consiste em desidratação como decorrência da fermentação e ocorre em média durante vinte e três dias. Ao final deste período, o produto embutido apresentará características físico-químicas específicas, evidenciando a finalização do processo. Ambas as fases ocorrem em câmara de maturação sob condições de UR, temperatura e velocidade do ar controladas (Rubio et al., 2014).

1.1.1 Funções tecnológicas do sódio e da gordura em produtos cárneos

1.1.1.1 Cloreto de Sódio

O cloreto de sódio (NaCl) é a principal fonte de sódio na dieta, advindo principalmente de alimentos processados. Este componente exerce funções tecnológicas em produtos cárneos industrializados, sendo fundamental em características como textura, sabor, *flavor*, preservação do produto e segurança alimentar (Corral et al., 2013).

Nos produtos cárneos, o sódio possui função de percepção sensorial, promovendo a liberação de aromas, e sendo responsável pelo gosto salgado do produto, melhorando também sua textura. Já na função tecnológica, tem o objetivo de promover a solubilização das proteínas miofibrilares e contribuir para a preservação do produto (Inguglia et al., 2017).

Na indústria, é utilizado como condimento ou intensificador de sabor, atuando nas propriedades de textura de carnes processadas. O sódio também confere a solubilização das proteínas miofibrilares, aumentando a hidratação e

a capacidade da coesão o que irá melhorar a textura, aumentar a viscosidade das massas, facilitar a incorporação da gordura e funcionar como bacteriostático, além de ser essencial para o sabor (Aaslyng et al., 2014).

No método de extração das proteínas miofibrilares, os íons Cl^- (cloro) penetram nos miofilamentos e os íons Na^+ (sódio) formam uma nuvem ao redor dos filamentos, ocasionando uma mudança no ponto isoelétrico da carne o que favorecendo o intumescimento proteico. O sódio promove uma maior retenção de água, o emulsionamento de gorduras, melhora as características de coesão de massas cárneas, reduz perdas de água por cozimento e melhora as características de textura do produto (Santos et al., 2014).

Sendo assim, pode-se afirmar que o sódio é um componente básico de todas as misturas de cura, por sua potencialização do sabor, sua ação desidratante e por sua capacidade de modificar a pressão osmótica, fazendo com que haja a inibição do crescimento microbiano através da redução da atividade da água (A_w) (Inguglia et al., 2017).

1.1.1.2 Gordura

A gordura desempenha um papel relevante na fabricação de produtos cárneos, com importante contribuição nutricional, uma vez que é responsável pelo transporte de vitaminas lipossolúveis como as A, D, E e K. Também são fontes de ácidos graxos essenciais, energia, além de desempenhar propriedades organolépticas e tecnológicas como suculência, sensação de gosto, textura, sabor e liberação de umidade (Olivares et al., 2011).

Na elaboração de produtos cárneos, mais precisamente nos salames, a gordura mais utilizada é o toucinho, pertencente ao tecido adiposo da região dorso-abdominal dos suínos, entre o músculo *Longissimus dorsi* e a pele. O toucinho demanda cuidados especiais no momento de sua seleção, uma vez que pode influenciar a manutenção da qualidade dos embutidos fermentados, especialmente no que se refere ao sabor, gomosidade, textura e suculência, por seu alto teor de ácidos graxos saturados (Mora - Gallego et al., 2014).

1.1.1.3 Implicações à saúde relacionadas ao consumo excessivo de sódio e gordura

Segundo a Organização Mundial da Saúde, observa-se um aumento no desenvolvimento de doenças crônicas não transmissíveis (DCNT) em todo o mundo, e essas enfermidades são responsáveis por 63% do total das mortes notificadas no mundo e 72% das mortes no Brasil (WHO, 2016; BRASIL, 2013).

Dentre as principais doenças desenvolvidas pelo excesso do consumo de sódio e gorduras, pode-se citar as doenças cardiovasculares (Gomes et al., 2014), doenças renais (Gomes et al., 2014), obesidade (Malta et al., 2011), diabetes (Sarno et al., 2009) e o desenvolvimento de alguns tipos de câncer (Stollewerk et al., 2012).

Estratégias para redução e ou substituição dos teores de sódio e gordura em alimentos industrializados vem sendo testadas, fazendo o uso de novas tecnologias e ingredientes substitutos com o propósito de oferecer produtos saborosos aos consumidores e ao mesmo tempo com efeitos nocivos

reduzidos à saúde (Corral et al., 2014; Mora – Gallego et al, 2014; Bolumar et al., 2015).

Diversos são os estudos avaliando os efeitos da redução do sódio e substituição por outros sais como cloreto de potássio (KCl) (Gelabert et al., 2003; Bidlas & Lambert, 2008; Guàrdia et al., 2008; Corral et al., 2013; dos Santos et al., 2015), cloreto de cálcio (CaCl_2), cloreto de magnésio (MgCl_2), sulfato de magnésio (MgSO_4) e lactato de potássio ($\text{C}_3\text{H}_5\text{O}_3\text{K}$) (Zanardi e al., 2010). O sal mais comumente utilizado é o KCl, por desenvolver características tecnológicas muito semelhantes ao NaCl, possuindo a desvantagem de provocar sabor metálico e amargo ao produto, se utilizado em concentrações de substituições acima de 40% em substituição ao NaCl (Lilic et al., 2008; Guàrdia et al., 2008; Zanardi et al., 2010; Campagnol et al., 2011; Oliveira et al., 2013; Mora-Gallego et al., 2016; Inguglia et al., 2017).

Avaliações dos efeitos de redução ou ainda a substituição da gordura animal por óleos ou géis vegetais, tais como o óleo de soja (Muguerza, Ansorena e Artizarán, 2003), azeite de oliva (Bolumar et al., 2015), gel konjak (Ruiz-Capillas et al., 2012), óleo de linhaça (Alejandre et al., 2016), óleo de peixe (Josquin et al., 2012), óleo de milho (Menegas et al., 2013), óleo de girassol (Mora-Gallego et al., 2016) ou óleo de canola (Backes et al., 2013) também estão sendo realizadas.

1.1.1.4 Utilização de culturas probióticas

A fermentação é conhecida por milhares de anos como um método conveniente para agregar valor aos produtos, aprimorar o sabor e prolongar a

vida de prateleira dos alimentos, agregando também qualidade nutritiva e atributos organolépticos (Rubio et al., 2014).

O consumo de alimentos fermentados vem crescendo, acompanhado do interesse por produtos probióticos, com vistas à melhoria das propriedades sensoriais dos alimentos e aumentando assim, os benefícios para a saúde. As propriedades probióticas dos alimentos fermentados são concedidas principalmente às bactérias ácido lácticas (BAL) (Sidira et al., 2015).

Os probióticos são microrganismos vivos que, quando administrados em quantidades entre 10^8 a 10^9 UFC, conferem benefícios para a saúde do hospedeiro (FAO & WHO, 2006), sendo reconhecidos como organismos seguros (GRAS). Os probióticos devem ser não toxigênicos e não patogênicos; resistindo a ambientes externos e internos, incluindo o ácido gástrico e sais biliares. Esses microrganismos regulam a microbiota intestinal e por isso, a capacidade de adesão às células epiteliais do intestino deve ser um critério primário na seleção de probióticos (Saad et al., 2013). As características potenciais fermentativas são também importantes para seleção das bactérias probióticas, por proporcionarem propriedades físico-químicas e sensoriais nos produtos finais elaborados (Mohammadi et al., 2012).

A atividade antioxidante é outra função importante desempenhada por estes microrganismos (Kuda et al., 2014). Foi também demonstrado que os probióticos auxiliam no tratamento de muitas doenças crônicas como a Síndrome do intestino irritável, Síndrome do intestino inflamável, dermatites atópicas e doenças imunológicas associadas (Ducrotté et al., 2012; Kim et al., 2012; Han et al., 2012; Mohammadi et al., 2012; Ji et al., 2015; Xing et al., 2015).

As BAL (bactérias mais utilizadas com intuito probiótico) fazem parte da microbiota do trato gastrintestinal, respiratório superior e urogenital inferior de diferentes espécies animais, sendo facilmente encontradas em habitats nutritivos, como grãos, vegetais, leite, carne e seus derivados (Resende et al., 2011). O grupo é formado por treze gêneros bacterianos: *Carnobacterium*, *Enterococcus*, *Lactococcus*, *Lactobacillus*, *Lactosphaera*, *Leuconostoc*, *Oenococcus*, *Pediococcus*, *Paralactobacillus*, *Streptococcus*, *Tetragenococcus*, *Vagococcus* e *Weissella* (Papamanoli et al., 2003). Esses gêneros recebem essa denominação devido ao principal produto de seu processo fermentativo, o ácido láctico.

Os derivados lácteos, especialmente o leite fermentado e o queijo, são as principais fontes de bactérias lácticas (Ji et al., 2015). Já os derivados cárneos fermentados, especialmente salames, podem ser também uma excelente fonte (Macedo et al., 2008; Cirolini et al., 2010; Rubio et al., 2014; Sidira et al., 2014; Aymerich e Garrig, 2015; Jofré et al., 2015). Alguns estudos isolaram e identificaram as BAL em derivados cárneos (Dalla Santa et al., 2014; Ferrando et al., 2015; Semedo-Lemsaddek et al., 2016), revelando sua utilização como culturas iniciadoras potencialmente probióticas.

Culturas iniciadoras ou *starters* com potenciais denominações probióticas podem ser úteis na fabricação de embutidos cárneos fermentados. Ainda que a ideia de sua incorporação não seja nova (Rivera-Espinoza & Gallardo- Navarro, 2010), poucos fabricantes levam em consideração o uso desses produtos como veiculadores probióticos (Macedo et al., 2017).

De acordo com a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (2008), para receber a alegação de probiótico, o microrganismo deve apresentar uma

concentração de 10^8 a 10^9 UFC (unidades formadoras de colônias) em uma porção de consumo diário. Tal concentração deve permanecer inalterada até o prazo final de validade do alimento, lembrando que as ações do suco gástrico e dos sais biliares tendem a reduzir essa concentração a valores em torno de 10^6 a 10^7 UFC, quantidade necessária para gerar efeitos benéficos à saúde do hospedeiro (ANVISA, 2008).

A utilização de embutidos fermentados como veiculadores de probióticos adequa-se perfeitamente nas novas tendências de consumo da população, por se tratar de um produto pronto ao consumo, não necessitar de refrigeração, ter caráter nutritivo e ser de uso viável (Jofré et al., 2015).

Diante do exposto, este trabalho teve como objetivo elaborar embutido cárneo fermentado probiótico com reduções de sódio e gordura animal, avaliando seus efeitos nas características físico-químicas, microbiológicas e sensoriais.

REFERÊNCIAS

Aaslyng MD, Vestergaard C, Koch AG. The effect of salt reduction on sensory quality and microbial growth in hotdog sausages, bacon, ham and salami. *Meat Science*. 2014; 96 (1):47–55.

Alejandre M, Poyato C, Ansorena D, Artiasarán I. Linseed oil gelled emulsion: A successful fat replacer in dry fermented sausages. *Meat Science*. 2016; 121:107-113.

ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Alimentos com alegações de propriedades funcionais e ou de saúde, novos alimentos/ ingredientes, substâncias bioativas e probióticos. VIII - Lista das alegações aprovadas. Brasília, 2008.

Arief II, Wulandari Z, Aditia EL, Baihaqi M, Hendrawan N. Physicochemical and microbiological properties of fermented lamb sausages using probiotic *Lactobacillus plantarum* IIA-2C12 as starter culture. *Procedia Environmental Sciences*. 2014; 20: 352-356.

Aymerich T, Garrig M. Probiotic Fermented Sausages: Myth or Reality? *Procedia Food Science*. 2015; 5: 133-136.

Backes AM, Terra NN, Milani LIG, Rezer APS, Lüdtke FL, Cavalheiro CP, Fries LLM. Características físico-químicas e aceitação sensorial de salame tipo Italiano com adição de óleo de canola. *Semina: Ciências Agrárias*. 2013; 34(6): 3709-3720.

Bidlas E, Lambert RJW. Comparing the antimicrobial effectiveness of NaCl and KCl with a view to salt/sodium replacement. *International Journal of Food Microbiology*. 2008; 124: 98-102.

Bolumar T, Toepfl S, Heinz V. Fat reduction and replacement in dry-cured fermented sausage by using high pressure processing meat as fat replacer and olive oil. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences*. 2015; 65(3):175-182.

BRASIL. Diário Oficial da União. ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária. ANVISA vai monitorar alimentos que devem reduzir presença de sal 2013. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/wps/content/anvisa+portal>. Acesso em 20 de fevereiro de 2017.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e do Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Instrução Normativa no. 22 de 31 de julho de 2000. Regulamentos Técnicos de Identidade de Qualidade de Salames. Diário Oficial da União, Brasília, 03 de agosto de 2000:15-28.

Campagnol PCB, Santos B A, Wagner R, Terra NN, Pollonio MAR. The effect of yeast extract addition on quality of fermented sausages at low NaCl content. *Meat Science*. 2011; 87: 290–298.

Chaves KS, Gigante ML. Prato cheese as suitable carrier for *Lactobacillus acidophilus* La-5 and Bifido bacterium Bb-12. *International Dairy Journal*. 2016; 54:10-18.

Chen X, Li J, Zhou T, Yang J, Chen W, Xiong YL. Two efficient nitrite-reducing *Lactobacillus* strains isolated from tradicional fermented pork (Nanx Wudl) as competitive starts cultures for Chinese fermented dry sausage. *Meat Science*. 2016; 121:302-309.

Cirolini A, Fries LLM, Terra NN, Milani LIG, Urnau D, Santos BA, Cervo GD, Rezer APS. Salame tipo italiano elaborado com culturas *starters* nativas. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*. 2010; 30(1): 171-179.

Corbo MR, Bevilacqua A, Gallo M, Speranza B, Sinigaglia M. Immobilization and microencapsulation of *Lactobacillus plantarum*: Performances and in vivo applications. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*. 2013; 18: 196-201.

Corral S, Salvador A, Belloch C, Flores M. Effect of fat and salt reduction on the sensory quality of slow fermented sausages inoculated with *Debaryomyces hansenii* yeast. *Food Control*. 2014; 45:1-7.

Corral S, Salvador A, Flores M. Salt reduction in slow fermented sausage affects the generation of aroma active compounds. *Meat Science*. 2013; 93(3): 776-785.

Dalla Santa OR, Macedo REF, Dalla Santa HS, Zanette CM, Freitas RJS, Terra NN. Use of starter cultures isolated from native microbiota of artisanal sausage in the production of Italian sausage. *Food Science and Technology*. 2014; 34(4): 780-786.

Dos Santos BA, Campagnol PCB, Fagundes MB, Wagner R, Pollonio MAR. Generation of volatile compound in Brazilian low sodium dry fermented sausages containing blends of NaCl, KCl and CaCl₂ during processing and storage. *Food Research International*. 2015; 74: 306-314.

Ducrotté P, Sawant P, Jayanthi V. Clinical trial: *Lactobacillus plantarum* 299v (DSM 9843) improves symptoms of irritable bowel syndrome. *World Journal Gastroenterology*. 2012; 18(30): 4012-4018.

FAO/WHO World Health Organization and Food and Agriculture Organization of the United Nations. Probiotics in food: Health and nutritional properties and guidelines for evaluation FAO food nutrition. 2006; 85.

Felisberto MHF, Galvão MTEL, Picone CSF, Cunha RL, Pollonio MAR. Effect of prebiotic ingredients on the rheological properties and microstructure of reduced-sodium and low-fat meat emulsions. *LWT - Food Science and Technology*. 2015; 60: 148-155.

Ferrando V, Quiberoni A, Reinheimer J, Suárez V. Resistance of functional *Lactobacillus plantarum* strains against food stress conditions. *Food Microbiology*. 2015; 48: 63–71.

Fontana C, Fadda S, Cocconcelli PS, Vignolo G, Lahtinen S, Ouwehand AC, Salminen S, Wright AV. (Eds.), *Lactic Acid Bacteria—Microbiological and Functional Aspects* (4th edition), CRC Press. Taylor & Francis Group. 2012: 247–264.

Gelabert J, Gou O, Guerrero L, Arnau J. Effect of sodium chloride replacement on some characteristics of fermented sausages. *Meat Science*. 2003; 65(2): 833-839.

Gomes EB, Moreira TMM, Pereira HCV, Gome FB, Sales IB. Pressão arterial e sua relação com perfil lipídico e hábitos alimentares em adultos jovens. *Journal of Nursing*. 2014; 8(3):581-590.

Granato D, Branco GF, Nazzaro F, Cruz AG, Faria JAF. Functional foods and nondairy probiotic food development: trends, concepts, and products. *Food Science and Safety*. 2010; 9: 292-302.

Guàrdia M, Guerrero L, Gelabert J, Gou P, Arnau J. Sensory characterisation and consumer acceptability of small calibre fermented sausages with 50% substitution of NaCl by mixtures of KCl and potassium lactate. *Meat Science*. 2008; 80: 1225–1230.

Han Q, Kong B, Chen F, Zhang H. In vitro comparison of probiotic properties of lactic acid bacteria isolated from Harbin dry sausages and selected probiotics. *Journal of Functional Foods*. 2017; 32: 391-400.

Han Y, Kim B, Ban J, Lee J, Kim BJ, Choi BS, Hwang S, Ahn K, Kim J. A randomized trial of *Lactobacillus plantarum* CJLP133 for the treatment of atopic dermatitis. *Pediatric Allergy Immunol*. 2012; 23(7): 667-673.

IBGE – INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. Disponível em: http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/economia/industria/pia/produtos/producao2014/defaulttab_xls.shtm. Acesso em 14/02/2017.

Inguglia ES, Zhang Z, Tiwari BK, Kerry JP, Burgess CM. Salt reduction strategies in processed meat products - A review. *Trends in Food Science & Technology*. 2017;59: 70-78.

Ji K, Jang NY, Kim YT. Isolation of lactic acid bacteria showing antioxidative and probiotic activities from kimchi and infant feces. *Journal of Microbiology & Biotechnology*. 2015; 25: 1568–1577.

Jofré A, Aymerich T, Garriga M. Probiotic Fermented Sausages: Myth or Reality? *Procedia Food Science*. 2015; 5: 133-136.

Josquin NM, Linssen JPH, Houben JH. Quality characteristics of Dutch-style fermented sausages manufactured with partial replacement of pork back-fat with pure, pre-emulsified or encapsulated fish oil. *Meat Science*. 2012; 90(1): 81-86.

Kim H, Jung BJ, Jung JH, Kim JY, Chung SK, Chung DK. *Lactobacillus plantarum* lipoteichoic acid alleviates TNF- α -induced inflammation in the HT-29 intestinal epithelial cell line. *Mol Cells*. 2015; 33(5): 479-486.

Kuda T, Kawahara M, Nemoto M, Takahashi H, Kimura B. In vitro antioxidant and anti-inflammation properties of lactic acid bacteria isolated from fish intestines and fermented fish from the Sanriku Satoumi region in Japan. *Food Research International*. 2014; 64: 248-255.

Lilic S, Matekalo-Sverak V, Borovic B. Possibility of replacement of sodium chloride by potassium chloride in cooked sausages: Sensory characteristics and health aspects. *Biotechnology in Animal Husbandry*. 2008; 24(1-2): 133-138.

Liu L, Chen P, Zhao W, Li X, Wang H, Qu X. Effect of microencapsulation with the Maillard reaction products of whey proteins and isomaltoligosaccharide on the survival rate of *Lactobacillus rhamnosus* in white brined cheese. *Food Control*. 2017; 79: 44-49.

Macedo REF, Pflanzler Jr SB, Terra NN, Freitas RJSD. Desenvolvimento de embutido fermentado por *Lactobacillus* probióticos: características de qualidade. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*. 2008; 28(3): 509-519.

Macedo REF, Luciano FB, Cordeiro, RP, Udenigwe, CC. Sausages and other fermented meat products. In: *Starter Cultures in Food Production*. Speranza B, (Editor), Bevilacqua A (Editor), Corbo MR (Editor), Sinigaglia M (Editor). Chichester: Wiley-Blackwell. p. 324-354.

Malta DC, Moraes Neto OL, Silva Junior JB. Apresentação do plano de ações estratégicas para o enfrentamento das doenças crônicas não transmissíveis no Brasil. *Epidemiologia e Serviços de Saúde*. 2011; 20(4): 425-438.

Menegas LZ, Pimentel TC, Garcia S, Prudencia SH. Dry fermented chicken sausage produced with inulin and corn oil: Physicochemical, microbiological, and textural characteristics and acceptability during storage. *Meat Science*. 2013; 93(3): 401-506.

Mohammadi R, Sohrabvandi S, Montazavian AM. The starter culture characteristics of probiotic microorganisms in fermented milks. *Engineering in Life Sciences*. 2012; 12: 399-409.

Mora-Gallego H, Serra X, Guàrdia MD, Arnau J. Effect of reducing and replacing pork fat on the physicochemical, instrumental and sensory

characteristics throughout storage time of small caliber non-acid fermented sausages with reduced sodium content. *Meat Science*. 2014; 97(1): 62–68.

Mora-Gallego H, Guàrdia MD, Serra X, Gou P, Arnau J. Sensory characterization and consumer acceptability of potassium chloride and sunflower oil addition in small-caliber non-acid fermented sausages with a reduced content of sodium chloride and fat. *Meat Science*. 2016;112:9-15.

Muguerza E, Ansorena D, Astiasarán I. Improvement of nutritional properties of Chorizo de Pamplona by replacement of pork backfat with soy oil. *Meat Science*. 2003; 65(4): 1361-1367.

Neish AS. Probiotics of the Acidophilus Group: *Lactobacillus acidophilus*, *delbrueckii* subsp. *Bulgaricus* and *johnsonii*. *The Microbiota in Gastrointestinal Pathophysiology Implications for Human Health, Prebiotics, Probiotics, and Dysbiosis*. 2017: 71–78.

Ojha KS, Kerry JP, Duffy G, Beresford T, Tiwari BK. Technological advances for enhancing quality and safety of fermented meat products. *Trends in Food Science & Technology*. 2015; 44(1): 105–116.

Olivares A, Navarro JL, Flores M. Effect of fat content on aroma generation during processing of dry fermented sausages. *Effect of fat content on aroma generation during processing of dry fermented sausages*. *Meat Science*. 2011; 87(3): 264-273.

Oliveira DF, Coelho AR, Burgardt VCF, Hashimoto EH, Lunkes AM, Marchi JF, Tonial IB. Alternativas para um produto cárneo mais saudável: uma revisão. *Brazilian Journal of Food Technology*. 2013; 16(3):163-174.

Papamanoli E, Tzanetakis N, Litopoulou-Tzanetaki E, Kotzekidou P. Characterization of lactic acid bacteria isolated from a Greek dry-fermented sausage in respect of their technological and probiotic properties. *Meat Science*. 2003; 65(2): 859-867.

Resende MFS, Costa HHS, Andrade EHP. Queijo de minas artesanal da Serra da Canastra: influência da altitude das queijarias nas populações de bactérias ácido lácticas. *Arquivo Brasileiro Medicina Veterinária e Zootecnia*. 2011; 63(6): 1567-1573.

Rivera- Espinoza Y, Gallardo- Navarro Y. Non-dairy probiotic products. *Food Microbiology*. 2010; 27(1):1-11.

Rouhi M, Sohrabvandi S, Mortazavian AM. Probiotic Fermented Sausage: Viability of Probiotic Microorganisms and Sensory Characteristics. *Food Science and Nutrition*. 2013; 53(4): 331-348.

Rubio R, Jofré A, Aymerich T, Guàrdia MD, Garriga M. Nutritionally enhanced fermented sausages as a vehicle for potential probiotic *lactobacilli* delivery. *Meat Science*. 2014; 96(2): 937-942.

Ruiz - Capillas C, Triki M, Herrero AM, Rodriguez- Salas I, Jiménez-Colmenero F, Konjac gel as pork backfat replacer in dry fermented sausages. Processing and quality characteristics. *Meat Science*. 2012; 92(2): 144-150.

Rutella GS, Tagliazucchi D, Solieri L. Survival and bioactivities of selected probiotic lactobacilli in yogurt fermentation and cold storage: New insights for developing a bifunctional dairy food. *Food Microbiology*. 2016; 60: 54-61.

Saad N, Delattre C, Urdaci M, Schmitter JM, Bressollier P. An overview of the last advances in probiotics and perbiotic field. *LWT- Food Science and Technology*. 2013;50: 1-16.

Santos BA, Campagnol PCB, Morgano MA, Pollonio MAR. Monosodium glutamate, disodium inosinate, disodium guanylate, lysine and taurine improve the sensory quality of fermented cooked sausages with 50% and 75% replacement of NaCl with KCl. *Meat Science*. 2014;96(1): 509-513.

Sarno F, Jaime PC, Ferreira SRG, Monteiro CA. Sodium intake and metabolic syndrome: a systematic review. *Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia*. 2009;53(5):608-616.

Semedo-Lemsaddek T, Carvalho L, Tempera C, Fernandes MH, Fernandes MJ, Elias M, Fraqueza MJ. Characterization and technological features of autochthonous coagulase-negative staphylococci as potential starters for Portuguese dry fermented sausages. *Journal of Food Science*. 2016;81: M1197–M1202.

Sidira M, Galanis A, Nikolaou A, Kanellaki M, Kourkoutas Y. Evaluation of *Lactobacillus casei* ATCC 393 protective effect against spoilage of probiotic dry-fermented sausages. *Food Control*. 2014; 42: 315-320.

Sidira M, Kandylis P, Kanellaki M, Kourkoutas Y. Effect of curing salts and probiotic cultures on the evolution of flavor compounds in dry-fermented sausages during ripening. *Food Chemistry*. 2016; 201: 334–338.

Sidira M, Kandylis P, Kanellaki M, Kourkoutas Y. Effect of immobilized *Lactobacillus casei* on volatile compounds of heat treated probiotic dry-fermented sausages. *Food Chemistry*. 2015;178: 201–207.

Sidira M, Karapetsas A, Galanis A, Kanellaki M, Kourkoutas Y. Effective survival of immobilized *Lactobacillus casei* during ripening and heat treatment of probiotic dry-fermented sausages and investigation of the microbial dynamics. *Meat Science*. 2014; 96: 948–955.

Silva AS, Honjoya ER, Inay OM, Costa MR, Souza CHB, Santana EHW, Suguimoto HH, Aragon-Alegro LC. Viabilidade de *Lactobacillus casei* em flan de chocolate e sua sobrevivência em condições gastrintestinais simuladas. *Semina: Ciências Agrárias*. 2012; 33(2): 3163-3170.

Stollewerk K, Jofré A, Comaposada J, Arnau J, Garriga M. The impact of fast drying (QDS process®) and high pressure on food safety of NaCl-free

processed dry fermented sausages. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*. 2012;16: 89-95.

Sybesma W, Kort R, Lee YK. Locally sourced probiotics, the next opportunity for developing countries? *Trends in Biotechnology*. 2015;33(4): 197-200.

Talon R, Lebert I, Lebert A, Leroy S, Garriga M, Aymerich T, Drosinos EH, Zanardi E, Ianieri A, Fraqueza MJ, Patarata L, Lauková. Traditional dry fermented sausages produced in small-scale processing units in Mediterranean countries and Slovakia: Microbial ecosystems of processing environments. *Meat Science*. 2007;77(4): 570-579.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). Review and updating of current WHO recommendations on salt/sodium and potassium consumption Geneva: WHO. 2011.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). Salt reduction. Fact sheet. Reviewed June 2016. Disponível em: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs393/en/>. Acesso em 25 de junho de 2017.

Xing JL, Wang G, Zhang QX, Liu XM, Gu ZN, Zhang H, Chen W. Determining antioxidant activities of lactobacilli cell-free supernatants by cellular antioxidant assay: A comparison with traditional methods. *PLoS ONE*. 2015: 10:1-16.

Yadav GAS. Antioxidant and antimicrobial profile of chicken sausages prepared after fermentation of minced chicken meat with *Lactobacillus plantarum* and with additional dextrose and starch. *Food Science and Technology*. 2017;77: 249-258.

Zanardi E, Ghidini S, Conter M, Zanardi AI. Mineral composition of Italian salami and effect of NaCl partial replacement on compositional, physico-chemical and sensory parameters. *Meat Science*. 2010;86: 742-747.

CAPITULO 2

(Artigo científico a ser submetido para a publicação no periódico Ciência e Agrotecnologia)

EVALUATION OF PHYSICO-CHEMICAL CHARACTERISTICS DURING THE MANUFACTURE OF LOW FAT AND SODIUM PROBIOTIC DRY FERMENTED SAUSAGE WITH THE ADDITION OF KCL AND COCONUT OIL

AVALIAÇÃO DAS CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS DURANTE A FABRICAÇÃO DE SALAME PROBIÓTICO REDUZIDO EM GORDURA E SÓDIO E ADICIONADO DE KCL E ÓLEO DE COCO

ABSTRACT

Reducing sodium and fat content in dry-fermented sausages could benefit consumer's health. This study aimed to evaluate the effects of NaCl and pork fat reduction and/or replacement on the physical chemical parameters of probiotic fermented sausage. Five batches were manufactured: control (TC), 25% pork fat reduction (T1), 25% pork fat replacement by coconut oil (T2), 25% NaCl reduction (T3), 25% NaCl replacement by KCl (T4). Sausages were inoculated with a commercial starter culture (*Staphylococcus xylosum* and *Pediococcus pentosaceus*) and a probiotic strain of *Lactobacillus plantarum*. Sausages were ripened under controlled temperature and relative humidity conditions for 28 days. At 7 day-intervals, samples were withdrawn for pH, A_w and instrumental color analyses. Results were analyzed by ANOVA and means compared by Tukey's test ($P < 0.05$). Instrumental color data was also subjected to a Principal Component Analysis (PCA). Sodium reduction or replacement by KCl (25%) as well as the simple pork fat reduction (25%) did not negatively affect most of the physical

chemical parameters of fermented sausages. The addition of coconut oil occasioned color defects on products, suggesting that its use as pork fat substitution is not recommended for probiotic fermented sausages.

INDEX TERMS: KCl; coconut oil; pork fat; color; meat product

RESUMO

Reduzir o teor de sódio e gordura em salames pode tornar-se benéfico à saúde do consumidor. O objetivo deste trabalho foi avaliar os efeitos da redução e/ou da substituição de NaCl e de toucinho sobre parâmetros físico-químicos (pH, Aw e cor instrumental) de salames probióticos. Cinco lotes foram elaborados: controle (TC), 25% de redução de toucinho (T1), 25% de substituição de toucinho por óleo de côco (T2), 25% de redução de NaCl (T3) e 25% de substituição de NaCl por KCl (T4). Os salames foram inoculados com cultura *starter* comercial e cultura probiótica de *Lactobacillus plantarum*. Os resultados foram analisados por ANOVA. As mensurações de cor também foram submetidas a uma análise de componentes principais (PCA). A redução ou substituição do sódio por KCl (25%), bem como a redução simples do toucinho (25%), não afetaram negativamente a maioria dos parâmetros físico-químicos dos salames. A adição de óleo de côco ocasionou defeitos de cor nos produtos, sugerindo que seu uso como substituição do toucinho não seja recomendado para salames probióticos.

TERMOS PARA INDEXAÇÃO: KCl; óleo de côco; gordura suína, cor; embutido

INTRODUCTION

Meat and meat products are important sources of protein, essential amino acids, vitamins and minerals. However, an excessive intake of meat products is not recommended because they usually have high fat and sodium content (Muguerza et al., 2004). Fermented sausages are meat products with high animal fat and sodium chloride (NaCl) contents, with fat values varying from 30–50% and NaCl levels from 3.4–5.2% in salami (Mora-Gallego et al., 2014).

According to the recommendations of the World Health Organization (WHO) (2003), the daily fat intake should be less than 30% of the total calories, and the intake of saturated fatty acids and cholesterol should be reduced. Likewise, the mean daily sodium intakes are in excess of dietary needs (about 1.5 g sodium/day in adults) (European Food Safety Authority, 2005).

The reduction of sodium and fat intake is a public health concern since their excessive consumption is associated with chronic diseases, such as cardiovascular diseases, diabetes mellitus and cancer. Therefore, there is an increasing interest on healthier diets among consumers and the meat industry has been searching for strategies addressed to improve the nutritional value of meat products by reducing the content of the unhealthy ingredients (Nilson et al., 2012). Nevertheless, it is difficult to reduce fat and NaCl levels in fermented sausages because they are essential ingredients that affect physical chemical parameters of products, influencing their technological properties.

Strategies to improve healthiness of meat products can include the reduction and/or substitution of ingredients such as NaCl and animal fat or the addition of functional compounds (probiotics, conjugated linoleic acid, vitamins, ω 3-fatty acids and essential minerals) (Zhang et al., 2010).

The most common NaCl substitute used in meat products is potassium chloride (KCl) (Santos et al., 2014). Several studies report the effect of the addition of KCl as a NaCl substitute on the physical chemical and sensory properties of fermented meat products. Lilic et al. (2008) report the NaCl substitution by KCl in dry-fermentation sausage from 20 to 40%, without significant changes in taste and acceptance of the product. However, the NaCl substitution by KCl at levels above 50% can generate bitter and metallic off-flavour in fermented sausages (Zanardi et al., 2010).

Several animal fat substituents such as vegetable oils, vegetable fibers and proteins have been proposed for meat products (Zhang et al., 2010). Regarding vegetable oils, coconut oil could be an interesting type of oil to be used in healthy foods, having a neutral flavor, can be added in the preparation of various foods and in the case of medium chain fatty acids, it can reach high temperatures without oxidize and without altering its nutritional properties, easily absorbed in the intestine, without the need for action of pancreatic lipase enzymes (Marina et al., 2009). Therefore, they do not participate in the cholesterol cycle and are not stored as fat in the human body. Coconut oil consumption is associated with increased blood levels of HDL cholesterol (Liau et al., 2011; Eyres et al., 2016). Additionally to the reduction of NaCl and animal fat, the use of probiotics in fermented sausages can improve the safety, the stability and the functional value of these meat products. Few studies have addressed the reduction in salt or fat in probiotic-fermented sausage and the use of coconut oil as an animal fat replacer in meat products. Therefore, the aim of this study was to evaluate the effect of the salt and fat reduction and replacement on the physical chemical characteristics of probiotic dry-fermented sausage.

MATERIAL AND METHODS

Five batches of dry fermented sausages were manufactured: control (TC), 25% pork fat reduction (T1), 25% pork fat replacement by coconut oil (T2), 25% NaCl reduction (T3), 25% NaCl replacement by KCl (T4). Control sausages (TC) were formulated as follows table 1:

Table 1. Levels of sodium chloride, potassium chloride, pork fat and coconut oil used in dry-fermented sausage formulations.

Ingredients	Treatment (%)				
	C 100% NaCl 100% F*	T1 100% NaCl 75% F	T2 100% NaCl, 75% F 25% CO	T3 75% NaCl, 100% F	T4 75% NaCl, 25% KCl; 100% F
Pork meat	60	60	60	60	60
Beef	20	20	20	20	20
Pork fat	20	15	15	20	20
Coconut oil	-	-	5	-	-
Sodium chloride (NaCl)	3	3	3	2.25	2.25
Potassium chloride (KCl)	-	-	-	-	0.75
Glucose	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
Sucrose	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
Garlic poder	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3
White pepper	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2
Ground nutmeg	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02
Sodium nitrate	0.005	0.005	0.005	0.005	0.005
Sodium nitrite	0.015	0.015	0.015	0.015	0.015
Sodium ascorbate	1	1	1	1	1

* F = pork backfat; CO = coconut oil.

All sausages were inoculated with a commercial starter culture of *Staphylococcus xylosus* and *Pediococcus pentosaceus* (0.1%; Bactoferm T-SPX CHR Hansen, Denmark) and a probiotic culture of *Lactobacillus plantarum* (1.0%; *L. plantarum* 343) isolated from artisanal fermented sausages and tested for probiotic properties in previous studies (Dalla Santa et al., 2014).

Pork shoulder and lean beef were ground in a conventional meat grinder (JAMAR®, Curitiba, Brazil); pork back fat was cut into cubes (~0.5 cm³). All spices, curing salt and sugars were manually mixed to the meat. The commercial starter and probiotic cultures were added to the batter at the end of mixture (inoculated at ca. 6 and ca. 8 log CFU/g, respectively). Prior to the inoculation, commercial starter culture was reactivated in non-chlorinated water at 37 °C for 30 min. Probiotic strain was grown by 48 hours in MRS broth (Merck, Darmstadt, Germany) at 37 °C, harvested by centrifugation at 5000 rpm for 10 min at 6 °C, washed twice in saline solution (0.9% NaCl). Meat batter was stuffed into 50 mm diameter collagen casings (Global Casing Ltda., Santa Catarina, Brazil). The raw sausages weighed ~100g. All sausages were superficially inoculated with a commercial suspension of *Penicillium nalgiovensis* (Bactoferm MOLD-600 CHR Hansen, Denmark) immediately after stuffing.

All sausages were ripened for 28 days in a chamber with controlled temperature and relative humidity conditions. Samples were withdrawn at 0, 7, 14, 21 and 28 days of storage to the physical chemical analyses:

- A_w: determined using a A_w meter (AQUALAB CX-2, Decagon, U.S.A)
- pH: determined using a portable digital pHmeter (HI 99163, Hanna Instruments, Portugal) with an electrode inserted directly at three random sites in the sausage
- instrumental color: determined on the surface of the samples using a colorimeter CR-410 (Konica Minolta Inc., Japan) and the color coordinates L* (lightness), a* (redness), b* (yellowness), C* (chroma) and h (hue), illuminant D65, an aperture of 50 mm, and 2° observer.

The experiment was carried in two replicates and all analyses in triplicate (n=6). Results were analyzed by ANOVA and the means were compared by Tukey's test

($P < 0.05$), using the STATGRAPHICS Centurion Program (16.1.11, Statpoint Technologies, Warrenton, USA). Instrumental color results were also subjected to a multivariate Principal Component Analysis (PCA), and data was computed using the SAS Program (SAS 9.1; software SAS Institute Inc., Cary, NC).

RESULTS AND DISCUSSION

Table 2 shows the time-course of pH and A_w values during ripening, which gradually decreased in all treatments over time (Table 2). The decrease of pH and A_w is attributed to the production of lactic acid by the lactic acid bacteria of starter and probiotic cultures, as a result of carbohydrates fermentation (Olivares et al., 2010), which reaches the isoelectric point of myofibrillar proteins, decreasing the water holding capacity and promoting sausage drying (Terra, 1998).

Among treatments, T2 (25% pork fat replacement by coconut oil) showed lower pH value than T4 (25% NaCl replacement by KCl). T4 (25% NaCl replacement by KCl) showed the lowest A_w at the 28th day. Conversely, T2 (25% pork fat replacement by coconut oil) exhibited the highest A_w value.

Regarding salt content, some studies report higher A_w in NaCl-reduced sausages (Olesen et al., 2004; Roseiro et al., 2008). On the other hand, Corral et al. (2014) found no difference on final A_w of dry-fermented sausages with different NaCl levels (16% reduced and 16% KCl replaced). In the present study, the reduction of 25% NaCl did not affect the A_w of fermented sausage compared to control. However, the replacement of NaCl by KCl decreased A_w values. Similar results were found by Mora-Gallego et al. (2016), in fermented sausages added with KCl. The partial replacement of sodium chloride (NaCl) by potassium chloride (KCl) might influence A_w because potassium

ion has higher polarity compared to sodium, which could enable it to bind to a greater number of water molecules, leading to a lower A_w .

The simple reduction of fat did not affect A_w in fermented sausages. Similarly, García et al. (2002) did not find significant differences in A_w in low fat dry-fermented sausages. However, the addition of coconut oil increase A_w in fermented sausage. This result may be related to the fact that coconut oil can cover the meat particles, causing a slower release of water during the drying process (Mora-Gallego et al., 2016). Despite, the higher A_w in T2, at 28th day, A_w values of all treatments were below 0.92, which is considered safe regarding pathogens growth capacity, especially *Listeria monocytogenes* (Ingham et al., 2004).

Table 2: Time-course evolution of pH and A_w in probiotic dry-fermented sausages with different sodium and pork fat content

Treat ment	Day 0	Day 7	Day 14	Day 21	Day 28
pH					
TC	5,92±0.05 ^{aA}	5,08±0.06 ^{aD}	5,38±0.03 ^{aC}	5,44±0.06 ^{abBC}	5,58±0.08 ^{abB}
T1	5,95±0.01 ^{aA}	5,02±0.14 ^{abC}	5,44±0.18 ^{aB}	5,58±0.09 ^{aB}	5,67±0.17 ^{abAB}
T2	5,90±0.05 ^{aA}	4,94±0.01 ^{abE}	5,07±0.05 ^{aD}	5,29±0.04 ^{bC}	5,46±0.01 ^{bB}
T3	5,79±0.21 ^{aA}	4,87±0.02 ^{bC}	5,21±0.18 ^{abC}	5,48±0.11 ^{abAB}	5,66±0.08 ^{abA}
T4	5,99±0.01 ^{aA}	4,88±0.04 ^{bC}	5,43±0.24 ^{aB}	5,64±0.09 ^{aB}	5,77±0.11 ^{aAB}
A_w					
TC	0,966±0.000 ^{aA}	0,965±0.001 ^{aA}	0,900±0.001 ^{abB}	0,871±0.002 ^{abC}	0,813±0.002 ^{bcD}
T1	0,967±0.001 ^{aA}	0,965±0.000 ^{aA}	0,902±0.003 ^{bB}	0,846±0.000 ^{cC}	0,811±0.001 ^{bcD}
T2	0,966±0.001 ^{aA}	0,959±0.002 ^{aA}	0,910±0.000 ^{abB}	0,857±0.001 ^{abcC}	0,854±0.000 ^{aC}
T3	0,970±0.000 ^{aA}	0,967±0.001 ^{aA}	0,920±0.001 ^{aB}	0,877±0.000 ^{aC}	0,849±0.001 ^{abD}
T4	0,970±0.001 ^{aA}	0,959±0.002 ^{aA}	0,913±0.001 ^{abB}	0,840±0.002 ^{bcC}	0,809±0.001 ^{cD}

TC: Control; T1: 25% pork fat reduction; T2: 25% pork fat replacement by coconut oil; T3: 25% NaCl reduction, T4: 25% NaCl replacement by KCl. Means± Standard deviation. Different lowercase letters in the same column indicate statistical difference between treatments. Different capital letters on the same line indicate significant differences among storage time in the same treatment ($P<0.05$).

Regarding instrumental color, T2 sausages showed the lowest a^* and C^* values and the highest b^* and hue values (Table 3), exhibiting lesser redness and greater yellowness and discoloration than sausages from the other treatments.

Table 3: Instrumental color values in probiotic dry-fermented sausages with different sodium and pork fat contents at the end of processing period (28 days).

Parameter	TC	T1	T2	T3	T4
L^*	42.28 ± 1.04^a	40.72 ± 0.81^{ab}	40.36 ± 1.49^{ab}	39.47 ± 1.16^b	39.43 ± 0.16^b
a^*	19.25 ± 1.02^a	20.40 ± 1.16^a	11.45 ± 0.52^b	20.26 ± 0.43^a	18.80 ± 0.67^a
b^*	6.84 ± 0.27^{bc}	7.47 ± 0.18^b	9.59 ± 0.30^a	7.15 ± 0.33^b	6.25 ± 0.17^c
C^*	20.43 ± 1.05^a	21.61 ± 1.21^a	14.95 ± 0.47^b	21.48 ± 0.51^a	19.81 ± 0.67^a
h^*	19.57 ± 0.31^b	19.29 ± 0.53^b	40.0 ± 1.45^a	19.25 ± 0.82^b	18.38 ± 0.44^b

TC: Control; T1: 25% pork fat reduction; T2: 25% pork fat replacement by coconut oil; T3: 25% NaCl reduction, T4: 25% NaCl replacement by KCl. Means \pm Standard deviation. Different lowercase letters in the same column indicate significant differences among treatments ($P < 0.05$)

Figure 1 shows that the two main factors of PCA explained 84.67% of the variance, for which the first factor was responsible for 63.37%. The red ellipse in the graphic shows redness (a^*) spatial variation, for which T2 exhibited opposite position compared to the other treatments. Similar results were obtained for yellowness (b^*), represented by the black ellipse and for h^* (discoloration), blue ellipse. These results showed that the addition of coconut oil negatively affected the color of probiotic-fermented sausage. Bloukas et al. (1997) and Severini et al. (2003) also reported that a direct incorporation of vegetable oil during the manufacture processing created an unacceptable color appearance in fermented sausages. The higher yellowness and

discoloration in the coconut oil-added fermented sausage might be related to a higher lipid oxidation caused by the microbial lipases produced by the starter cultures. The lipid oxidation in meat products can reduce myoglobin stability, making it more susceptible to oxidation, which decreases the red color and increases the discoloration of red meat (Kennedy et al., 2004).

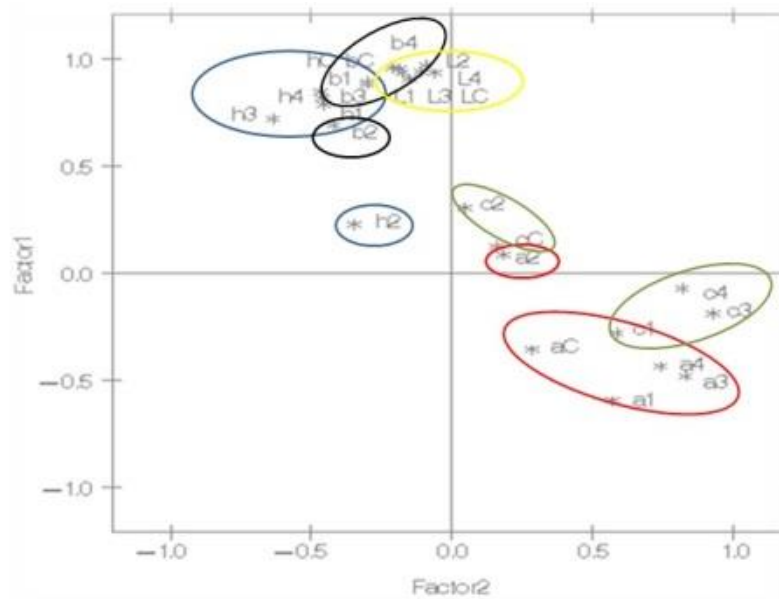


Figure 1: Biplot of two principal components computed from the instrumental color coordinates in probiotic-dry-fermented sausages with different sodium and pork fat content.

L: lightness, a: redness, b: yellowness, c: chroma, h: hue. C: control formulation; 1: 25% fat reduction; 2: 25% animal fat replaced by coconut oil; 3: 25% of NaCl reduction, 4: 25% NaCl replaced by KCl.

CONCLUSION

The replacement of pork fat by coconut oil in probiotic-fermented sausage in the conditions used in this study is not recommended since it can cause color defects on product. The reduction of NaCl by 25%, its replacement by KCl or the simple reduction of pork fat by 25% did not generate significant changes in most of the physical chemical parameters of probiotic-fermented sausages. Further studies must be conducted to evaluate the effect of a simultaneous reduction of fat and sodium in the probiotic-fermented sausages properties and sensory attributes. The results of the present study constitute a valuable set of data for helping meat industries interested in reducing salt and fat contents in probiotic dry-fermented sausages.

REFERENCES

BLOUKAS, J. G.; PANERAS, E. D.; FOURNITZIS, G. C. Effect of replacing pork backfat with olive oil on processing and quality characteristics of fermented sausage. **Meat Science**. 45(2):133-144, 1997.

CORRAL, S. et al. Effect of fat and salt reduction on the sensory quality of slow fermented sausages inoculated with *Debaryomyces hansenii* yeast. **Food Control**. 45:1-7, 2014.

DALLA SANTA et al. Use of starter cultures isolated from native microbiota of artisanal sausage in the production of Italian sausage. **Food Science Technology**. 34(4):780-786, 2014.

European Food Safety Authority. **EFSA Provides advice on adverse effects of sodium.** (Press release). 2005. Available in: <<https://www.efsa.europa.eu/en/press/news/nda050622>>. Access in: April, 03, 2017.

EYRES, L. et al. Coconut oil consumption on cardiovascular risk factors in humans. **Nutrition Reviews**. 74(4): 267-280, 2016.

GARCIA, M. L. et al. Utilization of cereal and fruit fibers in low fat dry fermented sausages. **Meat Science**. 60(3):227-236, 2002.

INGHAM, S. C. et al. Survey of *Listeria monocytogenes* during storage of ready-to-eat meat products processed by drying, fermentation and-or smocking. **Journal of Food Protection**. 67(12):2698-2702, 2004.

KENNEDY, C.; BUCKLEY, D. J.; KERRY, J. P. Display life of sheep meats retail packaged under atmospheres of various volumes and compositions. **Meat Science**. 68:649-658, 2004.

LIAU, K. M. et al. An open-label pilot study to assess the efficacy and safety of virgin coconut oil in reducing visceral adiposity. **International Scholarly Research Network Pharmacology**. 2011:1-7, 2011.

LILIC, S.; MATEKALO-SVERAK, V.; BOROVIĆ, B. Possibility of replacement of sodium chloride by potassium chloride in cooked sausages: Sensory characteristics and health aspects. **Biotechnology in Animal Husbandry**. 24(1-2):133-138, 2008.

MARINA, A.M. et al. Chemical properties of coconut oil. **Journal of the American Oil Chemists Society**. 86: 301-307, 2009.

MORA-GALLEGO H. et al. Effect of reducing and replacing pork fat on the physicochemical, instrumental and sensory characteristics throughout storage time of small caliber non-acid fermented sausages with reduced sodium content. **Meat Science**. 97:62-68, 2014.

MORA-GALLEGO H. et al. Sensory characterization and consumer acceptability of potassium chloride and sunflower oil addition in small-caliber non-acid fermented

sausages with a reduced content of sodium chloride and fat. **Meat Science**. 112:9-15, 2016.

MUGUERZA, E.; ANSORENA, D.; ASTIASARÁN, I. Functional dry fermented sausages manufactured with high level of n-3 fatty acids: nutritional benefits and evaluation of oxidation. **Science of Food and Agriculture**. 84(9):1061-1068, 2004.

NILSON, E. A. F.; JAIME, P. C.; RESENDE, D. O. Iniciativas desenvolvidas no Brasil para a redução do teor de sódio em alimentos processados. **Revista Panamericana de Salud Pública**. 34(4):287-92, 2012.

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

OLIVARES, A. et al. Sensory acceptability of slow fermented sausages based on fat content and ripening time. **Meat Science**. 86:251-257, 2010.

ROSEIRO, L. C. et al. Proteolysis in *Painho de Portalegre* dry fermented sausages in relation to ripening time and salt content. **Meat Science**. 79(4):784-794, 2008.

SANTOS, B. A. et al. Monosodium glutamate, disodium inosinate, disodium guanylate, lysine and taurine improve the sensory quality of fermented cooked sausages with 50% and 75% replacement of NaCl with KCl. **Meat Science**. 96:509-513, 2014.

SEVERINE, C., PILLI, T., BAIANO, A. Partial substitution of pork back fat with extra-virgin olive oil in 'salami' products: effects on chemical physical and sensorial quality. **Meat Science**. 64:323-331, 2003.

TERRA, N. N. **Apontamentos de Tecnologia de Carnes**. São Leopoldo: UNISINOS, 1998. 216p.

World Health Organization. Diet, nutrition and the prevention of chronic diseases.

WHO technical report series 916. Geneva: World Health Organization, 2003.

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

ZHANG, W. et al. Improving functional value of meat products. **Meat Science**. 86:15-31, 2010.

CAPÍTULO 3

EFEITOS DA REDUÇÃO COMBINADA DE SÓDIO E GORDURA ANIMAL SOBRE AS CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS, MICROBIOLÓGICAS E SENSORIAIS DE EMBUTIDO CÁRNEO FERMENTADO PROBIÓTICO

RESUMO

Embutidos cárneos fermentados são produtos promissores para a veiculação de probióticos, pelo fato de serem processados e consumidos sem aquecimento. Entretanto, apresentam como desvantagens o alto teor de sódio e de gordura. A maior preocupação dos consumidores com a qualidade nutricional dos alimentos que consomem e os recentes acordos firmados entre órgãos de saúde e as indústrias alimentícias têm despertado o interesse da indústria cárnea em desenvolver novos produtos mais saudáveis e funcionais. O objetivo deste estudo foi elaborar um salame funcional, utilizando cultura láctica iniciadora indígena, potencialmente probiótica, com redução de sódio e gordura animal, e avaliar seus efeitos sobre as características físico-químicas, microbiológicas e sensoriais. Foram produzidos cinco lotes de salame, utilizando como cultura mista iniciadora, a cultura indígena probiótica *Lactobacillus plantarum* 343 e a cultura micrococácea comercial, *Staphylococcus xylosum*, divididos nos seguintes tratamentos: TC (formulação tradicional), T1 (redução de 25% de toucinho e sódio em relação ao TC), T2 (redução de 25% de toucinho e 50% de sódio em relação ao TC), T3 (redução de 50% de toucinho e 25% de sódio) e T4 (40% de redução de toucinho e sódio em relação ao TC). Os salames foram maturados em câmara de maturação com temperatura e umidade relativa controladas por 28 dias. A cada 7 dias, peças dos embutidos foram avaliadas para parâmetros físico-químicos (pH, atividade de água-Aw, cor e oxidação lipídica) e microbiológicos (contagem de *L. plantarum* 343 e *S. xylosum*). Após processamento, os embutidos foram submetidos às determinações de teor de sódio, perda de peso, composição proximal e à avaliação sensorial de aceitabilidade. Todos os resultados foram analisados por ANOVA e teste de Tukey ($P < 0.05$). A redução de sódio em 50% no T2 influenciou nos valores de pH e na Aw, que se apresentaram mais altas neste tratamento. A luminosidade (L^*) foi afetada pelo teor de gordura do produto, sendo o TC o de maior luminosidade. A intensidade de cor vermelha (a^*) e cor amarela (b^*) foram maiores no T2, possivelmente devido à maior quantidade proporcional de carne no produto, em virtude do teor reduzido de gordura. Seguindo a mesma tendência, a saturação de cor (C^*) também foi maior nos tratamentos com reduções de sódio e gordura (T2, T3 e T4) do que no controle, indicando coloração mais intensa. A perda de peso durante o processamento foi maior nos tratamentos com maiores reduções de gordura. Na composição proximal, observou-se uma redução significativa dos teores de lipídios nos tratamentos elaborados com reduções a partir de 25% de gordura. A oxidação lipídica foi maior nos tratamentos com maiores reduções de sódio. A cultura probiótica de *L. plantarum* 343 apresentou crescimento na matriz cárnea, com manutenção da contagem nos valores recomendados para

efeito probiótico. A redução no teor de sódio e de gordura animal e a substituição da cultura láctica iniciadora tradicional por uma cultura probiótica indígena não alterou negativamente as características sensoriais dos embutidos fermentados. Entre as formulações testadas, a formulação do T4 (32% de redução de sódio e 36% de gordura animal) mostrou-se a mais interessante sob o ponto de vista nutricional e tecnológico, apresentando índice de aceitabilidade sensorial acima de 97% e atingindo as recomendações para classificação de alimento *light* para sódio e gordura.

ABSTRACT

Fermented sausages are promising products for the delivery of probiotics because they are consumed without previous heating. However, they have high sodium and fat content. The increase in human concern about the nutritional value of the food and the recent agreements between health agencies and the food industry have aroused the interest of the meat industry in developing healthier and functional products. The objective of this study was to develop a functional fermented sausage, with the addition of an indigenous probiotic lactic acid starter culture, with combined reduction of sodium and animal fat, and to evaluate its effects on the physicochemical, microbiological and sensorial characteristics of the product. Five batches of fermented sausage were prepared using the probiotic culture *Lactobacillus plantarum* 343 and a commercial micrococci culture, *Staphylococcus xylosum*. Batches were assigned into the following treatments: TC (traditional formulation), T1 (25% fat and sodium reduction), T2 (25% fat and 50% sodium reduction), T3 (50% fat and 25% sodium reduction) and T4 (40% fat and sodium reduction). The sausages were ripened at controlled temperature and relative humidity conditions for 28 days. At 7 day-intervals, samples were withdrawn and physical chemical (pH, Aw, instrumental color and lipid oxidation) and microbiological (count of *L. plantarum* 343 and *S. xylosum*) parameters were assessed. After processing, the sausages were subjected to the determinations of sodium content, weight loss, proximal composition and to acceptability sensory evaluation. The results were analyzed by ANOVA and means compared by Tukey test ($P < 0.05$). The reduction of sodium by 50% in T2 influenced the pH and Aw values, which were higher in this treatment. The luminosity (L^*) was affected by fat content of the product, for which TC showed greater values. Redness (a^*) and yellowness (b^*) were higher in T2 since the reduced fat content increases the lean meat proportion in the product. The color saturation (C^*) was also higher in the treatments with sodium and fat reductions (T2, T3 and T4) than in the control. Weight loss during processing was higher in treatments with higher fat reductions. With regards to the proximal composition, there was a significant reduction of the lipid content in treatments with reductions from 25% fat. Lipid oxidation was higher in treatments with higher sodium reductions. The count of probiotic culture *L. plantarum* 343 was maintained until the end of processing above the recommended number for the probiotic effect. The reduction in sodium and animal fat content and the substitution of the traditional lactic acid starter by an indigenous probiotic culture did not negatively affect the sensory characteristics of the fermented sausages. Among the formulations tested, the formulation T4 (32% sodium and 36% animal fat reduction) was the most interesting from a nutritional and

technological point of view, showing sensory acceptability index higher than 97% and reaching the recommendations for its classification as a *light* meat product.

3.1 INTRODUÇÃO

Carnes e produtos cárneos são considerados fontes importantes de vitaminas, minerais e proteínas de alto valor biológico (Josquin et al., 2012). Entretanto, são alimentos perecíveis e apresentam validade variável em função das condições de armazenamento. A salga, a secagem e a fermentação são tecnologias e processos que permitem manter a qualidade do produto e agregam valor (Ojha et al., 2015; Han et al., 2017).

A produção de salames no Brasil iniciou-se com a chegada de imigrantes à região Sul do País, onde o clima favorece sua produção, sendo um produto de consumo tradicional pela população desta região (Terra et al., 2004). Contudo, alguns estudos têm relacionado o consumo desse e de outros produtos cárneos ao desenvolvimento de doenças crônicas não transmissíveis (DCNT) como obesidade (Malta et al., 2011), diabetes (Sarno et al., 2009), doenças cardiovasculares (Gomes et al., 2014) e alguns tipos de câncer (Stollewerk et al., 2012), devido principalmente ao alto teor de sal e gordura desses alimentos (Muguerza et al., 2004).

De acordo com Campagnol et al. (2011), os produtos cárneos são responsáveis por cerca de 20 a 30% do consumo diário de sódio da população brasileira. Dados da Organização Mundial da Saúde indicam que o consumo diário de sódio e gordura pela população mundial é cerca de três vezes superior ao recomendado. Por isso, a OMS revisou a recomendação para o valor máximo de ingestão diária de sódio para 2 g e de gordura para 30% do consumo calórico total (WHO, 2011). Nesse sentido, iniciativas para a redução do consumo desses ingredientes vêm sendo apoiadas e estimuladas por organizações internacionais, iniciativas regionais e acordos com as indústrias (BRASIL, 2013). No Brasil, o acordo firmado pelo Ministério da Saúde e a Associação Brasileira da Indústria de Alimentos (ABIA) elevou para 16 o número de categorias de alimentos que devem apresentar reduções gradativas dos teores de sódio nas formulações, que somadas representam 90% dos alimentos industrializados. Desde 2011, a estimativa é que 11,3 mil toneladas de sódio tenham sido retiradas de produtos industrializados e com a inclusão

de novos grupos, a meta nacional do acordo passa a ser retirar 28 mil toneladas até 2020 (BRASIL, 2013).

Com isso, a redução do sódio e gordura tornou-se uma necessidade para a sobrevivência da indústria cárnea no mundo inteiro (Campagnol et al., 2011). Contudo, por suas múltiplas funções nos produtos cárneos, como a promoção de sabor, o desenvolvimento de propriedades de textura e suculência e a preservação pelo controle do crescimento microbiano, a redução de sódio e de gordura nesses produtos não é um processo simples (Rodrigues et al., 2016).

Adicionalmente à redução de sódio e gordura animal, outra forma de tornar os produtos cárneos mais saudáveis é a adição de ingredientes funcionais. Neste sentido, em embutidos cárneos fermentados, a adição de probióticos é uma estratégia que vem sendo estudada (Macedo et al., 2008; Cirolini et al., 2010; Rubio et al., 2014; Sidira et al., 2014; Aymerich e Garrig, 2015; Jofré et al., 2015). A inclusão de probióticos em produtos cárneos pode trazer efeitos fisiológicos benéficos pela estimulação do sistema imunológico, a prevenção de intolerâncias alimentares, o alívio dos sintomas de doenças inflamatórias intestinais e a redução do risco de desenvolvimento de alguns tipos de câncer no intestino (Sidira et al., 2014). Para a obtenção desses efeitos benéficos, sem causar alterações nas características tecnológicas de identidade e qualidade desses produtos cárneos, o uso de probióticos isolados da microbiota naturalmente presente nesses alimentos é vantajoso, uma vez que já estão adaptados às condições do ambiente, tolerando altos teores de sal, conseguem manter-se viáveis e realizar competição com microrganismos indesejáveis presentes ao meio e auxiliam no desenvolvimento das características sensoriais dos embutidos (Papamanoli et al., 2003; Leroy et al., 2006; Drosinos et al., 2007; Dalla Santa et al., 2014; Cirolini et al., 2010; Chen et al., 2016; Wolupeek et al., 2017).

Diversos estudos relatam os efeitos da redução de sódio (Guàrdia et al., 2008; Zanardi et al., 2010; Campagnol et al., 2011; Corral et al., 2013; Aaslyng et al., 2014; Santos et al., 2014), gordura animal (Olivares et al., 2011; Josquin et al., 2012; Backes et al., 2013; Jimenez-Colmenero et al., 2013; Bolumar et al., 2015; Alejandre et al., 2016) e ambas (Corral et al., 2014; Mora-Gallego et al., 2014; Safa et al., 2015; Mora-Gallego et al., 2016), ou a inclusão de

probióticos (Arief et al., 2014; Rubio et al., 2013; Rubio et al., 2014; Sidira et al., 2014; Jofré et al., 2015) em embutidos cárneos fermentados. Entretanto, há escassez de estudos que avaliem os efeitos da redução combinada de sódio e de gordura animal em embutido cárneo com adição de probióticos. Tendo em vista o exposto, o objetivo deste estudo foi desenvolver um embutido cárneo fermentado probiótico, com redução combinada de sódio e gordura animal, avaliando os efeitos das formulações sobre os parâmetros físico-químicos, microbiológicos e sensoriais do produto.

3.2 MATERIAL E MÉTODOS

3.2.1 Preparo dos inóculos

Como cultura láctica *starter* foi utilizada cepa de *Lactobacillus plantarum* 343, pertencente ao banco de culturas do Laboratório de Tecnologia de Produtos Agropecuários da PUCPR. Essa cultura indígena foi isolada de salames artesanais e seu potencial probiótico foi avaliado em estudos prévios (Dalla Santa et al., 2014; Wolupeck et al., 2017). Como cultura *starter* também foi utilizada uma cepa de *Staphylococcus xylosus*, isolada de inóculo comercial Bactoferm T-SPX (CHR Hansen, Denmark). Ambas as cepas foram mantidas por criopreservação a temperatura -80 °C em caldo MRS (De Man Rogosa Sharpe - Acumedia Neogen Corporation, Michigan, EUA) para *L. plantarum* e em caldo TSB (Tryptic Soy Broth- Himedia Laboratories Pvt. Ltd, Mumbai, India) para *S. xylosus*, adicionados de crioprotetor glicerol 50%, até a sua utilização. As cepas foram reativadas pela inoculação de 100 µL dos inóculos em 10 mL de caldo MRS para *L. plantarum* e caldo TSB para *S. xylosus*, com incubação a 37 °C por 24h. Após incubação, 2 mL do caldo foram transferidos para 100 mL de novo caldo MRS e caldo TSB, respectivamente, com incubação a 37 °C por 48h. Em seguida, procedeu-se a centrifugação dos caldos em centrífuga refrigerada a 6°C (EPPENDORF 5810R) e 5.000 g por 15 min. Os sobrenadantes foram descartados e os precipitados ressuspensos em 15 mL de solução salina estéril 0,9% e usados para inocular a massa cárnea após a adição de todos os demais ingredientes. Os inóculos de *L. plantarum* e *S. xylosus* foram adicionados às massas dos embutidos nas concentrações aproximadas de 9 log UFC/ g e 7 log UFC/ g, respectivamente.

3.2.2 Processamento dos embutidos

Foram testadas cinco formulações de salaminhos, sendo uma formulação controle (TC) e quatro formulações (T1 a T4), com reduções combinadas nos teores de sódio e gordura animal, tendo como base a formulação descrita por Macedo et al. (2008), conforme a Tabela 1.

Tabela 1. Matérias primas e ingredientes utilizados na fabricação dos embutidos cárneos fermentados probióticos

Ingredientes	Tratamento (g/100g)				
	TC	T1	T2	T3	T4
Paleta suína	60	60	60	60	60
Retalho bovino (paleta)	20	20	20	20	20
Toucinho	20	15	15	10	12
Cloreto de Sódio (NaCl) Cisne®, Cabo Frio, RJ	3	2.25	1.5	2.25	1.8
Glicose*	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
Sacarose*	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
Alho em pó**	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3
Pimenta branca**	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2
Noz moscada**	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02
Nitrato de sódio*	0.005	0.005	0.005	0.005	0.005
Nitrito de sódio*	0.015	0.015	0.015	0.015	0.015
Fixador de cor (isoascorbato de sódio) Kraki®, Sto André, SP	1	1	1	1	1

*Biotec, Pinhais, PR; **Celeiro Municipal, Curitiba, PR.

A paleta, o retalho bovino e o toucinho foram obtidos em estabelecimento comercial da cidade de Curitiba – PR, com registro no Serviço de Inspeção oficial governamental. Para o preparo da massa, a carne foi moída em moedor elétrico com disco de 5 mm (JAMAR®, Tupã, SP, Brasil) e toucinho picado manualmente em cubos (~0,5 cm³). Todas as especiarias, sal de cura e açúcares foram misturados manualmente à carne. As culturas de *L. plantarum* 343 e *S. xylosus* foram adicionadas à massa no final da mistura, a qual foi embutida com o auxílio de embutideira hidráulica (JAMAR® modelo EJH 20, Tupã, SP, Brasil) em envoltório artificial de colágeno de 45 mm (Global Casing Ltda., Santa Catarina, Brasil), previamente sanitizado com solução de ácido acético 1% durante 15 minutos. Após embutimento, as peças de aproximadamente 9 cm de comprimento, foram aspergidas superficialmente

com inóculo comercial de *Penicillium nalgiovensis* (Bactoferm MOLD-600 CHR Hansen, Dinamarca).

Os embutidos foram mantidos em câmara de maturação (InstalaFrio, Pinhais, PR, Brasil) por 28 dias com temperatura e condições de umidade relativa controladas conforme a Tabela 2. Durante a maturação, três peças de embutido de cada tratamento foram coletadas (tempos 0, 2, 7, 14, 21 e 28 dias) para a realização das análises laboratoriais descritas a seguir.

Tabela 2. Condições de temperatura e umidade relativa do ar utilizadas na câmara durante o período de maturação dos embutidos probióticos

Tempo de maturação (dias)	Temperatura °C	Umidade relativa %
1	25	91
2	24	90
3	23	89
4	22	88
5	22	88
6	20	87
7	18	85
↓	↓	↓
28	18	85

3.2.3 Determinação de pH

Os valores de pH foram determinados em três diferentes pontos de cada amostra, utilizando equipamento com eletrodo de inserção (modelo HI353, Hanna Instruments, Dallas, Texas, USA), devidamente calibrado com soluções tampão de pH 7,0 e pH 4,0 (IAL, 2008).

3.2.4 Determinação de atividade de água

A atividade de água foi determinada em amostras previamente trituradas, utilizando-se equipamento AQUALAB CX-2 (Decagon Devices Inc, Pullman, WA, EUA).

3.2.5 Determinação de cor instrumental

A cor foi determinada através do método da ASTM International (2001) em colorímetro portátil (Konica Minolta CR410, Tóquio, Japão). A medição foi

realizada pela média de três leituras sobre a superfície das amostras, utilizando fonte de luz D65 com abertura de 50mm e ângulo de observação de 2°, determinando-se as coordenadas L*, a*, b*, C* e h, que correspondem ao brilho, índice de cor vermelha, índice de cor amarela, saturação e matiz, respectivamente.

3.2.6 Perda de peso

A perda de peso dos salames durante a maturação foi determinada pelo método gravimétrico mediante pesagem de três peças de embutido de cada tratamento imediatamente após o embutimento e após o final da maturação. Os resultados foram expressos em porcentagem.

3.2.7 Composição proximal

Os teores de umidade, cinzas, proteínas e lipídios foram determinados segundo a AOAC (Association of Official Analytical Chemists, 2005). A determinação dos teores de carboidratos totais foi realizada por diferença (Fuchs et al., 2005).

3.2.8 Teor de sódio

A determinação do teor de sódio foi realizada em triplicata pelo método de determinação de sódio e potássio em produtos de origem animal (BRASIL, 2014), por espectrometria de emissão atômica por chama em espectrômetro de absorção atômica (Espectro AA- 10 Plus – Varian, USA).

3.2.9 Determinação da oxidação lipídica

Os compostos de oxidação lipídica foram analisados pela reação com TBA (ácido 2-tiobarbitúrico) de acordo com a metodologia descrita por Vyncke (1975) modificada por Silva (2014), em espectrofotômetro (modelo HIN-SP-1105, Photonics, Pittsfield, MA, EUA) a 538 nm.

3.2.10 Análise microbiológica

Para análise microbiológica, foram pesados assepticamente 10 gramas de amostra de cada tratamento e transferidos para sacos plásticos estéreis (Laborclin, Pinhais, Paraná) devidamente identificados, contendo 90 mL de

água peptonada 0,1% (Oxoid Ltd, Hampshire, Inglaterra), homogeneizados em aparelho *Stomacher* (IUL Instruments, Barcelona, Espanha) por 60 segundos. Resultou-se na primeira diluição (10^{-1}), procedendo na sequência diluição seriada e semeadura em ágar conforme descrição a seguir.

Contagem de *Lactobacillus plantarum* e *Staphylococcus xylosus*

A contagem de *L. plantarum*, que foi adicionado como cultura probiótica aos embutidos, foi realizada em ágar MRS (Man Rogosa Sharpe, Acumedia Neogen Corporation, Michigan, EUA) com semeadura das diluições em profundidade e incubação a 37 °C por 48 horas e o resultado expresso em log UFC/ g.

A contagem de *Staphylococcus xylosus* foi realizada pela semeadura em superfície das diluições decimais das amostras em placas com ágar Baird Parker (Himedia Laboratories Pvt. Ltd, Mumbai, India), incubadas a 37 °C por 48 horas. O resultado foi expresso em log UFC/ g.

3.2.11 Avaliação sensorial

A partir dos resultados obtidos nas análises físico-química e microbiológica, procedeu-se a avaliação sensorial das amostras de quatro tratamentos: TC, T1, T3 e T4. As amostras do T2 não foram submetidas à avaliação sensorial. As amostras foram preparadas mediante corte transversal das peças de embutidos em forma de fatias, com espessura média de 5 mm, sendo descartadas as extremidades. As amostras de cada tratamento foram apresentadas a 100 provadores não treinados, habituados ao consumo de embutidos fermentados, distribuídas em recipientes plásticos descartáveis e codificadas aleatoriamente com números de três dígitos. Na sequência, foi aplicado teste afetivo de aceitabilidade, avaliando os atributos de cor, sabor, aroma, textura e avaliação global, tendo como base uma escala hedônica estruturada de 9 pontos (Dutcoski, 2014). Os valores obtidos nas amostras para cada atributo foram analisados estatisticamente por análise de variância (ANOVA) e teste de *Tukey* para a comparação de médias, utilizando nível de significância de 5%.

Para o cálculo de Índice de Aceitabilidade do produto, foi adotada a expressão $IA (\%) = A \times 100 / B$, onde: A = nota média obtida para o produto e

B= nota máxima dada ao produto. O IA com boa repercussão tem sido considerado $\geq 70\%$ (Dutcoski, 2014).

A análise sensorial foi aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da Pontifícia Universidade Católica do Paraná sob o número de parecer 2.063.138/ 2017.

3.2.12 Análise estatística

Os valores obtidos nas análises realizadas nos embutidos fermentados foram submetidos ao cálculo de média, erro padrão e análise de variância por ANOVA. As médias foram comparadas pelo teste de Tukey, utilizando o programa Statgraphics Centurion XVI (Statpoint Technologies, Warrenton, USA), com significância de 5%.

3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.3.1 Efeitos sobre parâmetros físico-químicos dos embutidos cárneos fermentados probióticos

3.3.1.1 pH e Aw

O valor inicial de pH dos embutidos situou-se entre 6,37 e 6,57. Após dois dias de fermentação, o pH de todos os tratamentos atingiu valores abaixo de 4,90. A queda de pH em embutidos fermentados deve ocorrer até o sétimo dia de processamento, de forma gradual, para valores próximos de 5,0-5,3, sendo observado esse decréscimo de forma semelhante em todos os tratamentos. Essa queda ocorre devido ao acúmulo de ácido láctico, formado pela ação das bactérias lácticas sobre os carboidratos presentes na massa cárnea. Esse declínio no valor de pH durante a fase de fermentação é importante para a produção de salames de boa qualidade e segurança, devido à inibição do crescimento de microrganismos indesejáveis, agindo também no desenvolvimento da cor, acelerando a desidratação e remetendo ao sabor e aroma típicos dos produtos cárneos fermentados (Terra, 1998). A partir do sétimo dia de maturação até o final do processamento, o T2 apresentou valores mais elevados de pH em relação ao C e T3 ($P < 0.05$), os quais não diferiram

dos demais tratamentos (Tabela 3). Esses valores poderiam estar relacionados à maior atividade proteolítica enzimática na carne devido ao menor teor de sódio neste tratamento.

Diferenças nos valores de pH também foram observadas em outros estudos com reduções de sódio em embutidos cárneos fermentados (Gelabert et al., 2003; Zanardi et al. 2010; Armenteros et al., 2012; Laranjo et al., 2015).

De maneira geral, a combinação de reduções de sódio e gordura levou a um curso normal dos valores de pH, com intensa acidificação durante a primeira semana, seguida por um aumento progressivo dos valores de pH, podendo-se afirmar que a redução de sódio na formulação em até 40% e de gordura em até 50% não causam interferência no pH do produto final.

Quanto à A_w , ao final de 28 dias de processamento, observou-se que o tratamento T2 (redução em 25% de toucinho e 50% redução de sódio) obteve valor de atividade de água (0,89) ($P < 0.05$), enquanto os demais tratamentos mostraram valores de 0,83, e 0,84, TC e T3, e T1 e T4, respectivamente (Tabela 3). Embora tenha apresentado diferença significativa para os demais tratamentos, os valores finais de A_w para o T2 encontraram-se dentro dos valores máximos recomendados pela legislação brasileira para este tipo de produto, que é de 0,90 (BRASIL, 2000).

A redução de sódio em 50% no T2 influenciou nos valores de pH que também afetaram a A_w , visto que a redução de A_w de embutidos cárneos fermentados está relacionada com a diminuição do pH. Quando o pH se aproxima do ponto isoelétrico das proteínas miofibrilares da carne (5.3-5.5), a capacidade de retenção de água diminui, facilitando a desidratação e conseqüentemente, reduzindo a A_w (Terra, 1998).

Resultados obtidos no presente estudo corroboram com estudos que indicam que valores de A_w podem ser afetados pela redução nos teores de sódio na formulação de embutidos cárneos (Roseiro et al., 2008; Campagnol et al., 2011; Gomez & Lorenzo, 2013; Mora – Gallego et al., 2016).

Tabela 3. Médias \pm erro padrão de pH e Aw durante o processamento dos embutidos cárneos fermentados probióticos.

Trat.	Dia 0	Dia 2	Dia 7	Dia 14	Dia 21	Dia 28
	pH					
TC	6,51 \pm 0,01 ^{abA}	4,88 \pm 0,02 ^{aD}	4,80 \pm 0,10 ^{aD}	5,30 \pm 0,07 ^{bc}	5,40 \pm 0,01 ^{abB}	5,54 \pm 0,01 ^{bB}
T1	6,48 \pm 0,00 ^{bA}	4,76 \pm 0,01 ^{bE}	4,66 \pm 0,03 ^{aE}	5,21 \pm 0,07 ^{bd}	5,45 \pm 0,03 ^{abC}	5,61 \pm 0,01 ^{abB}
T2	6,37 \pm 0,00 ^{cA}	4,84 \pm 0,03 ^{abC}	4,91 \pm 0,04 ^{aC}	5,39 \pm 0,00 ^{ab}	5,50 \pm 0,02 ^{ab}	5,76 \pm 0,02 ^{ab}
T3	6,57 \pm 0,02 ^{aA}	4,87 \pm 0,02 ^{abC}	4,86 \pm 0,07 ^{aC}	5,27 \pm 0,04 ^{bb}	5,45 \pm 0,02 ^{abB}	5,55 \pm 0,03 ^{bB}
T4	6,45 \pm 0,01 ^{bA}	4,86 \pm 0,02 ^{abE}	4,84 \pm 0,01 ^{aE}	5,31 \pm 0,02 ^{bd}	5,46 \pm 0,00 ^{abC}	5,63 \pm 0,04 ^{abB}
	Aw					
TC	0,971 \pm 0,000 ^{aA}	0,930 \pm 0,001 ^{bBC}	0,956 \pm 0,000 ^{bcAB}	0,913 \pm 0,000 ^{dC}	0,864 \pm 0,002 ^{cd}	0,837 \pm 0,002 ^{bd}
T1	0,974 \pm 0,002 ^{aB}	0,987 \pm 0,000 ^{aA}	0,964 \pm 0,000 ^{aC}	0,930 \pm 0,000 ^{cd}	0,870 \pm 0,002 ^{cE}	0,846 \pm 0,003 ^{bF}
T2	0,977 \pm 0,000 ^{aB}	0,988 \pm 0,000 ^{aA}	0,961 \pm 0,000 ^{abC}	0,949 \pm 0,001 ^{ad}	0,916 \pm 0,001 ^{aE}	0,890 \pm 0,000 ^{aF}
T3	0,971 \pm 0,004 ^{aB}	0,982 \pm 0,001 ^{aA}	0,954 \pm 0,001 ^{cC}	0,940 \pm 0,001 ^{bd}	0,886 \pm 0,001 ^{bE}	0,838 \pm 0,003 ^{bF}
T4	0,974 \pm 0,004 ^{aA}	0,984 \pm 0,001 ^{aA}	0,956 \pm 0,001 ^{bcB}	0,931 \pm 0,002 ^{cC}	0,893 \pm 0,004 ^{bd}	0,845 \pm 0,005 ^{bE}

TC: Controle; T1: 25% redução de gordura e sódio; T2: 25% redução de gordura e 50% redução de sódio; T3: 50% redução gordura e 25% redução sódio, T4: 40% redução de gordura e sódio. NaCl. Letras minúsculas diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa entre tratamentos. Letras maiúsculas diferentes na mesma linha indicam diferença significativa entre os tempos ($P < 0.05$).

3.3.1.2 Cor instrumental

Os resultados para os parâmetros de cor instrumental são mostrados na Tabela 4.

Tabela 4. Médias (\pm erro padrão) de cor instrumental no final do processamento dos embutidos probióticos (28 dias).

Cor	TC	T1	T2	T3	T4
L*	46,75 \pm 0,92 ^a	44,38 \pm 0,97 ^{bc}	44,62 \pm 1,19 ^{bc}	43,28 \pm 0,90 ^c	45,50 \pm 1,07 ^{ab}
a*	16,56 \pm 1,07 ^c	16,75 \pm 0,99 ^c	17,75 \pm 0,99 ^a	17,49 \pm 0,99 ^{ab}	16,88 \pm 0,97 ^{bc}
b*	8,44 \pm 0,46 ^b	8,48 \pm 0,44 ^b	9,46 \pm 0,40 ^a	8,41 \pm 0,37 ^b	8,77 \pm 0,53 ^b
C*	19,02 \pm 0,79 ^b	19,27 \pm 0,69 ^b	20,42 \pm 0,56 ^a	19,63 \pm 0,76 ^{ab}	19,60 \pm 12,03 ^{ab}
H	28,68 \pm 12,38 ^b	28,29 \pm 12,84 ^{ab}	29,49 \pm 12,06 ^a	27,14 \pm 10,86 ^b	28,21 \pm 12,03 ^{ab}

TC: Controle; T1: 25% redução de gordura e sódio; T2: 25% redução de gordura e 50% redução de sódio; T3: 50% redução gordura e 25% redução sódio, T4: 40% redução de gordura e sódio. NaCl. Letras minúsculas na mesma linha indicam diferença significativa entre tratamentos ($P < 0.05$).

O tratamento TC obteve a maior média da coordenada L* em relação aos tratamentos T1, T2 e T3. Observa-se que a luminosidade (L*) foi afetada pelo teor de gordura no produto. Nos embutidos com maior teor de gordura verificou-se maior valor de L*, corroborando com os achados de Papadima e Bloukas (1999), Rubio et al. (2008) e Mora-Gallego et al. (2014).

Os resultados de a^* (intensidade de cor vermelha) e b^* (intensidade de cor amarela) mostraram valores ligeiramente maiores no tratamento T2 em relação aos demais. Mora-Gallego et al. (2014) encontraram valores superiores em a^* e b^* para salames com teores reduzidos de gordura, devido à maior quantidade proporcional de carne no produto. Para Alejandre et al. (2016), salames com reduções de sódio e gordura também resultaram em maiores valores de a^* e b^* . Contudo essas pequenas diferenças nos valores de a^* e b^* verificadas na avaliação instrumental não foram detectadas visualmente na avaliação sensorial (Tabela 8).

Seguindo a mesma tendência, a saturação de cor (C^*) também foi maior nos tratamentos com reduções de sódio e gordura (T2, T3 e T4) do que no controle, indicando coloração mais intensa. Os valores de C^* (chroma) e h (descoloração) se enquadraram nos intervalos normais para este tipo de produto, de acordo com estudos mostrados por Alejandre et al. (2016).

3.3.1.3 Perda de peso

A redução de peso (%) após o processamento dos embutidos nos tratamentos com reduções de sódio e gordura foi semelhante (46,66% para o T1, 46,33% para o T2, 48,00% para o T3 e 47,70% para o T4), porém superior à redução de peso do TC (41,33%) ($P < 0.05$).

A redução de peso indica a quantidade de água perdida pelo embutido durante a secagem, sendo dependente da umidade e temperatura no interior da câmara de maturação, do material do invólucro utilizado no embutimento, do tempo de processamento e da composição do produto (Muguerza et al., 2001). A faixa ideal de perda de peso encontra-se entre 30% e 40% para produtos cárneos dessecados. No presente trabalho, foi observada maior porcentagem de perda de peso nos embutidos com formulação reduzida de sódio e toucinho, corroborando com Mora-Gallego et al. (2014) e Safa et al. (2016), que verificaram perdas de peso de até 49% em salames formulados com reduções de 30% de sódio + 20 % de gordura e de 15% de sódio + 50% de gordura, respectivamente. Entretanto, outros autores obtiveram perdas de peso superiores a 50% em salames obtidos com diferentes proporções de redução de gordura (Muguerza et al., 2001; Liaros et al., 2009; Roselino, 2016), sódio

(Aaslyng et al., 2014) ou ambos na formulação (Corral et al., 2014; Corral et al., 2015; Safa et al., 2016)

Estes resultados indicam que a redução no teor de sódio e/ou gordura nas formulações dos embutidos cárneos fermentados influencia a perda de peso dos produtos durante a fabricação.

3.3.1.4 Composição proximal

Os resultados da composição proximal, ao final do período de maturação (Tabela 5), permitiram verificar que a maioria dos tratamentos apresentou valores de composição em conformidade com o Anexo VI da Instrução Normativa nº 22 do Ministério da Agricultura e do Abastecimento de 31 de julho de 2000 (Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Salame), que preconiza para salaminho valores de umidade (máx.) de 35,0%, gordura (máx.) de 32,0%, proteína (mín.) de 25,0% e carboidratos totais (máx.) de 4,0% (BRASIL, 2000).

Tabela 5. Médias (\pm erro padrão) para composição proximal (g/100g) das diferentes formulações de salame ao final do período de maturação (28 dias).

Tratamento	Cinzas	Proteínas	Lipídios	Umidade	Carboidratos
TC	6,95 \pm 0,06 ^a	36,12 \pm 1,92 ^a	33,94 \pm 0,83 ^a	20,71 \pm 2,16 ^b	2,28 \pm 0,22 ^b
T1	6,14 \pm 0,29 ^a	36,87 \pm 0,24 ^a	28,54 \pm 0,38 ^b	25,79 \pm 1,15 ^{ab}	2,66 \pm 0,49 ^b
T2	4,32 \pm 0,36 ^b	37,03 \pm 0,81 ^a	32,27 \pm 0,70 ^a	23,82 \pm 0,92 ^{ab}	2,56 \pm 0,19 ^b
T3	6,96 \pm 0,30 ^a	39,64 \pm 0,67 ^a	18,66 \pm 0,17 ^d	27,01 \pm 2,25 ^{ab}	7,73 \pm 2,80 ^a
T4	6,76 \pm 0,30 ^a	38,03 \pm 0,50 ^a	21,57 \pm 0,46 ^c	30,99 \pm 0,36 ^a	3,17 \pm 1,08 ^b

TC: Controle; T1: 25% redução de gordura e sódio; T2: 25% redução de gordura e 50% redução de sódio; T3: 50% redução gordura e 25% redução sódio, T4: 40% redução de gordura e sódio. Letras minúsculas diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa entre tratamentos ($P < 0.05$).

O TC apresentou valor de lipídios levemente acima do máximo permitido pela legislação vigente e superior ao dos Tratamentos T1, T3 e T4, podendo ser este fato atribuído à característica normal do salame em não apresentar uma massa totalmente homogênea e uniforme de gordura e carne magra. O TC também apresentou valor de umidade ligeiramente inferior aos demais

tratamentos, estando de acordo com Mora-Gallego et al. (2014), que afirmam que salames com maior teor de gordura, apresentam menores teores de umidade.

Verificou-se também, como esperado, uma menor concentração de lipídios nos embutidos cárneos elaborados com reduções de gordura a partir de 25%, o que resultou em reduções reais de lipídios de no mínimo 15% em relação ao controle.

É possível classificar, pelos teores de lipídios obtidos nos embutidos, as formulações T3 (18,66%) e T4 (21,57%) como produtos com teor reduzido de gordura ou *light*, pois de acordo com a legislação vigente, essa categoria de alimentos requer uma redução mínima de 25% sobre o teor total de gorduras do produto convencional. Como o limite máximo de gordura para salame é de 32%, produtos com teores abaixo de 25,46%, são considerados como de teor reduzido ou *light* (BRASIL, 2012).

3.3.1.5 Teor de sódio

Os teores de sódio obtidos nos embutidos cárneos ao final do processamento estão apresentados na Tabela 6.

Tabela 6. Teor final de sódio (média ± erro padrão) e redução do teor de sódio (em porcentagem e em mg/100g) em relação ao controle obtidos nas diferentes formulações de embutido fermentado probiótico

Tratamento	Média ± Erro padrão (mg/100 g)	Redução de sódio (%)	Redução de sódio (mg/100 g)
TC	1.581,03±16,41 ^a	-	-
T1	1.331,60±43,16 ^b	15	249,43
T2	1.069,43±08,61 ^c	33	511,60
T3	1.577,07±34,22 ^a	0,26	3,96
T4	1.086,73±29,15 ^c	32	494,30

TC: Controle; T1: 25% redução de sódio; T2: 50% redução de sódio; T3: 25% redução de sódio, T4: 40% de redução de sódio. Letras diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa ($P < 0.05$).

Para os teores de sódio, houve redução nos tratamentos T1, T2 e T4 em relação ao controle ($P < 0.05$), atingindo proporção final de redução 15%, 33% e 32%, respectivamente. Apesar da redução de 25% na adição de sódio na formulação dos embutidos do T3, não houve diferença nos teores de sódio em comparação ao controle ($P > 0.05$). Este fato poderia ser justificado pela maior perda de peso obtida para os embutidos do T3 em relação aos do controle, aumentando proporcionalmente a concentração de sódio nos produtos.

De acordo com o Regulamento Técnico sobre Informação Nutricional Complementar da ANVISA (BRASIL, 2012), para a alegação de redução de sódio em um alimento, é necessária a redução mínima de 25 % no teor de sódio e equivalente a no mínimo 120 mg de sódio por 100 g do alimento em relação ao produto convencional. Neste sentido, os embutidos dos tratamentos T1 e T3 não atingiram essa recomendação. Nos tratamentos T2 e T4, foram obtidas reduções no teor de sódio de 511,60 mg/100g e 494,30 mg/ 100g, respectivamente, em relação à formulação convencional.

Em todos os tratamentos, a redução de sódio obtida no produto final foi inferior à redução de sódio utilizada nas formulações. Para os tratamentos nos quais houve redução de 25% do teor de sódio adicionado à massa cárnea em relação à formulação controle, foram obtidas reduções de no máximo 15% no teor de sódio do produto final e para os tratamentos com redução de até 50% do teor de sódio adicionado, foram obtidas reduções máximas no produto final de 33% em relação ao produto controle. Resultados corroboram com Safa et al. (2015), que promoveram reduções de 14 a 29% no teor de sódio e obtiveram reduções de 6,26 a 7,64% nos produtos finais. Tais variações podem ser influenciadas pelo teor de sódio naturalmente presente na carne e pela presença deste mineral em outros ingredientes utilizados para a fabricação dos embutidos. Desmond (2006) afirma que os teores de sódio nas carnes *in natura* podem variar de 50 a 70 mg por 100 g.

Esses resultados demonstram que a redução de sódio obtida nos produtos finais, pode ser de 40 a 60% menor do que a redução esperada quando da formulação do produto.

Dessa forma, somente os embutidos dos tratamentos T2 e T4 podem ser classificados com teor reduzido de sódio conforme a legislação brasileira (BRASIL, 2012).

3.3.1.6 Oxidação lipídica

O teste de TBARS é o método usual para acompanhar a evolução da oxidação lipídica em carnes e derivados cárneos. As mudanças nos valores de TBARS foram acompanhadas durante todo o período de fabricação dos salames e são apresentadas na Tabela 7.

Tabela 7. Valores médios (\pm erro padrão) de malonaldeído (mg/kg) para as diferentes formulações e etapas de processamento

Tratamento	Dias				
	0	7	14	21	28
TC	0,73 \pm 0,05 ^{aE}	3,22 \pm 0,11 ^{aD}	3,87 \pm 0,14 ^{bcA}	2,47 \pm 0,02 ^{bC}	3,22 \pm 0,08 ^{bB}
T1	0,56 \pm 0,08 ^{aC}	3,19 \pm 0,14 ^{aB}	4,08 \pm 0,15 ^{abcA}	2,81 \pm 0,21 ^{abB}	3,16 \pm 0,19 ^{bB}
T2	0,48 \pm 0,09 ^{aC}	3,05 \pm 0,08 ^{aB}	3,57 \pm 0,05 ^{cAB}	3,43 \pm 0,36 ^{aAB}	4,98 \pm 0,63 ^{aA}
T3	0,54 \pm 0,09 ^{aC}	3,21 \pm 0,08 ^{aB}	4,55 \pm 0,14 ^{aA}	2,97 \pm 0,15 ^{abB}	4,06 \pm 0,21 ^{abA}
T4	0,42 \pm 0,08 ^{aD}	3,01 \pm 0,12 ^{aC}	4,34 \pm 0,01 ^{abA}	2,59 \pm 0,01 ^{abC}	3,66 \pm 0,14 ^{abB}

TC: Controle; T1: 25% redução de gordura e sódio; T2: 25% redução de gordura e 50% redução de sódio; T3: 50% redução gordura e 25% redução sódio, T4: 40% redução de gordura e sódio. NaCl. Letras minúsculas diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa entre tratamentos. Letras maiúsculas diferentes na mesma linha indicam diferença significativa entre os tempos ($P < 0.05$).

Notou-se que nas primeiras semanas de fabricação dos embutidos, não houve diferença para os valores de TBARS nos diferentes tratamentos. A partir do 21º dia, o T2 mostrou valor elevado em relação ao controle, que permaneceu até o final da maturação ($P < 0.05$). Pode-se sugerir a ocorrência deste resultado ao fato do tratamento conter menor quantidade de sal, possibilitando aumento da atividade enzimática lipolítica realizada pelos microrganismos presentes no produto (Santos et al., 2015).

Corral et al. (2013) revelaram valores mais elevados de TBARS em salames com reduzidos teores de sódio, corroborando os resultados encontrados no presente estudo. Recentemente, Corral et al. (2015) confirmaram seus resultados anteriores, obtendo níveis elevados de oxidação lipídica em salames com combinações de reduções de sódio e gordura.

No entanto, Santos et al. (2014) verificaram maiores valores de TBARS em tratamentos sem reduções de sódio e gordura. Esses autores afirmaram que o NaCl pode atuar como expressivo pró – oxidante em carnes e derivados cárneos, fazendo com que a oxidação lipídica seja mais acelerada.

Safa et al. (2015) relatam que a concentração de malonaldeído tende a aumentar durante a estocagem, mas verificaram que no 21^o dia de maturação houve decréscimo desses valores em todos os tratamentos, fato também observado no presente estudo. Esse fenômeno pode ocorrer quando a taxa de reação das carbonilas com proteínas se torna maior do que a taxa de formação de TBARS, provavelmente quando ocorrem ligações cruzadas das substâncias reativas ao TBA com proteínas, sendo os TBARS formados e perdidos por reações posteriores (Ozen et al., 2011).

3.3.1.7 Análise microbiológica

As bactérias lácticas e as da família Micrococcaceae são indispensáveis no processo de maturação e secagem dos embutidos fermentados, realizando papel importante nas características sensoriais e segurança microbiológica desses produtos (Ravyts et al., 2012).

As contagens de *Staphylococcus xylosus* e *Lactobacillus plantarum* 343 ao longo do período de elaboração dos embutidos cárneos fermentados probióticos estão apresentadas nas Figuras 1 e 2.

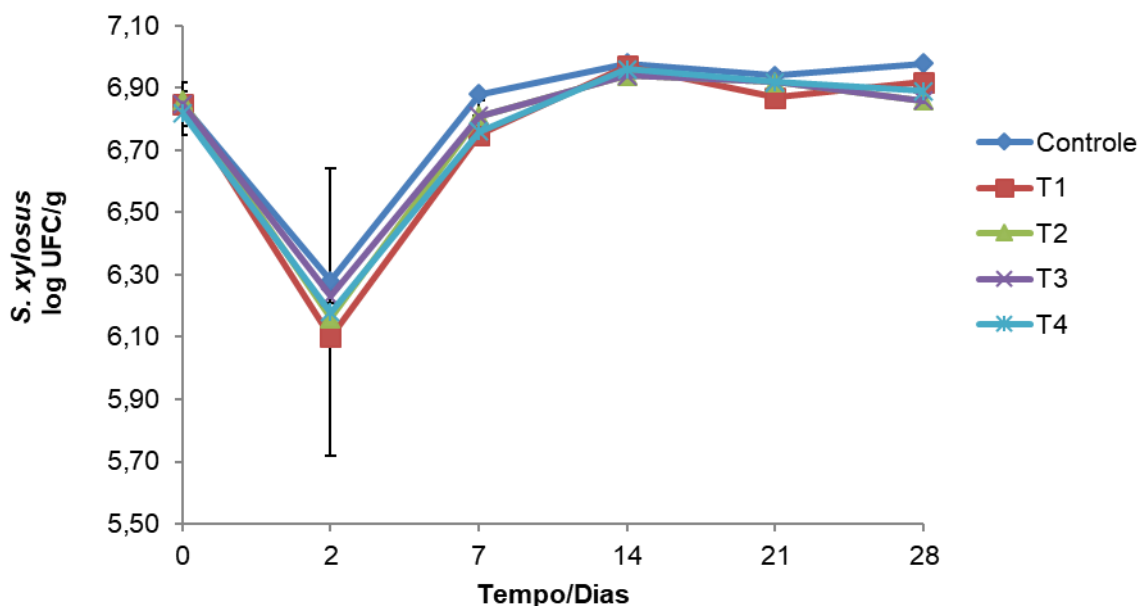


Figura 1. Médias e barras de erro padrão das contagens de *Staphylococcus xylosus* em embutidos cáneos fermentados probióticos com reduções combinadas de sódio e gordura. TC: Controle; T1: 25% redução de gordura e sódio; T2: 25% redução de gordura e 50% redução de sódio; T3: 50% redução gordura e 25% redução sódio, T4: 40% redução de gordura e sódio.

A contagem inicial da população de *S. xylosus* nas amostras foi de aproximadamente 6,85 log UFC/g. Observou-se ligeira redução da população nos 2 primeiros dias de fabricação, fase onde verificou-se a maior queda de pH, mostrando que valores de pH menores a 5,7 influenciam negativamente o desenvolvimento desse grupo de microrganismo (Sorensen & Jackobsen, 1996; Leroy et al., 2006). Em seguida, a população estafilocócica retomou o crescimento, e se manteve estável até o final do processamento, atingindo valores próximos a 7 log UFC/g.

O microrganismo *Staphylococcus xylosus* contribui na coloração devido à atividade das enzimas nitrato redutase e catalase, importantes para a formação e estabilidade da cor, além de prevenir a oxidação lipídica, auxiliando o desenvolvimento de aroma e sabor aos embutidos (Macedo et al., 2008). Além disso, mostra viabilidade para uso associado com bactérias lácticas na elaboração de embutidos fermentados (Cirolini et al., 2010).

No presente estudo, observou-se diferença estatística para o crescimento de *S. xylosus* no TC quando comparado aos demais tratamentos, sugestivo que o crescimento desses estafilococos possa ser reduzido pelas

reduções de sódio e gordura, o que também foi verificado por Corral et al. (2014).

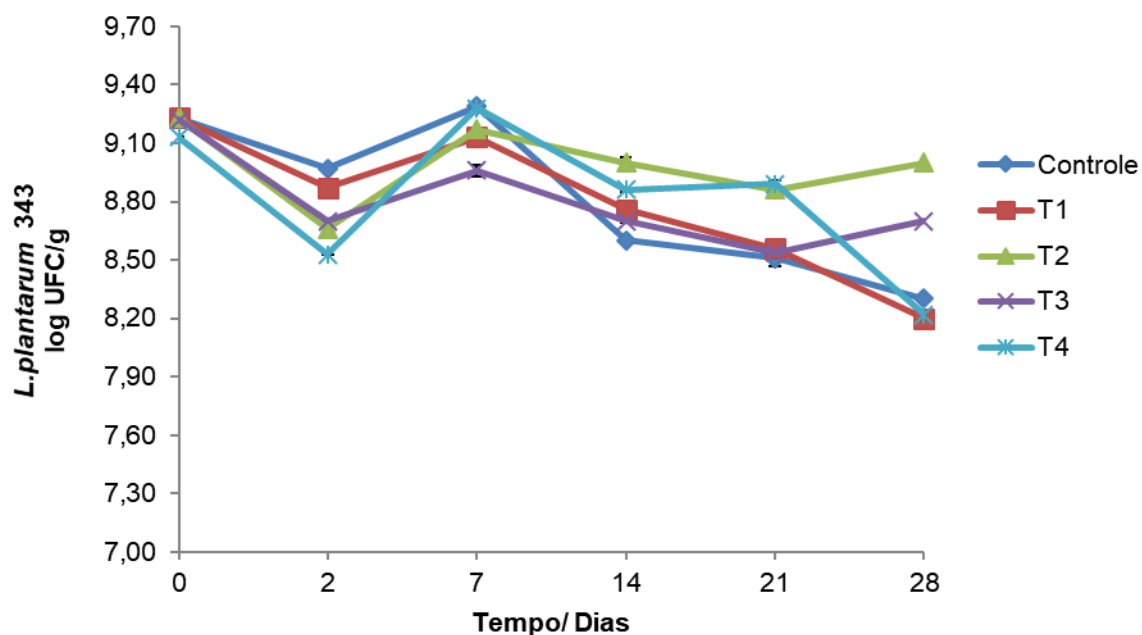


Figura 2. Médias das contagens de *Lactobacillus plantarum* 343 em embutidos cárneos fermentados probióticos com combinações de reduções de sódio e gordura. TC: Controle; T1: 25% redução de gordura e sódio; T2: 25% redução de gordura e 50% redução de sódio; T3: 50% redução gordura e 25% redução sódio, T4: 40% redução de gordura e sódio.

A contagem inicial verificada para *Lactobacillus plantarum* 343 nos embutidos foi de 9,25 log UFC/g. As bactérias probióticas apresentaram crescimento na matriz cárnea, com manutenção ou ampliação no número de células viáveis na primeira semana de fermentação, como pode ser observado na Figura 2.

No que se referem às recomendações da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), os microrganismos probióticos devem estar presentes na faixa de 8 a 9 log UFC na recomendação (porção) diária do produto pronto para o consumo (ANVISA, 2008). A partir do sétimo dia, os *Lactobacillus* mostraram ligeira redução no número de células, porém mantendo valores acima de 8,0 log UFC/g, mínimo recomendado para efeito probiótico, até o final do processamento.

Com os resultados obtidos pode-se afirmar que a cepa probiótica utilizada mostrou-se eficaz como cultura iniciadora láctica sendo capaz de sobreviver e multiplicar-se nos embutidos cárneos.

3.3.1.8 Análise sensorial

Após a obtenção dos resultados físico-químicos e microbiológicos procedeu-se a análise sensorial nos embutidos dos tratamentos que apresentaram as características mais adequadas a um embutido fermentado. Dessa forma, a avaliação sensorial foi realizada nos embutidos dos seguintes tratamentos: TC (formulação original), T1 (25% redução de sódio e toucinho), T3 (25% redução de sódio e 50% redução toucinho) e T4 (40% redução de sódio e toucinho) (Tabela 8).

Tabela 8. Média (\pm erro padrão) das características sensoriais de embutido cárneo fermentado probiótico com reduções combinadas de sódio e gordura.

Características	TC	T1	T3	T4
Odor	7,57 \pm 0,16 ^a	7,22 \pm 0,17 ^a	7,21 \pm 0,18 ^a	7,06 \pm 0,17 ^a
Cor	7,35 \pm 0,15 ^a	7,35 \pm 0,15 ^a	7,23 \pm 0,15 ^a	7,40 \pm 0,13 ^a
Textura	6,59 \pm 0,18 ^{ab}	6,99 \pm 0,17 ^a	6,32 \pm 0,18 ^c	6,81 \pm 0,16 ^{ab}
Sabor	7,91 \pm 0,17 ^a	7,02 \pm 0,15 ^a	7,94 \pm 0,16 ^a	7,76 \pm 0,16 ^a
Avaliação global	7,08 \pm 0,13 ^a	7,27 \pm 0,12 ^a	7,94 \pm 0,15 ^a	7,93 \pm 0,15 ^a

Letras minúsculas na mesma linha indicam diferença significativa entre tratamentos ($P < 0.05$)

As diferentes reduções de sódio e gordura animal e a adição da cultura probiótica não influenciaram a maioria das características sensoriais dos salames. Houve diferença entre os tratamentos somente para o atributo textura, sendo o T3, o tratamento que recebeu as menores notas ($P < 0.05$).

A redução do teor de gordura em 50% em relação ao controle no T3 influenciou a textura dos salames. Corroborando com esse resultado, Ruiz-Capillas et al. (2012) verificaram que os principais efeitos da redução de gordura em salames foram relacionados à redução da suculência e textura. Bolumar et al. (2015) testaram a redução do teor de gordura suína em salame em 35% e a sua substituição por partículas de carne suína magra submetida à alta pressão (HPP). Os autores verificaram que a redução do teor de gordura, sem substituição, afetou somente a textura dos salames que se apresentaram mais duros que o controle.

No presente trabalho, os demais atributos sensoriais dos salames não foram afetados pela redução de sódio ou gordura animal, diferentemente dos

resultados obtidos por Aaslyng et al. (2014), que realizaram reduções entre 22-25% de sódio e 43-45% de gordura e verificaram alteração na qualidade sensorial, sendo o sabor salgado, a suculência e a textura os atributos mais afetados.

Na avaliação global, todos os tratamentos apresentaram índice de aceitabilidade (IA) acima de 96%, sendo que os tratamentos TC e T4 apresentaram 99% de aceitabilidade. Dessa forma, pode-se constatar que as formulações testadas com reduções combinadas de sódio e gordura mostraram excelente aceitação pelos provadores, demonstrando um potencial mercado consumidor.

4 CONCLUSÃO

Os resultados obtidos demonstraram que a redução no teor de sódio e de gordura animal e a substituição da cultura láctica iniciadora tradicional por uma cultura probiótica indígena não alterou negativamente as características físico-químicas e sensoriais dos embutidos fermentados, permitindo a manutenção da cultura probiótica em níveis adequados após 28 dias de maturação.

Entre as formulações testadas, T4 (32% de redução de sódio e 36% de gordura animal) mostrou-se a mais interessante sob o ponto de vista nutricional e tecnológico, apresentando índice de aceitabilidade sensorial acima de 97% e atingindo as recomendações para classificação de produto *light*.

REFERÊNCIAS

- Aaslyng MD, Vestergaard C, Koch AG. The effect of salt reduction on sensory quality and microbial growth in hotdog sausages, bacon, ham and salami. *Meat Science*. 2014; 96(1): 47-55.
- AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Alimentos com alegação de propriedades funcionais e ou de saúde, novos alimentos/ingredientes, substâncias bioativas e probióticos, 2008. Disponível em: http://www.anvisa.gov.br/alimentos/comissoes/tecno_lista_alega.htm. Acesso em: 15 de junho de 2017.
- AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Informação Nutricional Complementar, Portaria MS 27/1998. Disponível em: www.anvisa.gov.br/alimentos/aulas/ii.../informacao_nutricional_complementar.ppt. Acesso em 06 de julho de 2017.
- Alejandre M, Poyato C, Ansorena D, Astiasarán I. Linseed oil gelled emulsion: A successful fat replacer in dry fermented sausages. *Meat Science*. 2016;121: 107-113.
- Ammor MS, Mayo B. Selection criteria for lactic acid bacteria to be used as functional starter cultures in dry sausage production: an update. *Meat Science*. 2007; 76: 138-146.
- AOAC ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. Official methods of analysis. 2005; 16^a ed. Arlington: AOAC, 2005.
- Arief II, Wulandari Z, Aditia EL, Baihaqi M. Physicochemical and microbiological properties of fermented lamb sausages using probiotic *Lactobacillus plantarum* IIA-2C12 as starter culture. *Procedia Environmental Sciences*. 2014;20:352-356.
- Armenteros M, Aristoy MC, Barat JM, Toldrá F. Biochemical and sensory changes in dry-cured ham salted with partial replacements of NaCl by other chloride salts. *Meat Science*. 2012; 90(2): 361-367.
- Aymerich T, Garrig M. Probiotic Fermented Sausages: Myth or Reality? *Procedia Food Science*. 2015; 5: 133-136.
- Backes AM, Terra NN, Milani LIG, Rezer APS, Lüdtké FL, Cavalheiro CP, Fries LLM. Características físico – químicas e aceitação sensorial de salame tipo

italiano com adição de óleo de canola. Semina: Ciências Agrárias. 2013; 34(6): 3709- 3720.

Bolumar T, Toepfl S, Heinz V. Fat reduction and replacement in dry-cured fermented sausage by using high pressure processing meat as fat replacer and olive oil. Polish Journal of Food and Nutrition Sciences. 2015; 65(3):175-182.

BRASIL, Ministério da Agricultura, Secretaria de Defesa Agropecuária, CGAL, Lanagro, RS. Laboratório de Produto de Origem Animal/ SLAV. Método de ensaio – MET: Determinação de sódio e potássio em produtos de origem animal por espectrometria de emissão atômica por chama. 18 de julho de 2014.

BRASIL, Ministério da Saúde. Acordo para reduzir teor de sódio em carnes e laticínios, 2013. Disponível em: <<http://www.blog.saude.gov.br/servicos/33243-ministerio-da-saude-e-abia-fecham-acordo-para-reduzir-teor-de-sodio-em-carnes-e-laticinios.htm>>. Acesso em 25 de julho de 2017.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA. Resolução da Diretoria Colegiada - RDC nº 54, de 12 de novembro de 2012. Dispõe sobre o Regulamento Técnico sobre Informação Nutricional Complementar. Diário Oficial da União, 13 de novembro de 2012. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/630a98804d7065b981f1e1c116238c3b/Resolucao+RDC+n.+54_2012.pdf?MOD=AJPERES>. Acesso em 20 de julho 2017.

BRASIL. Diário Oficial da União. ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária. ANVISA vai monitorar alimentos que devem reduzir presença de sal 2013. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/wps/content/anvisa+portal>. Acesso em 20 de fevereiro de 2017.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e do Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Instrução Normativa no. 22 de 31 de julho de 2000. Regulamentos Técnicos de Identidade de Qualidade de Salames. Diário Oficial da União, Brasília, 03 de agosto de 2000:15-28.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Resolução RDC nº 54 de 12 de novembro de 2012. Regulamento Técnico sobre Informação Nutricional Complementar.

Campagnol PCB, Santos B A, Wagner R, Terra NN, Pollonio MAR. The effect of yeast extract addition on quality of fermented sausages at low NaCl content. *Meat Science*. 2011; 87: 290–298.

Chen X, Li J, Zhou T, Yang J, Chen W, Xiong YL. Two efficient nitrite-reducing *Lactobacillus* strains isolated from tradicional fermented pork (Nanx Wudl) as competitive starts cultures for Chinese fermented dry sausage. *Meat Science*. 2016; 121:302-309.

Cirolini A, Fries LLM, Terra NN, Milani LIG, Urnau D, Santos BA, Cervo GD, Rezer APS. Salame tipo italiano elaborado com culturas *starters* nativas. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*. 2010; 30(1): 171-179.

Corral S, Salvador A, Belloch C, Flores M. Effect of fat and salt reduction on the sensory quality of slow fermented sausages inoculated with *Debaryomyces hansenii* yeast. *Food Control*. 2014;45:1-7.

Corral S, Salvador A, Belloch C, Flores M. Improvement the aroma of reduced fat and salt fermented sausages by *Debaromyces hansenii* inoculation. *Food Control*. 2015; 47: 526-535.

Corral S, Salvador A, Flores M. Salt reduction in slow fermented sausages affects the generation of aroma active compounds. *Meat Science*. 2013; 93(3): 776-785.

DallaSanta OR, Macedo REF, Dalla Santa HS, Zanette CM, Freitas RJS, Terra NN. Use of starter cultures isolated from native microbiota of artisanal sausage in the production of Italian sausage. *Food Science and Technology*. 2014;34(4): 780-786.

Del Nobile MA, Conte A, Incoronato AL, Panza O, Sevi A, Marino R. New strategies for reducing the pork back-fat content in typical Italian salami. *Meat Science*. 2009; 81(1): 263-269.

Desmond E. Reducing Salt: A Challenge for the Meat Industry. *Meat Science*. 2006; 74: 188-196.

Dos Santos BA, Campagnol PCB, Fagundes MB, Wagner R, Pollonio MAR. Generation of volatile compounds in Brazilian low-sodium dry fermented sausages containing blends of NaCl, KCl, and CaCl₂ during processing and storage. *Food Research International*. 2015; 74: 306-314.

Dutcosky S. D. Análise sensorial de alimentos. 4ª edição. 2014. Champagnat. Curitiba. 536p. 2014.

Fuchs RHB, Borsato D, Bona E, Haully MCO. “Iogurte” de soja suplementado com oligofrutose e inulina. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*. 2005; 25: 175-181.

Gelabert J, Gou O, Guerrero L, Arnau J. Effect of sodium chloride replacement on some characteristics of fermented sausages. *Meat Science*. 2003; 65(2): 833-839.

Gomes EB, Moreira TMM, Pereira HCV, Gome FB, Sales IB. Pressão arterial e sua relação com perfil lipídico e hábitos alimentares em adultos jovens. *Journal of Nursing*. 2014; 8(3):581-590.

Gómez M, Lorenzo JM. Effect of fat level on physicochemical, volatile compounds and sensory characteristics of dry-ripened “chorizo” from Celta pig breed. *Meat Science*. 2013; 95: 658–666.

Guàrdia M, Guerrero L, Gelabert J, Gou P, Arnau J. Sensory characterization and consumer acceptability of small caliber fermented sausages with 50% substitution of NaCl by mixtures of KCl and potassium lactate. *Meat Science*. 2008;80: 1225–1230.

Han Q, Kong B, Chen F, Zhang H. *In vitro* comparison of probiotic properties of lactic acid bacteria isolated from Harbin dry sausages and selected probiotics. *Journal of Functional Foods*. 2017; 32: 391-400.

IAL Instituto Adolf Lutz. Métodos físico-químicos para análises de alimentos- Carnes e produtos cárneos. 2008. 4ª edição, São Paulo.

Jiménez-Colmenero F. Potential applications of multiple emulsions in the development of healthy and functional foods. *Food Research International*. 2013; 52(1):64-74.

Jofré A, Aymerich T, Garriga M. *Probiotic Fermented Sausages: Myth or Reality?* *Procedia Food Science*. 2015; 5: 133-136.

Josquin NM, Linssen JP, Houben JH. Quality characteristics of Dutch-style fermented sausages manufactured with partial replacement of pork backfat with pure, pre-emulsified or encapsulated fish oil. *Meat Science*. 2012; 90(1): 81-86.

Laranjo M, Agulheiro- Santos AC, Potes ME, Cabrita MJ, Garcia R, Fraqueza MJ, Ilias M. Effects of genotype salt content and calibre on quality of traditional dry- fermented sausages. *Food Control*. 2015; 56:119-127.

Leroy F, Verluysten J, De Vuyst L. Functional meat starter culture for improved sausage fermentation. *International Journal of Food Microbiology*. 2006; 106: 270-285.

Liaros NG, Katsanidis E, Bloukas JG. Effect of the ripening time under vacuum and packaging film permeability on processing and quality characteristics of a Spanish fermented dry-cured meat product (salchichon) with oregano essential oil used as surface mold inhibitor. *Meat Science*. 2009; 89(1): 35-44.

Macedo REF, Pflanzler Jr SB, Terra NN, Freitas RJSD. Desenvolvimento de embutido fermentado por *Lactobacillus* probióticos: características de qualidade. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*. 2008; 28(3): 509-519.

Malta DC, Moraes Neto OL, Silva Junior JB. Apresentação do plano de ações estratégicas para o enfrentamento das doenças crônicas não transmissíveis no Brasil. *Epidemiologia e Serviços de Saúde*. 2011; 20(4): 425-438.

Mora-Gallego H, Guàrdia MD, Serra X, Gou P, Arnau J. Sensory characterisation and consumer acceptability of potassium chloride and sunflower oil addition in small-caliber non-acid fermented sausages with a reduced content of sodium chloride and fat. *Meat Science*. 2016;112: 9-15.

Mora-Gallego H, Serra X, Guàrdia MD, Arnau J. Effect of reducing and replacing pork fat on the physicochemical, instrumental and sensory characteristics throughout storage time of small caliber non-acid fermented sausages with reduced sodium content. *Meat Science*. 2014; 97: 62-68.

Mora-Gallego H, Serra X, Guàrdia MD, Miklos R, Lametsch R, Arnau J. Effect of the type of fat on the physicochemical, instrumental and sensory characteristics of reduced fat non-acid fermented sausages. *Meat Science*. 2013; 93: 668–674.

Muguerza E, Ansorena D, Artísaràn I. Functional dry fermented sausages manufactured with high level of n-3 fatty acids: nutritional benefits and evaluation of oxidation. *Science of Food and Agriculture*. 2004; 85(9):1061-1068.

Muguerza E, Gimeno O, Ansorena D, Bloukas JG, Astiasaran I. Effect of replacing pork backfat with pre-emulsified olive oil on lipid fraction and sensory quality of Chorizo de Pamplona - a traditional Spanish fermented sausage. *Meat Science*. 2001;59: 251-258.

Ojha KS, Kerry JP, Duffy G, Beresford T, Tiwari, BK. Technological advances for enhancing quality and safety of fermented meat products. *Trends in Food Science & Technology*. 2015; 44(1):105–116.

Olesen PT, Meyer AS, Stahnke LH. Generation of flavour compounds in fermented sausages—the influence of curing ingredients, *Staphylococcus* starter culture and ripening time. *Meat Science*. 2004; 66(3):675-687.

Olivares A, Navarro JL, Flores M. Effect of fat content on aroma generation during processing of dry fermented sausages. *Meat Science*. 2011;87: 264–273.

Ozen BO, Eren M, Pala A, Ozmen I, Soyer A. Effect of plant extracts on lipid oxidation during frozen storage of minced fish muscle. *International Journal of Food Science and Technology*. 2011; 46: 724-731.

Papadima SN, Bloukas JG. Effect of fat level and storage conditions on quality characteristics of traditional Greek sausages. *Meat Science*. 1999;51:103–113.

Ravyts F, De Vuyst L, Leroy F. Bacterial diversity and functionalities in food fermentations. *Engineering in Life Sciences*. 2012; 12:356-367.

Rodrigues FM, Rosenthal A, Tiburski JH, Cruz AG. Alternatives to reduce sodium in processed foods and the potential of high pressure technology. *Food Science and Technology*. 2016; 36(1): 1-8.

Roseiro LC, Santos C, Sol M, Borges MJ, Anjos M, Gonçalves H, Carvalho AS. Proteolysis in *Painho de Portalegre* dry fermented sausages in relation to ripening time and salt content. *Meat Science*. 2008; 79(4):784-794.

Roselino MN. Desenvolvimento de um embutido cárneo fermentado, com teores reduzidos de gordura e sais de cura, através da utilização de culturas probióticas. 2016. 198f. Tese de Doutorado em Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho- Unesp. Araraquara.

Rubio B, Martínez B, García-Cach MD, Rovira J, Jaime I. Effect of the packaging method and the storage time on lipid oxidation and colour stability on dry fermented sausage salchichon manufactured with raw material with a high level of mono and polyunsaturated fatty acids. *Meat Science*. 2008; 80(4):1182-1187.

Rubio R, Aymerich T, Bover-Cid S, Guàrdia MD, Arnau J, Garriga M. Probiotic strains *Lactobacillus plantarum* 299 V and *Lactobacillus rhamnosus* GG as

starter cultures for fermented sausages. *LWT - Food Science and Technology*. 2013; 54: 51-56.

Rubio R, Jofré A, Aymerich T, Guàrdia MD, Garriga M. Nutritionally enhanced fermented sausages as a vehicle for potential probiotic lactobacilli delivery. *Meat Science*. 2014b; 96: 937–942.

Rubio R, Martín B, Aymerich T, Garriga M. The potential probiotic *Lactobacillus rhamnosus* CTC1679 survives the passage through the gastrointestinal tract and its use as starter culture results in safe nutritionally enhanced fermented sausages. *International Journal of Food Microbiology*. 2014a; 186: 55–60.

Ruiz-Capillas C, Triki M, Herrero AM, Rodriguez-Salas L, Jiménez-Colmenero F. Konjac gel as pork backfat replacer in dry fermented sausages: Processing and quality characteristics. *Meat Science*. 2012; 92(2): 144-150.

Safa H, Gatellier P, Lebert A, Picgirard L, Mirade PS. Effect of combined salt and animal fat reductions on physicochemical and biochemical changes during the manufacture of dry-fermented sausages. *Food Bioprocess Technology*. 2015; 8: 2109-2122.

Santos BA, Campagnol PCB, Morgano MA, Pollonio MAR. Monosodium glutamate, disodium inosinate, disodium guanylate, lysine and taurine improve the sensory quality of fermented cooked sausages with 50% and 75% replacement of NaCl with KCl. *Meat Science*. 2014; 96(1): 509-513.

Sarno F, Jaime PC, Ferreira SRG, Monteiro CA. Sodium intake and metabolic syndrome: a systematic review. *Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia*. 2009; 53(5):608-616.

Sidira M, Kandylis P, Kanellaki M, Kourkoutas Y. Effect of curing salts and probiotic cultures on the evolution of flavor compounds in dry-fermented sausages during ripening. *Food Chemistry*. 2016; 201: 334–338.

Sidira M, Kandylis P, Kanellaki M, Kourkoutas Y. Effect of immobilized *Lactobacillus casei* on volatile compounds of heat treated probiotic dry-fermented sausages. *Food Chemistry*. 2015; 178: 201–207.

Sidira M, Karapetsas A, Galanis A, Kanellaki M, Kourkoutas Y. Effective survival of immobilized *Lactobacillus casei* during ripening and heat treatment of probiotic dry-fermented sausages and investigation of the microbial dynamics. *Meat Science*. 2014; 96: 948–955.

Silva AA. Efeito de condição sexual, tempo de confinamento, atmosfera modificada, metabolismo celular e regiões anatômicas do músculo sobre a oxidação e outras características de qualidade da carne bovina maturada. 2014. 74f. Tese de Doutorado em Universidade de São Paulo. Pirassununga. 2014.

Sorensen BB, Jakobsen M. The combined effects of environmental conditions related to meat fermentation on growth and lipase production by the starter culture *Staphylococcus xylosus*. Food Microbiology. 1996;13: 265-274.

Soyer A, Ertas AH, Üzümcüoğlu Ü. Effect of processing conditions on the quality of naturally fermented Turkish sausages (sucuks). Meat Science. 2005; 69(1): 135-141.

Stollewerk K, Jofré A, Comaposada J, Arnau J, Garriga M. The impact of fast drying (QDS process®) and high pressure on food safety of NaCl-free processed dry fermented sausages. Innovative Food Science & Emerging Technologies. 2012;16: 89-95.

Terra ABM, Fries LL, Terra NN. Particularidades na fabricação de salame. 2004. Livraria Varela, São Paulo, SP, Brasil.

Terra NN. Apontamentos de Tecnologia de Carnes. 1998. São Leopoldo: UNISINOS.

Vyncke W. Evaluation of the direct thiobarbituric acid extraction method for determining oxidative rancidity in mackerel (*Scomber scombrus* L.)*. Fatte Seifen Anstrichmittel. 1975; 77: 239-240.

Wolupeck HL, Morete CA, DallaSanta OR, Luciano FB, Madeira HMF, Macedo REF. Methods for the evaluation of antibiotic resistance in *Lactobacillus* isolated from fermented sausages. Ciência Rural. 2017; 47(8): 1-7.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). Review and updating of current WHO recommendations on salt/sodium and potassium consumption. Geneva: WHO. 2011.

Zanardi E, Ghidini S, Conter M, Lanieri A. Mineral composition of Italian salami and effect of NaCl partial replacement on compositional, physico-chemical and sensory parameters. Meat Science. 2010; 86: 742–747.

CAPÍTULO 4

4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A mudança de estilo de vida, a rápida urbanização e o aumento da produção de alimentos processados vêm transformando os hábitos alimentares.

Os alimentos processados estão aumentando em disponibilidade e tornando-se cada vez mais acessíveis. Por isso, consumidores ingerem alimentos ricos em gorduras, açúcares e sal, e em contrapartida, revela-se o aumento das doenças crônicas não transmissíveis desenvolvidas pelo consumo excessivo desses ingredientes.

Porém, a busca por uma melhor qualidade de vida através de fatores como uma alimentação equilibrada, rica em nutrientes e com reduzidos teores de sódio e gordura animal e inclusão de ingredientes que exerçam benefícios à saúde do consumidor favorece a pesquisa e ao desenvolvimento de novos produtos.

A partir dos resultados dos estudos preliminares, pode-se concluir que a substituição da gordura animal por óleo de coco em embutidos fermentados nas condições utilizadas não é recomendada, por causar defeitos na cor instrumental do produto elaborado.

A substituição pelo KCl em 25%, a redução do NaCl e da gordura animal em até 40%, não geraram mudanças significativas na maioria dos parâmetros físicos-químicos, microbiológicos dos embutidos cárneos com probióticos.

Entre as formulações testadas, T4 (32% de redução de sódio e 36% de gordura animal) mostrou-se a mais interessante sob o ponto de vista nutricional e tecnológico, apresentando maiores índices de proteínas, reduzidos níveis de lipídios quando comparados com embutidos tradicionais, segurança microbiológica, demonstrando boa aceitação para os atributos avaliados e atingindo as recomendações para classificação de produto *light*.

A avaliação sensorial realizada nesse estudo demonstrou que o embutido cárneo probiótico apresenta um bom potencial para consumo, uma vez que os resultados do Índice de Aceitabilidade (IA) para os diferentes atributos foram acima de 95%, considerados, portanto, satisfatórios.

Estudos adicionais devem ser realizados para avaliação dos efeitos das reduções simultâneas de sódio e gordura sobre os parâmetros físico – químicos e viabilidade das células probióticas durante armazenamento e estocagem.

Realizar avaliações do consumo do embutido cárneo probiótico *in vivo* sobre parâmetros sanguíneos e microbiota intestinal é de grande relevância para confirmar sua ação benéfica.