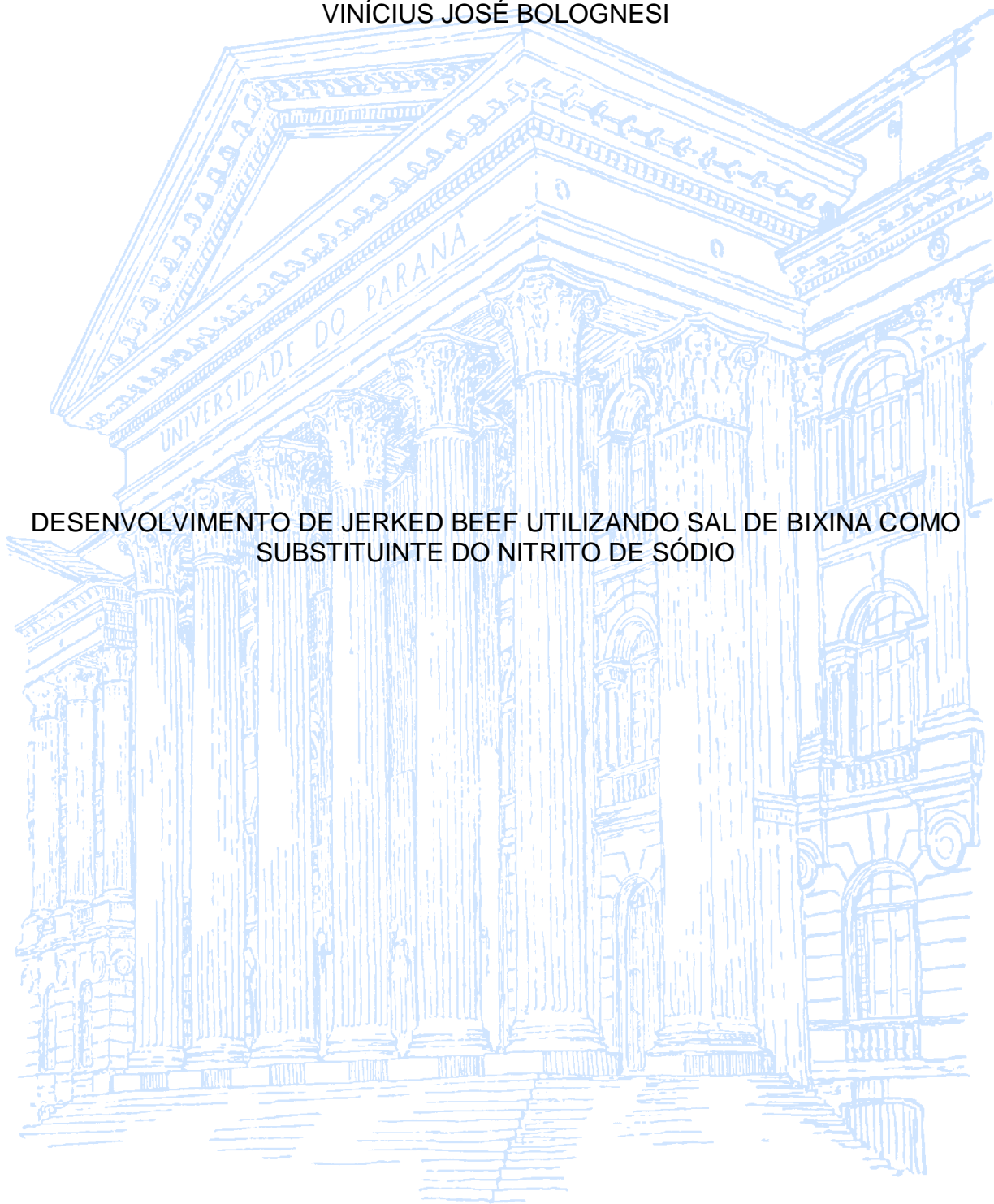


UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

VINÍCIUS JOSÉ BOLOGNESI

**DESENVOLVIMENTO DE JERKED BEEF UTILIZANDO SAL DE BIXINA COMO
SUBSTITUINTE DO NITRITO DE SÓDIO**



**CURITIBA
2014**

VINÍCIUS JOSÉ BOLOGNESI

DESENVOLVIMENTO DE JERKED BEEF UTILIZANDO SAL DE BIXINA COMO
SUBSTITUINTE DO NITRITO DE SÓDIO

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Setor de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Paraná, como parte das exigências para obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Sandra Mara Woranovicz Barreira

Co-orientador: Prof. Dr. Carlos Eduardo Rocha Garcia

CURITIBA
2014

Bolognesi, Vinícius José

Desenvolvimento de Jerked Beef utilizando sal de bixina como substituinte do nitrito de sódio / Vinícius José Bolognesi – Curitiba, 2014.

91 f. : il (algumas color.) ; 30 cm

Orientadora: Professora Dra. Sandra Mara Woranovicz

Coorientador: Professor Dr. Carlos Eduardo Rocha Garcia

Dissertação (mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Setor de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Paraná, 2014.

Inclui bibliografia

1. Antioxidante. 2. Charque. 3. Cor. 4. Cura. 5. Oxidação. I. Woranovicz, Sandra Mara. II. Garcia, Carlos Eduardo Rocha. II. Universidade Federal do Paraná. IV. Título.

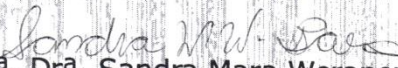
CDD 664.9


TERMO DE APROVAÇÃO

VINICIUS JOSÉ BOLOGNESI

Título: "Desenvolvimento de Jerked Beef utilizando sal de Bixina como substituinte do nitrito de sódio"

Dissertação aprovada como requisito parcial para a obtenção de grau de Mestre, no Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, da Universidade Federal do Paraná, área de concentração: Insumos, Medicamentos e Correlatos.


Prof.^a. Dra.^a. Sandra Mara Woranovicz Barreira
Orientadora


Prof. Dr. Carlos Eduardo Rocha Garcia
Co-orientador


Prof. Dr. Massami Shimokomaki
Universidade Estadual de Londrina


Prof. Dr. Fabio Seigi Murakami
Universidade Federal do Paraná

Curitiba, 11 de agosto de 2014.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, Maria e José e ao Espírito Santo, por, de forma indireta ou não, iluminarem meu caminho.

Agradeço ao Prof. Dr. Carlos Eduardo Rocha Garcia, por me ilustrar e inspirar a seguir o árduo caminho da vida acadêmica.

À Prof.^a Dr.^a Sandra Mara Woranovicz Barreira, por auxiliar e prestar conhecimento sempre que necessário.

À técnica Wandelice Gurski, pelo auxílio nas atividades do laboratório.

Ao Prof. Dr. Ricardo Wagner, pelo auxílio nos ensaios.

Agradeço aos meus olhos, que pela graça de Deus nunca falharam e me permitem abertura aos ensinamentos de todos.

À técnica Grace da central analítica pelo auxílio nas análises e nos equipamentos.

Ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, pela excelência no ensino.

Ao Bruno Bolognesi, pelo apoio e infindáveis discussões sobre a ciência.

Ao fundamental apoio e esforço sem limites dos meus pais e irmã.

Ao Paulo R. M. Carvalho, pela grande ajuda durante a realização dos ensaios.

Ao técnico Vitor Vlnieska, pelas contribuições e amizade.

À Gisele Antoniaconi, por estar ao lado durante essa etapa.

À Prof.^a Dr.^a Maria Lúcia Masson pela disponibilização dos equipamentos de fundamental importância para realização deste trabalho.

À Samanta D. G. Pacheco, pelo esforço durante a obtenção dos resultados.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Capes) e o Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo auxílio financeiro.

RESUMO

O Jerked Beef (JB) é um produto cárneo salgado e desidratado, derivado do charque tradicional, diferenciando-se deste pelo uso de nitrito e embalagem a vácuo, além do maior controle dos parâmetros físico-químicos previstos na legislação. No entanto, estudos demonstram que o nitrito pode se associar a amins biológicas resultando na formação compostos carcinogênicos. Diversos estudos têm avaliado alternativas para substituir os sais de cura por substâncias naturais e de maior segurança ao consumidor. O urucum (*Bixa orellana* L.) é um vegetal cuja semente possui altas concentrações dos carotenoides utilizados para elaboração de um corante amarelo pela indústria alimentícia. Este trabalho teve como objetivo investigar o uso do sal de bixina extraído do urucum como antioxidante e promotor da cor vermelha em substituição ao nitrito de sódio no JB. Amostra de bixina extraída do urucum por Soxhlet e saponificada utilizando solução de KCl 0,9 M. Posteriormente, foram avaliados o efeito da substituição do nitrito por bixinato de potássio sobre a rancidez oxidativa, parâmetros de cor e aceitação sensorial visual de JB elaborado em escala laboratorial, além do acompanhamento dos níveis residuais de nitrito durante 90 dias de armazenamento. Foram avaliados os tratamentos: NIT (150 ppm NaNO₂: 0 ppm bixinato); N/B (75 ppm NaNO₂: 250 ppm bixinato); BIX (0 ppm NaNO₂: 500 ppm bixinato) e CTRL (0 ppm NaNO₂: 0 ppm bixinato). Apresentações comerciais de JB (quatro diferentes marcas) adquiridas em triplicata junto ao varejo de Curitiba-PR também foram avaliadas quanto aos mesmos parâmetros para caracterização do produto industrializado. Amostras formuladas com concentração integral de nitrito apresentaram os menores níveis de oxidação e maior aceitação sensorial visual. Por outro lado, sobretudo quando utilizado como substituinte parcial do nitrito, o bixinato proporcionou a maior intensidade de cor vermelha (a*) e, quando comparado ao controle, significativo efeito antioxidante. O uso do sal de bixina se mostrou uma alternativa viável a ser explorada para minimizar o uso do nitrito. No entanto, estudos complementares são necessários para adequar as concentrações e condições de processamento às características finais desejadas para o JB.

Palavras-chave: antioxidante, charque, cor, cura, oxidação

ABSTRACT

Jerked Beef (JB) is a salted and dried meat product derived from the traditional charqui meat, differing from this by the use of nitrite and vacuum packaging, in addition to control of physico-chemical parameters according to the Brazilian legislation. However, studies have shown that nitrite may be associated with organic amines resulting in the formation carcinogenic compounds. Several studies have evaluated alternatives in order to substitute curing salts by natural substances and consequently improve the consumer safety. Annatto (*Bixa orellana* L.) is a plant containing seeds with high concentration of carotenoids used for preparation of a yellow dye in food industries. The goal of this work is to investigate the use of salt extracted from annatto bixin as antioxidant and also as a promoter of red color replacing sodium nitrite in JB. Bixin extracted from annatto was saponified using 0.9 M KCl. After, the following parameters were analyzed: the effect of replacement of nitrite by potassium bixinate under oxidative rancidity, color and visual sensory acceptance on JB prepared in laboratory scale. The samples prepared were: NIT (150 ppm NaNO₂: bixinate 0 ppm); N/B (75 ppm NaNO₂: bixinate 250 ppm); BIX (0 ppm NaNO₂: 500 ppm bixinate) and CTRL (0 ppm NaNO₂: bixinate 0 ppm). Besides, residual levels of nitrite were evaluated during 90 days. JB sale presentations (four different brands) acquired in triplicate in retailers (Curitiba-PR) were also evaluated on the same parameters to characterize the manufactured product. Samples formulated with full concentration of nitrite showed lower oxidation levels and better visual sensory acceptance. On the other hand, especially when used as a partial replacement of nitrite, bixinate provided the most intense red color (a*). When compared to control sample, significant antioxidant effect was detected. The use of bixinate proved to be a viable alternative to be explored in order to minimize the use of nitrite. However, further studies are necessary to adjust the concentrations and processing conditions for the desired JB final characteristics.

Key words: antioxidant, jerked beef, color, curing, oxidation.

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 – FLUXOGRAMA GERAL PRODUÇÃO DO CHARQUE E JERKED BEEF	4
FIGURA 2 - GRUPAMENTO PROSTÉTICO HEME	8
FIGURA 3 - REAÇÕES ENVOLVIDAS NO PROCESSO DE CURA	10
FIGURA 4 - REAÇÃO DO ÁCIDO NITROSO E PRODUTOS FORMADOS	11
FIGURA 5 - METABOLISMO DO NITRATO E NITRITO NO ORGANISMO	12
FIGURA 6 - ESTRUTURA DA BIXINA (A) E NORBIXINA (B)	23
FIGURA 7 - REAÇÃO DE SAPONIFICAÇÃO DA BIXINA	27
FIGURA 8 – FLUXOGRAMA DA ELABORAÇÃO DO JERKED BEEF EM ESCALA INDUSTRIAL.....	29
FIGURA 9 – AMOSTRAS DE TRATAMENTOS DE JERKED BEEF APÓS 30 DIAS DE ARMAZENAMENTO À 25°C	52

LISTA DE GRÁFICOS

GRÁFICO 1 - NITRITO RESIDUAL (ppm) VERSUS TEMPO DE PRATELEIRA EM JERKED BEEF	43
GRÁFICO 2 - PREFERÊNCIA DOS CONSUMIDORES PELA COR DE APRESENTAÇÕES COMERCIAIS DE JERKED BEEF	52
GRÁFICO 3 – TESTE DE ORDENAÇÃO EM JERKED BEEF A 0 DIA DE PRATELEIRA.....	53
GRÁFICO 4 - TESTE DE ORDENAÇÃO EM JERKED BEEF A 30 DIAS DE PRATELEIRA.....	54
GRÁFICO 5 - TESTE DE ORDENAÇÃO EM JERKED BEEF A 60 DIAS DE PRATELEIRA.....	54
GRÁFICO 6 - TESTE DE ORDENAÇÃO EM JERKED BEEF A 90 DIAS DE PRATELEIRA.....	55

LISTA DE TABELAS

TABELA 1– PIGMENTOS ENCONTRADOS NA CARNE E EM PRODUTOS CÁRNEOS	7
TABELA 2 – DIFERENÇAS ENTRE N-NITROSAMIDAS E N-NITROSAMINAS	14
TABELA 3 – NITROSAMINAS ENCONTRADAS EM DIFERENTES ALIMENTOS ..	18
TABELA 4 – PROPRIEDADES FÍSICAS DE COMPOSTOS DO URUCUM.....	22
TABELA 5 – COMPOSIÇÃO QUÍMICA CENTESIMAL DA MATÉRIA-PRIMA CÁRNEA.....	35
TABELA 6 – OXIDAÇÃO (mg TBARS/KG) EM DIFERENTES APRESENTAÇÕES COMERCIAIS DE JERKED BEEF SEGUNDO O TEMPO DE PRATELEIRA (dias)	36
TABELA 7 – EFEITO DA SUBSTITUIÇÃO DO NITRITO DE SÓDIO POR BIXINATO DE POTÁSSIO SOBRE A OXIDAÇÃO LIPÍDICA (mg TBARS/KG PRODUTO) EM JERKED BEEF	38
TABELA 8 - NÍVEIS RESIDUAIS DE NITRITO DURANTE A VIDA DE PRATELEIRA DE APRESENTAÇÕES COMERCIAIS DE JERKED BEEF	41
TABELA 9 - PARÂMETROS DE COR (L^* , a^* E b^*) AO LONGO DA VIDA DE PRATELEIRA DE APRESENTAÇÕES COMERCIAIS DE JERKED BEEF	45
TABELA 10 – EFEITO DA SUBSTITUIÇÃO DO NITRITO POR SAL DE BIXINA SOBRE A LUMINOSIDADE (L^*) EM JERKED BEEF	47
TABELA 11 – EFEITO DA SUBSTITUIÇÃO DO NITRITO POR SAL DE BIXINA SOBRE A COR VERMELHA (a^*) EM JERKED BEEF	49
TABELA 12 – EFEITO DA SUBSTITUIÇÃO DO NITRITO POR SAL DE BIXINA SOBRE A COR AMARELA (b^*) EM JERKED BEEF	50

LISTA DE ABREVIÇÕES

(NO₂)⁻ - ânion nitrito

(NO₃)⁻ - ânion nitrato

7-MeG – 7-metilguanina

7-Meg – 7-metilguanina

ANOVA – analysis of variance

BHA - butilhidroxianisol

BHT – butilhidroxitolueno

CH – Charque

DNA – ácido desoxirribonucleico

EFSA – Autoridade Europeia de Segurança Alimentar (do inglês, *European Food Safety Authority*)

et al. – et alli

Fe⁺², ou Fe⁺⁺ – íon ferroso

Fe⁺³, ou Fe⁺⁺⁺ – íon férrico

Hb - hemoglobina

HNO₂ – ácido nitroso

HNO₃ – ácido nítrico

IDR – ingestão diária recomendada

JB – Jerked beef

KNO₃ – nitrato de potássio

MAPA – Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento

MDA – malonaldeído

metHb – metahemoglobina

mmol – mili (10⁻³) moles

MNU – metilnitrosouréia

N₂ - nitrogênio

N₂O₃ – anidrido nitroso

NaCl – cloreto de sódio

NADH – dinucleotídeo de nicotinamida e adenina

NDMA – dimetilnitrosamina

NO – óxido nítrico

NOC – compostos N-nitrosos (do inglês, *nitroso compounds*)

O₂ – oxigênio

O-6-Meg – O-6-metilguanina

OMS – Organização Mundial da Saúde

PM – peso molecular

Rpm – rotações por minuto

TBARS – substâncias reativas do ácido tiobarbitúrico (do inglês, *Thiobarbituric Acid Reactive Substances*)

LISTA DE SÍMBOLOS

% – porcentagem
® - produto registrado
a* - vermelho, pelo sistema CIELAB
Aa – atividade de água
b* - amarelo, pelo sistema CIELAB
C* - chroma, pelo sistema CIELAB
Cl – cloro
DP – desvio padrão
h - horas
k – kilo, 10^3
Kg – kilograma
L – litro
L* - luminosidade, pelo sistema CIELAB
m - metro
mg – miligrama, 10^{-2} gramas
min - minutos
mL- mililitro (10^{-3} litro)
N – nitrogênio
Na – sódio
Nm – nanômetros (10^{-9} metro)
°C – graus Celsius
p/p – peso por peso
pH – potencial hidrogeniônico
pK – constante de dissociação (ácido ou base)
Ppm – partes por milhão
R – radical
™ - marca registrada
v/p – volume por peso
 π – letra grega *pi*

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	1
2 OBJETIVO GERAL	2
2.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	2
3 REVISÃO DE LITERATURA	3
3.1 CARNE E PRODUÇÃO NO BRASIL.....	3
3.2 PRODUTOS CÁRNEOS SALGADOS.....	3
3.3 DESENVOLVIMENTO DO CHARQUE AO JERKED BEEF	5
3.4 INFLUÊNCIA DO PROCESSAMENTO DO CHARQUE E JERKED BEEF SOBRE A OXIDAÇÃO LIPÍDICA E COR.....	5
3.5 INFLUÊNCIA DO NITRATO E NITRITO SOBRE PRODUTOS CÁRNEOS.....	9
3.6 METABOLISMO E EFEITOS DO NITRATO E NITRITO	11
3.7 FORMAÇÃO DE COMPOSTOS NITROSOS	13
3.7.1 Capacidade carcinogênica dos compostos nitrosos	15
3.8 OCORRÊNCIA DE NITRATO, NITRITO E COMPOSTOS N-NITROSOS NOS ALIMENTOS	16
3.8.1 Frequência de compostos N-nitrosos na carne e produtos constituídos de proteína animal	17
3.9 APLICAÇÃO DE ADITIVOS NATURAIS	19
3.10 URUCUM E SUAS PROPRIEDADES	21
4 MATERIAL E MÉTODOS.....	26
4.1 CARACTERIZAÇÃO DE APRESENTAÇÕES COMERCIAIS DE JERKED BEEF	26
4.2 MATÉRIA-PRIMA.....	26
4.2.1 Matéria-prima carne utilizada na elaboração do jerked beef formulado com substituição do nitrito de sódio por bixinato de potássio	26
4.2.2 Obtenção da bixina	27
4.2.3 Saponificação da bixina	27

4.3 PREPARAÇÃO DAS AMOSTRAS DE JERKED BEEF EM ESCALA LABORATORIAL	28
4.3.1 Determinação de pH	29
4.3.2 Umidade.....	29
4.3.3 Conteúdo de proteínas.....	30
4.3.4 Lipídios.....	30
4.3.5 Resíduo mineral fixo.....	30
4.4 ANÁLISE DE OXIDAÇÃO LIPÍDICA.....	30
4.4.1 Metodologia	30
4.4.2 Oxidação lipídica em apresentações comerciais de jerked beef.....	31
4.4.3 Oxidação lipídica em amostras de jerked beef formulado substituição de nitrito de sódio por bixinato de potássio	31
4.5 DETERMINAÇÃO DE NITRITO RESIDUAL.....	31
4.5.1 Pesquisa de nitrito residual em apresentações comerciais de jerked beef	32
4.5.2 Investigação de nitrito residual em jerked beef formulado com substituição de nitrito por bixinato de potássio.....	32
4.6 ANÁLISE COLORIMÉTRICA	32
4.6.1 Mensuração de cor em apresentações comerciais de jerked beef	33
4.6.2 Avaliação da cor em jerked beef formulado com substituição de nitrito de sódio por bixinato de potássio	33
4.7 ACEITAÇÃO SENSORIAL VISUAL.....	33
4.7.1 Preferência pela cor em apresentações comerciais de jerked beef	34
4.7.2 Aceitação sensorial visual do jerked beef formulado com substituição do nitrito de sódio por bixinato de potássio	34
4.8 ANÁLISE ESTATÍSTICA	34
4.8.1 Análise estatística das apresentações comerciais de jerked beef	34
4.8.2 Avaliação da análise estatística em jerked beef formulado com substituição do nitrito por sal de bixina	35

5 Resultados	35
5.1 CARACTERIZAÇÃO DA MATÉRIA-PRIMA UTILIZADA NA ELABORAÇÃO DE JERKED BEEF EM ESCALA LABORATORIAL	35
5.2 OXIDAÇÃO LIPÍDICA	36
5.2.1 Rancidez oxidativa em apresentações comerciais de jerked beef	36
5.2.2 Efeito da substituição de nitrito de sódio por bixinato de potássio sobre a oxidação lipídica em jerked beef	37
5.3 NITRITO RESIDUAL	40
5.3.1 Análise residual de nitrito em apresentações comerciais de jerked beef	40
5.3.2 Efeito da substituição de nitrito de sódio por bixinato de potássio sobre o nitrito residual em jerked beef	42
5.4 ANÁLISE DOS PARÂMETROS DE COR	44
5.4.1 Parâmetros de cor em apresentações comerciais de jerked beef	44
5.4.2 Efeito da substituição do nitrito de sódio por bixinato de potássio sobre a cor em jerked beef	46
5.4.2.1 Luminosidade	46
5.4.2.2 Vermelho	48
5.4.2.3 Amarelo	50
5.5 ANÁLISE SENSORIAL	51
5.5.1 Análise sensorial das apresentações comerciais de jerked beef	51
5.5.2 Efeito da substituição do nitrito de sódio por bixinato de potássio sobre a avaliação sensorial em jerked beef	52
6 CONCLUSÃO	56
Referências	57
Anexos	76
Anexo 1 – Ficha de análise sensorial visual	76

1 INTRODUÇÃO

A carne é a musculatura dos animais utilizada como alimento (LAWRIE, 2005), constituída de proteínas de alto valor biológico, ácidos graxos essenciais e vitaminas (SANTOS *et al.*, 2001). No Brasil, o elevado consumo de carnes fez surgir derivados com diferentes características e particulares métodos de produção, como o charque (CH), cuja desidratação era uma alternativa para refrigeração, e mesmo após o advento dessa tecnologia, o sabor diferenciado do produto o tornou apreciável pela população permitindo expansão do seu consumo (SHIMOKOMAKI *et al.*, 1998). Um sucedâneo do charque foi introduzido no Brasil, chamado *Jerked Beef* (JB), diferenciando-se por utilizar sais de cura e embalagem a vácuo (BISCONTINI *et al.*, 1996).

Os sais de cura, constituídos pelo nitrato e nitrito de sódio, são utilizados com o intuito de prolongar o tempo de vida de alimentos altamente perecíveis, entre eles os produtos cárneos (HONIKEL, 2008). Após o desenvolvimento dos sistemas de preservação dos alimentos, os sais de cura continuam a ser amplamente utilizados, pois, promovem proteção oxidativa, cor e sabores diferenciados dificilmente simuláveis por outros processos ou ingredientes (SEBRANEK, 1979), além de propiciar função conservante ao inibir o *Clostridium botulinum* (PERIGO, WHITING e BASHFORD, 1967).

O amplo uso dos sais de cura fez emergir estudos sobre sua toxicidade e segurança alimentar, e, na década de 70, descobriu-se que na metabolização do nitrito há formação de compostos nitrosos de propriedades carcinogênicas (SINDELAR e MILKOWSKI, 2011). Essa limitação trouxe maior atenção aos consumidores à toxicidade dos aditivos sintéticos, o que fez a indústria desenvolver alternativas para substituir compostos artificiais por substâncias naturais, fornecendo uma imagem mais saudável aos seus produtos (MERCADANTE *et al.*, 2010).

Derivados de plantas naturais vêm sendo desenvolvidos para aplicação em produtos cárneos. Por exemplo, ameixa, extrato de uva, romã e casca de pinho são produtos que exibiram atividade antioxidante (KARRE, LOPEZ e GETTY, 2013).

Dentre as espécies estudadas como fonte de aditivos alimentícios destaca-se a *Bixa orellana* L., ou urucum, como é popularmente conhecido. Este vegetal amplamente cultivado no Brasil é reconhecido, inclusive pela legislação nacional, como matéria-prima para corantes industriais e utilizado para emprestar coloração característica ao tingimento da superfície externa de salsichas. A capacidade corante do urucum reside em dois carotenoides principais; a bixina e a norbixina, pigmentos que diferem quanto à coloração e solubilidade em água (MERCADANTE *et al.*, 2010).

A norbixina, pigmento de características hidrofílicas e comumente utilizado na indústria cárnea, confere coloração laranja limitando seu uso em produtos onde se espera o desenvolvimento da cor vermelha (SCOTTER *et al.*, 1998). Por outro lado, estudos têm demonstrando a capacidade de a bixina conferir cor vermelha a produtos cosméticos e alimentícios, no entanto, esta aplicação limita-se a meios lipofílicos (ROCHA GARCIA *et al.*, 2012). De forma adicional, pesquisas tem demonstrado que os carotenoides extraídos do urucum, possivelmente em razão da presença em suas estruturas químicas de extensa cadeia de ligações duplas conjugadas e aptas à realização de mecanismos de ressonância, podem atuar também na indústria alimentícia como antioxidantes (CASTRO, MARIUTTI e BRAGAGNOLO, 2011).

Diante do exposto, este trabalho avaliou o uso de derivados da bixina extraída do urucum para prover cor vermelha e ação antioxidante ao Jerked Beef, analisando a viabilidade deste aditivo natural substituir o uso de nitrito de sódio neste produto.

2 OBJETIVO GERAL

Este trabalho tem como objetivo investigar o uso do sal de bixina extraído do urucum como substituinte do nitrito de sódio em jerked beef.

2.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

– Caracterizar os níveis residuais de nitrito, oxidação e cor durante a vida de prateleira de apresentações comerciais de jerked beef;

- Identificar os níveis de nitrito durante as etapas de produção e armazenamento de jerked beef elaborado com substituição total ou parcial do sal de cura por bixinato de potássio;
- Avaliar a capacidade antioxidante do bixinato de potássio durante a vida de prateleira do jerked beef comparando-o aos resultados apresentados pelo nitrito de sódio;
- Comparar o efeito da substituição do nitrito de sódio pelo bixinato de potássio sobre os parâmetros de cor do jerked beef;
- Avaliar a aceitação sensorial visual da substituição de nitrito de sódio por bixinato de potássio durante a vida de prateleira de jerked beef.

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 CARNE E PRODUÇÃO NO BRASIL

A carne bovina ganha destaque como um dos alimentos mais apreciados pelo brasileiro (IBGE, 2010) com consumo *per capita* de 40 Kg/ano (CNA, 2013). A evolução tecnológica e o crescimento econômico do Brasil (ALVARENGA, 2014) são alguns dos fatores que contribuem para o aumento do consumo e produção de carne bovina. Atualmente, o Brasil é destaque na produção e exportação de carne bovina, produzindo quase 9 milhões de toneladas em 2013 (CNA, 2013) e exportando 16% delas, das quais, 5300 toneladas na forma de carnes salgadas (ABIEC, 2013).

3.2 PRODUTOS CÁRNEOS SALGADOS

Os principais derivados cárneos salgados produzidos no Brasil são o charque e o jerked beef. O charque é definido pelo Ministério da Agricultura, Pecuária

e Abastecimento (MAPA) como a carne bovina salgada e dessecada, devendo apresentar 45% de umidade e 15% de resíduo mineral (BRASIL, 1962). Por outro lado, o jerked beef é o produto cárneo industrializado obtido da carne bovina, adicionado de cloreto de sódio e sais de cura, maturado e dessecado, com umidade de 55%, atividade de água (Aa) máxima 0,78 e matéria mineral 18,3% (BRASIL, 2000). Ambos os derivados salgados são considerados como um produto de umidade intermediária, elaborado pela desidratação resultante do uso do sal e secagem ao sol e obtidos pela tecnologia de obstáculos (SHIMOKOMAKI *et al.*, 1998).

O processo industrial do CH constitui-se basicamente de 4 etapas: salga úmida, salga seca, secagem ao sol e empilhamento. Primeiramente as peças cárneas são imersas em soluções salinas, sendo posteriormente retiradas e intercaladas com camadas de sal grosso e dispostas em pilhas por 3 a 5 dias, com inversão diária (tombos) dessas camadas, alterando-se verticalmente a posição dos cortes. Após a salga seca, ocorre lavagem das peças com água clorada e então se prossegue com a secagem das peças ao sol por 5 dias. Na elaboração do JB, os sais de cura são adicionados junto à imersão salina durante a etapa de salga úmida, e ao final do processo o produto é embalado a vácuo (SHIMOKOMAKI *et al.*, 1998).

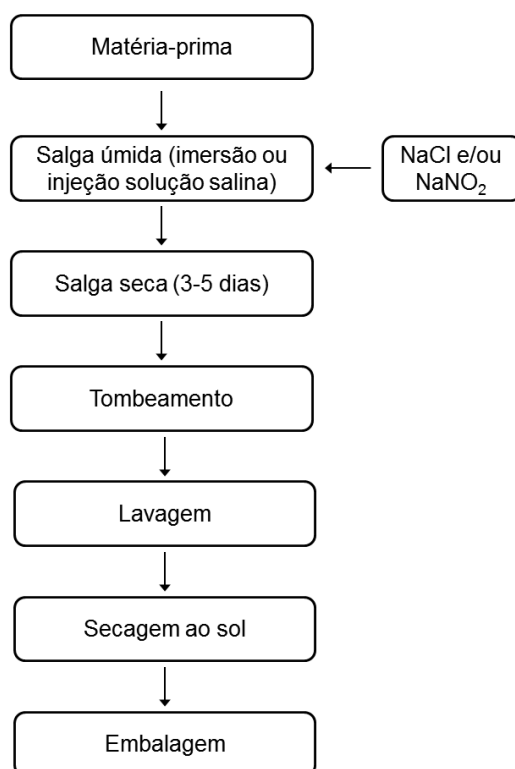


FIGURA 1 – FLUXOGRAMA GERAL PRODUÇÃO DO CHARQUE E JERKED BEEF
FONTE: SHIMOKOMAKI *et al.* (1998)

3.3 DESENVOLVIMENTO DO CHARQUE AO JERKED BEEF

O JB surgiu na década de 80 com o objetivo de modernizar o processo de produção, aumentar a segurança e expandir a distribuição desse produto para consumidores mais exigentes (BISCONTINI *et al.*, 1992). Uma das suas inovações tecnológicas foi a utilização de injetoras automáticas e climatização da produção, visando reduzir contaminação microbiológica, além de utilizar matéria-prima de maior valor comercial (SHIMOKOMAKI *et al.*, 1987; BISCONTINI *et al.*, 1992).

Outra modificação consistiu no uso de embalagem à vácuo, inovação que poderia ser apontada como um fator de risco para proliferação do *Clostridium botulinum*, caso os parâmetros físico-químicos especificados para o CH não fossem atingidos (LARA *et al.*, 1999). Portanto, a fim de atestar a segurança microbiológica e promover desenvolvimento de coloração vermelha típica de produtos cárneos curados, os sais de curam foram então adicionados, constituindo o JB (BISCONTINI *et al.*, 1992).

3.4 INFLUÊNCIA DO PROCESSAMENTO DO CHARQUE E JERKED BEEF SOBRE A OXIDAÇÃO LIPÍDICA E COR

Os processos e operações utilizados pela indústria cárnea favorecem a ocorrência da oxidação lipídica. A desnaturação proteica leva a liberação de íons metálicos como ferro e cobre livres, tornando-se potentes catalisadores da rancidez (GRAY *et al.*, 1996; MORRISEY *et al.*, 1998). Diversas publicações demonstraram o efeito pró-oxidante da salga sobre as características finais do charque (TORRES *et al.*, 1994). Segundo Decker e Xu (1998), o cloreto de sódio possui efeito pró-catalítico ao aumentar a reatividade do ferro, ou então por promover a liberação do ferro hemínico da mioglobina. Sugere-se que a salga poderia inibir enzimas de ação antioxidante presentes no músculo, como a catalase, superóxido dismutase e glutathione oxidase (LEE *et al.*, 1997).

O desenvolvimento do CH ao JB, por levar à implementação da embalagem à vácuo e utilização do nitrito (BISCONTINI *et al.* 1992), auxiliou a minimizar a oxidação lipídica e promoção da cor vermelha. A adição do sal de cura

em JB foi capaz de reduzir a rancidez oxidativa em aproximadamente metade do obtido pelo controle (YOUSSEF, ROCHA GARCIA e SHIMOKOMAKI *et al.*, 2003). Ao avaliar 7 diferentes marcas de jerked beef comercial, todas as amostras apresentaram baixos níveis de oxidação, ainda que os níveis residuais de nitrito fossem reduzidos e variáveis de traços até 10 ppm (YOUSSEF *et al.*, 2011).

A cor é um parâmetro impactante para aceitação comercial dos produtos cárneos em razão de constituir um fator de qualidade (MANCINI e HUNT, 2005). Nos produtos cárneos e na carne em si, a cor se dá pela conformação, tipo de ligação de mioglobina presente e estado de oxidação do ferro do grupo heme, uma das unidades estruturais da mioglobina (LAWRIE, 2005). Essa proteína é o principal pigmento da carne e dos produtos cárneos e consiste em 15 tipos (TABELA1), e todas apresentam em sua estrutura um núcleo de hematina ligado a um componente proteico, a globina, cujo peso molecular (PM) está em torno de 17000 (LAWRIE, 2005).

TABELA 1– PIGMENTOS ENCONTRADOS NA CARNE E EM PRODUTOS CÁRNEOS

Pigmento	Modo de formação	Estado do ferro	Estado do núcleo de hematina	Estado da globina	Cor
1. Mioglobina metamioglobina	Redução da desoxigenação da oximioglobina	Fe ⁺²	Intacta	Nativa	Vermelho-púrpura
2. Oximioglobina	Oxigenação da mioglobina, oximioglobina	Fe ⁺²	Intacta	Nativa	Vermelho-brilhante
3. Metamioglobina	Oxidação da mioglobina	Fe ⁺³	Intacta	Nativa	Marrom
4. Mioglobina óxido nítrico (Nitrosomioglobina)	Combinação da mioglobina com óxido nítrico	Fe ⁺²	Intacta	Nativa	Vermelho-brilhante (rosa)
5. Metamioglobina óxido nítrico (Nitrosometamioglobina)	Combinação da metamioglobina com óxido nítrico	Fe ⁺³	Intacta	Nativa	Carmim
6. Metamioglobina nitrito	Combinação da metamioglobina com excesso de nitrito	Fe ⁺³	Intacta	Nativa	Vermelho-amarronzado
7. Mioemocromogênio globina	Efeito do calor, de agentes desnaturantes da mioglobina, oximioglobina; irradiação da gobinahemicromogênio	Fe ⁺²	Intacta (usualmente ligada à proteína desnaturada que não a globina)	Desnaturada (usualmente desligada)	Vermelho-opaco
8. Mioemicrogênio globina	Efeito do calor, de agentes desnaturantes da mioglobina, oximioglobina; metamioglobina hemocromogênio	Fe ⁺³	Intacta (usualmente ligada à proteína desnaturada que não a globina)	Desnaturada (usualmente desligada)	Marrom (algumas vezes cinza)
9. Mioemocromogênio óxido nítrico	Efeito do calor, de agentes desnaturantes na mioglobina óxido nítrico	Fe ⁺²	Intacta	Desnaturada	Vermelho-brilhante (rosa)
10. Sulfamioglobina	Efeito do H ₂ S (ácido sulfídrico, produzido por bactérias) e do oxigênio na mioglobina	Fe ⁺²	Intacta mas uma liga dupla saturada	Nativa	Verde
11. Metasulfamioglobina	Oxidação da sulfamioglobina	Fe ⁺³	Intacta mas uma liga dupla saturada	Nativa	Vermelho
12. Coleglobina	Efeito do peróxido de hidrogênio na mioglobina ou oximioglobina; ou efeito do ácido ascórbico ou outro agente redutor na oximioglobina	Fe ⁺² ou Fe ⁺³	Intacta mas uma liga dupla saturada	Nativa	Verde
13. Nitriemina	Efeito de um grande excesso de nitrito e calor	Fe ⁺³	Intacta mas reduzida	Ausente	Verde
14. Verdoeme	Efeito de excesso de reagentes como descrito em 7-9	Fe ⁺³	Anel porfirínico aberto	Ausente	Verde
15. Pigmentos biliares	Efeito de grande excesso de reagentes descritos em 7-9	Fe ausente	Anel porfirínico destruído	Ausente	Amarelo ou sem cor

FONTE: LAWRIE (2005)

O ferro está inserido na parte da mioglobina denominada hematina, que é configurada por 4 anéis pirrólicos (gerando um anel porfirínico) coordenados por um anel centrado de ferro (LAWRIE, 2005) formando assim o grupo prostético, também conhecido por grupo heme (FIGURA 2) (CLYDESDALE e FRANCIS, 1976). O átomo de ferro associado no grupo heme apresenta 6 locais de coordenação, sendo 4 no mesmo plano e ligados aos nitrogênios dos anéis pirrólicos e outros 2 perpendiculares a eles, dos quais 1 ligado a um resíduo de histidina pertencente à globina e outro livre para se ligar a qualquer ligante (STRYER, 1995; BEKHIT e FAUSTMAN, 2005).

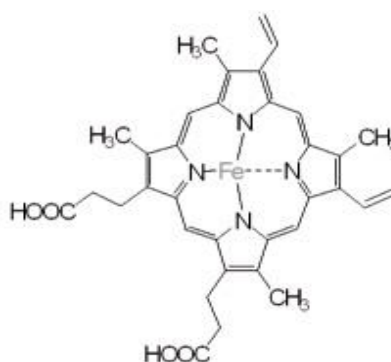


FIGURA 2 - GRUPAMENTO PROSTÉTICO HEME
FONTE: SANTOS e CHIN, 2012

A mioglobina, em sua forma nativa, apresenta em seu núcleo porfirínico o Fe⁺² (ferro reduzido), e ao se ligar com o oxigênio alterar a cor para vermelho-brilhante, chamando-se então de oximioglobina. Caso o Fe⁺² seja oxidado (a Fe⁺³), tanto por baixos teores de oxigênio (FARIA *et al.*, 2001) ou por oxidação espontânea (BEKHIT e FAUSTMAN, 2005), a mioglobina adquire cor marrom, e se torna a metamioglobina (TABELA 1). Essas três formas estão coexistindo na carne e, assim como são oxidadas, também podem ser reduzidas (FARIA *et al.*, 2001).

Os produtos cárneos salgados são fortemente influenciados pela concentração salina, pois esta causa oxidação do ferro ligado à mioglobina, alterando sua coloração (SHIMOKOMAKI *et al.*, 1987). Quando avaliado pelo sistema CIELAB, a cocção do CH promoveu elevação nos valores de luminosidade em relação ao charque não cozido devido à oxidação do ferro que promove alteração da cor do produto vermelho a marrom (YOUSSEF, ROCHA GARCIA e SHIMOKOMAKI, 2003). A aplicação dos sais de cura promove cor distinta, causada pela ligação do óxido nítrico, proveniente da redução do nitrito, à mioglobina, formando a nitrosomioglobina,

de cor vermelha característica de produtos cárneos, que se mantém mesmo após cocção (LAWRIE, 2005).

Experimentos prévios demonstraram que no JB em escala laboratorial, o componente vermelho foi maior na matéria-prima e nas amostras tratadas com sal de cura do que o correspondente CH. Enquanto no charque é encontrada maior proporção de metamioglobina, cujo ferro está na forma oxidada e resultando em coloração marrom, no JB, as amostras se mostraram menos oxidadas, com íon ferro na forma reduzida e apresentando coloração vermelha (YOUSSEF, ROCHA GARCIA e SHIMOKOMAKI, 2003).

3.5 INFLUÊNCIA DO NITRATO E NITRITO SOBRE PRODUTOS CÁRNEOS

O processo de promoção da cor vermelha nos produtos cárneos se inicia pela reação da mioglobina com os produtos do nitrato/nitrito. Na forma ferrosa pode se ligar ao oxigênio ou óxido nítrico (LAWRIE, 2005), mas, sob aquecimento, a parte proteica mioglobina-NO é desnaturada, com exceção do grupamento heme ligado ao óxido nítrico, mantendo a cor vermelha (HONIKEL, 2008) (FIGURA 3). A cor típica do produto curado apresenta como reagente limitante a quantidade de mioglobina, que depende tanto da matéria-prima como também de sua forma de conservação até o processo de cura (PARTHASARATHY e BRYAN, 2012).

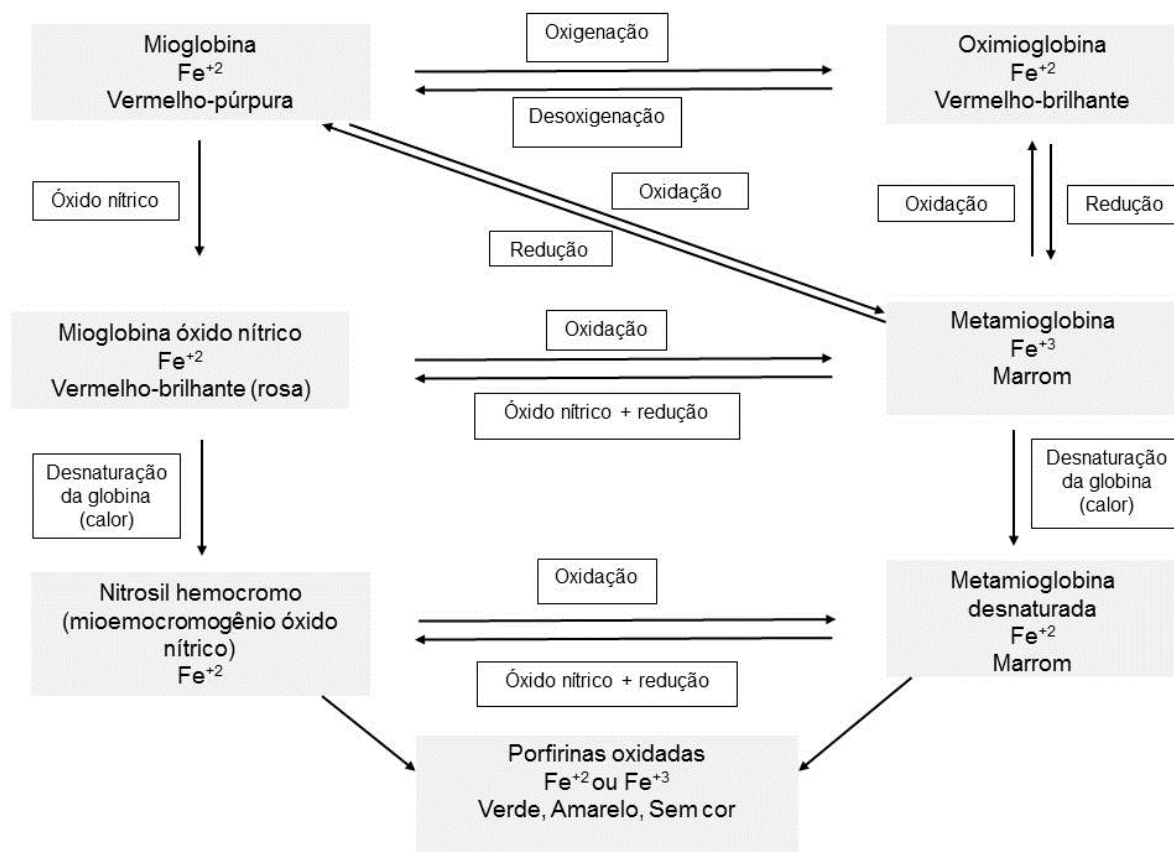


FIGURA 3 - REAÇÕES ENVOLVIDAS NO PROCESSO DE CURA
 FONTE: BARD e TOWNSEND, 1971; LAWRIE, 2005

A reação de formação do óxido nítrico pode ser realizada por decomposição do ácido nitroso, originado pela solubilização do nitrito em meio ácido e sujeito a sofrer uma série de reações, gerando anidrido nitroso (N_2O_3), conhecido como agente nitrosante, que entra em equilíbrio formando óxido nítrico, o qual atua sobre a mioglobina (HONIKEL, 2008)(FIGURA 4). O óxido nítrico também pode ser obtido pela ação de agentes redutores como o ácido ascórbico, muito utilizado pela indústria cárnea (LAWRIE, 2005).

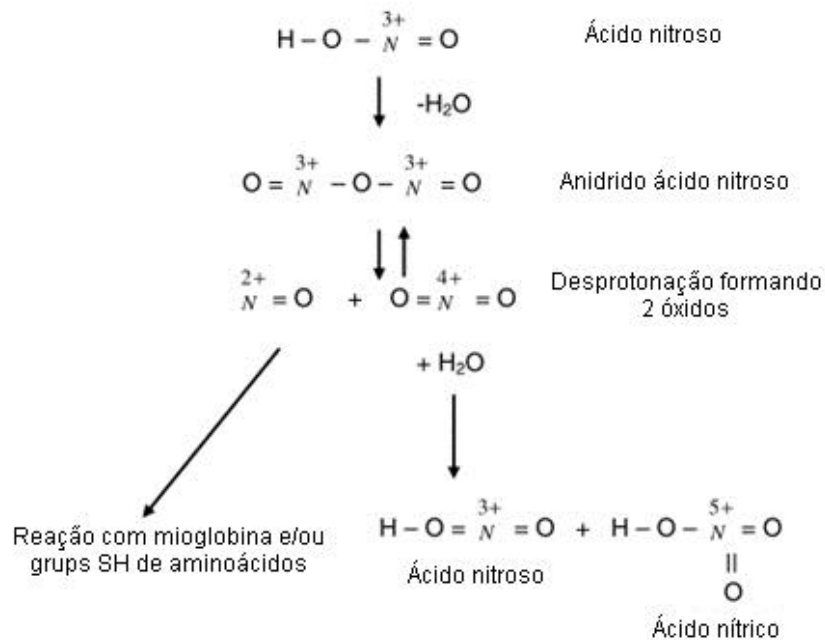


FIGURA 4 - REAÇÃO DO ÁCIDO NITROSO E PRODUTOS FORMADOS
 FONTE: HONIKEL, 2008

3.6 METABOLISMO E EFEITOS DO NITRATO E NITRITO

O nitrato é absorvido rapidamente pelo trato gastrointestinal superior, com meia-vida em torno de 5 horas (CASSENS, 1997a), e para nitrito entre 25 a 30 min (KORTBOYER *et al.*, 1997) sendo eliminada na urina (FIGURA 5) ou absorvida no trato gastrointestinal (CASSENS, 1997a). O nitrato, ao ser absorvido, entra na circulação sanguínea e é secretado novamente na saliva, onde pode ser reduzido a nitrito por bactérias localizadas na língua, ou então engolido e absorvido no estômago, gerando um ciclo (ALEXANDER *et al.*, 2008). O nitrito é instável em pH ácido e também pode ser oxidado a nitrato no estômago (KORTBOYER *et al.*, 1997). Estudo demonstrou que o aumento do pH estomacal de pacientes voluntários que ingeriram nitrito via oral apresentaram maior concentração de nitrito no suco gástrico, quando comparados a pacientes com pH estomacal normal (KORTBOYER *et al.*, 1995).

O nitrato ou nitrito absorvido pode exercer a função fisiológica de aumentar a concentração endógena de óxido nítrico, como visto por McKinght *et al.* (1997), em que a ingestão de nitrato ou nitrito na dieta aumenta a concentração de NO em 10 mil vezes no trato intestinal superior (McKINGHT *et al.*, 1997). Outra

possibilidade de ação do nitrito é a formação de metahemoglobina, que apresenta menor afinidade pelo oxigênio e é dado como o principal efeito adverso causado pela ingestão de nitrato/nitrito (COCKBURN *et al.*, 2010). Segundo estudos, se a concentração de metahemoglobina (metHb) atingir 20%, podem ocorrer cianose e hipóxia como efeitos colaterais, e quantidade de metahemoglobina acima dos 50% é letal (MENSINGA *et al.*, 2003). No entanto, essas reações podem ser revertidas por meio da metHb redutase (COCKBURN *et al.*, 2010).

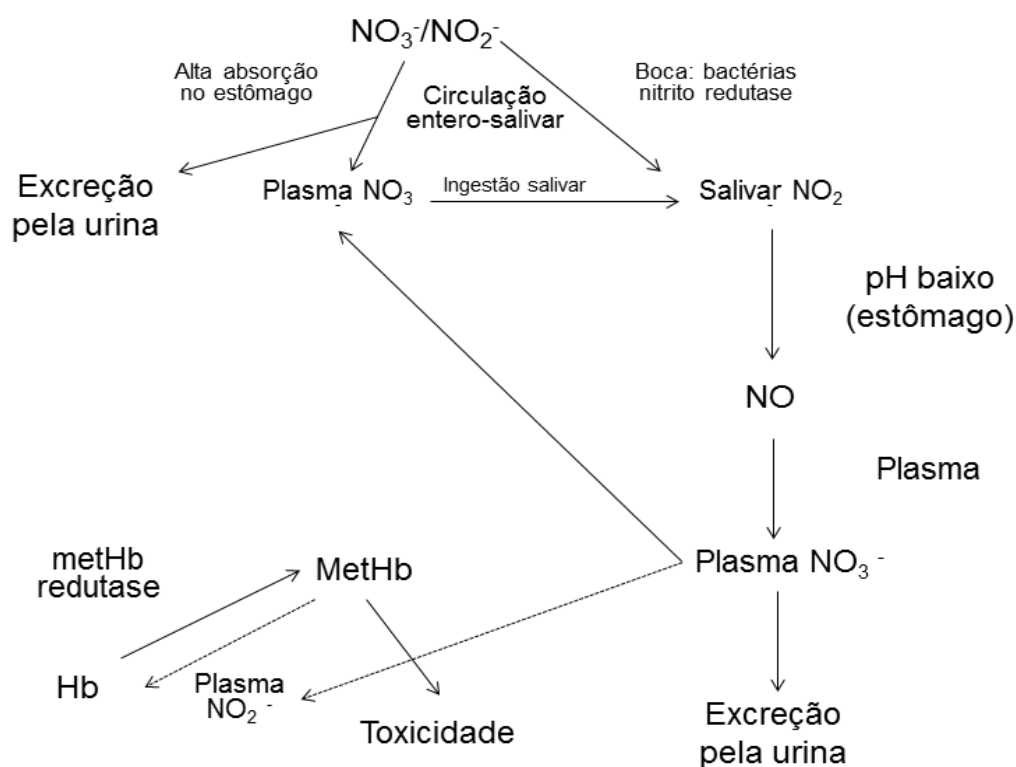


FIGURA 5 - METABOLISMO DO NITRATO E NITRITO NO ORGANISMO
 FONTE: COCKBURN *et al.*, 2010

A Organização Mundial da Saúde (OMS) determinou, em 2003, o limite de 0-3,7mg de nitrato/Kg peso corpóreo e 0-0,07mg nitrito/peso corpóreo. Em 2008 esses limites foram revisados pela autoridade europeia de segurança alimentar (EFSA) que concluiu serem seguros estes níveis de consumo diário (ALEXANDER *et al.*, 2008).

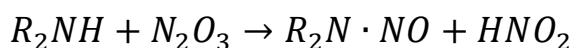
3.7 FORMAÇÃO DE COMPOSTOS NITROSOS

A formação dos compostos nitrosos (NOC) foi primeiramente descoberta em 1956, por Magee e Barmes (LIJINSKY, 1999), e é mediada pela catálise ácida do nitrito com componentes nitrogenados formando anidrido nitroso (FIGURA 4), que é um forte agente nitrosante e reage com aminas presentes nos aminoácidos. O processo de nitrosação pode ocorrer em aminas primárias, secundárias e terciárias. No caso de uma nitrosação em aminas primárias alifáticas os produtos serão álcoois e alcenos, enquanto a nitrosação de aminas terciárias dificilmente ocorrem, assim como de nitrogênios em ressonância (PREUSSMANN e SCHAPER-DRUCKREY, 1972). Os compostos nitrosos são divididos em duas classes (MIRVISH, 1975):

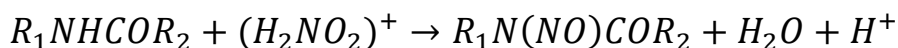
1. Nitrosaminas, que são derivados dos dialquil/alcaril/diaril e aminas secundárias cíclicas,
2. Nitrosamidas, que são derivados das *N*-alquiluréias; *N*-alquicarbamatos; *N*-alquilamidas.

A nitrosação de aminas secundárias é particularmente importante por ocorrer em alimentos, principalmente após fermentação e/ou cocção (LIJINSKY e EPSTEIN, 1970). Há formação de *N*-nitrosamidas, pois os alimentos contêm quantidades suficientes de precursores da nitrosação, como as amidas, incluindo as uréias e guanidinas ou também creatinina e creatina (SHEPHARD e SCHLATTER, 1987; DIETRICH *et al.*, 2005) (EQUAÇÃO 1).

A segunda classe de compostos nitrosos, as nitrosamidas, também pode ser formada (EQUAÇÃO 2), e em meio ácido regeneram nitrito ou em meio alcali são destruídas e formam diazoalcanos. Os derivados mais comuns das nitrosamidas são as nitrosuréias. Há poucas evidências da ocorrência de metilnitrosouréia ou alquilnitrosouréia em produtos cárneos curados, contudo, em experimentos anteriores as nitrosamidas podem causar tumores no sistema nervoso, especialmente em crianças ou durante a gestação (LIJINSKY, 1999).



EQUAÇÃO 1 - REAÇÃO DE NITROSAÇÃO DE AMINAS SECUNDÁRIAS, FORMANDO NITROSAMINAS (RETIRADO DE MIRVISH, 1975)



EQUAÇÃO 2 – REAÇÃO DE NITROSAÇÃO DE AMINAS SECUNDÁRIAS, FORMANDO NITROSAMIDAS (RETIRADO DE DIETRICH *et al.*, 2005)

Ao se observar a equação 1, verifica-se que a reação é dependente de meio ácido, tendo como pH ideal 2,0, em que há maior formação do anidrido nitroso, responsável pela nitrosação das aminas (MIRVISH *et al.*, 1974) conforme descrito anteriormente. A reação em ambiente ácido justifica a presença compostos nitrosos no estômago, uma vez que o baixo pH favorece a reação. A ocorrência de compostos nitrosos em pH próximo a 7 é possível, porém, sua formação é irrelevante nos alimentos. (MIRVISH, 1972a; MIRVISH, 1972b e FAN e TANNEMBAUM, 1973).

A tabela 2 sumariza as principais diferenças entre *N*-nitrosaminas e *N*-nitrosamidas.

TABELA 2 – DIFERENÇAS ENTRE *N*-NITROSAMIDAS E *N*-NITROSAMINAS

Propriedades	<i>N</i> -nitrosaminas	<i>N</i> -nitrosamidas
Estrutura química	Grupo NO ligado a átomo de nitrogênio	Grupo NO ligado a átomo de nitrogênio
Reação de formação	Em meio ácido preferivelmente, mas pode ocorrer em pH neutro (MIRVISH, 1995)	Somente sobre meio ácido
Inibidores	Compostos redutores (ascorbato, eritorbato, tocoferóis, antioxidantes)	Compostos redutores (ascorbato, eritorbato, tocoferóis, antioxidantes)
Estabilidade	Relativamente estável em meio aquoso e termoestável. Decompõe-se sobre luz UV	Instável em meios aquosos e sobre pH neutro ou alcalino, é termolábil e também decompõe-se sobre luz UV e visível
Carcinogênese	Requer ativação enzimática pelo citocromo P450	Não requer ativação enzimática, apresenta ação direta
Indução de tumor	Pulmão, fígado, esôfago, pâncreas, trato respiratório superior, rins, traqueia (PREUSSMANN e STEWART, 1984)	Sistema linfático e nervoso (PREUSSMANN e STEWART, 1984)
Detecção	Cromatografia gasosa	Cromatografia líquida de alta eficiência

FONTE: DIETRICH *et al.*, 2005

3.7.1 Capacidade carcinogênica dos compostos nitrosos

Os compostos *N*-nitrosos mais associados ao câncer são os pertencentes ao grupo das nitrosaminas, pois são mais estáveis quando formados no organismo humano (LIJINSKY, 1999).

Para ter efeito carcinogênico, as nitrosaminas são antes ativadas pelas enzimas citocromo P450 no retículo endoplasmático, formando α -hidroxinitrosaminas. Essas sofrem decomposição espontânea em monoalquilnitrosaminas e alquildiazohidróxidos. Os alquildiazohidróxidos podem alquilar bases de DNA em N-7 e O-6 da guanina (O-6-MeG) e O-4 da timina, que resulta em uma mudança no pareamento de bases quando a guanina alquilada pareia com timina ao invés de citosina, onde se acredita que inicia a carcinogênese (MIRVISH, 1995). Acredita-se que as reações de alquilação ocorrem nos hepatócitos e os produtos alquilados (ex.: dimetilnitrosamina) são distribuídos na circulação sanguínea, e reagem com o DNA de leucócitos por meio de reações de metilação, formando assim a 7-metilguanina (7-MeG) (BIANCHINI e WILD, 1994). Vários tumores encontrados em humanos demonstraram mutações no gene p53, enquanto em roedores ocorrem mutações frequentes no oncogene *ras* (MIRVISH, 1995).

O anidrido nitroso (FIGURA 4) também pode formar mutação nas bases de DNA, desaminando grupos amino dos nucleotídeos (MIRVISH, 1995). O anidrido forma nitrosaminas primárias transitórias que reagem com adenina formando hipoxantina, guanina formando xantina, citosina desenvolvendo uracila ou 5-metilcitosina constituindo timina. Por mais que os danos de base sejam reparados, a produção de 5-metilcitosina, a timina, é reconhecida como uma base normal do DNA e a alteração nessa base permanece (WINK *et al.*, 1991; NGUYEN *et al.*, 1992).

Em experimentos com roedores, as nitrosaminas puderam causar câncer de fígado, esôfago, mucosa do trato respiratório superior, bexiga urinária, pulmão e tireoide; já nitrosamidas podem resultar em câncer do sistema nervoso e linfático (BULAY *et al.*, 1979; PREUSSMANN e STEWART, 1984; LIJINSKI, 1984). O local de indução de tumor depende do tipo de agente nitroso e, no caso dos estudos experimentais, da espécie dos roedores (MIRVISH, 1995). A incubação de células do fígado humano com dimetilnitrosamina (NDMA) provocaram alteração no DNA, formando 7-MeG e O-6-MeG (MONTESANO, BRÉSIL e PEGG, 1982; MONTESANO e MAGEE, 1970; SHANK e HERRON, 1982). Derivados de nitrosaminas (dialquil,

alcaril e cíclico) assim como de nitrosamidas (alquiluréias, alquilamidas) induziram tumor em ratos suplementados por longos períodos destas substâncias (SANDER e SCHWEINSBERG, 1968; SANDER e BURKLE, 1969).

3.8 OCORRÊNCIA DE NITRATO, NITRITO E COMPOSTOS N-NITROSOS NOS ALIMENTOS

Outros alimentos, além das carnes curadas, são fontes de nitrato e nitrito por apresentar naturalmente quantidades desses aditivos. No processo de cura das carnes, há possibilidade de que o nitrato seja originado não somente da adição intencional, mas também da água do processo ou ingerida pelo animal (COCKBURN *et al.*, 2010). COCKBURN *et al.* (2010) afirmam que pela alta hidrossolubilidade do nitrato, é possível que haja deslocamento do aditivo proveniente de fertilizantes e excrementos (do manejo de gado, por exemplo) para o solo, e deste para lençóis freáticos e rios.

Derivados de vegetais com diferentes teores de nitrato apresentaram formação de nitrosaminas (WAITERS *et al.*, 1979 e GROENEN *et al.* 1985). O processo de fritura e cozimento surtiu em formação de compostos nitrosos em bacon (LIJINSKY, 1999). Ainda, a nitrosação pode ocorrer em processos industriais, como a formação nitroso-di-*N*-butilamina, causada pela reação entre a cura e a borracha utilizada para selar pacotes dos produtos cárneos, onde fica aderida ao alimento (PREUSSMANN e STEWART, 1984).

A presença de nitrito nos vegetais e frutas é considerada baixa, (1 e 20mg/Kg), no entanto, seu consumo pode representar, segundo autores, entre 80 a 85% do total de nitrito na dieta, dependendo da região, cultura e tipo de alimentação da população. O tipo de vegetal é mais importante do que a quantidade consumida, visto que somente algumas espécies contêm alto teor de nitrato (AESAN, 2011). Em estudo desenvolvido pela autoridade europeia de segurança alimentar, a concentração de nitrato em vegetais variou de 1mg/Kg (broto de ervilha) até 4800 mg/Kg (rúcula), sendo os folhosos, como amaranto e alface-repolhuda, os que continham maior teor de nitrato, 2167mg/Kg e 2026mg/Kg, respectivamente (ALEXANDER *et al.*, 2008). Pesquisa que analisou quantidades de nitrato em

vegetais encontrou concentrações acima de 800mg/Kg de nitrato em amostras de acelga e espinafre (AESAN, 2011).

As concentrações de nitrato/nitrito encontradas em vegetais são suficientes para causar metahemoglobinemia em crianças, principalmente até aos 3 anos de idade. O consumo de espinafre na Europa indica um potencial risco de metahemoglobinemia para crianças entre 1 a 3 anos (EFSA, 2010). No entanto, nenhum caso identificado foi relacionado ao consumo de vegetais por adultos, segundo pesquisa feita no Medline entre 1950 a 2010 (CHAN, 2011). Como o nitrato pode estar contido em plantas como espinafre, cenouras e beterrabas, o consumo desses alimentos não é recomendado antes dos 3 meses de idade (GREER e SHANNON, 2005).

3.8.1 Frequência de compostos N-nitrosos na carne e produtos constituídos de proteína animal

Por regra, todos os produtos cárneos curados são passíveis de conter compostos nitrosos (TABELA 3)(DIETRICH *et al.*, 2005) . O experimento que simulou um ambiente gástrico contendo amostras de diferentes produtos cárneos (peixe, carne bovina e bacon) nitrosadas propositalmente com excesso de nitrito demonstrou que poucas quantidades do composto nitroso chamado metilnitrosureia (MNU) foram encontradas em peixes frescos. Contudo, o processamento das amostras, como salga e desidratação do peixe ou a fritura de carne e bacon, exibiram grandes quantidades de MNU. Os autores consideram que o uso de calor aumenta consideravelmente a concentração de creatinina, composto precursor da nitrosação, o que resulta no aumento da formação de MNU (MENDE *et al.*, 1991).

TABELA 3 – NITROSAMINAS ENCONTRADAS EM DIFERENTES ALIMENTOS

Nitrosamina	Histórico da mais alta concentração e tipo de alimento*	Capacidade relativa de carcinogênese
N-nitroso-dimetilamina	Cerveja, bacon, queijo, carnes curadas, salsicha, peixe tipo tailandês, peixe defumado em conserva, leite em pó	++++
Dietilamina	Pão de milho, salsicha, queijo	++++
Pirrolidina	Bacon frito, salsicha, carne defumada, presunto	+++
Piperidina	Salsicha, carne apimentada e defumada	+++
Tiazolidina	Carne suína defumada, salsicha, ostra defumada, bacon frito, carne curada, peixe defumado	-
Prolina	Bacon frito, carne curada, carne suína defumada, salsicha, ostra defumada	-

FONTE: LIJINSKY, 1999

*histórico obtido a partir de diversos estudos revisados pelo autor

Ao aplicar questionários à uma população de Houston, Estados Unidos, verificou-se que, 47% a 83% das pessoas afirmaram consumir carne curada, seja bacon ou linguiça por semana. Segundo os autores, todos esses alimentos são fontes de alta concentração de NOC (FORMAN, 2009). Durante os anos de 1988 a 1996 e 1998 a 2005, dados sobre a presença de nitrato, nitrito e NDMA e seu consumo em alimentos na Tailândia foram coletados. O conteúdo de nitrato encontrado foi maior nos vegetais crus e nos alimentos cozidos do que nas conservas, ao passo que para a concentração de nitrito foi observado o inverso. A quantidade de NDMA foi mais encontrada em peixes fermentados, seguidos por peixe desidratado ou salgado e por último em carne suína e bovinas curadas. Os vegetais (frescos ou em conserva) contêm 82% do total de nitrato da dieta tailandesa, enquanto os produtos cárneos representam 15%. Contudo, 94% do nitrito da dieta dos tailandeses estão oriundos dos produtos cárneos curados, sendo os vegetais responsáveis por 5,8%. Considerando a contribuição do NDMA à parte do nitrato e nitrito, o consumo de NDMA esteve em 25% nos vegetais e 69,6% nas carnes curadas (MITACEK *et al.*, 2008).

Carne de porco adicionada de 0, 120 e 480mg/Kg de nitrito de sódio exibiu maiores valores de compostos nitrosos conforme o aumento da concentração de nitrito, porém, as amostras com menos que 150mg/Kg de nitrito apresentaram quantidades irrelevantes de NOC (DRABIK-MARKIEWICZ *et al.*, 2010).

3.9 APLICAÇÃO DE ADITIVOS NATURAIS

Uma das alternativas para reduzir os compostos tóxicos originados pelo uso de sais de cura reside na aplicação de aditivos naturais. Embora seja difícil obter um composto natural que contemple todas as características físico-químicas e organolépticas promovidas pelo nitrato e nitrito, os aditivos naturais podem fornecer e até aprimorar os aspectos dos sais de cura, como atividade antioxidante, ao mesmo tempo em que promovem cor e aroma diferenciados (KARRE; LOPEZ e GETTY, 2013).

A ameixa foi capaz de reduzir a oxidação lipídica em peito de peru, quando comparada ao tratamento isento de aditivos (LEE e AHN, 2005), efeito similar foi observado em presunto injetado ou bife pré-cozido adicionado de solução salina contendo suco de ameixa (NUNEZ de GONZALEZ *et al.*, 2008a; NUNEZ de GONZALEZ *et al.*, 2009). Além da atividade antioxidante, a ameixa promoveu alteração na cor de produtos cárneos ao elevar o vermelho (NUNEZ de GONZALEZ *et al.*, 2008a; NUNEZ de GONZALEZ *et al.*, 2008b).

Salsichas de carne bovina adicionadas de extrato de semente de uva em concentrações de 100, 300 e 500 ppm e armazenadas por 4 meses à -18°C, apresentaram durante todo período de armazenamento redução do odor e sabor de ranço, além de manter estáveis os níveis de oxidação (KULKARNI *et al.*, 2011). A casca e semente de romã, rica em antioxidantes, reduziu o conteúdo de oxidação lipídica em carne de aves refrigeradas, exibindo valores 134% e 443% menores quando comparados ao controle sem adição de romã ou com somente de sal (DEVATKAL e NAVEENA, 2010).

Da mesma forma que as frutas, outras fontes vegetais promovem atividade antioxidante, como o extrato de alecrim, quando utilizado na concentração de 200 ppm, reduziu em 70% a rancidez oxidativa em hambúrgueres de carne suína (NISSEN *et al.*, 2004). Mesmo em baixas concentrações (0,05%), o alecrim em óleo

apresentou níveis de oxidação inferiores ao observado para o controle em carne suína processada e armazenada por 7 dias a 4-6 °C. (HAC-SZYMANCZUK; LIPINSKA e STASIUK, 2011).

Pautado na capacidade antioxidante por conter antocianinas, o extrato de groselha a 20g/Kg foi aplicado em hambúrgueres de carne suína e armazenados a 4°C por 9 dias. Ao comparar com o controle, as amostras tratadas minimizaram a rancidez oxidativa em 91,7%, nível de redução em igualdade ao tratamento utilizando butilhidroxianisol (BHA), um aditivo sintético. Ao mesmo tempo, a groselha forneceu maior valor no componente vermelho aos hambúrgueres do que o controle, porém reduziu a luminosidade (JIA *et al.*, 2012).

As pesquisas com extratos vegetais trouxeram à tona o desenvolvimento de produtos comerciais que pudessem substituir os tradicionais aditivos sintéticos, como Herbalox®, oleoresina de alecrim; ActiVin™, extrato de semente de uva e Pycnogenol®, extrato de casca de pinheiro. Estudo avaliando esses produtos em carne moída cozida e estocada por 9 dias a 4°C demonstrou que os valores de oxidação lipídica foram inferiores do que obtido para dois conhecidos aditivos sintéticos, butilhidroxitolueno (BHT) e butilhidroxianisol (AHN; GRÜN e MUSTAPHA, 2007).

Os extratos naturais também podem ser explorados quanto à cor, promovendo alterações nesse parâmetro favoráveis a diferentes produtos cárneos, todavia, são poucas as pesquisas que relacionam os corantes que podem reduzir a quantidade de nitrito para desenvolver cor e estabilidade em produtos cárneos (BLOUKAS, ARVANITOYANNIS e SIOPI, 1999). O emprego de tomate, em pasta ou cristalizado, em carne de porco curada e moída, armazenada (3,6°C) por 14 dias manteve os valores do componente vermelho quando comparadas às amostras formuladas somente com nitrito. O licopeno presente no tomate pode atuar, segundo os autores, como um substituto total ou parcial do nitrito em carne suína moída (ØSTERLIE e LERFALL, 2005). A adição de 5 e 7% de polpa de tomate em salsichas cozidas de carne bovina ou uma formulação com carne substituída por proteína isolada de soja apresentaram maior índice de vermelho quando comparadas ao controle sem adição de polpa (SAVADKOOHI *et al.*, 2014).

As propriedades antioxidantes dos compostos naturais, ao atenuar a formação de metamioglobina, exercem proteção na cor, como observado em hambúrgueres de carne bovina preparados com 500 ou 1000 ppm de gengibre, feno-

grego ou pele de batata e armazenados a 5°C por 12 dias. Os compostos naturais proporcionaram significativo aumento no vermelho, brilho e chroma (C*) em relação ao controle (MANSOUR e KHALIL, 2000). Outros extratos de plantas, como o originado do mirtilo, ao ser adicionado na concentração de 10% (v/p) em hambúrgueres bovino mantidos a -20°C por 120 dias apresentou a* de 9,36, enquanto o controle exibiu valores de 7,21. A ação do mirtilo protegeu a cor das amostras ao manter níveis baixos de metamioglobina durante a estocagem a frio, resultando em produtos com menor extinção da cor vermelha (AKARPAT, TURHAN e USTUN, 2008).

Alguns compostos naturais apresentam vantagem intrínseca em relação aos aditivos sintéticos. Por exemplo, o extrato de uva, por ser mais hidrossolúvel que o BHT, apresentou melhores resultados quanto à estabilidade da cor vermelha em almôndegas de carne de frango cruas armazenadas por 9 meses a -18 °C. De acordo com os autores, a maior afinidade pela água dos extratos de uva mantêm o produto mais eficiente para redução dos níveis de radicais livres nos produtos cárneos, resultando em menor oxidação da mioglobina e prevenção das alterações de cor (SELANI *et al.*, 2011).

O extrato da planta *Urtica dioica* L. foi aplicada na concentração de 250 e 500 ppm em carne bovina moída, a qual foi armazenada sobre atmosfera modificada (80%O₂:20%CO₂) e sob refrigeração (2°C) por 14 dias. Embora na superfície as amostras tratadas não exibiram diferença significativa em relação ao controle, na secção interna o extrato de *Urtica dioica* L. proporcionou efeito, aumentando a luminosidade (L*) e vermelho (a*) (ALP e AKSU, 2010).

3.10 URUCUM E SUAS PROPRIEDADES

A espécie *Bixa orellana* L., pertencente à família Bixaceae, conhecida popularmente como urucum, produz sementes utilizadas como matéria-prima para produção de corante alimentício natural (ELIAS *et al.*, 2002; COSTA 2007). O Brasil se destaca como um dos maiores produtores mundiais de urucum, com uma safra de 13 mil toneladas em 2010 (IBGE, 2010). Os pigmentos obtidos do pericarpo seco da semente madura do urucum possuem coloração amarelo avermelhada, atribuída aos pigmentos bixina e norbixina, substâncias pertencentes à classe dos carotenoides

(PIMENTEL, 1995). Em razão da intensidade das cores e da estabilidade frente às condições de processamento, os pigmentos da *B. orellana* são empregados como condimentos e corantes de alimentos e bebidas; derivados lácteos, cárneos e produtos de confeitaria (GIULIANO *et al.*, 2003, RODRIGUEZ-AMAYA, 2001)

A semente de urucum contém vários carotenoides, o principal deles a bixina, que é originada pela clivagem de carotenos, em que essa ruptura é mediada pela ação de enzimas, e liberam, além da bixina, a norbixina (FIGURA 5) (OLIVEIRA, 2005; SATYNARAYANA, PRABHAKARA RAO e RAO, 2003). As diferenças estruturais desses compostos estão na presença de um grupo metil-éster em uma das extremidades da cadeia da bixina, enquanto a norbixina apresenta um ácido carboxílico. Essa diferença confere à primeira lipossolubilidade, enquanto a segunda apresenta-se hidrossolúvel (RIOS e MERCADANTE, 2004).

Os carotenoides do urucum são compostos por uma cadeia de 20 carbonos com duplas conjugadas, além de 4 grupos metilas e radicais hidrogênio ou metil nas extremidades. A cadeia de polienos confere uma deslocalização de elétrons pi (π) responsável pelas características fotoquímicas, inclusive a isomerização *cis-trans*. De acordo com a sua conformação, a bixina ou norbixina apresentam colorações diferentes (SCOTTER, 2009).

A bixina na forma *cis*, produzida naturalmente na semente (PRESTON e RICKARD, 1980; SATYANARAYANA; RAO e BALASWAMY, 2006) apresenta coloração amarela e é facilmente isomerizada com uso de temperatura e luminosidade a seu isômero *trans*, mais estável e de coloração vermelha (TABELA 4)(SCOTTER, *et al.*, 1998).

TABELA 4 – PROPRIEDADES FÍSICAS DE COMPOSTOS DO URUCUM

Composto	Descrição física	Solvente	Espectrofotometria UV-VIS ($\lambda_{\text{máx}}$)
<i>Cis</i> -bixina	Vermelho-marrom ou Laranja	Clorofórmio	501; 470
<i>Trans</i> -bixina	Cristal Vermelho	Clorofórmio	507; 476
<i>Cis</i> -norbixina	Laranja	0,1 M NaOH	482; 453
<i>Trans</i> -norbixina	Vermelho-escuro	0,1 M NaOH	486; 457

Fonte: SATYANARAYANA; PRABHAKARA RAO; RAO, 2003 e SCOTTER, 2009

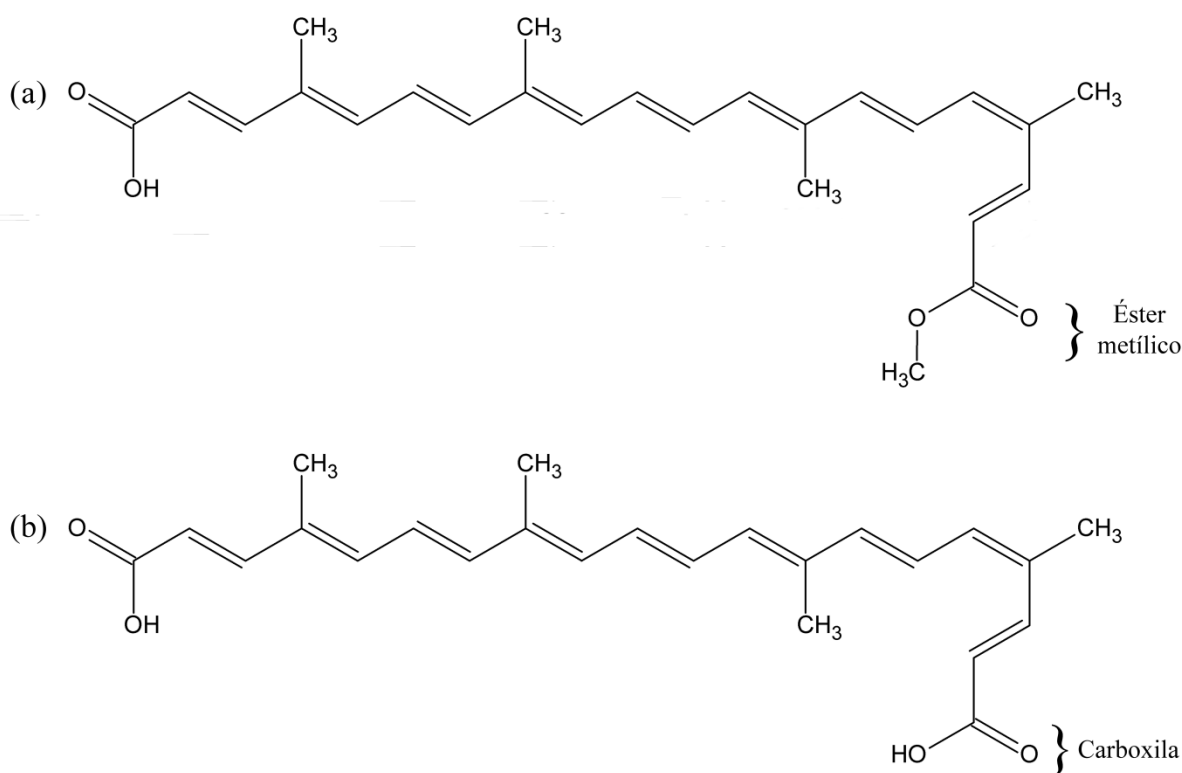


FIGURA 6 - ESTRUTURA DA BIXINA (A) E NORBIXINA (B)
 FONTE: SCOTTER *et al.*, 1998

Diversos métodos são utilizados para extração dos carotenoides do urucum, utilizando solventes orgânicos, extração supercrítica ou micro-ondas (ROCHA GARCIA *et al.*, 2012). A organização de drogas e alimentos (FAO) descreve seis diferentes extratos de urucum caracterizados pelas concentrações finais de cada carotenoide e os métodos utilizados para obtenção. Quando utilizados solventes orgânicos, concentrações de 92% podem ser atingidas, e a proporção de bixina ou norbixina ao final é influenciada pela acidez do meio extrator (FAO, 2002).

Ao utilizar extração por solvente com uso de *Soxhlet* a partir das sementes de urucum desidratadas e moídas, a bixina em forma de um cristal vermelho-púrpura, foi obtida com rendimento final de 3,6% a 5,07% (COSTA, 2007; PACHECO, 2014). Uma alternativa é extração supercrítica com uso da pressão e CO₂ supercrítico, além de fornecer um produto final isento de solventes, pode ser submetido a baixas temperaturas, reduzindo o risco de isomerização e degradação dos compostos do urucum. Contudo, o custo operacional ainda é inviável para aplicação industrial (SILVA *et al.*, 2008). A opção de extração por micro-ondas,

desenvolvida por Vasu *et al.* (2010), foi aplicada em sementes com meio contendo água e acetato de etila, e proporcionou o dobro rendimento em relação ao método tradicional, pautado no aquecimento das sementes em solução de acetato de etila.

Considerando um processo industrial generalizado, há 3 métodos principais de extração dos componentes do urucum: extração direta em óleo, sob aquecimento, resultando em trans-bixina; extração aquosa alcalina, o que leva a formação principalmente de cis-norbixina ou por solventes, que dependendo das condições de reação, geram quantidades variáveis de bixina e norbixina (SCOTTER *et al.*, 1998).

Em razão da segurança no consumo do urucum, em 2002, a FAO determinou o limite para consumo de bixina de 0,065mg/Kg peso corpóreo/dia (FAO, 2002). Vários estudos avaliaram a toxicidade dos componentes do urucum, sob diferentes perspectivas. O pó do colorau contendo 28% de bixina foi administrado via oral em ratas prenhas, na concentração de 500mg/Kg de massa corporal/dia, entre o 6° e 15° dia de gravidez, e nenhum efeito adverso foi observado, tanto nas ratas quanto nos filhotes. Estudo em que ratos machos se alimentaram com formulações contendo 20, 200 e 1000 ppm de extrato de urucum com bixina a 5% por 15 semanas, não descreveu dano para células sanguíneas e do cólon dos animais (AGNER *et al.*, 2005).

O segundo carotenoide do urucum, norbixina, foi inserido na dieta de ratos na concentração 69 a 76mg/Kg peso corpóreo/dia por 13 semanas, e não surtiu em alterações de consumo hídrico, padrões hematológicos ou oftalmológicos. Contudo, aumento de concentração de norbixina na suplementação dos ratos (0,3 e 0,9% em relação ao peso corpóreo) levou a hipertrofia hepática após 2 semanas (YOSHINO *et al.*, 2003).

Attachcoat *et al.* (2011) demonstrou que o extrato concentrado com bixina (84,10%) ou norbixina (98,18%) aplicado em camundongos fêmeas foi capaz de promover discreto efeito alergênico no teste de inchaço de orelha ou nódulo linfático. A bixina em associação do íon cúprico, metal de atividade oxidante, foi capaz de exercer efeitos delétricos sobre o DNA (OUYIANG *et al.*, 2008).

Dos experimentos realizados avaliando a atividade tóxica do urucum, nenhum utilizou concentrações superiores aos limites de ingestão determinados pela FAO, demonstrando que, a IDR determinada pela FAO em 2002, a qual foi revisada e

mantida pelo mesmo órgão em 2006, não exerce efeitos tóxicos aos consumidores (ROCHA GARCIA *et al.*, 2012).

Diversos estudos têm observado o efeito antioxidante dos derivados do urucum, da bixina ou diferentes substâncias naturais (luteína, licopeno, α -caroteno, e α -tocoferol) foram avaliadas por Haila *et al.* (1996) quanto às suas capacidades antioxidantes. Verificou-se que a bixina apresentou destacado efeito antioxidante, reduzindo a formação de hidroperóxidos em triacilglicerídeos oxidados pela luz. Kiokias e Oreopoulou (2006) também avaliaram individualmente o extrato de urucum, caroteno, luteína e licopeno quanto a suas capacidades de inibir a formação de hidroperóxidos em uma emulsão aquosa, cuja oxidação foi estimulada pelo uso do 2,2'-azobisamidinopropano (AAPH). Nesse experimento, o extrato de urucum superou as demais substâncias naturais, apresentando a maior atividade antioxidante.

Castro, Mariutti e Bragagnolo (2011), avaliaram o efeito antioxidante do urucum durante o processamento térmico e armazenamento de hambúrgueres elaborados com peito de frango (*Pectoralis major*). A quantificação de MDA (malonaldeído, unidade de oxidação lipídica) demonstrou que, embora a concentração de bixina seja reduzida durante o processamento térmico, seu uso minimizou a rancidez oxidativa durante os 120 dias de armazenamento a -18°C . Nas amostras cruas, não foram verificadas diferenças rancidez oxidativa resultantes do uso do colorífico, porém, foi verificado efeito protetor ao antioxidante vitamina E, adicionada em associação com o urucum.

A aplicação de individual de substâncias naturais (norbixina, caroteno, licopeno e zeaxantina) como substituintes do eritorbato de sódio em salsichas formuladas com mistura de carnes bovina, suína e de frango demonstrou atividade antioxidante, no entanto, a norbixina e zeaxantina superaram os demais compostos ao promover redução de aproximadamente 20% nos níveis de MDA (MERCADANTE *et al.*, 2010).

O estudo realizado por Zarringhalami *et al.* (2009) avaliou a estabilidade da cor em salsichas formuladas com duas diferentes proporções de carne (55 e 70%) e variáveis concentrações de nitrito e urucum desidratado (1% de norbixina). O produto foi mantido sob refrigeração a 4°C , sendo realizadas tomadas de amostras no 2º, 10º, 20º e 30º dias. Os resultados demonstraram a estabilidade da coloração vermelha atribuída pelo urucum por 30 dias de armazenamento, indicando-o como possível substituto do nitrito, quando o objetivo é aumentar a intensidade da

coloração vermelha do produto ou ainda para minimizar os níveis de nitrito e, por consequência, a formação de nitrosaminas.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 CARACTERIZAÇÃO DE APRESENTAÇÕES COMERCIAIS DE JERKED BEEF

A fim de caracterizar os níveis residuais de nitrito, cor e oxidação lipídica usualmente encontradas no jerked beef, foram obtidas apresentações comerciais de 4 marcas de JB (J1; J2; J3 e J4), embaladas a vácuo e ofertadas à temperatura ambiente, foram adquiridas no comércio de Curitiba/PR. Para cada marca, foram obtidas 3 amostras pertencentes a diferentes lotes com distintos tempos de prateleira, perfazendo um total de 12 unidades. As amostras foram agrupadas em três diferentes faixas de tempo (dias) de prateleira: T1 (0-60 dias); T2 (61-120 dias) e T3 (121-180 dias).

4.2 MATÉRIA-PRIMA

4.2.1 Matéria-prima carne utilizada na elaboração do jerked beef formulado com substituição do nitrito de sódio por bixinato de potássio

Para elaboração do JB (item 4.3) foi escolhida como matéria-prima (MP) amostras de carne bovina do corte comercial patinho (*Vastus lateralis*), por apresentar homogeneidade de tecido adiposo e colágeno, além de relativa alta concentração proteica. As amostras foram adquiridas em açougues da região de Curitiba/PR e mantidas sob refrigeração ($4 \pm 2^\circ\text{C}$) até o processamento e realização dos ensaios.

4.2.2 Obtenção da bixina

A bixina foi obtida em trabalho prévio de Pacheco (2014) e seguiu a seguinte metodologia: as sementes de urucum (*Bixa orellana* L.) foram previamente coletadas no IAPAR (Instituto Agrônomo do Paraná) de Curitiba-Pr e submetidas à secagem em estufa à 50°C. Posteriormente, o material triturado por meio de moinho de martelo, foi submetido a marcha fitoquímica, com um gradiente de solventes de maior polaridade (Etanol) até menor polaridade (Hexano), para extração dos carotenoides (SONAGLIO *et al*, 1999). A extração da bixina foi realizada no Laboratório de Fitoquímica do Departamento de Farmácia da Universidade Federal do Paraná segundo metodologia descrita por COSTA (2007), utilizando a técnica de extração em aparelho Soxhlet modificado com aplicação farmacotécnica. Os cristais de bixina obtidos foram identificados por RMN de C¹³ e HPLC com fase reversa, e demonstraram pureza de 99,9% (PACHECO, 2014).

4.2.3 Saponificação da bixina

A obtenção do derivado carotenoide de coloração vermelha e característica hidrossolúvel, condição desejável a utilização em produtos cárneos salgados, foi proposta por meio da saponificação da bixina previamente obtida (COSTA *et al.*, 2007). O cristal de bixina extraído das sementes com pureza de 99,9% (PACHECO, 2014) foi colocado em agitação na concentração de 1 mol para 0,9 mol de KOH (teor mínimo 98%) (VETEC, RJ, Brasil) em solução aquosa. Após 10 minutos de agitação, quando foi obtida uma solução homogênea de cor vermelha (FIGURA 7), o bixinato de potássio foi estocado em ausência de luz, oxigênio e a 4±1°C.

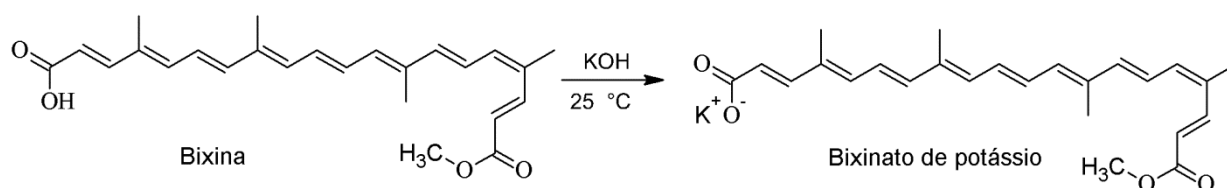


FIGURA 7 - REAÇÃO DE SAPONIFICAÇÃO DA BIXINA

4.3 PREPARAÇÃO DAS AMOSTRAS DE JERKED BEEF EM ESCALA LABORATORIAL

Peças de patinho (*Vastus lateralis*) foram injetadas de soluções salinas de um volume correspondente a 40% (p/v) de água e 10% (p/p) de NaCl (VETEC, RJ, Brasil) em relação ao peso das amostras. Juntamente com as soluções, foram adicionados nitrito de sódio (VETEC, RJ, Brasil) e/ou bixinato de acordo com o tratamento:

QUADRO 1 – ADITIVOS E SUA QUANTIDADE ADICIONADA NOS TRATAMENTOS DE JERKED BEEF

Tratamento	Quantidade
Nitrito (NIT)	NaNO ₂ 150 ppm: 0 ppm bixinato de potássio
Nitrito: Bixina (N/B)	NaNO ₂ 75 ppm: 250 ppm bixinato de potássio
Bixina (BIX)	NaNO ₂ 0 ppm: 500 ppm bixinato de potássio
Controle (CTRL)	NaNO ₂ 0 ppm: 0 ppm bixinato de potássio

As amostras permaneceram imersas na solução salina adicionada dos respectivos aditivos por 2 horas a 4°C (salga úmida) e então retiradas, dispostas em recipientes e cobertas com sal grosso moído (salga seca) por 5 dias a 25°C, com substituição do sal a cada 12 horas e tombeamento (inversão da face da peça voltada para baixo para o lado oposto). Após 5 dias de salga, as amostras foram reduzidas a cubos e embalados a vácuo, identificadas de acordo com o tratamento (NIT, N/B, BIX e CTRL), e foram armazenadas a 25°C por 90 dia (FIGURA 8).

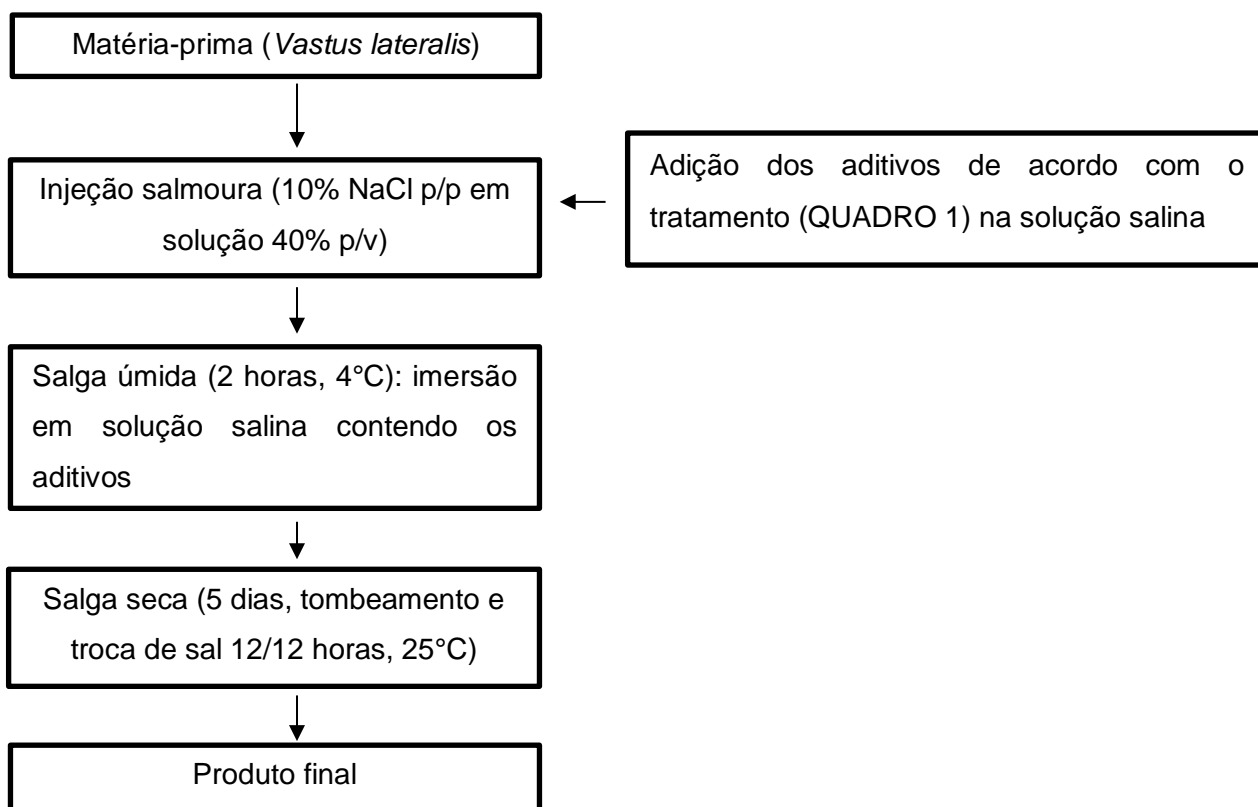


FIGURA 8 – FLUXOGRAMA DA ELABORAÇÃO DO JERKED BEEF EM ESCALA INDUSTRIAL

4.3.1 Determinação de pH

O pH da MP e do JB elaborado foi determinado em triplicata, sob temperatura ambiente e com o auxílio do potenciômetro (MS TECNOPON, SP, Brasil), dotado de sonda para produtos cárneos, após a calibração do aparelho em soluções tampão pH 4,0 e 7,0.

4.3.2 Umidade

A umidade da MP e do JB foi determinada utilizando estufa (NOVA ÉTICA 420/2D, Brasil) a 105°C (IAL, 2008) até que o peso final esteve constante. O teor de umidade foi calculado pela diferença de peso antes e depois da desidratação.

4.3.3 Conteúdo de proteínas

A determinação de proteínas da MP (item 4.2.1) e do JB (item 4.3), segundo o método de Kjeldahl, realizou-se com digestor de proteínas (SOLAB SL 25/40, Brasil) e posterior destilação de nitrogênio (MARCONI MA 036, Brasil), foi realizada adotando-se o fator 6,25 para conversão do nitrogênio (IAL, 2008).

4.3.4 Lipídios

A MP (item 4.2.1) e o JB (4.3), previamente desidratados (item 4.3.2) foram submetidos à extração (SOLAB SL 145/6, Brasil) por destilação com éter de petróleo (IMPEX, RS, Brasil), em que o conteúdo lipídico concentrou-se em balão volumétrico tarado. Após 4 horas de extração, determinou-se a quantidade de lipídios por diferença de peso (IAL, 2008).

4.3.5 Resíduo mineral fixo

As amostras da MP (item 4.2.1) e do JB (4.3) foram pesadas (5 a 10 g) e dispostas em cadinhos previamente tarados, e após incineração em mufla (QUIMIS Q318 24, Brasil) à temperatura de 550-570 °C até manter peso constante, foram pesadas novamente. A diferença de peso representa o conteúdo de resíduo mineral fixo (IAL, 2008).

4.4 ANÁLISE DE OXIDAÇÃO LIPÍDICA

4.4.1 Metodologia

O método está pautado na determinação espectrofotométrica à 532 nm o complexo de coloração rósea formado pela condensação de dois moles do ácido 2-tiobarbitúrico (TBA) (J. T. BAKER, PA, EUA) com substâncias reativas a este

composto, segundo (TARLADGIS; PEARSON e DUGAN, 1964) e modificado por (TORRES *et al.*, 1989). Por meio da equação de reta da curva previamente estabelecida com solução padrão de tetraetóxiopropano de 1×10^{-8} até 7×10^{-8} mol/L, as leituras obtidas foram transformadas em concentração de mol de substâncias reativas do ácido tiobarbitúrico (TBARS), e multiplicadas pelo fator 7,8, determinado experimentalmente. Os resultados são expressos em mg de TBARS/Kg de produto

4.4.2 Oxidação lipídica em apresentações comerciais de jerked beef

A oxidação lipídica de cada uma das 4 marcas de JB distintas foi analisada de acordo com seu respectivo tempo de prateleira (item 4.1), em triplicata.

4.4.3 Oxidação lipídica em amostras de jerked beef formulado substituição de nitrito de sódio por bixinato de potássio

Amostras de cada tratamento (NIT, N/B, BIX e CTRL) foram tomadas nos tempos 0, 15, 30, 45, 60 e 90 dias de prateleira e analisadas, em triplicata, quanto à oxidação lipídica (item 4.5.1).

4.5 DETERMINAÇÃO DE NITRITO RESIDUAL

As amostras de JB foram homogeneizadas e aproximadamente 10 gramas ($\pm 0,001$) foram tomadas e adicionadas de 5,0 mL de tetraborato de sódio (REAGEN, PR, Brasil) e 50,0 mL de água aquecida a 80°C. Após 15 minutos em banho maria (80°C) as amostras foram transferidas para balão volumétrico e adicionadas de 5,0 mL de ferrocianeto de potássio (VETEC, RJ, Brasil) e 5,0 mL de acetado de zinco (QUÍMICA MODERNA, SP, Brasil), com agitação (100 rpm, 3 min, CORNING PC 220, NL, México) entre cada adição dos reagentes. O volume final foi completado para 250 mL com água destilada e então as amostras permaneceram em repouso por 30 min. Após filtração com papel filtro, uma alíquota de 10 mL foi coletada e adicionada de 3,0 mL alfa-naftiletilenodiamina (0,5%) (VETEC, RJ, Brasil)

e 5,0 mL de sulfanilamida (0,5%) (ISOFAR, RJ, Brasil) em meio ácido (ácido clorídrico 18,5%), para desenvolvimento de cor e mensuração em espectrofotômetro (SHIMADZU UV-1800, Japão) a 540 nm. Os cálculos e quantidade de nitrito foram determinados por meio de uma curva padrão previamente estabelecida utilizando concentrações da solução padrão de nitrito (8 µg/mL) de 8 até 56 µg/mL (IAL, 2008).

4.5.1 Pesquisa de nitrito residual em apresentações comerciais de jerked beef

Todas as 12 amostras de jerked beef distribuído comercialmente foram analisadas de acordo com os respectivos tempos de prateleira (item 4.1) quanto ao nitrito residual (item 4.5), e as leituras expressas em partes por milhão (ppm).

4.5.2 Investigação de nitrito residual em jerked beef formulado com substituição de nitrito por bixinato de potássio

As determinações de nitrito residual (item 4.6) foram feitas após a salga úmida, ao final da salga seca e durante todo o tempo de prateleira pré-determinado (item 4.3). A MP foi conferida quanto aos níveis de nitrito para retirar a possibilidade de contaminação prévia dos estabelecimentos comerciais. Os resultados são expressos em ppm.

4.6 ANÁLISE COLORIMÉTRICA

As análises foram realizadas utilizando um aparelho espectrofotômetro portátil (Hunter LAB XE miniscan plus), iluminante D65 e ângulo 45/0. Os valores de luminosidade L* (luminosidade), a* (componente vermelho-verde), b* (componente azul-amarelo) foram obtidos no sistema de cor CIELAB. Todas as mensurações de cor ocorreram no Departamento de Engenharia Química da Universidade Federal do Paraná (UFPR).

4.6.1 Mensuração de cor em apresentações comerciais de jerked beef

Segundo o tempo de prateleira, as diferentes marcas de JB (item 4.1) foram analisadas por toda a superfície e também na secção interna.

4.6.2 Avaliação da cor em jerked beef formulado com substituição de nitrito de sódio por bixinato de potássio

Os cubos provenientes de cada tratamento (item 4.3) foram seccionados a fim de exibir a parte interna do produto, e foram realizadas leituras das superfícies externa e interna, totalizando 12 avaliações por tratamento.

4.7 ACEITAÇÃO SENSORIAL VISUAL

Paralelamente às análises de cor (item 4.6), as amostras foram codificadas e dispostas em recipientes brancos à temperatura ambiente e foram submetidas a teste de ordenação da preferência, em escala sensorial, utilizando-se um painel sensorial formado por 30 provadores não-treinados que indicaram sua preferência pela coloração (FERREIRA *et al*, 2000) (ANEXO 1).

Para cada ordem estabelecida pelo provador, uma nota foi atribuída para as amostras: a pontuação de 1 para a amostra menos preferida até 4, para a amostra com maior preferência. O total de pontos foi somado de acordo com cada tratamento, e verificado quanto à diferença (5%) segundo tabela de Newey (FERREIRA *et al*, 2000).

Esta pesquisa foi aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Setor de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Paraná – CAAE: 22206713.9.0000.0102

4.7.1 Preferência pela cor em apresentações comerciais de jerked beef

A partir das 4 diferentes apresentações de JB comercial do lote mais recente em relação aos tempos de prateleira (T1) (item 4.1). As amostras foram reduzidas a cubos de 2x2x2 cm e então analisadas conforme o item 4.7.

4.7.2 Aceitação sensorial visual do jerked beef formulado com substituição do nitrito de sódio por bixinato de potássio

Nos tempos de prateleira 0, 30, 60 e 90 dias, cubos de 2x2x2 cm de cada um dos quatro tratamentos (item 4.3) foram avaliados quanto à preferência pela cor (item 4.7).

4.8 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os resultados foram submetidos à análise de normalidade por Kolmogorov-Smirnov e Liliefors, e comparação de médias utilizando o teste de t de student ao nível de 5% de significância. Também foram avaliados os diferentes períodos de análise empregando o módulo *one-way* ANOVA (analysis of variance) com *post-hoc* Tukey, com auxílio do programa STATISTICA 10.0 (STATSOFT, 2011).

4.8.1 Análise estatística das apresentações comerciais de jerked beef

O tempo de prateleira observado nas amostras comerciais de JB disponíveis no varejo variou entre 6 e 176 dias. Os resultados obtidos foram agrupados por marca e faixa de tempo de prateleira decorrido até o momento de análise (item 4.1). As amostras foram analisadas quanto ao teste T quando situadas no mesmo intervalo de tempo de prateleira. Considerando-se o efeito de toda a vida de prateleira da mesma marca, foi feita estatística com módulo ANOVA (item 4.8).

4.8.2 Avaliação da análise estatística em jerked beef formulado com substituição do nitrito por sal de bixina

As amostras de JB, divididas por tratamento (item 4.3), foram avaliadas por teste T quando situadas no mesmo período de vida de prateleira, e também sob o módulo ANOVA (item 4.8) ao investigar a interferência dos 90 dias de tempo de prateleira no JB.

5 RESULTADOS

5.1 CARACTERIZAÇÃO DA MATÉRIA-PRIMA UTILIZADA NA ELABORAÇÃO DE JERKED BEEF EM ESCALA LABORATORIAL

A partir dos resultados expressos na tabela 5, observa-se que a faixa de pH se manteve na MP e no JB, em torno de 5,9. Por outro lado, enquanto a umidade encontrada no JB foi drasticamente reduzida em relação à MP, houve elevação de 10% no teor de proteína no derivado cárneo. O teor de lipídios permaneceu constante durante o processamento, entre 4,5 a 6% (TABELA 5).

TABELA 5 – COMPOSIÇÃO QUÍMICA CENTESIMAL DA MATÉRIA-PRIMA CÁRNEA

	MP (%)	JB (%)
pH	5,83 ($\pm 0,08$)	5,90($\pm 0,03$)
Umidade	74,03 ($\pm 1,38$)	46,92 ($\pm 2,54$)
Proteína	19,92 ($\pm 0,31$)	28,49 ($\pm 1,28$)
Lipídios	5,01 ($\pm 0,96$)	6,22 ($\pm 1,27$)
Cinzas	0,90 ($\pm 0,31$)	18,27 ($\pm 0,65$)
Aa	0,99($\pm 0,01$)	0,76 ($\pm 0,01$)

MP = matéria-prima; JB = jerked beef. Resultados exibidos em médias (\pm DP)

Os teores de composição química encontrados tanto para a carne crua quanto para o jerked beef estiveram de acordo com estudos prévios que

avaliaram cortes comumente utilizados (SHIMOKOMAKI *et al.*, 1998) para elaboração do JB (PINTO *et al.*, 2002).

5.2 OXIDAÇÃO LIPÍDICA

5.2.1 Rancidez oxidativa em apresentações comerciais de jerked beef

De forma geral, as apresentações comerciais de JB (item 4.1) variaram quanto ao desenvolvimento da oxidação lipídica. Foram observadas significativas diferenças entre as marcas e aumento da rancidez segundo o decorrer do tempo de prateleira (TABELA 6).

TABELA 6 – OXIDAÇÃO (mg TBARS/KG) EM DIFERENTES APRESENTAÇÕES COMERCIAIS DE JERKED BEEF SEGUNDO O TEMPO DE PRATELEIRA (dias)

Apresentação	Tempo de prateleira (dias)			Média entre lotes da mesma marca
	T1 (Até 60)	T2 (61-120)	T3 (121-180)	
J1	2,1337 ^a (±0,033) A	1,251 ^a (±0,033) B	4,935 ^a (±0,119) C	2,773 ^a
J2	2,2105 ^{a,b} (±0,153) A	2,1145 ^b (±0,088) A	2,191 ^b (±0,176) A	2,172 ^a
J3	2,4778 ^b (±0,156) A	1,5581 ^c (±0,133) A	5,165 ^{a,c} (±1,463) B	3,067 ^a
J4	1,6499 ^c (±0,102) A	1,7009 ^c (±0,059) A	3,0889 ^c (±0,136) B	2,149 ^a
Média geral (por tempo)	2,113 ^A	1,791 ^B	3,482 ^C	

^{a, b, c} Na mesma coluna, médias contendo diferentes sobrescritos indicam diferença significativa ($p < 0,05$) pelo teste T de student.

A, B, C: Na mesma linha, médias contendo diferentes letras maiúsculas indicam diferença significativa ($p < 0,05$) pelo teste de Tukey.

Os níveis individuais de oxidação das apresentações comerciais de JB variaram entre 1,25mg TBARS/Kg (J1) e 5,165mg TBARS/Kg (J3). Em relação às médias de oxidação das 4 marcas avaliadas, não foram observadas ($p>0,05$) diferenças significativas os níveis de TBARS, que variaram entre 2,149 e 3,067mg/Kg segundo os diferentes fabricantes (TABELA 6).

Por outro lado, quando comparadas, as médias de oxidação entre as faixas de tempo de prateleira se observa uma evolução significativa segundo o aumento do período de armazenamento ($p<0,05$), com valores que partiram de 2,113 (T1) para 3,482 (T3). Quando avaliadas individualmente, três marcas (J1, J3 e J4) apresentaram maior nível da rancidez após 120 dias de armazenamento (T3) e somente (J2) não apresentou diferenças ($p>0,05$) durante as faixas de tempo avaliadas (TABELA 6).

A evolução da oxidação durante o armazenamento é esperada nos produtos cárneos e são encontrados diversos relatos na literatura. Youssef *et al.* (2011) identificaram valores entre 1,03 a 1,78mg de TBARS por Kg de JB com 75 dias em média de tempo de prateleira, nesse experimento, verificou-se também que o uso de nitrito reduziu em até duas vezes os níveis de rancidez. Experimento avaliando presuntos curados tratados com pressão hidrostática identificou aumento da oxidação lipídica durante 90 dias de armazenamento a 4°C (CAVA *et al.*, 2009), assim como hambúrgueres armazenados em atmosfera modificada (O_2 80:20 N_2) sem adição de antioxidantes também apresentaram evolução da oxidação lipídica (LUND *et al.*, 2007).

5.2.2 Efeito da substituição de nitrito de sódio por bixinato de potássio sobre a oxidação lipídica em jerked beef

Embora o ensaio de oxidação lipídica detecte outros produtos de oxidação além do malonaldeído, o método se mostra viável, apresentando forte correlação com análise sensorial (ROSS e SMITH, 2006). Durante todo o tempo de prateleira das amostras de JB, foram observados maiores níveis de rancidez para o controle, e ao compará-lo com os tratamentos com adição de nitrito ou de sal de bixina, ambos foram capazes de reduzir esses níveis, em média, 30% (TABELA 7). De forma geral, o tratamento com metade da concentração de nitrito (N/B), se

destacou por apresentar os menores valores ($p < 0,05$) durante os 90 dias de armazenamento, com quantidades entre 1,90 a 6,77mg TBARS/Kg amostra, enquanto a formulação nitrito integral (NIT), entre 1,84 a 11,25mg TBARS/Kg amostra. No entanto, a média 7,30mg TBARS/Kg do tratamento BIX foi inferior somente ao controle, de média 16,43. (TABELA 7). Considerando-se todo o período de estocagem, houve aumento da rancidez em todos os grupos ($p < 0,05$), com picos entre 45 e 60 dias, e queda após 90 dias (TABELA 7).

TABELA 7 – EFEITO DA SUBSTITUIÇÃO DO NITRITO DE SÓDIO POR BIXINATO DE POTÁSSIO SOBRE A OXIDAÇÃO LIPÍDICA (mg TBARS/KG PRODUTO) EM JERKED BEEF

Tratamento	Tempo de prateleira					
	0 dias	15 dias	30 dias	45 dias	60 dias	90 dias
NIT	1,837 ^a (±0,174) A	10,731 ^a (±0,874) B	9,12 ^a (±0,265) B	11,189 ^a (±0,695) B	11,256 ^a (±0,334) B	5,485 ^a (±0,139) A
N/B	1,902 ^a (±0,106) A	3,584 ^b (±0,037) B	5,104 ^b (±0,201) C	7,541 ^b (±0,424) D	6,022 ^b (±0,232) E	6,775 ^b (±0,279) E
BIX	2,434 ^b (±0,144) A	3,392 ^c (±0,098) A	8,250 ^a (±0,925) B	12,288 ^a (±0,664) C	12,438 ^c (±0,331) C	8,335 ^c (±0,123) B
CTRL	3,982 ^c (±0,320) A	19,313 ^d (±1,007) B	27,025 ^c (±0,596) C	22,068 ^c (±0,760) D	18,841 ^d (±1,484) B	24,225 ^d (±0,305) E

^{a, b, c} Na mesma coluna, médias contendo diferentes sobrescritos indicam diferença significativa ($p < 0,05$) pelo teste T de student.

A, B, C, D, E: Na mesma linha, médias contendo diferentes letras maiúsculas indicam diferença significativa ($p < 0,05$) pelo teste de Tukey.

Ao comparar os resultados para o JB elaborado em laboratório com as apresentações comerciais de JB, observa-se que durante os 90 dias de armazenamento, os valores para o JB experimental partiram de 5,4 a 24,2mg TBARS/Kg (TABELA 7), enquanto os JB do comércio demonstraram, no tempo correspondente (T2) entre 1,2 até 2,1mg TBARS/Kg (TABELA 6). Verificou-se que os valores de oxidação foram maiores para os grupos de JB de laboratório com adição

de nitrito (NIT e N/B) (TABELA 7) em relação às amostras comerciais de JB (TABELA 6).

O JB apresenta uma série de características que o tornam um produto altamente suscetível à oxidação, como, a presença do cloreto de sódio, que pode aumentar a reatividade atividade catalítica do ferro da mioglobina, ao deslocar ou formar um complexo com esse íon (DECKER e XU, 1998), sendo essa atividade dependente de temperatura (KRISTENSEN e PURSLOW, 2001). Como o processo de obtenção do JB passa por um abafamento (cobertura com sal) e se mantém a temperaturas relativamente altas (mín. 25°C) a formação do ferro não-heme é favorecida na produção deste produto cárneo (YOUSSEF *et al.*, 2011). No entanto, alternativas viáveis aplicadas na elaboração do JB reduzem a oxidação, como utilização de vácuo e embalagens não permeáveis ao oxigênio e aditivos sintéticos como os sais de cura (YOUSSEF, ROCHA GARCIA e SHIMOKOMAKI, 2003).

O nitrito de sódio tem capacidade de quelar íons metálicos, como o Fe^{+2} da mioglobina, evitando que sirvam de catalisadores da oxidação (MORRISSEY e TICHIVANGANA, 1985) ou como estabilizadores de ácidos graxos, (saturados ou insaturados) além de fosfolípidios, reduzindo a oxidação nesses compostos (FREYBLER *et al.*, 1993).

Mesmo que a molécula da bixina seja de cadeia carbônica curta (25 carbonos) quando comparada aos outros carotenoides, sua extensa formação de dienos conjugados é capaz de estabilizar, por ressonância, o radical formado durante a fase de propagação, interrompendo assim a reação em cadeia característica da oxidação lipídica (RAMALHO e JORGE, 2006). O mecanismo antioxidante do urucum já é estabelecido e comprovado em alguns alimentos (SCOTTER, M., 2009); embora ainda não haja publicações buscando o efeito da bixina em produtos cárneos com altos níveis de proteína, como o charque ou jerked beef.

Experimentos anteriores avaliando outros produtos cárneos demonstraram o efeito antioxidante do urucum. Por exemplo, na avaliação de hambúrgueres de frango adicionados de urucum (173mg bixina/100 g urucum) e armazenados crus ou fritos à -18°C por 120 dias, exercendo não só redução da rancidez como efeito protetor à vitamina E previamente adicionada na formulação, sugerindo efeito sinérgico (CASTRO, MARIUTTI e BRAGAGNOLO, 2011). O estudo que avaliou almôndegas de pescado armazenadas -18°C por 120 dias, demonstrou

que a adição urucum (14mg/g bixina) na concentração de 0,1% foi capaz de reduzir os níveis de oxidação lipídica durante todo o armazenamento (SANCHO *et al.*, 2011).

Dependendo do componente principal do urucum utilizado na formulação e do produto cárneo em questão, podem-se observar diferentes efeitos quanto à atividade antioxidante. O estudo que avaliou a adição de norbixina em salsichas refrigeradas a 4°C exibiu resultados de oxidação, ao final de 45 dias, de aproximadamente 0,33mg MDA/Kg de amostra (MERCADANTE *et al.*, 2010), enquanto no mesmo período, a substituição total de nitrito por sal de bixina em JB do presente trabalho atingiu valores entre 12,88 e 8,77mg TBARS/Kg respectivamente. Quando se tem uma matriz cárnea de fase óleo/água, moléculas mais apolares como a bixina permanecem preferencialmente dentro das gotículas de óleo, enquanto a norbixina, mais polar (FIGURA 6), tende a se localizar na interfase da emulsão ou na membrana fosfolipídica, onde a oxidação é mais prevalente (MERCADANTE *et al.*, 2010).

5.3 NITRITO RESIDUAL

5.3.1 Análise residual de nitrito em apresentações comerciais de jerked beef

Os níveis residuais de nitrito foram influenciados de forma significativa pelas diferenças entre marcas, dentro de cada faixa de tempo de prateleira (T1, T2 ou T3) foram verificadas variações significativas ($p < 0,05$) entre produtos de diferente fabricação. Em media, as marcas apresentaram durante a vida de prateleira níveis de nitrito que variaram de traços (J4) a 21,176 ppm (J1) (TABELA 8).

Por outro lado, o tempo de prateleira se mostrou menos importante para os níveis residuais de nitrito quando comparado à influência das marcas. Duas marcas J1 e J3 não exibiram reduções significativas dos níveis nitrito ao longo do tempo de prateleira, enquanto o J2 apresentou crescente concentração do composto na amostra com maior tempo de prateleira (T3). Apenas J4 apresentou redução significativa nos níveis de nitrito, no entanto, esses que já eram bastante reduzidos em T1 (0,03 ppm) e deixaram de ser detectados em T2 e T3 (TABELA 8).

TABELA 8 - NÍVEIS RESIDUAIS DE NITRITO DURANTE A VIDA DE PRATELEIRA DE APRESENTAÇÕES COMERCIAIS DE JERKED BEEF

Apresentação	Tempo de prateleira (dias)			Média entre lotes da mesma marca
	T1 (Até 60)	T2 (61-120)	T3 (121-180)	
(J1)	22,219 ^a (±0,799) A	23,091 ^a (±0,755) A	18,223 ^a (±4,018) A	1,176 ^a (±3,064)
(J2)	0,323 ^b (±0,301) A	1,301 ^b (±0,773) A	23,557 ^a (±0,584) B	8,393 ^b (±11,392)
(J3)	0,072 ^b (±0,125) A	6,594 ^{b,c} (±4,599) B	0,472 ^b (±0,292) A, B	1,853 ^b (±3,413)
(J4)	0,029 ^b (±0,0510) A	0,0 ^c (±0,0) A	0,0 ^c (±0,0) A	0,00 ^c
Média (tempo)	5,661 ^A (±9,992)	7,851 ^A (±10,183)	19,563 ^A (±11,102)	

^{a, b, c} Na mesma coluna, médias contendo diferentes sobrescritos indicam diferença significativa ($p < 0,05$) pelo teste T de student.

A, B, C: Na mesma linha, médias contendo diferentes letras maiúsculas indicam diferença significativa ($p < 0,05$) pelo teste de Tukey.

Quanto aos níveis individuais de nitrito identificados nas amostras comerciais de JB foram observadas concentrações variáveis de traços (J4 nos tempos T2 e T3) a 23,57 ppm (amostra J2 no tempo T3), demonstrando que todas amostras se encontravam dentro do limite de ppm estabelecido pela legislação nacional, que é de 150 ppm (BRASIL, 2006) (TABELA 8).

Estudo prévio avaliando a concentração de nitrito residual em 7 amostras comerciais de JB as concentrações identificadas foram inferiores a 10 ppm de nitrito e 4 dessas apresentações continham somente traços deste sal (YOUSSEF *et al.*, 2011). O experimento que avaliou o JB em escala experimental encontrou redução dos níveis detectáveis de nitrito, um produto formulado com 200 ppm reduziu seus níveis para 13,90 ao termino do processamento (YOUSSEF, ROCHA GARCIA e SHIMOKOMAKI, 2003).

5.3.2 Efeito da substituição de nitrito de sódio por bixinato de potássio sobre o nitrito residual em jerked beef

Nos tratamentos em que houve injeção de 150 ou 75 ppm (tratamento NIT e N/B), verificou-se, após a etapa de salga úmida, declínio de 66% e 54% nos tratamentos (GRÁFICO 1). A quantidade de nitrito pré-estabelecida para os tratamentos NIT e N/B (item 4.3) não foi aplicada na sua forma concentrada, uma vez que foi diluída na solução salina injetada no JB, cujo volume foi de 40% (p/v) em relação ao peso das amostras. Portanto, se considerar a alta solubilidade do nitrito (84,8g/100 g água), é esperado que enquanto uma parte desse aditivo fique na solução e não reaja com o produto cárneo, outra parte já está em reação com os componentes da carne, sendo detectados valores menores que 150 ppm logo na etapa inicial do processo de produção do Jerked Beef. Estudo que avaliou amostras retiradas de uma produção industrial de JB, verificou que o pico máximo de níveis de nitrito foi após a etapa da injeção de salmoura, com 41 ppm ou 27% de decaimento (PINTO *et al.*, 2006).

O processo de elaboração do jerked beef contribui para rápida redução dos níveis residuais de nitrito no JB, pois este aditivo está dissolvido também na água contida na amostra e pode ser eliminado no exsudato da carne. Como exemplo, na etapa da salga úmida de produção do JB, ocorre redução da atividade de água de 0,99 (carne crua) para em torno de 0,96, após 2 horas de processo (SABADINI *et al.*, 2001). O processo de desidratação por salga na obtenção do JB retira 30 a 40% de água entre o endomísio e as células musculares do carne, como observado por Biscontini *et al.* (1996), demonstrando assim clara desidratação durante a obtenção do jerked beef, devido não somente a salga, mas também às temperaturas alcançadas (35-40°C) durante o processamento (SHIMOKOMAKI *et al.*, 1998).

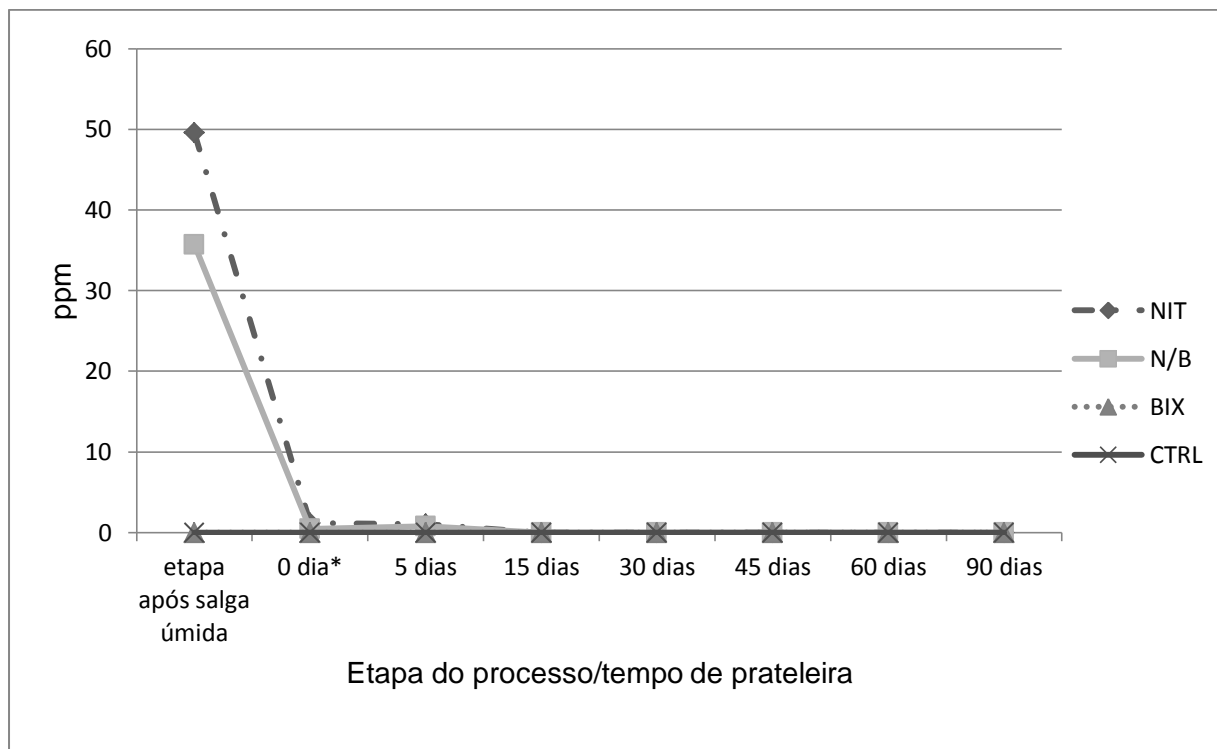


GRÁFICO 1 - NITRITO RESIDUAL (ppm) VERSUS TEMPO DE PRATELEIRA EM JERKED BEEF

*0 dia= etapa final da salga seca

Ao fim da salga seca, cuja duração foi de 5 dias (item 4.3), encontrou-se nitrito residual apenas no tratamento NIT, que apresentou em torno de 1 ppm (GRÁFICO 1). Após 5 dias de prateleira, para todos os tratamentos de JB elaborado no presente trabalho, os níveis residuais de nitrito estiveram abaixo do limiar de detecção do método utilizado (GRÁFICO 1).

Assim como não foi encontrado nitrito residual durante os 90 dias de armazenamento para nenhum tratamento do JB elaborado em laboratório (GRÁFICO 1), duas marcas de amostras comerciais de JB também apresentaram somente traços de nitrito residual após 120 dias de prateleira, porém, as outras 2 marcas (J1 e J2) exibiram quantidades acima de 18 ppm no mesmo intervalo (TABELA 8). Embora o nitrito não esteja mais detectável pelos métodos utilizados neste trabalho (item 4.5), sabe-se que o nitrito, ao formar óxido nítrico por uma série de reações (FIGURA 4) se associa com o ferro heme da mioglobina, mantendo as funções tecnológicas antioxidante e fixador de cor, durante certo tempo de prateleira (ARENDR, SKIBSTED e ANDERSEN, 1997).

Pesquisa avaliando um processo industrial de JB demonstrou que a concentração residual de nitrito diminuiu conforme o decorrer das etapas e tempo de

processo. No início da salga seca, ou 1 dia de processamento, o nitrito residual esteve em 41 ppm, decaindo para 13 ppm após a lavagem (8 dias de processo), até que ao término do processamento, que durou 12 dias, somente 8,6 ppm foram detectados (PINTO *et al.*, 2006). Segundo Honikel (2008), a perda de nitrito é dependente de vários fatores, como pH, tipo de animal que origina a matriz cárnea e temperatura, entre outros. Estima-se que entre 10 e 20% da quantidade original de nitrito adicionado permanece após o processo de elaboração dos produtos cárneos, e esses níveis tendem a cair conforme a vida de prateleira (PÉREZ-RODRÍGUEZ *et al.*, 1996; CASSENS, 1997b).

5.4 ANÁLISE DOS PARÂMETROS DE COR

5.4.1 Parâmetros de cor em apresentações comerciais de jerked beef

Os valores de luminosidade (L^*) observados nas amostras comerciais de JB variaram de 37,49 (J1/T3) a 43,18 (J4/T2) e apresentaram discrepâncias ($p < 0,05$) segundo as diferentes marcas dentro das faixas de tempo avaliadas. Em relação à luminosidade média das amostras ao longo do armazenamento, J1 apresentou, de forma geral, menores valores de L^* ($p < 0,05$), contrastando com as amostras restantes que apresentaram médias semelhantes ($p > 0,05$) (TABELA 9).

Comparando as médias observadas entre as diferentes faixas de tempo de prateleira verificou-se que luminosidade se estabilizou nos primeiros 120 dias de armazenamento, variando entre 39,39 (T1) e 40,98 (T2). No entanto, na última faixa de tempo avaliada (T3) foi verificada a redução dos valores de L^* ($p < 0,05$), indicando o escurecimento das amostras segundo o maior tempo de prateleira (TABELA 9), resultado que acompanha a evolução da oxidação lipídica (TABELA 6).

A presença do NaCl e nitrito promove mudanças de cor nos produtos cárneos. O efeito da cura ao manter o ferro hemínico na forma ferrosa (Fe^{+2}) torna o JB um produto de coloração vermelha, enquanto a ausência de nitrito facilita a oxidação do ferro (forma férrica, Fe^{+3}) e o desenvolvimento da cor marrom (YOUSSEF, ROCHA GARCIA e SHIMOKOMAKI *et al.* 2003; LAWRIE, 2005). Estima-se que apenas 2 a 14 ppm de nitrito são necessários, dependendo do produto cárneo,

para estabelecer a cor característica do curado, contudo, requer-se uma maior quantidade do aditivo para prevenir a perda e uniformidade de cor durante a vida de prateleira (SINDELAR e MILKOWSKI, 2011), entre 10 a 15ppm de nitrito residual são considerados suficientes para manter a regeneração do pigmento curado (nitrosilmioglobina) perdido pela oxidação lipídica e descoloração pela luz (HOUSER *et al.*, 2005).

TABELA 9 - PARÂMETROS DE COR (L*, a* E b*) AO LONGO DA VIDA DE PRATELEIRA DE APRESENTAÇÕES COMERCIAIS DE JERKED BEEF

Apresentação		Tempo de prateleira (dias)											
		T1			T2			T3			Média entre lotes da mesma marca		
		L	a*	b*	L	a*	b*	L	a*	b*	L	a*	b*
(J1)	40,13 ^{a,b} (±3,77) A	9,39 ^a (±1,30) A	6,41 ^{a,b} (±0,96) A	37,48 ^a (±5,08) A	8,63 ^a (±1,27) A	5,08 ^a (±1,43) B	37,49 ^a (±3,44) A	5,89 ^a (±1,16) B	5,92 ^a (±1,90) A, B	38,41 ^a	7,99 ^a	5,80 ^a	
(J2)	40,05 ^{a,b} (±3,14) A	8,62 ^a (±1,74) A	5,70 ^a (±1,23) A	41,48 ^b (±3,52) A	7,04 ^b (±1,95) B	6,45 ^b (±1,14) A, B	40,89 ^b (±5,39) A	9,40 ^b (±1,69) A	7,08 ^a (±1,26) B	40,74 ^b	8,49 ^a	6,35 ^a	
(J3)	41,77 ^b (±3,95) A	7,54 ^b (±1,85) A	6,69 ^{a,b} (±1,63) A	41,72 ^b (±5,15) A	9,68 ^c (±1,17) B	5,99 ^{a,b} (±1,50) A	38,09 ^{a,b} (±4,10) A	7,87 ^c (±1,23) A	6,27 ^a (±1,05) A	40,41 ^b	8,44 ^a	6,30 ^a	
(J4)	38,05 ^a (±5,79) A	10,76 ^c (±1,70) A	6,69 ^b (±1,29) A	43,18 ^b (±3,67) B	10,11 ^c (±1,35) A	6,85 ^b (±1,26) A	38,69 ^{a,b} (±3,69) A	8,99 ^b (±1,33) B	4,81 ^b (±1,01) B	40,23 ^b	9,94 ^b	6,05 ^a	
Média	39,69 ^A	9,36 ^A	6,39 ^A	40,98 ^A	8,85 ^A	6,31 ^A	37,95 ^B	7,76 ^B	6,03 ^A				

Médias (±DP) n=12 análises

^{a, b, c} Na mesma coluna, médias contendo diferentes sobrescritos indicam diferença significativa (p<0,05) pelo teste T de student.

A, B, C: Na mesma linha, médias contendo diferentes sobrescritos indicam diferença significativa (p<0,05) pelo teste de Tukey.

A avaliação do parâmetro a*, indicativo da cor vermelha, novamente evidenciou ampla variação entre as amostras, com valores entre 5,89 (J1/T3) e 10,76 (J4/T1). Duas marcas (J1 e J4) apresentaram redução (p<0,05) da cor vermelha ao

longo da vida de prateleira, enquanto, outras duas (J2 e J3) não diferiram ($p>0,05$) quanto aos valores deste parâmetro entre T1 e T3. Em média, quando comparadas às faixas de tempo de prateleira, pode ser verificado que existe uma redução ($p<0,05$) do parâmetro a^* de 9,36 (T1) a 7,76 (T3) ao longo do período de armazenamento (TABELA 9). Por outro lado, em relação às comparações entre as médias obtidas pelas marcas, pode ser verificada maior ($p<0,05$) coloração vermelha (9,94) nas amostras J4, apresentação que apresentou os menores níveis de oxidação (TABELA 6).

O parâmetro b , indicativo do componente amarelo, variou entre 4,81 (J4/T3) e 7,08 (J2 em T3). Duas marcas se mostraram estáveis ($p>0,05$) para este parâmetro ao longo de tempo de prateleira, no entanto, as duas restantes apresentaram variações ($p<0,05$), J2 apresentou b^* elevado de 5,70 (T1) para 7,08 (T3), de forma contrária, em J4 esse parâmetro foi reduzido de 6,69 a 4,81 (TABELA 9). No entanto, comparando as médias entre as faixas de tempo, não foram observadas diferenças de b^* durante o armazenamento (T1 a T3) e tampouco entre as médias das diferentes marcas.

5.4.2 Efeito da substituição do nitrito de sódio por bixinato de potássio sobre a cor em jerked beef

5.4.2.1 Luminosidade

A utilização dos sais de cura é considerada uma das melhorias tecnológicas no charque, que originaram o jerked beef (BISCONTINI, LOPES FILHO e SHIMOKOMAKI, 1992). A adição de nitrito confere não somente proteção microbiológica como também promove coloração vermelha característica de produtos curados (LARA *et al.*, 2000; LARA *et al.*, 2003; SHIMOKOMAKI *et al.*, 1998; YOUSSEF *et al.*, 2011).

As formulações de JB com nitrito de sódio e/ou bixinato de potássio apresentaram aumento na luminosidade. Os valores encontrados para tratamentos que substituíram totalmente (BIX) ou parcialmente (N/B) o nitrito demonstraram médias no L^* de 33,03 e 34,34, próximos ao tratamento curado (NIT), com L^* médio de 32,14. Quando comparados ao controle, os grupos com isenção (BIX) ou metade

da concentração de nitrito (N/B) promoveram elevação das médias de luminosidade de 10,25% e 13,67%, respectivamente, enquanto o grupo com somente nitrito cresceu, em média, 8,44% ($p < 0,05$) (TABELA 10).

Na evolução dos 90 dias de armazenamento, as amostras do grupo BIX e NIT demonstraram queda na luminosidade entre os 15 e 45 dias, com aumento a partir dos 60 dias. Por outro lado, a substituição parcial de nitrito (N/B) e o controle não exibiram, de forma geral, diferenças significativas ao longo dos 90 dias de armazenamento.

TABELA 10 – EFEITO DA SUBSTITUIÇÃO DO NITRITO POR SAL DE BIXINA SOBRE A LUMINOSIDADE (L^*) EM JERKED BEEF

Tratamento	Tempo de prateleira					
	0 dias	15 dias	30 dias	45 dias	60 dias	90 dias
NIT	33,681 ^a (±3,970) A, C, D	25,413 ^a (±3,713) B	30,932 ^a (±1,447) A, C	30,084 ^a (±3,518) C	35,037 ^{a, b} (±5,438) A, D	36,392 ^a (±3,726) D
N/B	33,883 ^a (±2,244) A, B	36,389 ^b (±3,344) A	33,876 ^b (±3,890) A, B	32,267 ^b (±0,712) B	33,027 ^a (±1,436) A, B	33,937 ^a (±3,674) A, B
BIX	35,055 ^a (±1,320) A	29,986 ^c (±3,162) B	31,056 ^{a, b} (±3,512) B	30,997 ^a (±1,865) B	36,877 ^b (±1,115) A	37,180 ^a (±6,019) A
CTRL	28,251 ^b (±1,793) A, B	30,312 ^c (±3,879) A, B	28,319 ^c (±1,259) A, B	27,559 ^c (±1,317) A	31,832 ^a (±2,570) B	29,779 ^b (±4,941) A, B

CTRL - controle; BIX - (500ppm de sal de bixina: 0 ppm NaNO_2); N/B (250ppm de sal de bixina + 75 ppm); NIT (150 ppm NaNO_2). Letras minúsculas diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa em nível de 5% pelo teste T. Letras maiúsculas diferentes na mesma linha indicam diferença significativa em nível de 5% por ANOVA.

Ao comparar os resultados obtidos para o JB elaborado em laboratório com as amostras comerciais de JB, enquanto o JB experimental apresentou aumento da luminosidade último estágio de tempo de prateleira (60 a 90 dias), nos JB de marca verificou-se estabilidade no L^* até os 120 dias de tempo de prateleira (T2) seguida de redução no período final (120-180 dias) (TABELA 9). Ainda, tanto por marcas, como por tempo, os JB obtidos do comércio exibiram médias de

luminosidade (TABELA 9) superiores à todas as obtidas no JB desenvolvido em laboratório (TABELA 10).

O experimento que avaliou salsichas adicionadas de crescentes concentrações (0 a 120 ppm) de urucum e armazenadas por 30 dias a 4°C, não relatou diferenças na luminosidade (ZARRINGHALAMI; SAHARI e HAMIDI-ESFEHANI, 2009). No entanto, o estudo com hambúrgueres de frango cru contendo bixina e congelados a -18°C por 120 dias apresentou redução no L* nas amostras cruas, mas, quando essas foram grelhadas antes do congelamento, a adição de bixina apresentou maiores valores de luminosidade (CASTRO; MARIUTTI e BRAGAGNOLO, 2011).

5.4.2.2 Vermelho

A característica vermelha do sal de bixina conferiu, considerando-se todo o período de armazenamento, valores médios de a* 35% (BIX) e 42% (N/B) maiores que o controle ($p < 0,05$) (TABELA 11). Mesmo em ausência de nitrito, a substituição total do sal de cura pelo bixinato de potássio apresentou média de a* 10,52 ($\pm 1,57$), maior que as amostras com somente nitrito, de a* médio 8,53 ($\pm 2,09$). Da mesma forma, além de superar o grupo NIT, o tratamento N/B se estabeleceu com o maior a* entre as amostras, com média de 12,23 ($\pm 3,12$) (TABELA 11).

Considerando todo o intervalo de armazenamento, a parcial ou total substituição do nitrito por bixinato além de promover redução da oxidação lipídica (TABELA 7), também não sofreu perda do vermelho, mantendo os valores de a* superiores ao CTRL e NIT (TABELA 10).

TABELA 11 – EFEITO DA SUBSTITUIÇÃO DO NITRITO POR SAL DE BIXINA SOBRE A COR VERMELHA (a*) EM JERKED BEEF

Tratamento	Tempo de prateleira					
	0 dias	15 dias	30 dias	45 dias	60 dias	90 dias
NIT	3,940 ^a (±0,845) A	8,306 ^a (±1,874) B	11,112 ^{a, b} (±2,014) C	9,895 ^a (±0,965) B, C	9,517 ^a (±2,109) B, C	8,518 ^a (±1,289) B
N/B	9,304 ^b (±1,500) A	12,639 ^b (±2,930) A, B	12,655 ^b (±2,530) A, B	14,625 ^b (±4,181) B, C	16,333 ^b (±1,723) C	15,331 ^b (±3,087) B, C
BIX	8,11 ^c (±1,202) A	10,812 ^b (±1,844) B	9,997 ^a (±0,765) B	11,074 ^c (±0,966) B	13,683 ^c (±0,644) C	10,393 ^c (±2,036) B
CTRL	5,22 ^d (±1,777) A	6,297 ^c (±1,015) A, B	7,230 ^c (±0,603) B	7,207 ^d (±0,934) B	9,781 ^a (±1,804) C	6,693 ^d (±0,660) B

CTRL - controle; BIX - (500ppm de sal de bixina: 0 ppm NaNO₂); N/B (250ppm de sal de bixina + 75 ppm); NIT (150 ppm NaNO₂). Letras minúsculas diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa em nível de 5% pelo teste T. Letras maiúsculas diferentes na mesma linha indicam diferença significativa em nível de 5% por ANOVA.

O JB laboratorial elaborado com 150 ppm de nitrito (NIT) ao exibir a* de 8,3 a 11,11 (TABELA 10), apresentou valores de vermelho próximos aos das amostras comerciais de JB, de a* entre 7,99 e 9,44 (TABELA 9). Ainda, os valores de vermelho do JB comercial foram inferiores quando comparados aos tratamentos que substituíram o nitrito de sódio por bixinato de potássio (TABELA 10).

Adições graduais de 0 até 120 ppm de urucum em salsichas refrigeradas (4°C) por 30 dias apresentaram aumento no vermelho, superiores ao controle e às amostras com nitrito (0 até 120 ppm NaNO₂) (ZARRINGHALAMI, SAHARI e HAMIDI-ESFEHANI, 2009), o mesmo efeito foi observado em hambúrgueres de frango adicionados de 400 ppm urucum (173 ±24mg bixina/100 g urucum), em que após 120 dias de armazenamento à -18°C, as amostras com o colorífico superaram o controle no parâmetro a* (MERCADANTE *et al.*, 2010).

De uma forma geral, nos produtos cárneos o efeito da oxidação se dá inicialmente nos pigmentos da carne para em uma segunda etapa ocorrer nos lipídios (TORRES *et al.*, 1988); a adição do bixinato de potássio não somente empresta

coloração vermelha como também protege os pigmentos da oxidação, diminuindo a perda de coloração durante o tempo, efeito que pode ser observado com outros antioxidantes naturais em diferentes produtos cárneos (item 3.10). Quando os carotenoides que apresentam atividade antioxidante doam um elétron ao radical livre, há uma mudança estrutural que causa perda de cor desses compostos, podendo exibir extinção na sua cor natural conforme o tempo (von ELBE e SCHWARTZ, 1996).

5.4.2.3 Amarelo

Verificou-se um significativo aumento em relação ao componente amarelo nos JB adicionados de bixinato de potássio. As amostras com mais destaque no amarelo, com média 9,63, foram as que continham 500 ppm de bixinato (BIX) , seguidas pelo grupo com substituição parcial do nitrito por sal de bixina, de b* médio 9,32. Ambos tratamentos superaram o CTRL e NIT, cujas médias de b* foram 7,66 e 4,87, respectivamente (TABELA 12).

TABELA 12 – EFEITO DA SUBSTITUIÇÃO DO NITRITO POR SAL DE BIXINA SOBRE A COR AMARELA (b*) EM JERKED BEEF

Tratamento	Tempo de prateleira					
	0 dias	15 dias	30 dias	45 dias	60 dias	90 dias
NIT	4,880 ^a (±1,252) A	4,898 ^a (±0,973) A	5,231 ^a (±0,520) A, B	6,435 ^a (±1,536) B	4,919 ^a (±1,514) A	4,683 ^a (±1,146) A
N/B	7,530 ^b (±1,606) A, D	8,831 ^b (±1,745) A, C, D	12,528 ^b (±3,280) B	9,130 ^{b, c} (±2,396) A, C, D	10,815 ^b (±0,774) B, C, D	9,446 ^b (±2,270) D
BIX	9,180 ^c (±1,767) A, B	10,258 ^c (±1,441) A	7,685 ^a (±1,523) B	9,093 ^c (±0,670) A, B	14,230 ^c (±0,754) C	10,765 ^b (±3,801) A
CTRL	6,61 ^b (±1,624) A	7,086 ^d (±1,546) A	7,942 ^b (±0,493) A	8,099 ^b (±1,030) A	10,496 ^b (±1,034) B	7,014 ^c (±1,871) A

CTRL - controle; BIX - (500ppm de sal de bixina: 0 ppm NaNO₂); N/B (250ppm de sal de bixina + 75 ppm); NIT (150 ppm NaNO₂). Letras minúsculas diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa em nível de 5% pelo teste T. Letras maiúsculas diferentes na mesma linha indicam diferença significativa em nível de 5% por ANOVA.

Quando comparados, os grupos de JB laboratorial apresentaram b^* discretamente abaixo do encontrado para o JB comercial, cujas médias foram 5,80 a 6,35 (entre marcas) e 6,03 a 6,31 (entre tempos) (TABELA 10). Conforme houve a substituição de nitrito por bixinato de potássio nas amostras de JB do presente trabalho, maior foi a elevação do b^* , com destaque nas amostras que continham somente o sal de bixina (TABELA 12).

Como esperado, a presença do urucum em outros produtos cárneos aumenta o componente amarelo. Estudos prévios relataram aumento no b^* conforme a maior concentração de urucum em salsichas adicionadas de urucum de 0 a 120 ppm e armazenadas por 30 dias (4°C), exibiram b^* entre 17 a 25 (ZARRINGHALAMI, SAHARI e HAMIDI-ESFEHANI, 2009). Também, o trabalho de Castro, Mariutti e Bragagnolo (2011) demonstrou maiores valores do componente amarelo nos hambúrgueres de frango formulados com urucum, congelados e armazenados a -18°C por 120 dias, enquanto processamento térmico (grelhar) levou a uma elevação do b^* causado pela possível presença da substância de degradação da bixina, chamado C17, de coloração amarela (CASTRO, MARIUTTI e BRAGAGNOLO, 2011; SCOTTER, CASTLE e APPLETON, 2001). De forma geral, os valores encontrados para b^* durante os 90 dias de armazenamento estiveram constantes ($p > 0,05$) (TABELA 12); as condições de armazenamento das amostras (item 4.3) não implicam degradação térmica da bixina.

5.5 ANÁLISE SENSORIAL

5.5.1 Análise sensorial das apresentações comerciais de jerked beef

A análise sensorial de preferência pela cor foi realizada utilizando a amostra de menor tempo de prateleira de cada marca, logo, todas pertencentes a T1 (0 a 60 dias de armazenamento). A preferência pela cor do produto J4 superou J2, J3 e J1 em 50%, 132% e 250%, respectivamente (GRÁFICO 2). A mostra J4, cuja aparência foi preferida pelos provadores, apresentou na faixa de tempo avaliada (T1) coloração vermelha (a^*) de média 10,76, superior ($p < 0,05$) às demais amostras (TABELA 9). Na faixa de tempo avaliada quanto à preferência pela cor, J4 apresentou

também o menor ($p < 0,05$) nível de oxidação (1,6499mg TBARS/Kg) (TABELA 6) e ainda menor média quanto ao nível residual de nitrito (TABELA 8).

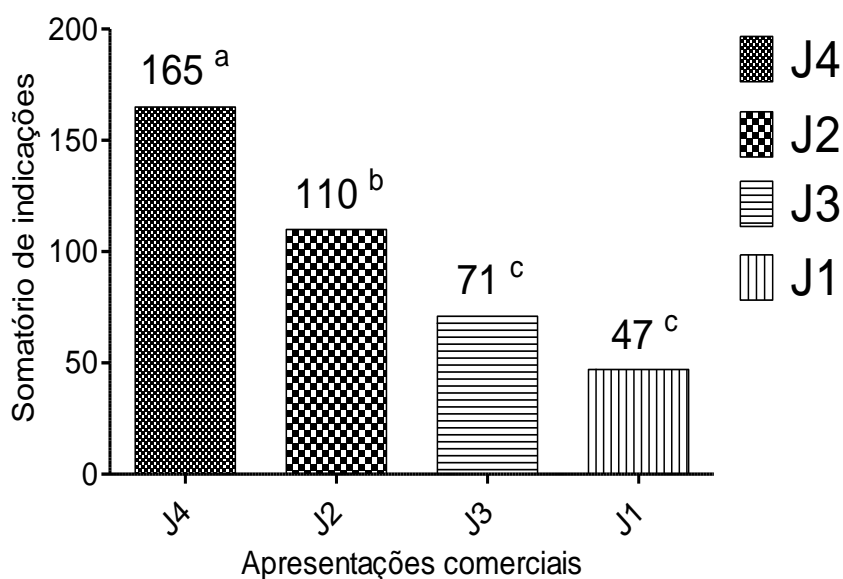


GRÁFICO 2 - PREFERÊNCIA DOS CONSUMIDORES PELA COR DE APRESENTAÇÕES COMERCIAIS DE JERKED BEEF

$n = 48$; a, b, c: Médias contendo diferentes sobrescritos indicam diferença significativa ($p < 0,05$), segundo tabela de Newel.

5.5.2 Efeito da substituição do nitrito de sódio por bixinato de potássio sobre a avaliação sensorial em jerked beef

Visualmente, as amostras contendo bixinato de potássio promoveram maior coloração vermelha ao JB, como demonstrado na figura 9.

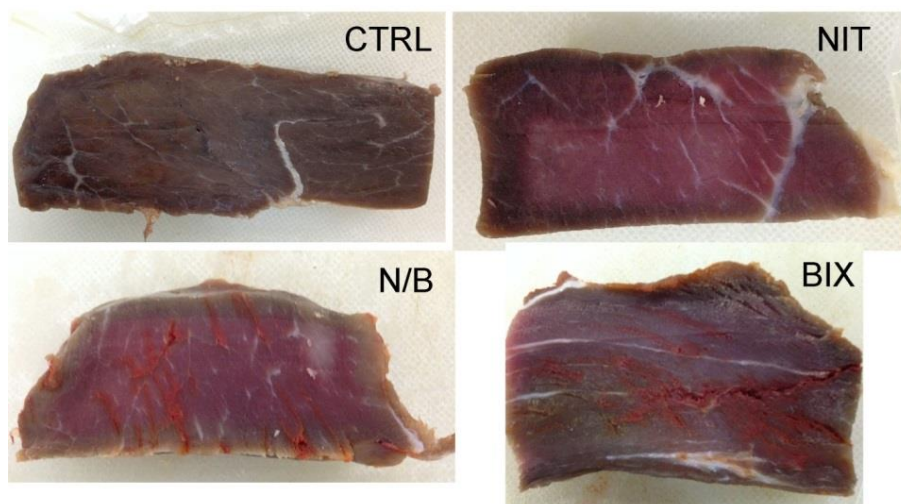


FIGURA 9 – AMOSTRAS DE TRATAMENTOS DE JERKED BEEF APÓS 30 DIAS DE ARMAZENAMENTO À 25°C

Considerando os resultados da análise sensorial como um todo, o tratamento com concentração integral de nitrito foi o mais aceito sensorialmente ($p < 0,05$). De forma oposta, a substituição total do nitrito por 500 ppm de bixinato de potássio resultou na menor aceitação sensorial (GRÁFICOS 3 a 6), com os menores medias ($p < 0,05$) em todos os períodos avaliados, porem, (item 4.7.2). No entanto, quando o nitrito foi parcialmente substituído pelo bixinato, os resultados demonstraram aceitação em mesmo nível que o controle, e em casos específicos, como nos tempos 0 e 60, foi tão aceito quanto as amostras de nitrito ($p > 0,05$).

O processo de cura promove apelo visual nos produtos cárneos, e faz com que os consumidores esperem uma coloração vermelha típica, causada pelo uso do nitrito de sódio (YOUSSEF *et al.*, 2011), efeito do qual foi observado nas amostras comerciais de JB, em que a apresentação com maiores valores de a^* (TABELA 9) foram as mais aceitas (GRÁFICO 2).

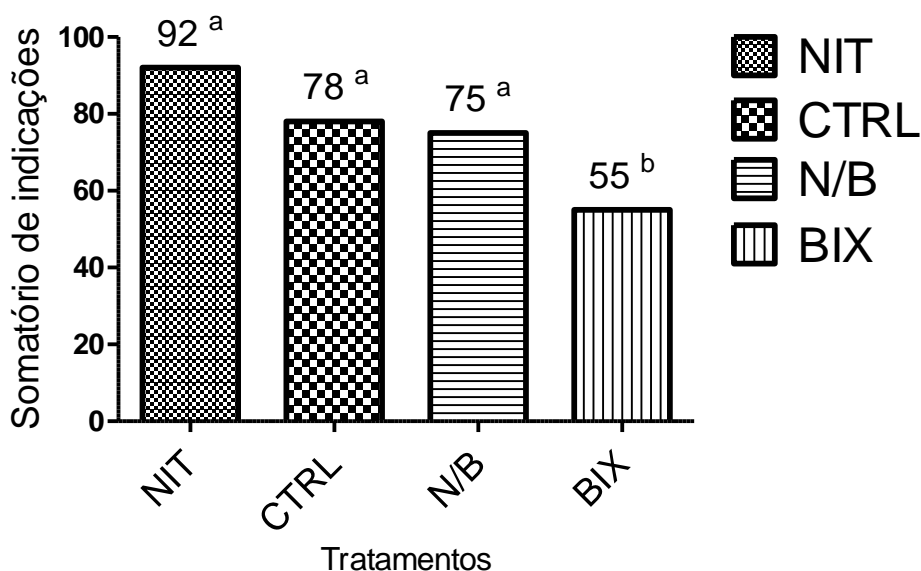


GRÁFICO 3 – TESTE DE ORDENAÇÃO EM JERKED BEEF A 0 DIA DE PRATELEIRA
 N = 30; ^{a, b, c}: Médias contendo diferentes sobrescritos indicam diferença significativa ($p < 0,05$), segundo tabela de Newel.

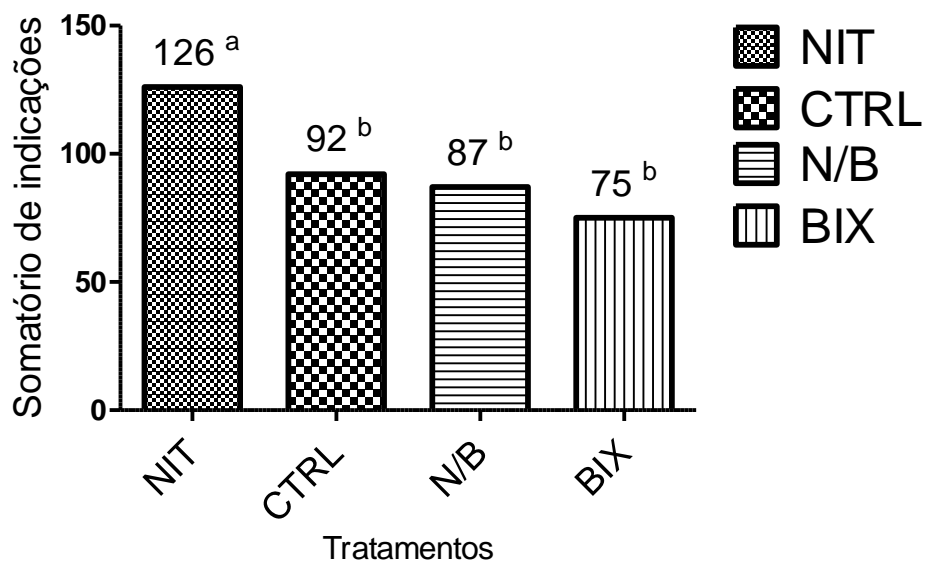


GRÁFICO 4 - TESTE DE ORDENAÇÃO EM JERKED BEEF A 30 DIAS DE PRATELEIRA
N = 38; ^{a, b, c}: Médias contendo diferentes sobrescritos indicam diferença significativa ($p < 0,05$), segundo tabela de Newel.

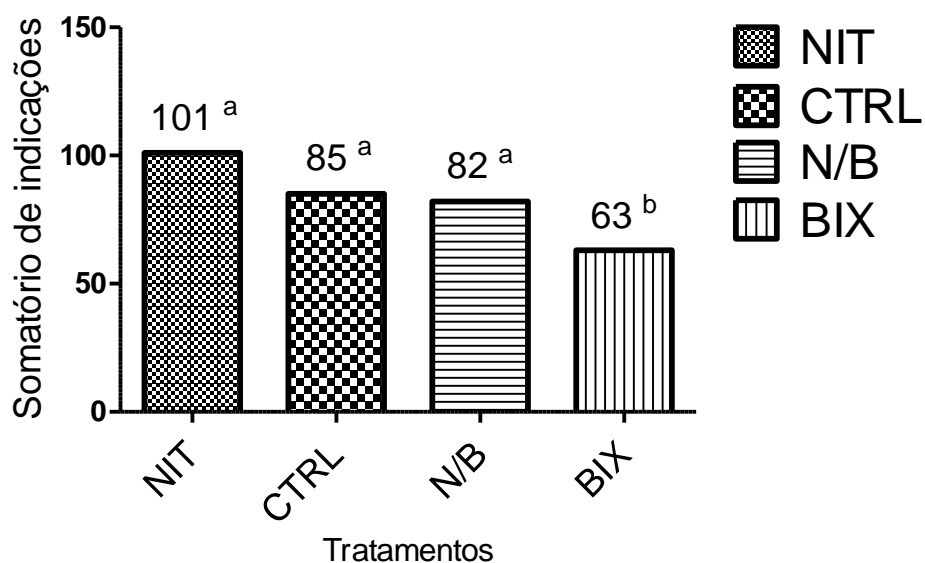


GRÁFICO 5 - TESTE DE ORDENAÇÃO EM JERKED BEEF A 60 DIAS DE PRATELEIRA
N = 33; ^{a, b, c}: Médias contendo diferentes sobrescritos indicam diferença significativa ($p < 0,05$), segundo tabela de Newel.

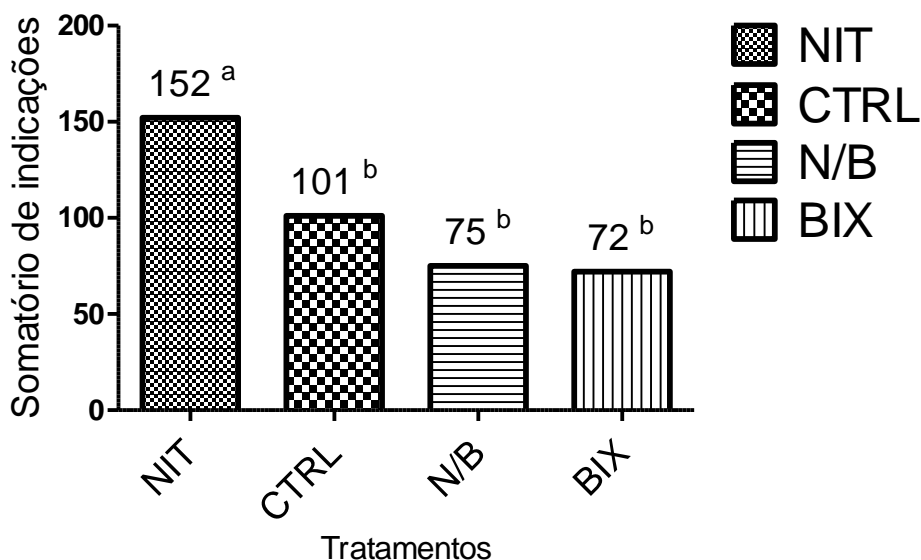


GRÁFICO 6 - TESTE DE ORDENAÇÃO EM JERKED BEEF A 90 DIAS DE PRATELEIRA N = 40; ^{a, b, c}: Médias contendo diferentes sobrescritos indicam diferença significativa ($p < 0,05$), segundo tabela de Newel.

Embora a bixina apresente cor vermelha, também proporciona aumento do parâmetro b^* (amarelo) (TABELA 12), e o somatório das duas cores originadas pelo bixinato de potássio resultou num produto de coloração final de menor aceitação sensorial (GRÁFICOS 3-6). No entanto, quando o nitrito foi substituído parcialmente pelo bixinato se observou uma coloração semelhante ao tratamento com concentração integral de nitrito nos primeiros 60 dias de armazenamento (GRÁFICOS 3-6).

Avaliações sensoriais em salsichas formuladas com 50% ou 70% de carne com substituição de 120 ppm de nitrito por urucum (0, 20, 40, 60, 80 e 100% substituição), não apresentaram diferenças no sabor e odor mesmo após 20 dias de armazenamento, para o teste sensorial em escala hedônica (ZARRINGHALAMI; SAHARI e HAMIDI-ESFEHANI, 2009). Da mesma forma, o efeito da adição de norbixina em salsichas foi considerado agradável quanto ao odor de ranço (*oxidative off-flavors*) após 45 dias de armazenamento em refrigeração junto à outros tratamentos com diferentes carotenoides e aditivos (licopeno, zeaxantina, beta caroteno e eritorbato de sódio, respectivamente) (MERCADANTE *et al.*, 2010).

6 CONCLUSÃO

O bixinato de potássio se mostrou uma alternativa viável para prover cor vermelha e ação antioxidante em substituição ao nitrito de sódio, podendo minimizar o uso dos sais de cura aos produtos cárneos salgados. Corantes amarelo-alaranjados obtidos do urucum são uma ferramenta tecnológica conhecida e de uso previsto na legislação. No entanto, o isolamento da bixina e sua conversão em sal proporcionam um aditivo inovador, de cor vermelha, ação antioxidante e características hidrofílicas que permitem amplas aplicações na indústria alimentícia. Diante do exposto, sugere-se ainda que a legislação nacional seja revista e, além da função tecnológica de corante, deva incluir também a ação antioxidante para os derivados do urucum. Estudos complementares devem ser desenvolvidos para adequar as condições de processo e concentrações às particularidades do jerked beef.

REFERÊNCIAS

AGNER, A. R.; BAZO, A. P.; RIBEIRO, L. R.; SALVADORI, D. M. F. Absence of carcinogenic and anticarcinogenic effects of annatto in the rat liver medium-term assay. **Food and Chemical Toxicology**, v.42, n.10, p.1687-1693, 2005.

AHN, J.; GRÜN, I. U.; MUSTAPHA, A. Effects of plant extracts on microbial growth, color change, and lipid oxidation in cooked beef. **Food microbiology**, v. 24, n. 1, p. 7–14, 2007. Disponível em:<www.sciencedirect.com>. Acesso em:<20/01/2013>.

AKARPAT, A.; TURHAN, S.; USTUN, N. S. Effects of hot-water extracts from myrtle, rosemary, nettle and lemon balm leaves on lipid oxidation and color of beef patties during frozen storage. **Journal of Food Processing and Preservation**, v. 32, p. 117-132, 2008.

ALEXANDER, J.; BENFORD, D.; COCKBURN, A.; CRAVEDI, J.; DOGLIOTTI, E.; DOMENICO, A.; FERNÁNDEZ-CRUZ, M. L.; FINK-GREMMELS, J.; FURST, P.; GALLI, C.; GRANDJEAN, P.; GZYL, J.; HEINEMEYER, G.; JOHANSSON, N.; MUTTI, A.; SCHLATTER, J.; LEEUWEN, R.; PETEGHEM C.; VERGER, P. **Opinion of the Scientific Panel on Contaminants in the Food chain on a request from the European Commission to perform a scientific risk assessment on nitrate in vegetables**. Parma (Itália): EFSA, 2008. 79 p. Question N. EFSA-Q-2006-071. The EFSA Journal, v. 689, p. 1–79.

ALP, E.; AKSU, M. I. Effects of water extract of *Urtica dioica* L. and modified atmosphere packaging on the shelf life os ground beef. **Meat Science**, v. 86, p. 468-473, 2010.

ALVARENGA, D. Classe média brasileira é o 18º maior 'país' do mundo em consumo. **G1 Globo**, São Paulo, 18 de fevereiro de 2014. Disponível em:<<http://g1.globo.com/economia/noticia/2014/02/classe-media-brasileira-e-o-18-maior-pais-do-mundo-em-consumo.html>>. Acesso em: 13 de maio de 2014.

ARENDRT, B.; SKIBSTED, L. H.; ANDERSEN, H. J. Antioxidative activity of nitrite in metmyoglobin induced lipid peroxidation. **Z Lebensm Unters Forsch A**, v. 204, n. 1, p. 7 -12, 1997. Disponível em:<www.sciencedirect.com>. Acesso em:<20/01/2013>.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DAS INDÚSTRIAS EXPORTADORAS DE CARNE (ABIEC). Exportações brasileiras de carne bovina. **Relatório técnico**, 2013.

AUTTACHOAT, W.; GERMOLEC, D. R.; SMITH, M. J.; WHITE, K. L.; GUO, T. L. Contact sensitizing potential of annatto extract and its two primary color components, *cis*bixin and *nor*bixin, in female BALB/c mice. **Food and Chemical Toxicology**, 2011.

BARD, J.; TOWNSEND, W. E. Meat curing. In: PRICE, J. F.; SCHWEIGERT, B. S. **The Science of Meat and Meat Products**. San Francisco: J. H. Freeman and Company., 1971, p. 452-483.

BEKHIT, A. E. D.; FAUSTMAN, C. Metmyoglobin reducing activity. **Meat science**, v. 71, n. 3, p. 407–39, 2005. Disponível em:<www.sciencedirect.com>. Acesso em:<19/01/2013>.

BIANCHINI, F.; WILD, C. P. Comparison of 7-MedG formation in white blood cells, liver and target organs in rats treated with methylating carcinogens. **Carcinogenesis**, v. 15, p. 1137-1141, 1994. Disponível em:<www.sciencedirect.com>. Acesso em:<20/01/2013>.

BISCONTINI, T. M. B.; LOPES FILHO, A.; SHIMOKOMAKI, M. Jerked beef: uma evolução tecnológica do charque. **Revista Nacional de Carne**, v. 16, n. 183, p. 43, 1992. Disponível em:<www.sciencedirect.com>. Acesso em:<01/12/2013>.

BISCONTINI, T. M.; SHIMOKOMAKI, M.; OLIVEIRA, S. F.; ZORN, T. M. T. An ultrastructural observation on charquis, salted and intermediate moisture meat products. **Meat science**, v. 43, n. 3-4, p. 351–8, 1996. Disponível em:<www.sciencedirect.com>. Acesso em:<01/12/2013>.

BLOUKAS, J. G.; ARVANITOYANNIS, I. S.; SIOPI, A. A. Effect of natural colorant and nitrites on colour attributes of frankfurters. **Meat Science**, v. 52, p. 257–265, 1999.

BRASIL. Decreto nº 1255, de 25 de junho de 1962. Altera o Decreto nº 30.691, de 29 de março de 1952, que aprovou o Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 04 de julho de 1962. Disponível em:<http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/decreto/Historicos/DCM/dcm1255.htm#art1>.

BRASIL. MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO (MAPA). **Instrução Normativa n. 22, de 31 de julho de 2000**. Dispõe do Regulamento Técnico Identidade e Qualidade de Copa, de Jerked Beef, de Presunto tipo Parma, de Presunto Cru, de Salame, de Salaminho, de Salaminho tipo Alemão, de Salame tipo Calabrês, de Salame tipo Friolano, de Salame tipo Napolitano, de Salame tipo Hamburguês, de Salame tipo Italiano, de Salame tipo Milano, de Lingüiça Colonial e Pepperoni. Diário Oficial da União, seção 01, 2000.

BULAY, O.; MIRVISH, S. S.; GARCIA, H.; PELFRENE, A. F.; GOLD, B.; EAGEN, M. Carcinogenicity test of six nitrosamides and a nitrosocyanamide administered orally to rats. **J. Natl. Cancer Inst.**, v. 62, p. 1523-1528, 1979. Disponível em:<www.sciencedirect.com>. Acesso em:<02/01/2013>.

CASSENS, R. G. Composition and safety of cured meats in the USA. **Food Chemistry**, v. 59, n. 4, p. 561–566, 1997a. Disponível em:<www.sciencedirect.com>. Acesso em:<02/01/2013>.

CASSENS, R. G. Residual nitrite in cured meat. **Food Technology**, v. 51, p. 53-55, 1997b. Disponível em:<www.sciencedirect.com>. Acesso em:<02/01/2013>.

CASTRO, W. F.; MARIUTTI, L. R. B.; BRAGAGNOLO, N. The effects of colorifico on lipid oxidation, colour and vitamin E in raw and grilled chicken patties during frozen storage. **Food Chemistry**, v. 124, n. 1, p. 126–131, jan. 2011. Disponível em:<www.sciencedirect.com>. Acesso em:<02/01/2013>.

CAVA, R., LADERO, L.; GONZÁLEZ, S.; CARRASCO, A.; RAMÍREZ, M. R. Effect of pressure and holding time on colour, protein and lipid oxidation of sliced dry-cured Iberian ham and loin during refrigerated storage. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 10, n. 1, p. 76-81, 2009.

CHAN, T. Y. K. Vegetable-borne nitrate and nitrite and the risk of methaemoglobinaemia. **Toxicology letters**, v. 200, n. 1-2, p. 107–8, 15 jan. 2011. Disponível em:<www.sciencedirect.com>. Acesso em:<03/02/2013>.

CLYDESDALE, F. M.; FRANCIS, F. J. Pigments. In: FENNEMA, O, R. ed. **Principles of Food Science. Part I: Food Chemistry**. 11 a edição. New York: Marcel Dekker Inc., 1976. v. 4, p. 393-402.

COCKBURN, A.; BRAMBILLA, G.; FERNÁNDEZ, M. L.; ARCELLA, D.; BORDAJANDI, L. R.; COTTRILL, B.; PETEGHEM, C.; DORNE, J. L. Nitrite in feed: From Animal health to human health. **Toxicology and applied pharmacology**, 2010. Disponível em:<www.sciencedirect.com>. Acesso em:<05/04/2013>.

CONFEDERAÇÃO DA AGRICULTURA E PECUÁRIA DO BRASIL – CNA (DELGADO, A). Custos da pecuária de corte abrem 2013 em alta. **Ativos da Pecuária de corte**, v. 21, 2013.

COSTA, C.K. **Estudo fitoquímico de *Bixa orellana*, Bixacea e aplicação de óleo em formulação cosmética**. 98f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Curso de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2007.

DECKER, E.A.; XU, Z. Minimizing rancidity in muscle foods. **Food Technology**, v. 52, p. 54–59, 1998. Disponível em:<www.sciencedirect.com>. Acesso em:<03/02/2013>.

DEVATKAL, S. K.; NAVEENA, B. M. Effect of salt, kinnow and pomegranate fruit by-product powders on color and oxidative stability of raw ground meat during refrigerated storage. **Meat Science**, v. 85, p. 155-159, 2010. Disponível em:<www.sciencedirect.com>. Acesso em:<04/02/2013>.

DIETRICH, M.; BLOCK, G.; POGODA, J. M.; BUFFLER, P.; HECHT, S.; PRESTON-MARTIN, S. A review: dietary and endogenously formed N-nitroso compounds and risk of childhood brain tumors. **Cancer causes & control: CCC**, v. 16, n. 6, p. 619–35, 2005. Disponível em:<www.sciencedirect.com>. Acesso em:<21/02/2013>.

DRABIK-MARKIEWICZ, G.; DEJAEGHER, B.; DE MEY, E.; IMPENS, S.; KOWALSKA, T.; PAELINCK, H.; VANDER HEYDEN, Y. Evaluation of the influence of proline, hydroxyproline or pyrrolidine in the presence of sodium nitrite on N-nitrosamine formation when heating cured meat. **Analytica Chimica Acta**, v. 657, n. 2, p. 123-130, 2010.

EFSA (European Food Safety Authority). **Statement on possible public health risks for infants and young children from the presence of nitrate in leafy vegetables**. Parma (Itália): EFSA, 2010. **The EFSA Journal**, v. 8, n. 12, p. 1935. Disponível em:<<http://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/doc/1935.pdf.com>>. Acesso em:<21/03/2013>.

ELIAS, M. E. A.; SCHROTH, G.; MACEDO, J. L. V.; MOTA, M. S. S.; D'ANGELO, S. A. Mineral nutrition, growth and yields of annatto trees (*Bixa orellana*) in agroforestry on an Amazonian ferralsol. **Experimental Agriculture**, v. 38, p. 277-289, 2002.

FAN T. Y.; TANNENBAUM S. R. Factors influencing the rate of formation of nitrosomorpholine from morpholine and nitrite: acceleration by thiocyanate and other anions. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v. 21, p. 237–240, 1973. Disponível em:<www.sciencedirect.com>. Acesso em:<21/04/2013>.

FARIA, J. A. F.; FELICIO, P. E.; NEVES, M. A.; ROMANO, M. A. Formação e estabilidade da cor de produtos cárneos curados. **Revista Tec Carnes**, v. 3, n. 2, p. 16–22, 2001.

FERREIRA, V. L. P.; ALMEIDA, T. C. A.; PETINELLI, M. L. C.; SILVA, M. A. Z. P.; CHAVES, J. B. P.; BARBOSA, E. M. **Análise sensorial: testes discriminativos e afetivos**. Campinas: SBCTA, 2000.

FOOD AND DRUG ORGANIZATION (FAO)/WHO - JOINT OF EXPERT COMMITTEE ON FOOD ADDITIVES. **List of substances scheduled for evaluation and request for data**. Roma: 2002. 16p.

FORMAN, M. R. N-Nitroso Compounds: Assessing Agreement between Food Frequency Questionnaires and 7-Day Food Records. **YJADA**, v. 109, n. 7, p. 1179–1183, 2009.

FREYBLER, L. A.; GRAY, J. I.; ASGHAR, A.; BOOREN, A. M.; PEARSON, A. M.; BUCKLEY, D. J. Nitrite stabilization of lipids in cured pork. **Meat science**, v. 33, n. 1, p. 85–96, 1993. Disponível em:<www.sciencedirect.com>. Acesso em:<19/02/2013>.

GIULIANO, G.; ROSATI, C.; BRAMLEY, P. To dye or not to dye: biochemistry of annatto unveiled. **Trends in Biotechnology**, v.21, n.12, p.513-516, 2003.

GRAY, J. I.; GOMAA, E. A.; BUCKLEY, D. J. Oxidative quality and shelf life of meats. **Meat Science**, v. 41, n. 8, p. 11-123, 1996.

GREER, F. R.; SHANNON, M. Infant methemoglobinemia: the role of dietary nitrate in food and water. **Pediatrics**, v. 116, n. 3, p. 784–6, 2005. Disponível em:<www.sciencedirect.com>. Acesso em:<12/02/2013>.

GROENEN, P. J.; VAN DOKKUM, W.; VAN DER BEEK, E. J.; COCK-BETHBEDER, M. W.; PRINS, L. A.; WESSTRA, J. H. In: PROCEEDINGS IVth EUROPEAN NUTRITION CONFERENCE, 4, 1983. **Formation of nitrosodimethylamine in human gastric juice fluid after consumption of vegetables high in nitrate**, E.01.01.85-01, 1985, p. 310.

HAC-SZYMANCZUK, E.; LIPINSKA, E.; STASIUK, M. The Effect Of Rosemary Preparations On The Microbial Quality And Tbars Value Of Model Pork Batters. **Acta Scientiarum Polanonorum Technol. Aliment.**, v. 10, n. 2, p. 165–174, 2011.

HAILA, K. M.; LIEVONEN, S. M.; HEINONEN, M. I. Effects of Lutein, Lycopene, Annatto and γ -Tocopherol on Autoxidation of Triglycerides. **Journal of Agric. Food**

Chemistry, v. 44, n. 8, p. 2096–2100, 1996. Disponível em:<www.sciencedirect.com>. Acesso em:<17/02/2012>.

HONIKEL, K. The use and control of nitrate and nitrite for the processing of meat products. **Meat science**, v. 78, p. 68–76, 2008. Disponível em:<www.sciencedirect.com>. Acesso em:<11/12/2012>.

HOUSER, T. A.; SEBRANEK, J. G.; NUÑEZ MAISONET, W.; CORDRAY, J. C.; WIEGAND, B. R.; AHN, D. U.; LEE, E. J. The effects of irradiation at 1.6 kGy on quality characteristics of commercially produced ham and pork frankfurters over extended storage. **Journal of Food Science**, v. 70, p. 262-266, 2005.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz. Métodos físico-químicos para análise de alimentos, 4 ed., 2008, 1020 p.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE). Rio de Janeiro: Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Produção Agrícola Municipal, v. 37, 2010, 91 p. ISSN 0101-3963.

JIA, N.; KONG, B.; LIU, Q.; DIAO, X.; XIA, X. Antioxidant activity of black currant (*Ribes nigrum* L.) extract and its inhibitory effect on lipid and protein oxidation of pork patties during chilled storage. **Meat science**, v. 91, n. 4, p. 533–9, 2012. Disponível em:<www.sciencedirect.com>. Acesso em:<11/04/2014>.

KARRE, L.; LOPEZ, K.; GETTY, K. J. K. Natural antioxidants in meat and poultry products. **Meat science**, v. 94, n. 2, p. 220–7, 2013. Disponível em:<www.sciencedirect.com>. Acesso em:<11/07/2013>.

KIOKIAS, S.; OREOPOULOU, V. Antioxidant properties of natural carotenoid extracts against the AAPH-initiated oxidation of food emulsions. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, v. 7, n 1-2, p. 132-139, 2006. Disponível em:<www.sciencedirect.com>. Acesso em:<02/02/2013>.

KORTBOYER, J. M.; COLBERS, E. P. H.; VAESSEN, H. A. M. G.; GROEN, K.; ZEILMAKER, M. J.; SLOB, W.; SPEIJERS, G. J. A.; MEULENBELT, J. In: PROCEEDINGS OF THE INTERNATIONAL WORKSHOP "HEALTH ASPECTS OF NITRATES AND ITS METABOLITES", 8-10 novembro de 1995, Bilthoven, Holanda, 1995. **A pilot-study to investigate nitrate and nitrite kinetics in healthy volunteers with normal and artificially increased gastric pH after sodium nitrate ingestion**, p. 269-284.

KORTBOYER, J. M.; OLLING, M.; ZEILMAKER, M. J.; SLOB, W.; BOINK, A. B. T. J.; SCHOTHORST, R. C.; SIPS, A. J. A. M.; MEULENBELT, J. **The oral bioavailability of sodium nitrite investigated in healthy adult volunteers**. Bilthoven: The Netherlands, 1997. 94 p. Report of National Institute of Public Health and the Environment.

KRISTENSEN, L.; PURSLOW, P. P. The effect of processing temperature and addition of mono- and di- valent salts on the heme-nonheme-iron ratio in meat. **Food Chemistry**, v. 73, n. 4, p. 433-439, 2001. Disponível em: <www.sciencedirect.com>. Acesso em: <26/03/2013>.

KULKARNI, S.; DESANTOS, F. A.; KATTAMURI, S.; ROSSI, S. J.; BREWER, M. S. Effect of grape seed extract on oxidative, color and sensory stability of pre-cooked, frozen, re-heated beef sausage model system. **Meat Science**, v. 88, p. 139-144, 2011. Disponível em: <www.sciencedirect.com>. Acesso em: <29/08/2013>.

LARA, J. A. F.; DUTRA, I. S.; PINTO, M. F.; SHIMOKOMAKI, M. Botulismo: riscos decorrentes do processamento inadequado dos alimentos. O charque como enfoque. **Higiene Alimentar**, v. 13, n. 66-67, p. 56-62, 1999.

LARA, J. A. F.; DUTRA, I. S.; PINTO, M. F.; SHIMOKOMAKI, M. Evaluation of botulinal toxin production in charqui meat. In: *46th International Congress Of Meat Science And Technology*, Buenos Aires, v. 2, p. 738-739. 2000.

LARA, J. A. F.; SENIGALIA, S. W. B.; OLIVEIRA, T. C. R. M.; DUTRA I. S.; PINTO, M. F.; SHIMOKOMAKI, M. Evaluation of survival of *Staphylococcus aureus* and

Clostridium botulinum in chaqui meats. **Meat Science**, v. 65, n. 1, p. 609-613, 2003. Disponível em:<www.sciencedirect.com>. Acesso em:<20/11/2013>.

LAWRIE, R.A. **Ciencia da carne**. Porto Alegre: Artmed, 2005. 384p., inclui bibliografia e índice. ISBN 8536304596 (broch.).

LEE, E. J.; AHN, D. U. Quality characteristics of irradiated turkey breast rolls formulated with plum extract. **Meat Science**, v. 71, p. 300–305, 2005. Disponível em:<www.sciencedirect.com>. Acesso em:<30/12/2013>.

LEE, E. J.; MEI, L.; DECKER, E. A. Influence of sodium chloride on antioxidant enzyme activity and lipid oxidation in frozen ground pork. **Meat Science**, v. 49, n. 4, p. 349-355, 1997.

LIJINSKY, W.; EPSTEIN, S. S. Nitrosamines as environmental carcinogens. **Nature**, v. 225, p. 21-23, 1970.

LIJINSKY, W. N-Nitroso compounds in the diet. *Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, v. 443, p. 129–138, 1999. Disponível em:<www.sciencedirect.com>. Acesso em:<10/12/2012>.

LUND, M. N.; HVIID, M. S.; SKIBSTED, L. H. The combined effect of antioxidant and modified atmosphere packaging on protein and lipid oxidation in beef patties during chill storage. **Meat Science**, v. 76, p. 226-233, 2007. Disponível em:<www.sciencedirect.com>.

MAGEE, P. N.; BARNES, J. M. The production of malignant primary hepatic tumours in the rat by feeding dimethylnitrosamine. **British Journal Cancer**, v. 10, p. 114–122, 1956.

MANCINI, R. A.; HUNT, M. C. Current research in meat color. **Meat Science**, v. 71, p. 100-121, 2005. Disponível em:<www.sciencedirect.com>.

MANSOUR, E. H.; JHALIL, A. H. Evaluation of antioxidant activity of some plant extracts and their application to ground beef patties. **Food Chemistry**, v. 69, p. 135-141, 2000.

McKNIGHT, G.; SMITH, L. M.; DRUMMOND, R. S.; DUNCAN, C. W.; GOLDEM, M. N. H.; BENJAMIN, N. The chemical synthesis of NO in the stomach from dietary nitrate in man. **Gut**, v. 40, p. 211–214, 1997.

MENDE, P.; SPIEGELHALDER, B.; PREUSSMAN, R. Trace Analysis of Nitrosated Foodstuffs for Nitrosamides. **Food and Chemical Toxicology**, v. 29, n. 3, p. 167–172, 1991. Disponível em:<www.sciencedirect.com>. Acesso em:<10/01/2013>.

MENSINGA, T. T.; SPEIJERS, G.J.; MEULENBELT, J. Health implications of exposure to environmental nitrogenous compounds. **Toxicol. Rev.**, v. 22, p. 41–51, 2003. Disponível em:<www.sciencedirect.com>. Acesso em:<10/12/2013>.

MERCADANTE, A. Z.; CAPITANI, C. D.; DECKER, E. A.; CASTRO, I. A. Effect of natural pigments on the oxidative stability of sausages stored under refrigeration. **Meat science**, v. 84, n. 4, p. 718–26, 2010. Disponível em:<www.sciencedirect.com>. Acesso em:<01/02/2012>.

MIRVISH, S. S. Kinetics of N-nitrosation reactions in relation to tumorigenesis experiments with nitrite plus amines or ureas. In: BOGOVSKI, P.; WALKER, E. A.; DAVIS, W. (Ed). **N-Nitroso Compounds in the Environment**, IARC Scientific Publication n. 9. 1972a.

MIRVISH, S. S. Studies on N-nitrosation reactions: Kinetics of nitrosation, correlation with mouse feeding experiments, and natural occurrence of nitrosatable compounds (ureides and guanidines). In: NAKAHARA, W.; TAKA-YAMA, S.; SUGIMURA, S.; ODASHIMA, S. (Ed.). **Topics in Chemical Carcinogenesis**. Tokyo: University of Tokyo Press, 1972b. p. 279-295

MIRVISH, S. S.; GOLD, B.; EAGEN, M.; ARNOLD, D. Kinetics of the nitrosation of aminopyrine to give dimethylnitrosamine. **Z. Krebsforsch.**, v. 82, p. 259-268, 1974. Disponível em:<www.sciencedirect.com>. Acesso em:<03/02/2013>.

MIRVISH, S. S. Formation Chemistry , of N-Nitroso Kinetics , Compounds : and in Vivo Occurrence. **Toxicology and Applied Pharmacology**, v. 41, p. 325–351, 1975. Disponível em:<www.sciencedirect.com>. Acesso em:<03/02/2013>.

MIRVISH, S. S. Role of N-nitroso compounds (NOC) and N-nitrosation in etiology of gastric, esophageal, nasopharyngeal and bladder cancer and contribution to cancer of known exposures to NOC. **Cancer Letters**, v. 93, p. 17–48, 1995. Disponível em:<www.sciencedirect.com>. Acesso em:<03/02/2013>.

MITACEK, E. J.; BRUNNEMANN, K. D.; SUTTAJIT, M.; CAPLAN, L. S.; GAGNA, C. E.; BHOTHISUWAN, K.; SIRIAMORNUN, S.; HUMMEL, C. F.; OHSHIMA, H.; ROY, R.; MARTIN, N. Geographic distribution of liver and stomach cancers in Thailand in relation to estimated dietary intake of nitrate, nitrite, and nitrosodimethylamine. **Nutrition and cancer**, v. 60, n. 2, p. 196–203, 2008. Disponível em:<www.sciencedirect.com>. Acesso em:<30/01/2013>.

MONTESANO, R.; MAGEE, P. N. Metabolism of dimethylnitrosamine by human liver slices in vitro. **Nature**, v. 228, p. 173-174. 1970.

MONTESANO, R.; BRÉSIL, H.; PEGG, A. E. Metabolism of dimethylnitrosamine and repair of O-6-methylguanine in DAN by human liver. Banbury Report 12. In: MAGEE, P. N. (Ed). **Nitrosamines and Human Cancer**. New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1982. p. 141-152

MORRISSEY, P. A.; TICHIVANGANA, J. Z. The Antioxidant Activities of Nitrite and Nitrosylmyoglobin in Cooked Meats. **Meat science**, v. 14, p. 175–190, 1985.

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

NGUYEN, T. ARASON, S.; THORARINSDOTTIR, K. A.; THRKELSSON, G.; GUDMUNSDÓTTIR, A. DNA damage and mutation in human cells exposed to nitric oxide in vitro. **Proc. National Academy of Science of USA**, v. 89, p. 3030-3034, 1992. Disponível em:<www.sciencedirect.com>. Acesso em:<04/04/2013>.

NISSEN, L. R.; BYRNE, D. V.; BERTELSEN, G.; SKIBSTED, L. H. The antioxidative activity of plant extracts in cooked pork patties as evaluated by descriptive sensory profiling and chemical analysis. **Meat Science**, v. 68, p. 485–495, 2004. Disponível em:<www.sciencedirect.com>. Acesso em:<03/03/2013>.

NUNEZ DE GONZALEZ, M. T.; BOLEMAN, R. M.; MILLER, R. K.; KEETON, J. T.; RHEE, K. S. Antioxidant properties of plum concentrates and powder in precooked roast beef to reduce lipid oxidation. **Meat Science**, v. 80, p. 997–1004, 2008a.

NUNEZ DE GONZALEZ, M. T.; HAFLEY, B. S.; BOLEMAN, R. M.; MILLER, R. L.; RHEE, K. S.; KEETON, J. T. Antioxidant properties of dried plum ingredients in raw and precooked pork sausage. **Journal of Food Science**, v. 73, p. H63–H71 2008b.

NUNEZ DE GONZALEZ, M. T.; HAFLEY, B. S.; BOLEMAN, R. M.; MILLER, R. K.; RHEE, K. S.; KEETON, J. T. Qualitative effects of fresh and dried plum ingredients on vacuum-packaged, sliced hams. **Meat Science**, v. 83, p.74–81, 2009.

OLIVEIRA, J. S. **Purificação de Compostos de Urucum por Processo Absortivo**. 185 f. Tese (Doutorado em Engenharia Química) - Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis, 2005.

OSTERLIE, M.; LERFALL, J. Lycopene from tomato products added minced meat: effecto on storage quality and colour. **Food Research International**, v. 38, p. 925-929, 2005.

OUYANG, D.; ZHANG, R.; YI, L.; XI, Z. A synergistic effect of Cu²⁺ and norbixin on DNA damage. **Food and Chemical Toxicology**, v.46, n.8, p.2802-2807, 2008.

PACHECO, S. D. G. **Uso do sal de bixina extraído do urucum (*Bixa orellana* L.) como substituinte do nitrito de sódio em produtos cárneos reestruturados.** 128 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Setor de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Paraná, 2014.

PARTHASARATHY, D. K.; BRYAN, N. S. Sodium nitrite: the “cure” for nitric oxide insufficiency. **Meat science**, v. 92, n. 3, p. 274–9, nov. 2012. Disponível em:<www.sciencedirect.com>. Acesso em:<03/05/2014>.

PÉREZ-RODRIGUEZ, M. L.; BOSCH-BOSCH, N.; GARCÍA-MATA, M. Monitoring nitrite and nitrate residues in frankfurters during processing and storage. **Meat Science**, v. 73, p. 44-65, 1996.

PERIGO, J. A.; WHITING, E.; BASHFORD, T. E. Observations on the inhibition of vegetative cells of *Clostridium sporogenes* by nitrite which has been autoclaved in a laboratory medium discussed in the context of sub-lethally processed cured meats. **J. Food Technology**, v. 2, p. 377-397, 1967.

PIMENTEL, F. A. **Avaliação de métodos de obtenção e de estabilidade de pigmentos de sementes de urucum.** Viçosa, Universidade Federal de Viçosa. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos), Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 1995.

PINTO, M. F.; PONSANO, E. H. G.; FRANCO, B. D. G. M.; SHIMOKOMAKI, M. Charqui meats as fermented meat products: role of bacteria for some sensorial properties development. **Meat Science**, v. 61, p. 187-191, 2002.

PINTO, M. F.; PONSANO, E. H. G.; ALMEIDA, A. P. S.; PERRI, S. H. V.; SHIMOKOMAKI, M. Uso de regressão linear para estimar parâmetros físico-químicos relacionados à qualidade do jerked beef. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 43, n. 6, p. 841–845, 2006.

PRESTON, H. D.; RICKARD, M. D. Extraction and chemistry of annatto. **Food Chemistry**, v. 5, p. 47–56, 1980. Disponível em:<www.sciencedirect.com>. Acesso em:<03/03/2013>.

PREUSSMANN, R. AND SCHAPER-DRUCKREY, F.. Investigation of a colorimetric procedure for determination of nitrosamides and comparison with other methods. In: BOGOVSKI, P.; PREUSSMANN, R.; WALKER, E. A. (Ed.). **N-Nitroso Compounds: Analysis and Formation**. IARC Scientific Publication no. 3, 1972. p. 81-86.

PREUSSMANN, R.; STEWART, B.W. N-Nitroso carcinogens. In: SEARLE, C.E. (Ed). **Chemical Carcinogens**. American Chemical Society Monograph No. 182, 1984, p. 643–828.

RAMALHO, V. C.; JORGE, N. Antioxidantes Utilizados em Óleos, Gorduras e Alimentos Gordurosos. *Química Nova*, v. 29, n. 4, p. 755–760, 2006. Disponível em:<www.scielo.br>. Acesso em:<05/07/2013>.

RIOS, A. O.; MERCADANTE, A. Z. Otimização das Condições para Obtenção de Padrão de Bixina e das Etapas de Extração e Saponificação para Quantificação de Bixina em Snacks Extrusados por CLAE. **Alimentos e Nutrição Araraquara**, v. 15, n. 3, p. 203–213, 2004. Disponível em:<www.scielo.br>. Acesso em:<30/07/2013>.

ROCHA GARCIA, C. E.; BOLOGNESI, V. J.; DIAS, J. F. G.; MIGUEL, O.; COSTA, C. K. Carotenoides bixina e norbixina extraídos do urucum (*Bixa orellana* L.) como antioxidantes em produtos cárneos. **Ciência Rural**, v. 42, n. 2, p. 1510–1517, 2012. Disponível em:<www.scielo.br>. Acesso em:<10/12/2012>.

ROSS, C. F.; SMITH, D. M. Use of Volatiles as Indicators of Lipid Oxidation in Muscle Foods. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 5, n. 1, p. 18–25, jan. 2006.

SABADINI, E.; HUBINGER, M. D.; SOBRAL, P. J. A.; CARVALHO, B. C. Alterações da atividade de água e da cor da carne no processo de elaboração da carne salgada

desidratada. **Ciencia e Tecnologia de Alimentos**, v. 21, n. 1, p. 14–19, 2001. Disponível em: <www.scielo.br>. Acesso em: <29/05/2013>.

SANCHO, R. A. S.; LIMA, F. A.; COSTA, G. G.; MARIUTTI, L. R. B.; BRAGAGNOLO, N. Effect of annatto seed and coriander leaves as natural antioxidants in fish meatballs during frozen storage. **Journal of food science**, v. 76, n. 6, p. C838–45, 2011.

SANDER, J.; BURKLE, G. Induktion Maligner Tumoren bei Ratten durch Gleichzeitige Verfütterung von Nitrit und Sekundären Animen. **Z. Krebsforsch.**, v. 73, p. 54-66, 1969.

SANDER, J.; SCHWEINSBERG, F. Untersuchungen über die Entstehung Cancerogenen Nitrosminim Magen. **Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem.**, v. 349, p. 1691-1697, 1968.

SANTOS, I. A.; PARDI, M. C.; SOUZA, E. R.; PARDI, H. S. **Ciencia, higiene e tecnologia da carne**. 2. ed.rev. ampl. Goiânia: UFG, 2001.

SATYANARAYANA, A.; PRABHAKARA RAO, P. G.; RAO, D. G. Chemistry, Processing and Toxicology of Annatto. **Journal of Food Science and Technology**, v. 40, n. 2, p. 131–141, 2003. Disponível em: <<http://onlinelibrary.wiley.com>>. Acesso em: 31/07/2013.

SATYANARAYANA, A.; RAO, P. P.; BALASWAMY, K. Application of annatto dye formulations in different fruit and vegetable products. **Journal of Foodservice**, v. 17, n. 2003, p. 1–5, 2006. Disponível em: <<http://onlinelibrary.wiley.com>>. Acesso em: 31/07/2013.

SAVADKOOHI, S.; HOOGENKAMP, H.; SHAMSI, K.; FARAHNAKY, A. Color, sensory and textural attributes of beef frankfurter, beef ham and meat-free sausage containing tomato pomace. **Meat Science**, v. 97, p. 410-418, 2014.

SCIENTIFIC COMMITTEE OF THE SPANISH AGENCY FOR FOOD SAFETY AND NUTRITION **Report from the Scientific Committee of the Spanish Agency for**

Food Safety and Nutrition (AESAN) in relation to the risk assessment of infants and young children's exposure to nitrates resulting from the consumption of chard in Spain. Madri: AESAN, 2011. 23 p. Relatório Técnico da AESAN da Revista del Comité Científico, v. 14, p. 1-23.

SCOTTER, M. J.; WILSON, L. A.; APPLETON, G. P.; CASTLE, L. Analysis of Annatto (*Bixa orellana*) Food Coloring Formulations. 1. Determination of Coloring Components and Colored Thermal Degradation Products by High-Performance Liquid Chromatography with Photodiode Array Detection. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 46, n. 3, p. 1031–1038, 1998. Disponível em: <<http://onlinelibrary.wiley.com>>. Acesso em: 31/07/2013.

SCOTTER, M. J.; CASTLE, L.; APPLETON, G. P. Kinetics and yields for the formation of coloured and aromatic thermal degradation products of annatto in foods. **Food Chemistry**, v. 74, n. 3, p. 365–375, ago. 2001. Disponível em:<www.sciencedirect.com>. Acesso em:<30/04/2013>.

SCOTTER, M. The chemistry and analysis of annatto food colouring : a review. **Food Additives and Contaminants**, v. 26, n. 8, p. 1123–1145, 2009. Disponível em:<www.sciencedirect.com>. Acesso em:<27/08/2013>.

SEBRANEK, J. G. Advances in the technology of nitrite use and consideration of alternatives. **Food Technology**, v. 33, n. 7, p. 58–62, 93, 1979.

SEBRANEK, J. G.; FOX, J. B., Jr. A review of nitrite and chloride chemistry: interactions and implications for cured meats. **Journal of Science of Food and Agriculture**, v. 36, p. 1169-1182, 1985. Disponível em: <<http://onlinelibrary.wiley.com>>. Acesso em: 31/07/2013.

SELANI, M. M.; CONTRERAR-CASTILLO, C. J.; SHIRAHIGUE, L. D.; GALLO, C. R.; PLATA-OVIEDO, M.; MONTES-VILLANUEVA, N. D. Wine industry residues extracts as natural antioxidants in raw and cooked chicken meat during frozen storage. **Meat Science**, v. 88, p. 397-403, 2011.

SHANK, R. C.; HERRON, D. C. Methylation of human liver DNA after probable dimethylnitrosamine poisoning, Banbury Report 12. MAGEE, P.N. (Ed.). **Nitrosamines and Human Cancer**. New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1982. p. 153-159.

SHEPHARD, S. E.; SCHLATTER, C.; LUTZ, W. K. Assessment of the risk of formation of carcinogenic N-nitroso compounds from dietary precursors in the stomach. **Food Chem Toxicology**, v. 25, p. 91–108, 1987. Disponível em:<www.sciencedirect.com>. Acesso em:<27/08/2013>.

SHIMOKOMAKI, M.; FRANCO, B. D. M.; CARVALHO, B. C. Charque e produtos afins: tecnologia e conservação - uma revisão. **Boletim SBCTA**, v. 21, n. 1, p. 25-35, 1987.

SHIMOKOMAKI, M.; FRANCO, B. D. G. M.; BISCONTINI, T. M.; PINTO, M. F.; TERRA, N. N.; ZORN, T. M. T. Charqui meats are hurdle technology meat products. **Food Reviews International**, v. 14, n. 4, p. 339–349, 1998. Disponível em:<www.tandfonline.com/loi/lfri20>. Acesso em:<15/01/2012>.

SHIMOKOMAKI, M.; YOUSSEF, E. Y.; TERRA, N. N. Curing. In: CABALLERO, B.; TRUGO, L.; Finglas, P. M. (Eds). **Encyclopedia of Food Sciences and Nutrition**. London: Elsevier; 2003. p. 1702-1708

SILVA, G. F.; GAMARRA, F. M. C.; OLIVEIRA A. L.; CABRAL, F. A. Extraction of bixin from annatto seeds using supercritical carbon dioxide. **Brazilian Journal of Chemical Engineering**, v.25, n.2, p.419-426, 2008.

SINDELAR, J. J.; MILKOWSKI, A. L. Sodium Nitrite in Processed Meat and Poultry Meats : A Review of Curing and Examining the Risk / Benefit of Its Use. **AMSA White Paper Series**, v. 3, p. 1–14, 2011. Disponível em:< <http://www.meatscience.org/>>. Acesso em: 07/01/2013.

SONAGLIO, D.; ORTEGA, G. G.; PETROVICK, P. R.; BASSANI, V. L. Desenvolvimento tecnológico e produção de fitoterápicos. In: SIMÕES, C. M. O. et al.

(Org). **Farmacognosia:** da planta ao medicamento. 1. ed. Porto Alegre e Florianópolis: UFRGS/UFSC, 1999.

STATSOFT. Statistica, version 8.0. StatSoft Inc, 2007.

STRYER, L. **Biochemistry**. 4th ed. New York: W. H. Freeman, 1995. 1064p., il.color. Inclui bibliografia. ISBN 0716720094 (enc.).

TARLADGIS, B. G.; PEARSON, A. M.; DUGAN, L. R. Chemistry of TBA acid test for determination oxidative rancidity in foods II formation TBA MDA complex without Acid-Heat Treatment. **Journal of Science and Food Agriculture**, v. 15, n. 9, p. 602–607, 1964. Disponível em: <<http://onlinelibrary.wiley.com>>. Acesso em: 11/02/2013.

TORRES, E. PEARSON, A. M.; GRAY, J. I.; KU, P. K. Lipid Oxidation in Charqui (Salted and Dried Beef *. **Food Chemistry**, v. 32, p. 257–268, 1989. Disponível em:<www.sciencedirect.com>. Acesso em:<01/03/2013>.

TORRES, E. A.; SHIMOKOMAKI, M.; FRANCO, B. D. G. M.; LANDGRAF, M. Parameters determining the quality of charqui, an intermediate moisture meat product. **Meat Science**, v. 38, n. 2, p. 229-234, 1994.

VASU, S.; PALANIYAPPAN, V.; BADAMI S. Microwave facilitated extraction of bixin from *Bixa orellana* and it's in-vitro antioxidant activity. **Natural Product Research**, v.24, n.16, p.1560-1567, 2010.

von ELBE, J. H.; SCHWARTZ, S. J. Colorants. In: FENNEMA, O. R. (Ed.), **Food chemistry** New York: Marcel Dekker, Inc., 1996. p. 651–723.

WALTERS, C. L.; CARR, F. P.; DYKE, C. S.; SAXBY, M. J.; SMIT, P. L.; WALKER, R. Nitrite sources and nitrosamine formation in vitro and in rive, **Food Cosmet. Toxicology**, v. 17, p. 473-479, 1979.

WINK, D .A.; KASPRZAK, K. S.; MARAGOS, C. M.; ELESURU, R. K.; MISRA, M.; DUNAMS, T. M.; CEBULA, T. A.; KOCH, W. H.; ANDREWS, A. W.; ALLEN, J. S. DNA

deaminating ability and genotoxicity of nitric oxide and its progenitors. **Science**, v. 254, p. 1001-1003, 1991.

YOSHINO, H.; HAGUWARA, A.; IMAI, N.; TSUTSUMI, T.; SANO, M.; TAMANO, S.; AOKI, H.; KODA, T.; NAKAMURA, M.; SHIRAI, T. Ninety-toxicity study of annatto extract, a natural food color, in rats. In: Proceedings of the 30th annual meeting. **Journal of Toxicological Sciences**, v.28, n.4, p.294, 2003.

YOUSSEF, E. Y.; ROCHA GARCIA, C. E.; SHIMOKOMAKI, M. Effect of Salt on Color and Warmed over Flavor in Charqui Meat Processing. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 46, n. December, p. 595–600, 2003. Disponível em:<www.scielo.br>. Acesso em: 03/03/2013.

YOUSSEF, E. Y. ROCHA GARCIA, C. E.; FIGUEIREDO, B.; SHIMOKIMAKI, M. Níveis residuais de sais de cura e seu efeito antioxidante em jerked beef. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 32, n. 2, p. 645–650, 12 jul. 2011. Disponível em:<www.scielo.br>. Acesso em: 21/03/2013.

ZARRINGHALAMI, S.; SAHARI, M. A; HAMIDI-ESFEHANI, Z. Partial replacement of nitrite by annatto as a colour additive in sausage. **Meat science**, v. 81, n. 1, p. 281–4, 2009. Disponível em:<www.sciencedirect.com>. Acesso em:<01/06/2012>.

ANEXOS

Anexo 1 – Ficha de análise sensorial visual

Análise Sensorial de Preferência

Nome: _____ Data __/__/__

Por favor, avalie visualmente as quatro amostras codificadas. Posteriormente, anote os códigos das amostras em **ordem crescente** de preferência quanto à cor.

Menos gostou ----- Mais gostou ▶