

UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS

THERESA PAULA FELIX DA SILVA MEIRELES

APLICAÇÃO DO EXTRATO DE COENTRO (Coriandrum sativum L.)
NA ELABORAÇÃO DE LINGUIÇA SUÍNA COZIDA

THERESA PAULA FELIX DA SILVA MEIRELES

APLICAÇÃO DO EXTRATO DE COENTRO (*Coriandrum sativum L.*) NA ELABORAÇÃO DE LINGUIÇA SUÍNA COZIDA

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Ceará, para obtenção do título de Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos. Área de concentração: Ciência e Tecnologia de alimentos.

Orientadora: Prof^a. Dra. Elisabeth Mary Cunha da Silva.

Coorientadora: Prof^a. Dra. Virgínia Kelly Gonçalves Abreu.

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação Universidade Federal do Ceará Biblioteca Universitária

Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

M453a Meireles, Theresa Paula Felix da Silva.

Aplicação do extrato de coentro (Coriandrum sativum L.) na elaboração de linguiça suína cozida / Theresa Paula Felix da Silva Meireles. – 2019.

65 f.: il. color.

Dissertação (mestrado) — Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Fortaleza, 2019.

Orientação: Profa. Dra. Elisabeth Mary Cunha da Silva. Coorientação: Profa. Dra. Virginia Kelly Gonçalves Abreu.

1. Extrato vegetal. 2. Produto cárneo. 3. Oxidação. 4. Coentro. 5. Linguiça suína cozida. I. Título.

CDD 664

THERESA PAULA FELIX DA SILVA MEIRELES

APLICAÇÃO DO EXTRATO DE COENTRO (*Coriandrum sativum L.*) NA ELABORAÇÃO DE LINGUIÇA SUÍNA COZIDA

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Ceará, para obtenção do título de Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos. Área de concentração: Ciência e Tecnologia de Alimentos

	Teenorogie de l'amientos
Aprovado em:	/ BANCA EXAMINADORA
	Prof ^a . Dra. Elisabeth Mary Cunha da Silva (Orientadora)
	Universidade Federal do Ceará (UFC)
-	Prof ^a . Dra. Virgínia Kelly Gonçalves Abreu
	Universidade Federal do Maranhão (UFMA)
-	Prof ^a . Dra. Ana Lúcia Fernandes Pereira
	Universidade Federal do Maranhão (UFMA)
-	Prof ^a . Dra. Neuma Maria de Souza Pinheiro
	Universidade Federal do Ceará (UFC)
	Prof ^a . Dra. Tatiana Fontoura Vidal Bandeira

Universidade Federal do Ceará (UFC)

Dedico este trabalho à minha amada mãe que sempre me incentivou a buscar o conhecimento através dos estudos.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente à Deus, por me guiar e proteger, e por ter colocado pessoas tão especiais ao meu lado.

A minha mãe, Gracinha, por toda dedicação e amor. Serei eternamente grata e levarei para sempre a senhora em meu coração.

Ao meu amado marido, Hendrich Miller, por toda paciência e carinho. Um grande parceiro que Deus colocou em minha vida. Ao meu lindo filho, Matheus Miller, razão de toda minha luta.

À minha orientadora, Prof^a. PhD. Elisabeth Cunha, por ter acreditado no meu projeto, por sua disponibilidade para me orientar e pelas contribuições realizadas neste trabalho.

À minha coorientadora, Prof^a. Dra. Virgínia Kelly Gonçalves Abreu, por ter acreditado no meu projeto, por sua disponibilidade para me orientar mesmo à distância e por sua solicitude em todas as fases do trabalho.

Aos meus amigos de trabalho Luzimeire de Assis, Maria Vanusa, Felipe Dieime, Messias, Indira, Sansão, Marla pela amizade e apoio prestados na realização desse trabalho.

Aos meus amigos do mestrado Luiz Bitu, Janevane, Neuma Pinheiro, Neliane, Leinaque, que me ajudaram em diversas etapas e análises do trabalho e tornaram os dias mais leves e alegres. Foi maravilhoso contar com vocês!

RESUMO

Evidências científicas apontam que o consumo elevado de produtos cárneos processados está relacionado com a incidência de neoplasias malignas, principalmente o câncer colorretal. Nesse contexto, tem aumentado o interesse dos consumidores por produtos reformulados com o teor mínimo de nitrito residual e adicionados de ingredientes naturais. Os vegetais além de fornecerem o nitrito indiretamente, também fornecem compostos bioativos e antioxidantes que podem enriquecer o produto final e minimizar a formação das substâncias potencialmente cancerígenas. Diante do exposto, o objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito da aplicação do extrato de coentro (Coriandrum sativum L.) em linguiças suínas cozidas durante estocagem refrigerada (4 °C). Foram realizados 4 tratamentos: F1 (Formulação Controle) = sem sal de cura e sem adição de extrato de coentro; F2 (Formulação Padrão) = adicionada de sal de cura; F3 = com adição de 0,29% de extrato de coentro; F4 = com adição de 0,58% de extrato de coentro. O extrato foi avaliado quanto ao pH, cor, atividade antioxidante e atividade antimicrobiana contra E. coli e S. aureus. As linguiças foram caracterizadas quanto a composição centesimal (umidade, cinzas, proteína, lipídios e carboidratos) e durante a estocagem refrigerada (4 °C) por 30 dias as linguiças foram avaliadas quanto aos teores residuais de nitrato e nitrito, pH, Aw, TBARS e cor. A utilização do extrato de coentro não influenciou nos teores de proteína, lipídios e carboidratos das formulações. No entanto, houve diferença significativa para os valores de umidade e cinzas. Os teores de nitrato residual apresentaram-se dentro dos padrões normativos, enquanto os níveis de nitrito residual apresentaram-se abaixo do limite mínimo detectável pelo método utilizado (<5mg.kg⁻¹) nas formulações adicionadas do extrato de coentro. Com relação aos valores de TBARS, a F2 apresentou os menores valores. No entanto, o uso do extrato de coentro também foi eficaz no controle da oxidação lipídica durante o armazenamento. A aplicação de extrato de coentro resultou em menores valores de pH e uma menor tendência ao desenvolvimento da cor vermelha (a*). Assim, a utilização do extrato de coentro poderá ser utilizada para se reduzir a quantidade de nitrito utilizada nesses produtos, pois mostrou ter efeito no controle da oxidação lipídica.

Palavras-chave: Extrato vegetal. Produto cárneo. Oxidação.

ABSTRACT

Scientific evidence indicates that the high consumption of processed meat products is related to the incidence of malignant neoplasms, especially colorectal cancer. In this context, consumer interest has been increasing for reformulated products with a minimum residual nitrite content and added natural ingredients. Vegetables not only provide nitrite indirectly but also provide bioactive and antioxidant compounds that can enrich the end product and minimize the formation of potentially carcinogenic substances. Thus, the objective of this work was to evaluate the effect of coriander (Coriandrum sativum L.) extract application on cooked pork sausages during refrigerated storage (4 °C). Four treatments were performed: F1 (Control Formulation) = no curing salt and no coriander extract added; F2 (Standard Formulation) = added curing salt; F3 = with 0.29% coriander extract added; F4 = with addition of 0.58% coriander extract. The extract was evaluated for pH, color, antioxidant activity and antimicrobial activity against E. coli and S. aureus. The sausages were characterized for centesimal composition (moisture, ashes, protein, lipids and carbohydrates). During 30 days of cold storage (4 ° C) the sausages were evaluated for residual nitrate and nitrite levels, pH, Aw, TBARS and color. The use of coriander extract did not influence the protein, lipid and carbohydrate contents of the formulations. However, there was a significant difference for moisture and ash values. In formulations added with coriander extract the residual nitrate levels were within normative standards while residual nitrite levels were below the lower limit detectable by the method used (<5mg.kg⁻¹). Regarding to TBARS values, F2 presented the lowest values. However, the use of coriander extract was also effective in controlling lipid oxidation during storage. Coriander extract application resulted in lower pH values and also in less tendency to develop red color (a*). Thus, the application of coriander extract may be used to reduce the amount of nitrite added in these products, as it has been shown to have an effect on lipid oxidation control.

Keywords: Vegetable extract. Meat product. Oxidation.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 –	Coentro (Coriandrum sativum L.)				
Figura 2 –	Plantio do Coentro (Coriandrum sativum L.)				
Figura 3 –	Lâmina corada após coloração de Gram dacultura starter,				
	Staphylococcus carnosus, Bactoferm® S-B-61- Valinhos	30			
Figura 4 –	Placa de ágar inoculada com o Staphylococcus carnosus, Bactoferm® S-				
	B-61- Valinhos	31			
Figura 5 –	Placa de ágar inoculada com o E. coli	42			
Figura 6 –	Placa de ágar inoculada com o S. aureus	42			

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 –	Concentrações de nitrato e nitrito em vegetais	20
Tabela 2 –	Composição das formulações de linguiça suína cozida	34
Tabela 3 –	Valores do pH, coordenadas de cor L*, a* e b* e atividade antioxidante	
	total do extrato aquoso de coentro	40
Tabela 4 –	Composição centesimal das diferentes formulações de linguiça suína cozida (n=3)	44
Tabela 5 –	Valores (média ± desvio padrão) de pH das diferentes formulações de	77
	linguiça suína cozida e estocada por 30 dias sob refrigeração (4 °C) (n=3)	46
Tabela 6 –	Valores (média ± desvio padrão) de Aw das diferentes formulações de	
	linguiça suína cozida e estocada por 30 dias sob refrigeração (4 °C)	
	(n=3)	48
Tabela 7 –	Valores (média ± desvio padrão) de substâncias reativas ao ácido	
	tiobarbitúrico (mg/Kg) das formulações de linguiça suína cozida e	
	estocada por 30 dias sob refrigeração (4 °C) (n= 3)	49
Tabela 8 –	Valores (média ± desvio padrão) de nitrato (mg.kg ⁻¹) das diferentes	
	formulações de linguiça suína cozida e estocada por 30 dias sob	
	refrigeração (4°C). (n= 3)	53
Tabela 9 –	Valores (média ± desvio padrão) de L* das diferentes formulações de	
	linguiça suína cozida e estocada por 30 dias sob refrigeração (4 °C) (n=	
	3)	55
Tabela 10 –	Valores (média ± desvio padrão) de a* das diferentes formulações de	
	linguiça suína cozida e estocada por 30 dias sob refrigeração (4°C) (n =	
	3)	56
Tabela 11 –	Valores (média ± desvio padrão) de b* das diferentes formulações de	
	linguiça suína cozida e estocada por 30 dias sob refrigeração (4°C) (n=3)	
		57

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ABPA Associação Brasileira de Proteína Animal

ANVISA Agência Nacional de Vigilância Sanitária

AOAC Association of Official Analytical Chemists

EMBRAPA Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária

IARC International Agency for Research on Cancer

LABCAP Laboratório de Carnes e Pescado

POF Pesquisa de Orçamentos Familiares

UFC Universidade Federal do Ceará

SUMÁRIO

	INTRODUÇÃO					
	REFERÊNCIAL TEÓRICO					
1	Produtos cárneos					
2	Nitrato e nitrito de sódio: propriedades e aplicações					
3	Associação entre o nitrito de sódio e o câncer					
4	Extratos vegetais como proposta de inovação dos produtos cárneos					
5	Coentro (Coriandrum sativum L.)					
	MATERIAL E MÉTODOS					
1	Material					
2	Metodologia					
2.1	Plantio e obtenção do coentro liofilizado					
2.2	Determinação de nitrato e nitrito no coentro liofilizado					
2.3	Coloração de Gram da cultura starter e atividade antimicrobiana do					
	extrato de coentro contra o Staphylococcus carnosus					
2.4	Resultados da 1º etapa					
2.4.1	Análise de nitrato e nitrito no coentro liofilizado					
2.4.2	Coloração de Gram e atividade antimicrobiana do coentro contra cultura					
	starter, Staphylococcus carnosus, Bactoferm® S-B-61- Valinhos					
2.5	Obtenção e caracterização do extrato de coentro					
2.5.1	Obtenção do extrato aquoso de coentro					
2.5.2	Determinação do pH					
2.5.3	Determinação de cor					
2.5.4	Determinação da atividade antioxidante do extrato de coentro pelo método					
	de captura do cátion radical livre					
	$ABTS^{\bullet^{+}}$					
2.5.5	Atividade antimicrobiana do extrato aquoso de coentro contra as cepas E.					
	coli e S. aureus					
	Preparo das formulações de linguiça suína cozida					
2.6	2 · · · · · · · · · · · · · · · · · · ·					

3.2.8	Avaliação da estabilidade físico-química das formulações	<i>37</i>				
3.2.8.1	Determinação do Ph	37				
3.2.8.2	Atividade de água (Aw)	37				
3.2.8.3	Oxidação de lipídeos	37				
3.2.8.4	Determinação de nitrato e nitrito na linguiça suína cozida	38				
3.2.8.5	Determinação de cor	39				
3.3	Análise estatística	39				
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	40				
4.1	Determinação de pH, cor e atividade antioxidante do extrato de					
	coentro	40				
4.2	Atividade antimicrobiana do extrato aquoso de coentro sobre a cepa E.					
	coli e S. aureus	41				
4.3	Composição centesimal das formulações	44				
4.4	Análises da estabilidade das linguiças	45				
4.4.1	Análise de pH e Aw	45				
4.4.2	Análise de TBARS	48				
4.4.3	Análise de nitrato e nitrito	52				
4.4.4	Análise de cor	55				
5	CONCLUSÃO	59				
	REFERÊNCIAS	60				

1 INTRODUÇÃO

A indústria de carne através da utilização de diferentes tipos de tecnologias, possibilita o desenvolvimento de produtos cárneos com sabor, cor e aroma próprios ampliando a diversidade de produtos disponíveis comercialmente. Tem-se evidenciado um aumento significativo na produção de produtos cárneos pelas indústrias que têm investido cada vez mais nessa área visando à melhoria da qualidade. Ao longo dos últimos anos, a participação relativa de produtos cárneos aumentou de 1,05 para 3,04 entre 1975 a 2003. A última Pesquisa de Orçamento Familiar, realizada pelo Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE) revelou que a linguiça é um dos produtos cárneos mais consumidos entre os brasileiros, seguida de salsicha e mortadela (IBGE, 2010).

Durante o processamento industrial, os aditivos químicos podem ser intencionalmente adicionados com o objetivo de garantir a segurança e estabilidade do produto. Dentre a classe dos conservantes, o nitrato e o nitrito de sódio/potássio são amplamente utilizados na formulação dos produtos cárneos por serem eficazes contra diversos agentes patógenos, atuarem como antioxidantes e, possibilitarem o desenvolvimento de cor e sabor dos produtos curados (SHAHIDI; SAMARANAYAKA; PEGG, 2014; TAORMINA, 2014).

No Brasil, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa) regulamenta o uso, especifica o tipo, a finalidade e quantidade de aditivo que pode ser empregado em cada alimento. A legislação brasileira estabelece o limite máximo permitido para o nitrato (INS – 251) em 300 ppm e 150 ppm para o nitrito (INS-250) em produtos cárneos (BRASIL, 2019).

Entretanto, em recente publicação da *International Agency for Research on Cancer* (IARC) a carne processada foi classificada como potencialmente carcinogênica para humanos, elevando a preocupação quanto à ingestão desses produtos (BOUVARD *et al.*, 2015). Uma das prováveis explicações entre a ingestão de produtos cárneos e o diagnóstico de câncer é a possibilidade do nitrito de sódio sintético utilizado diretamente nos alimentos processados promover a formação de substâncias genotóxicas com elevado potencial carcinogênico. A classificação dos produtos cárneos na categoria A1, como alimentos potencialmente cancerígenos, demanda a utilização de estratégias inovadoras de processamento para minimizar a preocupação com a saúde correlacionada ao consumo desses produtos (BOADA; HENRÍQUEZ-HERNÁNDEZ; LUZARDO, 2016; HUNG; KOK; VERBEKE, 2016; KIM; COELHO; BLACHIER, 2013; WANG *et al.*, 2012).

Atualmente, os consumidores estão cada vez mais conscientes da relação entre dieta e saúde, fato que tem levado ao aumento do interesse em alimentos formulados com ingredientes naturais e com o teor mínimo de nitrito residual. Por esse motivo, a indústria de alimentos embasada na bioquímica do processo de cura tradicional começou a utilizar vegetais com elevado teor de nitrato na elaboração de produtos cárneos. Os vegetais como, aipo, beterraba, alface, espinafre, além de fornecerem o nitrito indiretamente, também fornecem compostos bioativos e antioxidantes que podem enriquecer o produto final e minimizar a formação das substâncias potencialmente cancerígenas. Além disso, a adição de fontes vegetais atende às exigências do mercado de produtos orgânicos em que os sais de cura têm seu uso restrito (HORSCH *et al.*, 2014; HUNG; KOK; VERBEKE, 2016).

Durante o processamento desses novos produtos, as fontes naturais podem ser adicionadas das seguintes formas: suco/extratos vegetais com alta concentração de nitrato ou, suco/extratos vegetais "pré convertidos" ou "pré–fermentados" nos quais o nitrato é convertido a nitrito antes de ser adicionado a formulação (KRAUSE *et al.*, 2011; HORSCH *et al.*, 2014).

Em relação às substâncias bioativas presentes nos extratos vegetais destacam-se os compostos fenólicos, os quais podem atuar como agentes antioxidantese antimicrobianos. Esses compostos possuem a capacidade de sequestrar Espécies Reativas ao Oxigênio (ERO) como radicais superóxido, ácido hipocloroso, e peroxila e/ou Espécies Reativas ao Nitrogênio (ERN) que são radicais livres capazes de provocar efeitos deletérios ao alimento. Além disso, os compostos fenólicos são capazes de retardar ou inibir processos oxidativos podendo evitar a oxidação lipídica e outras alterações de cor, aroma, sabor, textura e valor nutricional (RIBEIRO *et al.*, 2019).

Assim, tem-se o coentro (*Coriandrum sativum L.*), que é uma herbácea cultivada em vários países e que possui elevado conteúdo de nitrato (237 mg.100g⁻¹ de peso seco), carotenóides (217 mg.100g⁻¹ de peso seco), flavonóides e polifenóis (6273,47 mg.kg⁻¹ de peso seco). Portanto, o extrato de coentro apresenta significativo potencial de uso na formulação de produtos cárneos. Desse modo, os extratos vegetais fornecem aos processadores de carne a possibilidade de desenvolver novos produtos com maior valor nutricional e benefícos para a saúde (BARROS *et al.*, 2012; DIVYA; PUTHUSSERI; NEELWARNE, 2012; TANG *et al.*, 2013). Dentro desse contexto, o objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito da aplicação do extrato de coentro (*Coriandrum sativum L.*) em linguiças suínas cozidas.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

A conscientização da relação entre dieta e saúde, tem levado ao aumento do interesse em alimentos formulados com ingredientes naturais, que além de saudáveis e nutritivos, também proporcionem benefícios adicionais ao seu consumo.

Desse modo, faz-se necessária uma compreensão das dimensões das características microbiológicas e físico-químicas dos alimentos produzidos com métodos alternativos à adição direta de nitrito de sódio, para que a aplicação desses procedimentos não altere as características inerentes dos produtos cárneos fabricados industrialmente e possibilitem o incremento das propriedades funcionais.

2.1 Produtos cárneos

De acordo com Brasil (2017), produtos cárneos são aqueles obtidos de carnes, de miúdos e de partes comestíveis das diferentes espécies animais, com as propriedades originais das matérias-primas modificadas por meio de tratamentos físico, químico ou biológico, ou ainda pela combinação destes métodos em processos que podem envolver a adição de ingredientes, aditivos ou coadjuvantes de tecnologia.

Deste modo, o processamento de carnes através da defumação, cozimento, salga, cura e fermentação entre outras tecnologias, permite a elaboração de novos produtos com cor, sabor e aromas específicos, dependendo do processo empregado. Assim, aumenta a variedade de produtos disponíveis comercialmente, dentre eles: presunto, apresuntado, patê, salsicha, bacon, mortadela, linguiças, salames, pepperoni, hambúrguer, *nuggets* e conservas em lata (SHAHIDI; SAMARANAYAKA; PEGG, 2014).

O processamento também permite a redução da perecibilidade e agrega valor de mercado aos produtos cárneos. Na formulação desses produtos podem ser usados carne bovina, suína, frango, peru e/ou peixe. Um dos pontos que podem ser destacados no processamento é a agregação de valor ao produto com a utilização de cortes que não são aproveitados para o consumo *in natura*, gerando alternativas para a sua comercialização (BRASIL, 2017).

Conforme o Art. 288 do Decreto nº 9.013 de março de 2017, embutidos são os produtos cárneos elaborados com carne ou com órgãos comestíveis, curados ou não, condimentados, cozidos ou não, defumados e dessecados ou não, tendo como envoltório a tripa, a bexiga ou outra membrana animal (BRASIL, 2017).

O mesmo decreto, em seu Art. 297, define que linguiça é o produto cárneo obtido de carnes cominuídas das diferentes espécies animais, condimentado, com adição ou não de ingredientes, embutido em envoltório natural ou artificial e submetido a processo tecnológico específico (BRASIL, 2017).

O aumento da renda familiar estimula os consumidores a diversificar a alimentação e, consequentemente, aumentar o consumo de proteína animal em relação ao consumo de carboidratos. Na última Pesquisa de Orçamentos Familiares (POF) 2008-2009, os embutidos contribuiam com 2,4 a 4,6% das calorias ingeridas nas áreas urbanas brasileiras (IBGE, 2010).

Ao longo dos últimos anos, a indústria brasileira de produtos cárneos tem expandido, ganhando espaço de destaque no competitivo mercado internacional. Segundo a Associação Brasileira de Proteína Animal (ABPA) (2018), em 2017, o Brasil ocupou o 4º lugar no *ranking* mundial da produção de carne suína, sendo que 81,5% da produção é destinada ao mercado interno e 18,5% é destinada ao mercado externo. Neste mesmo ano, o Brasil exportou 697 mil toneladas de carne suína, e os embutidos representaram 1,37% das exportações brasileiras de carne suína por produto.

No Brasil, o consumo *per capita* da carne suína foi de 14,7 kg/habitante. A última Pesquisa de Orçamento Familiar revelou que a linguiça é um dos produtos cárneos mais consumidos, em média 3,3 g/dia por pessoa, seguida de salsicha 2,1 g/dia e mortadela 1,4 g/dia (IBGE, 2010).

2.2 Nitrato e nitrito de sódio: propriedades e aplicações

Os aditivos alimentares são definidos como qualquer ingrediente adicionado intencionalmente aos alimentos, sem propósito de nutrir, com o objetivo de modificar as características físicas, químicas, biológicas, ou sensoriais, durante a fabricação, processamento, preparação, tratamento, embalagem, acondicionamento, armazenagem, transporte ou manipulação de um alimento (BRASIL, 2019).

Cada país tem as suas próprias leis e regulamentações em relação ao uso dos aditivos em produtos alimentícios. No Brasil, a Anvisa regula o uso, especifica o tipo, a finalidade e quantidade de aditivo que pode ser empregado em cada alimento. Esses compostos são categorizados em 23 classes dependendo da função desempenhada no alimento. Algumas classes de aditivos impedem ou retardam as alterações provocadas por microrganismos ou enzimas, prologando a vida útil como os conservantes, e outras classes

aprimoram as propriedades nutricionais, como os edulcorantes, corantes e aromatizantes. Por isso, a escolha de um determinado aditivo depende de vários fatores, como as características químicas e físicas do alimento, os prováveis agentes contaminantes e as condições de armazenamento (BRASIL, 2019).

Dentre os aditivos químicos incluídos na categoria dos conservantes, o nitrato de sódio (NaNO₃) e o nitrito de sódio (NaNO₂) têm sido amplamente empregados na fabricação de produtos cárneos curados, como na elaboração de bacon, linguiças, presunto e salsichas (BRASIL, 2019).

Durante o processo de cura, os produtos cárneos são adicionados de sal, NaNO₃ e/ou NaNO₂, açúcar e condimentos. Quando o NaNO₃ é utilizado, o mesmo terá que ser reduzido a NaNO₂, que é o grande responsável pela atividade bacteriostática, antioxidante, sabor, aroma e coloração vermelha ou rósea atraente, caracterizando, assim, os produtos curados (PARTHASARATHY; BRYAN, 2012; BEDALE; SINDELAR; MILKOWSKI, 2016).

Várias reações químicas estão envolvidas na cura. O principal produto da redução do NaNO₂, tendo o ácido nitroso (HNO₂) como composto intermediário, é o óxido nítrico (NO), que tem sua formação favorecida em meio ácido e temperatura de 65 °C (BARBIERI *et al.*, 2013). As principais reações desde a conversão de NaNO₃ a NaNO₂ até a formação de NO estão resumidas a seguir:

```
2\text{NaNO}_3 \Rightarrow \text{NaNO}_2 + \text{O}_2

\text{NaNO}_2 + \text{H}_2\text{O} \Rightarrow \text{HNO}_2 + \text{NaOH}

3 \text{ HNO}_2 \Rightarrow 2\text{NO} + \text{HNO}_3 + \text{H}_2\text{O}
```

A utilização do NaNO₂ isolado ou em combinação com outros aditivos químicos, ou outras tecnologias de conservação é de grande relevância na indústria de alimentos por apresentar significativa atividade antimicrobiana contra vários microrganismos aeróbios e anaeróbios patogênicos, como *Clostridium botulinum*, *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus e Clostridium perfringens* (MYERS *et al.*, 2013; HORSCH *et al.*, 2014). O NaNO₂ inibe enzimas bacterianas que catalizam reações de degradação da glicose, limita a disponibilidade de ferro e a absorção de oxigênio essenciais para o crescimento bacteriano, impedindo a deterioração bacteriana da matriz do alimento assegurando maior vida útil dos alimentos processados (BARBIERI *et al.*, 2013).

Outra característica relevante do NaNO₂ é o potencial antioxidante, o qual garante a estabilidade do produto e retarda o desenvolvimento de sabores indesejáveis resultantes do processo de rancidez durante o armazenamento, aquecimento e durante o preparo de produtos à base de carne. Tanto o NaNO₂ como o produto da sua oxidação, o NO, reagem com radicais peroxílico lipídicos formando compostos não-radicais bloqueando a autoxidação. Além disso, o NO apresenta potencial de ligação e estabilização do ferro heme durante o processo de cura, reduzindo a quantidade de ferro livre, potente catalisador de oxidação lipídica, disponível para catalisar os passos de iniciação e propagação da oxidação lipídica (PARTHASARATHY; BRYAN, 2012).

A cor rosa – avermelhada característica dos produtos curados é resultante das reações entre a mioglobina, pigmento instável natural da carne, e o NO. A reação entre o NO e a mioglobina forma o pigmento nitrosomioglobina, que pela ação do calor do cozimento, transforma-se em nitrosohemocromo, de cor rósea, mais estável que a nitrosomioglobina (PARTHASARATHY; BRYAN, 2012; ALAHAKOON *et al.*, 2015).

O NaNO₂ também é responsável pelo desenvolvimento do sabor característico dos produtos curados. Apesar de não estar totalmente elucidado esse mecanismo, acredita-se que os hidrocarbonetos, cetonas, álcoois, fenóis, ésteres, pirazinas e aldeídos encontrados em carnes curadas e ausentes em carnes não curadas podem estar envolvidos nesse processo (ALAHAKOON *et al.*, 2015).

2.3 Associação entre o nitrito de sódio e o câncer

Recentemente, cientistas da IARC classificaram a carne processada como "carcinogênica para humanos", com forte associação para o câncer colorretal e gástrico, devido esse tipo de alimento favorecer a formação de substâncias genotóxicas (BOUVARD *et al.*, 2015). A associação positiva do câncer colorretal com o consumo de carne processada foi relatada em 12 dos 18 estudos que embasaram os estudiosos da IARC. Em uma metanálise, a incidência desse tipo de câncer aumentou 18% para cada 50 gramas de consumo da carne processada.

A possível relação entre o câncer e os produtos cárneos processados pode ser explicada, uma vez que durante o processamento, preparo e ingestão desses produtos, o aditivo químico nitrito em condições de aquecimento e acidez pode reagir com substâncias, como aminas e amidas, resultando na formaçãode substâncias químicas cancerígenas, que

incluem compostos N-nitrosos (NOC), aminas aromáticas heterocíclicas e hidrocarbonetos aromáticos policíclicos (HAP) (BRYAN et al., 2012; AASLYNG et al., 2013).

As reações de nitrosação química são bem documentadas no meio científico e constatemente são revistas. Shephard, Schlatter e Lutz (1987) observaram que em meio ácido, como no estômago, o nitrito pode formar ácido nitroso (HNO₂), que logo em seguida através da reação de dimerização formará o anidrido nitroso (N₂O₃), que pode reagir com aminas para formar nitrosaminas (R₂N-NO). As aminas secundárias (triptofano, prolina, hidroxiprolina, histidina e arginina) são as aminas mais reativas. Já a reação de nitrito com aminas primárias, leva a nitrosaminas muito instáveis que se degradam imediatamente em álcool e nitrogênio, enquanto as aminas terciárias não reagem com nitrito (BRYAN *et al.*, 2012). O fator mais importante que determina a cinética de nitrosação de amina envolve o equilíbrio ácido-base tanto da amina como de ácido nitroso conforme descrito a seguir:

```
NaNO_2 + H^+ \rightarrow HNO_2 + Na^+
2HNO_2 \leftrightarrow N_2O_3 + H_2O
N_2O_3 + R_2NH \text{ (amina)} \rightarrow R_2N-NO \text{ (nitrosamina)} + HNO_2
Velocidade de reação= k \times [amina] \times [nitrito]^2
```

Embora algumas nitrosaminas possam ser formadas em alimentos durante o armazenamento e processamento, a N-nitrosação endógena no estômago é descrita como a principal fonte de nitrosaminas no corpo humano. La Pomélie, Santé-Lhoutellier e Gatellier (2017) propuseram que o triptofano na presença de dieta rica em ferro tanto em condições ácidas, característica do ambiente gástrico, como em condições de neutralidade, como as encontradas no intestino, favorecem a formação de nitrosaminas.

O ácido nitroso também pode ser protonado para formar o íon acido nitroso (H₂NO₂⁺) que reage preferencialmente com amidas para formar nitrosamidas (IARC, 2010). A velocidade desta reação é proporcional à concentração de nitrito e aumenta 10 vezes para cada unidade de decréscimo de pH, conforme reações descritas abaixo:

```
HNO_2 + H^+ \leftrightarrow H_2NO_2^+
H_2NO_2^+ + RNHCOR' (amida) \rightarrow RN(NO)COR' (nitrosamida) + H_2O + H^+
Velocidade de reação = k \times [amida] \times [nitrito] \times [H^+]
```

Portanto, os produtos das reações do nitrito em condições apropriadas podem reagir com aminas ou amidas para formar compostos potencialmente cancerígenos, nitrosaminas e nitrosamidas, sendo proposto que as aminas apresentam maiores taxas de nitrosação. Os compostos nitrosos podem se ligar a nucleófilos celulares e provacarem alterações e mutações do material genético (DNA). O risco carcinogênico associado à ingestão de compostos N-nitroso é dependente de três variáveis: (1) a quantidade de precursor e nitrito ingerida, (2) a taxa de nitrosação *in vivo* e (3) a potência cancerígena do NOC resultante (WANG *et al.*, 2012; KIM; COELHO; BLACHIER, 2013; BOADA; HENRÍQUEZ-HERNÁNDEZ; LUZARDO, 2016).

O ácido nitroso pode desaminar várias nucleobases, incluindo guanina, adenina e citosina que são convertidas em xantina, hipoxantina e uracila, respectivamente. Nos roedores, as nitrosaminas induzem a formação de tumores, principalmente do fígado, esôfago, nasal e mucosa oral, rim, pâncreas, bexiga urinária, pulmão e tireóide, enquanto as nitrosamidas induzem tumores dos sistemas linfático e nervoso e, quando administradas oralmente, do estômago glandular e do duodeno (IARC, 2010).

Durante o aquecimento de produtos curados pode ocorrer à liberação do componente nitrosilheme, o qual está sendo relatado com potencial mutagênico nos estudos recentes. Nitrosilheme poderia estar envolvido na carcinogênese através da produção de aldeídos mutagênicos (hidroxihexanal e hidroxinonenal) formados em processo que envolve a participação de radical livre do ferro heme, através da formação de vários compostos N-nitrosos (NOCs) que consequentemente podem reagir com o DNA (LA POMÉLIE; SANTÉ-LHOUTELLIER; GATELLIER, 2018).

Nessa perspectiva, La Pomélie, Santé-Lhoutellier e Gatellier (2018) em modelo experimental *in vitro* revisaram a cinética das reações químicas que envolvem a formação do nitrosilheme a partir da reprodução das condições endogenas humanas. Os autores reportam que a formação do nitrosilheme é fortemente influenciada pelo pH ácido e que a presença de compostos antioxidantes e polifenólicos reduzem a formação desse componente. Tanto as folhas como as sementes de coentro apresentam compostos fenólicos totais em sua composição. Os derivados de ácidos hidroxinâmicos e os derivados de quercentina e do kaempferol são os principais representantes dos compostos fenólicos totais (BARROS *et al.*, 2012).

Durante a preparação dos produtos cárneos, a alta temperatura empregada favorece a formação das aminas aromáticas heterocíclicas. Mais de 20 aminas aromáticas heterocíclicas foram identificadas até agora (WANG *et al.*, 2012; AASLYNG *et al.*, 2013).

Nesse contexto, existe uma tendência em diminuir a quantidade de nitrito de sódio na formulação de produtos cárneos processados, como também de incluir substâncias com potencial de redução de compostos nitrosos (BEDALE; SINDELAR; MILKOWSKI, 2016).

2.4 Extratos vegetais como proposta de inovação dos produtos cárneos

A conotação negativa associada aos aditivos químicos sintéticos utilizados nos produtos cárneos curados projetou a indústria de alimentos a investir no desenvolvimento de **"produtos cárneos inovadores"**. A substituição parcial ou total do nitrato e nitrito de sódio sintético por extratos de plantas é apontada como uma proposta promissora tanto para produtores como para os consumidores (SHAN *et al.*, 2017; HUNG; KOK; VERBEKE, 2016). No entanto, a substituição do nitrito de sódio sintético é um desafio, uma vez que, esse aditivo apresenta significativa atividade antimicrobiana, antioxidante e no desenvolvimento da cor dos produtos curados (SULLIVAN *et al.*, 2012).

O nitrato está presente na composição química de vários vegetais como o manjericão, aipo, alho poró, agrião, coentro, salsa, estragão, espinafre e rúcula. Já o nitrito é encontrado em baixas concentrações conforme exemplificado na Tabela 1 (BAHADORAN *et al.*, 2016).

Tabela 1 - Concentrações de nitrato e nitrito em vegetais

Vegetal	Teor de Nitrato (ppm)	Teor de Nitrito (ppm)	Vegetal	Teor de Nitrato (ppm)	Teor de Nitrito (ppm)
Estragão	4240	5,5	Salsa	1710	3,6
Beterraba	4950	5,6	Berinjela	1100	7,2
Alface	3650	5,4	Cebola	609	4,9
Hortelã	2790	6,7	Cenoura	503	4,8
Aipo	2610	4,3	Alho	350	2,1
Coentro	2370	4,2	Tomate	175	5,5
Agrião	2250	3,7			
Repolho	1980	5,4			
Espinafre	1830	4,3			
Alho Poró	1770	6,1			

Fonte: Bahadoran et al. (2016).

Diante disso, a indústria de alimentos busca atender a procura dos consumidores por alimentos mais saudáveis utilizando fontes naturais de nitrato no processamento dos produtos cárneos para obter indiretamente o nitrito. Durante o processamento desses novos produtos, as fontes naturais podem ser adicionadas das seguintes formas:

- a) os extratos de vegetais com alta concentração de nitrato são adicionados com microrganismos que apresentam atividade redutora do nitrato a nitrito durante o processamento (RIEL et al., 2017);
- b) ou o nitrato presente nos extratos vegetais é convertido a nitrito antes de ser adicionado à formulação. Portanto, a quantidade de nitrito no extrato vegetal é conhecida (HORSCH et al., 2014; MYERS et al., 2013).

A capacidade em reduzir nitrato a nitrito tem ampliado a utilização do *Staphylococcus carnosus* em extratos aquosos vegetais com alto teor de nitrato no processamento de alimentos que buscam substituir parcialmente ou totalmente a adição direta de aditivos químicos sintéticos (KIM *et al.*, 2017; RIEL *et al.*, 2017). Neste contexto, a nitrato redutase é responsável em reduzir o nitrato de diferentes fontes vegetais, como a beterraba, aipo, alface, espinafre, em nitrito e dessa maneira, os processadores de produtos cárneos tem uma alternativa em atender uma expectativa de mercado que procura ofertar alimentos adicionados de ingredientes naturais com características similares aos produtos convencionais (RIEL *et al.*, 2017; HWANG *et al.*, 2018; SUCU; TURP, 2018).

Ao optar pela metodologia de aplicação de extratos vegetais como fonte de nitrato, as condições de processamento como teor de nitrato, temperatura, pH, adição de sódio devem ser levadas em consideração para otimizar a síntese da nitrato redutase e alcançar níveis desejáveis e eficazes do nitrito no produto final (KRAUSE *et al.*, 2011; MÜLLER *et al.*, 2016).

Nesse contexto, a influência da adição de diferentes extratos como o aipo, beterraba, alface, espinafre e salsa foram investigados. Além de fornecerem o nitrito indiretamente os extratos também fornecem compostos bioativos e antioxidantes. A adição de fontes vegetais atende às exigências do mercado de produtos orgânicos em que os sais de cura têm seu uso restrito (HORSCH *et al.*, 2014; HUNG; KOK; VERBEKE, 2016).

A carne e os produtos cárneos são suscetíveis à deterioração da qualidade devido à sua rica composição nutricional. A alteração mais comum de deterioração química é a oxidação de lipídios, a qual é um processo complexo que depende da composição química da matéria, exposição à luz e oxigênio, além da alta temperatura durante o processamento e armazenamento. A oxidação lipídica leva à formação de vários outros compostos que têm

efeitos negativos na qualidade da carne e dos produtos cárneos por causarem alterações sensoriais na cor, textura e sabor (RIBEIRO *et al.*, 2019; SHAH; BOSCO; MIR, 2014).

Embora os antioxidantes sintéticos, tais como butil hidroxianisol (BHA), butil hidroxitolueno (BHT), galato de propila (PG) e butilhidroquinona terciária (TBHQ), tenham sido usados há muito tempo para inibir mudanças nocivas induzidas pela oxidação na carne, eles estão sob crescente investigação devido aos potenciais efeitos genotóxicos (JIANG; XIONG, 2016). Atualmente, é encorajado o uso de antioxidantes naturais derivados de vários materiais vegetais, que são ricos em polifenóis, em detrimento aos aditivos sintéticos.

Diante do exposto, o uso de antioxidantes no processamento dos produtos cárneos é essencial por minimizar essas alterações indejáveis em consequência da oxidação. Assim, o uso de extratos vegetais com ação antioxidante fornece aos processadores de carne a possibilidade de diminuir e/ou substituir os antioxidantes sintéticos (RIBEIRO *et al.*, 2019; SHAH; BOSCO; MIR, 2014).

Os antioxidantes podem prevenir a peroxidação lipídica usando os seguintes mecanismos: suprimir a formação de espécies reativas tanto pela inibição enzimática ou por quelar elementos-traços envolvidos na produção de radicais livres, diminuir espécies reativas ao oxigênio e catalisadores da reação em cadeia, decompondo peróxidos (RIBEIRO *et al.*, 2019).

Como relatado na oxidação lipídica, algumas alterações ocorrem na estrutura de proteínas à medida que a oxidação progride. Como resultado da oxidação de proteínas, podem ocorrer algumas mudanças nas estruturas de aminoácidos e essas alterações resultarem na formação de carbonila, bem como na diminuição no teor de sulfidrila. As alterações na estrutura das proteínas causam diminuição na solubilidade protéica. Além de mudanças na capacidade de retenção de água e textura durante o armazenamento (RIBEIRO *et al.*, 2019).

Nesse contexto, vários antioxidantes naturais extraídos de plantas foram aplicados para diminuir a oxidação lipídica em produtos cárneos, como de frutas (uvas, romã, tâmaras), legumes (brócolis, batata doce, abóbora), ervas e especiarias (alecrim, *curry*, orégano, canela, sálvia, tomilho, hortelã, gengibre, cravo) (SHAH; BOSCO; MIR, 2014).

Estes extratos vegetais são preparados dos materiais vegetais usando diferentes solventes e métodos de extração, são ricos em fenólicos e fornecem uma boa alternativa a antioxidantes sintéticos. A atividade antioxidante dos extratos pode variar de acordo com os métodos de extração, pureza, tipos e quantidade de compostos ativos que sofrem interferência do clima, composição do solo e parte da planta utilizada (SHAH; BOSCO; MIR, 2014).

Os compostos fenólicos são um dos maiores grupos metabólitos secundários constituídos divididos de acordo com o número de anéis fenólicos e os elementos estruturais que os ligam: flavonóides (antocianinas, flavonas, isoflavonas), ácidos fenólicos, taninos, estilbenos e lignanas.

Os antioxidantes fenólicos atuam normalmente como sequestradores de radicais, pela rápida doação de um átomo de hidrogênio aos radicais lipídicos, podendo agir tanto na fase de iniciação quanto na propagação do processo oxidativo em alimentos. Além da ação protetora contra os danos oxidativos nos alimentos alguns estudos relatam que os antioxidantes são capazes de diminuir a formação de compostos nitrosos (RIBEIRO *et al.*, 2019; SHAH; BOSCO; MIR, 2014).

Abraham e Khandelwal (2013) observaram que a administração de ácido ascórbico e de alguns compostos polifenólicos, ácido ferúlico (FA), ácido gálico (GA), ácido clorogênico (CA) e epigalocatequina galato (EGCG), é eficaz em inibir o dano cromossômico mediado pela nitrosação endogêna através da incidência de micronúcleos em células sanguíneas, importante biomarcador carcinogênico. Os autores observaram que a administração conjunta de ácido ascórbico com compostos polifenólicos exercem um efeito sinérgico e podem ser úteis na redução da carcinogenicidade induzida por compostos nitrosos.

Segundo La Pomélie, Santé-Lhoutellier e Gatellier (2017), o ácido clorogênico proporciona significante proteção da nitrosação do triptofano, um aminoácido secundário, independente das condições do meio reativo. Já o butil-hidroxitolueno apresentou atividade ambivalente dependendo das condições do meio, que nas condições de ausência de ferro favoreceu a nitrosação.

O estudo de Shahat *et al.* (2016) cita que a substituição de nitrito de sódio sintético por extratos vegetais da beterraba vermelha (*Beta vulgaris*), tomate (*Lycopersicon esculentum*) e aipo (*Apium graveolens*) como fontes naturais de nitrato em formulações de hambúgueres de carne resultaram em menor formação de nitrosaminas, nitrosodimetilamina (NDMA) e N-nitrosodietilamina (NDEA), durante a cocção das amostras. O teor total de nitrosaminas variou de 0,84 a 3,66 μg.kg⁻¹ nas formulações com extrato vegetal para 10,00 μg.kg⁻¹ nas amostras com nitrito de sódio sintético. Os autores concluiram que os componentes polifenólicos são os responsáveis pela diminuição das substâncias cancerígenas.

2.5 Coentro (Coriandrum sativum L.)

O coentro (*Coriandrum sativum L.*) pertence à família Apiaceae, a qual existe mais de 3.000 espécies, dentre elas estão incluídos o aipo (*Apium graveolens*), salsa (*Petroselium Crispum*), endro (*Anethum Graveolens*), cominho (*Foeniculum*) e anis (*Pimpinella*). O coentro é uma herbácea anual, ereta, de folhas lombadas verdes brilhantes, altura aproximada de 20 a 70 cm com sementes esféricas de cor marrom amarelada (PEREIRA; SANTOS, 2013).

Figura 1 – Coentro (Coriandrum sativum L.)

Fonte: Barros *et al.* (2012). A – Folhas, B – Sementes.

Os extratos de folhas, sementes e raízes do coentro contém diferentes antioxidantes que podem minimizar ou evitar a deterioração dos alimentos e fornecer proteção contra danos oxidativos do DNA celular. Os principais constituintes relacionados com os efeitos terapêuticos do uso do coentro são os ácidos fenólicos e os flavonóides (TANG *et al.*, 2013).

As folhas de coentro apresentam ácidos fenólicos (1.013,95 mg.kg⁻¹ de peso seco), flavonóides (5.259,52 mg.kg⁻¹ de peso seco) e compostos fenólicos totais (6.273,47 mg.kg⁻¹ de peso seco) em sua composição. Os derivados de ácidos hidroxinâmicos e os derivados de quercentina e do kaempferol são os principais representantes dos compostos fenólicos totais. As sementes também apresentam derivados dos ácidos hidroxinâmicos, correspondentes ao ácido clorogênico, ácido cafeíco, ácido ferúlico e ácido cumárico (BARROS *et al.*, 2012).

Um ensaio *in vitro* demonstrou que o extrato das folhas de coentro foi capaz de inibir em 38,8% a formação de produtos finais de glicação avançada, relacionados com as complicações metabólicas, e apresenta significativa capacidade de eliminação de radicais (RAMKISSOON *et al.*, 2013). Tang *et al.* (2013) verificaram que o conteúdo fenólico e a

atividade de eliminação de radicais das folhas e raiz do coentro apresentam correlação positiva, propondo que o extrato de diferentes partes do coentro pode exercer proteção antioxidante em sistemas biológicos reais.

A concentração dos compostos bioativos é variável entre as diferentes partes da planta. No estágio inicial, as folhas do coentro apresentam carotenoides entre $157,62 \pm 4,17$ a $169,15 \pm 4,73$ mg. $100g^{-1}$ de peso seco, enquanto, em estágios posteriores do crescimento o teor desses carotenoides eleva-se para $197,73 \pm 5,10$ a $217,50 \pm 5,57$ mg. $100g^{-1}$ de peso seco. A análise cromatográfica revelou a presença dos seguintes carotenoides: β -caroteno, luteína, neoxantina, violaxantina e β -criptoxantina (DIVYA; PUTHUSSERI; NEELWARNE, 2012).

O mesmo estudo também verificou que os carotenóides presentes no extrato de coentro conferem maior potencial de eliminação de radicais hidroxílicos quando comparado ao ácido gálico padrão, protegendo o DNA da degradação (DIVYA; PUTHUSSERI; NEELWARNE, 2012). Assim, o coentro (*Coriandrum sativum L.*) que além dos compostos fenólicos oferece elevado conteúdo de nitrato (2370 ppm de peso seco) apresenta significativo potencial de uso na formulação de produtos cárneos.

3 MATERIAL E MÉTODOS

A descrição do material utilizado, as etapas do procedimento experimental e os resultados da 1ª etapa estão descritos nas seções 3.1 à 3.3.

3.1 Material

As matérias-primas usadas na elaboração das linguiças (lombo e toucinho suíno) foram adquiridas no mercado local de Fortaleza-CE e, transportadas em caixas isotérmicas com gelo até o Laboratório de Carnes e Pescado (LABCAP), da Universidade Federal do Ceará (UFC), em Fortaleza, onde foram armazenadas em freezer à temperatura de -18 °C, até o momento do processamento.

Os ingredientes (sal de cura, cloreto de sódio, antioxidante, tripolifosfato, açúcar refinado, pasta de alho, pasta de cebola, noz moscada, pimenta branca, glutamato monossódico) bem como os envoltórios (tripa natural suína salgada de calibre 30/32 mm) foram obtidos no comércio local de Fortaleza-CE e armazenados adequadamente.

A semente de coentro utilizado para o plantio do coentro também foi adquirida no comércio local de Fortaleza-CE.

A cultura *starter*, *Staphylococcus carnosus*, Bactoferm® S-B-61- Valinhos, produzida pela empresa Christian Hansen S/A, foi obtida através de doação pela empresa Maxsoy®.

3.2 Metodologia

O procedimento experimental ocorreu em duas etapas. Na primeira etapa, realizou-se o plantio, colheita, liofilização das folhas de coentro e determinação do teor de nitrato e nitrito do coentro em pó e coloração de gram da cultura *starter*. Na segunda etapa, foram realizadas obtenção e caracterização do extrato de coentro (pH, cor e atividade antioxidante), avaliação da atividade antimicrobiana do extrato aquoso de coentro contra as *cepas E. coli e S. aureus*, bem como o processamento das formulações de linguiça suína cozida que totalizaram quatro tratamentos.

3.2.1 Plantio e obtenção do coentro liofilizado

O plantio do coentro (*Coriandrum sativum* L.), família Apiaceae foi conduzido na Horta Didática pertencente ao Departamento de Fitotecnia da UFC, Campus do Pici, localizada em Fortaleza-CE, cujas coordenadas geográficas são 03°44' de Latitude Sul e 38°34' de Longitude Oeste, a 21 m de altitude. O clima da região é, segundo Köppen, do tipo As, definido como clima tropical com verão seco, com temperatura média anual superior a 26 °C e precipitação média anual de aproximadamente 1.450 mm (ALVARES *et al.*, 2014).

O plantio ocorreu em canteiro de 10 m² (1,0 x 10,0 m), com 4 gramas de sementes por metro linear, sendo utilizado o coentro 'Verdão' (Figura 2). As sementes de coentro foram semeadas diretamente em sulcos preparados no solo. A irrigação das plantas foi feita por microaspersão, em dois turnos de rega ao dia. As capinas foram realizadas periodicamente. Não houve aplicação de defensivos agrícolas durante o plantio.



A colheita foi realizada aos 40 dias após o plantio. O coentro fresco foi conduzido ao LABCAP/UFC onde foi previamente limpo e lavado em água corrente, para remoção do excesso de terra e, posteriormente sanitizado com uma solução de hipoclorito de sódio conforme fabricante. Em seguida, realizou-se a separação das folhas desprezando-se os caules e raízes. As folhas foram acondicionadas em embalagens laminadas e encaminhadas para serem congeladas no LABCAP para posterior liofilização, em liofilizador (marca Liotop modelo L101). O material liofilizado foi acondicionado em embalagem laminada com proteção à luz e conduzido para análise do teor de nitrato e nitrito presente na amostra no

Departamento de Toxicologia da Faculdade de Farmácia Odontologia e Enfermagem (FFOE) da UFC.

3.2.2 Determinação de nitrato e nitrito no coentro liofilizado

Os teores de nitrato no coentro liofilizado foram obtidos a partir da metodologia adaptada de Cataldo *et al.* (1975).

Inicialmente, foi obtido o extrato a partir da proporção de 1:125 água destilada e material vegetal (p/v) em banho-maria à 45 °C com agitação por 60 minutos. Após a extração, a amostra foi filtrada e adicionada de 5 g de carvão ativado e encaminhada para centrifugação a 60 rpm por 10 minutos a fim de eliminar os interferentes do analito deixando o extrato incolor.

Para determinar o teor de nitrato uma alíquota da amostra filtrada foi acrescentada de 0,4 ml de ácido 2–hidróxibenzóico 5% em ácido sulfúrico e, após 20 minutos, adicionou-se 5,0 ml de hidróxido de sódio 3,8 M. As leituras foram realizadas em espectrofotômetro Thermo scientific® modelo Genesys 10S UV-Vis, no comprimento de onda de 410 nm. Os cálculos para determinação do conteúdo de nitrato foram realizados com base na equação obtida através da curva de calibração, com a leitura de padrões de nitrato (0,09; 0,18; 0,55; 1,09; 2,18; 3,27; 4,36 e 5,45 μg.mL⁻¹) na mesma faixa espectral. Os resultados finais foram convertidos em miligramas de nitrato por massa de amostra.

Para determinação do nitrito, uma alíquota do extrato filtrado foi adicionada de 5 ml de reagente ácido sulfanílico e 3 ml de reagente alfa-naftol, agitando após cada adição. Após 15 minutos, as leituras foram realizadas em espectrofotômetro Thermo scientific® modelo Genesys 10S UV-Vis, no comprimento de onda de 474 nm. Os cálculos para determinação do conteúdo de nitrito foram realizados com base na equação obtida através da curva de calibração, com a leitura de padrões de nitrito (0,5; 1,0; 2,0; 4,0; e 8,0 μg.mL⁻¹) na mesma faixa espectral. Os resultados finais foram convertidos em miligramas de nitrito por massa de amostra.

3.2.3 Coloração de Gram da cultura starter e atividade antimicrobiana do extrato de coentro contra o Staphylococcus carnosus

Inicialmente, foi realizada a coloração de Gram para verificar a pureza da cultura comercial, *Staphylococcus carnosus*, Bactoferm® S-B-61- Valinhos.

Posteriormente, foi verificada a possível ação inibitória do extrato aquoso de coentro contra a cepa *Staphylococcus carnosus*, Bactoferm® S-B-61- Valinhos, através de antibiograma, utilizando a técnica de difusão em poços, de acordo com metodologia descrita pelo *Clinical and Laboratory Standard Institute* (CLSI, 2010).

Para isso, 50 μ L do extrato aquoso de coentro na concentração de 118 mg.mL⁻¹ foram depositados em poços, em placas de Petri com meio ágar Mueller-Hinton inoculado com a concentração da cepa *Staphylococcus carnosus*, Bactoferm® S-B-61- Valinhos, ajustada à turbidez 0,5 na escala de McFarland, que corresponde aproximadamente, 1×10^8 UFC.mL⁻¹ (CLSI, 2010).

Como controle positivo, foi utilizado o antibiótico Canamicina (30 µg.mL¹) e como controle negativo foi utilizado água destilada estéril. O teste foi realizado em duplicata.

3.2.4 Resultados da 1ª

Os resultados da 1ª etapa do procedimento experimental da análise de nitrato e nitrito do coentro liofilizado e da coloração de Gram e a atividade antimicrobiana do coentro contra cultura starter, *Staphylococcus carnosus*, Bactoferm® S-B-61- Valinhos estão apresentados nas seções 3.2.4.1 à 3.2.4.2, respectivamente.

3.2.4.1 Análise de nitrato e nitrito no coentro liofilizado

As condições de cultivo aplicadas no estudo favoreceram uma concentração de 1.164,90 ppm de nitrato e 5 ppm de nitrito nas folhas de coentro liofilizadas utilizadas neste estudo. Conforme reportado por Bahadoran *et al.* (2016), concentrações de nitratos e nitritos em vegetais dependem de vários fatores ambientais e biológicos como: composição do solo, tipo da cultura vegetal, intensidade da luz, temperatura e umidade do ar, tempo de colheita e uso de fertilizantes. Segundo o mesmo estudo a análise de 26 amostras de coentro apresentaram concentrações de 2.370 ppm e 4,20 ppm de nitrato e nitrito, respectivamente.

Os vegetais podem ser classificados em três grupos conforme o teor de nitrato encontrado. Concentrações de <100 ppm, 100 - 1000 ppm, >1000 ppm classifica-os com baixo, médio e alto teor de nitrato, respectivamente. Portanto, o coentro liofilizado utilizado no presente estudo contém alto teor de nitrato (IARC, 2010).

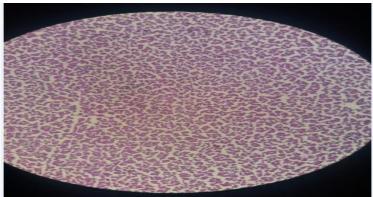
As expectativas de sabor exigidas pelos consumidores podem influenciar a aceitabilidade dos produtos com extratos vegetais. Portanto, a adição dos extratos vegetais

deve levar em consideração não apenas a quantidade de nitrato como também as implicações sobre os aspectos sensoriais. Nesse contexto, no presente estudo a adição de 0,29 e 0,58% de coentro foram baseadas em estudo anterior em que concentrações similares de extrato de salsa apresentaram boa aceitabilidade pelos provadores (RIEL *et al.*, 2017).

3.2.4.2 Coloração de Gram e atividade antimicrobiana do coentro contra cultura starter, Staphylococcus carnosus, Bactoferm® S-B-61- Valinhos

O estudo utilizou a cultura *starter*, *Staphylococcus carnosus*, Bactoferm® S-B-61-Valinhos para reduzir o nitrato presente no coentro liofilizado a nitrito e este por sua vez, atuar como o agente de cura. Após a coloração de Gram, verificou-se a pureza da cultura comercial, a qual apresentou coloração violeta característica das bactérias Gram positivas, Figura 3.

Figura 3 – Lâmina corada após coloração de Gram da cultura *starter*, *Staphylococcus carnosus*, Bactoferm® S-B-61- Valinhos



Fonte: Próprio autor (2019).

Após comprovada a pureza da cultura comercial, foi analisado se o extrato aquoso de coentro nas concentrações aplicadas nas linguiças apresentava atividade antimicrobiana contra a cepa *Staphylococcus carnosus*, Bactoferm® S-B-61- Valinhos (Figura 4).

Diante do resultado, apresentado na Figura 4, pode-se verificar que não houve inibição do crescimento de *Staphylococcus carnosus* SB61-Bactoferm pelo extrato aquoso de coentro. Somente houve inibição de crescimento pela ação do antibiótico Canamicina (30 µg.mL⁻¹), utilizada como controle positivo. Portanto, o extrato aquoso de coentro poderia ser aplicado com o microrganismo *Staphylococcus carnosus*, o qual é capaz de reduzir o nitrato a nitrito presente no extrato aquoso de coentro.

Dattorinio 3-D-01- Vaninos

Figura 4 – Placa de ágar inoculada com o *Staphylococcus carnosus*, Bactoferm® S-B-61- Valinhos

Fonte: Próprio autor (2019).

c+: controle positivo (antibiótico Canamicina 30 μg/mL); c-: controle negativo (água destilada estéril); EC: Extrato de coentro (118 mg.mL⁻¹).

Krause *et al.* (2011) aplicaram a cultura isolada de *Staphylococcus carnosus* (CS 299 Bactoferm, Chr. Hansen) em diferentes condições de incubação na preparação de salmouras para serem injetadas em presunto, que utilizaram o extrato de aipo como fonte de nitrato. A condição de incubação a 38 °C favoreceu um pico de conversão do nitrato a nitrito em menor tempo. Ainda segundo Casaburi *et al.* (2005), a síntese da nitrato redutase pela *S. Carnosus* é diretamente proporcional a concentração de nitrato.

3.2.5 Obtenção e caracterização do extrato de coentro

Após os resultados da primeira etapa, procedeu - se o estudo com a obtenção do extrato aquoso de coentro e sua caracterização (pH, cor e atividade antioxidante), além da avaliação da atividade antimicrobiana do extrato de coentro contra as *cepas E. coli e S. aureus*, bem como o processamento das formulações de linguiça suína cozida que totalizaram quatro tratamentos.

3.2.5.1 Obtenção do extrato aquoso de coentro

Para obtenção dos extratos a serem adicionados nas formulações F3 e F4 o coentro liofilizado foi adicionado da água destilada e realizada extração em banho-maria a 45 °C com frequente agitação por um período de uma hora. Em seguida, os extratos obtidos foram filtrados e resfriados. As concentrações dos extratos foram de 58 mg.mL⁻¹ e 118 mg.mL⁻¹ a serem adicionados nas formulações F3 e F4, respectivamente. A quantidade de água destilada adicionada para obtenção dos extratos foi calculada em função da quantidade total de água necessária as formulações.

3.2.5.2 Determinação do pH

O pH foi determinado conforme AOAC (2005) utilizando-se pHmetro (TECNAL®- TEC-3P-MP), equipado com um eletrodo padrão (InLab 427®, Mettler-Toledo, Urdorf, Suíça) e um sensor de temperatura. Antes das medições, o medidor de pH foi calibrado a temperatura ambiente (25± 1 °C) com duas soluções padrão (pH=4; pH=7)

3.2.5.3 Determinação de cor

Utilizou-se um colorímetro ColoQuest XE HunterLab. As medições foram realizadas com auxílio de uma cubeta (espessura: 20 mm) e expressas pelos parâmetros L*, a* e b*. Os valores L* (luminosidade), variam entre zero (branco) a 100 (preto) enquanto os valores das coordenadas de cromaticidade a* variam de -a* (verde) até +a* (vermelho), e b* variam de -b* (azul) até +b* (amarelo).

3.2.5.4 Determinação da atividade antioxidante do extrato de coentro pelo método de captura do cátion radical livre ABTS.

A atividade antioxidante do extrato aquoso do coentro, através da captura do cátion radical ABTS^{**}, foi determinada conforme Rufino *et al.* (2007). Utilizou-se o trolox como padrão antioxidante e os resultados foram expressos em termos da capacidade antioxidante do composto equivalente ao trolox, expresso em valor de TEAC (*Trolox Equivalent Antioxidant Capacity*, capacidade antioxidante total do composto equivalente ao trolox). A solução do cátion radical foi preparada pela reação do ABTS 3,5 mM com persulfato de potássio 140 mM. Para completa reação e estabilização do radical, a solução radical ABTS permaneceu ao abrigo de luz, à temperatura ambiente, por um período de 16 horas. Diluiu-se a solução de ABTS em etanol até obter uma absorbância de 0,7 ± 0,05 a 734 mm. A curva de calibração do padrão trolox foi feita nas concentrações de 100, 500, 1000, 1500 e 2000 μM. Em ambiente escuro foi transferida uma alíquota de 30 μL de cada solução padrão, para tubos de ensaio e adicionados 3,0 mL da solução de radical ABTS. As absorbâncias foram medidas a 734 nm após 6 min de reação, utilizando-se o etanol como branco. Realizou-se o mesmo procedimento para as soluções de extrato aquoso de coentro. O cálculo para ABTS foi realizado a partir da equação da reta y = 2E -05x + 0,6843 (R² = 0,997)

para o extrato de concentração de 58 mg.m L^{-1} e y = 2E -05x + 0,6722 (R^2 = 0,995) para o extrato de concentração de 118 mg.m L^{-1} utilizando o antioxidante trolox (antioxidante sintético, análogo a vitamina E), o resultado foi expresso em μ M trolox. g^{-1} de coentro.

3.2.5.5 Atividade antimicrobiana do extrato aquoso de coentro contra as cepas E. coli e S. aureus

Foi verificada a possível ação inibitória do extrato aquoso de coentro contra a cepa *E. coli e S. aureus*, através de atividade antimicrobiana, utilizando a técnica de difusão em poços, de acordo com metodologia descrita pelo *Clinical and Laboratory Standard Institute* (CLSI, 2010).

Para isso, 50 μ L do extrato aquoso de coentro na concentração de 118 mg.mL⁻¹ foram depositados em poços, em placas de Petri com meio ágar Mueller-Hinton inoculado com a concentração da cepa *E. coli* ou *S. aureus*, ajustada à turbidez 0,5 na escala de McFarland, que corresponde aproximadamente, 1×10^8 UFC.mL⁻¹ (CLSI, 2010).

Como controle positivo foi utilizado o antibiótico Canamicina (30 µg/mL) e como controle negativo foi utilizado água destilada estéril. O teste foi realizado em duplicata.

3.2.6 Preparo das formulações de linguiça suína cozida

Foram produzidos quatro tratamentos de linguiça suína cozida utilizando carne suína (lombo), sal de cura, coentro liofilizado, cloreto de sódio, antioxidante (eritorbato de sódio), tripolifosfato, açúcar refinado, pasta de alho, pasta de cebola, noz moscada, pimenta branca, glutamato monossódico e a cultura *starter*, *Staphylococcus carnosus*, Bactoferm® S-B-61- Valinhos. Na formulação F1 ou controle, não houve a adição do sal de cura nem do coentro liofilizado, na formulação F2 ou padrão, houve a adição de sal de cura comercial, já as formulações F3 e F4 foram adicionadas de coentro liofilizado em concentrações de 0,29 e 0,58%, fornecendo 3,37 e 6,84 ppm de nitrato, respectivamente. As formulações de linguiça suína cozida estão dispostas na Tabela 2.

Tabela 2 – Composição das formulações de linguiça suína cozida

INGREDIENTES	F1	F2	F3	F4
Carne Suína (%)	80	80	80	80
Toucinho (%)	20	20	20	20
Sal de Cura (%)	-	0,15	-	-
Coentro Liofilizado (%)	-	-	0,29	0,58
Cloreto de Sódio (%)	2,0	1,73	2,0	2,0
Antioxidante (%)	0,25	0,25	0,25	0,25
Tripolifosfato (%)	0,25	0,25	0,25	0,25
Açúcar Refinado (%)	0,1	0,1	0,1	0,1
Pasta de Alho (%)	0,40	0,40	0,40	0,40
Pasta de Cebola (%)	0,40	0,40	0,40	0,40
Pimenta Branca (%)	0,1	0,1	0,1	0,1
Glutamato Monossódico (%)	0,15	0,15	0,15	0,15
Bactoferm S-B-61	-	-	0,025	0,025
Água (%)	5	5	5	5

Fonte: Próprio autor (2019).

Para a elaboração das linguiças, o lombo suíno foi cortado manualmente, com auxílio de facas de aço inoxidável, em forma de cubos de tamanhos irregulares. Os cubos de carnes e o toucinho foram cominuídos em moinho, utilizando-se disco de 8 mm. Os ingredientes foram pesados em balança analítica conforme formulações (Tabela 2).

F1 = Formulação controle,

F2 = Formulação padrão adicionada de sal de cura (90% NaCl e 10% de NaNO₂), com 150 ppm de NaNO₂,

F3 = Formulação adicionada de coentro liofilizada com 3,37ppm de Nitrato + cultura starter,

F4 = Formulação adicionada de coentro liofilizada com 6,84ppm de Nitrato + cultura starter.

Primeiramente, adicionou-se o açúcar, sal (NaCl), sal de cura na formulação F2, fosfato e metade da quantidade de água da formulação à massa cárnea procedendo a mistura manual por dois minutos. Logo após, acrescentou a pasta de alho, pasta de cebola, noz moscada, pimenta branca e glutamato monossódico e o restante da água, homogeneizando a massa por mais dois minutos. Por último, foi acrescentado o antioxidante, homogeneizando a massa pelo período de dois minutos.

Nas formulações F3 e F4, a quantidade total de água adicionada foi descontada do volume do extrato. Para facilitar a dissolução da cultura *starter* utilizada, a mesma foi diluída nos respectivos extratos antes de ser acrescentada a massa cárnea. Os demais ingredientes foram adicionados conforme descrito anteriormente.

O embutimento da massa cárnea realizou-se em tripa natural suína de calibre 30/32 em embutideira de pistão, seguido de amarração dos gomos de aproximadamente 100 g cada. Os envoltórios foram previamente lavados em água potável para remoção de sal e hidratação, em seguida, imersos em solução clorada (100 ppm) por quinze minutos e enxaguados. Após o embutimento, as linguiças foram colocadas em sacos de polietileno e levadas para cozimento em banho-maria por 90 minutos à temperatura de 40 °C e, em seguida, elevou-se a temperatura até que esta atingisse 72 °C na parte interna da linguiça. O objetivo do escalonamento é permitir a redução do nitrato presente no extrato de coentro pela cultura *starter* e para isso, a temperatura inicial tem que ser próxima à temperatura ótima de crescimento do microrganismo.

Após o cozimento, as linguiças foram resfriadas em banho de gelo e armazenadas sob refrigeração à temperatura abaixo de 4 °C até o momento da análise. Para cada tratamento, foram produzidas dezesseis linguiças.

3.2.7 Caracterização físico-química das formulações de linguiça suína cozida

Para cada tratamento foi realizada caracterização físico-química das formulações (composição centesimal) no tempo 0 de armazenamento.

3.2.7.1 Composição centesimal

As formulações foram submetidas às análises físico-químicas de composição centesimal (umidade, cinzas, lipídios e proteínas) de acordo com AOAC (2005) e carboidrato por diferença.

- **Umidade**: o teor de umidade foi determinado com base na remoção da água por aquecimento em estufa à $105^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$. Cápsulas de porcelanas foram tratadas em estufa à $105^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$ e receberam alíquotas de cada amostra que depois de devidamente pesadas em balança analítica foram transferidas à estufa ($105^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$) para secagem até peso constante. O teor de umidade em porcentagem de cada amostra foi calculado pela diferença de massas, antes e depois da secagem e multiplicado por 100. Todas as determinações foram realizadas em triplicatas.
- **Cinzas** (Resíduo mineral fixo): na determinação das cinzas foi empregada a incineração em mufla, onde toda a matéria orgânica foi queimada. Cada amostra foi colocada em um cadinho de porcelana, com massa previamente estabelecida e permaneceu na mufla $(550~^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C})$ até total queima da matéria orgânica. A diferença entre a massa da amostra mais cadinho e a massa do cadinho forneceu a massa das cinzas da amostra. Todas as determinações foram realizadas em triplicatas.
- Lipídios totais: realizou-se através do método que utiliza solvente orgânico para extração da fração lipídica com auxílio de um extrator de Soxhlet. Alíquotas de cada amostra foram pesadas em cartuchos de celulose e transferidas para o extrator de Soxhlet. A extração da porção lipídica foi realizada com auxílio de hexano. A porção lipídica foi separada da micela por destilação do solvente e determinada gravimetricamente com auxílio de uma balança analítica. Os resultados foram expressos em percentagem de lipídeos de cada amostra. Todas as determinações foram realizadas em triplicatas.
- **Proteínas:** o teor de proteína foi determinado pelo método de Kjeldahl que se baseia na digestão da amostra com ácido sulfúrico e mistura catalisadora contendo sulfato de cobre e sulfato de potássio para acelerar a reação. Assim, todo o carbono e hidrogênio serão oxidados a gás carbônico e água. O nitrogênio da proteína é reduzido e transformado em sulfato de amônio. Completada a digestão, a amostra foi destilada em meio básico por adição de hidróxido de sódio 40%, para a liberação da amônia. A amônia foi recolhida em solução de ácido bórico, formando borato de amônio. O borato de amônio formado foi quantificado por titulação com ácido clorídrico padronizado. O fator de conversão de 6,25 foi utilizado para o cálculo do teor de proteína bruta ou total. Todas as determinações foram realizadas em triplicatas.
- Carboidrato: obtido por diferença. Calculou-se a média da porcentagem de água, proteínas, lipídeos e cinzas e o restante foi considerado carboidrato, conforme se verifica na equação a seguir:

% Carboidratos = 100 - (U + L + P + C)

Onde: U = umidade (%), L = lipídeos (%); P = proteína (%) e C = cinzas (%).

3.2.8 Avaliação da estabilidade físico-química das formulações

As formulações de linguiça suína cozida foram avaliadas com relação ao pH, atividade de água (Aw), oxidação lipídica (N°s TBARS), nitrato, e cor aos 0, 15 e 30 dias de estocagem sob refrigeração (4 °C). As determinações de nitrito foram realizadas aos 0 e 30 dias de estocagem sob refrigeração (4 °C).

3.2.8.1 Determinação do pH

O pH foi determinado conforme AOAC (2005) utilizando-se pHmetro (TECNAL®- TEC-3P-MP), equipado com um eletrodo padrão (InLab 427®, Mettler-Toledo, Urdorf, Suíça) e um sensor de temperatura. Antes das medições, o medidor de pH foi calibrado a temperatura ambiente (25± 1 °C) com duas soluções padrão (pH=4; pH=7)

3.2.8.2 Atividade de água (Aw)

Medida em analisador de atividade de água (marca Aqua-lab, modelo CX-2). Foram realizadas três medições por amostra.

3.2.8.3 Oxidação de lipídeos

Substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS): foram determinadas segundo metodologia descrita por Raharjo, Sofos e Schmidt (1992) e modificada por Facco (2002). Em um tubo de polietileno foram colocados 10,0 ± 0,1 g de amostra previamente triturada em multiprocessador, 1 mL da solução de BHT (0,15 %) e 40 mL de uma solução 5 % de ácido tricloroacético (TCA). Em seguida, a mistura foi homogeneizada em triturador do tipo Marconi (modelo: TE102) e colocada em centrífuga (modelo: Beckman J2-21) durante 10 minutos a 10.000 rpm a 4 °C. Após sair da centrífuga, o sobrenadante foi filtrado, transferido para um balão volumétrico de 50 mL e o volume completado com solução de TCA 5 %. Posteriormente foram retirados 2 mL (em triplicata) do balão volumétrico de cada

amostra e colocados cada um em um tubo de vidro transparente com tampa. Após a adição de 2 mL da solução 0,08 M de ácido 2-tiobarbitúrico (TBA) em cada um dos tubos de vidro, estes foram vedados com a tampa, agitados e aquecidos em banho-maria a 100 °C por 50 minutos. Em seguida, com o auxílio de um espectrofotômetro calibrado para leitura em comprimento de onda de 531 nm, foi realizada a leitura das absorbâncias de cada uma das amostras. Os valores encontrados foram aplicados em equação elaborada a partir de uma curva padrão de calibração anteriormente obtida e cujos resultados foram novamente empregados na equação abaixo para que se pudesse finalmente determinar os níveis de TBARS das amostras. Os resultados obtidos foram expressos em mg de malonaldeído (MDA)/kg de linguiça.

$$mg \ de \ MDA/Kg = \frac{25 \ x \ C}{P}$$

Onde:

C = concentração (µg MDA/2 mL) correspondente a absorbância lida (curva padrão)

P = peso da amostra

25 = equivalente à diluição

3.2.8.4 Determinação de nitrato e nitrito na linguiça suína cozida

Para determinação quantitativa de nitrato e nitrito na linguiça suína cozida, 10 g da amostra triturada foram transferidas para um béquer de 200 ml, adicionadas de 5 ml de tetraborato de sódio (bórax) 5% e 50 ml de água destilada aquecida (80 °C) e agitadas. A mistura foi mantida em banho-maria por 15 minutos à 80 °C, com agitação frequente. Após este processo, resfriou-se a temperatura ambiente. A mistura foi transferida quantitativamente para um balão volumétrico de 100 ml e em seguida, adicionou-se 5 ml de ferrocianeto de potássio 0,25 M e 5 ml de acetato de zinco 1,0 M com agitação sequencial, completando o volume do balão com água destilada. O conteúdo do balão ficou em repouso por 30 minutos a temperatura ambiente. Após o repouso o conteúdo do balão foi filtrado em papel filtro qualitativo. Em seguida, as determinações de nitrato e nitrito foram realizadas da mesma maneira como descrita para o coentro liofilizado.

Tanto para nitrato como para nitrito, o limite de quantificação do método foi de 5 mg.kg de linguiça.

3.2.8.5 Determinação de cor

Utilizou-se um colorímetro ColoQuest XE HunterLab. As medições foram realizadas com auxílio de uma cubeta (espessura: 20mm) diretamente na superfície das linguiças e expressas pelos parâmetros L*, a* e b*. Os valores L* (luminosidade), variam entre zero (branco) a 100 (preto) enquanto os valores das coordenadas de cromaticidade a* variam de -a* (verde) até +a* (vermelho), e b* variam de -b* (azul) até +b* (amarelo). Foram realizadas três leituras para cada formulação.

3.3 Análise estatística

No presente estudo para as análises das formulações de linguiças foi utilizado um delineamento inteiramente causalizado 4x3 (4 formulações e 3 repetições). Para a estabilidade das linguiças foi utilizado um delineamento 4x3 (4 formulações e 3 tempos de armazenamento). Os resultados foram compilados no programa Microsoft Office Excel 2007 e processados no programa estatístico XLSTAT (Addinsoft Paris, France), considerado o nível de 5% de probabilidade para significância. Os dados de composição centesimal das linguiças foram submetidos à análise de variância (ANOVA), sendo as médias comparadas pelo teste de Tukey. Os dados de pH, a atividade de água, TBARS, nitrato e a cor das linguiças foram inicialmente avaliados usando a ANOVA com um planejamento fatorial, que incluiu os efeitos do tratamento, tempo de armazenamento e a interação entre o tratamento e o tempo de armazenamento. Quando a interação foi significativa, avaliou-se o impacto de cada fator sobre os outros usando o teste de Tukey para a comparação das médias.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados da caracterização do extrato aquoso estão descritos na seção 4.1 e da atividade antimicrobiana do extrato aquoso contra as *cepas E. coli e S. aureus* estão descritos na seção 4.2.

4.1 Determinação de pH, cor e atividade antioxidante do extrato de coentro

Os resultados das análises de pH, cor e atividade antioxidante estão compilados na Tabela 3.

Tabela 3 – Valores do pH, coordenadas de cor L*, a* e b* e atividade antioxidante total do extrato aquoso de coentro

Extrato	-					Atividade
aquoso	de	pН	\mathbf{L}^*	a*	b *	Antioxidante
coentro						μM trolox.g ⁻¹
EC 1		5,83±0,00a	$5,58 \pm 0,06a$	$3,18 \pm 0,04a$	$4,47 \pm 0,15b$	56,82
EC 2		5,79±0,00a	$4,14 \pm 0,02b$	$2,69 \pm 0,07b$	$6,19 \pm 0,03a$	58,84

Fonte: Próprio autor (2019).

Conforme os resultados do presente estudo, o valor de pH diminuiu com o aumento da concentração do extrato de coentro. Quanto às coordenadas de cromaticidade, o valor de L* e a* diminuíram e b* aumentou no extrato mais concentrado EC2 (118 mg.mL⁻¹).

A atividade antioxidante do extrato aquoso do coentro foi avaliada através da captura do cátion radical ABTS*. Conforme dados da Tabela 3, o extrato de maior concentração apresentou a maior capacidade de redução de radicais livres. A atividade antioxidante total foi de 56,82 e 58,84 μmol Trolox.g⁻¹ de coentro para os extratos com concentrações de 58 e 118 mg.mL⁻¹, respectivamente. Os resultados encontrados no presente estudo foram superiores aos reportados por El-Zaeddi *et al.* (2017), os quais avaliaram a atividade antioxidante das folhas de coentro também pelo método ABTS* e os resultados variaram de 0,85 a 3,30 mmol Trolox. 100g de peso seco conforme os tratamentos aplicados durante o cultivo com ácido málico (oxálico e acetilsalicílico).

^{*} médias com letras minúsculas diferentes na mesma coluna diferem significativamente pelo Teste de Tukey (p< 0,05)

El-Zaeddi *et al.* (2017) também avaliaram a atividade antioxidante das folhas de coentro pelos métodos ORAC e FRAP, e os resultados variaram de (2,85 a 9,34 mmol. 100g⁻¹ de peso seco) pelo método ORAC e de (4,60 a 10,59 mmol. 100g⁻¹ de peso seco) pelo FRAP. A análise de espectrometria de massa de alta resolução (LC-ESI-QTOF-MS) identificou os ácidos fenólicos: ácido clorogênico, ácido ferúlico, ácido cafeico e ácido sinápico. A concentração de compostos fenólicos variou de 3282 a 13290 mg.kg de peso seco conforme os tratamentos aplicados com ácidos orgânicos (málico, oxálico e acetilsalicílico).

A atividade antioxidante verificada no presente estudo possivelmente está relacionada com o conteúdo de compostos fenólicos totais presente na composição das folhas de coentro. Segundo Barros *et al.* (2012), as folhas de coentro apresentam ácidos fenólicos (1013,95 mg.kg⁻¹ de peso seco), flavonóides (5259,52 mg.kg⁻¹ de peso seco) e compostos fenólicos totais (6273,47 mg.kg⁻¹ de peso seco) em sua composição.

Melo, Mancini Filho e Guerra (2005) relataram a presença de 2734 mg.100⁻¹ g de fenólicos totais no extrato aquoso das folhas de coentro, a análise de cromatografia gasosa revelou a presença dos ácidos fenólicos, ácido caféico (4,34 μg.mL⁻¹), ácido protocatequínico (6,43 μg.mL⁻¹) e glicitina (3,27 μg.mL⁻¹).

4.2 Atividade antimicrobiana do extrato aquoso de coentro sobre a cepa E. coli e S. aureus

O efeito da substituição parcial ou total do nitrito de sódio por extratos vegetais sobre parâmetros microbiológicos foi bastante investigado nos estudos que aplicaram essa metodologia alternativa. Em geral, os artigos investigaram a eficiência dos extratos vegetais no controle dos principais microrganismos patogênicos transmitidos por produtos cárneos. A substituição do nitrito de sódio por extratos vegetais deverá garantir a mesma proteção antimicrobiana comprovada pelo nitrito contra patógenos alimentares (HORSCH *et al.*, 2014).

Foi verificada a possível ação inibitória do extrato aquoso de coentro na concentração de 118 mg.mL⁻¹ contra a cepa *E. coli* e *S. aureus*, Figuras 5 e 6, respectivamente.

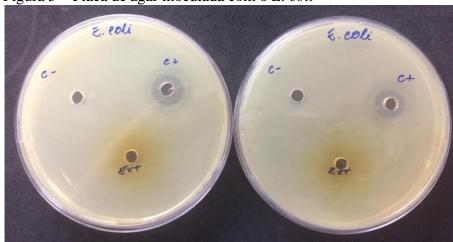


Figura 5 – Placa de ágar inoculada com o E. coli

Fonte: Próprio autor (2019).

c+: controle positivo (antibiótico Canamicina 30 μg/mL); c-: controle negativo (água destilada estéril); Ext: extrato de coentro (118 mg.mL⁻¹).

Diante do resultado, apresentado na Figura 5, pode-se verificar que não houve inibição do crescimento de *E.coli* pelo extrato aquoso de coentro na concentração de 118 mg.mL⁻¹. Somente houve inibição de crescimento pela ação do antibiótico Canamicina (30 µg.mL⁻¹).



Figura 6 – Placa de ágar inoculada com o S. aureus

Fonte: Próprio autor (2019).

c+: controle positivo (antibiótico Canamicina 30 μ g/mL); c-: controle negativo (água destilada estéril); Ext: extrato de coentro (118 mg.mL⁻¹).

Diante do resultado, apresentado na Figura 6, pode-se verificar que não houve inibição do crescimento de *S. aureus* pelo extrato aquoso de coentro na concentração de 118 mg.mL⁻¹. Somente houve inibição de crescimento pela ação do antibiótico Canamicina (30 µg.mL⁻¹).

Apesar dos resultados encontrados no presente estudo, Wong e Kitts (2006) verificaram que aplicação tanto do extrato aquoso como do extrato metanólico das folhas de coentro e salsa causaram inibição do crescimento exponencial e danos celulares, como o vazamento de materiais celulares (DNA, proteínas e enzimas), em células de *E. coli* e *B. subtilis*. Os autores sugerem que os compostos bioativos podem inibir o crescimento bacteriano reagindo com o DNA e interrompendo a replicação celular. Outra forma de inibição é explicada pela capacidade dos compostos fenólicos para quelar metais e assim reduzir a disponibilidade de metais, ferro e cobre, necessários para o crescimento de bactérias. A capacidade dos extratos de coentro e salsa em reduzir o potencial de oxirredução (Eh) do meio de crescimento, também pode ter contribuido com os efeitos inibitórios do crescimento observados contra *B. Subtilis*, já que bactérias aeróbias requerem um meio de crescimento com potencial de oxirredução (Eh) positivo.

Riel *et al.* (2017) avaliaram o efeito do extrato de salsa liofilizado (30, 60 e 120 ppm NaNO₃) em substituição ao sal de cura (150 ppm de NaNO₂) sobre o crescimento da *L. monocytogenes*, após a inoculação de 0,1 mL deste microrganismo (4,6 × 10² UFC / g) em fatias de mortadelas para verificar o comportamento durante o armazenamento. Os autores observaram que aos 28 dias, tempo final de armazenamento, a formulação adicionada com sal de cura não apresentou diferença significativa do número de células de *L. monocytogenes* comparada as formulações com concentrações de 30 e 60 ppm de nitrato no extrato de salsa. Já a formulação adicionada com 120 ppm de NaNO₃, apresentou o menor crescimento bacteriano (p<0,05) quando comparada a formulação adicionada com sal de cura (150 ppm de NaNO₂) e as formulações com concentrações de 30 e 60 ppm de nitrato no extrato de salsa. Apesar dos menores valores residuais de nitrito na formulação com extrato de salsa, os autores sugerem que os compostos fenólicos podem ter inibido o crescimento de *L. monocytogenes* comparando a formulação com 120 ppm de nitrato e com 150 ppm de sal de cura.

Os estudos de Djeri e Williams (2014) e Horsch *et al.* (2014) observaram que a utilização do aipo como fonte de nitrato também apresentou atividade antimicrobiana contra *L. monocytogenes* similar ao uso do nitrito de sódio sintético.

Garrote *et al.* (2004) revisaram a atividade antimicrobiana de compostos fenólicos naturais com atividade antioxidante, como ácido cafeico, ácido p-cumarico, ácido clorogênico e ácido ferúlico. Os compostos fenólicos parecem afetar a permeabilidade da membrana, diminuindo o transporte de elétrons e a absorção de nutrientes, e possivelmente

interferindo na síntese metabólica de macromoléculas e ácidos nucléicos em células bacterianas, além de inibir o crescimento dos esporos.

Assim os extratos de coentro nas concentrações usadas no estudo não exibiram efeito inibitório sobre os microrganismos testados. Portanto, sugere-se que sejam testadas concentrações mais elevadas do extrato de coentro, como também avaliar a extração utilizando outros solventes, uma vez que a presença de diferentes compostos fenólicos depende da afinidade com o solvente utilizado para obtenção do extrato.

4.3 Composição centesimal das formulações

A Tabela 4 apresenta os resultados (média ± desvio padrão) referentes à composição centesimal das formulações de linguiça suína cozida. Os valores de umidade variaram entre 62,24 a 64,67%, proteínas entre 18,71 a 19,03%, lipídios entre 13,98 a 15,05% e as cinzas entre 2,62 a 3,16%. De acordo com a análise estatística, os valores de proteína, lipídios e carboidratos não diferiram (p>0,05) entre as amostras. Este resultado era esperado, uma vez que nos tratamentos não foi alterado nenhum macro componente que pudesse influenciar a composição centesimal das formulações elaboradas.

Tabela 4 – Composição centesimal das diferentes formulações de linguiça suína cozida (n=3)

	F1	F2	F3	F4
Umidade (%)	63,23±0,38 b	64,67±0,06 a	62,42±0,60 bc	62,24±0,51 c
Proteína (%)	18,96±0,24 a	18,71±0,18 a	18,82±0,12 a	19,03±0,13 a
Lipídios (%)	13,98±1,08 a	13,98±0,16 a	14,89±0,51 a	15,05±0,33 a
Carboidratos (%)	0,76±0,69 a	0,03±0,35 a	$0,74\pm0,64$ a	0,53±0,40 a
Cinzas (%)	3,05±0,01 b	2,62±0,05 c	3,13±0,03 ab	3,16±0,03 a

Fonte: Próprio autor (2019).

Quanto aos valores de umidade e cinzas, houve diferença significativa (p<0,05) entre as formulações (Tabela 4). A diferença nos teores de umidade e cinzas da formulação F2

^{*} médias com letras diferentes na mesma linha diferem significativamente pelo Teste de Tukey (p< 0,05)

F1: Formulação controle

F2: Formulação padrão adicionada de sal de cura, com 150 ppm de NaNO₂

F3 = Formulação adicionada de coentro liofilizada com 3,37 ppm de Nitrato + cultura starter (Bactoferm S-B-61),

F4 = Formulação adicionada de coentro liofilizada com 6,84 ppm de Nitrato + cultura starter (Bactoferm S-B-61).

é resultante da menor quantidade adicionada de cloreto de sódio nesta formulação. Houve um ajuste na quantidade desse ingrediente para compensar a quantidade presente no sal de cura.

As formulações (F₁, F₂, F₃ e F₄) apresentaram composição de lipídios e proteínas de acordo com o Padrão de Identidade e Qualidade para linguiças cozidas (BRASIL, 2000), que estabelece o valor máximo de 35% para gordura e valor mínimo de 14% para proteínas.

O mesmo Regulamento preconiza para linguiça cozida, o máximo de 60% em umidade. Entretanto, verificou-se teores superiores (62,24 a 64,67%) aos estabelecidos no Regulamento, apesar da quantidade de água adicionada as formulações atenderem ao máximo de 10% permitido para embutidos submetidos ao cozimento, segundo o Art. 376 do Decreto nº 30.691 de março de 1952.

4.4 Análises da estabilidade das linguiças

Os resultados da caracterização físico-química das formulações (composição centesimal) e avaliação da estabilidade físico-química das formulações (pH, Aw, TBARs, Nitrato, Nitrito e Cor) estão apresentados nas seções 4.4.1 à 4.4.4.

4.4.1 Análise de pH e Aw

O potencial Hidrogeniônico (pH) é um parâmetro analítico utilizado como ferramenta de avaliação da qualidade da matéria prima, uma vez que o processo de deterioração altera a composição de íons de hidrogênio do produto. O pH também influencia as propriedades funcionais, qualidade sensorial, assim como o crescimento e desenvolvimento de microrganismos na carne (TERRA; FREITAS; CICHOSKI, 2007). Logo assim, a determinação do pH foi realizada para avaliar o comportamento das formulações de linguiça suína armazenadas por 30 dias sob refrigeração à 4 °C, conforme resultados apresentados na Tabela 5.

Tabela 5 – Valores (média ± desvio padrão) de pH das diferentes formulações de linguie	ça
suína cozida e estocada por 30 dias sob refrigeração (4 °C) (n=3)	

Tratamentos	Tempo (dias)			
Tratamentos	0	15	30	
F1	6,09±0,01 abB	6,10±0,01 aB	6,20±0,03 aA	
F2	6,15±0,01 aA	6,11±0,01 aA	6,09±0,05 bA	
F3	6,04±0,01 bcA	5,87±0,00 bB	5,98±0,02 cA	
F4	6,02±0,01 cA	5,84±0,01 bB	5,83±0,04 dB	

Fonte: Próprio autor (2019).

O comportamento das amostras em relação aos valores de pH diferiu (p<0,05) conforme os tratamentos aplicados e os tempos de armazenamento.

A utilização do extrato de coentro nas formulações F3 e F4 diminuiu os valores de pH quando comparados aos da formulação F2 em todos os tempos analisados. Além disso, aos 15 e 30 dias de estocagem, F3 e F4 também apresentaram menor valor de pH que F1, enquanto que no dia 0 apenas F4 foi menor. Os baixos valores de pH dos extratos podem ter influenciado nos resultados encontrados das formulações F3 e F4.

Em relação ao tempo de estocagem, o pH da F1 apresentou comportamento ascendente entre o dia 0 e 30 de estocagem, enquanto o pH da F4 reduziu ao se considerar o mesmo período. Para as formulações F2 e F3, não houve diferença significativa (p>0,05) para o valor de pH entre o início (0 dias) e o fim (30 dias) do armazenamento.

A utilização de extratos etanólicos das folhas de *curry* e aquoso de hortelã em carne suína moída conservada sob refrigeração a 4 °C também resultou em menor elevação dos valores de pH durante o armazenamento comparada a formulação controle. A carne suína apresentou valores de pH $(6,03 \pm 0,03; 6,05 \pm 0,03; 6,04 \pm 0,02)$ no início do armazenamento e $(6,52 \pm 0,02; 6,29 \pm 0,04; 6,35 \pm 0,01)$ aos 12 dias nas formulações controle e adicionadas de extrato etanólico das folhas de *curry* e aquoso das folhas de hortelã, respectivamente. Possivelmente, a presença de ingredientes antimicrobianos em extratos naturais exerce efeito inibitório do crescimento e reprodução de microrganismos deteriorantes que metabolizam compostos nitrogenados básicos (BISWAS; CHATLI; SAHOO, 2012).

^{*} médias com letras minúsculas diferentes na mesma coluna diferem significativamente pelo Teste de Tukey (p< 0.05)

^{**} médias com letras maiúsculas diferentes na mesma linha diferem significativamente pelo Teste de Tukey (p< 0,05)

F1: Formulação controle

F2: Formulação padrão adicionada de sal de cura, com 150 ppm de NaNO₂

F3: Formulação adicionada de coentro liofilizada com 3,37 ppm de Nitrato + cultura starter (Bactoferm S-B-61),

F4: Formulação adicionada de coentro liofilizada com 6,84 ppm de Nitrato + cultura starter (Bactoferm S-B-61).

Riel *et al.* (2017) também verificaram resultados similares em mortadelas, nas quais se substituiu o sal de cura por extrato de salsa liofilizado nas concentrações de 30, 60 e 120 ppm de nitrato, o que resultou em menores valores de pH nas formulações com adição de extrato de salsa (6,10; 6,08; 6,12) quando comparadas as formulações contendo sal de cura (6,29). Os autores inferem que os menores valores de pH encontrados nos tratamentos com adição de extrato de salsa podem ser resultantes de produtos metabólicos sintetizados pela cultura *starter* (*S. Carnosus*) utilizada, a qual também foi utilizada em nosso estudo nas mesmas condições de incubação (40 °C) por 90 minutos, temperatura ótima de crescimento do microrganismo.

Em outro estudo, a aplicação do extrato de espinafre pré-fermentado na salmoura de lombo suíno também resultou em diminuição do pH nas amostras tratadas com extratos vegetais no processo de cura. Além disso, houve um decréscimo significativo do pH com o aumento da concentração do extrato de espinafre na formulação do produto (KIM *et al.* 2017). A adição de extratos naturais pré-fermentados (espinafre, alface, aipo, beterraba) também promoveu diminuições significativas do pH em salsichas segundo Hwang *et al.* (2018).

Com base nos resultados obtidos foi possível inferir que a substituição do sal de cura por extratos vegetais e cultura *starter* em formulações de produtos cárneos influenciaram na diminuição do pH final do produto.

Analisando a Tabela 6, observou-se que o comportamento das amostras em relação aos valores de Aw diferiu significativamente (p<0,05) conforme os tratamentos aplicados. A formulação (F2) apresentou os maiores valores de Aw em todos os tempos de análise.

Tabela 6 – Valores (média ± desvio padrão) de Aw das diferentes formulações de linguiça suína cozida e estocada por 30 dias sob refrigeração (4 °C) (n=3)

Tratamentos	Tempo (dias)			
Tratamentos	0	15	30	
F1	0,9658±0,00 bB	0,9528±0,00 bC	0,9767±0,00 bA	
F2	$0,9717\pm0,00~aB$	0,9534±0,00 aC	$0,9835\pm0,00~aA$	
F3	$0,9668\pm0,00~{\rm bB}$	0,9491±0,00 bC	0,9782±0,00 bA	
F4	$0,9653\pm0,00~{\rm bB}$	0,9517±0,00 bC	0,9794±0,00 bA	

Fonte: Próprio autor (2019).

Em relação ao tempo, o valor de atividade de água das quatro formulações aumentou com o tempo de armazenamento, desta forma o resultado da Aw observada aos 30 dias foi maior que as observadas no período inicial e aos 15 dias. A diminuição da Aw durante os 15 dias de estocagem é resultado da evaporação da água superficial das linguiças, no entanto, aos 30 dias houve uma reabsorção da água evaporada que ficou dentro da embalagem, o que ajuda a explicar o resultado observado.

4.4.2 Análise de TBARS

Outro parâmetro importante no controle da estabilidade de produtos cárneos é o monitoramento da oxidação lipídica, uma vez que os compostos resultantes da oxidação, como os radicais, alteram características físicas e sensoriais como a cor e sabor. Por isto, a oxidação lipídica é apontada como fator relevante de deterioração do alimento. Desse modo, tanto o controle das matérias primas utilizadas no processamento como as condições de armazenamento do produto acabado são essenciais para minimizar a deterioração do produto por compostos resultantes da oxidação lipídica prolongando a vida de prateleira.

O teste TBARS é um dos métodos mais amplamente utilizados para medir produtos de oxidação secundária conhecidos como causa de oxidação ranço. Assim, realizouse análises dos teores das substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) das diferentes formulações de linguiça suína cozida durante a estocagem sob refrigeração (Tabela 7).

^{*} médias com letras minúsculas diferentes na mesma coluna diferem significativamente pelo Teste de Tukey (p< 0.05)

^{**} médias com letras maiúsculas diferentes na mesma linha diferem significativamente pelo Teste de Tukey (p< 0,05)

F1: Formulação controle

F2: Formulação padrão adicionada de sal de cura, com 150 ppm de NaNO₂

F3:Formulação adicionada de coentro liofilizada com 3,37ppm de Nitrato + cultura starter (Bactoferm S-B-61),

F4: Formulação adicionada de coentro liofilizada com 6,84ppm de Nitrato + cultura starter (Bactoferm S-B-61).

Tabela 7 – Valores (média ± desvio padrão) de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (mg/Kg) das formulações de linguiça suína cozida e estocada por 30 dias sob refrigeração (4 °C) (n=3)

Tratamentos	Tempo (dias)		
Tratamentos	0	15	30
F1	0,89±0,03 aB	2,87±0,02 aA	2,83±0,02 aA
F2	0,35±0,02 dB	0,51±0,0 dA	0,19±0,01 dC
F3	0,49±0,02 cC	$0,79\pm0,02~{\rm bB}$	1,06±0,01 bA
F4	0,57±0,05 bC	0,70±0,01 cB	0,92±0,0 cA

Fonte: Próprio autor (2019).

O comportamento das amostras em relação aos teores de TBARS diferiu significativamente conforme os tratamentos aplicados e os tempos de armazenamento.

Em relação aos tratamentos, a formulação adicionada de sal de cura (F2) foi a que apresentou os menores valores de TBARS em todos os tempos de análise. A eficiência do nitrito de sódio em minimizar a formação de compostos responsáveis pela rancidez oxidativa é bem reconhecida e apontada em vários estudos, tanto que maiores valores residuais de nitrito, em formulações adicionadas de sal de cura ou de extrato vegetais, resultaram em menor valor de TBARS do produto (KRAUSE et al., 2011). O possível mecanismo de explicação para a ação antioxidante do nitrito de sódio é a facilidade da molécula de óxido nítrico (NO) em se oxidar a dióxido de nitrogênio (NO₂) na presença de oxigênio, e com isso, minimizar a formação de radicais livres (HONIKEL, 2008). Segundo Hwang et al. (2018) os maiores valores residuais de nitrito presente nos extratos de espinafre FS (491,68 ppm) e alface FL (220,09 ppm) influenciaram positivamente a estabilidade oxidativa das amostras de salsichas suínas cozidas que apresentaram menores valores de TBARS, comportamento similar ao da presente pesquisa, uma vez que a formulação F2 foi a única que apresentou nitrito residual acima do limite detectável aos 0 e 30 dias e consequentemente maior controle da oxidação lipídica.

Apesar das formulações adicionadas de extrato de coentro (F3, F4) não terem sido as mais eficientes no controle da oxidação lipídica, o uso do extrato mostrou ter algum efeito

^{*} médias com letras minúsculas diferentes na mesma coluna diferem significativamente pelo Teste de Tukey (p< 0.05)

^{**} médias com letras maiúsculas diferentes na mesma linha diferem significativamente pelo Teste de Tukey (p< 0.05)

F1: Formulação controle

F2: Formulação padrão adicionada de sal de cura, com 150 ppm de NaNO₂

F3: Formulação adicionada de coentro liofilizada com 3,37 ppm de Nitrato + cultura starter (Bactoferm S-B-61),

F4: Formulação adicionada de coentro liofilizada com 6,84 ppm de Nitrato + cultura starter (Bactoferm S-B-61).

já que as formulações F3 e F4 apresentaram níveis mais baixos de TBARS quando comparados à formulação controle (F1) nos três tempos de armazenamento avaliados (Tabela 7). Outro ponto observado foi que quanto mais elevada à concentração do extrato (F4) maior a eficiência no controle da oxidação aos 15 e 30 dias de armazenamento. Conforme Melo *et al.* (2003), o extrato aquoso da folha de coentro apresenta atividade antioxidante devido ao conteúdo fenólico presente no extrato. Os autores relataram a presença de 2734 mg.100⁻¹ g de fenólicos totais no extrato aquoso das folhas de coentro, a análise de cromatografia revelou a presença dos ácidos fenólicos, ácido caféico (4,34 μg.mL⁻¹), ácido protocatequínico (6,43 μg.mL⁻¹) e glicitina (3,27 μg.mL⁻¹). Portanto, infere-se que a menor formação de TBARS verificada nos tratamentos adicionados de extrato de coentro comparada a formulação controle (F1) no presente estudo pode ser atribuída à atividade antioxidante de componentes fenólicos presente no extrato, e por isso, os resultados obtidos reforçam o potencial de utilização do extrato de coentro como agente antioxidante na elaboração de produtos cárneos.

Em relação aos tempos de armazenamento, observou-se que o controle da oxidação foi mais efetivo na formulação F2. O valor de TBARS para essa formulação foi significativamente menor aos 30 dias e manteve-se abaixo de 0,51 mg.kg⁻¹. Apesar do aumento dos valores TBARS para as formulações adicionadas do extrato de coentro, esses valores mantiveram-se abaixo da formulação controle (F1) a qual atingiu valores de 2,83 mg.kg⁻¹ no período final de armazenamento. Todas as formulações foram adicionadas de 20% de toucinho, que apresenta em sua constituição lipídios mono e poli-insaturados que são susceptíveis à oxidação. Por isso, durante a estocagem era esperado o aumento dos valores de TBARS. No entanto, a adição de componentes com atividade antioxidante nas formulações (F2, F3 e F4) que atuam no controle da oxidação favoreceram os menores valores nos resultados da análise de TBARS durante todo o tempo de estocagem.

Os compostos fenólicos, presentes nos extratos vegetais, são metabólitos vegetais secundários que apresentam ação antioxidante e podem fornecer aos processadores de carne a possibilidade para desenvolver novos produtos. Considerando a bioatividade e a sua presença em uma ampla variedade de vegetais, os extratos vegetais apresentam uma diversificada aplicabilidade no processamento de produtos cárneos (SHAH; BOSCO; MIR, 2014)

Jayawardana *et al.* (2011) verificaram que o efeito da aplicação de 0,2% do extrato de feijão azuki sobre a diminuição dos valores de TBARS em salsichas suínas cozidas não curadas foi similar a adição do antioxidante sintético hidroxitolueno butilado (BHT) durante a estocagem a 37 °C. Além disso, a aplicação do extrato de feijão azuki nas formulações de salsichas suínas cozidas curadas, adicionadas de nitrito de sódio, resultou em

maior controle da oxidação comparada à formulação adicionada apenas com o nitrito de sódio.

Sebranek et al. (2005) avaliaram o efeito da aplicação de diferentes concentrações do extrato de alecrim comercial (FORTIUMTM R20, Kemin Americas, Inc., Des Moines, IA) sobre os valores de TBARS em linguiças suína frescal e cozidas armazenadas sob refrigeração e/ou congelamento. Em condições de armazenamento sob congelamento, a aplicação do extrato de alecrim nas concentrações de 1500 e 2500 ppm resultou em valores de TBARS significativamente menores (p < 0,001) aos valores encontrados nas linguiças frescais adicionadas dos antioxidantes sintéticos hidroxitolueno butilado (BHT) e hidroxianisol butilado (BHA) após 42 e 28 dias de estocagem, respectivamente. O extrato de alecrim manteve os valores de TBARS abaixo de 1,5 mg.kg⁻¹ durante os 112 dias de estocagem, enquanto que nas linguiças adicionadas de antioxidantes sintéticos hidroxitolueno butilado (BHT) e hidroxianisol butilado (BHA) os valores de TBARS excederam a 2 mg.kg⁻¹ aos 42 dias de estocagem. No entanto, a aplicação do extrato de alecrim nas concentrações de 1500 e 2500 ppm em linguiças suínas cozidas resultou em valores de TBARS similares (p> 0,05) aos valores encontrados nas linguiças cozidas adicionadas dos antioxidantes sintéticos hidroxitolueno butilado (BHT) e hidroxianisol butilado (BHA), em condições de congelamento. Em condições de refrigeração, as concentrações de 2500 e 3000 ppm do extrato de alecrim resultou em valores de TBARS similares (p > 0,05) nas linguiças cozidas adicionadas dos antioxidantes sintéticos.

A adição de extratos etanólicos das folhas de *curry* e aquoso de hortelã em carne suína moída conservada sob refrigeração a 4 °C resultou em maior controle oxidativo durante a estocagem comparando-se com a formulação controle. Além disso, o extrato etanólico das folhas de *curry* apresentou menores valores de TBARS que a adição do nitrito de sódio. A carne suína apresentou valores de TBARS $(0,548 \pm 0,03; 0,424 \pm 0,01; 0,449 \pm 0,01; 0,487 \pm 0,02)$ no início do armazenamento e $(1,417 \pm 0,01; 1,167 \pm 0,01, 0,961 \pm 0,03; 1,32 \pm 0,02)$ aos 12 dias nas formulações controle e adicionadas de nitrito de sódio, extrato etanólico das folhas de *curry* e aquoso das folhas hortelã, respectivamente (BISWAS; CHATLI; SAHOO, 2012).

Turgut, Soyer e Işikçi (2016) reportaram o efeito do uso do extrato aquoso liofilizado da casca de romã sobre a oxidação lipídica em almôndegas refrigeradas, através das análises de TBARS e dos valores de peróxido, e da oxidação de proteínas, através da determinação dos valores de carbonilas e grupos sulfidrilas. Quanto à oxidação lipídica, os autores verificaram que o aumento dos valores de TBARS nas almôndegas ao final do

armazenamento foi significativamente menor nas amostras tratadas com extrato da casca de romã em concentrações de 0,5 e 1% e nas amostras adicionada do antioxidante BHT comparadas a formulação controle. Ao final do armazenamento, as almôndegas apresentaram valores de TBARS de 1,19, 0,71, 0,60 e 0,56 mg.kg⁻¹ nas amostras controle, adicionadas de 0,5% do extrato da casca de romã, BHT e 1% do extrato da casca de romã. Para os valores de peróxidos, a formulação controle apresentou o pico da formação de peróxidos aos dois de estocagem enquanto as formulações adicionadas com BHT ou com extrato da casca de romã o pico da formação de peróxidos foi aos seis dias de estocagem sob refrigeração.

Somando-se ao que foi dito, a utilização de cultura *starter* no processamento de cura natural é apontada por contribuir com a proteção antioxidante, uma vez o *S. Carnosus* poderá sintetizar a enzima catalase, a qual apresenta importante atividade antioxidante, e assim minimizar a oxidação nesses produtos (KRAUSE *et al.*, 2011).

4.4.3 Análise de nitrato e nitrito

Para essa análise, foram avaliadas as quatro formulações (F1, F2, F3 e F4) durante o período de estocagem, onde os valores médios de nitrato foram expressos em ppm de amostra. Os sais de nitrato e nitrito adicionados aos produtos cárneos são responsáveis por características sensoriais e físicas específicas de produtos curados tais como cor, sabor, atividade antioxidante e antimicrobiana.

Os valores de nitrato residual das linguiças suínas cozidas e armazenadas sob refrigeração estão apresentados na Tabela 8.

Tabela 8 – Valores (média ± desvio padrão) de nitrato (ppm) das formulações de linguiça	l
suína cozida e estocada por 30 dias refrigeração (4 °C) (n= 3)	

Tratamentos	-	Tempo (dias)	
Tratamentos	0	15	30
F1	105,67±7,64 aA	70,33±12,66 aB	43,00±9,85 bC
F2	156,67±37,07 aA	93,00±5,20 aB	43,00±5,20 bB
F3	104,00±8,66 aA	84,67±9,50 aAB	76,67±12,58 aB
F4	118,33±19,50aA	99,33±21,22 aA	41,00±0,00 bB

Fonte: Próprio autor (2019).

Analisando os dados da Tabela 8, observou-se que não houve diferença significativa (p>0,05) para os valores de nitrato residual entre os tratamentos aos 0 e 15 dias. No entanto, aos 30 dias a formulação F3 apresentou valor residual significativamente (p<0,05) maior que as formulações F1, F2 e F4.

As quantidades de nitrato presentes nos extratos de coentro adicionadas as formulações F3 e F4 eram de 3,37 e 6,84 ppm, respectivamente. Por serem concentrações muito baixas, não implicaram em diferenças significativas (p>0,05) quando comparadas a formulação controle, a qual não houve adição do sal de cura nem do extrato de coentro. Possivelmente, os valores de nitrato encontrados são resultantes da adição de água ou dos condimentos utilizados na formulação. Honikel (2008) relata que quantidades residuais de nitrato em produtos cárneos sem a adição direta de nitrato ou nitrito podem ser derivadas da adição de água ou especiarias na formulação.

Em relação ao tempo de estocagem, foi possível notar a diminuição dos teores de nitrato nas formulações F1, F2, F3 e F4 aos 30 dias (Tabela 8). Honikel (2008) relata que a concentração de nitrato e de nitrito residuais decrescem ao longo do período de armazenamento sob refrigeração. A diminuição de ambos é afetada pelo pH do meio e a temperatura de cocção e armazenamento a qual o produto é submetido.

Por fim, pode-se afirmar que as quatro formulações (F1, F2, F3 e F4) se encontram conforme as recomendações da legislação quanto à análise de nitrato residual em todos os tempos (BRASIL, 2019).

^{*} médias com letras minúsculas diferentes na mesma coluna diferem significativamente pelo Teste de Tukey (p< 0.05)

^{**} médias com letras maiúsculas diferentes na mesma linha diferem significativamente pelo Teste de Tukey (p< 0,05)

F1: Formulação controle

F2: Formulação padrão adicionada de sal de cura, com 150 ppm de NaNO₂

F3: Formulação adicionada de coentro liofilizada com 3,37 ppm de Nitrato + cultura starter (Bactoferm S-B-61),

F4: Formulação adicionada de coentro liofilizada com 6,84 ppm de Nitrato + cultura starter (Bactoferm S-B-61).

Quanto ao teor residual de nitrito de sódio das formulações, em relação aos tratamentos, o nitrito residual foi detectado apenas na formulação F₂ apresentando concentração de 55,49 ppm no tempo inicial (0 dias) e 40,47 ppm aos 30 dias (dados não apresentados). Nos demais tratamentos, controle (F1) e formulações adicionadas do extrato de coentro (F3 e F4), os níveis de nitrito ficaram abaixo do limite detectável pelo método utilizado (< 5mg.kg⁻¹) em todos os tempos de análise (dados não apresentados). Por isso, não foi realizada análise estatística nesses dados. Esses resultados eram esperados já que as quantidades iniciais de nitrato e nitrito presentes no extrato de coentro eram baixas.

No caso do presente estudo, há vários fatores que devem ser considerados quanto a baixa concentração do nitrito residual, como a eficiência de conversão do nitrato pela cultura *starter* e as características físico-químicas do produto. Quanto à conversão do nitrato, o processamento térmico foi realizado à 40 °C, temperatura ótima de crescimento do *S. Carnosus*, para favorecer a ativação e conversão do nitrato, como também foram avaliadas duas concentrações do extrato de coentro sobre essa conversão, que segundo Casaburi *et al.* (2005), a enzima nitrato redutase é sintetizada de forma mais significativa na presença de teores mais elevados de nitrato, assim aumentando a taxa de redução de nitrato a nitrito. Desta forma, infere-se que apesar das condições favoráveis de processamento a taxa de conversão de nitrato a nitrito foi baixa, resultando em concentrações abaixo do mínimo detectável, uma vez que, as quantidades iniciais de nitrato e nitrito presentes no extrato de coentro eram baixas.

Além disso, segundo Shahidi, Samaranayaka e Pegg (2014), o trióxido de dinitrogênio (N₂O₃) é a principal espécie reativa em carnes curadas, com o pH entre (5,5-6,5), que na presença de agentes redutores forma o óxido nítrico. Possivelmente, os valores de pH das formulações F3 e F4 podem ter favorecido a formação do NO a partir da redução do nitrato pela cultura *starter*, e isso também tenha contribuído para as concentrações residuais ficarem abaixo dos níveis detectáveis.

Riel *et al.* (2017) também não encontraram valores residuais de nitrito em mortadelas quando utilizaram concentrações iniciais de 30 ppm de nitrato contido no extrato de salsa, entretanto, as formulações que foram acrescentadas de 60 e 120 ppm de nitrato na forma de extrato de salsa apresentaram valores residuais de nitrito de 3,40 e 6,82 no tempo inicial, respectivamente.

4.4.4 Análise de cor

O parâmetro cor é um atributo sensorial decisivo na aceitação do produto cárneo curado pelo consumidor. Por isso, é essencial o controle dos fatores interferentes na formação da cor e da sua estabilidade durante o armazenamento.

Nas Tabelas 9, 10 e 11 são mostrados os valores das coordenadas de cor L*, a* e b*, respectivamente, das formulações de linguiça suína cozida estocadas por 30 dias sob refrigeração.

Com relação ao parâmetro Luminosidade (L*) (Tabela 9), a formulação F4 foi a que apresentou menor valor de L* entre as formulações no período inicial (0 dias), enquanto aos 15 dias e ao final de armazenamento (30 dias) tanto F3 como F4 apresentaram os menores valores de L*. Desse modo, inferiu-se que a presença de pigmentos nos extratos interferiu no resultado, visto que esta coordenada está relacionada com o teor total de pigmentos. O maior conteúdo de pigmentos implica uma absorção mais forte e, consequentemente, menor refletância tornando o produto mais escuro (SALUENÃ *et al.*, 2019). Em relação ao tempo de armazenamento, não houve variação significativa (p>0,05) dos valores de L* para nenhuma das formulações avaliadas.

Tabela 9 – Valores (média ± desvio padrão) de L* das diferentes formulações de linguiça suína cozida e estocada por 30 dias sob refrigeração (4 °C) (n= 3)

Tratamentos	Tempo (dias)			
Tratamentos	0	15	30	
F1	58,71±0,29 abA	61,05±1,84 aA	58,26±2,20 abA	
F2	59,61±0,91 aA	59,38±1,12 abA	61,84±0,33 aA	
F3	58,87±0,74 abA	56,65±0,15 bA	57,35±0,60 bA	
F4	55,26±2,69 bA	55,98±1,69 bA	55,46±1,20 bA	

Fonte: Próprio autor (2019).

Similar aos resultados da presente pesquisa, a utilização de extratos etanólicos das folhas de *curry* e aquoso de hortelã em carne suína moída mantida sob refrigeração a 4 °C

^{*} médias com letras minúsculas diferentes na mesma coluna diferem significativamente pelo Teste de Tukey (p< 0,05)

^{**} médias com letras maiúsculas diferentes na mesma linha diferem significativamente pelo Teste de Tukey (p< 0,05)

F1: Formulação controle

F2: Formulação padrão adicionada de sal de cura, com 150 ppm de NaNO₂

F3: Formulação adicionada de coentro liofilizada com 3,37 ppm de Nitrato + cultura starter (Bactoferm S-B-61),

F4: Formulação adicionada de coentro liofilizada com 6,84 ppm de Nitrato + cultura starter (Bactoferm S-B-61).

resultou em diminuição dos valores de L*. A carne suína apresentou valores de L* $(42,58 \pm 0,71; 38,28 \pm 0,64; 36,42 \pm 1,02)$ nas formulações adicionadas de nitrito de sódio, extrato etanólico das folhas de *curry* e aquoso das folhas de hortelã, respectivamente (BISWAS; CHATLI; SAHOO, 2012).

Analisando os valores da Tabela 10, o parâmetro de cor a* (vermelho) diferiu significativamente (p<0,05) entre os tratamentos nos três tempos de armazenamento e que a formulação F2 apresentou maiores valores de a* que as formulações F1, F3 e F4. A presença do nitrito de sódio na formulação F2 justifica os valores encontrados, uma vez que, a cor rosa-avermelhada característica dos produtos curados é resultante das reações entre a mioglobina, pigmento instável natural da carne e o NO derivado do nitrito de sódio. A reação entre o NO e a mioglobina forma o pigmento nitrosomioglobina, que pela ação do calor de cozimento, transforma-se em nitrosohemocromo, de cor rósea, mais estável. Em contrapartida, os menores valores de a* (vermelho) apresentados pelas formulações F3 e F4 indicam que houve uma baixa disponibilidade do NO e, consequentemente, uma menor taxa da reação de formação do pigmento nitrosohemocromo (HONIKEL, 2008; TERNS *et al.*, 2011)

Tabela 10 – Valores (média ± desvio padrão) de a* das formulações de linguiça suína cozida e estocada por 30 dias sob refrigeração (4 °C) (n= 3)

Tratamentos		Tempo (dias)	
Tratamentos	0	15	30
F1	2,85±0,09 bA	1,98±0,56 bA	3,04±0,32 bA
F2	6,14±0,42 aA	5,88±0,66 aA	5,74±0,18 aA
F3	2,71±0,13 bA	2,92±0,09 bA	2,00±0,29 bA
F4	3,36±1,05 bA	1,74±0,35 bB	3,42±0,80 bA

Fonte: Próprio autor (2019).

Hwang *et al.* (2018) também encontraram menores valores de a* em salsichas suínas adicionadas de extratos pré-fermentados de espinafre, alface, beterraba e salsa comparadas a formulação adicionada com nitrito de sódio (150 ppm).

Similar aos resultados da presente pesquisa a utilização de extratos etanólicos das folhas de *curry* e aquoso de hortelã em carne suína moída mantida sob refrigeração a 4 °C

^{*} médias com letras minúsculas diferentes na mesma coluna diferem significativamente pelo Teste de Tukey (p< 0,05)

^{**} médias com letras maiúsculas diferentes na mesma linha diferem significativamente pelo Teste de Tukey (p<0,05)

F1: Formulação controle

F2: Formulação padrão adicionada de sal de cura, com 150 ppm de NaNO₂

F3: Formulação adicionada de coentro liofilizada com 3,37 ppm de Nitrato + cultura starter (Bactoferm S-B-61),

F4: Formulação adicionada de coentro liofilizada com 6,84 ppm de Nitrato + cultura starter (Bactoferm S-B-61).

resultou em diminuição dos valores de a*. A carne suína apresentou valores de a* $(9,42 \pm 0,31; 8,37 \pm 0,26; 7,89 \pm 0,18)$ nas formulações adicionadas de nitrito de sódio, extrato etanólico das folhas de *curry* e aquoso das folhas de hortelã, respectivamente (BISWAS; CHATLI; SAHOO, 2012).

Em relação ao tempo de estocagem, em geral, as formulações apresentaram-se estáveis quanto ao parâmetro a*, visto que os valores não diferiram estatisticamente entre o início (0 dias) e ao final (30 dias) do armazenamento (Tabela 10).

Quanto ao parâmetro de cor b* (Tabela 11), em relação aos tratamentos, aos 0 e 30 dias, a formulação F1 foi a que apresentou maior valor de b*, maior tendência ao amarelo, comparada às formulações F2 e F4. Já aos 15 dias, além da formulação F1, a formulação F3 também apresentou maiores valores de b*. Em contrapartida, a formulação F2 apresentou o menor valor de b*, menor tendência ao amarelo, aos 30 dias.

Em relação ao tempo de estocagem, os valores de b* da formulação F1 não variaram com armazenamento (Tabela 11). Levando em consideração o início (0 dias) e o final (30 dias) do período de estocagem, houve uma redução nos valores de b* da formulação F2 e um aumento no caso da formulação F3, enquanto que para F4 não foi observada diferença significativa.

Tabela 11 – Valores (média ± desvio padrão) de b* das diferentes formulações de linguiça suína cozida e estocada por 30 dias sob refrigeração (4 °C) (n=3)

Tratamentos		Tempo (dias)	
Tratamentos	0	15	30
F1	13,16±0,32 aA	12,49±0,54 aA	13,18±0,23 aA
F2	11,33±0,33 bA	11,54±0,30 bA	9,71±0,33 cB
F3	12,02±0,25 abB	13,82±0,87 aA	13,94±0,61 aA
F4	10,85±0,31 bB	12,77±0,65 abA	11,56±0,46 bAB

Fonte: Próprio autor (2019).

A maior tendência ao amarelo pode estar relacionada também com a oxidação de pigmentos presentes na carne e menor formação da cor de carne curada (RIBEIRO *et al.*,

^{*} médias com letras minúsculas diferentes na mesma coluna diferem significativamente pelo Teste de Tukey (p< 0,05)

^{**} médias com letras maiúsculas diferentes na mesma linha diferem significativamente pelo Teste de Tukey (p< 0,05)

F1: Formulação controle

F2: Formulação padrão adicionada de sal de cura, com 150 ppm de NaNO₂

F3: Formulação adicionada de coentro liofilizada com 3,37 ppm de Nitrato + cultura starter (Bactoferm S-B-61),

F4: Formulação adicionada de coentro liofilizada com 6,84 ppm de Nitrato + cultura starter (Bactoferm S-B-61).

2019). Analisando os resultados do presente estudo percebeu-se que as formulações F1 e F3 apresentaram os maiores valores de cromaticidade b*, ou seja, maior tendência ao amarelo. Destarte, podemos inferir que os valores obtidos podem ter sido influenciados pelo maior teor de espécies oxidantes nessas formulações, uma vez que tanto a formulação F1 como a formulação F3 apresentaram os maiores teores de TBARS durante o armazenamento sob refrigeração (Tabela 7). Entretanto, as formulações F2 e F4 que apresentaram menores valores de TBARS também apresentaram os menores valores de cromaticidade b*, ou seja, menor tendência ao amarelo.

Além disso, outro fator que pode interferir nesse parâmetro são os pigmentos contidos nos extratos vegetais, conforme relatado por Krause *et al.* (2011) e Hwang *et al.* (2018). Krause *et al.* (2011) verificaram que a formulação de presunto tratada em salmoura com extrato de aipo em pó mais cultura *starter* redutora apresentou maior tendência ao amarelo que a formulação adicionada de nitrito de sódio nos tempos 0, 28 e 42 dias de armazenamento. Hwang *et al.* (2018) também encontraram maiores valores de b* em salsichas suínas adicionadas de extratos pré-fermentados de espinafre, alface, beterraba e salsa quando comparados a formulação adicionada com 150 ppm nitrito de sódio.

5 CONCLUSÃO

A inclusão do extrato de coentro nas formulações não afetou os teores de lipídios, proteínas e carboidratos das linguiças, no entanto houve um aumento significativo nos teores de cinzas, e redução dos valores de pH. Além disso, exerceu efeito antioxidante minimizando a oxidação lipídica. Entre as formulações adicionadas do extrato de coentro, a maior concentração do extrato mostrou ter maior efeito na estabilidade oxidativa durante a estocagem.

Os teores de nitrato residual apresentaram-se dentro dos padrões normativos, contudo, os níveis de nitrito residual apresentaram-se abaixo do limite mínimo detectável pelo método utilizado (<5mg.kg⁻¹) nas formulações controle e adicionadas do extrato de coentro. A aplicação do coentro também resultou em menor formação da cor de carne curada.

Nas concentrações avaliadas os extratos não foram efetivos em substituição ao nitrito de sódio. Portanto, sugere-se que sejam feitos estudos utilizando maiores concentrações do extrato como também, verificar o efeito da combinação de uso do extrato de coentro com o sal de cura na diminuição dos níveis de nitrito residual em produtos cárneos que assegurem o controle da oxidação, efeito antimicrobiano e de desenvolvimento da cor dos produtos curados.

REFERÊNCIAS

AASLYNG, M. D. *et al.* Content of heterocyclic amines and polycyclic aromatic hydrocarbons in pork, beef and chicken barbecued at home by Danish consumers. **Meat Science**, [s. l.], v. 93, n. 1, p. 85-91, 2013.

ABRAHAM, S. K.; KHANDELWAL, N. Ascorbic acid and dietary polyphenol combinations protect against genotoxic damage induced in mice by endogenous nitrosation. **Mutation Research**: Genetic Toxicology And Environmental Mutagenesis, [s. l.], v. 757, n. 2, p. 167-172, 2013.

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

ALVARES, C. A. *et al.* Ko"ppen's climate classification map for Brazil. **Meteorologische Zeitschrift**, Stuttgartv, v. 22, n. 6, p. 711–728, 2014.

AOAC. Official Methods of Analysis. 18th ed. Gaithersburg: AOAC, 2005.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE PROTEÍNA ANIMAL. **Relatório Anual de Atividades 2017**. [São Paulo]: ABPA, 2018.

BAHADORAN, Z. *et al.* Nitrate and nitrite content of vegetables, fruits, grains, legumes, dairy products, meats and processed meats. **Journal of Food Composition and Analysis**, [s. l.], v. 51, p. 93-105, 2016.

BARBIERI, G. *et al.* Kinetics of nitrite evaluated in a meat product. **Meat Science**, [s. l.], v. 93, n. 2, p. 282-286, 2013.

BARROS, L. *et al.* Phenolic profiles of in vivo and in vitro grown Coriandrum sativum L. **Food Chemistry**, [s. l.], v. 132, n. 2, p. 841-848, 2012.

BEDALE, W.; SINDELAR, J. J.; MILKOWSKI, A. L. Dietary nitrate and nitrite: benefits, risks, and evolving perceptions. **Meat Science**, [s. l.], v. 120, p. 85-92, 2016.

BISWAS, A. K.; CHATLI, M. K.; SAHOO, J. Antioxidant potential of curry (Murraya koenigii L.) and mint (Mentha spicata) leaf extracts and their effect on colour and oxidative stability of raw ground pork meat during refrigeration storage. **Food Chemistry**, [s. l.], v. 133, n. 2, p. 467-472, 2012.

BOADA, L. D.; HENRÍQUEZ-HERNÁNDEZ, L. A.; LUZARDO, O. P. The impact of red and processed meat consumption on cancer and other health outcomes: epidemiological evidences. **Food and Chemical Toxicology**, [s. l.], v. 92, p. 236-244, 2016.

BOUVARD, V. *et al.* Carcinogenicity of consumption of red and processed meat. **The Lancet Oncology**, [s. l.], v. 16, n. 16, p. 1599-1600, 2015.

BRASIL. Câmara dos Deputados. **Decreto nº 30.691, de 29 de março de 1952**. Aprova o novo Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal. Rio de Janeiro: Câmara dos Deputados, 1952. Disponível em:

- https://www2.camara.leg.br/legin/fed/decret/1950-1959/decreto-30691-29-marco-1952-339586-normaatualizada-pe.pdf. Acesso em: 01 mar. 2019.
- BRASIL. **Decreto nº 9.013, de 29 de março de 2017**. Regulamenta a Lei nº 1.283, de 18 de Dezebro de 1950, e a Lei 7.889, de 23 de Novembro 1989 que dispõem sobre a inspeção industrial e sanitária de produtos de origem animal. Brasília, DF: Presidência da República, 2017. Disponível em: http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_Ato2015-2018/2017/Decreto/D9013.htm. Acesso em: 03 mar. 2019.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução da Diretoria Colegiada RDC nº 272, de 14 de março de 2019. Estabelece os aditivos alimentares autorizados para uso em carnes e produtos cárneos. **Diário Oficial da União**: seção 1, Brasília, DF, p. 194, 18 mar. 2019. Disponível em: http://www.in.gov.br/web/guest/materia/-/asset_publisher/Kujrw0TZC2Mb/content/id/67378977/do1-2019-03-18-resolucao-da-diretoria-colegiada-rdc-n-272-de-14-de-marco-de-2019-67378770. Acesso em: 08 ago. 2019.
- BRYAN, N. S. *et al.* Ingested nitrate and nitrite and stomach cancer risk: an updated review. **Food and Chemical Toxicology**, [s. l.], v. 50, n. 10, p. 3646-3665, 2012.
- CASABURI, A. *et al.* Technological activities of Staphylococcus carnosus and Staphylococcus simulans strains isolated from fermented sausages. **Meat Science**, [s. l.], v. 71, n. 4, p. 643-650, dez. 2005.
- CATALDO, D. A. *et al.* Rapid colorimetric determination of nitrate in plant tissue by nitration of salicylic acid. **Communications ins Soil Science and Plant Analysis**, [s. l.], v. 6, n. 1, p. 71-80, 1975.
- CLSI. **Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing**; Twentieth Informational Supplement. Wayne, PA: CLSI, 2010. (MS100-S20, v. 30, n. 1, Replaces M100-S19, v. 29, n. 3).
- DJERI, N.; WILLIAMS, S. K. Celery juice powder used as nitrite substitute in sliced vacuum packaged turkey bologna stored at 4°C for 10 weeks under retail display light. **Journal of Food Quality**. [s. l.], n. 37, p. 361-370, 2014.
- DIVYA, P.; PUTHUSSERI, B.; NEELWARNE, B. Carotenoid content, its stability during drying and the antioxidant activity of commercial coriander (*Coriandrum sativum* L.) varieties. **Food Research International**, [s. l.], v. 45, n. 1, p. 342-350, 2012.
- EL-ZAEDDI, H. *et al.* Preharvest treatments with malic, oxalic, and acetylsalicylic acids affect the phenolic composition and antioxidant capacity of coriander, dill and parsley. **Food Chemistry**, [s. l.], v. 226, p. 179-186, 2017.
- FACCO, E. M. P. Parâmetros de qualidade do charque relacionados ao efeito da suplementação de vitamina E na dieta de bovinos da raça Nelore em confinamento. 2002. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2002.

- GARROTE, G. *et al.* Antioxidant activity of byproducts from the hydrolytic processing of selected lignocellulosic materials. **Trends in Food Science & Technology**, [s. l.], v. 15, n. 3-4, p. 191-200, 2004.
- HONIKEL, K. O The use and control of nitrate and nitrite for the processing of meat products. **Meat Science**, [s. l.], v. 78, n. 1-2, p. 68-76, 2008.
- HORSCH, A. M. *et al.* The effect of pH and nitrite concentration on the antimicrobial impact of celery juice concentrate compared with conventional sodium nitrite on Listeria monocytogenes. **Meat Science**, [s. l.], v. 96, n. 1, p. 400-407, 2014.
- HUNG, Y.; KOK, T. M.; VERBEKE, W. Consumer attitude and purchase intention towards processed meat products with natural compounds and a reduced level of nitrite. **Meat Science**, [s. l.], v. 121, p. 119–126, 2016.
- HWANG, K. *et al.* Effect of natural pre-converted nitrite sources on color development in raw and cooked pork sausage. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, [s. l.], v. 31, n. 8, p. 1358-1365, 2018.
- IARC. **Ingested Nitrate and Nitrite, and Cyanobacterial Peptide Toxins.** Lion: IARC, 2010. (Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans, 94).
- IBGE. **Pesquisa de orçamentos familiares 2008-2009**: antropometria e estado nutricional de crianças, adolescentes e adultos no Brasil. Rio de Janeiro: IBGE, 2010. Disponível em: https://biblioteca.ibge.gov.br/visualizacao/livros/liv45419.pdf. Acesso em: 09 dez. 2017.
- JAYAWARDANA, B. C. *et al.* Utilization of adzuki bean extract as a natural antioxidant in cured and uncured cooked pork sausages. **Meat Science**, [s. 1], v. 89, p. 150-153, 2011.
- JIANG, J.; XIONG, Y. L. Natural antioxidants as food and feed additives to promote health benefits and quality of meat products: a review. **Meat Science**, [s. l.], v. 120, p. 107-117, 2016.
- KIM, E.; COELHO, D.; BLACHIER, F. Review of the association between meat consumption and risk of colorectal cancer. **Nutrition Research**, [s. l.], v. 33, n. 12, p. 983-994, 2013.
- KIM, T. *et al.* Effect of Fermented Spinach as Sources of Pre- Converted Nitrite on Color Development of Cured Pork Loin. **Korean Journal Food Science of animal Resources**, [s. l.], v. 37, n. 1, p. 105-113, 2017.
- KRAUSE, B. L. *et al.* Incubation of curing brines for the production of ready-to-eat, uncured, no-nitrite-or-nitrate-added, ground, cooked and sliced ham. **Meat Science**, [s. l.], v. 89, n. 4, p. 507-513, 2011.
- LA POMÉLIE, D.; SANTÉ-LHOUTELLIER, V.; GATELLIER, P. Mechanisms and kinetics of heme iron nitrosylation in an in vitro gastro-intestinal model. **Food Chemistry**, [s. l.], v. 239, p. 86-93, 2018.

- LA POMÉLIE, D.; SANTÉ-LHOUTELLIER, V.; GATELLIER, P. Mechanisms and kinetics of tryptophan N-nitrosation in a gastro-intestinal model. **Food Chemistry**, [s. l.], v. 218, p. 487-495, 2017.
- MELO, E. A. *et al.* Atividade antioxidante de extratos de coentro (*Coriandrum sativum* L.). **Ciências e Tecnologias de Alimentos**, Campinas, v. 23, supl., p. 195-198, 2003.
- MELO, E. A.; MANCINI FILHO, J.; GUERRA, N. B. Characterization of antioxidant compounds in aqueous coriander extract (Coriandrum sativum L.). **LWT Food Science and Technology**, [s. l.], v. 38, n. 1, p. 15-19, 2005.
- MÜLLER, A. *et al.* Safety assessment of selected Staphylococcus carnosus strains with regard to their application as meat starter culture. **Food Control**, [s. l.], v. 66, p. 93-99, 2016.
- MYERS, K. *et al.* Effects of high hydrostatic pressure and varying concentrations of sodium nitrite from traditional and vegetable-based sources on the growth of Listeria monocytogenes on ready-to-eat (RTE) sliced ham. **Meat Science**, [s. l.], v. 94, n.1, p. 69-76, 2013
- PARTHASARATHY, D. K.; BRYAN, N. S. Sodium nitrite: the "cure" for nitric oxide insufficiency. **Meat Science**, [s. l.], v. 92, n. 3, p. 274-279, 2012.
- PEREIRA, R. C. A.; SANTOS, O. G. Plantas condimentares: cultivo e utilização. **Documentos 161**, Fortaleza, dez. 2013.
- RAHARJO, S.; SOFOS, J. N.; SCHMIDT, G. R. Improved speed, specificity, and limit of determination of an aqueous acid extraction thiobarbituric acid method for measuring lipid peroxidation in beef. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, [s. l.], v. 40, n. 11, p. 2182-2185, 1992.
- RAMKISSOON, J. S. *et al.* Antioxidant and anti-glycation activities correlates with phenolic composition of tropical medicinal herbs. **Asian Pacific Journal of Tropical Medicine**, [s. l.], v. 6, n. 7, p. 561-569, 2013.
- RIBEIRO, J. S. *et al.* Natural antioxidants used in meat products: a brief review. **Meat Science**, [s. l.], v. 148, p. 181-188, 2019.
- RIEL, G. *et al.* Effects of parsley extract powder as an alternative for the direct addition of sodium nitrite in the production of mortadella-type sausages: impact on microbiological, physicochemical and sensory aspects. **Meat Science**, [s. l.], v. 131, p. 166-175, 2017.
- RUFINO, M. S. M. *et al.* Metodologia científica: determinação da atividade antioxidante total de frutas pela captura do radical livre ABTS•⁺. **Comunicado Técnico on line**, Fortaleza, n. 128, julho, 2007. Disponível em:
- http://www.cnpat.embrapa.br/cnpat/down/index.php?pub/Cot_128.pdf. Acesso em: 07 out. 2018.
- SALUEÑA, B. H. *et al.* CIELAB color paths during meat shelf life. **Meat Science**, [s. l.], v. 157, p. 1-8, 2019.

- SEBRANEK, J. G. *et al.* Comparison of a natural rosemary extract and BHA/BHT for relative antioxidant effectiveness in pork sausage. **Meat Science**, [s. l.], v. 69, n. 2, p. 289-296, fev. 2005.
- SHAH, M. A.; BOSCO, S. J. D.; MIR, S. A. Plant extracts as natural antioxidants in meat and meat products. **Meat Science**, [s. l.], v. 98, n. 1, p. 21-33, 2014.
- SHAHAT, M. *et al.* Effect of Plant Powders as Natural Nitrate Source on Reduction of Nitrosamine Compounds in Beef Burgers. **Middle East Journal of Applied Sciences**, [s. l.], v. 6, n. 1, p. 198-206, 2016.
- SHAHIDI, F.; SAMARANAYAKA, A. G. P.; PEGG, R. B. Curing: brine curing of meat. *In:* DIKEMAN, M.; DEVINE, C. (ed.). **Encyclopedia of Meat Sciences**. 2nd ed. Massachusetts: Academic Press, 2014. p. 416-424.
- SHAN, L. C. *et al.* Consumer evaluations of processed meat products reformulated to be healthier: a conjoint analysis study. **Meat Science**, [s. l.], v. 131, p. 82-89, 2017a.
- SHEPHARD, S. E.; SCHLATTER, Ch.; LUTZ, W. K. Assessment of the risk of formation of carcinogenic N nitroso compounds from dietary precursors the stomach. **Food Chemical Toxicology**, [s. l.], v. 25, n. 1, p. 91-108, 1987.
- SUCU, C.; TURP, G. Y. The investigation of the use of beetroot powder in Turkish fermented beef sausage (sucuk) as nitrite alternative. **Meat Science**, [s. l.], v. 140, p. 158-166, 2018.
- SULLIVAN, G. A. *et al.* Survey of naturally and conventionally cured commercial frankfurters, ham, and bacon for physio-chemical characteristics that affect bacterial growth. **Meat Science**, [s. l.], v. 92, n. 4, p. 808-815, 2012.
- TANG, E. L. H. *et al.* Antioxidant activity of *Coriandrum sativum* and protection against DNA damage and cancer cell migration. **BMC Complementary and Alternative Medicine**, [s. l.], v. 13, n. 347, p. 1-13, 2013.
- TAORMINA, P. J. Meat and poultry: Curing of Meat. *In:* BATT, C. A.; TORTORELLO, M. L. **Encyclopedia of Food Microbiology.** 2nd ed. Massachussets: Academic Press, 2014. p. 501-507.
- TERNS, M. J. *et al.* Determining the impact of varying levels of cherry powder and starter culture on quality and sensory attributes of indirectly cured, emulsified cooked sausages. **Meat Science**, [s. l.], v. 88, n. 2, p. 311-318, 2011.
- TERRA, N. N.; FREITAS, R. J. S.; CICHOSK, A. J. Atividade de água, pH, umidade e desenvolvimento de *Staphylococcus xylosus* durante o processamento e armazenamento da paleta suína curada, maturada e fermentada. **Ciências e Tecnologias de Alimentos**, Campinas, v. 27, n. 4, p. 756-760, 2007.
- TURGUT, S. S.; SOYER, A.; IŞIKÇI, F. Effect of pomegranate peel extract on lipid and protein oxidation in beef meatballs during refrigerated storage. **Meat Science**, [s. l.], v. 116, p. 126-132, 2016.

WANG, J. *et al.* Carcinogen metabolism genes, red meat and poultry intake, and colorectal cancer risk. **International Journal of Cancer**, [s. l.], v. 130, n. 8, p. 1898–1907, 2012.

WONG, P. Y.; KITTS, D. D. Studies on the dual antioxidant and antibacterial properties of parsley (Petroselinum crispum) and cilantro (Coriandrum sativum) extracts. **Food Chemistry**, [s. l.], v. 97, n. 3, p. 505-515, 2006.