



LORRANY RAMOS DO CARMO

**CARACTERIZAÇÃO DE PRESUNTOS CRUS DESOSSADOS
ELABORADOS COM GLUCONA DELTA-LACTONA E
QUITOSANA**

**LAVRAS - MG
2022**

LORRANY RAMOS DO CARMO

**CARACTERIZAÇÃO DE PRESUNTOS CRUS DESOSSADOS ELABORADOS COM
GLUCONA DELTA-LACTONA E QUITOSANA**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos para obtenção do título de Mestre.

Orientador
Dr. Eduardo Mendes Ramos

Co-orientador
Dr. Ítalo Abreu Lima

**LAVRAS – MG
2022**

Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema de Geração de Ficha Catalográfica da Biblioteca
Universitária da UFLA, com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).

Carmo, Lorrany Ramos do.

Caracterização de presuntos crus desossados elaborados com
glucona delta-lactona e quitosana / Lorrany Ramos do Carmo. -
2022.

88 p. : il.

Orientador(a): Eduardo Mendes Ramos.

Coorientador(a): Ítalo Abreu Lima.

Dissertação (mestrado acadêmico) - Universidade Federal de
Lavras, 2022.

Bibliografia.

1. antioxidante. 2. nitrito de sódio. 3. clean label. I. Ramos,
Eduardo Mendes. II. Lima, Ítalo Abreu. III. Título.

LORRANY RAMOS DO CARMO

**CARACTERIZAÇÃO DE PRESUNTOS CRUS DESOSSADOS ELABORADOS COM
GLUCONA DELTA-LACTONA E QUITOSANA**

**CHARACTERIZATION OF RAW BONELESS HAMS ELABORATED WITH DELTA-
LACTONE GLUCONE AND CHITOSAN**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos para obtenção do título de Mestre.

APROVADA em 15 de julho de 2022.

Dra. Alcineia de Lemos Souza Ramos
Dr. Ítalo Abreu Lima
Dra. Priscila Cotta Palhares

UFLA
IFBA
IF SUDESTE MG

Dr. Eduardo Mendes Ramos
Orientador (UFLA)

LAVRAS – MG

2022

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus por ter estado ao meu lado me protegendo, guiando e dando forças.

Aos meus pais, Rosa e Alcides, meus maiores incentivadores, pelo amor incondicional, pelos exemplos, e por não medirem esforços para realização dos meus sonhos.

À Universidade Federal de Lavras (UFLA) e ao programa de Pós-graduação de Ciência dos Alimentos (PPGCA) pela oportunidade de formação acadêmica. Ao Departamento de Ciência dos Alimentos (DCA) pela disponibilidade e estrutura para que eu pudesse realizar a pesquisa, e a todos os professores e funcionários do DCA, que de direta ou indiretamente colaboraram para a minha formação.

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001 pela concessão da bolsa de pesquisa. À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG; CVZ APQ 02904-17) pelo auxílio financeiro ao projeto.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Eduardo Mendes Ramos, pela oportunidade de crescimento profissional. Obrigada pelos ensinamentos, amizade, paciência e por acreditar no meu trabalho.

Ao meu coorientador Ítalo Abreu Lima pela disponibilidade, atenção e conhecimentos fornecidos.

À Prof. Dra. Alcinéia de Lemos Souza Ramos pelo acolhimento, por toda dedicação, amizade, disponibilidade em ajudar e participar da banca.

A Prof. Dra. Priscila Cotta Palhares pela gentileza em participar da banca, colaborando e enriquecendo ainda mais o trabalho.

Aos meus colegas de trabalho do Laboratório de Carnes: Márcia, Isadora, Ana Paula, Marcelo, Adelaide, Elídio e Gabriel pelo companheirismo, ajuda nos experimentos e por tornarem os dias mais leves. Em especial, a Lethícia, Bruna e Angélica que foram essenciais

durante a realização do projeto e por todo conhecimento transmitido, ofereço-lhes meu afeto e o mais sincero agradecimento.

Ao Bruno, por todo amor e carinho, por todos os conselhos, pelo apoio emocional nas decisões e pelas incansáveis palavras de motivação.

A minha amiga, Talma, por dividir comigo todos os momentos desde a graduação, pelos conselhos, apoio, carinho e amizade.

Aos meus amigos, Andrea e Vitor, por terem vivenciado e compartilhado essa jornada comigo e, mesmo a distância, participarem desta etapa. A minha afilhada, Manuella, por todo companheirismo. Obrigada pelo carinho e grande amizade.

Aos meus padrinhos, Gleice e Toninho, por vibrarem comigo a cada conquista e por estarem sempre presente.

A todos que de alguma forma participaram deste trabalho, meus eternos agradecimentos.

MUITO OBRIGADA

RESUMO

O presunto cru é um produto salgado e dessecado obtido de pernis íntegros de suínos cujo consumo está aumentando no Brasil. Os conservantes nitrito e nitrato de sódio podem ser adicionados durante o processamento e substâncias naturais vêm sendo buscadas para substituí-los, como a quitosana. O objetivo deste trabalho foi avaliar o uso do acidulante glucona delta-lactona (GDL) e da quitosana na elaboração de presuntos crus desossados, visando à substituição total ou parcial do nitrito de sódio. No primeiro experimento foram avaliados oito tratamentos em esquema fatorial contendo dois níveis de nitrito (75 e 150 mg/kg), dois níveis de GDL (sem e 0,3%) e dois níveis de quitosana (sem e 1,0%). O tempo de secagem (18 dias) não foi afetado ($P > 0,05$) pelos tratamentos, assim como os valores de umidade (48,89%) e atividade de água (0,89) e índices de cor instrumental ($L^* = 38,57$; $C^* = 9,50$; $h = 45,98^\circ$). Os valores de pH foram menores ($P < 0,05$) nos produtos adicionadas de GDL (5,76) e maiores em adicionado de quitosana (6,26). A acidez foi afetada ($P < 0,05$) pelos tratamentos, menores valores foram encontrados em tratamentos com quitosana (1,64% ác. láctico) e maiores com 150 mg/kg de nitrito (2,14% ác. láctico). Os valores de TBARS foram diferentes ($P < 0,05$) entre os tratamentos, e maiores valores foram encontrados nos produtos adicionados de quitosana (1,88 mg MAD/Kg) e menores nos adicionados de 75 mg/kg de nitrito (1,59 mg MAD/Kg). A concentração residual de nitrito reduziu ($P < 0,05$) durante o processo (2 mg/kg) em todos os tratamentos. A adição de quitosana reduziu em até 4 ciclos log a contagem de mesófilos aeróbios e de bactérias lácticas (BAL). Nos produtos fatiados, a quantidade de nitrito não afetou ($P > 0,05$) o valor de TBARS (2,70 mg MAD/Kg), produtos com quitosana e GDL alcançaram maiores valores (2,66 mg MAD/Kg). No segundo experimento foram avaliados seis tratamentos sem nitrito de sódio, em esquema fatorial contendo três níveis de antioxidantes (sem; 550 mg/kg de eritorbato de sódio; 1,0% de quitosana) e dois níveis de GDL (sem e 0,3%). O tempo de secagem (19 dias), umidade (49,29%) e atividade de água (0,89), não foram afetados ($P > 0,05$) pelos tratamentos. O pH dos produtos foram afetados ($P < 0,05$) pela adição dos antioxidantes, sendo maiores nos adicionados de quitosana (6,21) e menores nos contendo GDL (5,9). A acidez final (2,38% ác. láctico) e os valores de TBARS (2,56 mg MAD/Kg) foram afetados ($P < 0,05$) por todos os fatores, tendo os produtos adicionados de quitosana o menor índice (1,78 mg MAD/Kg) e o controle maior (3,73 mg MAD/Kg). A adição de quitosana reduziu em 3 ciclos log a contagem de mesófilos aeróbios e 2 ciclos log a contagem de BAL. Apenas a tonalidade da cor dos produtos foi afetado ($P < 0,05$) pelos tratamentos, com menores valores ($48,03^\circ$) nas formulações contendo GDL e maiores ($60,22^\circ$) no controle. Foi possível a obtenção de presunto cru desossado e reestruturado com adição de 0,3 % GDL e 1% quitosana, independentemente do nível de nitrito de sódio, microbiologicamente estável e com características físico-químicas que atendam a legislação.

Palavras-chaves: Antioxidantes; Nitrito; *Clean label*; Transglutaminase.

ABSTRACT

Raw ham is a salted and desiccated product obtained from intact hams of pigs whose consumption is increasing in Brazil. Preservatives sodium nitrite and nitrate can be added during processing and natural substances are being sought to replace them, such as chitosan. The objective of this work was to evaluate the use of glucono delta-lactone (GDL) acidulant and chitosan in the preparation of boneless raw hams, aiming at the total or partial replacement of sodium nitrite. In the first experiment, eight treatments were evaluated in a factorial scheme containing two levels of nitrite (75 and 150 mg/kg), two levels of GDL (without and 0.3%) and two levels of chitosan (without and 1.0%). The drying time (18 days) was not affected ($P>0.05$) by the treatments, as well as the values of humidity (48.89%) and water activity (0.89) and instrumental color indices ($L^* = 38.57$; $C^* = 9.50$; $h = 45.98^\circ$). The pH values were lower ($P<0.05$) in the products added with GDL (5.76) and higher in the added chitosan (6.26). Acidity was affected ($P<0.05$) by treatments, lower values were found in treatments with chitosan (1.64% lactic acid) and higher with 150 mg/kg of nitrite (2.14% lactic acid). TBARS values were different ($P<0.05$) between treatments, and higher values were found in products added with chitosan (1.88 mg MAD/Kg) and lower in those added with 75 mg/kg of nitrite (1, 59 mg MAD/Kg). The residual concentration of nitrite reduced ($P<0.05$) during the process (2 mg/kg) in all treatments. The addition of chitosan reduced by up to 4 log cycles the count of aerobic mesophiles and lactic acid bacteria (LAB). In sliced products, the amount of nitrite did not affect ($P>0.05$) the value of TBARS (2.70 mg MAD/Kg), products with chitosan and GDL reached higher values (2.66 mg MAD/Kg). In the second experiment, six treatments without sodium nitrite were evaluated, in a factorial scheme containing three levels of antioxidants (without; 550 mg/kg of sodium erythorbate; 1.0% of chitosan) and two levels of GDL (without and 0.3 %). Drying time (19 days), humidity (49.29%) and water activity (0.89) were not affected ($P>0.05$) by the treatments. The pH of the products was affected ($P<0.05$) by the addition of antioxidants, being higher in those containing chitosan (6.21) and lower in those containing GDL (5.9). Final acidity (2.38% lactic acid) and TBARS values (2.56 mg MAD/Kg) were affected ($P<0.05$) by all factors, with chitosan added products having the lowest index (1.78 mg MAD/Kg) and the larger control (3.73 mg MAD/Kg). The addition of chitosan reduced the aerobic mesophilic count by 3 log cycles and the BAL count by 2 log cycles. Only the color tone of the products was affected ($P<0.05$) by the treatments, with lower values (48.03°) in the formulations containing GDL and higher (60.22°) in the control. It was possible to obtain deboned and restructured raw ham with the addition of 0.3% GDL and 1% chitosan, regardless of the level of sodium nitrite, microbiologically stable and with physicochemical characteristics that meet the legislation.

Keywords: Antioxidant; Nitrite; Clean label; Transglutaminase.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Fluxograma geral de produção de presunto cru.....	19
Figura 2 - Estrutura química de N-nitrosaminas.	28
Figura 3 - Mecanismo de ação da Transglutaminase.	33
Figura 4 - Reação de hidrólise da glucona delta-lactona.....	34
Figura 5 - Representação da reação de N-desacetilação da quitina.....	35
Figura 6 - Fluxograma de processamento do presunto cru desossado, curado e dessecado.....	44
Figura 7- Ilustração das etapas de elaboração dos presuntos crus desossados.	46
Figura 8 - Evolução da perda de massa (PM) dos produtos durante a etapa de secagem.	52
Figura 9 - Evolução da perda de massa (PM) dos produtos elaborados sem nitrito de sódio durante a etapa de secagem.....	67

LISTA DE TABELAS

Tabela 1- Exemplo de condições de processamento de presuntos cru Serrano, Ibérico, Parma e Bayonne.	20
Tabela 2 - Formulação para elaboração dos presuntos crus.	45
Tabela 3 - Formulação para elaboração dos presuntos crus não curados.	51
Tabela 4 - Efeitos (média \pm desvio-padrão) da etapa de processo nos valores de umidade, atividade de água (aw) e pH de presuntos crus desossados e curados.	53
Tabela 5 - Efeitos (média \pm desvio-padrão) da adição de glucona delta-lactona (GDL) e quitosana (QUIT) nos valores de pH de presuntos crus desossados e curados.	55
Tabela 6 - Efeitos (média \pm desvio-padrão) da adição de nitrito de sódio (NO ₂), glucona delta-lactona (GDL) e quitosana (QUIT) nos valores de acidez e nitrito residual (NO ₂ R) de presuntos crus desossados durante o processo de elaboração.	56
Tabela 7 - Efeitos (média \pm desvio-padrão) da adição de nitrito de sódio (NO ₂), glucona delta-lactona (GDL) e quitosana (QUIT) nos valores de TBARS (mg MAD/Kg) de presuntos crus desossados durante o processo de elaboração.	57
Tabela 8 - Valores médios (\pm desvio-padrão) da composição centesimal de presuntos crus desossados curados.	59
Tabela 9 - Efeitos (média \pm desvio-padrão) da etapa de processo nos índices de cor da CIE de presuntos crus desossados e curados.	60
Tabela 10 - Efeitos (média \pm desvio-padrão) da adição de nitrito de sódio (NO ₂), glucona delta-lactona (GDL) e quitosana (QUIT) na contagem de bactérias do ácido láctico (BAL) e mesófilos em presuntos crus desossados durante o processo de elaboração.	61
Tabela 11 - Efeitos (média \pm desvio-padrão) da adição de nitrito de sódio (NO ₂) nos valores de TBARS (mg MAD/Kg) de fatias de presuntos crus desossados curados durante o armazenamento refrigerado (4 °C) em embalagem a vácuo.	63
Tabela 12 - Efeitos (média \pm desvio-padrão) da adição de glucona delta-lactona (GDL) e quitosana (QUIT) nos valores de TBARS (mg MAD/Kg) em fatias de presuntos crus desossados curados.	64
Tabela 13 - Valores (média \pm desvio-padrão) dos índices de cor de fatias dos presuntos crus desossados curados.	64

Tabela 14 - Efeitos (média ± desvio-padrão) da adição de nitrito de sódio (NO ₂), glucona delta-lactona (GDL) e quitosana (QUIT) na tonalidade (h, graus) da cor de fatias de presuntos crus desossados curados durante o armazenamento refrigerado (4 °C) em embalagem a vácuo.....	66
Tabela 15 - Efeitos (média ± desvio-padrão) da etapa de processo nos valores de umidade, atividade de água (aw) e pH e acidez de presuntos crus desossados não-curados.	67
Tabela 16 -Efeitos (média ± desvio-padrão) da adição de glucona delta-lactona (GDL) e de antioxidantes nos valores de pH de presuntos crus desossados não-curados.	68
Tabela 17 - Efeitos (média ± desvio-padrão) da adição de glucona delta-lactona (GDL) e de antioxidantes nos valores de acidez (% ác. láctico) de presuntos crus desossados não-curados durante o processo de elaboração.....	69
Tabela 18 - Efeitos (média ± desvio-padrão) da adição de antioxidantes nos valores de TBARS (mg MAD/Kg) de presuntos crus desossados não-curados durante o processo de elaboração.....	70
Tabela 19 - Valores médios (± desvio-padrão) da composição centesimal de presuntos crus desossados não-curados.	71
Tabela 20 - Efeitos (média ± desvio-padrão) da adição de diferentes antioxidantes e glucona delta-lactona (GDL) na contagem de bactérias do ácido láctico (BAL) e mesófilos em presuntos crus desossados não-curados durante o processo de elaboração. (continua)	72
Tabela 21 - Efeitos (média ± desvio-padrão) da adição de diferentes antioxidantes e glucona delta-lactona (GDL) nos índices de cor de presuntos crus desossados não-curados durante o processo de elaboração.	73
Tabela 22 - Efeitos (média ± desvio-padrão) da adição de antioxidantes nos valores de TBARS (mg MAD/Kg) de fatias de presuntos crus desossados não-curados durante o armazenamento refrigerado (4 °C) em embalagem a vácuo.....	74
Tabela 23 - Valores médios (± desvio-padrão) dos índices de cor da CIE em fatias de presuntos crus desossados não-curados.	75
Tabela 24 - Efeitos (média ± desvio-padrão) da adição de antioxidantes e de glucona delta-lactona (GDL) nos valores de luminosidade (L*) de fatias de presuntos crus desossados não-curados.	75

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	14
2 REVISÃO DA LITERATURA.....	16
2.1 Presunto cru.....	16
2.1.1 Etapas de elaboração do presunto cru.....	18
2.1.2 Uso de sais de cura em presuntos crus.....	25
2.2 Processamento acelerado de presunto cru.....	29
2.2.1 Congelamento e descongelamento.....	30
2.2.2 Massageamento.....	30
2.2.3 Tenderização.....	31
2.2.4 Presunto cru desossado.....	31
2.2.5 Glucona delta-lactona.....	33
2.3 Quitosana.....	34
2.3.1 Atividade antimicrobiana.....	37
2.3.2 Atividade antioxidante.....	40
2.3.3 Quitosana como alimento funcional.....	41
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	43
3.1 Experimento 1: Efeito da adição de glucona delta-lactona e quitosana em presunto cru desossado elaborados com diferentes níveis de nitrito de sódio.....	43
3.1.1 Elaboração do presunto cru.....	43
3.1.2 Procedimentos analíticos.....	47
3.1.2.1 Perda de massa.....	47
3.1.2.2 Avaliação do pH e acidez titulável.....	47
3.1.2.3 Determinação da umidade e atividade de água.....	48
3.1.2.4 Oxidação lipídica.....	48
3.1.2.5 Nitrito residual.....	48

3.1.2.6 Composição centesimal	49
3.1.2.7 Cor instrumental	49
3.1.2.8 Análises microbiológicas.....	49
3.1.3 Análises estatísticas	50
3.2 Experimento 2: Efeito da adição de glucona delta-lactona e quitosana em presunto cru desossado não curados.	50
3.2.1 Elaboração dos presuntos crus não curados	50
3.2.2 Procedimentos analíticos	51
3.2.3 Análises estatísticas	51
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	52
4.1 Experimento 1: Efeito da adição de glucona delta-lactona e quitosana em presunto cru desossado elaborados com diferentes níveis de nitrito de sódio.	52
4.1.1 Processamento dos produtos.....	52
4.1.3 Avaliação objetiva da cor	60
4.1.4 Análises microbiológicas	61
4.1.6 Armazenamento do presunto cru fatiado.....	62
4.2 Experimento 2: Efeito da adição de glucona delta-lactona e quitosana em presunto cru desossado não curados.	66
4.2.1 Processamento dos produtos.....	66
4.2.2 Análises microbiológicas.....	71
4.2.3 Avaliação objetiva da cor	72
4.2.5 Efeitos do armazenamento do presunto cru não curado e fatiado	74
5 CONCLUSÕES	76
REFERÊNCIAS	77

1 INTRODUÇÃO

Produtos cárneos curados e dessecados estão entre os alimentos mais tradicionais e representativos que foram produzidos e consumidos ao longo da história, sendo parte importante da economia em vários países. São produtos de maior valor agregado, que possuem ampla variedade de sabores e texturas e cujo consumo tem aumentado no Brasil. Existem distintas tecnologias de fabricação de presuntos crus, no entanto são produtos microbiologicamente seguros devido à sua baixa atividade de água e alto teor de sal, dispensando o uso de baixas temperaturas de armazenamento.

De origem europeia, o presunto cru é elaborado a partir do pernil traseiro íntegro de suínos e sua elaboração se resume, basicamente, nas etapas de salga, pós-salga (repouso) e maturação/secagem. É um produto que necessita de um período de processamento prolongado nas etapas de secagem e maturação, que podem durar até 24 meses, para desenvolver e garantir suas características sensoriais peculiares. Como no Brasil não há uma cultura no consumo destes produtos, o desenvolvimento de aromas e sabores muito específicos não parece constituir um problema mercadológico e, desta forma, a redução do tempo de processamento a partir do uso de pernis desossados é uma alternativa viável para reduzir custos e aumentar a sua disponibilidade e comercialização no país.

No entanto, o uso de peças desossadas implica em uma maior área superficial de contato nos estágios iniciais do processamento, o que pode aumentar o risco de crescimento e ou sobrevivência de patógenos e deterioradores, que são transferidos para o interior do produto durante a fabricação. Uma alternativa para diminuir o risco microbiológico e ao mesmo tempo acelerar a elaboração de presuntos crus desossados é a adição de um acidificante químico, como a glucona delta-lactona (GDL), na sua formulação. A GDL pode estabilizar e acelerar a queda do pH de forma que o produto perca massa mais rápido, ao mesmo tempo que pode desfavorecer o crescimento de microrganismos patogênicos e deterioradores indesejáveis. Além de uma redução substancial dos custos, a elaboração de presuntos crus com peças desossadas facilita a incorporação de ingredientes com propriedades tecnológicas e, ou, funcionais, aumentando a competitividade do produto. Neste sentido, a facilidade na incorporação de ingredientes pode ser uma ferramenta muito importante na substituição e, ou, redução de aditivos como o nitrito, o que constitui um grande desafio, especialmente quanto aos impactos sensoriais e à garantia da segurança microbiológica. Os sais de nitrito e, ou, nitrato são conservantes comumente usados em produtos cárneos,

incluindo alguns presuntos crus, com o intuito de garantir a segurança microbiológica, retardar ou inibir as alterações oxidativas e contribuir com o desenvolvimento e estabilidade da cor curada. No entanto o uso destes conservantes tem sido questionado por estar associados com a formação de compostos tóxicos, mutagênicos, neuro e nefrotóxicos, como N-nitrosaminas. Um substituto em potencial é a quitosana, pela efetividade demonstrada contra microrganismos patogênicos importantes em alimentos, mas também por possuir potencial antioxidante e ser considerada uma fibra alimentar. A quitosana é uma fibra natural de origem animal, extraída do exoesqueleto de crustáceos e com estrutura química semelhante à celulose que, além das propriedades tecnológicas citadas pode atuar como um alimento funcional, atuando como fibra, reduzindo a absorção das gorduras no intestino e promovendo a redução da concentração de colesterol sérico.

Assim, este trabalho teve como objetivo elaborar e caracterizar presuntos crus desossados, analisando os efeitos da adição de GDL e quitosana na qualidade tecnológica e microbiológica dos produtos por meio de análises físicas químicas, químicas e microbiológicas, além de acompanhar a vida útil dos presuntos fatiados e armazenados ao longo de 45 dias.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Presunto cru

O presunto cru é um alimento de origem milenar, com uma ampla gama de referências históricas desde a antiguidade grega, porém pouco precisas. Os gregos tinham grande conhecimento sobre as técnicas de salga e faziam misturas de sais impuros de colorações vermelha e rósea provenientes de diversas regiões. Dentre as alusões gregas sobre o presunto cru, destacam-se as de Aristófanes (445-385 a.C.), onde em sua comédia “Platão” em que o deus Hermes lamenta sobre a comida que não mais recebe nos sacrifícios, antes compostos de presuntos crus; também são encontradas citações em Teopompo (em “La Paz”), Amipsias (em “Connos”) e Platão Cômico (em “Os Grifos” e “Batracomiomaquia”). Encontra-se ainda referências de um médico, Hipócrates, do século V a.C. que recomendava aos enfermos o consumo de presunto cru. Estas referências dariam base o suficiente para justificar que a invenção do presunto cru curado é dos gregos, porém eram os egípcios que dominavam a técnica de salga para preservação da carne, como de carneiros e possivelmente suínos, já que eram considerados domesticados na terceira dinastia, são encontrados diversos textos que relatam a importância destes animais na vida egípcia. No Império Romano, as salgadas estavam no auge e os presuntos eram considerados um manjar, estando presente em todas as reuniões, segundo o poeta satírico Juvenal (BLASCO, 1998).

Uma grande variedade de presuntos crus, com perfis sensoriais particulares, é encontrada—em consequência das diferentes matérias-primas, variações que dependem da genética, tipo de alimentação, criação dos animais; e tecnologias de processamento (COSTA et al, 2007), que variam de acordo com a região em que foram fabricados. São designados de acordo com a região de onde provêm; por exemplo, na Itália, tem o Parma e San Daniele; na Espanha, o Jamón Ibérico ou Serrano; em Portugal, de Lamego, Chaves; França, Bayonne; entre outros.

A Espanha lidera o *ranking* de produção e consumo de presunto cru no mundo, 40 milhões de peças produzidas por ano (TOLDRÁ; ARISTOY, 2010) e um consumo anual de 4,6 kg por pessoa (NALÉRIO; GIONGO, 2017), existindo, basicamente, dois tipos principais de presunto fabricados: o presunto Serrano, sendo a carne provinda de suínos brancos e que não possuem uma dieta especial, apenas ração e cereais, pode ter o tempo de maturação entre 9 a 12 meses, o produto final apresenta baixo teor de gordura, textura firme e sabor variável

dependendo do tempo de maturação; e o presunto Ibérico no qual os suínos são de uma raça indígena, chamada “pata negra”, sendo tipicamente criados em pastagem naturais e alimentados com cereias e *bellota*, alto grau de gordura intramuscular, o produto final possui textura firme e sabor exótico, e o estágio de maturação varia entre 18 a 24 meses.

Os consumidores de presunto cru requerem produtos com alta qualidade e um dos principais fatores que determinam a aceitabilidade e preferência são suas características sensoriais, tais como cor, aroma, gosto e textura (MORALES, 2013). O desenvolvimento dessas características sensoriais específicas envolve diversas modificações físicas, bioquímicas e enzimáticas, além da interação entre os próprios constituintes do produto, como proteínas e lipídeos, bem como entre os compostos resultantes das reações: hidrólise, oxidação, Maillard e Strecker (TOLDRÁ; FLORES, 1998). Essas modificações afetam fortemente o perfil sensorial do presunto cru, que ainda podem diferir significativamente dependendo das propriedades da matéria prima, como o tipo de carne e percentual de gordura, tempo de maturação e da tecnologia de fabricação (COSTA et al, 2007).

No Brasil, a normatização dos presuntos crus é dada pela Instrução Normativa nº 22, de 31 de julho de 2000, do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) (BRASIL, 2000). Segundo esta normativa, o presunto cru é definido como “produto cárneo industrializado obtido do pernil ou do corte do pernil de suínos, adicionado ou não de condimentos, curado ou não, defumado ou não e dessecado, sendo classificado como um produto cru, maturado e dessecado”. Os ingredientes obrigatórios são o pernil ou o corte do pernil e sal, e como ingredientes opcionais, açúcares condimentos, aromas, especiarias, e como aditivo coadjuvante de tecnologia pode ser utilizado culturas iniciadoras (*starters*). Os parâmetros físico-químicos do presunto cru devem seguir os limites de no máximo 0,92 para atividade de água, gordura máxima de 20% e no mínimo 27% para o teor de proteína.

O presunto cru é considerado um produto de umidade intermediária, microbiologicamente seguro devido à sua baixa atividade de água (*aw*) e alto teor de sal. No entanto, pode ser contaminado com patógenos de origem alimentar durante o processamento industrial (por exemplo, desossa) ou como resultado de práticas de higiene inadequadas (PÉREZ-BALTAR et al., 2020). Enquanto a carne fresca tem *aw* acima de 0,99, a *aw* para produtos de carne desidratada é menor, entre 0,92 e 0,80. A *aw* corresponde à disponibilidade de água livre para atividade microbiana, enzimática ou química que determina a vida útil dos alimentos; com a redução da atividade de água, a vida útil e a segurança dos produtos cárneos melhoram (ANDRÉS et al. 2008), sendo o fator de estabilização mais importante para

produtos cárneos de umidade intermediária. Quando a a_w é reduzida a valores abaixo de 0,90 inibe a maioria de bactérias, abaixo de 0,83 apenas microrganismos halofílicos conseguirão sobreviver (JAY, 2005). Além disso, outros processos de conservação, como a cura, associados à redução da a_w permite maior estabilidade do produto, ou seja, teoria dos obstáculos, em que interações entre os vários fatores intrínsecos e extrínsecos que afetam a capacidade de sobrevivência e de multiplicação dos microrganismos, permitindo que o produto seja estável a temperatura ambiente (LEISTNER; GORRIS, 1995).

O consumo de produtos cárneos prontos para o consumo (*ready-to-eat*; RTE) está aumentando devido às mudanças no estilo de vida que exigem conveniência na dieta das pessoas. De acordo com o *Codex Alimentarius*, um produto RTE é “qualquer alimento que é normalmente consumido em seu estado cru ou qualquer alimento manipulado, processado, misturado, cozido ou preparado de outra forma em uma forma que normalmente é consumida sem outras etapas que vise à eliminação do microrganismo *Listeria monocytogenes*” (EFSA, 2008). Constitui, então, um produto que não é necessária preparação adicional para alcançar a segurança alimentar, podendo receber um preparo adicional somente para tornar o produto mais palatável (NIKMARAM et al., 2018).

Dentro do grupo de produtos RTE à base de carne, nos últimos anos, o presunto moldado curado a seco ganhou importância como alternativa ao presunto tradicionalmente cru, onde pedaços relativamente pequenos de carne com um comprimento de 2 a 10 cm podem ser usados como matéria-prima (BENEKE et al., 2011; ISLAM, 2011). Para este fim, tecnologias com ligantes a frio, como a reticulação enzimática usando transglutaminase, podem ser usadas, que proporcionam vantagens econômicas e vantagens no processamento de carnes (BOLES, 2011). No entanto, pela matéria prima possuir uma área de superfície elevada, representando um risco aumentado de crescimento de patógenos de origem alimentar que podem ser transferidos para o presunto durante a fabricação, estudo de Sadeghi-Mehr, Lautenschlaeger, Drusch (2015) mostraram que a combinação dos fatores intrínsecos (pH, a_w e microflora) e extrínsecos (fermentação e condições de secagem) foi suficiente para prevenir o crescimento e proliferação de bactérias de origem alimentar.

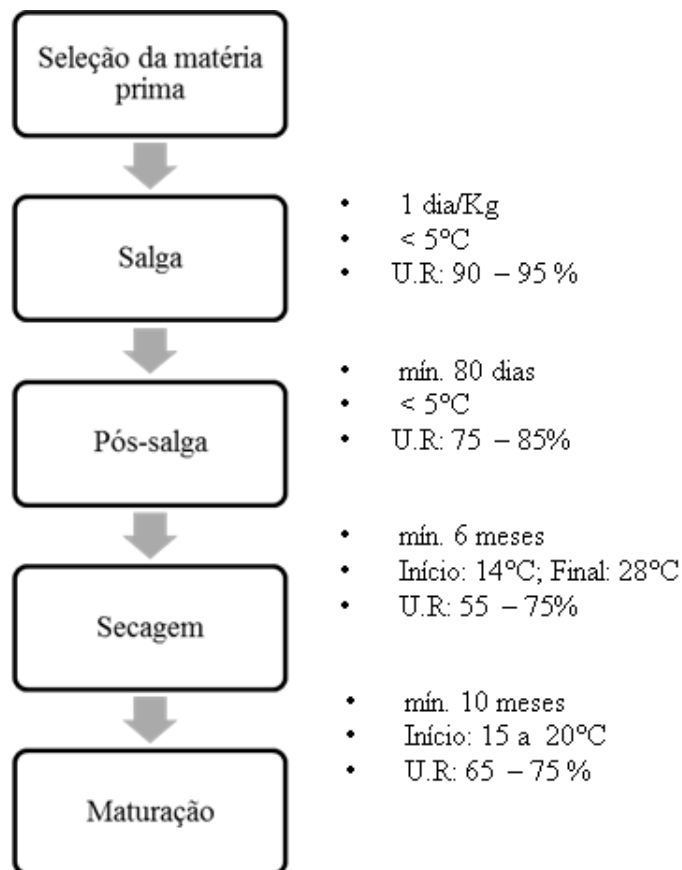
2.1.1 Etapas de elaboração do presunto cru

Nos últimos tempos, a elaboração de produtos curados e dessecados tornou-se, em grande parte, industrial, embora o seu desenvolvimento seja à base de processos tradicionais.

As variações no processo de elaboração tradicional se relacionam, principalmente, à mecanização dos processos e à utilização de secagem com temperatura e umidade relativa controlada, de modo a alcançar larga produção durante todo o ano, com pouca dependência da climatologia, em que a maturação pode ser realizada em qualquer área geográfica (MOLINERO, 2003).

A elaboração de presuntos crus consiste nas etapas de seleção da matéria prima, salga, pós-salga (repouso) e maturação/secagem (Figura 1), mas existem diferentes tecnológicas de elaboração (Tabela 1), geralmente baseados em procedimentos tradicionais, que se diferenciam com relação a variedade do produto e o local de produção.

Figura 1 - Fluxograma geral de produção de presunto cru.



Fonte: Da autora.

Tabela 1- Exemplo de condições de processamento de presuntos cru Serrano, Ibérico, Parma e Bayonne.

Etapa	Serrano	Ibérico	Parma	Bayonne	
Salga	<i>1ª etapa</i>				
	Temperatura (°C)	0-4	0-4	1-4	1-4
	Tempo (dias)	10-12	10-12	5-6	7
	Umidade relativa do ar, UR (%)	75-95	75-95	75-90	85-95
	<i>2ª etapa</i>				
	Temperatura (°C)	-	-	1-4	2-4
	Tempo (dias)	-	-	21	14
	UR (%)	-	-	70-80	80-90
	Pós-salga	Temperatura (°C)	4-6	4-6	1-4
Tempo (dias)		40-60	40-60	14	60-65
UR (%)		70-95	70-95	50-60	65-85
Secagem e Maturação	<i>1ª etapa</i>				
	Temperatura (°C)	6-16	6-16	15-18	20-22
	Tempo (dias)	> 45	>90	180-330	2-4
	UR (%)	70-95	60-80	65-75	75-85
	<i>2ª etapa</i>				
	Temperatura (°C)	16-24	16-26	-	12-15
	Tempo (dias)	> 35	>90	-	180
	UR (%)	70-95	55-85	-	75-80
	<i>3ª etapa</i>				
	Temperatura (°C)	24-34	12-22	-	-
	Tempo (dias)	> 30	> 115	-	-
	UR (%)	70-95	60-90	-	-
	<i>4ª etapa</i>				
Temperatura (°C)	12-20	-	-	-	
Tempo (dias)	> 35	-	-	-	
UR (%)	70-95	-	-	-	
Tempo total (dias)	> 215	> 365	300-455	> 270	

Fonte: Adaptado de Toldrá (2002).

Apesar das diferenças regionais, todas estas etapas de elaboração possuem o objetivo de garantir a estabilidade microbiológica do produto, permitindo seu consumo à temperatura ambiente sem causar danos à saúde dos consumidores (ARNAU, 1998), sendo que os fatores responsáveis pela estabilidade final do presunto cru são: a baixa atividade de água ($a_w \leq 0,9$) e as baixas temperaturas na fase de salga (entre 0 e 4°C). Durante elaboração de presuntos crus, os obstáculos mais importantes para obtenção de produtos estáveis e seguros são a qualidade da matéria prima, a temperatura de salga/cura (a qual deve ser inferior a 5°C) e a

duração do período de cura/salga, já que os sais penetram lentamente na peça, abaixando lentamente a atividade de água e estabilizando o produto (LEISTNER, 1989).

A etapa de produção mais importante para o desenvolvimento das características sensoriais corresponde à etapa de secagem e maturação, onde ocorrem reações químicas e enzimáticas, que formam compostos aromáticos, conferindo ao presunto cru as características sensoriais típicas (PETROVA et. al., 2015). Nas metodologias tradicionais, como presunto Parma e Serrano, o tempo de processo varia entre 12 e 24 meses.

A qualidade do presunto cru pode ser afetada por diversos fatores, principalmente pelo tipo de matérias-primas e as condições de processamento. A matéria-prima consiste exclusivamente de pernil suíno, sendo peças inteiras ou pedaços identificáveis submetidos à adição de sal e outros condimentos e aditivos, que irão conferir as características sensoriais do produto (TOLDRÁ, 2008).

Vários estudos avaliaram o efeito de diversos fatores da matéria prima na qualidade do produto pronto, aspectos *ante mortem* como origem genética (DEL OLMO, 2015), sexo (GOU, GUERRERO, ARNAU, 1995) e dieta (PLAZA et al, 2017), castração (BANON, GIL, GARRIDO, 2003), assim como a qualidade da carne *post mortem* (BOL et al, 2020), conteúdo de água e atividade de água (SERRA et al., 2005), percentual de sal (NaCl) e índice de proteólise (RUIZ-RAMÍREZ et al., 2006). A composição química tem sido relacionada às propriedades sensoriais do presunto curado (RUIZ-CARRASCAL et al., 2000), o pH dos pernis afeta os parâmetros de textura e cor do presunto curado (GARCÍA-REY et al., 2004), e o perfil de ácidos graxos influencia os parâmetros sensoriais (CAVA et al., 2000).

Geralmente opta-se por carne de animais mais novos por apresentarem melhor qualidade devido ao teor de gordura e quantidade de proteínas miofibrilares disponíveis em estado livre, aumentando a capacidade de retenção de água (CRA) e consequentemente aumentando rendimento (ORDOÑEZ et al, 2007), além de ser importante ter pH entre 5,8 e 6,2, evitando-se o uso de carnes do tipo pálida, flácida e exsudativa (PSE; do inglês *pale, soft, and exudative*) e escura, firme e não-exsudativa (DFD; do inglês *dark, firm, and dry*), que contribuirão para a perda da qualidade do produto final (ARNAU, 1993).

A salga possui a finalidade de incorporar sal seco comum à massa muscular objetivando conferir cor, sabor e favorecer a desidratação e a conservação das peças. O tempo de salga dependerá do peso, teor de gordura, conformação da peça e temperatura da câmara de salga, uma vez que a menor temperatura há menos difusão do sal nas pernas. Normalmente

nesta fase as peças costumam permanecer no sal por cerca de um dia por kg de peso, a uma temperatura entre 2-4 °C e uma umidade relativa entre 90- 95%.

A etapa de salga pode ser feita de duas formas: pela salga a seco ou pela salga úmida (por salmoura). A salga a seco é o método mais antigo e tradicional de se conservar a carne, esfregando ou cobrindo o pernil com uma grande quantidade de cloreto de sódio (NaCl) e outros sais opcionais (BINICI; KAYA; 2018). Esta fase pode ser realizada em câmaras de salga, em pilhas ou em recipientes secos. As pernas são esfregadas superficialmente com sais e, em seguida, colocadas uns sobre os outros separadamente e coberto por sal comum. O sal tem diversos papéis na qualidade final do produto: preservação por efeito bacteriostático, inibindo o crescimento de microrganismos indesejáveis; contribuição para seu sabor salgado característico; e aumentar em solubilidade de proteínas miofibrilares.

A etapa de salga é uma etapa longa na produção de presunto cru, devido à alta resistência das membranas celulares à transferência de massa (JANOSITZ; NOACK; KNORR, 2011), estendendo o tempo de processo. O sal, ao penetrar lentamente na peça, reduz de forma lenta a a_w (LEISTNER, 1989), levando a uma estabilidade microbiológica e diminuição da água disponível para as enzimas proteolíticas, que possui como substrato as proteínas miofibrilares constituintes do tecido. Além disso, o sal está envolvido nas funções texturais, devido solubilização das proteínas musculares que levam a formação de gel, além das características sensoriais e CRA da carne (TAORMINA, 2010). A CRA, habilidade da carne de reter sua própria água, é relacionada a habilidade em absorver quantidade extra de água em presença de baixas concentrações de sal. Uma concentração final de 4,6 a 5,8% de sal, faz com que a carne retenha a maior quantidade de água (OFFER; TRINICK, 1983), embora valores mais altos, como 8-9%, possam ser encontrados em certos presuntos. Considera-se a etapa de salga finalizada quando as perdas de peso se situam entre 3 e 7% do peso inicial e a quantidade de água perdida é da ordem dos 7 aos 10% (BIANCHI, 2013).

A maioria dos presuntos crus tradicionais são adicionados dos agentes de cura nitrito e, ou, nitrato de sódio para o desenvolvimento da cor rosa-avermelhada, de aromas típicos, para garantir a segurança microbiológica e possuir função antioxidante, sendo uma etapa de grande importância.

Os presuntos Serranos e Ibéricos são pré-salgados para a adição de nitrito, são nitrificados manualmente ou em tambores rotativos com a mistura de sais de cura, contendo cloreto de sódio com nitrato de potássio a 4%. Em presuntos Bayonne, o sal de cura contém

cloreto de sódio e 0,1% de nitrito de sódio. Em outros casos, como presunto de Parma não há adição de nitrito/nitrato e, portanto, essa etapa é desnecessária (TOLDRÁ, 2002).

Durante o repouso ou pós-salga, lavam-se e escovam-se os pernis para eliminar o excesso de sal superficial. A finalidade desta etapa é a estabilização das peças, permitindo uma difusão homogênea do sal através dos diferentes músculos do pernil. A temperatura deve manter-se abaixo dos 5°C até que a atividade de água em todos os pontos do pernil seja inferior a 0,95, quando se considera o produto microbiologicamente estável (LEISTNER, 1985). Além disso, esta etapa regula os processos de hidrólise bioquímica (lipólise e proteólise) que darão origem ao aroma e sabor característico do produto acabado. Ao mesmo tempo, também há uma eliminação lenta e gradual da água superficial, com a qual as pernas vão adquirindo uma maior consistência externa. Esta fase é realizada em câmaras com uma temperatura que oscila entre 3 e 5 °C e umidade relativa em decréscimo progressivo de 85 a 75%, e com ventilação adequada para garantir a renovação do ar. O tempo de permanência das peças nesta fase deve ser de no mínimo 80 dias.

A secagem e maturação possuem a função de provocar a desidratação dos presuntos até que atinjam uma perda de peso considerável, ao mesmo tempo em que potencializam as características sensoriais do produto por meio das reações enzimáticas que ocorrem nesta etapa. Durante a secagem e maturação, recorre-se ao incremento progressivo de temperatura de uns 14°C iniciais até cerca de 28°C, para favorecer o aumento das concentrações de aminoácidos livres e peptídeos responsáveis pelo desenvolvimento de sabor e aroma, juntamente com os compostos de oxidação dos ácidos graxos que funcionam como substratos para formação de compostos de condensação durante a etapa de maturação (TOLDRÁ, 1998; TOLDRÁ, ARISTOY, 2010). Já a umidade relativa segue um comportamento inverso à temperatura, oscilando entre 55 e 75%.

A duração da secagem difere de acordo com os processos tecnológicos de cada tipo de presunto e região, sendo que o gradiente de temperatura é ajustado em função da duração estipulada do processo. Nesta etapa, a água migra das zonas internas dos pernis para a superfície e, posteriormente, é evaporada na câmara. No entanto, a velocidade de desidratação deve-se ajustar adequadamente de modo a evitar a formação de diferentes defeitos de elaboração, como o ressecamento superficial do presunto quando a velocidade de desidratação é excessivamente rápida (BIANCHI, 2013). No entanto, em geral, tempo de permanência nos secadores deve ser de no mínimo 6 meses, período durante o qual ocorre uma maior atividade de lipólise e proteólise.

Durante a fase de maturação, ocorrem modificações nos lipídeos e proteínas devido a processos químicos, bioquímicos e à atividade da microbiota da carne e da gordura, hidrolisados principalmente por enzimas endógenas, o que resulta em aumento da quantidade de peptídeos, aminoácidos livres e ácidos graxos livres (ZHOU, ZAO, 2007), além das reações de Maillard e degradação de Strecker (TOLDRÁ; FLORES, 1998). Estes fenômenos proteolíticos e lipolíticos que ocorrem nesta fase são muito determinantes para as características sensoriais do produto, pois exercerão forte influência na textura, no aroma e no sabor do produto (MOLINERO, 2003). Nesta última fase, os presuntos são mantidos a uma temperatura entre 15-20 °C e umidade relativa do ar entre 65-75%, permanecendo nesta fase de maturação por pelo menos 10 meses.

Uma vez que as proteínas são os principais constituintes dos músculos da carne suína, a proteólise desempenha um papel importante na qualidade do presunto, pois envolve importantes mudanças durante o processo de maturação, contribuindo para textura, pela quebra da rede de proteínas; para o aroma, por geração de compostos como peptídeos e aminoácidos livres; e indiretamente para o sabor, por geração de compostos, como os aminoácidos livres, que atuam como substrato para reações que contribuem para o sabor do presunto cru (TOLDRÁ; FLORES, 2003). As proteínas são hidrolisadas por proteases musculares endógenas, resultando em grandes peptídeos, que são posteriormente hidrolisados em pequenos peptídeos e aminoácidos livres pelas exopeptidases musculares (TOLDRÁ, 2006). Os aminoácidos livres tem uma contribuição direta para o sabor e são precursores de muitos compostos voláteis (TOLDRÁ; ARISTOY; FLORES, 2000; TOLDRÁ; FLORES, 1998).

A autooxidação acontece muito rapidamente nas primeiras etapas da produção do presunto cru, originando aldeídos de cadeia não ramificada, mas sua velocidade nos últimos estágios da produção pode diminuir muito pelo acúmulo de produtos da Reação de Maillard com fortes propriedades antioxidantes. Quando se produz uma intensa condensação de Maillard, é provável que o nível de compostos carbonílicos voláteis diminua (VARNAM; SUTHERLAND, 1995). As reações de Maillard são uma das principais rotas formação de aroma da carne e produtos cárneos. Consistem em numerosas e complexas reações partindo basicamente da reação em presença de calor de um composto proteico com um açúcar redutor, gerando furanos, furfural, aldeídos, cetonas, dicarbonilas e muitos outros compostos que podem reagir entre si ou com compostos carbonila de origem lipídica (reações secundárias) produzindo numerosos voláteis (TOLDRÁ, 1998). Como requerem certo aporte

de calor, as reações de Maillard são relativamente escassas no caso do presunto cru, mas conforme diminui sua atividade de água ao longo da maturação essas reações são favorecidas.

Em conjunto, as reações de oxidação e de Maillard geram um grande número de compostos voláteis, entre aldeídos, cetonas, furanos, ácidos graxos livres, pirazinas e compostos sulfurados (TOLDRÁ, 1998). Outra rota de formação de compostos voláteis a partir de aminoácidos, como valina, isoleucina, leucina, metionina, cisteína e cistina, são as reações de Strecker (FLORES et al., 1997).

O progresso da proteólise no presunto cru pode variar dependendo de processos específicos, mas, em geral, segue uma quebra inicial das principais proteínas miofibrilares resultando na formação polipeptídios de tamanho intermediário, subsequentemente degradados em peptídeos menores por peptidases, e a geração final de pequenos peptídeos e aminoácidos livres resultantes da ação de di- e tri-peptidilpeptidases e aminopeptidases (TOLDRÁ; FLORES, 1998).

A lipólise ocorre por meio da ação das enzimas lipases e fosfolipases (A1, A2, C e D) que provocam a liberação de diglicerídeos, monoglicerídeos e ácidos graxos. A formação de ácidos graxos é considerada uma consequência da ação da lipase ácida lisossomal que tem um pH ótimo de atuação entre 4,5 a 5,5, valores os quais são próximos aos dos valores observados em carne e permanece ativa na presença de sal e a uma baixa atividade de água, enquanto as fosfolipases A1 e A2 catalisam a hidrólise dos fosfolipídios (MOTILVA et al., 1993; MURIEL et al., 2007).

2.1.2 Uso de sais de cura em presuntos crus

Nitratos (NO_3^-) e nitritos (NO_2^-) estão entre os mais antigos e importantes aditivos alimentares, seu uso está relacionado à salga na conservação de carnes e peixes desde 3.000 a.C., podendo contribuir para o desenvolvimento econômico de diversas civilizações, que, conhecedores de sua ação conservante, puderam se expandir comercialmente (SINDELAR; MILKOWSKI, 2011). A adição de nitrito, de sódio ou de potássio, nas carnes curadas tem três finalidades básicas: contribuir para o desenvolvimento de sabor e cor característicos de carnes curadas, evitar a proliferação de microrganismos formadores de esporos e outros microrganismos e atuar como antioxidante (TOLDRÁ, 2012).

No Brasil, os sais de cura comerciais são constituídos de mistura de cloreto de sódio com nitrato e nitrito, de sódio ou potássio, ou apenas um desses. Esses sais fazem parte da

composição natural do sal e são reconhecidos, de acordo com a legislação brasileira, como aditivos alimentares com função conservante, ou seja, são adicionadas aos alimentos para impedir ou retardar ações microbianas. No Brasil, qualquer que seja o sal utilizado (sódio ou potássio), a quantidade de nitrito residual no produto não pode passar de 150 mg/Kg (expressa como nitrito de sódio), e a quantidade de nitrato residual não pode ultrapassar 300 mg/Kg (expressa como nitrito de sódio) no produto (BRASIL, 2019).

O nitrito, tanto de potássio quanto de sódio, é o agente ativo de cura responsável pela formação da cor, sabor e aroma característicos de produtos cárneos. Em contraste, o nitrato não é um agente ativo no processo de cura, sendo convertido a nitrito pela ação de bactérias nitrato redutoras, naturalmente presentes na carne, durante o processamento (VARNAN; SUTHERLAND, 1995). Para utilização do nitrato uma etapa adicional da conversão de nitrato em nitrito reativo é necessária, a qual é realizada pela redução bacteriana de nitrato à nitrito, podendo ser realizado pela flora bacteriana naturalmente encontrada na carne ou pela adição de microrganismos, como culturas iniciadoras (*starter*), com propriedades nitratos redutores (HEASELGRAVE; ANDREW; KILVINGTON, 2009).

Além de atuarem como conservantes, os sais de cura são importantes no desenvolvimento da cor, sabor e aroma típicos de produtos curados, além de possuírem ação antioxidante. A reação inicial na cura, responsável por conferir a cor rosa avermelhada típica dos produtos curados, consiste basicamente na conversão das formas químicas da mioglobina (Mb), proteína sarcoplasmática conjugada a um grupo protéico heme que constitui o principal pigmento da carne (GOMIDE, 2007; GOMIDE; RAMOS; FONTES, 2013). Ao ser adicionado à matriz de carne (levemente ácida, pH 5,5), o nitrito é convertido em ácido nitroso (HNO_2) e então reduzido a óxido nítrico (NO), uma substância gasosa que interage com a subunidade heme da mioglobina formando o complexo intermediário nitrosometamioglobina (NOMMb), que sofre uma rápida autorredução ao radical catiônico de nitrosomioglobina (NOMb), um complexo covalente formado entre o íon ferroso da mioglobina e o gás NO. Essa redução pode ocorrer tanto por sistemas redutores da própria proteína como pela migração da carga para um resíduo de histidina adjacente (VARNAM; SUTHERLAND, 1995). Cerca de 10 a 40% da mioglobina total é transformada em nitrosomioglobina (FRENTZ; ZERT, 1990). Para induzir este efeito, são necessárias baixas dosagens, entre 30 e 60 mg/Kg de nitrito. Como o nitrito residual na carne funciona como um reservatório, mais de 50 a 60 mg/Kg deve ser adicionado à carne para garantir uma cor estável durante o armazenamento prolongado (SINDELAR, 2014).

Em presuntos crus, a cor final vai depender principalmente das modificações químicas de pigmentos naturais da carne devido sua reação com sais de cura e reações de oxidação, mas depende também da estrutura muscular, que influencia a dispersão e absorção da luz pela carne. As NOMb formadas são produzidas de forma lenta e variam de acordo com muitos parâmetros e características da carne, como pH, concentração de pigmentos, potencial de oxirredução, distribuição dos agentes de cura, temperatura e umidade (FLORES, 1997).

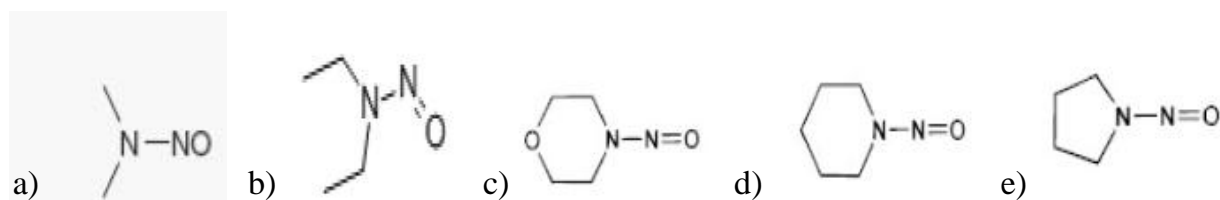
A ação conservante do nitrito envolve principalmente a inibição da germinação do *Clostridium botulinum* e prevenção de formação de toxinas nos produtos cárneos curados. Apesar de ser reconhecido por seus efeitos bacteriostáticos e bactericidas contra outras bactérias patogênicas, como *Listeria* spp. (HOSPITAL; HIERRO; FERNANDEZ, 2012; 2014), os mecanismos inibidores específicos do nitrito não são bem conhecidos. A inibição é efetiva apenas em certas espécies bacterianas (TOMPKIN, 2005) e a eficácia depende de vários fatores, incluindo pH, temperatura, concentrações de nitrato ou nitrito, aceleradores de cura como ascorbato e eritorbato, efeito inibitório da concentração de ferro e carga bacteriana de deterioração inicial. No entanto, o nitrito inibe o crescimento de *Clostridium botulinum* interferindo em enzimas ferro-enxofre, como a ferredoxina, evitando a síntese de adenosina trifosfato (ATP) a partir do piruvato devido ao acúmulo de óxido nítrico no meio (MAJOU; CHRISTIEANS, 2018).

O nitrito também possui atividade antioxidante que é baseada na formação de compostos estáveis entre pigmentos heme e nitrito (oxidante), com redução da forma férrica (Fe^{3+}) para a forma ferrosa (Fe^{2+}), que reduz o número de íons ferro livre Fe^{3+} catalisadores da oxidação lipídica (HOLK et al, 2017). Cerca de 20 a 60 mg/Kg de nitrito são necessários para que atue como antioxidante (TOLDRÁ, 2010). Além disso, o oxigênio e outras espécies reativas de oxigênio reagem rapidamente e são sequestradas pelo NO (ALAHAKOON et al, 2015), que também atua, como radical livre, cessando a autooxidação lipídica (PEGG; SHAHIDI, 2015). Essas reações são ainda mais importantes em produtos dessecados, onde a rancidez oxidativa se desenvolve naturalmente, induzida pela ação pró-oxidante do sal adicionado e pela quantidade de ácidos graxos livres liberados em consequência da ação lipolítica da microbiota ou de sistemas enzimáticos endógenos (TOLDRA, 2002; PUOLANNE; PETÄJÄ-KANNINEN, 2014). Segundo Toldrá (2002), além da acidez e da proteólise, certa quantidade de oxidação é desejada para se obter sabor e aroma característicos de produtos curados dessecados.

Apesar dos efeitos tecnológicos favoráveis, a presença de substâncias que podem ser uma preocupação para a saúde dos consumidores em produtos cárneos tem sido objeto de revisões recentes (FLORES et al, 2019). O nitrito em concentrações elevadas é tóxico para os seres humanos. Uma dose única maior do que 15-20 mg de nitrito por Kg de peso vivo pode ser letal. O principal efeito tóxico é a oxidação do íon ferroso a íon férrico no anel porfirínico da oxihemoglobina (OHb) do sangue à metemoglobinemia (MHb), tornando a molécula incapaz de transportar oxigênio. A MHb pode ser reduzida a hemoglobina (Hb) pela NADH-metemoglobina-redutase presente nos eritrócitos, sendo novamente capaz de se ligar ao oxigênio. Esse processo ocorrendo em altos níveis gera um aumento da concentração de MHb no sangue, resultando na redução do transporte de oxigênio dos alvéolos pulmonares para os tecidos, causando sintomas como tontura, cefaleia, dispneia, baixo débito cardíaco e sonolência, essa condição pode fatal principalmente em crianças, cuja capacidade de redução de metemoglobina é baixa (NASCIMENTO et al. 2008).

No entanto, o principal risco tóxico do uso de nitrito reside na sua participação de reações de nitrosação. Durante a redução do nitrito a NO na carne, o HNO_2 formado é precursor do anidro nitroso (N_2O_3), principal agente nitrosante em alimentos, o qual reage com aminas secundárias não protonadas e aminoácidos para produzir nitrosaminas, as quais através de uma reação de substituição nucleofílica formam N-nitrosaminas, numa reação denominada nitrosação. As N-nitrosaminas são compostos estruturais com radical N-N=O (Figura 2), podem estar associadas com alto risco de câncer gástrico, hepático e de esôfago, quando o nitrito reage com aminas primárias formam nitrosaminas instáveis, que são imediatamente degradadas em álcool e nitrogênio, enquanto as aminas terciárias não reagem com nitritos (KARWOWSKA; KONONIUK; 2020).

Figura 2 - Estrutura química de N-nitrosaminas.



Legenda: a) N-nitrosodimetilamina (NDMA); b) N-nitrosodietilamina (NDEA); c) N-nitrosomorfolina (NMOR); d) N-nitrosopiperidina (NPIP); e) N-nitrosopirrolidina (NPYR).

Fonte: Pegg e Honikel (2015).

As N-nitrosaminas voláteis mais frequentemente relatadas em produtos cárneos são N-nitrosodimetilamina (NDMA), N-nitrosodietilamina (NDEA), N-nitrosopiperidina (NPIP), N-nitrosopirrolidina (NPYR) e N-nitrosomorfolina (NMOR). Entre eles, NDMA e NDEA são considerados as N-nitrosaminas voláteis mais poderosas em termos de carcinogênese e genotoxicidade (PEGG; HONIKEL, 2015).

As N-nitrosaminas podem ser formadas durante o processamento de alimentos, bem como *in vivo*, no trato gastrointestinal, mas diversas condições favorecem a sua formação, como altas temperaturas durante fritura, pH ácido como no estômago (2,5-3,5), a presença de ferro (o suco gástrico contém uma quantidade significativa de ferro), quantidade de nitrito residual e maior tempo de armazenamento (KARWOWSKA, KONONIUK; 2020). A concentração residual de nitrito controla a formação de N-nitrosaminas em alimentos, visto que a velocidade de sua formação é diretamente proporcional ao quadrado da concentração de nitrito (REYES, 1985; HILL, 1988).

Frente às implicações do consumo de nitrito de sódio o mercado de alimentos naturais, sem adição de conservantes químicos, cresce em todo mundo e com isso grandes oportunidades são abertas para o processamento de novos produtos cárneos. Diversos trabalhos vêm demonstrado a preferência dos consumidores por alimentos “naturais” e que possuem *clean label*, ou seja, com índices reduzidos de aditivos químicos; com isso, investigações estão sendo realizadas para encontrar um substituto total ou parcial para o nitrito, como nisina (HUANG et al, 2020), porém ainda não foi encontrado nenhuma substância igual ou superior ao nitrito na ação antimicrobiana.

2.2 Processamento acelerado de presunto cru

Tradicionalmente, o presunto curado é comercializado inteiro, com couro e ossos, a produção pode durar de 9 a 24 meses, dependendo do método de processamento e do peso inicial do presunto, para que possam desenvolver as características sensoriais típicas (COSTA, 2021). No entanto, várias técnicas vêm sendo estudadas para acelerar o processo de produção de presunto cru como congelamento/descongelamento prévio do pernil, “tenderização”, massageamento (*tumbling*), uso de câmaras com controle de temperatura e umidade, entre outros.

2.2.1 Congelamento e descongelamento

Uma etapa de congelamento e descongelamento da carne fresca antes do processo de salga pode ser introduzida para causar uma ruptura da estrutura muscular, através da formação de cristais de gelo, diminuindo o tempo necessário para uma distribuição uniforme da cura em todos os tecidos (ISHIGURO; HORIMIZU, 2008). Os danos causados pelos cristais de gelo nas matérias-primas descongeladas podem levar a um aumento da perda de água com consequente aumento na absorção de sal (LORIDO et al., 2016). Alguns estudos (MOTILVA et al., 1994; BANON et al., 1999) não encontraram diferenças ao final do processamento em lipólise, cor, características sensoriais e índices de aceitabilidade entre presuntos crus elaborados com carnes frescas e com carnes congeladas (-20°C/30dias) e descongeladas (3°C/5 dias). No entanto, Flores et al. (2006) mostrou um maior fenômeno de proteólise em presuntos pré-cura congelados do que em refrigerados. A atividade lipolítica também foi mais acentuada em presuntos processados com matéria-prima congelada e posteriormente descongelada (MOTILVA et al., 1994; FLORES et al., 2006), no entanto essas diferenças não foram detectadas na fase final (MOTILVA et al., 1994). Essa técnica não afeta a qualidade sensorial do presunto (MOTILVA et al., 1994), exceto pelo aumento do número de cristais de tirosina na articulação, um fenômeno que pode causar certas reações desfavoráveis do consumidor (ARNAU et al., 1994).

2.2.2 Massageamento

O processo de massageamento consiste em um processo mecânico que também visa uma ruptura na estrutura muscular facilitando o processo de salga. Pedacos de músculos são colocados em um tambor giratório que contém defletores e uma energia de impacto é transmitida quando a carne cai da porção superior para inferior do tambor ou quando os pedacos de carne são atingidos pelos defletores. As principais funções do tombamento do presunto, revolvido na presença de sal, são: aumentar a extração de proteínas solúveis em sal e para auxiliar na distribuição de ingredientes de cura para desenvolver um produto curado atraente e uniforme com capacidade de corte desejável. Essas vantagens são obtidas pela desestruturação dos sarcômeros, aumentando os espaços extracelulares, que altera a pressão osmótica e aumenta a migração dos ingredientes de cura entre as fibras musculares (MARRIOT, 1987). Estudos de Marriot et al. (1987) e Leak (1984) mostraram que o

tombamento aumenta a penetração da cura inicial, aumenta a intensidade do sabor no painel sensorial, e melhora, levemente, a qualidade microbiológica dos produtos.

2.2.3 Tenderização

Outro processo de desestruturação mecânica do tecido muscular é a “tenderização”, obtida pela penetração de lâminas múltiplas na carne. Este processo causa muitos danos físicos se for utilizado no pernil inteiro, aumentando a perda de umidade e a salinidade, embora possa distorcer a forma do pernil (TOLDRÁ & FLORES, 1998). Segundo MARRIOTT et al., (1985), o processo de a “tenderização” quando aplicada de forma isolada tem um efeito mínimo na redução do tempo de processo de cura em presuntos crus (MARRIOTT et al., 1985). No entanto, quando combinada com a energia de impacto e estresse osmótico do massageamento, os tempos de maturação são reduzidos consideravelmente quando comparado com a prática tradicional (GRAUMANN; HOLLEY, 2007).

2.2.4 Presunto cru desossado

A produção de presuntos pré-embalados fatiados e curados tem aumentado substancialmente em função das mudanças no comportamento do consumidor bem como a produção industrial centralizada e as formas modernas de distribuição. A fabricação de presunto curado a partir de presunto fresco desossado oferece vantagens na produção, armazenamento e transporte, pois diminui o peso e o volume da peça em quantidade equivalente ao tamanho do osso, além de facilitar o comércio varejista por serem mais adequados para cortar e fatiar (DE AVILA et al, 2014). A produção de presuntos curados a seco desossados também facilita a incorporação de ingredientes funcionais. Estudo de Lima et al. (2016) conseguiram produzir um presunto curado desossado com 1,44% de lactulose, um prebiótico, sem diferenças significativas nas características físico-químicas ou tecnológicas quando comparado ao controle (sem lactulose).

A ligação de pedaços de carne, de cortes desossados, pode ser alcançada através de desnaturação induzida termicamente de proteínas miofibrilares extraídas com sal e fosfato (presunto cozido), dando coesão entre pedaços de carne; ou gelificação induzida por pH de um agente de ligação ou complexo sal-proteína; ou reticulação de proteínas induzida

enzimaticamente. Estes últimos são resumidos como sistemas de ligação a frio, ou seja, representam substâncias que podem ser utilizadas para reestruturar e aglutinar pedaços de carne que podem ser comercializados no estado cru e/ou refrigerado (SADEGHI-MEHR; LAUTENSCHLAEGER; DRUSCH, 2016).

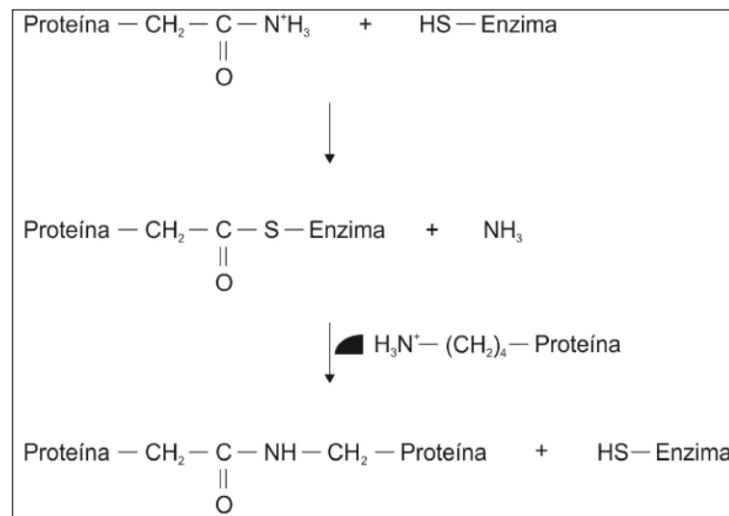
A indústria da carne vem usando, de forma eficaz, diferentes aditivos com propriedades ligantes a frio (alginatos, fibrinogênio e trombina, transglutaminase de diferentes origens etc.). Vários estudos vêm demonstrando a eficiência da enzima transglutaminase (TG) (proteína-glutamina γ -glutamyltransferase; EC 2.3.2.13) para unir aparas de cortes por meio da reestruturação, como em presunto cru desossado (JIRA et al, 2017; BERGAMIN FILHO et al., 2010; DE ÁVILA et al., 2010).

A enzima TG é uma proteína monomérica de 38 kDa, contendo 331 aminoácidos e nenhuma porção de sacarídeo ou lipídeo (KANAJI et al., 1993). A enzima é isolada do microrganismo *Streptomyces mobaraensis* para produzir TG microbiano em escala industrial (ANDO et al., 1989, WASHIZU et al., 1994). Atua sobre as proteínas permitindo benefícios tecnológicos, como maior aproveitamento das matérias-primas, melhoria de qualidade, pois aumenta a textura e a força de gel, saudabilidade, papel na redução de sódio e gordura, e diminuição de custos (transporte e logística).

A enzima TG catalisa a formação de ligações isopeptídicas entre um grupo ϵ -amino de um resíduo de lisina e um grupo γ -carboxamida de um resíduo de glutamina (KANAJI et al., 1993, YOKOYAMA et al., 2004). O mecanismo de ação da TG é muito semelhante ao de proteases consistindo basicamente em duas etapas (Figura 3). Na primeira etapa, o grupo tiol da cisteína, presente no sítio ativo, ataca a cadeia lateral de um resíduo de glutamina disponível no substrato proteico, formando um complexo acil-enzima e liberando amônia. Em seguida, uma amina primária substitui a enzima, gerando uma glutamina carboxiamida modificada (NEGUS, 2001).

Então, moléculas maiores são formadas a partir de pequenos substratos proteicos por meio de ligações cruzadas entre os aminoácidos glutamina e lisina, proporcionando melhora na propriedade de textura do produto, influenciando na elasticidade, na CRA, na emulsificação, na formação de géis, na reestruturação, e eleva o valor nutricional mediante a incorporação de aminoácidos limitantes no material original (AHHMED et al., 2009; KURAIISHI et al., 2001). Logo, essas propostas de sistemas de ligação podem ganhar mais aceitação pelo consumidor.

Figura 3 - Mecanismo de ação da transglutaminase.



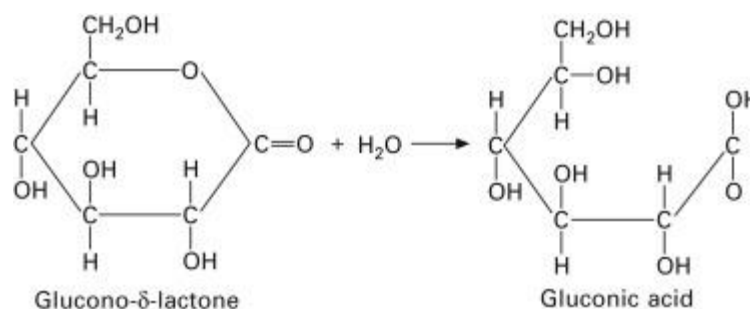
Fonte: Bagagli (2009)

Associado ao uso da TG, uma alternativa para diminuir o tempo de elaboração desse produto é a adição de um acidificante químico, como a glucona delta-lactona (GDL), na sua formulação, que causa estabilização e aceleração a queda do pH, fazendo com que o produto seque mais rápido, causando uma maior perda de peso na fase inicial da maturação, pois o pH mais próximo ao ponto isoelétrico da proteína reduz a sua CRA (PALHARES, 2011).

2.2.5 Glucona delta-lactona

A GDL é uma substância neutra e segundo a Resolução nº 386 é classificada como acidulante, fermento químico e regulador de acidez (BRASIL, 1999), obtido por oxidação da glicose, que influencia o pH do meio, ao liberar gradualmente radicais ácidos por hidrólise. Caracteriza-se como um éster do ácido glucônico e se apresenta sob a forma de pó branco, cristalizado, sem odor particular e de sabor agradável, parecido com o dos outros açúcares, muito solúvel em água e pouco em álcool. Quando é adicionada à mistura de carnes reage com a água presente e é transformada em ácido glucônico (Figura 4), em conjunto com vários fatores físico-químicos, como umidade, pH inicial, poder de tampão de carne, temperatura e associação de outros, como a adição de açúcar e ácido ascórbico, como consequência o pH da carne diminui. Estudos de Frenz e Migaud (1976), o acidulante GDL, em produtos curados, deve ser utilizado na proporção de 0,2% a 0,5%.

Figura 4 - Reação de hidrólise da glucona delta-lactona.



Fonte: Hatim el al. (2021).

O uso de GDL associado à adição de nitrito na elaboração de produtos dessecados é interessante também do ponto de vista de qualidade e de segurança microbiológica, pois a ligeira queda no pH no início do processo, desfavorece o crescimento de microrganismos patogênicos e deterioradores indesejáveis (FREY, 1983), além de favorecer o crescimento de microrganismos benéficos, como os fermentadores (PALHARES, 2011). Também auxilia no desenvolvimento e estabilidade da cor curada do produto, visto que a queda de pH torna mais favorável e intensa a redução do nitrito a óxido nítrico (FREY, 1983).

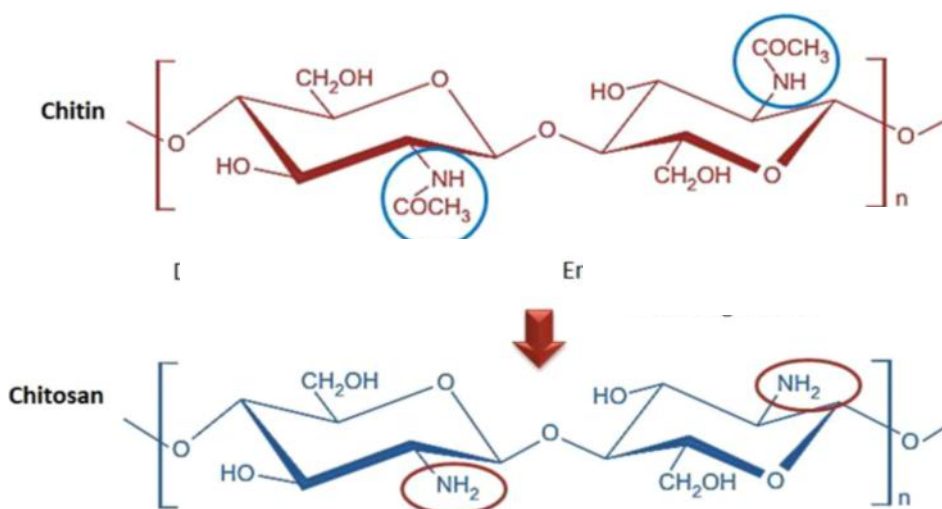
Estudo de Palhares (2011) ao desenvolver produto desossado e dessecado a partir da perna de cordeiro, similar ao presunto cru, relatou que a adição de GDL na formulação aumentou a taxa de secagem do produto, diminuindo o tempo necessário para uma perda de peso de 50% de 77 dias (no tratamento controle) para cerca de 56 dias, e para uma perda de peso de 40% de 60 dias (no tratamento controle) para 44 dias, obtendo-se uma redução de 25 e 33% do tempo do secagem, respectivamente. Lima (2017) também adicionou a GDL na formulação de um produto cárneo desossado e dessecado ovino, o qual obteve resultado similar ao citado anteriormente, sendo necessários 60 dias/Kg para perda de 40% de peso do produto.

2.3 Quitosana

A quitosana é um polímero catiônico contendo grupos reativos de aminas e hidroxilas livres e foi isolada pela primeira vez em 1859 (CHANDY; SHARMA, 1993). É um derivado da N-desacetilação da quitina (Figura 5), originária da substituição dos grupamentos acetamido (NHCOCH₃) pelo grupo amino (NH₂), formando um copolímero linear que possui em sua estrutura unidades de N-acetil-D-glucosamina e D-glicosamina (KIMURA, I.Y., 2001). A quitina é o segundo polissacarídeo mais abundante na natureza a seguir à celulose,

sendo um polímero de unidades repetidas de 2-acetamido-2-deoxi- β -Dglicopiranosose unidos por ligações β - (1-4), é encontrada no esqueleto externo de insetos, crustáceos como camarão, lagosta, caranguejo, endoesqueleto de lula e micélio fúngico, com função de formar os componentes estruturais e desempenhar funções de reforço nos organismos em que está presente (RINAUDO, 2006). A estrutura química da quitina é semelhante à da celulose, tendo um grupo hidroxila em cada monômero substituído por um grupo acetilamina. Em sua forma bruta extraída, a quitina tem uma estrutura cristalina altamente ordenada, é translúcida, resiliente e bastante resistente. No entanto, possui baixa solubilidade e baixa reatividade (GOY, BRITTO, ASSIS; 2009).

Figura 5 - Representação da reação de N-desacetilação da quitina.



Fonte: El Hack, et al. (2020)

Para a produção industrial de quitosana, a quitina bruta é desacetilada com hidróxido de sódio 40-50 % na temperatura de 110-115 °C (EL HACK, et al. 2020). O processo de obtenção industrial da quitosana envolve basicamente a deproteíntização, demineralização e despigmentação (GILDBERG; STENBERG, 2001). A partir do momento que o grau de desacetilação está maior que 50%, a quitina passa ser chamada de quitosana. Geralmente, a fonte de quitina para produção de quitosana é obtida de camarão, lagosta e cascas de caranguejo.

As propriedades físico-químicas da quitosana variam de acordo com o grau de desacetilação ou grau de acetilação da quitina, e pelo peso molecular obtido, tais como a solubilidade, pK_a e a viscosidade (SILVA et al., 2006), que são obtidas de acordo com as variáveis de processamento, tais como, reagentes usados, temperatura, tempo de reação,

quanto maior. O peso molecular médio da quitosana comercializadas é cerca de $1,5 \times 10^5$ Da, e possui grau de polimerização está entre 600 e 1800 e o seu grau de desacetilação médio é entre 70 e 95% (DAMIAN & BEIRÃO, 2005), e pesos moleculares (PM) entre 100 e 1000 kDa. Não existe um padrão específico para definir o PM, mas é aceito que PM baixo valores inferiores a 50 kDa, PM médio entre 50 e 150 kDa e PM alto acima 150 kDa (GOY, BRITTO, ASSIS; 2009).

O grau de desacetilação determina o conteúdo de grupos amínicos livres no polissacarídeo diferenciando-o da quitina e influenciando principalmente na solubilidade (YOUNES E RINAUDO, 2015), pois a solubilização ocorre através da protonação dos grupos acetamida da posição C2 da unidade repetitiva da glicosamina o que confere carga positiva ao polímero (KONG et al., 2010; RINAUDO, 2006), responsáveis pela repulsão eletrostática entre as cadeias e solvatação em água. A quitina tem limitações em seu uso, devido à baixa solubilidade aquosa e baixa reatividade. No entanto, a quitosana é mais hidrofílica e possui melhor solubilidade em água, em solventes orgânicos e em bases, sendo solúvel grande maioria de ácidos orgânicos que possuem pH inferior a 6,0, característica conferida devido ao pK_a dos grupos amino protonados que é de aproximadamente 6,5, ocorrendo a precipitação da quitosana na forma de flocos gelatinosas em pH superiores a este (KONG et al., 2010; RINAUDO, 2006), além disso a presença dos grupos amino na quitosana conferem maior potencial para modificações químicas.

No entanto, estudos demonstram que o peso molecular e o grau de desacetilação são coletivamente responsáveis pela solubilidade, que pode ser devido à força intermolecular (SHRINIVAS et al., 2007). O peso molecular também é um parâmetro importante que além de controlar significativamente a solubilidade e propriedades antimicrobianas da quitosana (CHANG et al., 2015), esta característica é influenciada pelas condições utilizadas na reação de acetilação como, tempo, temperatura, concentração e condições atmosféricas.

A quitosana vem despertando o interesse nos mais diversos campos da ciência, como na agricultura, indústria farmacêutica, bioengenharia, cosméticos e principalmente na indústria alimentícia devido as suas características funcionais como a biocompatibilidade, a biodegradabilidade e a atoxicidade (DUAN et al., 2012). Além disso, apresenta a possibilidade de ser quimicamente modificada e aplicada em diferentes formas, como soluções, filmes, nanopartículas, entre outros (EL HACK, et al. 2020).

Entre as aplicações estudadas pela quitosana estão: ação antimicrobiana (bactericida, bacteriostática, fungicida e fungistática), antitumoral, agente anticoagulante, agente

hemostático, imunoestimulador, agente cicatrizante, anti- inflamatório, modulador das funções renais, antiviral, antioxidante, redutor dos níveis colesterolêmicos (DHILLON et al., 2013; GAVHANE; GURAV; YADAV, 2013).

2.3.1 Atividade antimicrobiana

A indústria de alimentos busca técnicas alternativas ao uso de aditivos químicos no controle de microrganismos nos alimentos. Nos últimos anos, as tecnologias mais estudadas são a inativação de microrganismos por métodos não térmicos e utilização de substâncias antimicrobianas naturais. Neste contexto, a quitina e a quitosana veem sendo estudadas devido seu potencial de preservação de alimentos, exercendo atividade antimicrobiana e bacteriostática sobre uma ampla gama de microrganismos como fungos filamentosos, leveduras e bactérias patogênicas gram positivas e gram negativas, dentre estes alguns de interesse para a indústria de carne (DUAN et al 2018). As primeiras pesquisas que descrevem o potencial antimicrobiano da quitina, quitosana e seus derivados datam dos anos 1980 (YOUNG, KOHLE, KAUSS; 1982).

Várias hipóteses sobre o seu mecanismo de ação são sugeridas, porém ainda não completamente elucidado. Atualmente três mecanismos foram propostos, no entanto o mais aceito consiste na interação entre as moléculas de quitosana carregadas positivamente, devido a presença de grupos amino protonados, e a superfície bacteriana carregada negativamente. Essa interação eletrostática resulta em dupla interferência: 1) por promover mudanças nas propriedades de permeabilidade da parede da membrana, provocando desequilíbrios osmóticos internos e conseqüentemente inibindo o crescimento de microrganismos, e 2) pela hidrólise dos peptidoglicanos na parede do microrganismo, levando ao vazamento de eletrólitos intracelulares, como íons de potássio e outros constituintes proteicos de baixo peso molecular (por exemplo, proteínas, ácidos nucleicos, glicose e lactato desidrogenase) (JEON et al., 2014). Como o mecanismo é baseado na interação eletrostática, sugere que quanto maior o número de aminas cationizadas, maior será a atividade antimicrobiana, sugerindo também que a quitosana tem maior atividade do que a encontrada para a quitina (GOY, BRITTO, ASSIS; 2009).

Tsai e Hwang (2004) examinaram a atividade antibacteriana *in vitro* frente a algumas bactérias patogênicas e probióticas, relataram que para a quitosana com grau de desacetilação entre 70 e 95%, a concentração mínima letal para *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*,

Vibrio cholerae, *Vibrio parahaemolyticus*, *Listeria monocytogenes* e *Shigella dysenteriae* foi de 50 a 200 mg/Kg, enquanto para *Clostridium perfringens* e bactérias probióticas dos gêneros *Lactobacillus* e *Bifidobacterium* oscilou entre 250 e 1000 mg/Kg.

A eficácia bacteriana em bactérias gram-positivas ou gram-negativas é controversa. Com relação à polaridade da superfície das bactérias, a membrana externa das bactérias gram-negativas consiste essencialmente em lipopolissacarídeos contendo grupos fosfato e pirofosfato que conferem à superfície uma densidade de cargas negativas superiores do que observa-se para as gram-positivas, comprovando a evidência de que o vazamento de material intracelular observada pela quitosana em bactérias gram-negativas é superior ao relatado em bactérias gram-positivas (CHUNG; CHEN, 2008; EATON et al, 2008).

A densidade de carga na superfície celular é um fator determinante para estabelecer a quantidade de quitosana adsorvida, quanto maior a quitosana adsorvida resultaria evidentemente em maiores mudanças na estrutura e na permeabilidade da membrana celular, sugerindo que o modo de ação antibacteriano é dependente do microorganismo hospedeiro (GOY; BRITO; ASSIS, 2009).

Estudo de Khal et al. (2015) demonstra esse mecanismo para bactérias gram-negativas, *Escherichia coli*, pois a membrana externa de é composta por uma bicamada lipídica-protéica assimétrica a qual possui cátions divalentes (Ca^{2+} , Mg^{2+}) que desempenham um papel importante na estabilização das cargas aniônicas centrais de suas moléculas. A hipótese diz que a quitosana substitui os cátions divalentes de seus locais de ligação e reduz a interação entre as moléculas da bicamada lipídica, causando ruptura da membrana e lise celular devido à penetração (por meio da interação eletrostática) da quitosana carregada positivamente através da membrana celular de bactérias gram-negativas. As bactérias gram-positivas não possuem uma membrana externa e conseqüentemente, a quitosana como uma molécula policatiônica de cadeia longa pode aderir melhor (DUAN et al 2018).

Outro mecanismo proposto é relacionado à capacidade de quelção de metais da quitosana, tanto em condições ácidas quanto em pH neutro. Supõe que a quitosana liga-se a metais presentes na parede celular do microorganismo e limita a passagem de nutrientes essenciais a vida da célula bacteriana, sendo a hidrofobicidade e a ação quelante responsáveis pela atividade antimicrobiana (GOY; BRITO; ASSIS, 2009). Outro mecanismo proposto, embora menos aceito entre o meio, é a ligação da quitosana ao DNA microbiano, o que leva à inibição do mRNA e da síntese proteica por meio da penetração da quitosana nos núcleos dos microrganismos, a controvérsia prevalecente é que a quitosana atua essencialmente como um

desregulador da membrana externa, e não como um material penetrante (GOY; BRITO; ASSIS, 2009).

Estudos mais recentes demonstram que a atividade antimicrobiana da quitosana, independente do mecanismo de ação, é influenciada por vários fatores como: grau de desacetilação, massa molar, concentração e capacidade de quelação (fatores intrínsecos); solubilidade; pH, força iônica e temperatura (CHEN;HWA, 1996; GERASIMENKO et al, 2004; DAMIAN et al., 2005), além do tipo de microrganismo, fase de crescimento que se encontra (LIU et al., 2006) e tempo de exposição deste à quitosana (DHILLON et al., 2013; KONG et al., 2010; GOY; BRITTO; ASSIS, 2009). A variabilidade das características associadas a quitosana, desde a natureza da matéria-prima e condições empregadas na obtenção até o tipo de microrganismo podem levar a diferentes modos de interação e as variações de sensibilidade encontradas (MARAGON, 2015). No entanto, O pH do meio é um elemento crucial para a atividade antimicrobiana da quitosana, que exerce abaixo de pH 6,5. Provavelmente, isso é atribuível à presença de um grande número de grupos amino ($-NH^{+3}$) no polímero, que quando carregados positivamente aumentam a ligação aos constituintes da membrana carregada negativamente de bactérias patogênicas (SAHARIAH, 2017).

Estudo de Ibañez-Peinado (2020) testa atividade antimicrobiana *in vitro* da quitosana de duas fontes distintas, em dois diferentes pH (5,0 e 6,2), e aplicação com concentração de 0,15% (p/v), contra alguns microrganismos patogênicos de interesse do ponto de vista da segurança alimentar (*Salmonella Typhimurium*, *L. monocytogenes* e *Escherichia coli* O157:H7). Os resultados indicaram que a quitosana de ambas as fontes possui atividade antimicrobiana, embora o efeito tenha variado do microrganismo considerado, sendo que *Salmonella* foi a bactéria mais resistente, reduzindo 3 ciclos logarítmicos após 24 horas de incubação. A *L. monocytogenes* e *E.coli*, quando incubada em pH 6,2 não apresentou células viáveis após 49 horas de incubação. Um fator importante na atividade antimicrobiana observado neste estudo foi o pH da amostra, quando a quitosana foi adicionada a uma solução com um pH de 6,2, ela foi mais ativa contra *Listeria* e *E. coli*, do que em pH 5,0.

Ozaki (2020) avaliou o potencial antimicrobiano da adição de pó de rabanete e quitosana em linguiças cozidas e fermentadas realizando uma pesquisa microbiológica durante o armazenamento de 60 dias com as amostras fatiadas ou não, sendo as quitosanas em concentrações de 0 (com adição de 150 mg/Kg de nitrito de sódio); 0,25 e 0,5% (m/m). Não foram encontradas cepas de *Salmonella spp.*, enquanto os níveis de *Staphylococcus* coagulase-positiva e Clostrídios sulfito-redutores estavam abaixo de 10^2 e 10 UFC/g,

respectivamente. Além disso, as contagens de leveduras e bolores ficaram abaixo de 2 log UFC/g durante o processamento e armazenamento, tanto para linguiças inteiras quanto fatiadas. Os resultados dos coliformes totais foram inferiores a 3 NMP/g após 10 dias de processamento e durante o armazenamento. Esses resultados indicaram que os produtos estavam seguros para consumo mesmo sem a adição de nitrito, estando de acordo com o que a legislação preconiza.

Vale ressaltar que a eficiência antimicrobiana da quitosana quando analisada *in vitro* pode não ser a mesma observada quando esta é aplicada em alimentos, devido a interações entre a quitosana e os componentes químicos e nutricionais do alimento resultando em efeito antimicrobiano moderado ou até nenhum efeito conservante. Essa possível interação e as mudanças nas características sensoriais do produto devem ser consideradas ao fazer uso da quitosana ou de qualquer outro agente antimicrobiano em alimentos (DEVLIEGHERE; VERMEULEN; DEBEVERE, 2004; DUTTA et al., 2009).

Estudo de Martins (2019) avaliou as mudanças na qualidade de embutidos de mortadela fatiados e embalados a vácuo, com diferentes concentrações de quitosana (0,1,2 e 3%) durante o período de armazenamento refrigerado a 4°C por um período de 60 dias. Mostrando que o produto formulado com quitosana apresentou viabilidade tecnológica e antimicrobiana e além de ser considerado um produto fonte de fibras. A quitosana exibiu efeito antimicrobiano contra os grupos de microrganismos testados: *Estafilococos coagulase-positiva*, *Salmonella* spp., *Clostridium* sulfito redutores, coliformes, microrganismos psicrotróficos, fungos e leveduras.

2.3.2 Atividade antioxidante

A oxidação de lipídios é um dos principais parâmetros que afetam a qualidade da carne e seus derivados. A oxidação lipídica resulta no desenvolvimento de características sensoriais inaceitáveis, como sabor rançoso, cor, textura e deterioração do odor e a quitosana também possui propriedades antioxidantes.

A oxidação de lipídios em produtos carneos processados é um dos fatores mais importantes que limitam o período de armazenamento, sendo que a extração com ácido tiobarbitúrico (TBA) e nitrogênio básico volátil total (TVB-N) são indicadores disso. Embora em um nível baixo, a oxidação lipídica persiste em carnes e produtos armazenados a frio e embalados a vácuo (DJENANE, BELTRAN, CAMO, & RONCALES, 2016; JOUKI &

YAZDI, 2014). Antioxidantes primários e secundários são usados para prevenir essa oxidação. Os antioxidantes primários reagem antes da oxidação por causa de seus grupos fenólicos, enquanto os antioxidantes secundários formam quelatos com os íons metálicos que catalisam a oxidação. A quitosana tem atividade antioxidante secundária (AGULLO, RODRIGUEZ, RAMOS, & ALBERTENGO, 2003).

O mecanismo de ação antioxidante da quitosana em produtos cárneos é atribuído à sua capacidade de atuar como quelante de íons metálicos, tais como o ferro, ligado às moléculas de hemoglobina e mioglobina, o qual age como catalisador desta reação (BARRETEAU; DELATTRE; MICHUD, 2006; KAMIL; JEON; SHAHIDI, 2002). Os monômeros de quitosana possuem um grupo amino e dois grupos hidroxila, que podem reagir com os radicais livres e portanto, eles têm capacidade de quelação (ABD EL-HACK, 2020).

Em estudos realizados observa-se que a quitosana possui por si só a capacidade antioxidante, além de potencializar a capacidade antioxidante de óleos de plantas, como ficou demonstrado em estudos realizados com a glucose e óleos essenciais como hortelã e alecrim com quantidades de quitosana inferiores a 1% (m/m) (KANNAT; CHANDER, 2007).

Estudo de Martins (2019) avaliou as mudanças na qualidade de embutidos de mortadela fatiados e embalados a vácuo, com diferentes concentrações de quitosana (0,1,2 e 3%) durante o período de armazenamento refrigerado a 4°C por um período de 60 dias, mostrou que a quitosana reduziu, de forma considerável, a oxidação lipídica da mortadela, além disso, as amostras contendo mais concentração de quitosana (2 e 3%) tiveram mais preferência na análise sensorial.

Soultos et al. (2008) avaliou a adição de quitosana em salsichas de porco frescas e conclui que a taxa de oxidação lipídica diminuiu em linguiças de porco frescas pela adição de níveis crescentes de quitosana (0,5 e 1%), enquanto as amostras contendo quitosana e nitritos mostraram os menores valores de malonaldeído (MDA), indicando um efeito antioxidante sinérgico.

2.3.3 Quitosana como alimento funcional

Segundo a ANVISA (1999), a alegação de propriedade funcional é aquela relativa ao papel metabólico ou fisiológico que o nutriente ou não nutriente tem no crescimento, desenvolvimento, manutenção e outras funções normais do organismo humano. Fibras, ácidos

graxos, fitoesteróis e probióticos são alguns dos alimentos com comprovadas alegações funcionais no Brasil.

O efeito hipocolesterolêmico da quitosana, ser utilizada como alternativa para reduzir o teor de gordura em produtos cárneos, tem sido objeto de estudo nos últimos anos, tanto *in vitro* (ANRAKU et al., 2011, LIU; ZHANG; XIA, 2008) e *in vivo* em animais (XIA et al., 2010, YAO; HUANG; CHIANG, 2008) e em humanos (GALLAGHER et al.2002). Fibras alimentares de origem animal, como a quitosana, apresentam propriedades benéficas superiores a outras fibras dietéticas, tanto sintéticas quanto naturais, pode atuar como um alimento funcional, reduzindo a absorção das gorduras no intestino e promovendo a diminuição da concentração de colesterol sérico (MUZZARELLI; ROCCHETTI, 1986), além de atuar no tratamento e prevenção da obesidade, doenças coronarianas e certas desordens intestinais (JO et al., 2001).

Na indústria alimentar, tem sido sugerido inúmeras aplicações como aditivo alimentar, agente espessante em bebidas, agente clarificante em sumos, material para embalagens ou como revestimento edível para frutas e vegetais (ZIVANOVIC et al., 2015). Estudos conduzidos por Ganilho (2015) apontam o uso da quitosana como ingrediente funcional em alimentos, possuindo características antioxidantes, antimicrobianas e CRA.

Devido às evidências consistentes sobre a capacidade de quitosana para diminuir o colesterol sérico, a Autoridade Europeia para a Segurança dos Alimentos (EFSA) aprovou uma alegação de saúde que estabelece que "o consumo regular de quitosana contribui para a manutenção dos níveis normais de colesterol no sangue" (EFSA, 2011). No Brasil, a ANVISA (2008) autoriza que quando a fibra for a quitosana os fabricantes podem utilizar a seguinte alegação: "A quitosana auxilia na redução da absorção de gordura e colesterol. Seu consumo deve estar associado a uma alimentação equilibrada e hábitos de vida saudáveis". Esta alegação pode ser utilizada desde que a porção do produto pronto para consumo forneça no mínimo 3g de quitosana se o alimento for sólido ou 1,5g se o alimento for líquido. Entretanto estudos que relatam o uso da quitosana em concentração adequada para atender a alegação de saúde recomendada pela ANVISA, no que respeita à diminuição de colesterol, ainda são escassos.

Além disso, a quitosana na forma de fibra solúvel mostrou uma ação específica como prebiótico que restaura e potencializa o desenvolvimento da microflora intestinal autóctone, prejudicada por doenças inflamatórias do trato intestinal ou pela ingestão de certos medicamentos como antibióticos (GALLO et al, 2016).

3 MATERIAL E MÉTODOS

O presente trabalho foi realizado nos Laboratórios de Tecnologia de Carnes e Derivados (LabCarnes) e Microbiologia de Alimentos, no Departamento de Ciência de Alimentos (DCA) da Escola de Ciências Agrárias de Lavras da Universidade Federal de Lavras (UFLA).

O trabalho foi dividido em dois experimentos, avaliando os efeitos físico-químicos e microbiológicos em produtos curados (com adição de nitrito de sódio) e não-curados. Assim, o primeiro experimento constou da elaboração de oito produtos curados, em esquema fatorial (2x2x2), com e sem adição de glucona delta-lactona (GDL), com e sem quitosana (QUIT) e com duas concentrações de nitrito de sódio (75 e 150 mg/Kg). No segundo experimento foram elaborados seis produtos não-curados, também em esquema fatorial (2x3), com e sem adição de GDL e com três níveis de antioxidantes (sem antioxidante, com QUIT e com eritorbato de sódio - VITC).

3.1 Experimento 1: Efeito da adição de glucona delta-lactona e quitosana em presunto cru desossado elaborados com diferentes níveis de nitrito de sódio.

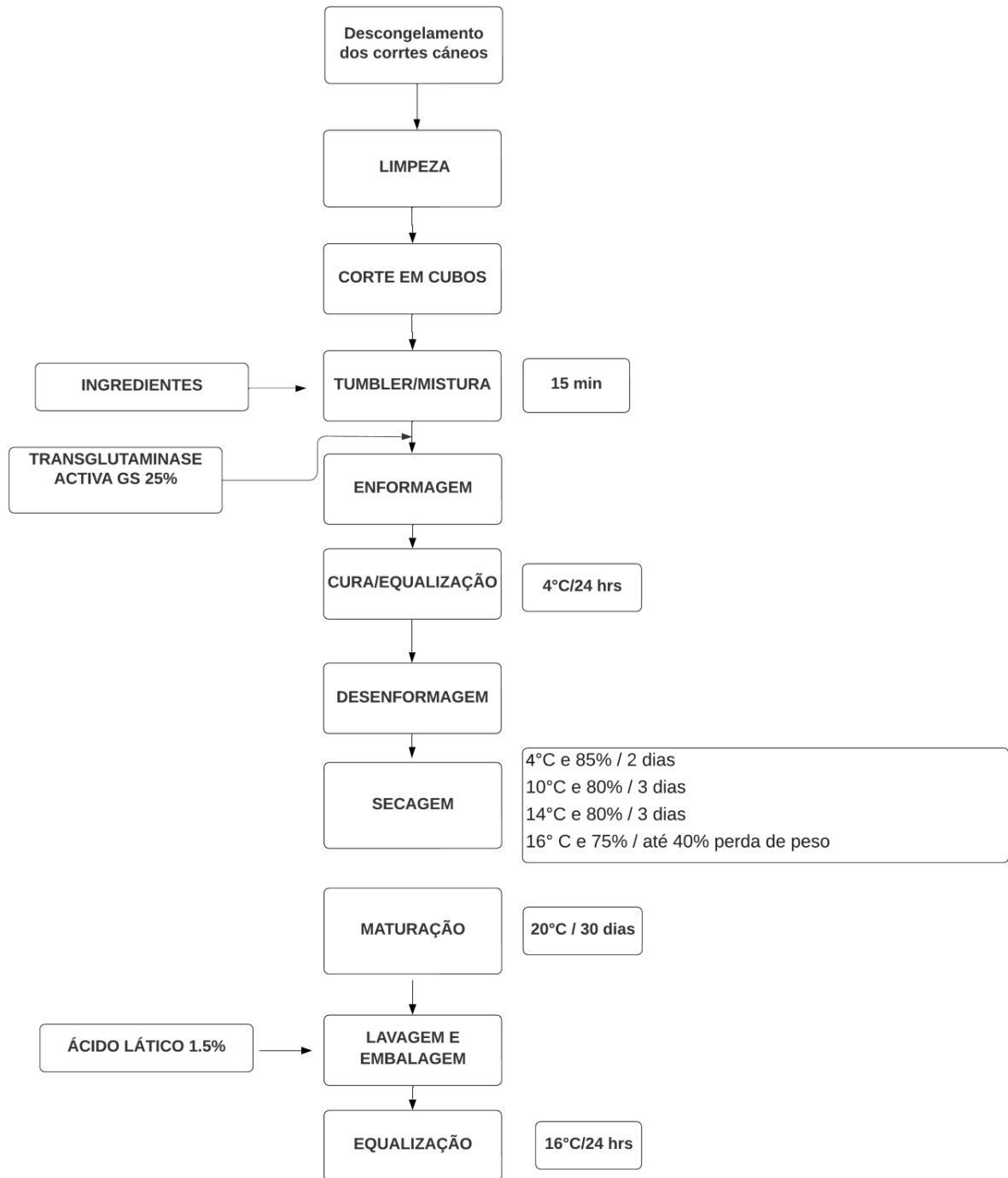
3.1.1 Elaboração do presunto cru

Os presuntos foram elaborados a partir de pernis suínos desossados obtidos no comércio local da cidade de Lavras, MG. O processamento foi baseado no descrito por Lima (2016), com adaptações para aceleração do processo utilizando a GDL, sendo utilizada a salga a seco conforme apresentado na Figura 6.

Os cortes cárneos resfriados foram embalados a vácuo (BS420; R-Baião Indústria e Comércio Ltda, Ubá, MG, Brasil), congelados (-18 °C) e mantidos por, no máximo sete dias, antes do uso, com o objetivo de acentuar as perdas de água, absorção dos sais de cura e proteólise (BAÑÓN et al. 1998). Um dia antes do processamento, os cortes foram desembalados, dispostos sobre grades (para drenagem do exsudado) em caixas cobertas com filme de polivinil cloreto (PVC; para evitar desidratação excessiva) e descongelados em refrigerador (4°C) por 24 h. Após descongelamento, foi feita uma toailete, removendo nervos, e tecidos conectivos porventura presentes, e uma remoção parcial da gordura intermuscular e do tecido conectivo visível por constituírem uma barreira para a penetração do sal. As peças

cárneas descongeladas e limpas foram cortadas em cubos (~5 cm de aresta) e aleatorizadas em oito tratamentos, em que foi avaliado o uso de duas concentrações de nitrito e nitrato de sódio (75 e 150 mg/Kg), duas de quitosana (0 e 1%) e duas de GDL (0 e 0,3%), conforme Tabela 2.

Figura 6 - Fluxograma de processamento do presunto cru desossado, curado e dessecado.



Fonte: Da autora.

Tabela 2 - Formulação para elaboração dos presuntos crus.

Ingredientes	Tratamentos							
	C150	G150	Q150	GQ150	C75	G75	Q75	GQ75
Cloreto de sódio (%)	3,0	3,0	3,0	3,0	3,0	3,0	3,0	3,0
Açúcar (%)	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3
Nitrito de sódio (mg/Kg)	150	150	150	150	75	75	75	75
Nitrato de sódio (mg/Kg)	150	150	150	150	75	75	75	75
Eritorbato de sódio (mg/Kg)	550	550	550	550	550	550	550	550
GDL (%)	-	0,3	-	0,3	-	0,3	-	0,3
Quitosana (%)	-	-	1,0	1,0	-	-	1,0	1,0

Fonte: Da autora.

Para cada tratamento, a carne e os ingredientes foram massageados a vácuo em uma marinadora tipo *tumbler* (modelo RM20; R-Baião Indústria e Comércio Ltda, Ubá, MG, Brasil) por 15 min, para homogeneização e difusão dos ingredientes, adicionados de 0,5% (em relação a massa cárnea) de solução de Transglutaminase Activa GS® 25% e novamente massageada por 15 min. A massa cárnea obtida foi separada em porções de 700 gramas e acomodadas (dispondo peças com uma camada de gordura na parte de cima pra manter a caracterização do produto) em formas plásticas de queijo prato com organza (para facilitar a etapa de remoção das peças), sendo prensadas (5 kg para cada quatro formas) e mantidas sob refrigeração (4 °C) por 24 h para moldagem das peças. Os produtos foram, então, removidos dos moldes e mantidos em câmara climática tipo BOD (modelo EL202; Eletrolab Ltda., São Paulo, SP, Brasil) com controle da temperatura e da umidade relativa do ar (UR) para a etapa de secagem seguindo a seguinte programação: 4°C e 85% UR por dois dias; 10 °C e 80% UR por 3 dias; 16 °C e 75% UR até considerados secos. Durante todo o processo de secagem a temperatura e UR foram registradas por um termo-higrômetro digital (modelo HT-500, Instrutherm Ltda., São Paulo, SP, Brasil) e os produtos foram pesados periodicamente (a cada dois dias) até atingirem a perda de 40% de massa, quando foram considerados secos. Após cada pesagem, a disposição de cada produto nas prateleiras da câmara foi alterada para garantir homogeneidade na secagem. Após a etapa de secagem, as peças foram lavadas com água destilada morna ($\pm 40^{\circ}\text{C}$) e solução de ácido láctico 1,5%, secas com papel toalha, embaladas a vácuo e mantidas por 30 dias em câmara climática para maturação em temperatura de 20°C. O processo de obtenção dos produtos é ilustrado na Figura 7.

Figura 7- Ilustração das etapas de elaboração dos presuntos crus desossados.



Legenda: (a) pernil suíno cortado em cubos de ~5 cm de arestra, (b) cubos com ingredientes no tumbler, (c) moldando os presuntos crus, (d) presuntos na BOD durante etapa de secagem; (e) presuntos após secagem; (f) presuntos durante maturação.

Fonte: Da autora.

Amostras foram obtidas logo após as etapas de mistura dos ingredientes (P1) e secagem (P2) e no final da maturação (P3) e trituradas para a condução das análises de pH, atividade de água, acidez titulável, umidade, grau de oxidação lipídica (índice de TBARS), quantificação de nitrito residual e contagem microbiana. No produto acabado (P3) também

foram realizadas análises de composição centesimal e avaliação instrumental da cor. Todas as análises foram conduzidas em triplicata.

Os presuntos também foram fatiados (fatiador USM2; Urano, Canoas, RS, Brasil) e avaliados durante o armazenamento. Quatro fatias de cada tratamento foram embaladas a vácuo e mantidas em refrigeração ($\pm 4^{\circ}\text{C}$) por 45 dias. As amostras fatiadas foram analisadas quanto à cor instrumental e grau de oxidação lipídica, logo após a embalagem e ao final do tempo de estocagem.

3.1.2 Procedimentos analíticos

3.1.2.1 Perda de massa

A perda de massa durante o processamento foi acompanhada pesando-se os produtos durante a etapa de secagem, em intervalos de dois dias, sendo expressa em relação ao peso inicial de cada peça.

$$\text{Perda de peso (\%)} = \frac{(P_i - P_f)}{P_i} \times 100$$

em que,

P_i = peso inicial da peça, em gramas;

P_f = peso final da peça, em gramas.

3.1.2.2 Avaliação do pH e acidez titulável

A leitura do pH e a determinação da acidez titulável foram conduzidas segundo metodologia descrita por Lima et al. (2017). Cerca de 10 g da amostra foram pesados, homogeneizados (Turratec TE 102; Tecnal Equipamentos Científicos, Piracicaba, SP, Brasil) em 100 mL de água destilada por 1 min, e o pH medido utilizando-se um eletrodo combinado de vidro, acoplado a um pHmetro digital (Digimed DM20, São Paulo, São Paulo, Brasil) imerso na solução e mantido por cinco minutos (tempo para estabilizar a solução) quando, então, foi realizada a leitura. O homogenato foi, então, titulado com solução de hidróxido de

sódio 0,1 N, utilizando-se a fenolftaleína como indicador. Os resultados foram expressos em g de ácido láctico/100 g de amostra.

3.1.2.3 Determinação da umidade e atividade de água

A umidade foi determinada pelo método de estufa em 105 °C. A determinação da atividade de água (aw) das amostras foi realizada em aparelho Aqualab® CX2 (Decagon Devices Inc., Pullman, EUA), que utiliza a determinação do ponto de orvalho, seguindo-se as orientações do fabricante.

3.1.2.4 Oxidação lipídica

A oxidação lipídica foi avaliada pela determinação das substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) através de adaptações do método de extração aquosa descrito por (PIKUL et al., 1989). Em 5 g de amostra triturada foram adicionados 15 mL de ácido perclórico 3,86% e 1 mL do antioxidante hidroxibutiltolueno (BHT) 0,15% (p/v). A mistura foi homogeneizada (Turratec TE 102; Tecnal Equipamentos Científicos, Piracicaba, SP, Brasil) por 1 min e filtrada. Uma alíquota de 5 mL do filtrado foi transferida para um tubo de ensaio, adicionando de 5 mL de ácido tiobarbitúrico (TBA) 0,02 M e os tubos incubados em banho-maria fervente por 30 min. Após incubação, o tubo foi resfriado em água com gelo por 30 minutos, e a absorbância da mistura lida a 532 nm em espectrofotômetro (Genesys 10 UV; Thermo Scientific Varian, São Paulo, Brasil) contra o branco (TBA 0,02 M e ácido perclórico 3,86 % na proporção de 1:1). A concentração de malonaldeído (MDA) foi determinada a partir de curva analítica com 1,1,3,3-tetraetoxipropano (TEP) e os resultados expressos em miligramas de malonaldeído (MDA) por quilograma de amostra (mg de MDA/kg).

3.1.2.5 Nitrito residual

A determinação do teor de nitrito residual (NO₂R) foi realizada segundo procedimento descrito por Guimarães et al. (2021). Cerca de 5 g de amostra foi adicionada de 40 mL de água destilada à 80 °C em um Erlenmeyer e mantido em banho-maria por 2 h à 80 °C. O homogenizado foi filtrado e o volume completado para 250 mL com água destilada. Uma alíquota de 2 mL do filtrado foi misturada a 1 mL de água destilada em um tubo de ensaio

envolto em papel alumínio. Foi acrescentado 0,2 mL de solução sulfanilamida 1% (em ácido clorídrico 0,5 M) e a mistura mantida no escuro, à temperatura ambiente, por 5 min. A mistura foi, então, transferida para um balão volumétrico de 10 mL, sendo adicionado 0,2 mL de solução N-(1-naftil) etilenodiamine hidrocloreto 0,1% (NED) e o volume completado. A nova mistura foi novamente mantida por 15 min no escuro (à temperatura ambiente), antes da leitura em espectrofotômetro (Genesys 10 UV; Thermo Scientific Varian, São Paulo, Brasil) a 540 nm. O teor de NO_2R foi determinado a partir de curva analítica elaborada com nitrito de sódio (NO_2Na) e os resultados expressos em $\text{mg NO}_2/\text{kg}$.

3.1.2.6 Composição centesimal

Além da umidade, também foram determinados nos produtos acabados o teor de proteínas, pelo método de micro-Kjeldahl (utilizando-se o fator de 6,25), extrato etéreo (lipídeos), pelo método Soxhlet, e resíduo mineral fixo (cinzas), pelo uso de mufla a 550 °C, segundo método oficial da AOAC (2002).

3.1.2.7 Cor instrumental

A avaliação da cor instrumental dos produtos acabados e das amostras fatiadas foi realizada com o uso de um colorímetro espectrofotômetro CM700 (Konica Minolta Sensing Inc., Japão), de acordo com as recomendações sugeridas por Ramos e Gomide (2017) para produtos curados: as leituras foram conduzidas com o iluminante D65, ângulo do observador de 10° e componente especular excluído (modo SCE).

Os presuntos inteiros foram partidos ao meio para leitura da superfície interna recém exposta e os produtos fatiados foram analisados, embalados á vácuo, dispostos sobre uma superfície branca. As leituras foram feitas em cinco pontos diferentes da amostra e os índices de cor da CIE registrados: luminosidade (L^*), índice de vermelho (a^*), índice de amarelo (b^*), saturação (C^*) e ângulo de tonalidade (h , graus).

3.1.2.8 Análises microbiológicas

Os presuntos foram analisados quanto a contagem de aeróbios mesófilos e bactérias do ácido lático (BAL), segundo metodologia descrita por Silva et al. (2017). Cerca de 25 g das

amostras trituradas foram acondicionados em sacos plásticos, adicionados de 225 mL de água peptonada (0,1%) e homogeneizados em *Stomacher* (Metroterm, Brasil), a 490 golpes/min, por 3 min. Diluições decimais sucessivas foram preparadas em tubos contendo 9 mL de água peptonada (0,1%). A quantificação de mesófilos foi realizada empregando-se o meio *Plate Count Agar* (PCA), com incubação a 37 °C por 24 h. A enumeração de BAL foi realizada utilizando-se ágar Man Rogosa e Sharpe (MRS), empregando-se a técnica de plaqueamento em profundidade com sobrecamada, seguido de incubação a 30 °C por 48 h.

3.1.3 Análises estatísticas

Os dados foram dispostos em um delineamento inteiramente casualizado (DIC), em esquema fatorial 2 (75 e 150 mg/Kg de nitrito) × 2 (0 e 0,3% GDL) × 2 (0 e 1% quitosana) × 3 (etapas de processo), com três repetições genuínas (bateladas). As análises apenas nos produtos acabados foram conduzidas apenas considerando os efeitos da adição de nitrito, GDL e quitosana e os produtos fatiados foram avaliados considerando estes efeitos nos tempos 0 e 45 dias. Os resultados foram interpretados por meio de análise de variância (ANOVA) e quando necessário as médias foram comparadas utilizando-se o teste de Tukey, considerando-se 5% de probabilidade.

3.2 Experimento 2: Efeito da adição de glucona delta-lactona e quitosana em presunto cru desossado não curados.

3.2.1 Elaboração dos presuntos crus não curados

Os presuntos foram elaborados a partir de pernis suínos desossados obtidos no comércio local da cidade de Lavras, MG. O processamento dos presuntos crus foi realizado conforme descrito no experimento um (item 3.1.1). Foram avaliados a elaboração de produtos não-curados adicionados (0,3%) ou não de GDL e com (550 mg/Kg de VITC e 1,0% de QUIT) e sem a adição de antioxidantes em esquema fatorial conforme descrito na Tabela 3.

Amostras foram obtidas logo após as etapas de mistura dos ingredientes (P1), secagem (P2) e no final da maturação (P3) e trituradas para a condução das análises de pH, atividade de água, acidez titulável, umidade, grau de oxidação lipídica (índice de TBARS), e contagem

microbiana. No produto acabado (P3) também foram realizadas análises de composição centesimal e avaliação instrumental da cor. Todas as análises foram conduzidas em triplicata.

Tabela 3 - Formulação para elaboração dos presuntos crus não curados.

Ingredientes	Tratamentos					
	C	VITC	Q	G	VITCG	QG
Cloreto de sódio (%)	3,0	3,0	3,0	3,0	3,0	3,0
Açúcar (%)	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3
Eritorbato de sódio (mg/Kg)	-	550	-	-	550	-
GDL (%)	-	-	-	0,3	0,3	0,3
Quitosana (%)	-	-	1,0	-	-	1,0

Fonte: Da autora.

Os presuntos também foram fatiados (fatiador USM2; Urano, Canoas, RS, Brasil) e avaliados durante o armazenamento. Quatro fatias de cada tratamento foram embaladas a vácuo e mantidas em refrigeração ($\pm 4^{\circ}\text{C}$) por 45 dias. As amostras fatiadas foram analisadas quanto a cor instrumental e grau de oxidação lipídica, logo após a embalagem e ao final do tempo de estocagem.

3.2.2 Procedimentos analíticos

As análises foram realizadas conforme procedimentos descritos anteriormente no item 3.1.2.

3.2.3 Análises estatísticas

Os dados foram dispostos em um delineamento inteiramente casualizado (DIC), em esquema fatorial 3 (sem antioxidante, VITC e QUIT) \times 2 (0 e 0,3% GDL) \times 3 (etapas de processo), com três repetições genuínas (bateladas). As análises nos produtos acabados foram conduzidas apenas considerando os efeitos da adição de antioxidantes e GDL e os produtos fatiados foram avaliados considerando estes efeitos nos tempos 0 e 45 dias. Os resultados foram interpretados por meio de análise de variância (ANOVA) e quando necessário as médias foram comparadas utilizando-se o teste de Tukey, considerando-se 5% de probabilidade.

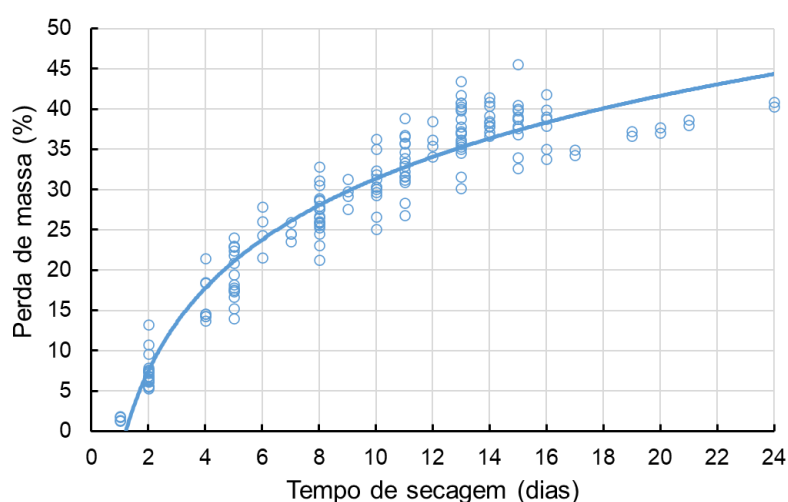
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Experimento 1: Efeito da adição de glucona delta-lactona e quitosana em presunto cru desossado elaborados com diferentes níveis de nitrito de sódio.

4.1.1 Processamento dos produtos

Não houve efeito ($P > 0,05$) da interação ou dos fatores isolados para os coeficientes de regressão da perda de massa durante a etapa de secagem. Desta forma, a regressão logarítmica foi feita considerando todos os dados dos tratamentos, sendo representada na Figura 8. De forma geral, para que os produtos atingissem a perda média de 40% de massa ao longo de secagem foram necessários 18 dias (ou ~ 36 dias/Kg).

Figura 8 - Evolução da perda de massa (PM) dos produtos durante a etapa de secagem.



Legenda: Os símbolos representam os valores experimentais e a linha sólida o ajuste do modelo: $PM (\%) = -2,8313 + 14,8464 \times \ln (t)$; $P < 0,001$; $R^2 = 0,96$; $t =$ tempo em dias.

Fonte: Da autora.

A secagem é a principal etapa da produção de presuntos curados a seco e consiste na remoção de água do produto por evaporação, que é conduzida por um gradiente de concentração entre o ar de secagem e o produto a ser seco. Durante a secagem, o produto é afetado pela ação do sal que penetra e se distribui uniformemente e conseqüentemente, parte da umidade é retirada do produto pela ação da desidratação osmótica (TOLDRÁ, 2008).

Segundo Petrova et al. (2015) a taxa de secagem durante a produção de presuntos crus, podem ser afetada devido propriedades ambientais (externas), como temperatura e umidade

relativa (UR) e velocidade do ar da câmara. Além disso, propriedades intrínsecas ao produto também podem afetar a secagem, como: teor de sal, pH, quantidade de gordura intramuscular e externa (por constitui uma barreira para a difusão de água), umidade inicial, forma e peso da peça cárnea, entre outros.

Palhares (2011) observou que a adição de GDL (conduzida com injeção de salmoura por cura úmida) na elaboração de pernas de ovinos curadas e dessecadas (tipo presunto cru) aumentou a taxa de secagem do produto, diminuindo o tempo necessário para uma perda de peso de 40% de 85 dias/kg no tratamento controle para 60 dias/kg. Resultado semelhante foi relatado por Lima et al. (2017) na elaboração de presunto cru, utilizando GDL, em que também foram necessários 60 dias/kg para que se atingisse a perda de 40% na secagem. Esta redução foi justificada por estes autores, como sendo devido à ação da GDL na redução nos valores de pH da carne. Com a redução do pH a estrutura miofibrilar retém menor quantidade de água, visto que este se aproxima do ponto isoelétrico das proteínas, reduzindo a sua carga líquida e, conseqüentemente, sua capacidade de reter água (ORDOÑEZ et al., 2007; RUIZ, 2007). No entanto, este efeito não foi observado neste experimento, apesar dos valores de pH terem sido afetados pela adição de GDL e quitosana.

Os valores de umidade e atividade de água (a_w) também não foram afetados ($P > 0,05$) pelos tratamentos adicionados de nitrito (75 e 150 mg/Kg), GDL (0 e 0,3%), quitosana (0 e 1 %) ou suas interações, apenas pela etapa de processo, reduzindo durante a elaboração do produto (Tabela 4).

Tabela 4 - Efeitos (média \pm desvio-padrão) da etapa de processo nos valores de umidade, atividade de água (a_w) e pH de presuntos crus desossados e curados.

Característica	P1	P2	P3
Umidade (%)	72,00 \pm 1,09 ^A	-	48,89 \pm 3,70 ^B
Atividade de água	0,963 \pm 0,008 ^A	0,904 \pm 0,013 ^B	0,897 \pm 0,017 ^B
pH	6,34 \pm 0,26 ^A	5,92 \pm 0,35 ^B	5,97 \pm 0,30 ^B

Étapas: P1 = produto formado antes da etapa de secagem; P2 = produto seco; P3 = produto seco e maturado por 30 dias.

^{A-B} Médias seguidas por letras diferentes, na linha, diferem ($P < 0,05$) pelo teste de Tukey.

Fonte: Da autora.

A redução da umidade durante a elaboração era esperada, oriunda das perdas por evaporação e gotejamento devido a difusão de sal, associada à queda do pH que se aproxima do ponto isoelétrico das proteínas miofibrilares da carne (5,3) e conseqüentemente contribui para a redução da carga líquida e, redução da capacidade de retenção de água. Com maiores

perdas de água, especialmente por evaporação, há um aumento da concentração de solutos no meio celular, reduzindo os valores de atividade de água (TOLDRÁ, 2008) de forma que no produto os valores médios ($0,89 \pm 0,01$) eram condizentes ao exigido ($< 0,92$) pela legislação Brasileira vigente para presuntos crus (BRASIL, 2001).

Valores similares de teor de umidade, 51,46 e 53,43%, respectivamente, foram observados em presuntos crus desossados (BERGAMIN FILHO et al., 2010; MUÑOZ-ROSIQUE et. al, 2022; COLL-BRASAS, 2021). Valores ligeiramente maiores (56,62%) foram encontrados em produtos dessecados e desossados de carne ovina elaborados com GDL (Palhares, 2011), o que pode ser justificado pelo método de salga utilizada, salmoura, portanto parte da água perdida durante a secagem é, provavelmente, oriunda da água injetada e não da matéria prima.

A redução na atividade de água durante o processo também foi observada por Palhares (2011) e Lima et al. (2017), na elaboração de um produto dessecado de cordeiro e presunto cru desossado, ambos com adição de GDL, obtendo valores médios de 0,86 e 0,90, respectivamente.

Os valores de pH foram afetados ($P < 0,05$) pelas etapas do processo, atingindo o valor final de $5,97 \pm 0,19$ após a maturação (Tabela 4). A concentração hidrogeniônica que determina o pH dos alimentos é fator de importância fundamental que influenciam a qualidade dos produtos cárneos, afetando não só a capacidade de retenção de água, mas também a cor, a textura e o tempo de armazenamento (DIAS; SANTOS; SCHWAN, 2015), além de influenciar na limitação dos tipos de microrganismos capazes de se desenvolver no alimento (MARTINS, 2018).

De forma geral, o pH final dos presuntos crus nos processos tradicionais (superior a 6,0) pode ser atribuído às reações proteolíticas, resultado da hidrólise de aminoácidos e da exposição de grupos básicos (TOLDRÁ, 2002). No entanto, os valores finais de pH encontrados nesta pesquisa podem ser justificados pelo curto período de maturação (30 dias), que embora fora utilizada uma temperatura considerada ótima para reações proteolíticas em produtos cárneos (20°C) (PETÄJÄ-KANNINEN; PUOLANNE, 2007), não foi suficiente para uma proteólise capaz de causar a elevação do pH. Coll-Brás (2020) no processamento de presunto cru a partir de pernis de cordeiro, e curto período de secagem e maturação (16 dias) com diferentes teores de sal (8% de redução) e ausência de nitrito, também encontram pH médio final de 5,6.

A interação entre os tratamentos adicionados de GDL e quitosana também foi significativa ($P < 0,05$), sendo que os tratamentos adicionados de quitosana obtiveram médias maiores de pH final quando comparados ao adicionados de GDL (Tabela 5). Quando se adiciona GDL na massa cárnea, meio aquoso, ele se hidrolisa em ácido glucônico (TOLDRA, 2002), ocasionando redução rápida dos valores de pH, principalmente nas primeiras etapas do processo, que possuem condições favoráveis ao crescimento microbiano (como a alta atividade de água), inibindo o desenvolvimento de microrganismos indesejáveis e estimulando o desenvolvimento das bactérias lácticas (FREY, 1983).

Tabela 5 - Efeitos (média \pm desvio-padrão) da adição de glucona delta-lactona (GDL) e quitosana (QUIT) nos valores de pH de presuntos crus desossados e curados.

GDL (%)	QUIT (%)	
	0,0	1,0
0,0	6,10 \pm 0,24 ^{Aa}	6,27 \pm 0,40 ^{Aa}
0,3	5,76 \pm 0,31 ^{Ab}	6,19 \pm 0,25 ^{Ba}

^{A-B} Médias seguidas por letras diferentes, na linha, diferem ($P < 0,05$) pelo teste F.

^{a-b} Médias seguidas por letras diferentes, na coluna, diferem ($P < 0,05$) pelo teste F.

Fonte: Da autora.

Palhares (2011) observou que os produtos curados dessecados de cordeiro adicionados de GDL apresentaram valores médios de pH menores (4,97) do que os produtos sem adição de GDL (5,71). Resultado semelhante foi encontrado por Lima et al. (2017) na produção de um produto dessecado curado ovino adicionado de prebióticos e probióticos, utilizando GDL, obtendo pH final em média de 5,11. Os valores maiores de pH para as amostras contendo quitosana se deve, provavelmente, devido à quitosana ser uma fibra de origem animal derivada da quitina que se caracteriza por possuir grupos amínicos livres, caracterizando-se como um composto alcalino.

Os valores de acidez foram afetados ($P < 0,05$) tanto pelo tempo de processo quanto com a adição de GDL, quitosana e nitrito (75 e 150 mg/Kg) (Tabela 6). O aumento da acidez é oriundo do crescimento de bactérias lácticas que fermentam açúcares (glicose) gerando ácido láctico, o que leva a uma rápida redução do pH do produto e criando um ambiente hostil para o crescimento de microrganismos patogênicos e deteriorantes (KUMAR, 2015).

No geral, tratamentos que não foram adicionados de quitosana tiveram uma maior média do conteúdo de ácido láctico (2,04 \pm 0,13), enquanto tratamentos com quitosana obtiveram média de 1,69 \pm 0,07, essa diferença se deve menor crescimento de bactérias lácticas que esses produtos tiveram (Tabela 6). Palhares (2011), ao elaborar perna de cordeiro

desossada, curada e dessecada, não observou diferença na acidez dos produtos com e sem GDL.

Tabela 6 - Efeitos (média \pm desvio-padrão) da adição de nitrito de sódio (NO₂), glucona delta-lactona (GDL) e quitosana (QUIT) nos valores de acidez e nitrito residual (NO₂R) de presuntos crus desossados durante o processo de elaboração.

Característica	NO ₂ mg/kg	GDL %	QUIT %	P1	P2	P3
Acidez	75	0,0	0,0	0,35 \pm 0,02 ^{Aa}	0,74 \pm 0,03 ^{Bac}	1,94 \pm 0,01 ^{Ca}
(% ác. láctico)	75	0,0	1,0	0,45 \pm 0,06 ^{Aab}	0,62 \pm 0,03 ^{Bab}	1,65 \pm 0,01 ^{Cb}
	75	0,3	0,0	0,75 \pm 0,02 ^{Ac}	0,83 \pm 0,04 ^{Ace}	1,67 \pm 0,02 ^{Bb}
	75	0,3	1,0	0,47 \pm 0,10 ^{Ab}	0,73 \pm 0,01 ^{Bac}	1,81 \pm 0,02 ^{Cc}
	150	0,0	0,0	0,67 \pm 0,02 ^{Ac}	0,90 \pm 0,02 ^{Bde}	2,14 \pm 0,15 ^{Cd}
	150	0,0	1,0	0,52 \pm 0,02 ^{Ab}	0,73 \pm 0,05 ^{Bac}	1,68 \pm 0,16 ^{Cb}
	150	0,3	0,0	0,69 \pm 0,08 ^{Ac}	0,98 \pm 0,02 ^{Bd}	2,07 \pm 0,11 ^{Cd}
	150	0,3	1,0	0,63 \pm 0,05 ^{Ac}	0,53 \pm 0,02 ^{Ab}	1,64 \pm 0,09 ^{Cb}
NO ₂ R (mg/kg)	75	0,0	0,0	15,89 \pm 0,99 ^{Aa}	2,26 \pm 0,18 ^{Bab}	< 2,0 ^C
	75	0,0	1,0	13,44 \pm 1,42 ^{Aa}	< 2,0 ^{Ba}	< 2,0 ^B
	75	0,3	0,0	14,07 \pm 0,40 ^{Aa}	< 2,0 ^{Ba}	< 2,0 ^B
	75	0,3	1,0	10,15 \pm 0,65 ^{Ab}	< 2,0 ^{Ba}	< 2,0 ^B
	150	0,0	0,0	26,34 \pm 0,94 ^{Ac}	3,46 \pm 0,37 ^{Ba}	< 2,0 ^C
	150	0,0	1,0	30,53 \pm 1,39 ^{Ad}	2,04 \pm 0,16 ^{Bab}	< 2,0 ^C
	150	0,3	0,0	22,29 \pm 1,76 ^{Ac}	3,13 \pm 0,50 ^{Bab}	< 2,0 ^C
	150	0,3	1,0	33,40 \pm 3,43 ^{Ad}	4,86 \pm 0,08 ^{Bb}	< 2,0 ^C

Etapas: P1 = produto formado antes da etapa de secagem; P2 = produto seco; P3 = produto seco e maturado por 30 dias.

^{A-C} Médias seguidas por letras diferentes, na linha, diferem (P<0,05) pelo teste de Tukey.

^{a-c} Médias seguidas por letras diferentes, na coluna, diferem (P<0,05) pelo teste de Tukey.

Fonte: Da autora.

O conteúdo de nitrito residual reduziu durante o processamento em todos os tratamentos (Tabela 6). Comportamento esperado, pois o nitrito adicionado é convertido ao gás óxido nítrico (NO), que reage com os pigmentos e outros compostos presentes na carne e, dessa forma, boa parte da quantidade de nitrito adicionada é consumida por estas reações (RAMOS; GOMIDE, 2007).

O teor de nitrito residual foi inferior a 2 mg/Kg no produto acabado, em tratamentos adicionados de 75 e 150 mg/Kg. Este valor está abaixo do máximo (150 mg/Kg) permitido pela legislação brasileira (BRASIL, 2006) para produtos curados. Dados semelhantes foram relatados por Armenteros, Aristoy e Toldrá (2012), onde presuntos crus foram formulados com diferentes teores de cloreto de sódio e outros sais, e obtiveram ao final da cura um teor de nitrito residual inferior a 2 mg/Kg, a partir da adição de 100 mg/Kg de NO₂. Vários fatores podem influenciar as taxas de difusão do nitrito no produto, tais como o tipo de salga aplicado

(úmida ou seca), a quantidade de sal utilizado, o teor de gordura das amostras, o tempo e a aplicação da mistura de cura, a distribuição e a atividade das enzimas nitrato redutase (ARMENTEROS; ARISTOY; TOLDRÁ, 2012).

O índice de oxidação lipídica, quantificado pelo método TBARS, foi afetado pelas etapas do processamento, apresentando $1,74 \pm 0,33$ mg MAD/Kg após a maturação (Tabela 7), estando de acordo com o reportado por Toldrá (2002, que durante a maturação de produtos curados secos, a oxidação é induzida pela quantidade de ácidos graxos livres liberados em consequência da ação lipolítica de sistemas enzimáticos endógenos.

Tabela 7 - Efeitos (média \pm desvio-padrão) da adição de nitrito de sódio (NO₂), glucona delta-lactona (GDL) e quitosana (QUIT) nos valores de TBARS (mg MAD/Kg) de presuntos crus desossados durante o processo de elaboração.

Fator	Nível	P1	P2	P3
NO ₂ (mg/kg)	75	0,78 \pm 0,20 ^A	1,11 \pm 0,22 ^B	1,59 \pm 0,37 ^{Ca}
	150	0,78 \pm 0,18 ^A	1,21 \pm 0,21 ^B	1,89 \pm 0,32 ^{Cb}
GDL (%)	0,0	0,76 \pm 0,17 ^A	1,13 \pm 0,25 ^B	1,54 \pm 0,33 ^{Ca}
	0,3	0,80 \pm 0,21 ^A	1,19 \pm 0,18 ^B	1,95 \pm 0,30 ^{Cb}
QUIT (%)	0,0	0,67 \pm 0,17 ^A	1,19 \pm 0,27 ^B	1,60 \pm 0,28 ^{Ca}
	1,0	0,89 \pm 0,12 ^A	1,13 \pm 0,16 ^A	1,89 \pm 0,41 ^{Bb}

Etapas: P1 = produto formado antes da etapa de secagem; P2 = produto seco; P3 = produto seco e maturado por 30 dias.

TBARS = substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico; MAD = malonaldeído.

^{A-C} Médias seguidas por letras diferentes, na linha, diferem ($P < 0,05$) pelo teste de Tukey.

^{a-b} Médias seguidas por letras diferentes, na coluna, diferem ($P < 0,05$) pelo teste F.

Fonte: Da autora.

O aumento da oxidação pode também estar relacionado à diminuição da concentração residual de nitrito com o tempo de maturação, uma vez que as interações do nitrito com a porção heme dos pigmentos de mioglobina da massa cárnea evita que o ferro se oxide, o que lhe confere uma característica antioxidante (PEGG; SHAHIDI, 2015). Esse aumento pode estar também relacionado com fenômenos oxidativos que podem ser favorecidos pela ação pró-oxidante do sal e dos íons metálicos presentes, bem como pela quantidade de sal utilizada no processo de cura (LORENZO; CARBALLO, 2015).

O aumento da oxidação lipídica durante a produção de presunto cru inteiro (com osso) curado a seco também foi relatado por Marušić Radovčić (2021), relatando 0,13 a 0,45 mg MDA/kg, e por Huang et al. (2014), 0,21 a 0,92 mg MDA/Kg.

O sabor típico de presunto é apreciado por seus consumidores é gerado por processos envolvendo proteólise e lipólise, o alto nível de aldeídos voláteis encontrados em presuntos

curados a seco sugere que os fenômenos de oxidação lipídica também desempenham um papel importante no desenvolvimento do sabor do presunto (HARKOUSS et al., 2015). Deve-se resaltar, que esses valores variam de acordo com a metodologia de TBARS (destilação ou extração), o composto utilizado na extração (TCA, ácido perclórico, água, etc.), o tipo e a quantidade de antioxidante (BHT e BHA) utilizado para evitar a oxidação durante o processo de extração e o uso de sulfanilamida para evitar interferências com nitrito, uso de temperos e etc (OSAWA; FELÍCIO; GONÇALVES, 2005).

Observou-se também interação significativa ($P>0,05$) entre os diferentes níveis de nitrito, observando-se um maior conteúdo de MDA/Kg em tratamentos adicionados de 75 mg/Kg de nitrito (Tabela 7). Esse resultado contrasta com diversos estudos (BERARDO et al. 2016; KARWOWSKA; KONONIUK; WÓJCIAK, 2019; WÓJCIAK; STASIAK; KĘSKA, 2019), já que atividade antioxidante lipídica do nitrito é bem conhecida em produtos cárneos e frequentemente relatada. O óxido nítrico, que é obtido não enzimaticamente através da redução do nitrito, pode reagir com o oxigênio sequestrando moléculas de oxigênio (HONIKEL, 2008), além disso, o nitrito bloqueia a atividade pró-oxidante do ferro, estabilizando o ferro heme e sequestrando o ferro livre (BERGAMASCHI; PIZZA, 2011). Fora os fatores mencionados, o óxido nítrico possui boa solubilidade em gorduras onde reage com os radicais lipídicos e quebra a reação em cadeia oxidativa (SKIBSTED, 2011).

Diversos fatores podem afetar os resultados da análise de MDA pelo método de TBARS. Com a presença de nitrito residual em produtos curados, o MDA pode passar por reações de nitrosação tornando todo ou parte do MDA não reativo para a determinação de TBARS, levando a números de MDA abaixo do esperado (KOLODZIEJSKA; SKONIECZNY; RUBIN, 1990).

Interação significativa ($P>0,05$) também foi observada entre as variáveis de GDL (0 e 0,3%) e quitosana (0 e 1%), observando-se um maior conteúdo de MDA/Kg em tratamentos adicionados com o teor máximo de ambos (Tabela 7). Apesar de relatado que a GDL possui efeito antioxidante (HATIM, 2021), poucos trabalhos constataam essa afirmação para produtos cárneos. Juncher et al. (2000) investigaram que 2,0% de lactato + 0,25% GDL melhorou a estabilidade oxidativa e levou a menores TBARS de produtos cárneos. Já Palhares (2011) indicou que não houve diferença significativa nos valores de TBARS para perna de cordeiro desossada e dessecada com ou sem adição de GDL. Jim et al. (2015) relatou, também, que a adição de GDL em vários níveis (0 a 0,75%) não influenciou no nível de TBARS para

linguiças fermentadas durante a secagem e maturação. Com isso, o resultado significativo, provavelmente, é resultado de algumas das interações citadas acima.

Embora vários estudos tenham demonstrado que a quitosana possui propriedades antioxidantes (AVELELAS et al., 2019; MARTINS et al. 2019), isso não foi encontrado nos resultados de TBARS para os tratamentos que tiveram adição do polímero (Tabela 5). Todos os tratamentos com quitosana apresentaram um maior oxidação lipídica durante as etapas de processamento. Vale ressaltar que a capacidade antioxidante da quitosana pode variar de acordo com o grau de desacetilação e peso molecular da quitosana utilizada (EL-HACK et al., 2020). O mecanismo de efeito antioxidante da quitosana em produtos cárneos é atribuído à sua capacidade de quelar íons metálicos, como ferro, ligados a moléculas de hemoglobina e mioglobina, que atua como um catalisador para essa reação (EL-HACK et al., 2020, KAMIL, 2002). Além disso, existe um potencial efeito de interferentes formados pela interação de quitosana com MDA (OZAKI et al. 2020).

Não houve diferença significativa ($P>0,05$) entre os tratamentos em relação à composição centesimal (Tabela 8), cujos valores médios atendem à legislação brasileira para a identidade e a qualidade de presuntos crus (BRASIL, 2000), que estabelece, no mínimo, 27% de proteína e máximo de 20% de gordura.

Tabela 8 - Valores médios (\pm desvio-padrão) da composição centesimal de presuntos crus desossados curados.

Característica	%
Umidade	48,89 \pm 3,70
Proteína	34,19 \pm 2,21
Gordura	10,83 \pm 1,67
Cinzas	4,90 \pm 1,11

Fonte: Da autora.

Na elaboração de produtos curados e dessecados elaborados à base de carne de cordeiros, Lima (2017) relatou dados semelhantes, 32,76% de proteína, 11,97% de gordura, 47,60% de umidade e 8,30% de cinzas nos produtos finais. Já em presuntos crus desossados, Bergamin Filho et al. (2010) obtiveram médias de 35,62% de proteína, 5,72% de gordura, 50,85% de umidade e 7,49% de cinzas,

4.1.3 Avaliação objetiva da cor

Os tratamentos também não afetaram ($P>0,05$) os índices de cor dos produtos elaborados (Tabela 9) e os valores de L^* , a^* , C^* e h foram afetados ($P<0,05$) pelas etapas do processo. Os valores médios de luminosidade (L^*) foi de 36,99 no produto acabado; ângulo de tonalidade (h), 38,98, o índice de vermelho (a^*), 8,17; e saturação (C^*), 10,55. Os valores para o índice de amarelo (b) não apresentou nenhuma diferença significativa.

Tabela 9 - Efeitos (média \pm desvio-padrão) da etapa de processo nos índices de cor da CIE de presuntos crus desossados e curados.

Característica	P2	P3
Luminosidade, L^*	40,05 \pm 5,43 ^A	37,19 \pm 3,90 ^B
Índice de vermelho, a^*	5,48 \pm 1,83 ^A	7,76 \pm 1,8 ^B
Índice de amarelo, b^*	6,47 \pm 1,33 ^A	6,74 \pm 1,17 ^B
Saturação, C^*	8,61 \pm 1,64 ^A	10,40 \pm 1,44 ^B
Ângulo de tonalidade, h (graus)	50,13 \pm 10,35 ^A	41,38 \pm 9,20 ^B

Etapas: P2 = produto seco; P3 = produto seco e maturado por 30 dias.

^{A-B} Médias seguidas por letras diferentes, na linha, diferem ($P<0,05$) pelo teste F.

Fonte: Da autora.

Em perna de cordeiro desossada, curada e dessecada elaborada com GDL nas mesmas condições de leitura (CIELAB e iluminante D65), Palhares (2011) encontrou os seguintes valores para índices de cor no produto: $L^* = 39,28$; $a^* = 13,08$; e $b^* = 5,56$, apresentaram, ainda, um índice de saturação de cor maior ($C^* = 14,32$) e menor tonalidade ($h^* = 23,45$) do que os produtos elaborados neste experimento. Andres et al. (2008) trabalhando com presunto cru inteiro (com ossos) com cura seca e diferentes níveis de cloreto de sódio (6 e 3%), observou uma média de valores de L^* (34,9 \pm 1,0), a^* (12,7 \pm 0,6), b^* (6,5 \pm 0,5), C^* (14,5 \pm 0,6) e h (27,3 \pm 1,6). Os maiores valores de C^* e a^* em presuntos curados tem sido relacionados a uma intensa dessecação, que normalmente é alcançada em longos períodos de maturação e secagem, como no caso de presuntos crus inteiros.

As diferenças encontradas nos parâmetros de cor podem estar associadas a muitos fatores, desde a matéria-prima utilizada (espécie e idade do animal, condições de criação, tipo de músculos utilizados etc.) até as características do processamento (ingredientes utilizados, tempo de salga e maturação etc.).

4.1.4 Análises microbiológicas

Nas análises microbiológicas foi observada diferença significativa ($P>0,05$) nos pontos de amostragem, em relação à contagem de bactérias lácticas (BAL), em todos os tratamentos, exceto o tratamento adicionado de 150 mg/Kg de NO₂ e 1% de QUIT (Tabela 10). Observa-se que os tratamentos adicionados de quitosana obtiveram redução na contagem, e quando adicionado de QUIT e GDL obtiveram redução significativa em ambos os níveis de NO₂ (75 e 150 mg/Kg). Para a contagem de mesófilos (MES), observou-se efeito similar exceto para o tratamento com 150 mg/Kg de NO₂ e QUIT, o qual teve contagem mais elevada.

Tabela 10 - Efeitos (média \pm desvio-padrão) da adição de nitrito de sódio (NO₂), glucona delta-lactona (GDL) e quitosana (QUIT) na contagem de bactérias do ácido láctico (BAL) e mesófilos em presuntos crus desossados durante o processo de elaboração.

Característica	NO ₂ mg/kg	GDL %	QUIT %	P2	P3
BAL (log UFC/g)	75	0,0	0,0	5,65 \pm 0,06 ^{Aa}	6,53 \pm 0,03 ^{Ba}
	75	0,0	1,0	3,87 \pm 0,24 ^{Ab}	5,06 \pm 0,03 ^{Bbd}
	75	0,3	0,0	5,64 \pm 0,11 ^{Aa}	6,62 \pm 0,01 ^{Ba}
	75	0,3	1,0	4,56 \pm 0,02 ^{Ac}	5,11 \pm 0,04 ^{Bbd}
	150	0,0	0,0	6,08 \pm 0,02 ^{Ad}	5,22 \pm 0,11 ^{Bb}
	150	0,0	1,0	5,59 \pm 0,01 ^{Aa}	5,97 \pm 0,17 ^{Bc}
	150	0,3	0,0	6,13 \pm 0,02 ^{Ae}	4,79 \pm 0,13 ^{Bd}
	150	0,3	1,0	2,72 \pm 0,03 ^{Af}	2,70 \pm 0,01 ^{Ae}
Mesófilos (log UFC/g)	75	0,0	0,0	6,69 \pm 0,07 ^{Aa}	5,79 \pm 0,02 ^{Ba}
	75	0,0	1,0	3,43 \pm 0,02 ^{Ab}	4,43 \pm 0,07 ^{Bbc}
	75	0,3	0,0	6,06 \pm 0,03 ^{Aa}	5,40 \pm 0,02 ^{Aa}
	75	0,3	1,0	3,93 \pm 0,03 ^{Ab}	4,10 \pm 0,14 ^{Ac}
	150	0,0	0,0	6,22 \pm 0,45 ^{Aa}	4,61 \pm 0,01 ^{Bbc}
	150	0,0	1,0	4,83 \pm 0,06 ^{Ac}	5,90 \pm 0,08 ^{Ba}
	150	0,3	0,0	6,55 \pm 0,03 ^{Aa}	4,59 \pm 0,41 ^{Bbc}
	150	0,3	1,0	1,92 \pm 0,11 ^{Ad}	2,53 \pm 0,07 ^{Ad}

Etapas: P2 = produto seco; P3 = produto seco e maturado por 30 dias.

UFC = unidade formadoras de colônias.

^{A-C} Médias seguidas por letras diferentes, na linha, diferem ($P<0,05$) pelo teste F.

^{a-e} Médias seguidas por letras diferentes, na coluna, diferem ($P<0,05$) pelo teste de Tukey.

Fonte: Da autora.

Os tratamentos com QUIT, GDL e 150 mg/Kg de NO₂ obtiveram as menores contagens de ambos microorganismos e esse efeito pode ser atribuído à ação antimicrobiana

da quitosana, Ozaki (2020) observou que o uso de quitosana (0,25 a 0,5%) em salames reduziu a contagem de mesófilos e bactérias lácticas durante 10 dias de processamento.

Em todos os tratamentos tiveram diferença significativa ($P < 0,05$), havendo aumento populacional dos microrganismos avaliados, a partir da contagem inicial da matéria prima (BAL=6,68 e MES=5,31). Esse crescimento é esperado devido à temperatura mais alta (20°C) aplicada durante o período de maturação associado à fermentação natural. Entretanto, não existem, na legislação brasileira, valores estabelecidos para esses tipos de microrganismo em produtos cárneos, porém o crescimento de mesófilos deve ser controlado, pois se caracterizam como microrganismos deteriorantes e são considerados como indicadores de qualidade. Valores superiores a 6 log UFC/g podem afetar a qualidade e a vida útil do produto (KUMAR et al., 2017).

Valores próximos aos encontrados neste trabalho foi relatado por Bergamin Filho et al. (2010), em estudos com presuntos crus desossados, elaborados com transglutaminase, obtendo contagem de mesófilos de 5,43 e 5,28 log UFC/g e de bactérias lácticas 6,06 e 6,05 log UFC/g, nos tratamentos com 3,5% e 5% de sal, respectivamente. Contagens superiores foram relatadas por Sadeghi-Mer et al. (2016) para presunto cru desossado e reestruturado, utilizando transglutaminase, 6,86 e 6,64 para mesófilos e bactérias lácticas, respectivamente. Palhares (2011) observou contagens de 6,28 log UFC/g, para mesófilos e 10,38 log UFC/g, para bactérias lácticas, em perna de cordeiro desossada, curada e dessecada elaboradas com GDL, valores superiores ao encontrados nesse estudo.

Contagem mais elevada para presunto cru reestruturado já foi relatada por Sadeghi-Mehr (2016) que comparou o crescimento de bactérias lácticas e microrganismos aeróbios mesófilos em presuntos crus reestruturados, utilizando-se GDL, transglutaminase ou alginato, comparando com o presunto cru elaborado inteiro. De forma geral, as contagens de ambos os microrganismos foram 2-4 ciclos log mais altas em amostras reestruturadas do que em inteiras. Esse fato pode ser justificado pelo fato de que nas amostras reestruturadas os microrganismos estão dispersos de forma bastante uniforme por todo o produto, devido a maior área superficial.

4.1.6 Armazenamento do presunto cru fatiado

Na Tabela 11 são apresentados os valores médios de TBARS dos produtos fatiados nos tempos 0 e 45 dias de armazenamento. Para os valores de TBARS foi observado efeito

significativo apenas para as interações entre nitrito *versus* tempo de armazenamento e quitosana *versus* GDL.

Os valores de TBARS foram diferentes significativamente com relação à adição de diferentes níveis nitrito de sódio (75 e 150 mg/Kg), havendo diferença significativa ($P < 0,05$) no tempo 0 (Tabela 11). Tal efeito já foi discutido anteriormente.

Tabela 11 - Efeitos (média \pm desvio-padrão) da adição de nitrito de sódio (NO₂) nos valores de TBARS (mg MAD/Kg) de fatias de presuntos crus desossados curados durante o armazenamento refrigerado (4 °C) em embalagem a vácuo.

NO ₂ (mg/kg)	Armazenamento (dias)	
	0	45
75	1,59 \pm 0,37 ^{Aa}	2,71 \pm 0,24 ^{Ba}
150	1,89 \pm 0,32 ^{Ab}	2,66 \pm 0,60 ^{Ba}

TBARS = substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico; e MAD = malonaldeído.

^{A-B} Médias seguidas por letras diferentes, na linha, diferem ($P < 0,05$) pelo teste F.

^{a-b} Médias seguidas por letras diferentes, na coluna, diferem ($P < 0,05$) pelo teste F.

Fonte: Da autora.

Após os 45 dias de armazenamento a vácuo, sob refrigeração, tratamentos adicionados de 75 e 150 mg/Kg de nitrito alcançaram valores de TBARS que não possuem diferença significativa ($P > 0,05$) entre si, indicando que a estabilidade dos produtos no armazenamento não foi afetada pela redução do conteúdo de nitrito. O aumento progressivo da oxidação lipídica durante o armazenamento de presunto cru fatiado já foi relatado por diversos autores (RAMIREZ et al., 2021; AMARO-BLANCO et al., 2018; PARRA et al. 2012).

Em contraste com o encontrado, Lima (2017) relatou que os valores de TBARS permaneceram constantes (1,22 mg MDA/Kg) durante 120 dias de estocagem fatias de produtos curados e dessecados de carne de cordeiros embaladas a vácuo.

A interação da adição da GDL (0 e 0,3%) e quitosana (0 e 1%) também foi significativa ($P < 0,05$). Os valores para o índice de oxidação lipídica (TBARS) para os tratamentos adicionados de quitosana (1%) não sofreram alterações durante os 45 dias de armazenamento, demonstrando que a quitosana possui efeito antioxidante (Tabela 12).

Estudo de Martins et al.(2018) avaliou a estabilidade de fatias de mortadelas adicionadas de diferentes concentrações de quitosana (0,1,2 e 3%) durante 60 dias de armazenamento. Para amostras sem adição de quitosana houve aumento significativo do índice de oxidação, as demais amostras, notou-se que no tempo 0, todas as amostras contendo quitosana apresentaram valores superiores ao controle, mas com o passar do tempo esses valores foram reduzidos, constatando o possível efeito antioxidante da quitosana sobre o

produto. No entanto, em tratamentos adicionados de quitosana e GDL não foi possível observar a ação antioxidante da quitosana, sugerindo que possa ter ocorrido alguma interação entre os compostos com o malonaldeído, como já mencionado anteriormente.

Tabela 12 - Efeitos (média \pm desvio-padrão) da adição de glucona delta-lactona (GDL) e quitosana (QUIT) nos valores de TBARS (mg MAD/Kg) em fatias de presuntos crus desossados curados.

GDL (%)	QUIT (%)	
	0,0	1,0
0,0	1,97 \pm 0,60 ^{Aa}	2,04 \pm 0,58 ^{Aa}
0,3	2,19 \pm 0,59 ^{Aa}	2,66 \pm 0,56 ^{Bb}

TBARS = substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico; e MAD = malonaldeído.

^{A-B} Médias seguidas por letras diferentes, na linha, diferem ($P < 0,05$) pelo teste F.

^{a-b} Médias seguidas por letras diferentes, na coluna, diferem ($P < 0,05$) pelo teste F.

Fonte: Da autora.

Para os índices de cor apenas a tonalidade (h) foi afetada pelos fatores (interação tripla nitrito x quitosana x GDL) ($P < 0,05$). Os índices de cor L^* , a^* , b^* e C^* não foram afetados ($P > 0,05$) pelos tratamentos durante o tempo de armazenamento; os valores médios estão listados na Tabela 13. Provavelmente, não foi observada alteração nas cores com o tempo devido ao curto tempo de armazenamento, não sendo suficiente para causar alteração.

Tabela 13 - Valores (média \pm desvio-padrão) dos índices de cor de fatias dos presuntos crus desossados curados.

Característica	Armazenamento (dias)		Média
	0	45	
Luminosidade, L^*	41,47 \pm 4,00	40,31 \pm 3,18	40,89 \pm 3,62
Índice de vermelho, a^*	10,44 \pm 2,33	10,53 \pm 3,32	10,48 \pm 2,84
Índice de amarelo, b^*	9,02 \pm 2,92	9,45 \pm 3,57	9,24 \pm 3,23
Saturação, C^*	13,89 \pm 3,35	14,45 \pm 4,43	14,17 \pm 3,90
Ângulo de tonalidade, h (graus)	40,29 \pm 6,75	41,61 \pm 5,91	40,95 \pm 6,31

TBARS = substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico; e MAD = malonaldeído.

Fonte: Da autora.

Wang, Jiang e Lin (1995) diz que o ligeiro aumento de b^* no presunto fatiado é relacionado ao aumento da oxidação lipídica durante o armazenamento. Já diminuição dos valores de a^* , é resultante, principalmente, de um desbotamento da cor do presunto curado a seco, sendo atribuído à oxidação da nitrosomioglobina, resultando na formação de metamioglobina, que é a principal responsável pelo escurecimento da carne (RAMOS;

GOMIDE,2007). Como o produto foi embalado a vácuo, sem contato com o oxigênio, não foi observada alteração nesse valor.

A luminosidade é normalmente atribuída à quantidade de luz refletida por uma superfície, portanto, cores mais brancas refletem mais luz, valores de L^* pode também estar relacionado à degradação oxidativa (PARRA et al, 2012), além disso, alterações de luminosidade no presunto curado fatiado podem ser negativas, uma vez que as modificações na cor típica do presunto curado podem influenciar a escolha do consumidor no supermercado (MORALES et al. 2013).

Estudo de Ramirez et al. (2021) demonstrou que em amostras de presunto cru Ibérico, após 4 meses de armazenamento a vácuo e em refrigeração, valores semelhantes para L (40,5) e b^* (14,0), no entanto encontrou produtos com maiores valores de vermelho, a^* (22,3), saturação C^* (26,6) e, correlacionado aos demais parâmetros, tonalidades mais próximas ao vermelho, h (32,1), tendo apenas diferença significativa para o tempo de armazenamento em C^* , havendo um decréscimo. Em concordância com o encontrado neste trabalho. Amaro-Blanco et al. (2018) não observaram diferença significativa nos parâmetros de cor com tempo de armazenamento (150 dias), para paleta Ibérica curada a seco embalada a vácuo e em refrigeração.

Vale ressaltar que as diferenças entre os parâmetros de cor nos diversos trabalhos, podem ser fruto de diversos fatores, como tipo a matéria-prima, ingredientes utilizados, período e condições de secagem e maturação durante a elaboração dos produtos, o tempo de armazenamento e as condições (temperatura, embalagem, presença de luz etc.) de armazenamento etc.

Os valores de h foram afetados pela interação tripla $NO_2 \times GDL \times QUIT$ (Tabela 14). Convencionalmente, no sistema CIELAB a tonalidade do produto é convencionalmente dividida em quadrantes, sendo que na região do ângulo 330° a 25° se encontram as tonalidades vermelhas, de 25° a 70° as laranjas e de 70° a 100° as tonalidades amarelas (RAMOS; GOMIDE, 2007). Apesar de tonalidades diferentes, todos os produtos estão situados no quadrante que caracteriza cor alaranjada. No geral, tratamentos que foram adicionados de quitosana apresentaram maiores valores para o atributo de tonalidade (h), tornando-se mais distante da coloração vermelha do que os demais. Tal fato pode estar relacionado à formação de nitrosomioglobina, pigmento de confere aos produtos curados cor avermelhada ou pela cor característica da quitosana, cor clara (bege), em forma de pó que foi adicionada.

Tabela 14 - Efeitos (média \pm desvio-padrão) da adição de nitrito de sódio (NO₂), glucona delta-lactona (GDL) e quitosana (QUIT) na tonalidade (h, graus) da cor de fatias de presuntos crus desossados curados durante o armazenamento refrigerado (4 °C) em embalagem a vácuo.

NO ₂ mg/kg	GDL %	QUIT %	Armazenamento (dias)		Média
			0	45	
75	0,0	0,0	37,00 \pm 7,04	37,22 \pm 2,28	37,11 \pm 4,68 ^{ab}
75	0,0	1,0	41,59 \pm 9,48	44,66 \pm 5,58	43,12 \pm 7,16 ^{bcd}
75	0,3	0,0	34,85 \pm 3,61	36,21 \pm 5,77	35,53 \pm 4,37 ^a
75	0,3	1,0	44,07 \pm 5,63	46,29 \pm 3,40	45,18 \pm 4,34 ^{cd}
150	0,0	0,0	37,37 \pm 4,88	38,56 \pm 3,62	37,96 \pm 3,90 ^{abc}
150	0,0	1,0	48,63 \pm 9,31	48,09 \pm 5,47	48,36 \pm 6,84 ^d
150	0,3	0,0	39,39 \pm 3,24	41,36 \pm 6,26	40,37 \pm 4,58 ^{abc}
150	0,3	1,0	39,39 \pm 3,79	40,50 \pm 6,27	39,95 \pm 4,67 ^{abc}

^{a-c} Médias seguidas por letras diferentes, na coluna, diferem ($P < 0,05$) pelo teste de Tukey.

Fonte: Da autora.

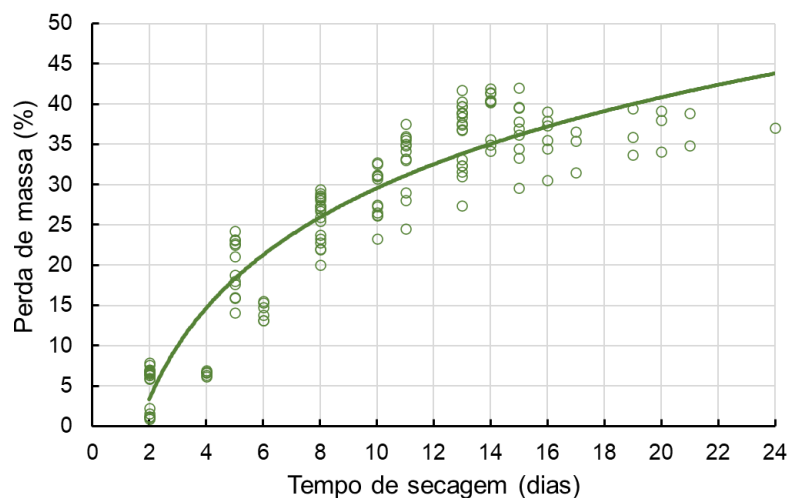
4.2 Experimento 2: Efeito da adição de glucona delta-lactona e quitosana em presunto cru desossado não curados.

4.2.1 Processamento dos produtos

Não houve efeito ($P > 0,05$) da interação ou dos fatores isolados para os coeficientes de regressão da perda de massa durante a etapa de secagem. Desta forma, a regressão logarítmica foi feita considerando todos os dados dos tratamentos, sendo representada na Figura 9. De forma geral, pra que os presuntos atingissem a perda média de 40% de peso ao longo de secagem foram necessários 19 dias (peças de aproximadamente 0,5 Kg) ou 38dias/Kg. Como já discutido no experimento 1, a secagem é uma das principais etapas da produção de presunto cru e é afetada pela ação do sal (NaCl) que penetra e se distribui uniformemente e consequentemente, parte da umidade é retirada do produto pela ação da desidratação osmótica.

Valores próximos ao encontrados nesse estudo foram relatados por Coll-Brass et al. (2021), trabalhando com presunto reestruturado de cordeiro Fenalar, com redução de sal (3,8 e 4,9%) e nitrito de sódio (0 e 144 mg/Kg), sendo necessários 16 dias de secagem para perda de 36% de peso, não observando diferença significativa no tempo de secagem entre as peças desenvolvidas com redução de sal e nitrito de sódio.

Figura 9 - Evolução da perda de massa (PM) dos produtos elaborados sem nitrito de sódio durante a etapa de secagem.



Legenda: Os símbolos representam os valores experimentais e a linha sólida o ajuste do modelo: $PM (\%) = -7,8943 + 16,2675 \times \ln (t)$; $P < 0,001$; $R^2 = 0,91$; t = tempo em dias.

Fonte: Da autora.

A adição de GDL não influenciou no tempo de secagem, como relatado em estudo de Palhares (2011) em que um produto curado dessecado reestruturado, a partir de pernil ovino, a adição de GDL na formulação aumentou a taxa de secagem do produto, diminuindo o tempo necessário para uma perda de peso de 40% (injeção de salmoura-cura úmida) de 85 dias/kg no tratamento controle para 60 dias/kg. A GDL atua na redução do tempo de secagem devido à redução nos valores de pH da massa cárnea, o qual conseqüentemente, se aproxima do ponto isoelétrico das proteínas miofibrilares, reduzindo a sua carga líquida e sua capacidade de reter água (ORDOÑEZ et al., 2007; RUIZ, 2007).

Os valores de umidade e atividade de água não foram afetados ($P > 0,05$) pelos tratamentos adicionados dos antioxidantes (QUIT e VITC) e GDL ou suas interações, apenas pela etapa de processo, reduzindo ($P < 0,05$) durante a elaboração do produto (Tabela 15).

Tabela 15 - Efeitos (média \pm desvio-padrão) da etapa de processo nos valores de umidade, atividade de água (a_w) e pH e acidez de presuntos crus desossados não-curados.

Característica	P1	P2	P3
Umidade (%)	72,18 \pm 1,40 ^A	-	49,3 \pm 5,30 ^B
Atividade de água	0,967 \pm 0,005 ^A	0,904 \pm 0,017 ^B	0,891 \pm 0,016 ^C
pH	6,25 \pm 0,25 ^A	5,90 \pm 0,33 ^B	6,00 \pm 0,30 ^B

Étapas: P1 = produto formado antes da etapa de secagem; P2 = produto seco; P3 = produto seco e maturado por 30 dias.

^{A-C} Médias seguidas por letras diferentes, na linha, diferem ($P < 0,05$) pelo teste de Tukey.

Fonte: Da autora.

A redução da umidade já era esperada, devido à pressão osmótica gerada pela penetração do sal na carne leva a uma grande perda de água por evaporação ou gotejamento. Valores similares foram encontrados em estudo de Higuero et al. (2020) observou uma umidade final de 56,1% em lombos Ibéricos sem adição de nitrito ou nitrato de sódio e com ascorbato de sódio. Coll Brass et al. (2021) que encontrou umidade final de 57,9% em presunto reestruturado de carne de cordeiro Fenalar sem adição de sais de cura.

Com a redução da umidade descrita anteriormente, causada pelas perdas por evaporação e gotejamento devido a difusão de sal, associada à queda do pH, que contribui para a desidratação durante o período de secagem e maturação, ocorre a concentração do teor de solutos no produto. Esse aumento da concentração de solutos reduz os valores de a_w , de forma que no produto os valores médios obtidos no produto final ($0,89 \pm 0,02$) são condizentes ao exigido ($< 0,92$) pela legislação Brasileira vigente para presuntos crus (BRASIL, 2001). A redução na atividade de água durante o processo também foi observada por Higuero et al. (2020) e Coll Bras et al. (2021), em produtos não curados, obtendo valores médios de 0,92.

Os valores de pH foram afetados ($P < 0,05$) pela etapa de processo e pela interação GDL x ANT e a acidez foi afetada ($P < 0,05$) pela interação de todos os fatores (Tabela 16). O pH final dos presuntos crus nos processos tradicionais (superior a 6,0) pode ser atribuído às reações proteolíticas, resultado da hidrólise de aminoácidos e da exposição de grupos básicos (TOLDRÁ, 2002).

Tabela 16 -Efeitos (média \pm desvio-padrão) da adição de glucona delta-lactona (GDL) e de antioxidantes nos valores de pH de presuntos crus desossados não-curados.

Fator	Nível	pH
GDL (%)	0,0	$6,21 \pm 0,23^a$
	0,3	$5,90 \pm 0,33^b$
Antioxidantes	CONT	$5,99 \pm 0,29^a$
	QUIT	$6,27 \pm 0,24^b$
	VITC	$5,89 \pm 0,31^a$

CONT = sem adição de antioxidante; QUIT = 1% quitosana; VITC = 500 mg/kg eritorbato de sódio.

^{a-b} Médias seguidas por letras diferentes, na coluna, diferem ($P < 0,05$) pelo teste de Tukey.

Fonte: Da autora.

A interação entre os tratamentos adicionados de GDL ou não também foi significativa ($P < 0,05$), sendo que os tratamentos adicionados de GDL alcançaram o maior pH ($6,21 \pm 0,23$) sem GDL do que com ($5,9 \pm 0,33$). Quando o GDL é adicionada na massa cárnea ele se

hidrolisa em ácido glucônico (TOLDRA, 2002), ocasionando redução dos valores de pH, principalmente nos estágios iniciais do processo (FREY, 1983). Palhares (2011) observou que os produtos curados dessecados de cordeiro adicionados de GDL apresentaram valores médios de pH menores (4,97) do que os produtos sem adição de GDL (5,71). Resultado semelhante foi encontrado por Lima et al. (2017) na produção de um produto dessecado curado ovino adicionado de prebióticos e probióticos, utilizando GDL, obtendo pH final em média de 5,11.

Entre os antioxidantes, observou-se que tratamentos sem antioxidante e com VITC ($5,94 \pm 0,30$) foram menores do que QUIT ($6,27 \pm 0,24$). Os valores maiores de pH para as amostras contendo quitosana se deve, provavelmente, devido à quitosana ser uma fibra de origem animal derivada da quitina que se caracteriza por possuir grupos amínicos livres, caracterizando-se como um composto alcalino.

Todos os tratamentos tiveram um acréscimo (Tabela 17) na acidez do início do processo, após a etapa de mistura, ao produto acabado. O aumento dessa acidez é oriundo do crescimento de bactérias lácticas que fermentam açúcares (glicose) gerando ácido lático, o que leva a uma rápida redução do pH do produto e criando um ambiente hostil para o crescimento de microrganismos patogênicos e deteriorantes (KUMAR, 2015). Portanto, observa-se que os produtos que tiveram adição de QUIT alcançaram menores valores de acidez, devido ao menor crescimento de bactérias lácticas (Tabela 20), devido a ação antimicrobiana que a quitosana possui.

Tabela 17 - Efeitos (média \pm desvio-padrão) da adição de glucona delta-lactona (GDL) e de antioxidantes nos valores de acidez (% ác. lático) de presuntos crus desossados não-curados durante o processo de elaboração.

Antioxidante	GDL %	P1	P2	P3
CONT	0.0	$0,86 \pm 0,01^{Aa}$	$1,01 \pm 0,06^{Aa}$	$3,31 \pm 0,25^{Ba}$
QUIT	0.0	$0,45 \pm 0,02^{Ab}$	$0,60 \pm 0,02^{Bb}$	$1,88 \pm 0,07^{Cc}$
VITC	0.0	$0,83 \pm 0,03^{Aa}$	$1,13 \pm 0,05^{Ba}$	$2,52 \pm 0,14^{Cd}$
CONT	0.3	$0,83 \pm 0,09^{Aa}$	$1,07 \pm 0,02^{Aa}$	$2,15 \pm 0,02^{Bb}$
QUIT	0.3	$0,42 \pm 0,11^{Ab}$	$0,67 \pm 0,01^{Bb}$	$2,05 \pm 0,04^{Cb}$
VITC	0.3	$0,64 \pm 0,04^{Ac}$	$0,84 \pm 0,01^{Bc}$	$2,42 \pm 0,22^{Cd}$

Etapas: P1 = produto formado antes da etapa de secagem; P2 = produto seco; P3 = produto seco e maturado por 30 dias.

CONT = sem adição de antioxidante; QUIT = 1% quitosana; VITC = 500 mg/kg eritorbato de sódio.

^{A-C} Médias seguidas por letras diferentes, na linha, diferem ($P < 0,05$) pelo teste de Tukey.

^{a-d} Médias seguidas por letras diferentes, na coluna, diferem ($P < 0,05$) pelo teste de Tukey.

Fonte: Da autora.

O índice de oxidação lipídica, quantificado pelo método TBARS foi afetado pela interação da etapa de processo x ANT e pelo fator GDL isolado (Tabela 18). Durante a maturação de produtos curados secos, a oxidação é induzida pela quantidade de ácidos graxos livres liberados em consequência da ação lipolítica de sistemas enzimáticos endógenos (TOLDRÁ, 2002). O sabor típico de presunto e apreciado por seus consumidores é gerado por processos envolvendo proteólise e lipólise (HARKOUSS et al., 2015).

Tabela 18 - Efeitos (média \pm desvio-padrão) da adição de antioxidantes nos valores de TBARS (mg MAD/Kg) de presuntos crus desossados não-curados durante o processo de elaboração.

Antioxidante	P1	P2	P3
CONT	1,30 \pm 0,30 ^{Aa}	2,14 \pm 0,16 ^{Ba}	3,73 \pm 0,35 ^{Ca}
QUIT	0,89 \pm 0,22 ^{Ab}	1,18 \pm 0,17 ^{Bb}	1,98 \pm 0,50 ^{Cb}
VITC	0,68 \pm 0,08 ^{Ab}	1,28 \pm 0,34 ^{Bb}	1,97 \pm 0,41 ^{Cb}

Etapas: P1 = produto formado antes da etapa de secagem; P2 = produto seco; P3 = produto seco e maturado por 30 dias.

CONT = sem uso de antioxidantes; QUIT = produto adicionado de 1,0% de quitosana; VITC = produto adicionado de 550 mg/kg de eritorbato de sódio.

^{A-C} Médias seguidas por letras diferentes, na linha, diferem ($P < 0,05$) pelo teste de Tukey.

^{a-b} Médias seguidas por letras diferentes, na coluna, diferem ($P < 0,05$) pelo teste de Tukey.

Fonte: Da autora.

Os valores do índice de oxidação lipídica podem variar de acordo com a metodologia utilizada, se o homogenato é obtido por destilação ou extração, o solvente utilizado na extração (TCA, ácido perclórico, água, etc.), o tipo e a quantidade de antioxidante (BHT e BHA) utilizado para evitar a oxidação durante o processo de extração e o uso de sulfanilamida para evitar interferências com nitrito, uso de temperos e etc (OSAWA; FELÍCIO; GONÇALVES, 2005).

Observou-se que a adição de QUIT e VITC resultou em valores de TBARS sem diferenças significativas ($P < 0,05$) no produto acabado, e inferiores quando comparados ao controle (Tabela 18). Vários estudos relatam a ação antioxidante da quitosana quando adicionada em produtos cárneos (AVELELAS et al., 2019; MARTINS et al. 2019), tal efeito está relacionado a sua capacidade de quelar íons metálicos, como ferro, ligados a moléculas de hemoglobina e mioglobina, que atua como um catalisador para essa reação (EL-HACK et al., 2020, KAMIL, 2002).

A VITC possui efeito antioxidante por reagir com o oxigênio livre, resultando em diminuição das reações de auto-oxidação por eliminação do suprimento de oxigênio disponível. O ácido ascórbico também atua sinergicamente com agentes complexantes,

diminuindo o estado de oxidação de alguns metais, reduzindo a atividade catalítica deles. (BOBBIO; BOBBIO, 2001), sendo necessário concentrações acima de 100 mg/Kg, sendo que em concentrações mais baixas pode acelerar o desenvolvimento da rancidez oxidativa (GRAY; PEARSON, 1987).

Não houve diferença significativa ($P>0,05$) entre os tratamentos em relação à composição centesimal (Tabela 19), cujos valores médios atendem à legislação brasileira para a identidade e a qualidade de presuntos crus (BRASIL, 2000), que estabelece, no mínimo, 27% de proteína e máximo de 20% de gordura.

Tabela 19 - Valores médios (\pm desvio-padrão) da composição centesimal de presuntos crus desossados não-curados.

Característica	%
Umidade	49,30 \pm 5,30
Proteína	33,26 \pm 1,89
Gordura	10,32 \pm 1,29
Cinzas	5,00 \pm 0,79

Fonte: Da autora.

4.2.2 Análises microbiológicas

A contagem microbiana foi afetada ($P<0,05$) pela interação de todos os fatores (Tabela 20). É possível notar que houve uma ligeira redução do crescimento de BAL durante as etapas de processamento para os tratamentos adicionados de GDL. No entanto, não se sabe se GDL tem alguma atividade antimicrobiana além de seu efeito de redução de pH (BARMPALIA et al., 2005), descrito anteriormente.

O crescimento de aeróbios mesófilos observou uma redução da contagem para tratamentos CONT (com ou sem GDL) e VITC (com ou sem GDL). É possível, no entanto, que a combinação de diversos fatores já mencionados acima (pH, redução da a_w , teor de sal) possa ter resultado na atividade antimicrobiana dos tratamentos, indicando que barreiras aplicadas em conjunto em níveis e intensidades mais baixas podem controlar os microrganismos em alimentos com mais sucesso.

Em ambas as contagens (BAL e MES) os produtos adicionados de QUIT obtiveram valores inferiores aos demais, reduzindo até três ciclos log. O efeito antimicrobiano da QUIT vem sendo estudado em produtos cárneos, Ozaki (2020) observou que o uso de quitosana (0,25 a 0,5%) em salames reduziu a contagem de mesófilos e bactérias lácticas durante 10 dias de processamento.

Tabela 20 - Efeitos (média \pm desvio-padrão) da adição de diferentes antioxidantes e glucona delta-lactona (GDL) na contagem de bactérias do ácido lático (BAL) e mesófilos em presuntos crus desossados não-curados durante o processo de elaboração. (continua)

Característica	Antioxidante	GDL %	P2	P3	
BAL (log UFC/g)	CONT	0.0	6,46 \pm 0,02 ^{Aa}	6,70 \pm 0,03 ^{Ba}	
	QUIT	0.0	3,49 \pm 0,02 ^{Ab}	5,09 \pm 0,07 ^{Bc}	
	VITC	0.0	6,40 \pm 0,01 ^{Aa}	6,50 \pm 0,02 ^{Ae}	
	CONT	0.3	6,45 \pm 0,01 ^{Aa}	6,15 \pm 0,03 ^{Bb}	
	QUIT	0.3	3,62 \pm 0,03 ^{Ab}	3,48 \pm 0,01 ^{Ad}	
	VITC	0.3	6,04 \pm 0,02 ^{Ac}	6,01 \pm 0,03 ^{Ab}	
	Mesófilos (log UFC/g)	CONT	0.0	7,84 \pm 0,18 ^{Aa}	6,60 \pm 0,01 ^{Ba}
		QUIT	0.0	3,29 \pm 0,05 ^{Ac}	4,03 \pm 0,04 ^{Bc}
		VITC	0.0	7,87 \pm 0,18 ^{Aa}	6,68 \pm 0,01 ^{Ba}
CONT		0.3	7,48 \pm 0,03 ^{Ab}	5,97 \pm 0,04 ^{Bb}	
QUIT		0.3	3,35 \pm 0,07 ^{Ac}	4,10 \pm 0,14 ^{Bc}	
VITC		0.3	7,14 \pm 0,05 ^{Ad}	5,95 \pm 0,04 ^{Bb}	

Etapas: P2 = produto seco; P3 = produto seco e maturado por 30 dias.

CONT = sem uso de antioxidantes; QUIT = produto adicionado de 1,0% de quitosana; VITC = produto adicionado de 550 mg/kg de eritorbato de sódio.

^{A-B} Médias seguidas por letras diferentes, na linha, diferem ($P < 0,05$) pelo teste F.

^{a-c} Médias seguidas por letras diferentes, na coluna, diferem ($P < 0,05$) pelo teste de Tukey.

Fonte: Da autora.

No entanto, não existem, na legislação brasileira, valores estabelecidos para esses tipos de microrganismo em produtos cárneos, porém o crescimento de mesófilos deve ser controlado, pois se caracterizam como microrganismos deteriorantes e são considerados como indicadores de qualidade. Valores superiores a 6 log UFC/g podem afetar a qualidade e a vida útil do produto (KUMAR et al., 2017).

4.2.3 Avaliação objetiva da cor

Os produtos apresentaram valores médios de tonalidade (h) de 62,25 \pm 11,53, saturação (C^*) de 7,6 \pm 1,63, luminosidade (L^*) de 39,5 \pm 3,37, índice de vermelho (a^*) de 3,6 \pm 1,83 e índice de amarelo (b^*) 6,52 \pm 1,23. Apenas o índice de vermelho (a^*) e ângulo de tonalidade (h) foram afetados ($P > 0,05$) pela interação tripla entre etapa de processo x ANT (Tabela 21). Valores similares ao este estudo foram encontrados por Higuero et al. (2020) na elaboração de lombo Ibérico não curado, L^* (42,3) a^* (5,7) b^* (9,9).

Tabela 21 - Efeitos (média \pm desvio-padrão) da adição de diferentes antioxidantes e glucona delta-lactona (GDL) nos índices de cor de presuntos crus desossados não-curados durante o processo de elaboração.

Característica	Antioxidante	GDL %	P2	P3
Índice de vermelho, a^*	CONT	0.0	2,88 \pm 0,69 ^{ab}	3,75 \pm 1,33 ^a
	QUIT	0.0	1,43 \pm 0,40 ^{Aa}	4,90 \pm 0,66 ^{Bab}
	VITC	0.0	2,55 \pm 1,37 ^{Aab}	4,28 \pm 0,75 ^{Bab}
	CONT	0.3	1,08 \pm 0,47 ^{Aa}	6,11 \pm 1,25 ^{Bb}
	QUIT	0.3	3,96 \pm 1,38 ^b	5,07 \pm 1,45 ^{ab}
	VITC	0.3	1,87 \pm 0,83 ^{Aa}	5,36 \pm 1,70 ^{Bab}
Ângulo de tonalidade, h (graus)	CONT	0.0	65,20 \pm 4,10 ^{ac}	60,22 \pm 4,46 ^a
	QUIT	0.0	78,53 \pm 5,25 ^{Ab}	53,37 \pm 5,66 ^{Bab}
	VITC	0.0	70,27 \pm 5,75 ^{Aabc}	54,14 \pm 4,44 ^{Bab}
	CONT	0.3	79,04 \pm 4,76 ^{Ab}	47,16 \pm 4,82 ^{Bb}
	QUIT	0.3	61,54 \pm 7,71 ^c	56,12 \pm 5,99 ^{ab}
	VITC	0.3	72,65 \pm 5,53 ^{Aab}	48,78 \pm 4,26 ^{Bb}

Étapas: P2 = produto seco; P3 = produto seco e maturado por 30 dias.

CONT = sem uso de antioxidantes; QUIT = produto adicionado de 1,0% de quitosana; VITC = produto adicionado de 550 mg/kg de eritorbato de sódio.

^{A-B} Médias seguidas por letras diferentes, na linha, diferem ($P < 0,05$) pelo teste F.

^{a-c} Médias seguidas por letras diferentes, na coluna, diferem ($P < 0,05$) pelo teste de Tukey.

Fonte: Da autora.

Para o índice de vermelho (a^*) observou-se que apenas o tratamento CONT não foi afetado pela etapa de processamento, os demais obtiveram um acréscimo significativo. O valor de a^* para produtos curados corresponde, principalmente, a formação de nitrosomioglobina, em produtos não curados ela não é formada devido à omissão do nitrito no processo.

A Zn-protoporfirina IX (ZnPP) tem sido identificado como o principal pigmento estável em presuntos não nitrificados (WAKAMATSU; NISHIMURA; HATTORI, 2004), acredita-se que sua formação se dê a partir da substituição de Fe por Zn na porção heme, e seja principalmente de origem enzimática, pela enzima ferroquelatase (também conhecida como Zn-quelatase) (WAKAMATSU et al; 2004). A formação do pigmento estável ZnPP pode ser influenciada pela atuação em alguns fatores intrínsecos e extrínsecos (BOU et al., 2018). Nesse sentido, a enzima ferroquelatase é capaz de remover o íon Fe da porfirina em uma faixa de pH ideal entre 5,5 e 6,0 (CHAU et al., 2010; ISHIKAWA et al., 2006). Justificando, portanto, que tratamentos com valores mais próximos do pH ideal da enzima ferroquelatase, com GDL, possuem maiores índices de a^* .

Convencionalmente, no sistema CIELAB a tonalidade do produto é convencionalmente dividida em quadrantes, sendo que na região do ângulo 330° a 25° se encontram as tonalidades vermelhas, de 25° a 70° as laranjas e de 70° a 100° as tonalidades amarelas (RAMOS; GOMIDE, 2007). Apesar de tonalidades diferentes, todos os produtos estão situados no quadrante que caracteriza cor alaranjada.

4.2.5 Efeitos do armazenamento do presunto cru não curado e fatiado

O índice de oxidação lipídica, utilizando o método TBARS, no geral observou-se um aumento ($P < 0,05$) com o tempo de armazenamento (Tabela 22). O aumento progressivo da oxidação lipídica durante o armazenamento de presunto cru fatiado já foi relatado por diversos autores (RAMIREZ et al., 2021; AMARO-BLANCO et al., 2018; PARRA et al. 2012). Os valores de TBARS foram ainda afetados ($P < 0,05$) pela interação entre tempo de armazenamento e antioxidantes, em que o tratamento CONT (sem nenhuma adição de antioxidante) obteve os maiores valores e a QUIT obteve menores valores que a VITC, validando seu poder antioxidante.

Tabela 22 - Efeitos (média \pm desvio-padrão) da adição de antioxidantes nos valores de TBARS (mg MAD/Kg) de fatias de presuntos crus desossados não-curados durante o armazenamento refrigerado (4 °C) em embalagem a vácuo.

Antioxidante	Armazenamento (dias)	
	0	45
CONT	3,73 \pm 0,35 ^{Aa}	4,49 \pm 0,12 ^{Ba}
QUIT	1,98 \pm 0,50 ^{Ab}	3,08 \pm 0,54 ^{Bb}
VITC	1,97 \pm 0,41 ^{Ab}	3,55 \pm 0,44 ^{Bc}

TBARS = substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico; e MAD = malonaldeído.

^{A-B} Médias seguidas por letras diferentes, na linha, diferem ($P < 0,05$) pelo teste F.

^{a-b} Médias seguidas por letras diferentes, na coluna, diferem ($P < 0,05$) pelo teste de Tukey.

Fonte: Da autora.

Estudo de Martins et al. (2018) avaliou a estabilidade de fatias de mortadelas adicionadas de diferentes concentrações de quitosana (0,1,2 e 3%) durante 60 dias de armazenamento. Para amostras sem adição de quitosana houve aumento significativo do índice de oxidação, as demais amostras, notou-se que no tempo 0, todas as amostras contendo quitosana apresentaram valores superiores ao controle, mas com o passar do tempo esses valores foram reduzidos, constatando o possível efeito antioxidante da quitosana sobre o produto.

Os índices de cor a^* , b^* , h (graus) e C^* não foram afetados ($P>0,05$) pelos tratamentos durante o tempo de armazenamento, os valores médios estão listados na Tabela 23. Provavelmente, não foi observada alteração nas cores com o tempo devido ao curto tempo de armazenamento, não sendo suficiente para causar alteração.

Tabela 23 - Valores médios (\pm desvio-padrão) dos índices de cor da CIE em fatias de presuntos crus desossados não-curados.

Característica	Valor
Luminosidade, L^*	43,37 \pm 3,16
Índice de vermelho, a^*	6,72 \pm 2,12
Índice de amarelo, b^*	8,49 \pm 2,80
Saturação, C^*	10,89 \pm 3,30
Ângulo de tonalidade, h (graus)	51,34 \pm 6,05

^{A-B} Médias seguidas por letras diferentes, na linha, diferem ($P<0,05$) pelo teste F.

Fonte: Da autora.

Dos índices de cor apenas L^* foi afetado pela interação entre antioxidantes e GDL, em que o tratamento controle apresentou maiores índices de luminosidade (Tabela 24). A luminosidade é normalmente atribuída à quantidade de luz refletida por uma superfície, portanto, cores mais brancas refletem mais luz, valores de L^* pode também estar relacionado à degradação oxidativa (PARRA et al, 2012), além disso, alterações de luminosidade no presunto curado fatiado podem ser negativas, uma vez que as modificações na cor típica do presunto curado podem influenciar a escolha do consumidor no supermercado (MORALES et al. 2013).

Tabela 24 - Efeitos (média \pm desvio-padrão) da adição de antioxidantes e de glucona delta-lactona (GDL) nos valores de luminosidade (L^*) de fatias de presuntos crus desossados não-curados.

Antioxidante	GDL (%)	
	0,0	0,3
CONT	43,16 \pm 2,02 ^{Aa}	46,54 \pm 1,92 ^{Aa}
QUIT	45,29 \pm 3,17 ^{Aa}	42,38 \pm 2,32 ^{Bb}
VITC	42,70 \pm 3,43 ^{Aa}	40,14 \pm 2,03 ^{Ab}

^{A-B} Médias seguidas por letras diferentes, na linha, diferem ($P<0,05$) pelo teste F.

^{a-b} Médias seguidas por letras diferentes, na coluna, diferem ($P<0,05$) pelo teste de Tukey.

Fonte: Da autora.

5 CONCLUSÕES

Foi possível elaborar presunto cru desossado e reestruturado, acrescentado de 1% de quitosana e 0,3% de glucona delta-lactona, com características físico-química e microbiológicas satisfatórias, independentemente do nível de nitrito de sódio adicionado (sem adição, 75 ou 150 mg/Kg) e da adição de eritorbato de sódio. No entanto, a segurança microbiológica é acentuada em produtos com a presença de nitrito, o que é esperado devido sua ação conservante.

Os tratamentos adicionados de 1% de quitosana, quando fatiados, embalados a vácuo e mantidos sobre refrigeração por 45 dias, mantiveram melhores características de cor e de índice de oxidação, independentemente da quantidade de nitrito de sódio adicionado. Apesar da quantidade de quitosana adicionada nos presuntos crus desossados não ser suficiente para que os produtos sejam considerados um alimento fonte de fibras, de acordo com a legislação, a sua presença melhorou estabilidade oxidativa dos produtos durante o armazenamento, validando sua atividade antioxidante. Mantendo, portanto, seu efeito promissor, quando utilizado como ingrediente em produtos cárneos, a fim de ser incorporado na dieta.

REFERÊNCIAS

- ANDRÉS, A. et al.. Principles of drying and smoking. In: TOLDRA, F. (ed), **Handbook of fermented meat and poultry**, Blackwell Publishing Ltd, 2008, pp. 37-48.
- ANRAKU, M. et al. Antioxidant properties of high molecular weight dietary chitosan *in vitro* and *in vivo*. **Carbohydrate Polymer**, v.83, p.501–505, 2011.
- ABD EL-HACK, M. E. et al. Antimicrobial and antioxidant properties of chitosan and its derivatives and their applications: A review. **International journal of biological macromolecules**, v. 164, p. 2726–2744, 2020.
- AMARO-BLANCO, G. et al. Active packaging using an olive leaf extract and high pressure processing for the preservation of sliced dry-cured shoulders from Iberian pigs. **Innovative food science & emerging technologies: IFSET: the official scientific journal of the European Federation of Food Science and Technology**, v. 45, p. 1–9, 2018.
- ANDO, H. et al. Purification and Characteristics of a Novel Transglutaminase Derived from Microorganisms. **Agricultural and Biological Chemistry**, v. 53, n. 10, p. 2613-2617.
- Anvisa (2013). IX Lista de alegações de propriedade funcional aprovadas. In: Alimentos com Alegações de Propriedades Funcionais e ou de Saúde, Novos Alimentos/Ingredientes, Substâncias Bioativas e Probióticos. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/wps/content/Anvisa+Portal/Anvisa/Inicio/Alimentos/Assuntos+de+Interesse/Alimentos+Com+Alegacoes+de+Propriedades+Funcionais+e+ou+de+Saude/Alegacoes+de+propriedade+funcional+aprovadas>>. Acessado em: 04/2021.
- ARNAU, J. Technology for the production of cured ham. **Microbiologia**, Madrid, v. 9, p. 3-9, 1993.
- ARNAU, J. Tecnología del jamón curado en distintos países. In: **Simposio especial - International Congress of Meat Science and Technology**, 44. Barcelona, Estrategias Alimentaris S.L.- EUROCARNE, 1998, p.10-21.
- ARNAU, J., G, P., GUERRERO, L., 1994. The effects of freezing, meat pH and storage temperature on the formation of white @lm and tyrosine crystals in dry-cured hams. **Journal of Science and Food Agriculture**, v 66, p 279- 282, 1994.
- BAGAGLI, M.P. Produção de transglutaminase de *Streptomyces* sp. P20, caracterização e aplicação da enzima bruta. 2009. 113f. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos) - Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Engenharia de Alimentos, Campinas, SP.
- BAÑÓN, S. et al. Pre-cure freezing affects proteolysis in dry-cured hams. **Meat science**, v. 51, n. 1, p. 11–16, 1999.
- BANON, S.; GIL, M. D.; GARRIDO, M. D. The effects of castration on the eating quality of dry-cured ham. **Meat Science**, v. 65, n. 3, p. 1031-1037, 2003.

BARMPALIA, I. M. et al. Effect of antimicrobials as ingredients of pork bologna for *Listeria monocytogenes* control during storage at 4 or 10°C. **Food microbiology**, v. 22, n. 2–3, p. 205–211, 2005.

BARROS, M.A.F., et al. *Listeria monocytogenes*: occurrence in beef and identification of the main contamination points in processing plants. **Meat Science**, v 76, p591-596, 2007.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e do Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Instrução Normativa nº 22, de 31 de julho de 2000. Aprova os regulamentos técnicos de identidade e qualidade de copa, de jerked beef, de presunto tipo Parma, de presunto cru, de salame, de salaminho, de salame tipo alemão, de salame tipo calabrés, de salame tipo friolano, de salame tipo napolitano, de salame tipo hamburguês, de salame tipo italiano, de salame tipo milano, de lingüiça colonial e pepperoni. **Diário Oficial da União**, Brasília, 2000. Seção 1, p. 17-18.

BENEKE, B. et al. Verbraucher wünscht Klarheit und Ehrlichkeit. **Zusammengefügtter Rohschinken e Verbrauchertauschung oder mehr? Fleischwirtschaft**, v. 91, p. 44-e48, 2011.

BERARDO, A. et al. Effect of sodium ascorbate and sodium nitrite on protein and lipid oxidation in dry fermented sausages. **Meat science**, v. 121, p. 359–364, 2016.

BERGAMASCHI, M.; PIZZA, A. Effect of pork meat pH on iron release from heme molecule during cooking. **Journal of Life Sciences**, v. 5, p. 376–380, 2011.

BERGAMIN FILHO, W. et al. Método acelerado de processamento de presunto cru. **Food Science and Technology**, Campinas, v. 30, n. 2, p. 494-500, Apr./June 2010.

BERMÚDEZ, R. et al. Physicochemical changes during manufacture and final sensory characteristics of dry-cured Celta ham. Effect of muscle type. **Food control**, v. 43, p. 263–269, 2014.

BIANCHI, T. L. C. F. P. de. **Comparação de processos proteolíticos e lipolíticos em músculos de presuntos curados de uma população suína selecionada de acordo com critérios tecnológicos**. 2013. 71 p. Dissertação (Mestrado em Inovação e Qualidade na Produção Alimentar) - Instituto Politécnico de Castelo Branco, Castelo Branco, 2013.

BINICI, A.; KAYA, G. K. Effect of brine and dry salting methods on the physicochemical and microbial quality of chub (*Squalius cephalus* Linnaeus, 1758). **Food Science and Technology**, v. 38, n. suppl 1, p. 66–70, 2018.

BOLES, J. A. Use of cold-set binders in meat systems. In: **Processed Meats**. [s.l.] Elsevier, 2011. p. 270–298.

BOBBIO, P.A.; BOBBIO, F.O. *Química do Processamento de Alimentos*. 3.ed. São Paulo: VARELA, 2001. 143p.

BOU, R. et al. Zinc-protoporphyrin content in commercial Parma hams is affected by proteolysis index and marbling. **Meat science**, v. 139, p. 192–200, 2018.

- BLASCO, J.G. Importancia del jamón a lo largo de la historia. In: **SIMPOSIO ESPECIAL - INTERNATIONAL CONGRESS OF MEAT SCIENCE AND TECHNOLOGY**, 44., 1998, Barcelona. Anais... Barcelona: Eurocarne, 1998, p.112- 124.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Resolução nº 272, de 14 de março de 2019. Estabelece os aditivos alimentares autorizados para uso em carnes e produtos cárneos. Brasília, 2019.
- BOU, R. et al. Effects of post mortem pH and salting time on Zinc-protoporphyrin content in nitrite-free Serrano dry-cured hams. **Food Research International**, v. 133, p. 10, 2020
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). Secretaria de Defesa Agropecuária (SDA). **Instrução Normativa no. 20**, 21 de julho de 1999. Oficializa os Métodos Analíticos Físico-Químicos, para Controle de Produtos Cárneos e seus Ingredientes - Sal e Salmoura. Brasília, Diário Oficial da União, seção 1999.
- CHANDY, T.; SHARMA, C. P. Chitosan matrix for oral sustained delivery of ampicilin. **Biomaterial**, Surrey, v. 12, n. 12, p. 65-70, 1993.
- CHAO,D. et al. Chitosan as a preservative for fruits and vegetables: a review on chemistry and antimicrobial properties. **Journal of Bioresources and Bioproducts**, v 4, n 1,p 11–21, 2019.
- CHANG S H, Lin H T V, Wu G J, et al., 2015. pH effects on solubility, zeta potential, and correlation between antibacterial activity and molecular weight of chitosan. **Carbohydrate Polymers**, 134: 74–81.
- CHAU, T. T. et al. Porcine ferrochelatase: the relationship between iron-removal reaction and the conversion of heme to Zn-protoporphyrin. **Bioscience, biotechnology, and biochemistry**, v. 74, n. 7, p. 1415–1420, 2010.
- CHUNG, Y. C.; CHEN, C. Y. Antibacterial characteristics and activity of acid-soluble chitosan. **Bioresource Technology**, 99, n. 8, p. 2806-2814, May 2008.
- COSTA, M. DE R. et al. Perfil sensorial e aceitação de presuntos crus produzidos por métodos tradicionais e acelerado. **Food Science and Technology**, v. 27, n. 1, p. 170–176, 2007.
- COSTA SILVA, H. S. R.; SANTOS, K. S. C. R.; FERREIRA, E. I. Quitosana: derivados hidrossolúveis, aplicações farmacêuticas e avanços. **Química Nova**, São Paulo, v. 29, n. 4, p. 776, 2006.
- DAMIAN; C. B. Quitosana: Um amino polissacarídeo com características funcionais. **Alimentos e Nutrição**, Araraquara v. 16, n. 2, p. 195-205, abr./jun. 2005
- DEL OLMO, A. et al. Proteolysis and Flavor Characteristics of Serrano Ham Processed under Different Ripening Temperature Conditions. **Journal of Food Science**, v. 80, n. 11, p. C2404-C2412, 2015.

DIAS, F. S.; SANTOS, M. R. R. M.; SCHWAN, R. F. Enumeration, identification and safety proprieties of lactic acid bacteria isolated from pork sausage. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 67, n. 3, p. 918-926, maio/jun. 2015.

DONNELLY, C. W. *Listeria monocytogenes*. In: HUI, Y. H.; PIERSON, M. D.; GORHAM, J. R. (Ed.). **Foodborne disease handbook**. 2nd ed. New York: M. Dekker, 2001. v. 1, p. 213-246.

DUAN, S. et al. Improved production of chitin from shrimp waste by fermentation with epiphytic lactic acid bacteria. **Carbohydrate Polymers**, v.89, n.4, p. 1283-1288, 2012.

EATON, P.; FERNANDES, J. C.; PEREIRA, E.; PINTADO, M. E. et al. Atomic force microscopy study of the antibacterial effects of chitosans on *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. *Ultramicroscopy*, 108, n. 10, p. 1128-1134, Sep 2008.

ELLEUCH, M. et al. Dietary fibre and fibre-rich by-products of food processing: characterization, technological functionality and commercial applications: a review. **Food Chemistry**, London, v. 124, p. 411-421, 2011.

ESTÉVEZ, M. Protein carbonyls in meat systems: a review. **Meat science**, v. 89, n. 3, p. 259–279, 2011.

EUROPEAN FOOD SAFETY AUTHORITY (EFSA). Request for updating the former SCVPH opinion on *Listeria monocytogenes* risk related to ready-to-eat foods and scientific advice on different levels of *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat foods and the related risk for human illness-Scientific Opinion of the Panel on Biological Hazards. **EFSA Journal**, v. 6, n. 1, p. 599, 2008.

EUROPEAN FOOD SAFETY AUTHORITY AND EUROPEAN CENTRE FOR DISEASE PREVENTION AND CONTROL (EFSA AND ECDC). The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2017. **EFSA Journal**, v. 16, n. 12, p. e05500, 2018.

EUROPEAN FOOD SAFETY AUTHORITY AND EUROPEAN CENTRE FOR DISEASE PREVENTION AND CONTROL (EFSA AND ECDC). The European Union One Health 2018 Zoonoses Report. *EFSA J.* 2019; 17(12):e05926.
<https://doi.org/10.2903/j.efsa.2019.5926> PMID: 32626211

FULLADOSA, E. et al. Effects of potassium lactate and high pressure on transglutaminase restructured dry-cured hams with reduced salt content. *Meat Science*, v. 82, n. 2, p. 213-218, 2009/06/01/ 2009. ISSN 0309-1740.

FEINER, G. (2006). *Meat products handbook practical science and technology*. Boca Raton: CRC, 627.

FLORES, M., et al. Effect of brine thawing/salting for time reduction in Spanish dry-cured ham manufacturing on proteolysis and lipolysis during salting and post-salting periods. **European Food Research and Technology**, v 222, p 509–515, 2006.

FRANCIS, F. J. **Encyclopedia of food science and technology**. New York: J. Wiley, 2000.

GAHAN, C. G. M.; HILL, C. A review: gastrointestinal phase of *Listeria monocytogenes* infection. **Journal of Applied Microbiology**, Malden, v. 98, n. 6, p. 1345-1353, June 2005.

GALLO, M. et al. Applications of chitosan as a functional food. In: **Novel Approaches of Nanotechnology in Food**. [s.l.] Elsevier, 2016. p. 425–464.

GANDHI M, CHIKINDAS ML. *Listeria*: A foodborne pathogen that knows how to survive. **Internacional Journal Food Microbiology**. 2007.

GALLAGHER, D. D., et al. A Glucomannan and chitosan fiber supplement decreases plasma cholesterol and increases cholesterol excretion in overweight normocholesterolemic humans. **Journal American Coll Nutrition**. v **21**, p 428-433, 2002.

GANILHO, D. F. M. S. Otimização da qualidade da mortadela com adição de quitosana. Relatório de Estágio obtenção do grau de Mestre. Escola Superior de Biotecnologia da Universidade Católica Portuguesa. 2015.

GARCÍA-ESTEBAN, M.; ANSORENA, D.; GIMENO, O.; ASTIASARÁN, I. Optimization of instrumental colour analysis in dry-cured ham. **Meat Science**, v.63, p.287-292, 2003.

GILDBERG, A.; STENBERG, E. A new process for advanced utilization of shrimp waste. **Process Biochemistry**, London, v. 36, p. 809-812, 2001.

GOMIDE, L.A.M.; RAMOS, E.M.; FONTES, P.R. *Ciência e Qualidade da Carne*. Viçosa, MG: Editora UFV, 2013. 197 p

GOU, P.; GUERRERO, L.; ARNAU, J. Sex and breed cross effects on dry-cured ham characteristics. **Meat Science**, v.40, p.21-31, 1995.

GUIMARÃES, A. S. et al. Characterization of natural curing agents from Japanese radish (*Raphanus sativus* L.) for their use in clean label restructured cooked meat products. **Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie [Food science and technology]**, v. 150, n. 111970, p. 111970, 2021.

GRAUMANN, G. H.; HOLLEY, R. A. Survival of *Escherichia coli* O157:H7 in needle-tenderized dry cured Westphalian ham. **International Journal of Food Microbiology**, v. 118, n. 2, p. 173-179, 2007.

GRAY, J. I.; PEARSON, A. M. **Rancidity and warmed over flavor in Advances in Meat Reseach**. New York: AVI Book, 1987.

HARKOUSS, R. et al. Quantitative study of the relationships among proteolysis, lipid oxidation, structure and texture throughout the dry-cured ham process. **Food chemistry**, v. 166, p. 522–530, 2015.

HEASELGRAVE, W.; ANDREW, P. W.; KILVINGTON, S. Acidified nitrite enhances hydrogen peroxide disinfection of *Acanthamoeba*, bacteria and fungi. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 65, n. 6, p. 1207-1214, 2010.

HERRMANN, Susan Strange; GRANBY, Kit; DUEDAHL-OLESEN, Lene. Formation and mitigation of N-nitrosamines in nitrite preserved cooked sausages. **Food chemistry**, v. 174, p. 516-526, 2015.

HIGUERO, N. et al. Reduction of nitrate and nitrite in Iberian dry cured loins and its effects during drying process. **Meat science**, v. 163, n. 108062, p. 108062, 2020.

HOLCK, A. et al. Health and Safety Considerations of Fermented Sausages. **Journal of Food Quality**, v. 2017, p. 9753894, 2017.

HUANG, Y. et al. Lipolysis and lipid oxidation during processing of Chinese traditional smoke-cured bacon. **Food chemistry**, v. 149, p. 31–39, 2014.

IBAÑEZ-PEINADO, D.; UBEDA-MANZANARO, M.; MARTÍNEZ, A.; RODRIGO, D. Antimicrobial effect of insect chitosan on Salmonella Typhimurium, Escherichia coli O157:H7 and Listeria monocytogenes survival. **PLOS ONE**, 15, n. 12, p. e0244153, 2020.

ISHIGURO, H.; HORIMIZU, T. Three-dimensional microscopic freezing and thawing behavior of biological tissues revealed by real-time imaging using confocal laser scanning microscopy. **International Journal of Heat and Mass Transfer**, v 51, n. 23, p. 5642-5649, 2008.

ISHIKAWA, H. et al. Formation of zinc protoporphyrin IX from myoglobin in porcine heart extract. **Food science and technology research**, v. 12, n. 2, p. 125–130, 2006.

ISLAM, R. Klebeschinken” Verbrauchertäuschung durch Enzyme? **Meat and meat products e Measurement**, v. 107, 1999.

JANOSITZ, A.; NOACK, A. K.; KNORR, D. Pulsed electric fields and their impact on the diffusion characteristics of potato slices. **LWT - Food Science and Technology**, v. 44, n. 9, p. 1939-1945, 2011/11/01/ 2011. ISSN 0023-6438.

JAY, J.M. Microbiologia de Alimentos. Porto Alegre: Artmed, 2005.275p.

JIRA, W. et al. Production of dry-cured formed ham with different concentrations of microbial transglutaminase: Mass spectrometric analysis and sensory evaluation. **Meat science**, v. 129, p. 81–87, 2017.

JUNCHER, D. et al. Effects of chemical hurdles on microbiological and oxidative stability of a cooked cured emulsion type meat product. **Meat science**, v. 55, n. 4, p. 483–491, 2000.

JO, C.; LEE, J. W.; LEE, K. H.; BYUN, M. W. Quality properties of pork sausage prepared with water-soluble chitosan oligomer. **Meat Science**, 59, n. 4, p. 369-375, Dec 2001.

KAMIL, J. Antioxidative activity of chitosans of different viscosity in cooked comminuted flesh of herring (*Clupea harengus*). **Food chemistry**, v. 79, n. 1, p. 69–77, 2002.

KARWOWSKA, M.; KONONIUK, A.; WÓJCIAK, K. M. Impact of sodium nitrite reduction on lipid oxidation and antioxidant properties of cooked meat products. **Antioxidants (Basel, Switzerland)**, v. 9, n. 1, p. 9, 2019.

KOŁODZIEJSKA, I.; SKONIECZNY, S.; RUBIN, L. J. Malondialdehyde-nitrite interactions in meat and model systems. **Journal of food science**, v. 55, n. 4, p. 926–928, 1990.

KANAJI, T. et al. Primary structure of microbial transglutaminase from *Streptovercillium* sp. strain s-8112. **Journal of Biological Chemistry**, v. 268, n. 16, p. 11565-11572, 1993/06/05/ 1993.

KANATT, S. R.; CHANDER, R.; SHARMA, A. Chitosan glucose complex – A novel food preservative. **Food Chemistry**, 106, n. 2, p. 521-528, 2008.

KIMURA, I.Y. (2001). **Remoção de corantes reativos contendo grupos vinilsulfona e triazina por absorção e coagulação com quitosana**. 200p. Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2001.

KUMAR, P. et al. Quality, functionality, and shelf life of fermented meat and meat products: A review. **Critical reviews in food science and nutrition**, v. 57, n. 13, p. 2844–2856, 2017.

LEAK, F. W. et al. Effect of tumbling and tumbling time on quality and microflora of dry-cured hams. **Journal of Food Science**, v. 49, p. 695, 1984.

LEISTNER, L.; GORRIS, L. G. M. Food preservation by hurdle technology. **Trends in Food Science & Technology**, v 6, 1995.

LIMA, Í. A. Produtos cárneos curados e dessecados da carne ovina adicionados de ingredientes funcionais. 2016. 138 p. Tese (Doutorado em Ciência dos Alimentos)– Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2016.

LIMA, Í. A. et al. Caracterização física, química e microbiológica de presunto cru desossado adicionado de lactulose. **Brazilian journal of food technology**, v. 20, n. 0, 2017.

LIU, N.; CHEN, X.-G.; PARK, H.-J.; LIU, C.-G. et al. Effect of MW and concentration of chitosan on antibacterial activity of *Escherichia coli*. **Carbohydrate Polymers**, 64, n. 1, p. 60-65, 2006.

LIU, J.; ZHANG, J.; XIA, W. Hypocholesterolaemic effects of different chitosan samples in vitro and in vivo. **Food Chemistry**, 107, n. 1, p. 419-425, 2008.

LORIDO, L, et al Effect of protein oxidation on the impaired quality of dry-cured loins produced from frozen pork meat. **Food Chemistry**, v 196, p 1310-1314, 2016.

LORENZO, J. M.; CARBALLO, J. Changes in physico-chemical properties and volatile compounds throughout the manufacturing process of dry-cured foal loin. **Meat Science**, Barking, v. 99, n. 1, p. 44-51, Jan. 2015.

MAJOU, D.; CHRISTIEANS, S. Mechanisms of the bactericidal effects of nitrate and nitrite in cured meats. **Meat Science**, v. 145, p. 273-284, 2018/11/01/ 2018.

- MARANGON, C. A. et al. Chitosan/gelatin/copaiba oil emulsion formulation and its potential on controlling the growth of pathogenic bacteria. **Industrial Crops and Products**, v 99. 2017
- MARRIOT, N. G. et al. Accelerated dry curing of hams. **Meat Science**, v.15, p. 51, 1985.
- MARRIOT, N. G. et al. Accelerated production of dry-cured hams. **Meat Science**, v. 19, p. 53, 1987.
- MARTINS, A. P. et al. Changes in the quality of sliced mortadella sausages prepared using chitosan. **Journal of food safety**, v. 39, n. 4, p. e12645, 2019.
- MARUŠIĆ RADOVČIĆ, N. et al. Influence of muscle type on physicochemical parameters, lipolysis, proteolysis, and volatile compounds throughout the processing of smoked dry-cured ham. **Foods (Basel, Switzerland)**, v. 10, n. 6, p. 1228, 2021.
- MILLER, A.J. Combined water activity and solute effects on growth and survival of *Listeria monocytogenes* Scott A. **Journal of Food Protection**, v 55, p 414–418. 1992
- MORALES, R. et al. Factors affecting dry-cured ham consumer acceptability. **Meat science**, v. 95, p. 652-657, 05/16 2013.
- MOLINERO, F. S. **Modificaciones tecnológicas para mejorar la seguridad y calidad del jamón curado**. 2003. 257 p. Tesis (Doctoral en Engenharia Agroalimentària) - Universitat de Girona, Girona, 2003.
- MOTILVA, M.J., TOLDRÁ, F., NADAL, M.I., FLORES, J. Pre-freezing hams affects lipolysis during dry-curing. **Journal of Food Science**, v 59, n 2, p 303-305, 1994.
- MUÑOZ-ROSIQUE, B. et al. Effect of salt reduction on the quality of boneless dry-cured ham from Iberian and white commercially crossed pigs. **Foods (Basel, Switzerland)**, v. 11, n. 6, p. 812, 2022.
- MURIEL, E. et al. Lipolytic and oxidative changes in Iberian dry-cured loin. **Meat Science**, Barking, v. 75, n. 2, p. 315-323, 2007.
- MUZZARELLI, R.A.A. Chitosan-based dietary foods. **Carbohydrate & Polymers**, Barking, v. 29, p. 309–316, 1996.
- NALERIO, E.S; GIONGO, C. **Ciência e Tecnologia de Carnes: Presunto cru ovino**. Comunicado técnico 94. Embrapa. Bagé, SP. Dezembro, 2017.
- NASCIMENTO, T. et al. Methemoglobinemia: From diagnosis to treatment. **Revista brasileira de anestesiologia**, v. 58, p. 651-64, 11/01 2008.
- NEGUS, S.S. A novel transglutaminase derived from *Streptoversticillium baldaccii*. 2001. 108f. Thesis (Doctor Philosophy) - School of Biomolecular and Biomedical Science, Griffith University, Queensland, Australia.

OIE- World Organisation for Animal Health Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals 2014 (May,2014).

OLIVER, C. N., et al. Age related changes in oxidized proteins. **Journal of Biological Chemistry**. v. 262, n. 12, p. 5488- 5491,1987

OLIVEIRA, M. M. M. **Óleos essenciais no controle de biofilmes bacterianos: *Listeria monocytogenes* e *Escherichia coli* enteropatogênica**. 2011. 138 f. Tese (Doutorado em Ciência dos Alimentos) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2011.

OFFER, G.; TRINICK, J. On the Mechanism of Water Holding in Meat: The Swelling and Shrinking of Myofibrils. **Meat Science**, London, v.8, p.245-281, 1983.

PARRA, V. et al. Effect of exposure to light on physico-chemical quality attributes of sliced dry-cured Iberian ham under different packaging systems. **Meat science**, v. 90, n. 1, p. 236–243, 2012.

PALHARES, P. C. **Caracterização da perna desossada de cordeiro processada na forma de presunto cru**. 2011. 78 p. Dissertação. (Mestrado em Ciência de Alimentos) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2011.

PEGG, B.; SHAHIDI, F. Nitrite curing of meat: The N-nitrosamine problem and nitrite alternatives. **John Wiley & Sons**, 2008.

PEGG, Ronald B.; HONIKEL, Karl O. Principles of curing. **Handbook of fermented meat and poultry**, p. 19-30, 2015.

PÉREZ-BALTAR, A.; SERRANO, A.; MONTIEL, R.; MEDINA, M. *Listeria monocytogenes* inactivation in deboned dry-cured hams by high pressure processing. **Meat Science**, 160, p. 2020.

PETER, M. G. Applications and environmental aspects of chitin and chitosan. **Pure and applied chemistry**, Oxford, v. 32, p. 629-640, 1995.

PETER, M.G. Polysaccharides II. In: STEINBÜCHEL A (Ed.). **Biopolymers**. Weinheim: Wiley-VCH, 2002. v. 6. p. 123–157.

PETROVA, I. et al. Manufacture of dry-cured ham: a review. Part 1. Biochemical changes during the technological process. **European Food Research and Technology**, v.241, n.5, p.587-599, 2015.

PLAZA, J. F. S. et al. Effect of Sex and Dietary Treatment on the Composition and Rheological Properties of Dry-cured Ham Subcutaneous Fat. Czech. **Journal of Animal Science**, v. 62, n. 3, p. 110-120, 2017.

PETÄJÄ-KANNINEN, E.; PUOLANNE, E. Principles of meat fermentation. In: TOLDRA, F. (Ed.). **Handbook of fermented meat and poultry**. Iowa: Blackwell, 2007. p. 31-36.

- RAMÍREZ, R. et al. Effect of breed purity and rearing systems on the stability of sliced Iberian dry-cured ham stored in modified atmosphere and vacuum packaging. **Foods (Basel, Switzerland)**, v. 10, n. 4, p. 730, 2021
- RINAUDO, M. Chitin and chitosan: properties and applications. **Progress in Polymer Science**, v.31, p.603-632, 2006.
- ROÇA, R. O. **Tecnologia da carne e produtos derivados**. Botucatu: UNESP, 2000. 202 p.
- ROMERO DE ÁVILA, M. D. et al. Microbial transglutaminase for cold-set binding of unsalted/salted pork models and restructured dry ham. **Meat Science**, Barking, v. 84, n. 2, p. 747-754, 2010.
- ROMERO DE ÁVILA, M. D. et al. Dry-cured ham restructured with fibrin. **Food Chemistry**, London, v. 159, n. 15, p. 519-528, Sept. 2014.
- RUIZ-CARRASCAL, J.; VENTANAS, J.; CAVA, R.; ANDRÉS, A.; GARCÍA, C. Texture and appearance of dry cured ham as affected by fat content and fatty acid composition. **Meat Science**, v.33, p.91-95, 2000.
- RUIZ-RAMÍREZ, J.; ARNAU, J.; SERRA, X.; GOU, P. Effect of pH₂₄, NaCl content and proteolysis index on the relationship between water content and texture parameters in *biceps femoris* and *Semimembranosus* muscles in dry-cured ham. **Meat Science**, v.72, p.185-194, 2006.
- SADEGHI-MEHR, A.; LAUTENSCHLAEGER, R.; DRUSCH, S. Behavior of *Salmonella* spp. and *Listeria monocytogenes* throughout the manufacture and shelf-life of dry-cured formed ham. **Food control**, v. 64, p. 22–28, 2016.
- SADEGHI-MEHR, A.; LAUTENSCHLAEGER, R.; DRUSCH, S. Sensory, physicochemical and microbiological properties of dry-cured formed ham: comparison of four different binding systems. **European Food Research and Technology**, v. 242, n. 8, p. 1379-1391, 2016/08/01 2016.
- SILVA, H.S.R.C.; SANTOS, K.S.R.D.; FERREIRA E.I. Quitosana: derivados hidrossolúveis, aplicações farmacêuticas e avanços. **Química Nova**, São Paulo, v. 29, p. 776-785, 2006.
- SILVA, N. et al. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos e água**. [s.l: s.n.].
- SINDELAR, J.; MILKOWSKI, A. Sodium Nitrite in Processed Meat and Poultry Meats: A Review of Curin and Examining the Risk and Benefit of Its Use. **White Paper**, Series No, v. 3, p. 1-14, 2011.
- SINDELAR, J. J. Natural and Organic Cured Meat Products in the United States. **Encyclopedia of Meat Sciences**. p.430-435,2014
- SHRINIVAS RAO, M.; AYE NYEIN, K.; SI TRUNG, T.; STEVENS, W. F. Optimum parameters for production of chitin and chitosan from squilla (*S. empusa*). **Journal of Applied Polymer Science**, 103, n. 6, p. 3694-3700, 2007.

SKIBSTED, L. H. Nitric oxide and quality and safety of muscle based foods. **Nitric oxide: biology and chemistry**, v. 24, n. 4, p. 176–183, 2011.

STEPHAN, R. *Listeria monocytogenes*: Food-borne pathogen and hygiene indicator. **Revue scientifique et technique (International Office of Epizootics)**, 25, p. 571-580, 09/01 2006.

SOULTOS, N.; TZIKAS, Z.; ABRAHIM, A.; GEORGANTELIS, D. et al. Chitosan effects on quality properties of Greek style fresh pork sausages. **Meat Science**, 80, n. 4, p. 1150-1156, 2008.

SPANU, C. et al. Microbiological Challenge Testing for *Listeria Monocytogenes* in Ready-to-Eat Food: A Practical Approach. **Italian Journal of Food Safety**, v 3. 2014.

TAORMINA, P. J. Implications of Salt and Sodium Reduction on Microbial Food Safety. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 50, n. 3, p. 209-227, 2010.

TERRA, N. N.; FREITAS, R. J. S. de; CICHOSKI, A. J. Atividade de água, pH, umidade e desenvolvimento de *Staphylococcus xylosum* durante o processamento e armazenamento da paleta suína curada, maturada e fermentada. **Food Science and Technology**, Campinas, v. 27, n. 4, p. 756-760, Oct./Dec. 2007.

TOLDRA, F. Dry-cured meat products. **Connecticut: Food & Nutrition Press**, p. 224, 2002.

TOLDRÁ, F.; ARISTOY, M. C. Dry-cured Ham. In: _____. **Handbook of meat processing**. Turku: Wiley-Blackwell, 2010. p. 351-362.

TOLDRA, F.; FLORES, M. The role of muscle proteases and lipases in flavour development during the processing of dry-cured ham. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, Boca Raton, v.38, p.331-352, 1998.

VILJANEN, K. et al. Inhibition of protein and lipid oxidation in liposomes by berry phenolics. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 52, n. 24, p. 7419–7424, 2004.

YAO, H. T., HUANG, S. Y., CHIANG, M. T. Comparative study on hypoglycemic and hypocholesterolemic effects of high and low molecular weight chitosan in streptozotocin-induced diabetic rats. **Food Chemical Toxicology** .v 46, p. 1525–1534, 2008.

WANG, F. S.; JIANG, Y. N.; LIN, C. W. Lipid and cholesterol oxidation in Chinese-style sausage using vacuum and modified atmosphere packaging. **Meat science**, v. 40, n. 1, p. 93–101, 1995.

WASHIZU, K. et al. Molecular Cloning of the Gene for Microbial Transglutaminase from *Streptovorticillium* and Its Expression in *Streptomyces lividans*. **Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry**, v. 58, n. 1, p. 82-87, 1994.

WÓJCIAK, K. M.; STASIAK, D. M.; KĘSKA, P. The influence of different levels of sodium nitrite on the safety, oxidative stability, and color of minced roasted beef. **Sustainability**, v. 11, n. 14, p. 3795, 2019.

XIA, W.; LIU, P.; ZHANG, J.; Chen, J. Biological activities of chitosan and chitooligosaccharides. **Food Hydrocolloid**. v 25, p 170-179, 2010.

YIM, D.-G.; JANG, K.-H.; CHUNG, K.-Y. Effect of GdL addition on physico-chemical properties of fermented sausages during ripening. **Korean journal for food science of animal resources**, v. 35, n. 3, p. 322–329, 2015.

YOKOYAMA, K.; NIO, N.; KIKUCHI, Y. Properties and applications of microbial transglutaminase. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 64, n. 4, p. 447-454, 2004.
YOUNG, D. H.; KOHLE, H.; KAUSS, H. Effect of chitosan on membrane permeability of suspension cultured Glycine max and Phaseolus vulgaris cells. **Plant Physiology**, v. 70, n. 5, p. 1449-1454, 1982.

YOUNES, I.R.M.,. Chitin and chitosan preparation from marine sources. **Structure, properties and applications**. Marine Drugs, v 13, n 3, p. 1133–1174, 2015.

ZHANG, J. et al. Changes in physicochemical properties and water-soluble small molecular compounds of dry-cured Xuanwei ham during processing. **Journal of food processing and preservation**, v. 45, n. 9, 2021

ZIVANOVIC, S., CHI, S., & DRAUGHON, A. F. (2005). Antimicrobial activity of chitosan films enriched with essential oils. **Journal of food science**, v. 70 n1, p. 45-51, 2005.

ZHOU, G. H.; ZHAO, G. M. Biochemical changes during processing of traditional Jinhua ham. **Meat Science**, v. 77, n. 1, p. 114-120, 2007.