



UNICAMP

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS

FACULDADE DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS

DEPARTAMENTO DE TECNOLOGIA DE ALIMENTOS

INFLUÊNCIA DA REDUÇÃO DE SÓDIO E GORDURA NA QUALIDADE DE EMBUTIDOS CÁRNEOS FERMENTADOS

PAULO CEZAR BASTIANELLO CAMPAGNOL

Campinas

2011

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA
BIBLIOTECA DA FEA – UNICAMP

C15i Campagnol, Paulo Cezar Bastianello
Influência da redução de sódio e gordura na qualidade de embutidos
cárneos fermentados / Paulo Cezar Bastianello Campagnol. -- Campinas,
SP: [s.n], 2011.

Orientador: Marise Aparecida Rodrigues Pollonio
Tese (doutorado) – Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de
Engenharia de Alimentos.

1. Produtos cárneos. 2. Redução de gordura. 3. Redução do sal. 4.
Fibras. 5. Realçadores de sabor. I. Pollonio, Marise Aparecida
Rodrigues . II. Universidade Estadual de Campinas.Faculdade de
Engenharia de Alimentos. III. Título.

cars/bibfea

Título em inglês: Influence of sodium and fat reduction on the quality of
fermented sausages

Palavras-chave em inglês (Keywords): Meat products, Fat reduction, Salt reduction,
Fibers, Flavor enhancers

Titulação: Doutor em Tecnologia de Alimentos

Banca examinadora: Marise Aparecida Rodrigues Pollonio
Nelcindo Nascimento Terra
Eliete Vaz de Faria
Judite das Graças Lapa Guimarães
Jaime Amaya - Farfán

Data da defesa: 14/06/2011

Programa de Pós Graduação: Programa em Tecnologia de Alimentos



PAULO CEZAR BASTIANELLO CAMPAGNOL

**INFLUÊNCIA DA REDUÇÃO DE SÓDIO E GORDURA NA
QUALIDADE DE EMBUTIDOS CÁRNEOS FERMENTADOS**

Tese apresentada a Faculdade de Engenharia de Alimentos da Universidade Estadual de Campinas para obtenção do título de doutor em Tecnologia de Alimentos.

Orientadora: Dr^a Marise Aparecida Rodrigues Pollonio

Campinas
2011

BANCA EXAMINADORA

Este exemplar corresponde à redação final da tese defendida por Paulo Cezar Bastianello Campagnol em 14/06/2011 aprovada pela Comissão Julgadora em ____/____/____.

Prof^a Dr^a Marise Aparecida Rodrigues Pollonio
(Orientadora)

Dr^a Eliete Vaz de Faria
(Membro Titular)

Prof. Dr. Jaime Amaya-Farfán
(Membro Titular)

Prof^a Dr^a Judite das Graças Lapa Guimarães
(Membro Titular)

Prof. Dr. Nelcindo Nascimento Terra
(Membro Titular)

Prof^a Dr^a Lireny Aparecida Guaraldo Gonçalves
(Membro Suplente)

Dr^a Neliane Ferraz de Arruda Silveira
(Membro Suplente)

Prof. Dr. Pedro Eduardo de Felício
(Membro Suplente)

AGRADECIMENTOS

À Universidade Estadual de Campinas e à Faculdade de Engenharia de Alimentos agradeço pela oportunidade da realização deste trabalho.

Ao CNPq agradeço pelo auxílio financeiro.

À Prof^a Dr^a Marise Aparecida Rodrigues Pollonio, agradeço pela orientação e apoio, já que sem sua dedicação, conselhos e ensinamentos a realização deste trabalho não teria sido possível.

Ao Prof. Dr. Nelcindo Nascimento Terra, agradeço pela inestimável colaboração no desenvolvimento deste trabalho e por me apresentar o mundo da Tecnologia de Produtos Cárneos.

Agradeço aos membros da banca examinadora pelas correções e considerações que permitiram a melhoria da qualidade deste trabalho.

Ao Prof. Dr. Roger Wagner, agradeço pelo apoio na realização das análises dos compostos voláteis.

Ao Dr. Marcelo Antonio Morgano, agradeço pelo auxílio nas análises de determinação de sódio.

Ao José Roberto dos Santos, agradeço pela ajuda sempre demonstrada no Laboratório de Carnes e Derivados.

À minha noiva Bibiana Alves dos Santos, agradeço pela compreensão e por sempre estar ao meu lado em todos os momentos.

À minha família, agradeço pelo apoio.

Agradeço a todos os professores, funcionários e colegas da Faculdade de Engenharia de Alimentos, que de alguma forma contribuíram para a realização deste trabalho.

ÍNDICE

RESUMO GERAL	1
ABSTRACT	3
INTRODUÇÃO GERAL	5
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	8
DESAFIOS TECNOLÓGICOS E ESTRATÉGIAS UTILIZADAS PARA REDUZIR SÓDIO E GORDURA EM PRODUTOS CÁRNEOS	11
1. REDUÇÃO DE SÓDIO EM PRODUTOS CÁRNEOS	12
1.1 EFEITO DO NaCl NA SAÚDE	12
1.2 CONTRIBUIÇÃO DOS PRODUTOS CÁRNEOS NA INGESTÃO DIÁRIA DE SÓDIO	13
1.3 FUNÇÕES DO NaCl EM PRODUTOS CÁRNEOS	15
1.3.1 <i>Efeitos do sal nas propriedades tecnológicas</i>	15
1.3.2 <i>Efeitos do sal na conservação</i>	17
1.3.3 <i>Efeitos do sal na qualidade sensorial</i>	18
1.4 ESTRATÉGIAS PARA REDUÇÃO DE SÓDIO EM PRODUTOS CÁRNEOS	19
1.4.1 <i>Utilização de sais substitutos de NaCl</i>	19
1.4.2 <i>Utilização de realçadores de sabor</i>	20
2 REDUÇÃO DE GORDURA EM PRODUTOS CÁRNEOS	26
2.1 GORDURA E SAÚDE	26
2.2 CONSEQUÊNCIAS DA REDUÇÃO DE GORDURA NAS CARACTERÍSTICAS DOS PRODUTOS CÁRNEOS	28
2.3 UTILIZAÇÃO DE SUBSTITUTOS DE GORDURA EM PRODUTOS CÁRNEOS	31
2.3.1 <i>Gomas</i>	31
2.3.2 <i>Derivados de amido</i>	33
2.3.3 <i>Derivados de celulose</i>	35
2.3.4 <i>Fibras</i>	35
2.4 SEGURANÇA DOS SUBSTITUTOS DE GORDURA USADOS EM PRODUTOS CÁRNEOS	36
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	38
THE EFFECT OF YEAST EXTRACT ADDITION ON QUALITY OF FERMENTED SAUSAGES AT LOW NaCl CONTENT	49
ABSTRACT	50
1. INTRODUCTION	51
2. MATERIAL AND METHODS	53
2.1 <i>Treatments</i>	53
2.2 <i>Preparation of fermented sausages</i>	53
2.3 <i>Physical and chemical analysis</i>	54
2.4 <i>Microbiological analysis</i>	55
2.5 <i>Volatile compounds analysis</i>	56
2.6 <i>Consumer study</i>	57
2.7 <i>Statistical analysis</i>	58
3. RESULTS AND DISCUSSION	59
3.1 <i>Physical and chemical analysis</i>	59
3.2 <i>Microbiological analysis</i>	62
3.3 <i>Volatile compounds analysis</i>	65
3.4 <i>Consumer study</i>	73
4. CONCLUSION	76
ACKNOWLEDGEMENT	76
REFERENCES	76

APPLICATION OF LYSINE, TAURINE, DISODIUM INOSINATE AND DISODIUM GUANYLATE IN FERMENTED COOKED SAUSAGES WITH 50% REPLACEMENT OF NaCl BY KCl 83

ABSTRACT	84
1. INTRODUCTION.....	85
2. MATERIALS AND METHODS.....	86
2.1 <i>Treatments</i>	<i>86</i>
2.2 <i>Fermented cooked sausage preparation</i>	<i>87</i>
2.3 <i>Physicochemical analysis.....</i>	<i>89</i>
2.4 <i>Consumer study.....</i>	<i>90</i>
2.5 <i>Statistical analysis.....</i>	<i>90</i>
3. RESULTS AND DISCUSSION.....	91
3.1 <i>Physicochemical analysis.....</i>	<i>91</i>
3.2 <i>Consumer study.....</i>	<i>97</i>
4. CONCLUSION	98
ACKNOWLEDGEMENT	98
REFERENCES	99

APLICAÇÃO DE LISINA, INOSINATO DISSÓDICO E GUANILATO DISSÓDICO EM SALAMES COM TEOR DE SÓDIO REDUZIDO 104

RESUMO	105
1 INTRODUÇÃO.....	106
2 MATERIAL E MÉTODOS.....	107
2.1 <i>Tratamentos</i>	<i>107</i>
2.2 <i>Processo de fabricação.....</i>	<i>108</i>
2.3 <i>Análises físico-químicas.....</i>	<i>109</i>
2.4 <i>Análises microbiológicas.....</i>	<i>110</i>
2.5 <i>Análise sensorial.....</i>	<i>111</i>
2.6 <i>Análise estatística.....</i>	<i>111</i>
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	112
3.1 <i>Análises físico-químicas.....</i>	<i>112</i>
3.2 <i>Análises microbiológicas.....</i>	<i>116</i>
3.3 <i>Análise sensorial.....</i>	<i>118</i>
4 CONCLUSÃO	119
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	119

AMORPHOUS CELLULOSE GEL AS A FAT SUBSTITUTE IN FERMENTED SAUSAGES 126

ABSTRACT	127
1. INTRODUCTION.....	128
2. MATERIALS AND METHODS	130
2.1 <i>Preparation of fermented sausages.....</i>	<i>130</i>
2.2 <i>Physical and chemical analysis.....</i>	<i>131</i>
2.3 <i>Microbiological analysis.....</i>	<i>131</i>
2.4 <i>Volatile compound analysis</i>	<i>132</i>
2.5 <i>Consumer study.....</i>	<i>134</i>
2.6 <i>Statistical analysis.....</i>	<i>134</i>
3. RESULTS AND DISCUSSION	134
3.1 <i>Physical, chemical and microbiological analyses.....</i>	<i>134</i>
3.2 <i>Analysis of volatile compounds.....</i>	<i>139</i>
3.3 <i>Consumer study.....</i>	<i>144</i>
4. CONCLUSION	145
REFERENCES	145

EFEITO DA REDUÇÃO DE GORDURA E ADIÇÃO DE FIBRA DE SOJA NA QUALIDADE DE SALAMES 152

RESUMO	153
1. INTRODUÇÃO	154
2. MATERIAL E MÉTODOS	155
2.1 <i>Elaboração dos salames</i>	155
2.2 <i>Análises físico-químicas</i>	156
2.3 <i>Análises microbiológicas</i>	157
2.4 <i>Análise dos compostos voláteis</i>	158
2.4.1 Preparo das amostras e extração	158
2.4.2 Análises cromatográficas e identificação dos compostos voláteis	159
2.5 <i>Análise sensorial</i>	160
2.6 <i>Análise estatística</i>	160
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	161
3.1 <i>Análises físico-químicas</i>	161
3.2 <i>Análises microbiológicas</i>	163
3.3 <i>Análise dos compostos voláteis</i>	165
3.4 <i>Análise sensorial</i>	170
REFERÊNCIAS	172
CONCLUSÃO GERAL	179

RESUMO GERAL

É crescente a importância que os consumidores atribuem aos aspectos que melhoram a sua qualidade de vida. A dieta não é o único fator que afeta o bem-estar e a saúde, mas é um dos mais importantes. O objetivo dos consumidores é ter uma dieta balanceada, com alimentos saudáveis, porém, sensorialmente agradáveis. Os embutidos fermentados, bem como os produtos cárneos em geral, tradicionalmente apontados como os vilões da dieta saudável devido ao alto teor de gordura, colesterol, sódio e aditivos químicos, podem pertencer a esse novo segmento de mercado. Para isto, esforços devem ser dirigidos para a redução desses componentes na formulação, melhorando assim a imagem dos produtos cárneos frente aos consumidores. Desta forma, este trabalho teve como objetivos estudar a influência da redução de sódio e gordura na qualidade de embutidos fermentados. Para reduzir a quantidade de sódio, embutidos fermentados foram produzidos com substituição de cloreto de sódio (NaCl) por cloreto de potássio (KCl) e se utilizaram aminoácidos (lisina e taurina) e realçadores de sabor (extrato de levedura, inosinato dissódico e guanilato dissódico). Para reduzir a quantidade de gordura, embutidos fermentados foram produzidos utilizando-se gel de celulose amorfa como substituto de gordura e também se avaliou a utilização de fibra de soja em embutidos fermentados com reduzido teor de gordura. Os resultados mostraram que a utilização de KCl como substituto de NaCl resultou numa redução de sódio próxima ao nível de substituição de NaCl por KCl, no entanto, foram observados defeitos sensoriais em um nível de substituição de 50%. Os aminoácidos (lisina e taurina) e os realçadores de sabor (inosinato dissódico, guanilato dissódico e extrato de levedura) reduziram os defeitos sensoriais causados pela substituição de 50% do teor de NaCl por KCl, permitindo a

elaboração de embutidos fermentados sensorialmente aceitáveis com aproximadamente metade da quantidade de sódio. Já com relação aos embutidos fermentados produzidos com redução de gordura, observou-se que o gel de celulose amorfa foi capaz de substituir até 50% do teor de gordura da formulação sem comprometer a qualidade do produto. Este nível de substituição possibilitou a produção de embutidos fermentados com uma redução dos teores de gordura e colesterol de aproximadamente 45 e 15%, respectivamente. A utilização de 1% de fibra de soja em embutidos fermentados produzidos com uma redução de 15 para 10% de toucinho na formulação não alterou os aspectos físico-químicos, microbiológicos e sensoriais e proporcionou uma redução de aproximadamente 40% do teor de gordura final.

Palavras-chave: cloreto de sódio, cloreto de potássio, lisina, taurina, extrato de levedura, inosinato dissódico, guanilato dissódico, celulose amorfa, fibra de soja

ABSTRACT

The importance that consumers attach to aspects which improve their quality of life has been increasing steadily. Diet is not the only factor affecting well-being and health, but it is one of the most important. Throughout the developed world, more people are seeking a balanced diet consisting of healthy foods that appeal to their senses. Fermented sausages and meat products in general, have traditionally been described as the villains in the diet because of their high fat, cholesterol and salt (or sodium) content, along with the frequent presence of chemical additives in them. However, these foods have recently become a part of the new balanced-diet-seeking market. To create truly healthy meats, efforts are needed to reduce less healthy components in the formulation and thereby improving the image of meat products among the consumers. Therefore, the aim of this work was to study the effect of sodium and fat reduction on the quality of fermented sausages. In order to reduce the amount of sodium, fermented sausages were produced by replacing sodium chloride (NaCl) with potassium chloride (KCl), and amino acids (lysine and taurine) and flavor enhancers (yeast extract, disodium guanylate and disodium inosinate) were used as well. In order to reduce the amount of fat, fermented sausages were produced using amorphous cellulose gel as a fat substitute; in addition the use of soy fiber in low-fat fermented sausages was evaluated. The study's results showed that the use of KCl as a substitute for NaCl resulted in a reduction of sodium to a similar level of substitution of NaCl by KCl, however, sensory defects were observed in a substitution level of 50%. The addition of the amino acids (lysine and taurine) and the flavor enhancers (inosinate disodium, disodium guanylate and yeast extract) reduced the sensory defects caused by the replacement of 50% NaCl by KCl and enabled the production of

fermented sausages that had acceptable sensory qualities with half as much sodium content. As for those fermented sausages made with fat reduction, the results suggested that the substitution of up to 50% of the pork back fat content by amorphous cellulose gel did not lessen the product quality. The levels of fat and cholesterol in these sausages were decreased by approximately 45% and 15%, respectively. The addition of 1% soy fiber in fermented sausages produced with a reduction from 15 to 10% of pork back fat in the formulation did not alter the physical-chemical, microbiological and sensory aspects of the sausages but did reduce their fat content by approximately 40%.

Keywords: sodium chloride, potassium chloride, lysine, taurine, yeast extract, disodium disodium inosinato, guanylate disodium, amorphous cellulose, soy fiber

INTRODUÇÃO GERAL

Órgãos de saúde pública e agências reguladoras tem recomendado a redução da ingestão de sódio e gordura como uma forma de se reduzir os fatores de risco do surgimento de doenças cardiovasculares, principal causa de mortes em países industrializados (WHO, 2003; Food Standards Agency, 2009). Baseado neste fato, os consumidores estão cada vez mais conscientes da importância de reduzir a ingestão destes componentes e por isto, em muitos países, a demanda por produtos cárneos com teores de sódio e gordura reduzidos tem aumentado consideravelmente (Russunen e Puolanne, 2005).

A categoria dos embutidos fermentados é caracterizada por apresentar um dos mais altos teores de gordura e de sal (NaCl) dentre todos os tipos de produtos cárneos. Desta forma, a redução de gordura e de sal (principal fonte de sódio neste produto) é extremamente importante e necessária para a sobrevivência da indústria cárnea já que os embutidos fermentados permitem uma significativa agregação de valor a matéria-prima.

No entanto, a redução de gordura e sal é muito difícil de ser realizada devido a estes componentes exercerem grande influência na qualidade tecnológica e sensorial dos embutidos fermentados. A gordura é necessária para o desenvolvimento satisfatório das propriedades relacionadas particularmente à textura, a suculência e ao sabor. Também contribui para a diminuição da perda de peso durante a fabricação, fator diretamente relacionado ao custo do produto final (Muguerza et al., 2002; Papadima e Bloukas, 1999). Já o sal é considerado essencial para a elaboração de embutidos fermentados seguros e sensorialmente agradáveis, pois além de contribuir para a segurança microbiológica ao diminuir a atividade de água, confere o tradicional gosto salgado e influencia a cor e a textura (Wirth, 1989; Toldrá, 2002).

Devido, portanto, as importantes funções que o sal e a gordura desempenham no processamento de embutidos fermentados, não basta simplesmente reduzir esses componentes na formulação, isto tornaria o produto inaceitável para os consumidores. Deve-se, então, pensar na reformulação desses produtos, conferindo a esta especialidade cárnea características mais saudáveis através da substituição de sal e gordura por outros ingredientes que desempenhem as mesmas funções tecnológicas e mantenham ou melhorem as características sensoriais.

O cloreto de potássio (KCl) é provavelmente um dos aditivos mais frequentemente utilizado como substituto de NaCl (Desmond, 2006) e é apontado como a melhor alternativa para reduzir o teor de sódio em produtos cárneos. O KCl é reconhecido como seguro (GRAS) e apresenta uma eficiência antimicrobiana equivalente ao NaCl (Bidlas e Lamberd, 2008). No entanto, quando utilizado em altas concentrações, o KCl pode diminuir a qualidade sensorial (Kilcast e Ridder, 2007). Este fato configura-se na principal limitação de sua utilização como substituto de NaCl em embutidos fermentados, já que por estes produtos conterem alto teor de NaCl, podem ocorrer defeitos sensoriais significativos a partir do nível de 40% de substituição de NaCl por KCl (Gou et al., 1996; Gelabert et al., 2003). Portanto, a pesquisa por ingredientes que tenham a capacidade de reduzir ou suprimir os defeitos sensoriais causados pela utilização de altos níveis de KCl se constitui em uma importante estratégia a ser utilizada para reduzir o teor de sódio de embutidos fermentados sem depreciar sua qualidade. Extratos de leveduras são uma fonte natural de um grande número de compostos voláteis e são amplamente utilizados como agentes flavorizantes e como precursores para a formação de compostos de sabor e aroma em produtos cárneos (Mahadevan e Farmer, 2006). Considerando que durante a fabricação de embutidos fermentados ocorrem numerosas reações

bioquímicas catalisadas tanto por enzimas microbianas como tissulares, a utilização destes compostos, os quais são fontes de aminoácidos, poderia favorecer o surgimento de compostos benéficos de sabor e aroma ajudando a compensar os efeitos indesejáveis da utilização de KCl. Além disso, relatos na literatura indicam que os aminoácidos lisina e taurina e os 5-ribonucleotídeos inosinato dissódico (IMP) e guanilato dissódico (GMP) podem reduzir os defeitos sensoriais causados pelo KCl (Kurtz e Fuller; 1997; Zolotov et al., 1998; Berglund e Alizadeh, 1999; Saleme e Barndt, 2008).

Já com relação à gordura, trabalhos mostraram que à medida que se reduz o teor de gordura em embutidos fermentados a qualidade sensorial é diminuída (Muguerza et al., 2002; Papadima e Bloukas, 1999). Desta forma, a utilização de ingredientes capazes de substituir as propriedades da gordura neste produto poderia possibilitar a redução do teor de gordura de embutidos fermentados sem causar impactos negativos sobre a sua qualidade. Neste sentido, embutidos fermentados com reduzido teor de gordura e de aceitável qualidade têm sido produzidos através da utilização de diferentes fibras, como por exemplo, inulina, frutooligosacarídeos e fibras de frutas e cereais (Mendoza, et al., 2001; Salazar, García e Selgas, 2009; García et al., 2002). A fibra insolúvel celulose amorfa já foi utilizada com sucesso para reduzir gordura em queijos, hambúrgueres e produtos de panificação (Warner e Inglett, 1997; Cho e Prosky, 1999) e a fibra de soja já foi utilizada como substituto de gordura em produtos cárneos emulsionados (Cofrades et al., 2000). No entanto, o potencial da aplicação destas fibras como substitutos de gordura em embutidos fermentados até o momento não foi estudado. Baseado nisto, os objetivos deste trabalho foram os seguintes:

- Avaliar a influência da utilização dos realçadores de sabor extrato de levedura, inosinato dissódico e guanilato dissódico e dos aminoácidos lisina e taurina na qualidade de embutidos fermentados com substituição de NaCl por KCl.
- Avaliar a influência da utilização de celulose amorfa e fibra de soja na qualidade de embutidos fermentados com reduzido teor de gordura.

Referências Bibliográficas

- Berglund, K. A., & Alizadeh, H. Composition and method for producing a salty taste. US Patent 005897908A: United States.
- Bidlas, E., & Lambert, R. J. W. (2008). Comparing the antimicrobial effectiveness of NaCl and KCl with a view to salt/sodium replacement. *International Journal of Food Microbiology*, 124, 98–102.
- Cho, S. S., & Prosky, L. (1999). Application of complex carbohydrates to food product fat mimetics'. In S.S. Cho, L. Prosky, & M. Dreher (Eds.), *Complex carbohydrates in foods* (pp.422-429). New York: Marcel Dekker Inc.
- Cofrades, S., Guerra, M. A., Carballo, J., Fernandez-Martin, F., & Jimenez-Colmenero, F. (2000). Plasma protein and soy fiber content effect on bologna sausage properties as influenced by fat level. *Journal of Food Science*, 65(2), 281-287.
- Desmond, E. (2006). Reducing Salt: a Challenge for Meat industry. *Meat Science*, 74, 188-196.
- Food Standards Agency (FSA). (2009). Salt reduction targets. URL: <http://www.food.gov.uk/healthiereating/salt/saltreduction>.

- García, M. L., Dominguez, R., Galvez, M. D., Casas, C., & Selgas, M. D. (2002). Utilization of cereal and fruit fibres in low fat dry fermented sausages. *Meat Science*, 60, 227–236.
- Gelabert, J., Gou, P., Guerrero, L., & Arnau, J. (2003). Effect of sodium chloride replacement on some characteristics of fermented sausages. *Meat Science*, 65, 833–839.
- Gou, P., Guerrero, L., Gelabert, J., & Arnau, J. (1996). Potassium chloride, potassium lactate and glycine as sodium chloride substitutes in fermented sausages and in dry-cured pork loin. *Meat Science*, 42(1), 37–48.
- Kilcast, D., & den Ridder, C. (2007). Sensory issues in reducing salt in food products, p. 201–220. In Kilcast D and Angus F (eds.), *Reducing salt in foods*. CRC Press LLC, Boca Raton FL.
- Kurtz, R. J., & Fuller, W. D. Specific eatable taste modifiers. US Patent 005631299A: United States.
- Mahadevan, K., & Farmer, L. (2006). Key odor impact compounds in three yeast extract pastes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54, 7242-7250.
- Mendoza, E., García, M. L., Casas, C., & Selgas, M. D. (2001). Inulin as fat substitute in low fat, dry fermented sausages. *Meat Science*, 57, 387-393.
- Muguerza, E., Fista, G., Ansorena, D., Astiasarán, I., & Bloukas, J. G. (2002). Effect of fat level and partial replacement of pork backfat with olive oil on processing and quality characteristics of fermented sausages. *Meat Science*, 61, 397–404.
- Papadima, S. N., & Bloukas, J. G. (1999). Effect of fat level and storage conditions on quality characteristics of traditional Greek sausages. *Meat Science*, 51, 103-113.
- Ruusunen, M., & Puolanne, E. (2005). Reducing sodium intake from meat products. *Meat Science*, 70(3), 531-541.

- Salazar, P., García, M. L., & Selgas, M. D. (2009) A review Short-chain fructooligosaccharides as potential functional ingredient in dry fermented sausages with different fat levels. *International Journal of Food Science and Technology*, 44, 1100-1107.
- Salemme, F. R., & Barndt, R. (2008). Compositions and methods for producing a salty taste in foods or beverages. US Patent 007455872B2: United States.
- Toldrá, F. (2002). *Dry-cured meat products*. Trumbull, CT: Food & Nutrition Press, (Chapter 4).
- Warner, K., & Inglett, G. E. (1997). Flavor and texture characteristics of foods containing Z-trim corn and oat fibers as fat and flour replacers. *Cereal Foods World*, 42 (10), 821–825.
- Wirth, F. (1989). Reducing the common salt content of meat products: Possible methods and their limitations. *Fleischwirtschaft*, 69(4), 589–593.
- World Health Organisation (WHO). 2003. Diet, nutrition and the prevention of chronic disease. Report of a Joint WHO/FAO Expert Consultation. Geneva, Technical Report Series No. 916.
- Zolotov, S., Braverman, O., Genis, M., & Biale, D. (1998). Low sodium edible salt composition and process for its preparation. US Patent 005853792A: United States.

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

**DESAFIOS TECNOLÓGICOS E ESTRATÉGIAS UTILIZADAS PARA
REDUZIR SÓDIO E GORDURA EM PRODUTOS CÁRNEOS**

1. Redução de sódio em produtos cárneos

1.1 Efeito do NaCl na saúde

O sal é composto pelos íons sódio e cloro em uma proporção de 40 e 60%, em peso, respectivamente, de modo que uma colher de chá de sal (aproximadamente 6 g) contém 2,4 gramas de sódio. Tanto os íons sódio como os íons cloro desempenham funções importantes no organismo. O sódio em conjunto com o potássio é um elemento mineral essencial para a regulação do balanço eletrolítico corporal, a transmissão do impulso nervoso e a inervação do músculo, enquanto que o cloro é necessário para manter o equilíbrio ácido-base (Reddy e Marth, 1991).

No entanto, na maioria dos países desenvolvidos o teor de sal da dieta é superior ao exigido para a manutenção do equilíbrio eletrolítico do organismo. Este fato causa um aumento da pressão arterial, o que força a eliminação do excesso de sódio através de um mecanismo denominado natriurese. A natriurese não depende de nenhum hormônio e nem de controle nervoso, é um mecanismo totalmente mecânico. Esse controle mecânico ocorre da seguinte forma: quando a pressão arterial aumenta, a pressão dentro dos capilares do glomérulo do rim também aumenta, formando mais urina. O contrário é verdadeiro: quando a pressão diminui, a pressão dentro dos capilares do glomérulo também diminui, filtrando menos e formando menos urina. Qualquer falha neste sistema, que requer um funcionamento coordenado do sistema circulatório, da filtração glomerular e da função tubular renal pode desencadear o aparecimento da hipertensão arterial (Segura et al., 2000; He e MacGregor, 2003; Lev-Ran e Porta, 2005; He e MacGregor, 2007). Considerando os riscos do surgimento de hipertensão devido ao alto consumo de sódio a Organização Mundial

da Saúde (OMS) recomenda uma ingestão diária de sal não superior a 5 g/dia (WHO, 2009).

A maioria dos estudos epidemiológicos realizados por pesquisadores ao redor do mundo relaciona a alta ingestão de sal com o surgimento de hipertensão arterial. O INTERSALT (An International Study of Electrolyte Excretion and Blood Pressure) foi um dos primeiros estudos a comprovar a existência da associação entre o consumo de sal e o aumento da pressão arterial. De acordo com este estudo, indivíduos cujo consumo diário de sal foi reduzido para 5,8 gramas apresentaram uma redução de 3,1 milímetros de Hg da pressão arterial sistólica (INTERSALT, 1988). Estudos mais recentes como o INTERMAP (International Study on Micronutrient and Blood Pressure), o EPIC-Norfolk (The Norfolk Cohort of the European Prospective Investigation into Cancer) e o WHO-Cardiac (World Health Organization Cardiovascular Diseases and Alimentary Comparison) também confirmaram o efeito do alto consumo de sal e o surgimento de hipertensão arterial, chegando à conclusão de que uma redução no consumo de sal causaria uma diminuição generalizada da pressão arterial da população (He e MacGregor, 2007; Mohan e Campbell, 2009). Outros estudos que avaliaram populações que migram de locais onde se consome pouco sal, geralmente zonas rurais, para grandes cidades onde o consumo de sal é elevado, também demonstraram uma relação positiva entre o alto consumo de sal e o aumento da pressão arterial (He e MacGregor, 2007; Mohan e Campbell, 2009).

1.2 Contribuição dos produtos cárneos na ingestão diária de sódio

Os produtos cárneos contribuem com 20 a 30% da ingestão diária de sódio, sendo apenas superado pelos cereais e seus derivados. A carne *in natura* contém

sódio, mas a quantidade é menor que 100 mg de sódio por 100 g. A fonte principal do sódio em produtos cárneos é o cloreto de sódio (sal) que é adicionado durante o processamento, o qual contém 39,3% de sódio. (Desmond et al., 2006). O sal é um dos principais ingredientes utilizados no processamento de produtos cárneos. Devido a sua capacidade de reduzir a atividade de água da carne e, portanto, retardar o crescimento microbiológico, este ingrediente tem sido utilizado desde a antiguidade para conservar alimentos. Na indústria cárnea moderna o sal é usado como um realçador do sabor e aroma e é também responsável pelas propriedades desejadas de textura dos produtos cárneos (Terrell, 1983).

No entanto, deve-se ter em mente que nem todos os produtos cárneos contêm os mesmos níveis de sal. Produtos cárneos cozidos, como por exemplo salsicha, mortadela, presunto cozido e apresuntado apresentam um teor de sal entre 2 a 3%, já produtos defumados, como por exemplo o bacon, possuem um teor de sal entre 3 a 4%, enquanto que embutidos fermentados possuem um teor de sal de até 6%, fato atribuído ao processo de desidratação que estes produtos sofrem durante a sua fabricação (Ruusunen e Puolanne, 2005; Desmond et al., 2006).

Também, durante a elaboração de alguns produtos cárneos se adicionam alguns aditivos tais como glutamato monossódico, fosfato de sódio, ascorbato de sódio, nitrato e nitrito de sódio, os quais irão atuar como fontes adicionais de sódio, embora a contribuição destes ingredientes para o conteúdo final de sódio seja baixo em comparação com o cloreto de sódio que é cerca de 75% (Ruusunen e Puolanne de 2005; Desmond, 2006).

1.3 Funções do NaCl em produtos cárneos

1.3.1 Efeitos do sal nas propriedades tecnológicas

O sal é um ingrediente indispensável na elaboração de produtos cárneos desempenhando diversas funções tecnológicas importantes. Uma das principais funções do sal é a solubilização das proteínas miofibrilares da carne. A solubilização faz com que sejam ativadas as proteínas miofibrilares, aumentando a hidratação e a capacidade de retenção de água. O aumento da capacidade de retenção de água da carne reduz as perdas no cozimento, aumentando desse modo à maciez e a suculência. As perdas de água após o cozimento são minimizadas por um nível de sal de 5 a 8% em relação ao conteúdo total de água do produto (Ranken et al., 1997). Ruusunen et al. (2001a) comprovaram que à medida que se reduz o teor de sal em presuntos cozidos ocorre uma diminuição na capacidade de retenção de água e maiores perdas no cozimento. O papel do sal na retenção de água pode ser explicado pela tendência dos íons cloreto de penetrar nos miofilamentos, causando um entumescimento (Hamm, 1986). Esta transformação resulta em diferenças de concentrações locais que levam a um aumento da pressão osmótica dentro das miofibrilas, fazendo com que o filamento inche. Simultaneamente, a ampliação da carga negativa líquida dentro dos filamentos de miosina causa a sua desintegração em uma força iônica de 0,8 M (sem adição de fosfato) ou em 0,4 M (com adição de fosfato). Em embutidos sem adição de fosfato a retenção de água aumenta quase que linearmente à concentração de sal de até aproximadamente 4% (Hamm, 1986). Com a adição de fosfato ocorre um aumento marcante na retenção de água na escala de 1,0 a 1,5% de NaCl. Isto é devido à quebra de ligações de actomiosina pelos fosfatos, facilitando assim o entumescimento do filamento (Offer e Knight, 1988).

O sal também contribui para um aumento na ligação entre as partículas de carne. As proteínas miofibrilares, especialmente a miosina, que são extraídas por ação do sal, formam uma espécie de cola na superfície das peças cárneas que une uns pedaços aos outros, contribuindo para a textura e para a retenção da água livre. Antes do cozimento, a massa cárnea se torna mais pegajosa e coesa; após o cozimento, uma massa sólida é produzida devido à desnaturação protéica (Terra et al., 2004).

A retenção de gordura em produtos cárneos emulsionados é também aumentada pelo sal, devido à emulsificação da gordura pelas proteínas solubilizadas. Nestes produtos, a habilidade das proteínas miofibrilares reterem a gordura é tão importante quanto a habilidade de prender a água. Assim, em produtos emulsionados o sal é responsável por três interações importantes com as proteínas miofibrilares: proteína-água (retenção de água), proteína-proteína (ligação entre as partículas de carne) e proteína-gordura (retenção de gordura) (Hutton, 2002). A redução da quantidade de sal em produtos emulsionados causa uma diminuição na estabilidade da emulsão, fato comprovado por Sofos (1983) ao reduzir o nível de sal de 2,5% para 1,5% em salsichas.

Para ter seu efeito máximo, o sal deve ser distribuído de maneira uniforme através das estruturas da carne. Em produtos cárneos finamente cominuídos, como por exemplo, salsichas e mortadelas, a penetração de sal é rápida. Já em produtos elaborados com pedaços maiores de carne, tais como presuntos, a absorção de sal é mais lenta, devendo o sal ser introduzido por injeção, imersão ou tambleamento (Hutton, 2002).

No entanto, nem todas as influências do sal nos produtos cárneos são desejáveis. O sal acelera a reação catalisada pela enzima lipoxidase presente no músculo, promovendo a aceleração do desenvolvimento da oxidação lipídica, o que causa a rejeição do produto pelos consumidores (Lawrie, 1998).

1.3.2 Efeitos do sal na conservação

O sal é um conservante de alimentos muito eficaz fornecido pela natureza. Exerce seus efeitos conservantes através da redução da atividade de água, parâmetro que indica a quantidade de água disponível para ser utilizada pelos microrganismos. O sal se ioniza completamente na água na forma dos íons sódio e cloreto, os quais interagem com as moléculas de água tornando-a indisponível para o crescimento microbiano. A redução da atividade de água aumenta a fase de latência, isto é, o período em que os microrganismos se adaptam às condições do meio antes de iniciar o seu crescimento. Cada microrganismo tem um valor mínimo de atividade de água em que se desenvolve. Quando um microrganismo é submetido a valores de atividade de água abaixo do limite mínimo, a água intracelular se move através da membrana celular para fora da célula, onde a concentração de soluto é maior. Esta perda de água resulta na plasmólise da célula, perdendo-se com isso a estrutura rígida da célula, o que causa a paralisação do crescimento microbiano (Jay, 2005).

A carne e os produtos cárneos estavam provavelmente entre os primeiros alimentos a serem conservados com o sal. Atualmente, em consequência da evolução na conservação de alimentos, os produtos cárneos raramente são conservados somente com o emprego do sal, sendo prática comum combinar vários agentes e/ou técnicas de conservação. O charque é um exemplo de um produto cárneo que tem

como princípio de conservação a adição de grandes quantidades de sal, no qual a redução de atividade de água causada pelo sal faz com que possa ser conservado sem refrigeração (Shimokomaki, 2006).

1.3.3 Efeitos do sal na qualidade sensorial

Além de conferir o gosto salgado característico dos produtos cárneos, o sal também realça o sabor e o aroma de outros componentes e reduz a percepção de outros estímulos, como por exemplo, o gosto amargo de alguns compostos (Coultate, 2002). Este efeito é provavelmente relacionado ao efeito do sal na atividade de água. Por reduzir a atividade de água, o sal causa o aumento da concentração de outros componentes na solução, realçando sua volatilidade e sua percepção sensorial (Hutton, 2002).

Os efeitos do sal nas propriedades físicas também exercem influência sobre a textura dos produtos cárneos, podendo, por exemplo, tornar a textura mais macia quando se reduz o nível de sal, como mostrado por Matulis et al. (1995) em salsichas. Neste estudo foi mostrado que com o aumento do nível de sal de 0,5% para 3,0%, os atributos sensoriais de textura, suculência, salinidade e sabor foram significativamente melhorados. Estes autores sugeriram que 1,3% de sal seria o nível mínimo para a produção de salsichas aceitáveis.

Aliado a modificações na percepção da salinidade, a mais notável modificação resultante da redução no sal é um freqüente aumento no gosto amargo, o qual pode ser resultado da perda da inibição pelo sal do gosto amargo. A percepção do gosto amargo é considerado um atributo negativo e indesejável em produtos cárneos e isto

é um fator que tem de ser levado em consideração quando se deseja reduzir o teor de sal (Hutton, 2002).

1.4 Estratégias para redução de sódio em produtos cárneos

1.4.1 Utilização de sais substitutos de NaCl

O cloreto de potássio (KCl) é provavelmente o substituto do sal mais utilizado em alimentos com reduzido teor de sódio. No entanto, a utilização do KCl como substituto de NaCl pode conferir ao produto um gosto amargo, embora possa ser atingido algum sucesso em determinados níveis de substituição. Olson e Terrell (1981) relataram que o nível de 50% de substituição de NaCl por KCl pode causar um aumento significativo do gosto amargo e uma diminuição da salinidade. Frye et al. (1986) confirmaram esta observação ao verificarem uma redução na qualidade sensorial de presuntos cozidos com 50% de substituição de NaCl por KCl, no entanto, os produtos modificados apresentaram notas sensoriais aceitáveis. Já Collins (1997) reportou que a substituição de 30% de NaCl por KCl ou $MgCl_2$ não alterou os atributos de sabor, maciez e aceitabilidade global de presuntos cozidos.

Em embutidos fermentados, Askar et al (1993) encontraram diferenças na aceitabilidade global, mas estas não foram significativas até que o NaCl fosse substituído em um nível de 50% por KCl. Concordando com estes resultados, Gelabert et al. (1995) também encontraram uma diminuição na aceitabilidade global de embutidos fermentados quando o KCl foi usado em um nível maior do que 40%. Semelhantemente, Gou et al. (1996) detectaram em embutidos fermentados um gosto amargo ao substituírem 30% do teor de NaCl por KCl, no entanto, os provadores somente consideraram a intensidade do gosto amargo importante a partir do nível de

40% de substituição. Importante salientar que neste estudo não foi observada nenhuma alteração significativa na textura ao utilizar KCl como substituto do NaCl.

Na tentativa de minimizar os defeitos sensoriais causados pela utilização de altas quantidades de KCl como substituto de NaCl em embutidos fermentados, pesquisadores avaliaram a utilização de misturas de sais substitutos. Gimeno et al. (1998) usaram uma mistura de 1% de NaCl, 0,55% de KCl, 0,23% de $MgCl_2$ e 0,46% de $CaCl_2$ para substituir 2,6% de sal na formulação de salames do tipo espanhol (“chorizo”) e verificaram uma redução de sódio no produto final de aproximadamente 48%. No entanto, a aceitabilidade sensorial foi marcadamente reduzida, principalmente devido ao gosto salgado mais baixo. Em um estudo posterior, Gimeno et al. (1999) ao utilizarem em “chorizos” uma mistura de 1% de NaCl, 0,55% de KCl e 0,74% de $CaCl_2$ reduziram aproximadamente 40% o teor de sódio do produto final, sem depreciar significativamente a textura e a cor, porém a influência na qualidade sensorial não foi avaliada.

1.4.2 Utilização de realçadores de sabor

Realçadores de sabor podem ser utilizados para otimizar a redução ou a substituição de NaCl em produtos cárneos, especialmente quando se utiliza KCl. São caracterizados como ingredientes que têm pouco ou nenhum sabor ou aroma quando usados isoladamente, mas que possuem a capacidade de realçar os sabores desejáveis ou inibir o impacto dos indesejáveis, melhorando o sabor global dos alimentos (Desmond, 2006). Estes compostos atuam através da ativação de receptores presentes na boca e na garganta ajudando a compensar a redução de sal,

possibilitando desta forma reduzir o teor de sal sem diminuir a percepção do gosto salgado (Brandsma, 2006).

Já existe uma grande variedade de realçadores de sabor comercialmente disponíveis e este mercado está em franca expansão. Alguns dos agentes realçadores de sabor de maior importância para a tecnologia de produtos cárneos são listados abaixo.

- Lactatos

Lactatos de sódio e de potássio são usados em produtos cárneos como realçadores de sabor e umectantes (Shelef, 1994). O uso de lactato de sódio ou de potássio em produtos com redução de NaCl tende a manter uma certa salinidade, o que permite reduzir em determinado nível o teor de sódio em produtos cárneos (Price, 1997). Foi observado por Brewer et al. (1991) que a adição de 2 a 3% de lactato de sódio em embutidos emulsionados aumentou a intensidade do gosto salgado. Gou et al. (1996) afirmaram ser possível substituir em embutidos fermentados 40% de NaCl com lactato de potássio, apesar de que em um nível de substituição de 30% um leve sabor de lactato de potássio foi detectado. Já para um produto similar a copa suína, a utilização de uma mistura de KCl e lactato de potássio permitiu a substituição de 40% de NaCl, sem que o sabor fosse significativamente prejudicado. Guàrdia et al. (2008) afirmaram que a utilização de uma mistura de KCl e K-lactato (40:10) pode substituir até 50% do teor de NaCl sem causar prejuízos na qualidade sensorial de embutidos fermentados.

No entanto, alguns efeitos adversos na qualidade sensorial de produtos cárneos marinados foram relatados quando o lactato foi utilizado em uma

concentração superior a 2%. Williams e Phillips (1998) observaram defeitos no sabor de carne de frango com mais de 2% de lactato de sódio, fato também comprovado por Vote et al. (2000) em lombos bovinos.

- Glicina

Gou et al. (1996) investigaram o potencial da glicina como substituto de sal em produtos cárneos. Em embutidos fermentados foi possível substituir 40% de NaCl com glicina, acima deste nível um gosto doce inaceitável foi detectado. Em lombos curados, os resultados mostraram que uma mistura de KCl e glicina foi capaz de substituir 30% de NaCl sem que qualquer efeito significativo prejudicial ao sabor fosse observado. Gelabert et al. (2003) avaliaram o efeito da substituição de NaCl por glicina sobre as características sensoriais de embutidos fermentados e também os efeitos sensoriais da substituição de NaCl por misturas de glicina/KCl e glicina/K-lactato. A substituição parcial de NaCl por glicina causou defeitos no sabor em um nível de substituição de 20%. A substituição parcial (acima de 40%) de NaCl com as misturas de KCl/glicina e K-lactato/glicina causou importantes defeitos no sabor, fato que não permitiu um aumento do nível de substituição em relação aos níveis obtidos com os componentes usados individualmente.

- Aminoácidos

A utilização de aminoácidos para reduzir os defeitos sensoriais causados pela redução de NaCl ou pela substituição de NaCl por KCl é abordada em diversos estudos. Berglund e Alizadeh (1999) elaboraram uma mistura de lisina e KCl que confere um gosto salgado comparável ao NaCl. Conforme os pesquisadores, esta mistura mascara o gosto amargo do KCl e aumenta o valor nutricional dos produtos

em que for adicionada. Semelhantemente, Kurtz e Fuller (1997) e Salemme e Barndt (2008) afirmaram que o aminoácido taurina pode reduzir o gosto amargo do cloreto de potássio. Guerrero et al. (1995) descreveram em uma patente um realçador de gosto salgado que pode ser usado em uma variedade de alimentos. A preparação deste composto é realizada através de uma hidrólise enzimática de uma proteína, gerando um hidrolisado com alto teor de peptídeos e aminoácidos livres, especialmente lisina e arginina. Quando o produto é desidratado e adicionado a um alimento que contenha uma quantidade reduzida de NaCl, o gosto salgado é realçado. Além disso, este realçador de sabor tem um valor nutricional adicional, já que contém quantidades significativas de aminoácidos.

Em produtos cárneos fermentados, a adição de aminoácidos pode melhorar a qualidade sensorial por influenciar a geração de compostos voláteis durante a fabricação, como demonstrado por Herranz et al. (2005). Neste experimento foi constatado que a adição de uma mistura de valina, isoleucina e leucina e de uma mistura de aminoácidos livres (gly/asn/his/arg/thr/ala/pro/tyr/Val/met/ile/leu/phe/trp/lys/asp/glu/ser/gln/cys) aumentou a quantidade de compostos voláteis provenientes da degradação de aminoácidos, tais como aldeídos ramificados e seus alcoóis correspondentes. Além disso, na avaliação sensorial, os embutidos fermentados com adição de valina, isoleucina e leucina mostraram uma melhor qualidade global.

- Glutamato monossódio e 5'-ribonucleotídeos

Glutamato monossódico (MSG) tem sido utilizado amplamente em alimentos como realçador de sabor, conferindo o gosto conhecido como umami. O gosto umami

também é transmitido por 5'-ribonucleotídeos como por exemplo, inosina-5'-monofosfato (IMP) e guanosina-5'-monofosfato (GMP). Estes realçadores de sabor são utilizados como tal, mas também fazem parte, separadamente ou em combinação, de outros realçadores de sabor. Extratos de levedura, por exemplo, que são preparados por degradação enzimática de leveduras, contém GMP e IMP. Proteínas vegetais hidrolisadas, que são preparadas por hidrólise ácida ou enzimática de proteínas vegetais, normalmente contêm glutamato monossódico. Este glutamato monossódico é derivado dos aminoácidos ácido glutâmico e glutamina, os quais são liberados durante a hidrólise protéica. Em geral, pode-se afirmar que existem poucos realçadores de sabor que não possuem quantidades substanciais de MSG ou de 5'-ribonucleotídeos (Schoenmaker et al., 2001).

Tem sido sugerido que apesar do MSG conter uma quantidade significativa de sódio (aproximadamente 21% de sua composição), ele pode ser empregado para reduzir os níveis de NaCl em produtos alimentícios (Okiyama e Beauchamp, 1998). Yamaguchi e Takashashi (1984) demonstraram que para uma sensação de igualdade de salinidade, pode-se utilizar menores quantidades de MSG do que NaCl, reduzindo-se em 30 a 40% a concentração de sódio. Ruusunen et al. (2001b) observaram que a intensidade de gosto salgado de mortadelas tipo bologna foi mais forte quando se adicionou às formulações MSG ou Ribotide (IMP e GMP 50:50).

Tem sido relatado que a adição conjunta de MSG e 5'-ribonucleotídeos aumenta significativamente o gosto umami (Halpern, 2000). Este fenômeno de sinergismo é de extrema importância, já que isto fornece uma oportunidade para a indústria de alimentos reduzir custos através da diminuição da quantidade de MSG na formulação sem afetar a qualidade do sabor. Por exemplo, verificou-se que a mesma

qualidade sensorial pode ser obtida reduzindo-se a concentração de MSG de 100 g para 17 g ao se utilizar 0,9 g de uma mistura 50:50 de GMP e IMP (Löliker, 2000).

No entanto, alguns problemas relacionados com a ingestão de MSG e nucleotídeos são relatados na literatura. A ingestão constante de altas concentrações de MSG pode causar o aparecimento de doenças neurológicas, principalmente Parkinson e Alzheimer (Arruda et al., 2003). Assim, a sua concentração nos alimentos deve ser controlada. IMP e GMP são nucleotídeos de purina sintetizados no corpo humano e desempenham diversos papéis no metabolismo celular (Devlin, 1997). López-Navarro et al. (1996) sugeriram que nucleotídeos dietéticos são energeticamente vantajosos para atender as necessidades do fígado. No entanto, pessoas com altos níveis de ácido úrico no sangue e na urina devem evitar alimentos com este tipo de compostos, pois a degradação dos nucleotídeos de purinas leva à formação de ácido úrico (Devlin, 1997).

- Extratos de levedura

Existem disponíveis comercialmente diversos realçadores de sabor fabricados a partir da autólise de leveduras. Alguns desses extratos podem ser utilizados para realçar o gosto salgado em produtos com redução de sal ou para mascarar o gosto amargo e metálico do KCl. No Brasil, a empresa Biorigin fabrica os produtos Bionis e Biotaste, que são extratos de levedura específicos para serem aplicados em produtos com redução de sal. De acordo com informações da empresa, a utilização dos extratos de levedura Bionis e Biotaste permite reduzir entre 25% a 50% o teor de sal dos alimentos, incluindo produtos cárneos. Em alguns casos, os extratos de levedura são comercializados misturados com KCl para oferecer uma solução completa. A

empresa Provista® Flavour Ingredients comercializa um substituto de sal que combina o KCl e leveduras autolizadas. Segundo a empresa, este ingrediente confere aos produtos em que é adicionado um gosto muito menos amargo do que o KCl quando usado isoladamente. Esta empresa também comercializa um extrato de levedura com altos níveis dos 5'-ribonucleotídeos IMP e GMP e ácido glutâmico livre que pode ser usado para substituir sal ou MSG conferindo aos produtos um status de “clean label”. Aromild é outro exemplo de extrato de levedura disponível comercialmente, sendo produzido pela empresa Kohjin Co. Ltd. Conforme a empresa, Aromild contém naturalmente IMP e GMP e é capaz de realçar o sabor dos alimentos com reduzido teor de sal ou também ser utilizado para substituir MSG.

2 Redução de gordura em produtos cárneos

2.1 Gordura e saúde

A Organização Mundial da Saúde estima que existam mais de 250 milhões de casos de obesidade no mundo, equivalente a 7% da população adulta. Os custos reais de obesidade em diversos países têm sido estimados em cerca de 2 a 8% do total das despesas de saúde (Seidell, 1999). Relata-se que nos países ocidentais, cerca de 40% das calorias totais são obtidas a partir da gordura, com mais de 50% deste valor sendo obtido através do consumo de produtos cárneos (Sheard et al., 1998). Estudos apontam que uma redução de 10% de ingestão de gordura na dieta pode resultar em uma diminuição de 238 kcal/dia na ingestão energética total (Astrup et al. 2000). As causas da obesidade são variadas, tais como diferenças em: regiões/áreas, sexo, grupo étnico e condições socioeconômicas (Whincup et al, 2002). Entretanto, as mudanças no estilo de vida, as populações cada vez mais sedentárias,

a mecanização crescente da vida moderna, combinada com mudanças nos padrões alimentares e o consumo de dietas ricas em gordura têm sido considerados os fatores mais significativos (Vass, 2002).

Recomendações para ingestão de gordura têm sido propostas por um número de autoridades científicas e organizações nutricionais, incluindo a Organização Mundial de Saúde (WHO, 2003). A ingestão de gordura deve representar entre 15% e 30% da energia total da dieta, sendo que não mais que 10% das calorias devem ser provenientes de ácidos graxos saturados, 6 a 10% devem ser de ácidos graxos poliinsaturados, cerca de 10 a 15% devem ser provenientes de ácidos graxos monoinsaturados e menos de 1% deve ser ácidos graxos trans. Também é recomendável limitar a ingestão de colesterol para até 300 mg/dia (WHO, 2003).

A relação entre o alto consumo de gordura e colesterol e o surgimento de doenças coronarianas é suportada por extensos e consistentes estudos clínicos, epidemiológicos e metabólicos. Estudos apontam que dietas ricas em gorduras totais ocasionam um aumento do colesterol LDL (lipoproteínas de baixa densidade), fato que propicia a formação de lesões ateroscleróticas nas artérias coronárias (Glueck et al. 1994). Latta (1990) relatou que a redução do consumo de gordura baixou em 20% o risco do surgimento de doenças cardiovasculares em pessoas que estavam acima do peso, fato este relacionado à perda de peso devido a alteração da dieta. Semelhantemente, Hooper et al. (2001) relataram que a redução de gordura na dieta resultou em uma redução de 24% nas doenças cardiovasculares em participantes depois de um período de dois anos. Pesquisas também demonstram que a quantidade e o tipo de gordura na dieta também estão associados com a prevenção ou o surgimento de doenças cardiovasculares. De acordo com Law (2000) e Schaefer

(2002) a restrição da ingestão de ácidos graxos saturados e colesterol e o aumento da ingestão de ácidos graxos essenciais, em especial os ácidos graxos w-3 pode reduzir o risco das doenças cardiovasculares.

Apesar do consenso de que o alto consumo de gordura pode causar problemas como obesidade e aumentar os fatores de risco relacionados ao surgimento de doenças cardiovasculares, também é importante reconhecer o papel benéfico que os lipídios e os compostos lipídicos desempenham no organismo. Fosfolipídios, glicolipídios e o colesterol desempenham um papel estrutural na membrana celular tendo uma importante função nos sistemas bioquímicos reguladores. Estas frações lipídicas servem como precursores de compostos biologicamente ativos benéficos, tais como prostaglandinas, hormônios esteróides e ácidos biliares (Dunford, 2001).

2.2 Consequências da redução de gordura nas características dos produtos cárneos

As características tecnológicas, sensoriais e nutricionais dos produtos cárneos estão diretamente relacionadas à quantidade de gordura presente na formulação. A incorporação de gordura nos produtos cárneos exerce uma influência significativa nas suas propriedades sensoriais, tais como cor, sabor e aroma (Mela e Marshall, 1992; Yackinous e Guinard, 2000). Além disso, as propriedades físico-químicas da gordura fazem com que ela contribua decisivamente para a textura dos produtos cárneos, desempenhando um papel fundamental na melhoria dos parâmetros de viscosidade, cremosidade, mastigabilidade, coesividade, dureza e crocância (Drewnowski, 1997; Marshall, 1990). Alguns estudos têm mostrado que a substituição de gordura por água no processamento de produtos cárneos pode resultar em um produto de textura

inaceitável, aumentando-se as perdas por gotejamento devido à incapacidade física de carne magra reter adequadamente o excesso de água (Ahmed et al., 1990; Claus and Hunt, 1991; Claus et al., 1989; Gregg et al., 1993). Estudos também têm relatado a correlação entre a redução de gordura em produtos cárneos com alterações prejudiciais na cor e aceitabilidade global (Claus, 1991; Huffman et al., 1991; Troutt et al., 1992).

A redução do teor de gordura em produtos cárneos para um nível nutricionalmente aceitável, ou seja, inferior a 10%, especialmente em produtos emulsionados, tais como salsichas, diminui a palatabilidade, além de aumentar a dureza e depreciar o sabor e o aroma (Claus, 1991; Rust e Olsen, 1988). O sabor e aroma característico dos produtos cárneos podem ser afetados por uma série de mecanismos quando o teor de gordura é reduzido, tais como: mudanças nos tipos de interações que ocorrem entre compostos voláteis aromáticos; diferenças na geração de compostos nos quais a gordura é um precursor e mudanças no comportamento de alguns ingredientes quando o meio é alterado, como por exemplo sal, especiarias ou aromatizantes (Jiménez-Colmenero, 1996).

Em embutidos cárneos fermentados, Muguerza et al. (2002) e Mendoza et al. (2001) reportaram uma diminuição significativa na aceitabilidade sensorial ao reduzir o teor de gordura na formulação. Além da deficiência de sabor e do aroma, a diminuição na aceitabilidade sensorial pode estar associada a inúmeras outras propriedades que a gordura confere neste tipo de produto, tais como, aparência, maciez, suculência e palatabilidade. Também, nesta classe de produtos cárneos a gordura exerce um papel tecnológico fundamental durante o processo de fabricação, pois regula a liberação contínua de umidade das camadas internas do produto, um processo muito

importante para a ocorrência de uma fermentação eficaz e para a formação de compostos de sabor e aroma (Wirth, 1989).

Além dos defeitos sensoriais e tecnológicos, outra questão fundamental que deve ser levada em consideração na elaboração de produtos cárneos com reduzido teor de gordura é a influência da gordura na redução de custos de fabricação, já que geralmente a gordura possui menor valor econômico que a carne magra. Além disso, no caso de embutidos fermentados, a gordura exerce um efeito adicional, pois diminui a perda de peso durante a fabricação, aumentando desta forma o rendimento. Trabalhos analisando a redução de gordura em embutidos fermentados mostraram que à medida que se aumenta o teor de gordura na formulação a perda de peso durante a fabricação é diminuída e isto pode ser atribuído a menor umidade da gordura em comparação à carne magra (Muguerza et al., 2002; Papadima e Bloukas, 1999).

Outro aspecto importante da utilização de gordura em produtos cárneos é a questão nutricional. A gordura é fonte de energia, sendo essencial para o crescimento e desenvolvimento. Além disso, auxilia na absorção de vitaminas lipossolúveis e provém ácidos graxos essenciais necessários para manter a estrutura da membrana celular e para a síntese de prostaglandinas. Porém, é importante enfatizar que a gordura animal utilizada na elaboração de produtos cárneos possui além de colesterol um alto teor de ácidos graxos saturados, fato que pode trazer prejuízos à saúde, já que o consumo regular deste tipo de gordura pode propiciar o surgimento de aterosclerose e doenças cardiovasculares (Muguerza et al., 2004).

Considerando a grande importância da gordura no processamento de produtos cárneos, a remoção de gordura de um sistema cárneo sem a manipulação física adequada e/ou a adição de substitutos de gordura irá resultar em um produto final inaceitável (Keeton, 1994). É necessário que os produtos cárneos elaborados com teor de gordura reduzido não apenas possuam características tecnológicas e sensoriais aceitáveis, mas também sejam economicamente viáveis. Isso nem sempre é uma tarefa simples, já que as modificações da composição dos produtos reformulados podem ocasionar alterações que se manifestam em diferentes graus apenas durante o seu armazenamento (Jiménez-Colmenero, 1996).

2.3 Utilização de substitutos de gordura em produtos cárneos

Substitutos de gordura são ingredientes que apresentam um valor calórico inferior a gordura e que possuem a capacidade de mimetizar as funções que a gordura confere aos alimentos (Akoh, 1998). Existe uma grande variedade de substitutos de gordura comercialmente disponíveis e abaixo são listados aqueles de maior importância para a tecnologia de produtos cárneos.

2.3.1 Gomas

As gomas são carboidratos de alto peso molecular, utilizadas principalmente em alimentos como espessantes e estabilizantes. São classificadas como hidrocolóides, podendo-se citar o agar, o alginato, a goma arábica, a carragena, as galactomananas (goma guar e goma locuste) e a goma xantana como os principais representantes deste amplo grupo. Devido as suas importantes propriedades de ligação de água e de geleificação, é de grande interesse a aplicação desses

compostos na elaboração de produtos cárneos com reduzido teor de gordura (Candogan e Kolsarici, 2003).

As galactomananas (goma guar e locuste) não são usadas diretamente como substitutos de gordura. A principal função das galactomananas em alimentos com reduzido teor de gordura é controlar a viscosidade através da retenção de água, fator muito importante quando o nível de gordura nos alimentos é reduzido (Setser e Racette, 1992). A goma guar produz uma alta viscosidade em soluções frias, tem boa ação estabilizante e boa capacidade de retenção de água. Confere aos produtos cárneos uma sensação de cremosidade, mimetizando a ação da gordura. A goma guar não geleifica, mas reage sinergicamente com a goma xantana, causando um aumento da viscosidade (Pearson e Gillett, 1999). A goma locuste é solúvel em água fria e não tem a propriedade de formar gel. A viscosidade máxima é obtida a 95°C. Os efeitos sinérgicos aparecem quando é misturada com outros hidrocolóides. Por exemplo, as gomas locuste e xantana não formam géis quando usadas isoladamente, somente aumentam a viscosidade. Entretanto, quando utilizadas em conjunto produzem após o aquecimento e refrigeração um gel muito elástico (Symes, 1980). Lurueña-Martínez et al. (2004) mostraram que a mistura de goma xantana e goma locuste foi eficaz na redução de gordura de salsichas do tipo Frankfurt, diminuindo as perdas no cozimento e a separação de gordura, melhorando o rendimento e a estabilidade da emulsão. Porém, o fato mais importante deste trabalho foi que a mistura de goma xantana e locuste não afetou as propriedades estruturais e a aceitabilidade sensorial do produto. Xiong et al. (1999) relataram que a goma locuste foi eficiente no aumento do rendimento no cozimento em salsichas com baixo teor de

gordura, provavelmente devido a sua habilidade de formar pontes de hidrogênio com a água.

A goma xantana é solúvel tanto em água quente como em água fria. Assim como as galactomananas, a goma xantana não pode ser aplicada diretamente como um substituto de gordura, mas pode ser usada como um estabilizador em alimentos com baixo teor de gordura controlando a viscosidade e a textura. Mesmo quando esta goma é usada em baixas concentrações, ocorre a formação de uma solução viscosa, a qual é estável em ampla faixa de pH e temperatura (Pettitt, 1982). A viscosidade desta solução é importante para o sabor, a suculência e a aparência externa do produto (Glicksman, 1982). A goma xantana foi considerada como a melhor goma para reter a água adicionada em produtos cárneos emulsionados com baixo teor de gordura (Wallingford e Labuza, 1983).

A carragena pode ser utilizada em uma ampla gama de produtos cárneos, tais como hambúrgueres, salsichas, linguiças e apresuntados devido a sua habilidade de reter a umidade (Bater et al., 1992; Brewer et al., 1992; Egbert et al., 1991; Trius et al., 1994). Egbert et al. (1991) encontraram que quando 0,5% de carragena foi usada em hambúrgueres com 8% de gordura, as características sensoriais foram similares a hambúrgueres contendo 20% de gordura.

2.3.2 Derivados de amido

O amido tem sido amplamente empregado no processamento de produtos cárneos para melhorar a retenção de água, reduzir perdas pós-cozimento e para estabilizar emulsões (Berry e Wergin, 1993; Carballo et al., 1995; Claus e Hunt, 1991;

Khalil, 2000; Lyons et al., 1999). Também, a adição de amidos em produtos cárneos apresenta como vantagem a melhoria da textura do produto (Keeton, 1994).

As fontes mais comuns de obtenção do amido são trigo, arroz, batata, mandioca e milho. Os dois componentes principais do amido são a amilose e a amilopectina, sendo que cada tipo de amido tem diferentes relações de amilose e de amilopectina. O armazenamento de produtos cárneos que contêm amidos com elevado teor de amilose em temperaturas em torno de - 1°C a 0°C por um tempo prolongado favorece a retrogradação, fenômeno em que as moléculas de amido gelatinizadas começam a se reassociar, causando uma liberação de água (sinérese) e a formação de precipitados. O nível de retrogradação depende da quantidade de amilose presente em cada tipo de amido, aumentando na seguinte seqüência: mandioca > arroz > batata > milho > trigo. O amido de trigo devido ao alto teor de amilose possui uma grande tendência para a ocorrência da retrogradação. Produtos cárneos embalados à vácuo e fatiados são muito suscetíveis a ocorrência da sinérese em consequência da retrogradação do amido. O amido de arroz é o que possui o sabor mais neutro, enquanto que os amidos modificados de mandioca e de batata demonstram boa estabilidade ao congelamento e descongelamento (Murphy, 2000).

Amidos modificados de mandioca e de batata gelatinizam em temperaturas mais baixas que amidos no estado nativo, resultando em um aumento no rendimento de cozimento em produtos cárneos. O amido modificado de batata produz um gel de textura firme e é excelente para o uso em carnes injetadas, tambleadas e marinadas. O amido de batata apresenta pouca interferência no sabor natural da carne e também tem um forte efeito sinérgico com as proteínas de soja. Os amidos nativos de batata e de mandioca são geralmente muito difíceis de serem injetados em produtos cárneos

devido a limitada dispersibilidade na água fria. Porém, em produtos cárneos cominuídos cozidos a utilização de amido de batata aumenta o rendimento, reduz perdas de cozimento, melhora a textura e aumenta a vida de prateleira (Murphy, 2000). Troutt et al (1992) relataram que a utilização de amido de batata em hambúrgueres com reduzido teor de gordura reduziu significativamente as perdas de cozimento, melhorando desta forma a suculência dos produtos. Com relação ao amido de mandioca, Hart e Price (1993) também observaram um aumento na suculência em produtos cárneos cozidos com baixo teor de gordura quando utilizaram amido de mandioca, fato este atribuído a retenção de umidade.

2.3.3 Derivados de celulose

Z-trim[®] é um ingrediente desenvolvido no Centro Nacional de Pesquisa da Agricultura (USDA) e é licenciado pela Conagra, Quaker Oats, e Rhone-Poulenc (Akoh, 1998). É uma fibra insolúvel fabricada a partir da porção de alto conteúdo de celulose da casca de aveia, soja, ervilha, arroz ou do farelo de milho ou trigo. Este ingrediente contribui com conteúdo de fibras totais e ao absorver água, o pó se expande para formar gel propiciando uma melhor textura a uma variedade de alimentos, inclusive produtos cárneos (Inglett, 1997; Akoh, 1998).

2.3.4 Fibras

Diversas fibras alimentares têm sido empregadas como substitutos de gordura em produtos cárneos. García et al. (2002) elaboraram salames com baixo teor de gordura (6% e 10%) adicionados de fibras de cereais (aveia e trigo) e fibras de frutas (pêssego, maçã e laranja), em uma concentração de 1,5% e 3%. Os resultados mostraram que a adição de 3% de fibras depreciou a qualidade sensorial e a textura

dos produtos. Os salames com 10% de gordura e 1,5% de fibras de frutas, especialmente aqueles com fibra de laranja foram os que apresentaram os melhores resultados. Nestes produtos foi observada uma significativa diminuição no valor energético. Em hambúrgueres, Piñero et al. (2008) e Campagnol et al. (2006) obtiveram resultados sensoriais aceitáveis ao utilizarem fibra de aveia e fibra de soja, respectivamente, como substitutos de gordura. A adição de inulina como substituto de gordura em produtos cárneos também já foi estudada. Mendoza et al. (2001) produziram salames com uma redução de 25% e 50% de gordura e também avaliaram a influência da adição de diferentes níveis de inulina em salames com redução de 50% de gordura. Os resultados mostraram que a redução do teor de gordura diminuiu significativamente a qualidade sensorial dos salames. A adição de inulina em pó na concentração de 11,5% resultou em salames de melhor aceitação, mas ainda estatisticamente inferiores aos salames controle com alto teor de gordura.

2.4 Segurança dos substitutos de gordura usados em produtos cárneos

Os ingredientes utilizados como substitutos de gordura em produtos cárneos devem ser reconhecidos como GRAS (“geralmente reconhecidos como seguros”). A certificação de que um ingrediente é GRAS é baseada na longa história de uso seguro ou por dados científicos que suportam sua segurança para aplicações específicas em alimentos (Mattes, 1998).

A segurança dos substitutos de gordura precisa ser avaliada com muito cuidado visto que eles podem substituir uma proporção significativa de gordura na dieta e serem consumidos em grandes quantidades todos os dias por alguns indivíduos. Devido ao possível grande consumo, os métodos tradicionais utilizados

para avaliar a segurança de aditivos que são consumidos em pequenas quantidades não são adequados para avaliar a segurança dos substitutos de gordura. Por esta razão, um programa especialmente projetado para avaliação da segurança deve ser desenvolvido com a consideração cuidadosa da estrutura química, estabilidade durante a produção e a identificação dos subprodutos da degradação dos substitutos de gordura. A realização de testes toxicológicos, fisiológicos e nutricionais também deve ser considerada para avaliação da segurança desses compostos (Artz e Hansen 1994; Borzelleca, 1996).

Testes de segurança de substitutos de gordura devem ser conduzidos em animais e os resultados desses testes devem ser confirmados em estudos com humanos. Se os substitutos de gordura não forem absorvidos, os efeitos no aparelho gastrointestinal, na ecologia da microflora do cólon, na toxicidade dos metabólitos degradados e os efeitos laxantes devem ser considerados, e caso os substitutos de gordura forem absorvidos, seu caminho de absorção e de eliminação devem ser avaliados (Gershoff, 1995; Mahungu et al., 2002).

Visto que as gorduras dietéticas são uma fonte de ácidos graxos essenciais e carreadores de vitaminas lipossolúveis, o consumo de substitutos de gordura em substituição das gorduras tradicionais poderia conduzir a uma carência destes nutrientes. Assim, os estudos para investigar os efeitos a longo prazo dos substitutos de gordura na absorção ou na utilização de ácidos graxos essenciais e de nutrientes lipossolúveis devem ser conduzidos (Chung e Min, 2004).

A maioria dos substitutos de gordura considerados como substâncias GRAS foram obtidos a partir de carboidratos ou proteínas de alimentos comuns, desta forma

requisitos mínimos de segurança foram exigidos. Entretanto, o olestra, um substituto de gordura de origem química, somente recebeu a aprovação para ser utilizado em alimentos após serem realizados extensivos testes toxicológicos, clínicos, nutricionais e gastrointestinais (Chung e Min, 2004).

Referências Bibliográficas

- Ahmed, P. O., Miller, M. F., Lyon, C. E., Vaughters, H. M., & REAGAN, J. O. (1990). Physical and sensory characteristics of low-fat fresh pork sausage processed with various levels of added water. *Journal of Food Science*, 55, 625- 628.
- Akoh, C. C. (1998). Fat replacers. *Food Technology*, 52 (3), 47-53.
- Arruda, N. J., Filho, J. L., Montenegro, M. C., Araújo, A. N., & Silva, V. L. (2003). Simple and inexpensive flow l-glutamate determination using pumpkin tissue. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51, 6945- 6948.
- Artz, W. E., & Hansen, S. L. (1994). Other fat substitutes. In C. C. Akoh, B. G. Swanson, *Carbohydrate polyesters as fat substitutes* (pp. 197-236). New York: Marcel Dekker Inc.
- Askar, A., El-Samahy, S. K., Shehata, H. A., & Tawfik, M. (1993). Pasterma and beef bouillon. The effect of substituting KCl and K-lactate for sodium chloride. *Fleischwirtschaft*, 73, 289-292.
- Astrup, A., Grunwald, G. K., Melanson, E. L., Saris, W. H., & Hill, J. O. (2000). The role of low-fat diets in body weight control: A meta-analysis of ad libitum dietary intervention studies. *International Journal of Obesity and Related Metabolic Disorders*, 24, 1545-1552.
- Bater, B., Descamps, O., & Maurer, A. J. (1992). Quality characteristics of hydrocolloid-added oven-roasted turkey breasts. *Journal of Food Science*, 57, 1068-1070.

- Berglund, K. A., & Alizadeh, H. (1999). Composition and method for producing a salty taste. US Patent 005897908A: United States.
- Berry, B. W., & Wergin, W. P. (1993). Modified pre-gelatinized starch in low-fat ground beef patties. *Journal of Muscle Foods*, 4, 305- 320.
- Borzelleca, J. F. (1996). A proposed model for safety assessment of macronutrient substitutes. *Regulatory Toxicology Pharmacology*, 23, S15- S18.
- Brandsma, I. (2006). Reducing sodium: a European perspective. *Food Technology*, 60 (3), 25–29.
- Brewer, M. S., Mckeith, F. K., & Britt, K. (1992). Fat, soy and carrageenan effects on sensory and physical characteristics of ground beef patties. *Journal of Food Science*, 57, 1051-1055.
- Brewer, M. S., Mckeith, F. K., Martin, S. C., Dallmeir, A., & Meyer, J. (1991). Sodium lactate effects on shelf-life, sensory and chemical characteristics of fresh pork sausage. *Journal Food Science*, 56, 1176-1178.
- Campagnol, P. C. B., Terra, N. N., Fries, I. L. M., Santos, B. A., Furtado, A., Milani, I. I. G., & Padilha, A. D. (2006). Características de hambúrgueres contendo diferentes níveis de gordura e fibra de soja. *Revista Nacional da Carne*, 35, 56-60.
- Candogan, K., & Kolsarici, N. (2003). The effects of carrageenan and pectin on some quality characteristics of low-fat beef frankfurters. *Meat Science*, 64, 199–206.
- Carballo, J., Barreto, G., & Jiménez-Colmenero, F. (1995). Starch and egg white influence on properties of Bologna sausage as related to fat content. *Journal of Food Science*, 60, 673- 677.
- Chung, H. J., & Min, D. B. (2004). *Developments in fat replacers*. In: Anna Arnoldi (Org.). Functional foods, cardiovascular disease and diabetes. CRC Press Inc.
- Claus, J. R. (1991). Fat reduction in comminuted meat systems. *Reciprocal Meat Conference Proceedings*, 44, 93- 99.

- Claus, J. R., & Hunt, M. C. (1991). Low-fat, high added-water bologna formulated with texture-modifying ingredients. *Journal of Food Science*, 56, 643- 647.
- Claus, J. R., Hunt, M. C., & Kastner, C. L. (1989). Effects of substituting added water for fat on the textural, sensory and processing characteristics of Bologna. *Journal of Muscle Foods*, 1, 1- 21.
- Collins, J. E. (1997). Reducing salt (sodium) levels in process meat poultry and fish products. In: A. M. Pearson, T. R. Dutson, (Eds.). *Advances in Meat Research Volume 11: Production and Processing of Healthy Meat, Poultry and Fish Products* (pp. 283- 297), London: Blackie Academic & Professional.
- Coulter, T. P. (2002). Food: The chemistry of its component (4th ed.), The Royal Society of Chemistry (432 p.), Cambridge.
- Desmond, E. (2006). Reducing salt: A challenge for the meat industry. *Meat Science*, 74, 188-196.
- Devlin, T. (1997). Purine and pyrimidine nucleotide metabolism (4th ed.), *Textbook of Biochemistry with clinical correlations* (439 p.), Wiley-Liss, New York.
- Drewnowski, A. (1997). Why do we like fat?. *Journal of the American Dietetic Association*, S58- S62.
- Dunford, N. T. (2001). Health benefits and processing of lipid-based nutritionals. *Food Technology*, 55, 38- 44.
- Egbert, W. R., Huffman, D. L., Chen, C. M., & Dylewski, D. P. (1991). Development of low-fat ground beef. *Food Technology*, 45 (6), 66-73.
- Frye, C. B., Hand, L. W., Calkins, C. R., & Mandigo, R. W. (1986). Reduction or replacement of sodium chloride in a tumbled ham product. *Journal of Food Science*, 51, 836–837.
- García, M., Domínguez, L. R., Galvez, M. D., Casas, C., & Selgas, D. M. (2002). Utilization of cereal and fruit fibers in low fat dry fermented sausages. *Meat Science*, 60, 227–236.

- Gelabert, J., Gou, P., Guerrero, L., & Arnau, J. (1995). Efecto de la sustitución del NaCl por Lactato Potásico, Glicina o KCl sobre las características del fuet. *AIDA*, Zaragoza.
- Gelabert, J., Gou, P., Guerrero, L., & Arnau, J. (2003). Effect of sodium chloride replacement on some characteristics of fermented sausages. *Meat Science*, 65, 833–839.
- Gershoff, S. N. (1995). Nutrition evaluation of dietary fat substitutes. *Nutrional Review*, 53, 305-313.
- Gimeno, O., Astiasaran, I., & Bello, J. (1998). A mixture of potassium, magnesium and calcium chlorides as a partial replacement of sodium chloride in dry fermented sausages. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46 (10), 4372-4375.
- Gimeno, O., Astiasaran, I., & Bello, J. (1999). Influence of partial replacement of NaCl with KCl and CaCl₂ on texture and color of dry fermented sausages. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47, 873–877.
- Glicksman, M. (1982). Fermentation (biosynthetic) gums. In: M. Glicksman (Ed.), *Food Hydrocolloids* (p. 123), CRC Press: Boca Raton.
- Glueck, C. J., Streicher, P. A., Illig, E. K., & Weber, K. D. (1994). Dietary fat substitutes. *Nutrition Research*, 14, 1605–1619.
- Gou, P., Guerrero, L., Gelabert, J., & Arnau, J. (1996). Potassium chloride, potassium lactate and glycine as sodium chloride substitutes in fermented sausages and in dry-cured pork loin. *Meat Science*, 42(1), 37–48.
- Gregg, L. L., Claus, J. R., Hackney, C. R., & Marriot, N. G. (1993). Low-fat, high added water bologna from massaged, minced batter. *Journal of Food Science*, 58, 259-264.
- Guàrdia, M. D., Guerrero, L., Gelabert, J., Gou, P., & Arnau, J. (2008). Sensory characterisation and consumer acceptability of small calibre fermented sausages with 50% substitution of NaCl by mixtures of KCl and potassium lactate. *Meat Science*, 80, 1225–1230.

- Guerrero, A., Kwon, S. S.-Y. & Vadehra D. V. (1995). Compositions to enhance taste of salt used in reduced amounts. US patent 5711985: United States.
- Halpern, B. P. (2000). Glutamate and the flavor of foods. *Journal Nutrition*, 130, 910S - 914S.
- Hamm, R. (1986). Functional properties of the myofibrillar system. In: P. J. Bechtel (Ed.), *Muscle as food* (pp. 135- 200), New York: Academic Press.
- Hart, B., & Price, K. (1993). New potential for low fat beef burgers. *Food Manufacture*, 68, 42-43.
- He, F. J., & MacGregor, G. A. (2003). How far should salt intake be reduced? *Hypertension*, 42, 1093-1099.
- He, F. J., & MacGregor, G. A. (2007). Dietary salt, high blood pressure and other harmful effects on health. In: Kilcast, D. & Angus (Eds.), *Reducing salt in foods, practical strategies* (pp.19-53F), CRC Press, Boca Raton, FL, USA.
- Herranz, B., De La Hoz, L., Hierro, E., Fernández, M., & Ordóñez, J. A. (2005). Improvement of the sensory properties of dry-fermented sausages by the addition of free amino acids. *Food Chemistry*, 91(4), 673- 682.
- Hooper, L., Summerbell, C. D., Higgins, J. P. T., Thompson, R. L., Capps, N. E., Smith, G. D., Riemersma, R. A., & Ebrahim, S. (2001). Dietary fat intake and prevention of cardiovascular disease: Systematic review. *British Medical Journal*, 322, 757- 763.
- Huffman, D. L., Egbert, R. W., Chen, C. M., & Dylewski, D. P. (1991). Technology of low-fat ground beef. *Reciprocal Meat Conference Proceedings*, 44, 73- 79.
- Hutton, T. (2002). Sodium: Technological functions of salt in the manufacturing of food and drink products. *British Food Journal*, 104 (2), 126- 152.
- Inglett, G. E. (1997). Development of a dietary fiber gel for calorie reduced foods. *Cereal Foods World*, 42, 382-385.

- Intersalt. (1988). Intersalt: an international study of electrolyte excretion and blood pressure. Results for 24 hour urinary sodium and potassium excretion. Intersalt Cooperative Research Group. *An International General Medical Journal*, 297 (6644), 319-328.
- Jay, J. M. I. (2005). *Microbiologia de Alimentos* (6th Ed.), Artmed, Porto Alegre.
- Jiménez-Colmenero, F. (1996). Technologies for developing low-fat meat products. *Trends in Food Science and Technology*, 7, 41- 48.
- Keeton, J. T. (1994). Low-fat meat products - technological problems with processing. *Meat Science*, 36, 261- 276.
- Khalil, A. H. (2000). Quality characteristics of low-fat beef patties formulated with modified corn starch and water. *Food Chemistry*, 68, 61- 68.
- Kurtz, R. J., & Fuller, W. D. (1997). Specific eatable taste modifiers. US Patent 005631299A: United States.
- Latta, S. (1990). Dietary fats: new directions in research. *Inform*, 1 (4), 238-258.
- Law, M. (2000). Dietary fat and adult diseases and the implications for childhood nutrition: an epidemiologic approach. *American Journal of Clinical Nutrition*, 72, 1291-1296.
- Lawrie, R. A. (1998). *Meat Science* (6th ed.), Woodhead Publishing, Cambridge.
- Lev-Ran, A., & Porta, M. (2005). Salt and hipertensión: a phylogenetic perspectiva. *Diabetes Metabolism Research and Reviews*, 21, 118-131.
- Löliger, J. (2000). Function and importance of glutamate for savory foods. *Journal of Nutrition*, 130, 915S- 920S.
- López-Navarro, A. T., Bueno, J. D., Gil, A., & Sanchez-Pozo, A. (1996). Morphological changes in hepatocytes of rats deprived of dietary nucleotides. *British Journal of Nutritio*, 76, 579-589.

- Lurueña-Martínez, M. A., Vivar-Quintana, A. M., & Revilla, I. (2004). Effect of locust bean/xanthan gum addition and replacement of pork fat with olive oil on the quality characteristics of low-fat frankfurters. *Meat Science*, 68 (3), 383-389.
- Lyons, P. H., Kerry, J. F., Morrissey, P. A., & Buckley, D. J. (1999) The influence of added whey protein/carrageenan gels and tapioca starch on the textural properties of low fat pork sausages. *Meat Science*, 51, 43-52.
- Mahungu, S. M., Hansen, S. L., & Artz, W. E. (2002). Fat substitutes and replacers. In A. L. Branen, P. M. Davidson, S. Salminen, & J. H. Thornage (2nd Ed.), *Food additives* (pp. 311- 337), New York: Marcel Dekker Inc.
- Marshall, R. J. (1990). Combined instrumental and sensory measurement of the role of fat in food texture. *Food Quality and Preference*, 2, 117- 124.
- Mattes, R. D. (1998). Position of the American dietetic association: fat replacers. *Journal American Diet Association*, 98 (4), 463- 476.
- Matulis, R. J., McKeith, F. K., Sutherland, J. W., & Brewer, M. S. (1995). Sensory characteristics of frankfurters as affected by fat, salt and pH. *Journal Food Science*, 60 (1), 42-47.
- Mela, D. J., & Marshall, R. J. (1992). Sensory properties and perceptions of fats. In: *Dietary Fats: Determinants of Preference, Selection and Consumption* (pp. 43- 57), London: Elsevier Applied Science Publishers.
- Mendoza, E., García, M. L., Casas, C. & Selgas, M. D. (2001). Inulin as fat substitute in low fat, dry fermented sausages. *Meat Science*, 57, 387–393.
- Mohan, S., & Campbell, N. R. C. (2009). Salt and high blood pressure. *Clinical Science*, 117, 1-11.
- Muguerza, E., Fista, G., Ansorena, D., Astiasarán, I., & Bloukas, J. G. (2002). Effect of fat level and partial replacement of pork backfat with olive oil on processing and quality characteristics of fermented sausages. *Meat Science*, 61, 397–404.

- Muguerza, E., Gimeno, O., Ansorena, D., Astiasarán, I. (2004). New formulations for healthier dry fermented sausages: a review. *Trends in Food Science & Technology*, 15(9), 452-457.
- Murphy, P. (2000). Starch. In G. O. Phillips & P. A. Williams (Eds.), *Handbook of food hydrocolloids* (pp. 41- 65), Cambridge: Woodhead Publishing.
- Offer, G., & Knight, P. (1988). The structural basis of water holding in meat. In: R. Lawrie (Ed.), *Developments in meat science* (pp. 63- 171), London: Elsevier.
- Okiyama, A., & Beauchamp, G. K. (1998). Taste dimensions of monosodium glutamate (MSG) in a food system: role of glutamate in young American subjects. *Physiology Behavior*, 65, 177-181.
- Olson, D. G., & Terrell, R. N. (1981). Sensory properties of processed meats using various sodium salt substitutes. In: *Proceeding of the Meat Research Conference Amer* (pp. 59- 66), American Meat Institute, Arlington, VA.
- Papadima, S. N., & Bloukas, J. G. (1999). Effect of fat level and storage conditions on quality characteristics of traditional Greek sausages. *Meat Science*, 51, 103-113.
- Pearson, A. M., & Gillett, T. A. (1999). *Processed meats* (3th ed.), Aspen Publishers, Gaithersburg.
- Pettitt, D. J. (1982). Xanthan gum, In: Glicksman, M. (Ed.), *Food Hydrocolloids* (127 p.), CRC Press, Boca Raton, FL.
- Piñero, M. P., Parra, K., Huerta-Leidenz, N., de Moreno, L. A., Ferrer, M., Araujo, S., & Barboza, Y. (2008). Effect of oat's soluble fibre (β -glucan) as a fat replacer on physical, chemical, microbiological and sensory properties of low-fat beef patties. *Meat Science*, 80, 675-680.
- Price, J. F. (1997). Low-fat/salt cured meat products. In: A. M. Pearson & T.R. Dutson (Eds.). *Advances in Meat Research Volume 11: Production and Processing of Healthy Meat, Poultry and Fish Products* (pp. 242- 256). London: Blackie Academic & Professional.

- Ranken, M. D., Kill, R. C., & Baker, C. G. J. (1997). Food Industries Manual (24th ed.), Blackie Academic and Professional, London.
- Reddy, K. A., & Marth, E. H. (1991). Reducing the Sodium Content in Foods: A review. *Journal of Food Protection*, 54(2), 138-150.
- Rust, R., & Olsen, D. (1988). Making good 'lite' sausage. *Meat and Poultry*, 34, 10.
- Ruusunen, M., & Puolanne, E. (2005). Reducing sodium intake from meat products. *Meat Science*, 70, 531-541.
- Ruusunen, M., Tirkkonen, M. S., & Puolanne, E. (2001a). Saltiness of coarsely ground cooked ham with reduced salt content. *Agricultural and Food Science in Finland*, 10, 27-32.
- Ruusunen, M., Simolin, M., & Puolanne, E. (2001b). The effect of fat content and flavor enhancers on the perceived saltiness of cooked "bologna-type" sausages. *Journal of Muscle Foods*, 12, 107-120.
- Salemme, F. R., & Barndt, R. (2008). Compositions and methods for producing a salty taste in foods or beverages. US Patent 007455872B2: United States.
- Schaefer, E. J. (2002). Lipoproteins, nutrition, and heart disease. *American Journal of Clinical Nutrition*, 75, 191- 212.
- Schoenmaker, A. C., Plijter-Schuddemat, J., & Edens, L. (2001). Flavor enhancer. US Patent 6190709, United States.
- Segura, R., Webb, S., Tovar, J. L., & Gausí, C. (2000). Importancia de la sal en la alimentación. In: Plaza & Janés (Eds.), *Los minerales y la salud. Fundación Sal y Salud* (pp. 279- 336), Barcelona, España.
- Seidell, J. C. (1999). The burden of obesity and its sequelae. *Disease Management & Health Outcomes*, 5, 13- 21.
- Setser, C. S., & Racette, W. L. (1992). Macromolecule replacers in foods. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 32, 275- 297.

- Sheard, P. R., Wood, J. D., Nute, G. R., & Ball, R. C. (1998). Effects of grilling to 80°C on the chemical composition of pork loin chops and some observations on the UK National Food Survey estimate of fat consumption. *Meat Science*, 49, 193-204.
- Shelef, L. A. (1994). Antimicrobial effects of lactates: a review. *Journal of Food Protection*, 57, 445-450.
- Shimokomaki, M. (2006). Charque e jerked beef: produtos cárneos de atividade de água intermediária e carne de sol. In: R. Olivo, M. Shimokomaki, N. N. Terra, B. G. M. Franco (org.). *Atualidades em Ciência e Tecnologia de Carnes* (pp. 47- 62). São Paulo, Varela.
- Sofos, J. N. (1983). Effects of reduced salt (NaCl) levels on the stability of frankfurters. *Journal of Food Science*, 48 (6), 1684-1691.
- Symes, K. C. (1980). The relationship between the covalent structure of the Xanthomonas polysaccharide (xanthan) and its function as a thickening, suspending and gelling agent. *Food Chemistry*, 6, 63-76.
- Terra, N. N., Terra, A. B. de M., & Terra, L. de M. (2004). *Defeitos nos produtos cárneos: origens e soluções* (1th ed.), São Paulo, Varela.
- Terrell, R. N. (1983). Reducing the Sodium Content of Processed Meats. *Food Technology*, 37(7), 66-71.
- Trius, A., Sebranek, J. G., Rust, R. E., & Carr, J. M. (1994). Low-fat bologna and beaker sausage: effects of carrageenans and chloride salts. *Journal of Food Science*, 59, 941- 945.
- Troutt, E. S., Hunt, M. C., Johnson, D. E., Claus, J. R., Kastner, C. L., & Kropf, D. H. (1992). Characteristics of low-fat ground beef containing texture-modifying ingredients. *Journal of Food Science*, 57 (1), 19-24.
- Vass, A. (2002). Obesity causes 30000 deaths a year, report says. *British Medical Journal*, 324, 192.
- Vote, D. J., Platter, W. J., Tatum, J. D., Schmidt, G. R., Belk, K. E., Smith, G. C. & Speer, N. C. (2000). Injection of beef strip loins with solutions containing sodium

- tripolyphosphate, sodium lactate, and sodium chloride to enhance palatability. *Journal of Animal Science*, 78, 952-957.
- Wallingford, L., & Labuza, T. P. (1983). Evaluation of the water binding properties of food hydrocolloids by physical/chemical methods, and in a low-fat meat emulsion. *Journal of Food Science*, 48, 1- 5.
- Whincup, P. H., Gilg, J. A., Papacosta, O., Seymour, C., Miller, G. J., Alberti, K., & Cook, D. G. (2002). Early evidence of ethnic differences in cardiovascular risk: cross sectional comparison of British South Asian and white children. *British Medical Journal*, 324, 635.
- WHO. (2003). Diet, nutrition and the prevention of chronic diseases. Report of a joint WHO/FAO expert consultation, WHO technical report series 919 <http://whqlibdoc.who.int/trs/WHO_trs_916.pdf>.
- WHO. (2009). Preventing chronic diseases: a vital investment, <http://www.who.int/features/factfiles/global_burden/en/index.html>.
- Williams, S. K. & Phillips, K. (1998). Sodium lactate affects sensory and objective characteristics of tray-packed broiler chicken breast meat. *Poultry Science*, 77, 765-769.
- Wirth, F. (1989). Reducing the common salt content of meat products: Possible methods and their limitations. *Fleischwirtschaft*, 69(4), 589–593.
- Xiong, Y. L., Noel, D. C., & Moody, W. G. (1999). Textural and sensory properties of low-fat beef sausages with added water and polysaccharides as affected by pH and salt. *Journal of Food Science*, 64, 550–554.
- Yackinous, C., Guinard, J. X. (2000). Flavour manipulation can enhance the impression of fat in some foods. *Journal of Food Science*, 65, 1270- 283.
- Yamaguchi, S. & Takashashi, C. (1984). Interaction of MSG and NaCl on saltiness and palatability of clear soups. *Journal Food Science*, 49, 82.

**THE EFFECT OF YEAST EXTRACT ADDITION ON QUALITY OF
FERMENTED SAUSAGES AT LOW NaCl CONTENT**

Meat Science, 87 (2011) 290–298

Abstract

Fermented sausages with 25% or 50% of their NaCl replaced by KCl and supplemented with 1% or 2% concentrations of yeast extract were produced. The sausage production process was monitored with physical, chemical and microbiological analyses. After production, the sausage samples were submitted to a consumer study and their volatile compounds were extracted by solid-phase microextraction and analyzed by GC-MS. The replacement of NaCl by KCl did not significantly influence the physical, chemical or microbiological characteristics. The sensory quality of the fermented sausages with a 50% replacement was poor compared with the full-salt control samples. The use of yeast extract at a 2% concentration increased volatile compounds that arose from amino acids and carbohydrate catabolism. These compounds contributed to the suppression of the sensory-quality defects caused by the KCl introduction, thus enabling the production of safe fermented sausages that have acceptable sensory qualities with half as much sodium content.

Keywords: fermented sausages; sodium reduction; yeast extract; potassium chloride; volatile compounds

1. Introduction

Diet is not the only factor affecting well-being and health, but it is one of the most important. More and more, throughout the developed world, people seek to have a balanced diet consisting of healthy food that is still appealing to the senses. Meat products have traditionally been described as villains in the diet because of their high fat, cholesterol and salt (or sodium) content, along with the chemical additives often present. However, these foods have recently become part of the new balanced-diet-seeking market segment. To create truly healthy meats, efforts should be directed toward the reduction of those components in the formulation that are less healthy and thereby improve the image of meat products for consumers.

The clear association between meat consumption and the incidence of hypertension (Paik, Wendel & Freeman, 2005; Dickinson & Havas, 2007) makes sodium reduction a necessity for the survival of the meat industry. Meat products contribute 20% to 30% of an average person's daily intake of salt (NaCl). In industrialized countries, the amount varies from 9 to 12 g/day which is much higher than the 5 grams recommended (Jiménez-Colmenero, Carballo & Cofrades, 2001; WHO, 2003). Because of the dehydration process undergone during their production, fermented sausages are among meat products that have the highest NaCl content, which can reach as high as 6%.

However, a simple reduction of NaCl content in fermented sausages is unacceptable from a sensory appeal and technological point of view because this ingredient not only determines the characteristic salty taste of meat products but it contributes to microbiological safety (Ruusunen & Puolanne, 2005). The replacement of NaCl by other ingredients that perform similar technological functions while

maintaining its sensory characteristics is suggested as an alternative for making this meat product have a healthier appeal.

The partial replacement of NaCl by other chloride salts is one attempted strategy. Substituting potassium chloride is the most well-studied example (Champagne, Fontaine, Dussault & Delaquis 1993; Gelabert, Gou, Guerrero & Arnau, 2003; Guàrdia, Guerrero, Gelabert, Gou & Arnau, 2008). KCl is recognized as safe (GRAS) and has an antimicrobial efficiency equivalent to NaCl (Bidlas & Lambe, 2008). Nevertheless, sensory defects related to the rise of a bitter taste and to the reduction of the salty taste are commonly reported and present the main limitation of KCl's use as substitute for NaCl in fermented meat products (Gou, Guerrero, Gelabert & Arnau, 1996; Gelabert, Gou, Guerrero & Arnau, 2003; Gimeno, Astiasarán & Bello, 1998).

Thus, the use of ingredients that can improve the sensory attributes of KCl is a promising alternative to be studied. Yeast extracts are a natural source of a number of volatile compounds and have been widely used as flavoring agents and as precursors to the formation of compounds that have pleasurable tastes and aromas in meat products (Mahadevan & Farmer, 2006). In the manufacture of fermented sausages there occur many biochemical reactions that are catalyzed either by microbial enzymes or by tissues. The use of these compounds, themselves sources of amino acids, could help the emergence of compounds that have tastes and aromas that help offset the bad taste and lack of saltiness of KCl use.

So far, it appears to the authors, the potential of using yeast extract combined with KCl to reduce the sodium content in fermented sausages has not been explored.

Thus, the aim of this paper is to evaluate the effect of KCl use with the addition of yeast extract on the quality of fermented sausages with reduced sodium content.

2. Material and methods

2.1 Treatments

Treatments that replaced 25% and 50% of the NaCl content with KCl were tested. Concentrations of 1% and 2% of commercial yeast extract produced from *Saccharomyces cerevisiae* (Bionis YE GMX 18, Biorigin, Lençóis Paulista, SP, Brazil) were added to the fermented sausages with reduced NaCl content (Table 1).

Table 1. Percentages of NaCl, KCl and yeast extract used in the formulation of fermented sausage treatments.

	TREATMENTS (%)						
	Control	LS _{25%}	LS _{50%}	LS _{25%} +YE _{1%}	LS _{50%} +YE _{1%}	LS _{25%} +YE _{2%}	LS _{50%} +YE _{2%}
NaCl	2.5	1.875	1.25	1.875	1.25	1.875	1.25
KCl	-	0.625	1.25	0.625	1.25	0.625	1.25
Y.E.*	-	-	-	1.0	1.0	2.0	2.0

* Yeast extract (Bionis YE GMX 18): **Physico-chemical characteristics (%): moisture (Max.: 6.0), carbohydrates (Max.: 10.0), ashes (Max.:30.0), fat (0.0 – 0.3), proteins (Min.: 55.0). Average free amino acids composition (expressed in 100 g of raw proteins): alanine (3.10), arginine (1.87), aspartic acid (1.42), glycine (0.74), isoleucine (1.42), leucine (2.42), glutamic acid (8.61), lysine (1.28), cystine (0.31), methionine (0.74), phenylalanine (1.41), tyrosine (1.01), threonine (1.01), proline (0.96), valine (1.71), histidine (0.36) and serine (1.20). ** Provided by the manufactures (Biorigin, Lençóis Paulista, SP, Brazil).

2.2 Preparation of fermented sausages

Samples of fermented sausages were prepared using pork (*M. longissimus dorsi*) (650 g/kg), beef (*M. semitendinosus*) (200 g/kg) and pork back fat (150 g/kg). A portion of pork (50 kg) was ground using a 12 mm disk, and a portion of beef (20 kg) was ground using an 8 mm disk. The portion of pork back fat (15 kg) was cut in cubes of approximately 1 cubic centimeter. The raw materials were mixed with the following

ingredients; glucose (5 g/kg), sucrose (5 g/kg), sodium nitrate (0.15 g/kg), sodium nitrite (0.15 g/kg), sodium ascorbate (0.25 g/kg), white pepper (2 g/kg), garlic (3 g/kg), nutmeg (0.02 g/kg) and starter culture Floracarn SPX (Chr. Hansen) (0.25 g/kg). After mixing, the mass of meat was divided into portions of 10 kg, resulting in seven treatments. Each treatment was mixed with the proper quantity of NaCl, KCl and yeast extract (Table 1). Next, the treatments were stuffed in collagen casings of 60 mm diameter and cut in slices of approximately 15 cm in length. In total, 50 pieces of approximately 200 g each were prepared for each treatment. After being stuffed, the samples were subjected to a bath in a 20% solution of potassium sorbate and ripened in a laboratory ripening cabinet (Menoncin, Erechim, Brazil) programmed to give the following conditions: 24 h at 25°C and a relative humidity (RH) of 95%, followed by 15 °C and a RH 75%, until the end of the experiment (23 days).

2.3 Physical and chemical analysis

The determination of pH was performed by homogenizing 10 grams of each sample with distilled water in a 1:10 sample:water ratio. The homogenate was subjected to a pH test using meter electrodes (DM 22, Digimed, São Paulo, Brazil) for five minutes while the pH readings were performed. The determination of pH was performed on days 0, 3, 7, 14 and 23 postproduction. The water activity (A_w) was determined at days 0, 7, 14 and 23 postproduction using an Aqua lab CX-2 water-activity meter (Decagon Devices, Inc., Pullman, WA). Three sausages per batch were used to evaluate the pH and A_w . The color determination was performed at the beginning and end of sausage production, with a Minolta Chroma Meter CR-300 machine (Minolta Câmera Co. Ltda, Osaka, Japan) with D65 illuminant. CIELAB L^* , a^* and b^* values were determined as indicators of lightness, redness and yellowness.

Color variables were measured at four points on the central part of the cut surface of three slices of the five sausages per batch. Before each series of measurements, the instrument was calibrated using a white ceramic tile. The weight loss was determined by the weight difference among ten sausages per batch just after the stuffing process and after the end of sausage production. At the end of fermented sausage production, three sausages per batch were used to evaluate the concentration of sodium using an inductively coupled plasma optical emission spectrometer (ICP OES) (Vista MPX, Varian, Mulgrave, Australia), according to the methodology described by the Association of Official Analytical Chemists (2005). The operating conditions of the ICP OES equipment were: potency, 1000 W; nebulizing rate, 0.9 L/min; flow rate of argon and the auxiliary gas, 1.5 and 15 L/min; integrating and reading times, 10 and 3 s; number of replicates, 3. The wavelength (nm) used was: Na, 589.592.

2.4 Microbiological analysis

Three sausages per batch were used to evaluate the microbiological characteristics on days 0, 3, 7, 14 and 23 postproduction according to the methodology described by Vanderzant & Splittstoesser (1992). Aliquots of 25 g were collected and homogenized with 225 mL of 0.1% peptone water (Oxoid Unipath Ltda., Basingtoke, Hampshire, UK). Then, they were serially diluted on a decimal scale. Lactic acid bacteria (LAB) were quantified using agar of De Man Rogosa Sharpe (Oxoid) at 37°C for 48 hours. Micrococaceas were quantified using manitol salt agar (Oxoid) at 37°C for 48 hours. Total coliforms were quantified in crystal agar neutro-bile violet-red (Oxoid) at 37°C for 24 hours. Fecal coliforms were quantified in EC broth (Oxoid) at 45°C for 48 hours.

2.5 Volatile compounds analysis

From each treatment, three pieces of fermented sausage were separated and frozen (-18 °C) soon after 23 days of ripening. Thus, a significant portion of each sample was cut into small cubes and ground in a domestic processor. After processing, a 5 g portion of the homogenized sample was weighed in a 20 mL flask that was immediately sealed with a septum of an internal face of PTFE. It was then subjected to extraction.

The solid-phase microextraction method described by Wagner (2008) was used to extract volatile compounds from the headspace of the fermented sausage samples. The fiber used was the mixed covering, Carboxen-PDMS (75 µm; Supelco, Bellefonte, PA, USA). During the stage of volatile compound isolation, the needle of the SPME system was introduced into a flask containing the sample (via the septum) and then exposed to the headspace. The fiber was exposed in the headspace of the sample for 45 minutes at a temperature of 50°C. After this period, the fiber was collected and removed from the flask. Before the fiber's exposure to the headspace, the flask containing the samples was immersed into a water bath at the same temperature as the extraction for 15 minutes to equilibrate. The volatile compounds were thermally dissolved by inserting the fiber in the injector of a gas chromatograph.

Each analysis was recorded in a chromatogram generated using a gas chromatograph coupled to a mass spectrometer (GC/MS, Shimadzu QP-2010 Plus). The thermal desorption of the volatile compounds adsorbed on the SPME fiber was performed at a temperature of 280°C in a split/splitless type injector in splitless mode for six minutes. The fiber was left in the injector for 10 minutes to eliminate any memory effects. Compound separations were performed on a capillary column of

fused silica CP-Wax (Chrompack Middelburg, Netherlands) with dimensions of 60 mm x 0.25 mm internal diameter and a 0.25 μm thickness at the stationary phase. Helium was used as the carrier gas under a constant flow of 1.0 mL/min. The temperature program for column heating started at 35°C, where it remained for five minutes; then a 2°C/min gradient was applied until 80°C, after which, a second gradient of 4°C/min was applied until 200°C. This final temperature was maintained for five minutes. The GC/MS interface temperature and source of ionization were maintained at 240°C. The instrument was run in the ionization by electrons (+70 eV) mode.

A homologous series of alkanes (C6-C24) was analyzed at the same chromatography conditions in order to calculate Kovats Index (KI) of the volatile compounds. Firstly, identification of peaks was attempted by comparing that mass spectra obtained with those provided by the National Institute of Standards and Technology (NIST 02). Subsequently, we compared the relative retention index (Kovats Index) and the elution order of the compounds with those found in the literature (Jennings & Shibamoto, 1980; Acree & Heinrich, 2009). When available as a pure substance, the mass spectra of suspected compounds were also compared with the unknown samples to aid in identification.

2.6 Consumer study

This study protocol was approved by the Ethics in Research Committee of the University of Campinas, SP, Brazil, under the number 271/2009. All participants signed a consent form agreeing to voluntarily participate in the consumer study. Consumer study was conducted by 60 untrained panelists recruited among students, faculty and staff members from the university campus, whose ages ranged from 19 to 48 years. Consumer study was performed in two stages. First, consumers evaluated the control

treatment along with the treated samples that had a 25% reduction of NaCl (LS_{25%}, LS_{25%+YE_{1%}} and LS_{25%+YE_{2%}}). In the second stage, consumers evaluated the control treatment against the 50% reduced NaCl treated sausages (LS_{50%}, LS_{50%+YE_{1%}}, and LS_{50%+YE_{2%}}). Consumers sat in booths with white fluorescent lighting, in an isolated room. They were asked to express their opinion of the product regarding its color, aroma, taste and texture. All data was recorded on a questionnaire designed to indicate the degree of likeness for the sample of each treatment using a non-structured scoring scale of nine points (0 = disliked extremely and 9 = liked extremely) (Meilgaard, Civille & Carr, 1999). Consumers were served with randomized slices of sausage, two per treatment, together with unsalted crackers and room temperature water to clean the palate between samples. Samples were coded with three random numbers and were presented to the assessors balancing the first-order and the carry-over effects according to Macfie, Bratchell, Greenhoff & Vallis (1989).

2.7 Statistical analysis

All analyses were performed in triplicate, and the data, except for the analysis of volatile compounds, were evaluated through a variance analysis (ANOVA). The averages were compared by Tukey's test at a confidence level of 5% ($p \leq 0.05$) using the SPSS statistical package (SPSS Inc., Chicago, IL, USA). To evaluate the contribution of volatile compounds toward the discrimination of the treatments, the multivariate analysis of principal component analysis (PCA) was performed by using Pirouette 3.11's statistical program (2003).

3. Results and discussion

3.1 Physical and chemical analysis

The results of the physical and chemical analysis are presented in Table 2. A reduction of pH values has been observed in fermenting sausage prior to the 14th day of production caused by the accumulation of lactic acid from lactic acid bacteria metabolizing carbohydrates (glucose and sucrose) (Muguerza, Fista, Ansorena, Astiasarán & Bloukas, 2002). As it has been observed in studies of Champagne, Fontaine, Dussault & Delaquis (1993), Gou, Guerrero, Gelabert, & Arnau (1996) and Gelabert, Gou, Guerrero & Arnau (2003), the replacement of NaCl by KCl did not affect pH. However, the addition of yeast extract at concentrations of 1% to 2% provoked a sharp decline in pH values (Table 2). This significant decline was probably caused by the carbohydrate composition of the yeast extract that would have been easily metabolized by lactic acid bacteria during the fermentation process. At the end of the production process, an increase of pH values was observed in all treatments. Other studies have reported that such a pH increase can be attributed to ammonia production because of enzyme activity during maturation (proteolysis), an increase of buffer substances, and a decrease of electrolytes (González-Fernández, Santos, Jaime & Rovira, 2006; Lücke, 1994). It is important to note that even with the increase in pH values observed on the 23th day of production, all treatments resulted in a final pH lower than 5.30. This low final pH is desirable in order to assure microbiological stability at room temperature (Fernández-López, Sendra, Sayas-Barberá, Navarro & Pérez-Alvarez, 2008). A_w values were slightly reduced prior to the seventh day of production in all treatments (Table 2). However, from the seventh day to the 23rd day, A_w values decreased to approximately 0.90 in the control, LS_{25%} and LS_{50%} treatments

and to approximately 0.89 in treatments with the addition of yeast extract ($LS_{25\%}+YE_{1\%}$, $LS_{50\%}+YE_{1\%}$, $LS_{25\%}+YE_{2\%}$ and $LS_{50\%}+YE_{2\%}$). No significant difference in A_w reduction was observed on any given day between the control and $LS_{25\%}$ and $LS_{50\%}$ treated meats. However, in fermented sausages with yeast extract, the water activity was significantly decreased by the end of the process of production as compared with the control.

L^* values decreased at the end of production in all treatments while a^* and b^* values were stable (Table 2). Despite differences on the color variables (L^* , a^* and b^*) observed between treatments ($p < 0.05$), the effect of replacing NaCl by KCl and the use of yeast extract on the color characteristics were not evident. This is probably caused by the heterogeneous coloration that is typical of fermented sausages.

As reported in the literature, during production, fermented sausages lose weight because of the dehydration process (Bloukas, Paneras & Fournitzis, 1997). In this study, we observed a weight loss which varied between 38.42% and 41.42% (Table 2). These values were considered adequate according to Rust (1994), who considered the range from 30 to 40% as ideal for dry fermented sausages.

Table 2. Physical and chemical characteristics of the fermented sausages with reduced sodium content.

	Day	Control	LS _{25%}	LS _{50%}	LS _{25%} +YE _{1%}	LS _{50%} +YE _{1%}	LS _{25%} +YE _{2%}	LS _{50%} +YE _{2%}
pH	0	5.72 ^{a,*} ±0.02	5.72 ^a ±0.013	5.73 ^a ±0.012	5.69 ^a ±0.024	5.71 ^a ±0.013	5.72 ^a ±0.014	5.73 ^a ±0.02
	3	5.27 ^a ±0.004	5.22 ^{ab} ±0.021	5.22 ^{ab} ±0.021	5.07 ^d ±0.02	4.97 ^e ±0.022	5.15 ^c ±0.014	5.08 ^d ±0.051
	7	4.75 ^a ±0.013	4.77 ^a ±0.022	4.71 ^a ±0.013	4.60 ^b ±0.02	4.54 ^d ±0.021	4.61 ^b ±0.013	4.57 ^{cd} ±0.023
	14	4.68 ^a ±0.044	4.64 ^{ab} ±0.014	4.63 ^{ab} ±0.022	4.58 ^{cd} ±0.023	4.53 ^{cd} ±0.015	4.61 ^{bc} ±0.011	4.54 ^d ±0.013
	23	4.80 ^a ±0.036	4.80 ^a ±0.032	4.80 ^a ±0.023	4.76 ^{ab} ±0.035	4.70 ^b ±0.035	4.73 ^b ±0.019	4.64 ^c ±0.037
Aw	0	0.998 ^a ±0.001	0.996 ^a ±0.002	0.997 ^a ±0.002	0.998 ^a ±0.001	0.995 ^a ±0.001	0.998 ^a ±0.001	0.997 ^a ±0.001
	7	0.984 ^{ab} ±0.006	0.983 ^{ab} ±0.002	0.987 ^a ±0.003	0.981 ^{bc} ±0.002	0.975 ^d ±0.003	0.983 ^{ab} ±0.005	0.980 ^{cd} ±0.002
	14	0.969 ^{ab} ±0.006	0.971 ^a ±0.001	0.971 ^a ±0.004	0.961 ^b ±0.001	0.946 ^c ±0.002	0.940 ^c ±0.003	0.956 ^b ±0.004
	23	0.909 ^a ±0.002	0.908 ^a ±0.001	0.906 ^a ±0.003	0.898 ^b ±0.005	0.896 ^{bc} ±0.006	0.887 ^c ±0.004	0.894 ^{bc} ±0.004
L*	0	51.95 ^{bc} ±2.38	55.81 ^a ±1.54	53.91 ^{abc} ±1.89	53.52 ^{abc} ±1.28	54.13 ^{ab} ±1.56	50.65 ^c ±1.81	56.43 ^a ±2.47
	23	41.40 ^{ab} ±0.89	40.83 ^{ab} ±1.42	39.57 ^b ±1.10	43.01 ^a ±1.79	41.45 ^{ab} ±1.13	38.94 ^b ±1.73	39.58 ^a ±1.61
a*	0	24.49 ^a ±1.36	23.96 ^a ±1.36	23.89 ^a ±1.23	24.82 ^a ±0.71	23.66 ^a ±1.25	23.87 ^a ±0.87	22.96 ^a ±1.54
	23	24.12 ^{bc} ±1.08	23.79 ^{bc} ±0.97	25.56 ^{abc} ±1.65	25.73 ^{ab} ±1.41	24.28 ^{bc} ±0.71	27.19 ^a ±1.71	22.80 ^c ±2.68
b*	0	13.64 ^b ±1.06	14.43 ^b ±0.72	13.99 ^b ±0.52	15.02 ^{ab} ±0.36	14.96 ^{ab} ±0.85	14.78 ^{ab} ±0.59	15.93 ^a ±1.02
	23	13.67 ^{bc} ±0.55	14.78 ^{ab} ±0.45	15.33 ^a ±0.57	14.80 ^{ab} ±0.56	14.89 ^{ab} ±0.52	15.33 ^a ±1.49	13.20 ^c ±1.26
Weight loss (%)	23	38.42 ^b ±0.81	38.96 ^b ±0.55	39.10 ^b ±1.03	39.29 ^b ±0.39	38.52 ^b ±1.56	41.42 ^a ±0.72	39.44 ^{ab} ±1.36
Sodium (%)	23	1.345 ^a ±0.029	1.046 ^c ±0.019	0.656 ^e ±0.013	1.041 ^c ±0.001	0.677 ^e ±0.004	1.143 ^b ±0.015	0.745 ^d ±0.007

*Averages followed by the same letter, the same line, the same day did not present significant difference (p>0.05) by Tukey's test. Control: 2.5% NaCl; LS_{25%}: 1.875% NaCl + 0.625% KCl (25% of NaCl reduction); LS_{50%}: 1.25% NaCl + 1.25% KCl (50% of NaCl reduction); LS_{25%}+YE_{1%}: 1.875% NaCl + 0.625% KCl + 1% of commercial yeast extract (25% of NaCl reduction); LS_{50%}+YE_{1%}: 1.25% NaCl + 1.25% KCl + 1% commercial yeast extract (50% of NaCl reduction); LS_{25%}+YE_{2%}: 1.875% NaCl + 0.625% KCl + 2% of commercial yeast extract (25% of NaCl reduction); LS_{50%}+YE_{2%}: 1.25% NaCl + 1.25% KCl + 2% commercial yeast extract (50% of NaCl reduction).

The control sample had a sodium content of 1.345 g/100 g (Table 2). As expected, the replacement of NaCl by KCl enabled us to significantly reduce the sodium content of the sausages. In treatments with a 25% reduction of NaCl (LS_{25%}, LS_{25%+YE_{1%}} and LS_{25%+YE_{2%}}), the observed sodium reductions relative to the control were 22.23%, 22.66% and 15.01%, respectively. As for treatments with a 50% NaCl reduction (LS_{50%}, LS_{50%+YE_{1%}} and LS_{50%+YE_{2%}}), the observed sodium reductions were 51.23%, 49.59% and 44.53%, respectively. As one may observe, only the LS_{25%+YE_{2%}} treatment did not cause a sodium reduction of similar magnitude to the level of NaCl reduction. This may be attributed to a higher weight loss in the LS_{25%+YE_{2%}} samples which would result in a higher sodium concentration (Table 2).

3.2 Microbiological analysis

The microbiological characteristics of fermented sausages with reduced NaCl content are shown in Table 3. Lactic acid bacteria developed quickly, reaching a count higher than 8.0 Log UFC/g on the third day. This high count remained unchanged throughout the rest of the production period. This suggests that in all treatments, the stationary phase of fermentation was reached. The fast growth of LAB is very important for the safety and quality of the fermented sausage because early growth of these bacteria can prevent the growth of pathogenic and deteriorating bacteria (Capita, LLorente-Marigómez, Prieto & Alonso-Calleja, 2006; Geisen, Luecke & Kroeckel, 1992). The growth of the LAB observed in this study was very similar to the data found by Del Nobile, Conte, Incoronato, Panza, Sevi & Marino (2009), Fernández-López, Sendra, Sayas-Barberá, Navarro & Pérez-Alvarez (2008) and González-Fernández, Santos, Rovira & Jaime (2006). Further, the growth was considered adequate for this type of meat product.

The counts of *Micrococcaceae* during the sausage production were similar in all treatments. A reduction between the 1st and the 23rd day of approximately four log cycles (Table 3) was observed. This trend has been reported in the literature. It arises from the limiting factors of decreasing pH and oxygen concentration during the meat production (Roig-Sagués, Hernández-Herrero, López-Sabater, Rodríguez-Jerez & Mora-Ventura, 1999; Lisazo, Chasco & Beriain, 1999).

The initial value of total coliforms was very low and no fecal coliforms were detected (Table 3). This indicates a high hygienic quality of raw material. Total coliforms were eliminated in all treatments during the sausage production. However, some differences were observed between fermented sausages with yeast extract and those without it. In the treatments with yeast extract, total coliforms were quickly eliminated (on the seventh day) while in the control and in the samples that only had replacement of NaCl by KCl (LS_{25%} and LS_{50%}), total coliforms were eliminated only on the fourteenth day. The sharp decline of pH (Table 2) that occurred in the fermented sausages that received yeast extract can partially explain the fast decline and quick elimination of these microorganisms (González-Fernández, Santos, Rovira & Jaime, 2006; Lisazo, Chasco & Beriain, 1999).

Table 3. Microbiological characteristics (Log UFC/g) of the production of fermented sausages with reduced sodium content

	Days	Control	LS _{25%}	LS _{50%}	LS _{25%} +YE _{1%}	LS _{50%} +YE _{1%}	LS _{25%} +YE _{2%}	LS _{50%} +YE _{2%}
Lactic acid bacteria	0	6.58 ^a ±0.06	6.68 ^a ±0.06	6.70 ^a ±0.10	6.81 ^a ±0.21	6.57 ^a ±0.05	6.70 ^a ±0.03	6.73 ^a ±0.09
	3	8.24 ^b ±0.02	8.22 ^b ±0.04	8.26 ^{ab} ±0.22	8.41 ^{ab} ±0.08	8.43 ^{ab} ±0.16	8.52 ^a ±0.01	8.29 ^{ab} ±0.02
	7	8.29 ^{cd} ±0.07	8.65 ^{ab} ±0.12	8.26 ^d ±0.13	8.48 ^{bc} ±0.08	8.33 ^{cd} ±0.05	8.73 ^a ±0.08	8.33 ^{cd} ±0.06
	14	8.28 ^a ±0.11	8.34 ^a ±0.03	8.30 ^a ±0.07	8.34 ^a ±0.13	8.57 ^a ±0.20	8.53 ^a ±0.16	8.54 ^a ±0.09
	23	8.11 ^a ±0.15	8.13 ^a ±0.05	8.07 ^a ±0.12	8.19 ^a ±0.21	8.28 ^a ±0.02	8.19 ^a ±0.08	8.30 ^a ±0.14
Micrococaceae	0	6.02 ^a ±0.34	6.00 ^a ±0.06	6.28 ^a ±0.07	6.36 ^a ±0.40	6.16 ^a ±0.19	6.53 ^a ±0.23	6.55 ^a ±0.08
	3	5.42 ^a ±0.07	5.20 ^a ±0.08	5.41 ^a ±0.24	5.42 ^a ±0.06	5.47 ^a ±0.17	5.33 ^a ±0.12	5.45 ^a ±0.11
	7	3.71 ^a ±0.29	3.51 ^a ±0.23	3.46 ^a ±0.11	3.69 ^a ±0.15	3.53 ^a ±0.31	3.44 ^a ±0.35	3.92 ^a ±0.06
	14	3.86 ^a ±0.12	3.29 ^{bc} ±0.13	3.12 ^{cd} ±0.07	2.95 ^d ±0.16	3.51 ^b ±0.11	3.13 ^{cd} ±0.03	3.45 ^b ±0.08
	23	2.82 ^a ±0.08	2.69 ^a ±0.15	2.68 ^a ±0.06	2.74 ^a ±0.08	2.76 ^a ±0.03	2.22 ^a ±0.04	2.51 ^a ±0.06
Total coliforms	0	3.45 ^a ±0.10	2.94 ^d ±0.11	3.11 ^{bcd} ±0.11	3.23 ^{abcd} ±0.14	3.43 ^{ab} ±0.12	3.07 ^{cd} ±0.15	3.33 ^{abc} ±0.22
	3	2.45 ^a ±0.08	1.64 ^b ±0.26	1.48 ^b ±0.36	1.64 ^b ±0.26	2.30 ^a ±0.10	1.07 ^b ±0.15	1.63 ^b ±0.47
	7	1.95 ^a ±0.29	1.07 ^b ±0.15	1.07 ^b ±0.15	<1.00	<1.00	<1.00	<1.00
	14	<1.00	<1.00	<1.00	<1.00	<1.00	<1.00	<1.00
	23	<1.00	<1.00	<1.00	<1.00	<1.00	<1.00	<1.00
Fecal coliforms	0	<1.00	<1.00	<1.00	<1.00	<1.00	<1.00	<1.00
	3	<1.00	<1.00	<1.00	<1.00	<1.00	<1.00	<1.00
	7	<1.00	<1.00	<1.00	<1.00	<1.00	<1.00	<1.00
	14	<1.00	<1.00	<1.00	<1.00	<1.00	<1.00	<1.00
	23	<1.00	<1.00	<1.00	<1.00	<1.00	<1.00	<1.00

*Averages followed by the same letter, the same line, on the same day did not present significant difference ($p>0.05$) by Tukey's test. Control: 2.5% NaCl; LS_{25%}: 1.875% NaCl + 0.625% KCl (25% of NaCl reduction); LS_{50%}: 1.25% NaCl + 1.25% KCl (50% of NaCl reduction); LS_{25%}+YE_{1%}: 1.875% NaCl + 0.625% KCl + 1% of commercial yeast extract (25% of NaCl reduction); LS_{50%}+YE_{1%}: 1.25% NaCl + 1.25% KCl + 1% of commercial yeast extract (50% of NaCl reduction); LS_{25%}+YE_{2%}: 1.875% NaCl + 0.625% KCl + 2% of commercial yeast extract (25% of NaCl reduction); LS_{50%}+YE_{2%}: 1.25% NaCl + 1.25% KCl + 2% of commercial yeast extract (50% of NaCl reduction).

3.3 Volatile compounds analysis

Volatile compounds extracted by the HS-SPME from different formulations of fermented sausages are presented in Table 4. More than 160 volatile compounds were discovered, of which 98 were identified and grouped into 11 chemical classes; terpenes (15), alcohols (22), esters (3), ketones (8), aldehydes (20), acids (10), phenols (3), sulfides (11), nitriles (3), furans (2) and aromatics (1). Aliphatic hydrocarbons (branched or unbranched) were excluded from Table 4 because they do not have a significant aroma or because they were determined to be contaminants (Stahnke, 1994; Stahnke, 1995; Dirinck, Van Opstaele & Vandendriessche, 1997).

The data obtained from the volatile compounds in the different fermented sausages were analyzed by principal component analysis (PCA). PCA was used to visually explore the effects of the sausage treatments. To employ PCA, compounds with equivalent areas and high pattern deviations were first removed. Of the 98 original compounds, 55 compounds were determined to highly contribute to the differences observed in the volatile compounds of the treated sausages.

As Figure 1 illustrate the samples (Figure 1a) and the volatile compounds (Figure 1b) of the two first principal components (PCs) explained 62.95% of the total variance of the data. In the first two PCs, there was little discrimination between the control, LS_{25%}, and LS_{50%} samples indicating that the replacement of NaCl with KCl did not cause a change in the profile of the volatile compounds of the fermented sausages (Figure 1a).

The first principal component clearly divided the samples into two groups. The first group included the control, LS_{25%}, LS_{50%} and LS_{50%}+YE_{1%} samples. This group was characterized mainly by compounds that were created through lipid oxidation, as

the compounds in this group included those that were the same size as the saturated aliphatic aldehydes (hexanal and pentanal), the unsaturated aliphatic aldehydes (2-methyl-2-butenal, 2-heptenal, 2-butenal, 2-octenal, 2-hexenal), a number of alcohols (1-propanol, butanol, pentanol, heptanol, hexanol, 1-penten-3-ol e 2-pent-1-ol), and the compounds including 2,3-pentadione, 2-pentilfurano and hexanoic acid (Figure 1b). On the other hand, the $LS_{25\%}+YE_{1\%}$, $LS_{25\%}+YE_{2\%}$ and $LS_{50\%}+YE_{2\%}$ samples found on the left quadrants of Figure 1a were characterized by 2-methylpropanal, 3-methylbutanal, and 2-methylbutanal compounds as well as their respective acids and alcohols (Figure 1b). These compounds are generated from valine, leucine and isoleucine and have been significant relevance to the aroma of cured meat products (Careri, Mangia, Barbieri, Bolzoni, Virgili & Parolari, 1993; Stahnke, 1994; Bruna, Fernández, Hierro, Ordóñez & De La Hoz, 2000; Sondergaard & Stahnke, 2002).

Other compounds that were important in the $LS_{25\%}+YE_{1\%}$, $LS_{25\%}+YE_{2\%}$ and $LS_{50\%}+YE_{2\%}$ samples included sulfur compounds such as diallyl sulfide, diallyl disulfide, allyl methyl sulfide, dimethyl sulfide, dimethyl sulfide and methanethiol. These compounds have strong odors and contribute to the matured and cured aroma of the product (Wagner, 2008; Stahnke, Holck, Jensen, Nilsen & Zanardi, 2002; Schmidt & Berger, 1998). These compounds may be directly added to the sausages through garlic addition (*Allium sativum*) (Mateo & Zumalacárregui, 1996). Alternatively, some allyl compounds can be formed from methionine when it is converted to methanethiol through a transmission reaction followed by decarboxylation and a probable enzyme conversion or deamination and demethylation (Smit, Verheul, Van Kranenburg, Ayad, Siezen & Engels, 2000).

Additionally, phenylethyl alcohol from the microbial degradation of phenylalanine was also present in the samples containing yeast extract (Berdagué, Denoyer, Le Quéré & Semon, 1991; Stahnke, 1999; Sondergaard & Stahnke, 2002). Munch, Hofmann & Schieberle (1997) reported that regardless of the type of production, yeast extracts are characterized by a high content of free amino acids which may served as the precursors of the volatile compounds found in this research.

The LS_{25%}+YE_{1%}, LS_{25%}+YE_{2%} and LS_{50%}+YE_{2%} samples were distinguished from the others by the presence of 2-butanol, 2,3-butanedione, ethanol, acetic and butanoic acid compounds derived from carbohydrate fermentation. It is important to note that acetic and butanoic acid compounds are beneficial the sensory qualities of fermented meat products as they contribute to the matured aroma (Schmidt & Berger, 1998; Marco, Navarro & Flores, 2007).

Unlike what has been observed in the studies of Flores, Nieto, Ferrer, & Flores (2005) and Marco, Navarro & Flores (2004), this study did not find a large formation of esters. This can be attributed to the probable inhibition of esterase enzymes as the pH reached values lower than 5.0 (Toldrá, Sanz & Flores, 2001). Ethyl acetate was one of the few esters formed and its presence distinguished the LS_{25%}+YE_{1%}, LS_{25%}+YE_{2%} and LS_{50%}+YE_{2%} samples from the others.

Table 4 – Volatile compounds of the fermented sausages with reduced sodium content

KI-MS ^a	Compounds	I ^b	Control	LS _{25%}	LS _{50%}	LS _{25%} +YE _{1%}	LS _{50%} +YE _{1%}	LS _{25%} +YE _{2%}	LS _{50%} +YE _{2%}
			A ^c ±SD ^d	A±SD	A±SD	A±SD	A±SD	A±SD	A±SD
677	Methanethiol	b	4.14±0.21	3.91±0.31	4.39±0.19	4.08±0.27	3.32±0.18	3.94±0.60	4.10±0.27
707	Acetaldehyde	b	8.19±0.52	8.17±0.40	9.24±0.20	6.67±0.66	12.02±1.39	5.93±0.30	7.28±1.41
726	Carbon disulfide	b	7.42±1.49	6.93±1.45	6.39±0.24	10.09±0.78	5.74±0.30	12.54±1.96	8.89±0.03
815	2-Methylpropanal	b	4.85±0.22	5.37±0.27	6.67±0.26	5.23±0.37	4.96±0.56	6.94±0.44	8.13±0.57
820	Acetone	a	10.04±0.07	11.53±0.51	12.19±0.46	11.28±1.35	9.76±1.14	10.93±1.07	13.11±0.80
828	Ethyl methyl sulfide	c	2.68±0.23	3.17±0.31	3.30±0.18	2.20±0.09	2.10±0.15	1.86±0.09	2.25±0.01
871	2-methyl-furan	b	3.35±0.17	4.17±0.33	3.95±0.21	3.90±0.18	2.83±0.19	3.03±0.47	3.61±0.10
878	Butanal	b	-	-	4.66±0.28	-	1.84±1.61	-	-
885	Allylmercaptan	c	2.31±0.11	3.05±0.25	2.61±0.10	3.83±0.41	2.45±0.32	2.68±0.47	2.88±0.13
892	Ethyl acetate	a	4.75±0.29	6.55±0.86	9.42±0.27	7.65±0.55	6.54±0.80	10.66±1.23	9.38±0.11
906	2-Butanone	a	11.72±0.38	13.89±0.67	12.28±0.31	12.65±1.31	12.49±1.41	13.75±0.54	14.48±0.71
916	2-Methylbutanal	b	3.05±0.23	3.36±0.17	3.77±0.09	4.70±0.42	5.73±0.41	7.85±0.56	8.47±0.53
920	3-Methylbutanal	b	16.86±0.57	16.46±0.61	21.58±0.65	20.09±1.14	23.24±2.29	32.99±1.02	36.83±1.97
933	2-Propanol	a	2.01±0.08	1.88±0.07	2.84±0.10	1.95±0.21	0.89±0.28	2.98±0.37	3.55±0.44
940	Ethanol	a	4.89±0.15	4.42±0.07	6.58±0.26	5.06±0.58	10.90±0.79	8.61±1.01	7.54±0.87
956	Allylmethyl sulfide	b	14.59±0.56	14.49±1.92	16.90±0.44	21.56±1.11	16.89±0.39	21.45±3.25	23.18±1.50
983	Pentanal	b	17.67±3.62	18.64±1.45	33.77±1.56	5.98±0.78	28.90±2.88	5.22±0.63	6.83±0.56
986	2,3-Butanedione	c	-	-	-	3.12±0.05	-	3.02±0.13	3.64±0.27
992	1-Methylthio-1-propene	b	-	-	-	0.92±0.11	-	0.61±0.08	0.88±0.21
1011	Acetonitrile	a	0.20±0.01	0.13±0.01	0.13±0.01	0.11±0.09	-	0.20±0.06	0.16±0.03
1019	α-Pinene	a	4.43±0.06	3.57±0.18	4.96±0.30	3.38±0.16	2.54±0.11	4.23±0.43	4.41±0.95
1026	α-Thujene	b	0.73±0.05	0.36±0.16	0.28±0.08	1.10±0.08	1.61±0.23	1.77±0.59	1.56±0.67
1033	2-Butanol	a	0.42±0.01	0.31±0.03	0.60±0.09	0.44±0.09	0.43±0.13	0.62±0.03	0.65±0.04
1047	Propanol	a	0.84±0.03	1.09±0.23	1.00±0.06	0.66±0.02	0.58±0.51	0.34±0.30	0.64±0.04
1051	2-Butenal	c	0.98±0.04	0.94±0.05	1.03±0.05	0.61±0.03	1.15±0.16	0.60±0.05	0.59±0.03
1072	2,3-Pentanedione	b	0.41±0.10	0.45±0.01	0.60±0.12	0.15±0.01	0.66±0.06	-	0.18±0.02
1077	Dimethyl disulfide	b	1.06±0.08	1.14±0.06	2.67±0.61	0.82±0.07	0.72±0.11	1.32±0.26	1.87±0.42
1090	Hexanal	a	60.98±14.2	55.82±4.32	98.50±4.14	25.76±3.09	104.23±11.88	20.00±1.46	29.94±2.20
1095	2-Methylthiophene	c	21.91±3.37	19.94±0.69	25.02±1.07	13.69±0.88	31.27±3.09	14.58±1.33	16.15±0.40
1100	β-Pinene	a	10.46±1.09	9.07±0.47	11.88±0.46	6.81±0.36	11.22±1.02	6.61±0.33	6.89±0.57
1103	(E) 2-Methyl-2-butenal	b	5.48±1.27	5.15±0.12	6.67±0.21	2.61±0.18	13.29±3.81	2.32±0.17	2.76±0.13
1109	2-Methyl-propanol	b	2.38±0.36	2.07±0.24	3.66±0.20	1.70±0.13	1.33±2.30	1.82±0.06	2.26±0.22
1114	Sabinene	b	1.66±0.25	0.80±0.10	0.79±0.12	1.33±0.35	2.74±0.52	2.54±0.91	2.93±1.51
1139	3-Carene	b	30.25±3.21	31.13±4.52	18.99±2.72	23.01±0.62	8.64±0.97	12.33±1.16	9.30±2.79
1144	Diallyl sulfide	b	7.71±0.21	8.08±1.15	9.71±0.31	14.65±1.21	11.71±0.58	15.48±2.63	14.86±1.96
1154	α-Phellandrene	b	0.89±0.13	1.08±0.15	0.46±0.04	0.81±0.20	-	0.40±0.12	0.27±0.07

Table 4 (continued)

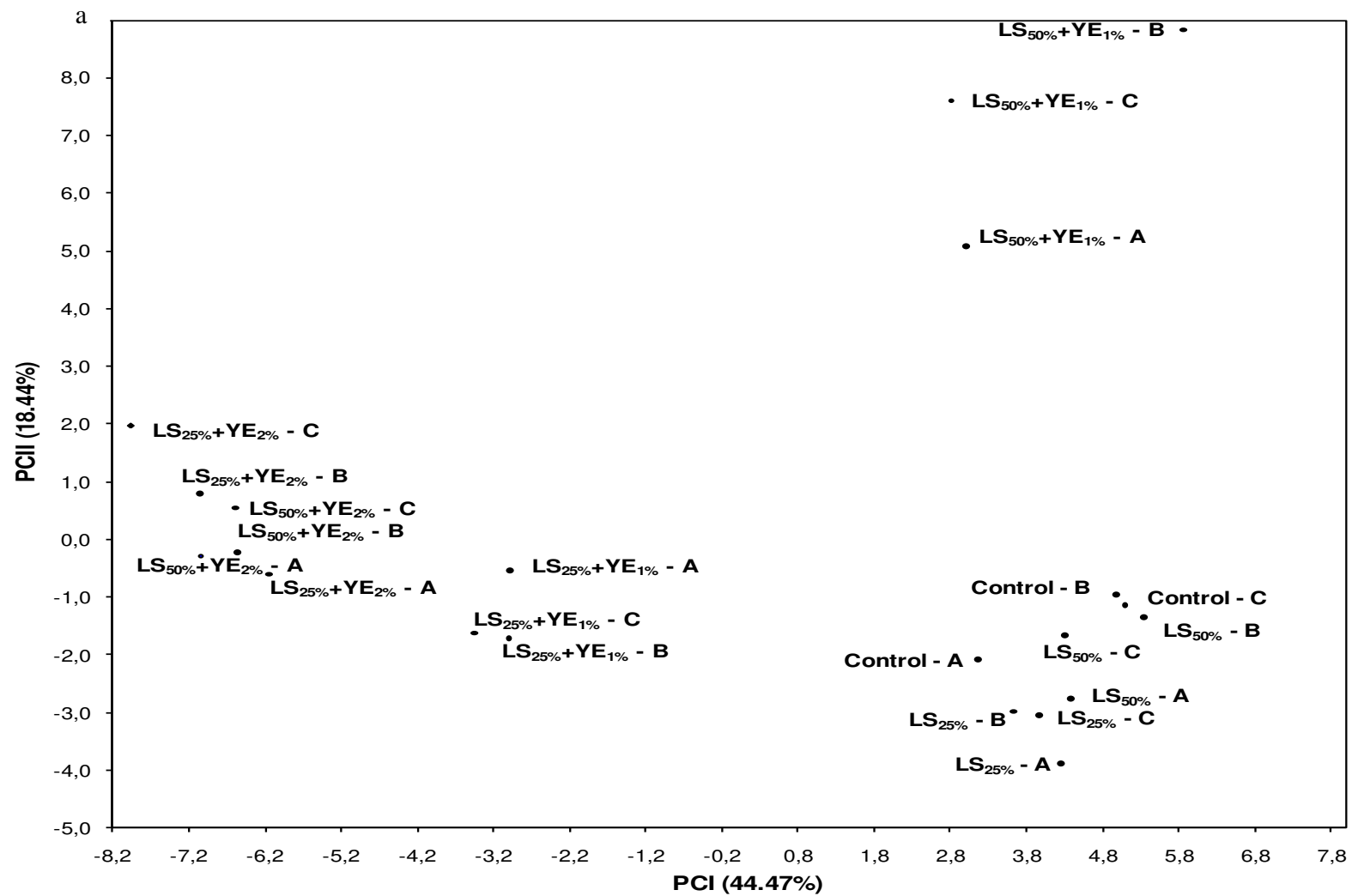
KI-MS ^a	Compounds	I ^b	Control	LS _{25%}	LS _{50%}	LS _{25%+YE_{1%}}	LS _{50%+YE_{1%}}	LS _{25%+YE_{2%}}	LS _{50%+YE_{2%}}
			A ^c ±SD ^d	A±SD	A±SD	A±SD	A±SD	A±SD	A±SD
1158	β –Myrcene	b	1.48±0.17	1.60±0.27	1.02±0.26	1.10±0.22	0.49±0.08	0.51±0.44	0.85±0.59
1165	Butanol	a	1.59±0.37	1.38±0.49	1.44±0.69	1.12±0.11	1.24±0.19	0.36±0.39	0.27±0.26
1174	1-Penten-3-ol	b	2.02±0.15	2.21±0.17	2.90±0.04	1.10±0.21	2.61±0.20	0.42±0.37	1.14±0.19
1187	Heptanal	b	-	-	-	-	4.10±1.03	-	-
1187	Limonene	a	16.86±2.28	18.07±1.21	11.77±1.50	14.17±0.24	8.37±2.31	8.80±2.76	6.45±1.15
1194	β –Phellandrene	b	0.31±0.03	0.22±0.05	0.05±0.08	0.43±0.34	0.52±0.46	1.74±1.96	0.44±0.20
1216	2-Methyl butanol	a	0.40±0.03	0.29±0.02	0.36±0.02	0.84±0.11	1.10±0.53	1.22±0.32	1.24±0.12
1218	3-Methyl butanol	a	1.70±0.01	1.20±0.03	2.06±0.09	3.05±0.43	2.81±0.33	4.13±0.20	4.24±0.08
1224	(E)2-Hexenal	b	0.46±0.22	0.35±0.05	0.73±0.16	-	0.36±0.35	-	-
1229	2-Pentyl furan	b	0.62±0.23	0.46±0.13	0.80±0.21	0.17±0.02	0.68±0.07	-	0.14±0.15
1256	3-Methyl-2-buten-1-ol	b	0.34±0.06	0.29±0.25	0.24±0.20	0.35±0.30	0.30±0.13	0.32±0.28	0.44±0.14
1260	Pentanol	a	7.93±0.87	7.86±0.90	9.35±0.33	5.77±0.83	10.08±0.82	3.80±0.88	2.39±2.08
1265	p-Cymene	b	5.27±0.95	5.34±0.10	4.14±0.37	4.72±0.16	3.43±0.35	4.96±1.42	5.86±2.53
1288	Octanal	a	0.31±0.30	0.33±0.56	0.21±0.36	-	-	1.05±1.82	-
1292	3-Hydroxy-2-butanone	a	4.83±0.20	6.69±0.61	4.87±0.55	4.13±0.25	3.46±0.54	4.42±1.00	3.41±0.34
1294	Acetaldoxime	b	0.36±0.11	-	-	-	0.41±0.38	0.40±0.38	0.21±0.18
1298	Hexanenitrile	c	0.56±0.06	0.51±0.08	0.59±0.02	-	0.43±0.40	0.22±0.04	0.36±0.14
1302	1-Octen-3-one	a	0.37±0.09	0.38±0.03	0.26±0.02	0.30±0.02	0.26±0.27	0.52±0.17	0.09±0.08
1310	1-Hydroxy-2-propanone	c	0.47±0.01	0.50±0.02	0.47±0.01	0.44±0.03	0.54±0.07	0.58±0.17	0.39±0.04
1320	(E)2-Penten-1-ol	b	0.10±0.03	0.07±0.07	0.13±0.01	-	0.04±0.06	-	-
1330	(Z)2-Heptenal	b	1.20±0.67	0.42±0.37	1.36±0.34	0.15±0.26	1.71±0.44	-	0.05±0.09
1332	3-Methyl-2-buten-1-ol	b	0.56±0.50	0.95±0.07	0.39±0.24	0.88±0.07	0.55±0.20	0.67±0.14	0.72±0.03
1342	2,6-Dimethylpyrazine	b	-	-	-	0.42±0.30	0.78±0.17	0.42±0.40	0.83±0.63
1354	Ethyl lactate	b	0.74±0.01	0.82±0.04	1.15±0.05	1.11±0.05	3.01±0.14	2.17±0.23	1.74±0.13
1362	Hexanol	a	32.25±1.45	24.61±1.94	30.18±1.91	14.28±1.37	26.67±1.96	6.48±1.52	7.54±0.71
1375	Dimethyl sulfide	b	0.31±0.01	0.34±0.01	0.71±0.09	0.17±0.01	0.22±0.03	0.37±0.04	0.45±0.04
1395	Nonanal	a	1.01±0.20	1.66±0.26	0.76±0.06	1.35±0.27	0.84±0.16	3.14±1.19	0.60±0.11
1404	Heptanenitrile	c	0.19±0.16	0.16±0.14	-	-	0.37±0.15	-	0.10±0.09
1406	2-Butoxyethanol	b	0.44±0.15	0.47±0.10	0.48±0.14	0.49±0.12	-	-	0.20±0.10
1417	(Z)4-Hexenol	b	-	-	2.07±0.13	-	-	-	-
1435	(E)2-Octenal	b	0.41±0.14	0.31±0.04	0.36±0.02	0.08±0.07	0.47±0.14	-	-
1443	Acetic acid	a	231.99±7.0	234.82±4.6	244.11±2.5	251.63±16.76	218.58±7.77	282.26±18.49	266.43±3.4
1466	Isoterpinolene	b	-	-	-	-	-	-	0.24±0.12
1460	Heptanol	a	0.60±0.10	0.50±0.06	0.40±0.05	0.23±0.02	0.86±0.47	-	-
1468	3-(Methylthio)propanal	b	-	0.20±0.06	-	0.23±0.06	0.48±0.18	0.15±0.04	-
1480	Diallyl disulfide	b	1.13±0.08	1.08±0.20	1.68±0.12	2.26±0.23	1.64±0.09	2.81±0.91	2.43±0.17

The effect of yeast extract addition on quality of fermented sausages at low NaCl content

Table 4 (continued)

KI-MS ^a	Compounds	I ^b	Control	LS _{25%}	LS _{50%}	LS _{25%} +YE _{1%}	LS _{50%} +YE _{1%}	LS _{25%} +YE _{2%}	LS _{50%} +YE _{2%}
			A ^c ±SD ^d	A±SD	A±SD	A±SD	A±SD	A±SD	A±SD
1486	Copaene	b	0.20±0.02	0.19±0.05	0.15±0.02	0.27±0.05	-	0.33±0.30	0.77±0.15
1493	Ethyl sorbate	b	0.16±0.01	0.17±0.02	0.96±0.02	0.14±0.05	0.51±0.15	0.36±0.08	0.92±0.09
1532	Benzaldehyde	a	1.54±0.15	1.54±0.13	1.61±0.13	1.38±0.07	2.18±0.16	1.45±0.24	1.35±0.07
1537	(E)2-Nonenal	b	-	-	-	-	-	0.07±0.13	-
1540	Propanoic acid	a	1.68±0.02	1.55±0.06	1.52±0.05	1.47±0.11	1.58±0.12	1.46±0.16	1.66±0.06
1551	Linalool	a	0.13±0.02	0.17±0.03	0.88±1.11	0.17±0.04	0.14±0.05	0.11±0.10	0.12±0.12
1561	Octanol	a	0.28±0.05	0.28±0.05	0.31±0.14	0.21±0.04	0.21±0.06	0.28±0.09	0.07±0.06
1568	2-Methylpropanoic acid	b	0.49±0.01	0.46±0.02	0.56±0.13	0.36±0.31	0.44±0.38	0.73±0.06	0.86±0.04
1572	β-Cariophyllene	b	1.64±0.10	2.57±0.04	2.47±0.43	3.40±0.71	3.33±0.42	3.69±0.60	4.20±0.34
1585	[R-(r*,r*)]2,3-Butanediol	b	0.05±0.06	0.15±0.01	7.15±2.20	-	0.16±0.02	-	3.44±3.37
1602	[S-(r*,r*)]2,3-Butanediol	b	0.16±0.27	0.83±0.37	-	-	-	-	-
1606	Terpineol	b	0.49±0.12	0.73±0.35	0.29±0.17	0.58±0.40	0.51±0.14	1.49±1.38	0.42±0.17
1627	Butanoic acid	a	15.95±0.26	13.59±0.47	14.14±0.53	13.71±0.81	15.79±1.24	15.05±1.29	16.60±0.23
1649	Butyrolactone	b	0.42±0.01	0.34±0.01	0.47±0.02	0.48±0.02	0.53±0.06	0.77±0.11	0.66±0.02
1658	Benzeneacetaldehyde	b	-	0.22±0.12	-	0.42±0.04	0.68±0.06	0.30±0.17	0.59±0.09
1669	3-Methylbutanoic acid	a	-	-	1.18±0.23	1.05±0.15	1.28±0.16	1.52±0.13	1.71±0.19
1717	3-(Methylthio)-1-propanol	b	-	-	-	0.15±0.01	0.14±0.02	0.17±0.04	0.27±0.11
1737	Pentanoic acid	a	1.21±0.06	1.06±0.02	1.35±0.04	0.85±0.01	1.53±0.15	1.01±0.19	1.05±0.01
1844	Hexanoic acid	a	5.67±0.44	5.16±0.11	6.39±0.30	3.60±0.10	7.11±0.99	4.20±0.98	3.66±0.04
1923	Phenylethyl alcohol	a	0.44±0.04	0.29±0.01	0.30±0.02	0.56±0.07	0.61±0.12	0.62±0.28	0.54±0.06
1951	Heptanoic acid	a	0.22±0.01	0.26±0.01	0.24±0.03	0.18±0.01	0.28±0.05	0.28±0.15	0.16±0.01
2013	Phenol	b	0.42±0.19	0.27±0.01	0.23±0.03	0.21±0.02	0.29±0.05	0.28±0.03	0.22±0.02
2058	Octanoic acid	a	0.35±0.02	0.36±0.03	0.36±0.03	0.31±0.02	0.34±0.04	0.48±0.23	0.29±0.01
2090	p-Cresol	b	0.19±0.02	0.18±0.01	0.08±0.07	0.13±0.01	0.05±0.08	0.05±0.09	-
2105	m-cresol	b	0.24±0.02	0.23±0.07	0.13±0.02	0.10±0.10	-	0.56±0.15	-
2164	Nonanoic acid	a	0.08±0.07	-	0.27±0.38	-	-	0.21±0.25	0.04±0.08

^aKI-MS – Experimental Kovats Index to mass spectrometry (DB-Wax; J&W Scientific, Folsom, California, USA). ^bIdentification reliability – a, mass spectra and retention time equal to the standard (positively identified); b, mass spectra and Kovats Index in accordance with literature data; c, mass spectra in accordance with NIST 98 library (tried to be identified). ^cA – average area x10⁶ (three parts; n = 3). ^dDV = Standard deviation. Control: 2.5% NaCl; LS_{25%}: 1.875% NaCl + 0.625% KCl (25% of NaCl reduction); LS_{50%}: 1.25% NaCl + 1.25% KCl (50% of NaCl reduction); LS_{25%}+YE_{1%}: 1.875% NaCl + 0.625% KCl + 1% of commercial yeast extract (25% of NaCl reduction); LS_{50%}+YE_{1%}: 1.25% NaCl + 1.25% KCl + 1% of commercial yeast extract (50% of NaCl reduction); LS_{25%}+YE_{2%}: 1.875% NaCl + 0.625% KCl + 2% of commercial yeast extract (25% of NaCl reduction); LS_{50%}+YE_{2%}: 1.25% NaCl + 1.25% KCl + 2% of commercial yeast extract (50% of NaCl reduction).



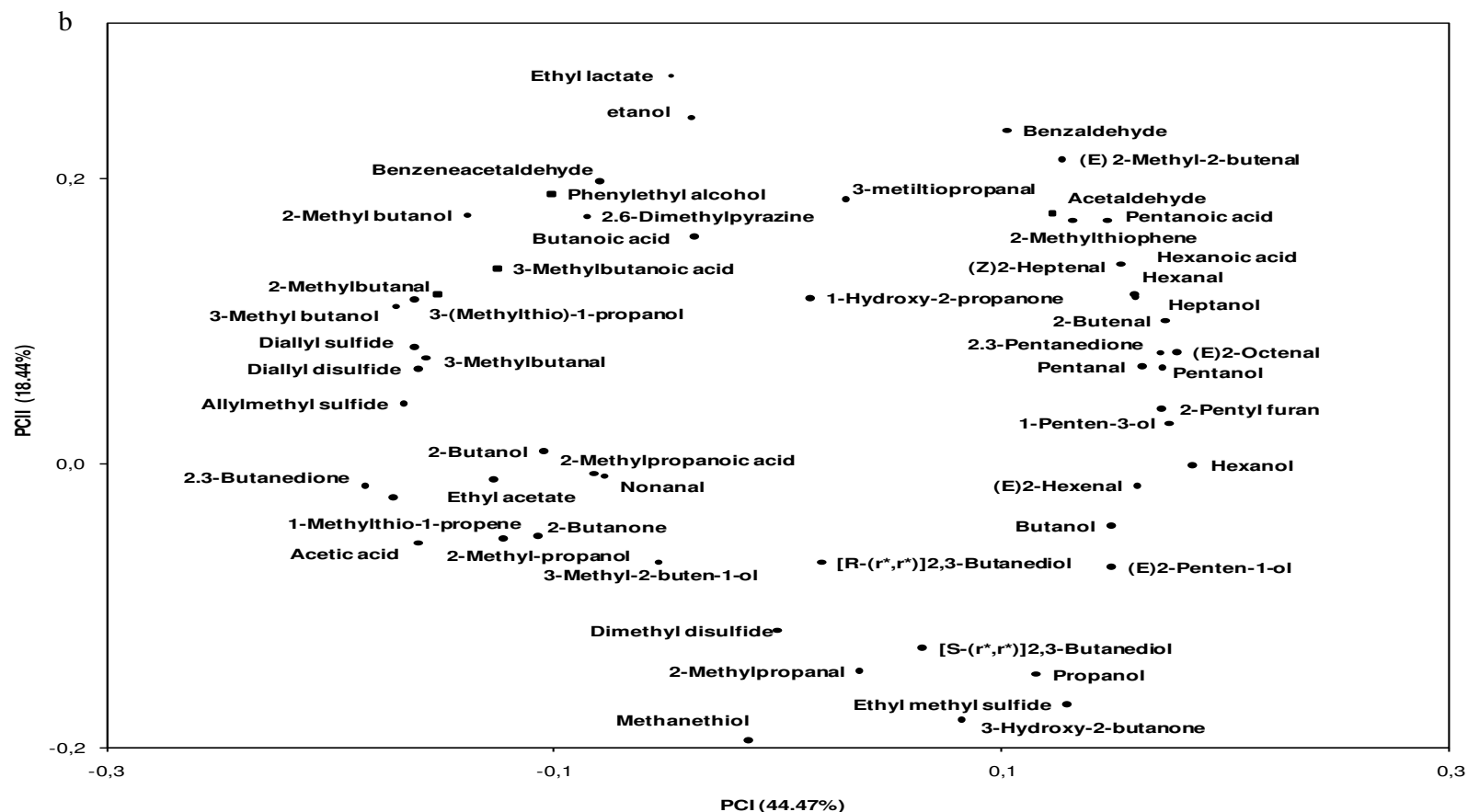


Figure 1 – Graph of the samples (a) and volatile compounds (b) of the two first principal components of PCA of the volatile compounds of fermented sausages with reduced sodium content. Control: 2.5% NaCl; LS_{25%}: 1.875% NaCl + 0.625% KCl (25% of NaCl reduction); LS_{50%}: 1.25% NaCl + 1.25% KCl (50% of NaCl reduction); LS_{25%}+YE_{1%}: 1.875% NaCl + 0.625% KCl + 1% of commercial yeast extract (25% of NaCl reduction); LS_{50%}+YE_{1%}: 1.25% NaCl + 1.25% KCl + 1% commercial yeast extract (50% of NaCl reduction); LS_{25%}+YE_{2%}: 1.875% NaCl + 0.625% KCl + 2% of commercial yeast extract (25% of NaCl reduction); LS_{50%}+YE_{2%}: 1.25% NaCl + 1.25% KCl + 2% commercial yeast extract (50% of NaCl reduction).

3.4 Consumer study

The results of consumer study are presented in Table 5. In agreement with the data obtained in the determination of color and in the analysis of volatile compound's profiles, the replacement of 25% of the NaCl content by KCl did not affect the color nor the aroma as compared with the control. Attributes of taste and texture were also indistinguishable from the control. The use of 1% and 2% yeast extract significantly improved the taste of the fermented sausages with the 25% replacement of NaCl by KCl. Additionally, an improvement in aroma was noted in the sample that was treated with a 2% concentration of yeast extract (LS_{25%}+YE_{2%}). This can be correlated to an increase in the volatile compounds caused by the fermentation of carbohydrates and amino acids catabolism as described earlier.

The replacement of 50% of the NaCl content with KCl did not affect the color and texture attributes compared to the control, but it did significantly depreciate the taste and aroma. The lower taste acceptability observed could be related to an increase in the bitterness caused by high concentrations of KCl (Kilcast & Ridder, 2007). Moreover, the depreciation of aroma could be probably due to the replacement of 50% NaCl by KCl, which promoted an increase in the proteolysis phenomena generating off-flavors in the final product, as demonstrated by Armenteros, Aristoy, Barat & Toldrá (2009) in dry-cured loins. The depreciation of sensory quality observed for this sample agrees with the results of Gelabert, Gou, Guerrero & Arnau (2003) and Gou, Guerrero, Gelabert & Arnau (1996). They found that when replacing NaCl by KCl in fermented sausages, a significant increase in bitterness occurred at 40% and 50% NaCl substitution, respectively. However, Guàrdia, Guerrero, Gelabert, Gou & Arnau (2008) did not find differences in the global acceptability of fermented sausages

formulated with 50% of the NaCl replaced with KCl. This discrepancy can be partially explained by considering differences in formulation (content of NaCl, spices and starter culture) and process conditions (temperature and relative humidity) between these two studies. Unlike the measured differences in the volatile profile, the consumer study did not reveal significant differences in aroma between the control samples and the samples with yeast extract (LS_{50%}+YE_{1%} and LS_{50%}+YE_{2%}). No differences in color, texture or taste attributes (Table 5) of the LS_{50%}+YE_{1%} and LS_{50%}+YE_{2%} samples as compared with the control were measured in the consumer study. This demonstrates that the addition of yeast extract, either at concentration of 1% or of 2%, was able to suppress the normal sensory defects caused by replacement of 50% of the NaCl in fermented sausage by KCl.

Table 5. Results of consumer study of fermented sausages formulated with a 25% and 50% of replacement of NaCl by KCl

	COLOR	AROMA	TASTE	TEXTURE		COLOR	AROMA	TASTE	TEXTURE
CONTROL	6.97 ^a ±1.39	5.71 ^{ab} ±2.06	6.44 ^{ab} ±2.13	6.46 ^a ±2.05	CONTROL	6.62 ^a ±1.86	5.89 ^a ±2.23	6.24 ^a ±2.03	6.56 ^a ±1.85
LS_{25%}	6.16 ^a ±1.87	5.03 ^b ±2.09	5.72 ^b ±2.07	6.03 ^a ±2.25	LS_{50%}	6.16 ^a ±2.04	4.70 ^b ±2.19	4.69 ^b ±2.42	5.88 ^a ±2.29
LS_{25%}+YE_{1%}	6.96 ^a ±1.63	5.93 ^{ab} ±2.08	6.66 ^a ±1.99	6.85 ^a ±1.84	LS_{50%}+YE_{1%}	6.20 ^a ±1.82	5.41 ^{ab} ±2.40	5.65 ^{ab} ±2.33	6.27 ^a ±1.78
LS_{25%}+YE_{2%}	7.15 ^a ±1.36	6.33 ^a ±1.98	6.76 ^a ±1.79	6.88 ^a ±1.76	LS_{50%}+YE_{2%}	6.93 ^a ±1.68	5.76 ^{ab} ±2.21	6.11 ^a ±1.90	6.69 ^a ±1.67

*Averages followed by the same letter, in the same column, did not present significant difference ($p > 0.05$) by Tukey's test. Control: 2.5% NaCl; LS_{25%}: 1.875% NaCl + 0.625% KCl (25% of NaCl reduction); LS_{25%}+YE_{1%}: 1.875% NaCl + 0.625% KCl + 1% of commercial yeast extract (25% of NaCl reduction); LS_{25%}+YE_{2%}: 1.875% NaCl + 0.625% KCl + 2% of commercial yeast extract (25% of NaCl reduction); LS_{50%}: 1.25% NaCl + 1.25% KCl (50% of NaCl reduction); LS_{50%}+YE_{1%}: 1.25% NaCl + 1.25% KCl + 1% of commercial yeast extract (50% of NaCl reduction); LS_{50%}+YE_{2%}: 1.25% NaCl + 1.25% KCl + 2% of commercial yeast extract (50% of NaCl reduction).

4. Conclusion

The results of this study indicate that the replacement of 25% to 50% of the NaCl in fermented sausage with KCl does not have negative consequences on fermentation and dehydration, nor does it alter the volatile compound's profiles of fermented sausages. However, the sensory quality of the fermented sausages with a 50% replacement (LS_{50%}) was poor if compared with the full-salt control samples. The fermented sausages treated with yeast extract dropped their pH faster during the fermentation period and had a lower final water activity. At a concentration of 2%, the yeast extract increased the presence of volatile compounds resulting from the fermentation of carbohydrates, as well as those from amino acids catabolism. These compounds may have contributed to the suppression of the sensory quality defects caused by the KCl introduction, thus enabling the production of safe fermented sausages that have acceptable sensory qualities with half as much sodium content.

Acknowledgement

The authors would like to thank CNPq (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico, Brazil) for its support.

References

- Acree, T. E., & Heinrich, A. (2009). Tastenet and human odor space, Gas chromatography-olfactometry (GC-O) of natural products, <<http://tastenet.org/tastenet.html>>.
- AOAC (2005). Official methods of analysis (18th ed.). Washington, DC, 2005. Association of Official Analytical Chemists.

- Armenteros, M., Aristoy, M. C., Barat, J. M., & Toldrá, F. (2009). Biochemical changes in dry-cured loins salted with partial replacements of NaCl by KCl. *Food Chemistry*, 117, 627-633.
- Berdagué, J. L., Denoyer, C., Le Quéré, J. L., & Semon, E. (1991). Volatile components of dry-cured ham. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 39, 1257-1261.
- Bidlas, E., & Lambert, R. J. W. (2008). Comparing the antimicrobial effectiveness of NaCl and KCl with a view to salt/sodium replacement. *International Journal of Food Microbiology*, 124, 98–102.
- Bloukas, J. G., Paneras, E. D., & Fournitzis, G. C. (1997). Effect of replacing pork backfat with olive oil on processing and quality characteristics of fermented sausages. *Meat Science*, 45(2), 133–144.
- Bruna, J. M., Fernández, M., Hierro, E. M., Ordóñez, J. A., & De La Hoz, L. (2000). Combined use of pronase E and a fungal extract (*penicillium aurantiogriseum*) to potentiate the sensory characteristics os dry fermented sausages. *Meat Science*, 54, 135-145.
- Capita, R., LLorente-Marigómez, S., Prieto, M., & Alonso-Calleja, C. (2006). Microbiological profiles, pH and titratable acidity of chorizo and salchichón (two Spanish dry-fermented sausages) manufactured with ostrich, deer, or pork meat. *Journal of Food Protection*, 69, 1183–1189.
- Careri, M., Mangia, A., Barbieri, G., Bolzoni, L., Virgili, R., & Parolari, G. (1993). Sensory property relationships to chemical data of Italian-type dry-cured ham. *Journal of Food Science*, 58, 968-972.

- Champagne, C. P., Fontaine, J., Dussault, F., & Delaquis, P. J. (1993). Effect of partial replacement of NaCl by KCl on the fermentative activity of mixed starter cultures for meat fermentation. *Food Microbiology*, 10, 329-335.
- Del Nobile, M. A., Conte, A., Incoronato, A. L., Panza, O., Sevi, A., & Marino, R. (2009). New strategies for reducing the pork back-fat content in typical Italian salami. *Meat Science*, 81, 263–269.
- Dickinson, B. D., & Havas, S. (2007). Reducing the Population Burden of Cardiovascular Disease by Reducing Sodium Intake: A Report of the Council on Science and Public Health. *Archives of Internal Medicine*, 167, 1460-1468.
- Dirinck, P., Van Opstaele, F., & Vandendriessche, F. (1997). Flavour differences between Northern and Southern European cured hams. *Food Chemistry*, 59, 511-521.
- Fernández-López, J., Sendra, E., Sayas-Barberá, E., Navarro, C., & Pérez-Alvarez, J.A. (2008). Physico-chemical and microbiological profiles of “salchichón” (Spanish dry-fermented sausage) enriched with orange fiber. *Meat Science*, 80, 410–417.
- Flores, M., Nieto, P., Ferrer, J. M., & Flores, J. (2005). Effect of calcium chloride on the volatile pattern and sensory acceptance of dry-fermented sausages. *European Food Research and Technology*, 221, 624–630.
- Geisen, R., Luecke, F. K., & Kroeckel, L. (1992). Starter and protective cultures for meat and meat products. *Fleischwirtschaft*, 72, 898–984.
- Gelabert, J., Gou, P., Guerrero, L., & Arnau, J. (2003). Effect of sodium chloride replacement on some characteristics of fermented sausages. *Meat Science*, 65, 833–839.

- Gimeno, O., Astiasarán, I., & Bello, J. (1998). A mixture of potassium, magnesium, and calcium chlorides as a partial replacement of sodium chloride in dry fermented sausages. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46, 4372–4375.
- González-Fernández, C., Santos, E. M., Rovira, J., & Jaime, I. (2006). The effect of sugar concentration and starter culture on instrumental and sensory textural properties of chorizo-Spanish dry-cured sausage. *Meat Science*, 74(3), 467-475.
- Gou, P., Guerrero, L., Gelabert, J., & Arnau, J. (1996). Potassium chloride, potassium lactate and glycine as sodium chloride substitutes in fermented sausages and in dry-cured pork loin. *Meat Science*, 42(1), 37–48.
- Guàrdia, M. D., Guerrero, L., Gelabert, J., Gou, P., & Arnau, J. (2008). Sensory characterisation and consumer acceptability of small calibre fermented sausages with 50% substitution of NaCl by mixtures of KCl and potassium lactate. *Meat Science*, 80, 1225–1230.
- Jennings, W., & Shibamoto, T. (1980). Evolution and application of the fused silica column. *Journal of High Resolution Chromatography*, 3, 601-608.
- Jiménez-Colmenero, F., Carballo, J., & Cofrades, S. (2001). Healthier meat and meat products: their role as functional foods. *Meat Science*, 59 (1), 5-13.
- Kilcast, D., & den Ridder, C. (2007). Sensory issues in reducing salt in food products. In D. Kilcast, & F. Angus (Eds.), *Reducing salt in foods. Practical strategies* (pp. 201–220). Cambridge: Woodhead Publishing Limited.
- Lisazo, G., Chasco, J., & Beriain, M. J. (1999). Microbiological and biochemical changes during ripening of salchichón, a Spanish dry cured sausage. *Food Microbiology*, 16, 219–228.

- Lücke, F. K. (1994). Fermented meat products. *Food Research International*, 27(3), 299-307.
- Macfie, H. J., Bratchell, N.; Greenhoff, K., & Vallis, L. (1989). Designs balance the effect of order of presentation and first-order carry-over effects in hall tests. *Journal of Sensory Studies*, 4, 129-148.
- Mahadevan, K., & Farmer, L. (2006). Key odor impact compounds in three yeast extract pastes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54, 7242-7250.
- Marco, A., Navarro, J. L., & Flores, M. (2004). Volatile compounds of dry sausages as affected by solid-phase microextraction (SPME). *Food Chemistry*, 84, 633-641.
- Marco, A., Navarro, J. L., & Flores, M. (2007). Quantitation of selected odor-active constituents in dry fermented sausages prepared with different curing salts. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55, 3058-3065.
- Mateo, J., & Zumalacárregui, J. M. (1996). Volatile compounds in chorizo and their changes during ripening. *Meat Science*, 44, 244-273.
- Meilgaard, M., Civille, G. V., & Carr, B. T (1999). *Sensory evaluation techniques* (3rd Ed.). Boca Raton: CRC Press, Inc.
- Muguerza, E., Fista, G., Ansorena, D., Astiasarán, I., & Bloukas, J. G. (2002). Effect of fat level and partial replacement of pork backfat with olive oil on processing and quality characteristics of fermented sausages. *Meat Science*, 61, 397–404.
- Munch, P., Hofmann, T., & Schieberle, P. (1997). Comparison of key odorants generated by thermal treatment of the commercial and self prepared yeast extracts: Influence of the amino acid composition on odorant formation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45, 1338-1344.

- Paik, D. C., Wendel, T. D., & Freeman, H. P. (2005). Cured meat consumption and hypertension: an analysis from NHANES III (1988-94). *Nutrition Research*, 25, 1049-1060.
- Roig-Sagués, A. X., Hernández-Herrero, M. M., López-Sabater, E. I., Rodríguez-Jerez, J. J., & Mora-Ventura, M. T. (1999). Microbiological events during the elaboration of “fuet”, a Spanish ripened sausage. *European Food Research and Technology*, 209, 108–112.
- Rust, R. E. (1994). Productos Embutidos. In J. F. Price, & B. S. Schweigert, *Ciencia de La Carne y de Productos Carnicos* (pp. 415-440). Zaragoza: Acríbia.
- Ruusunen, M., & Puolanne, E. (2005). Reducing sodium intake from meat products. *Meat Science*, 70(3), 531-541.
- Schmidt, S., & Berger, R. G. (1998). Aroma compounds in fermented sausages of different origins. *Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie*, 31, 559-567.
- Smit, G., Verheul, A., Van Kranenburg, R., Ayad, E., Siezen, R., & Engels, W. (2000). Cheese flavour development by enzymatic conversions of peptides and amino acids. *Food Research International*, 33, 153-160.
- Sondergaard, A. K., & Stahnke, L. H. (2002). Growth and aroma production by *Staphylococcus xylosus*, *S. carnosus* and *S. equorum* – a comparative study in model systems. *International Journal of Food Microbiology*, 75, 99-109.
- Stahnke, L. H. (1994). Aroma components from dried sausages fermented with *Staphylococcus xylosus*. *Meat Science*, 38, 39-53.
- Stahnke, L. H. (1995). Dried sausages fermented with *Staphylococcus xylosus* at different temperatures and with different ingredient levels – II. Volatile Compounds. *Meat Science*, 41, 193-209.

- Stahnke, L. H. (1999). Volatile produced by *Staphylococcus xylosus* and *Staphylococcus carnosus* during growth in sausage minces. Part I. Collection and identification. *Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie*, 32, 357-364.
- Stahnke, L. H., Holck, A., Jensen, A., Nilsen, A., & Zanardi, E. (2002). Maturity acceleration by *Staphylococcus carnosus* in fermented sausage – relationship between maturity and taste compounds. *Journal of Food Science*, 67, 1914-1921.
- Toldrá, F., Sanz, Y., & Flores, M. (2001). Meat fermentation technology. In Y. H. Hui, W. Nip, R. W Rogers, & O. A. Young, *Meat science and applications* (pp.537-561). New York: Marcel Dekker, Inc.
- Vanderzant, C., & Splittstoesser, D.F. (1992). *Compendium of methods for the microbiological examination of foods*. Washington (DC): American Public Health Association.
- Wagner, R. (2008). Composição de voláteis e aroma de salames nacionais tipos Italiano e Milano [Volatile composition and flavour of Italian and Milan types dry fermented sausages produced in Brazil]. Doctorate thesis, Universidade Estadual de Campinas, Campinas.
- WHO (2003). Diet, nutrition and the prevention of chronic diseases. Report of a joint WHO/FAO expert consultation, WHO technical report series 919 <http://whqlibdoc.who.int/trs/WHO_trs_916.pdf>.

**APPLICATION OF LYSINE, TAURINE, DISODIUM INOSINATE AND DISODIUM
GUANYLATE IN FERMENTED COOKED SAUSAGES WITH 50% REPLACEMENT
OF NaCl BY KCl**

Meat Science, 87 (2011) 239–243

Abstract

The effects of 50% replacement of NaCl by KCl and addition of the amino acids lysine and taurine and the 5'-ribonucleotides disodium inosinate and disodium guanylate on some sensory and physicochemical parameters of fermented cooked sausages were evaluated. The partial replacement of NaCl by KCl did not alter the manufacturing process; however, defects in the sensory quality were detected. Lysine at a concentration of 0.313% and a mixture of taurine (750 mg/kg) with disodium inosinate (300 mg/kg) and disodium guanylate (300 mg/kg) reduced the sensory defects caused by KCl, allowing the fermented cooked sausages to be elaborated with reduced sodium content and high sensory quality.

Keywords: sodium level reduction; potassium chloride; lysine; taurine; disodium inosinate; disodium guanylate.

1. Introduction

Several studies have related high level of sodium intake to incidence of hypertension, which is one of the main risk factors of cardiovascular disease (He and MacGregor, 2003; Obarzanek et al., 2003; Paik et al., 2005; Dickinson and Havas, 2007). Consumers are increasingly aware of the importance of reduction in sodium intake, and, therefore, the demand for a variety of reduced salt meat products in many countries has increased (Russunen & Puolanne, 2005).

Sodium chloride (NaCl) is the main source of sodium in meat products (Ruusunen & Puolanne, 2005). This ingredient is considered essential for the elaboration of safe and sensory pleasant meat products, contributing to microbiological safety, salty taste, colour and texture (Wirth, 1989; Toldrá, 2002). One of the main approaches used to reduce the amount of sodium in meat products is NaCl replacement by other chloride salts that have similar microbiological and sensory functions.

Potassium chloride (KCl) is probably one of the most frequently used NaCl substitutes (Desmond, 2006) and appears to be the best alternative to reduce the amount of sodium in meat products. KCl is considered safe (generally recognized as safe or GRAS) and has an antimicrobial efficiency equivalent to that of NaCl (Bidlas & Lamberd, 2008). Moreover, potassium intake has not been related to development of hypertension and cardiovascular disease (Buemi et al., 2002; Kimura et al., 2004; Geleijnse, Witteman, Stijnen, Kloos, Hofman & Grobbee, 2007). However, when used in high concentrations, KCl can diminish the sensory quality because it gives a metallic and bitter taste (Kilcast & Ridder, 2007). In fermented sausages, a substitution levels

of between 40 and 50% could affect the sensory quality (Gou, Guerrero, Gelabert, & Arnau, 1996; Gelabert, Gou, Guerrero & Arnau, 2003).

The research for ingredients that have the capacity of reducing or suppressing the sensory defects caused by using high levels of KCl is an important strategy to reduce the amount of sodium of fermented sausages, without depreciating their quality. Some reports have reported that lysine, taurine and the 5'-ribonucleotides disodium inosinate (IMP) and disodium guanylate (GMP) can reduce the sensory defects caused by KCl (Kurtz & Fuller, 1997; Zolotov, Braverman, Genis & Biale, 1998; Berglund & Alizadeh, 1999; Salemm & Barndt, 2008). However, there are no references about the use of these ingredients in combination with KCl to reduce the amount of sodium in fermented sausages. Therefore, this study proposes to evaluate the influence of amino acids (lysine and taurine) and 5'-ribonucleotides (IMP and GMP) on some sensory and physicochemical parameters of fermented cooked sausages that have 50% of NaCl replaced by KCl.

2. Materials and methods

2.1 Treatments

Treatments have been carried out with a 50% replacement of NaCl by KCl. The NaCl concentration was reduced from 2.5% to 1.25%. After the KCl replacement treatment, the amino acids lysine and taurine were added, in addition to the flavour enhancers Ajitide® IMP and Ajitide® I+G (50% IMP and 50% GMP) (Table 1).

Lysine was added at concentrations of 0.139, 0.313, 0.54, and 0.833 g per 100 g of meat mixture, corresponding to a mixture of lysine and KCl (w/w) of 10/90 (0.139 g lysine and 1.25 g KCl), 20/80 (0.313 g lysine and 1.25 g KCl), 30/70 (0.54 g lysine and 1.25 g KCl), and 40/60 (0.833 g lysine and 1.25 g KCl), respectively. Taurine was

added at a concentration of 750 mg/kg and the flavour enhancers at 600 mg/kg. The amino acids and the flavour enhancers were provided by Ajinomoto Interamericana Indústria and Comércio Ltda (São Paulo, Brazil).

2.2 Fermented cooked sausage preparation

Fermented cooked sausages were prepared using pork (650 g/kg), beef (200 g/kg) and pork back fat (150 g/kg). The raw material was ground using a 8 mm disk and mixed with the appropriate amount of NaCl and other corresponding ingredients required for each treatment, as described in Table 1. Subsequently, the following ingredients were added: glucose (10 g/kg), sodium nitrate (0.15 g/kg), sodium nitrite (0.15 g/kg), sodium ascorbate (2.5 g/kg), white pepper (2 g/kg), garlic (3 g/kg), nutmeg (0.02 g/kg), and starter culture (BactofermTM F1, Chr. Hansen) (0.25 g/kg). After mixing, the mass of meat was ground using a 3 mm disk and stuffed in collagen casings of 50 mm diameter. The pieces were then placed for 36 h in a fermentation room maintained at 28 ± 0.1 °C and relative humidity of 85–90%. For heat processing, the pieces were placed in the smokehouse and initially heated at 50 °C for an hour, 60 °C for 30 minutes, then at 70 °C until an internal temperature of 62 °C was attained. Following heat processing, the fermented cooked sausages were cooled to 20 °C and placed in a 15 °C drying room (relative humidity 65-75%). The fermented cooked sausages were kept in the drying room for 180 hours.

Application of lysine, taurine, disodium inosinate and disodium guanylate in fermented cooked sausages with 50% replacement of NaCl by KCl

Table 1. Percentages of sodium chloride, potassium chloride, amino acids and 5'-ribonucleotides used in the formulation of fermented cooked sausage treatments

	TREATMENTS (%)								
	Control (NaCl)	Control (KCl)	L10/90	L20/80	L30/70	L40/60	T750	T750+IMP/GMP600	T750+IMP600
Sodium chloride (NaCl)	2.5	1.25	1.25	1.25	1.25	1.25	1.25	1.25	1.25
Potassium chloride (KCl)	-	1.25	1.25	1.25	1.25	1.25	1.25	1.25	1.25
Lysine	-	-	0.139	0.313	0.54	0.833	-	-	-
Taurine	-	-	-	-	-	-	0.075	0.075	0.075
Disodium inosinate (IMP)							-	-	0.06
50% IMP + 50% disodium guanylate (GMP)	-	-	-	-	-	-	-	0.06	-

2.3 Physicochemical analysis

The pH was determined before the stuffing process, every 12 hours of fermentation, and every 36 hours after heat processing using a pH MA-130 meter (Mettler Toledo Indústria and Comércio Ltda, SP, Brazil). Water activity (A_w) was determined every 36 hours of preparation, using an Aqua lab CX-2 water-activity meter (Decagon Devices, Inc., Pullman, WA). Three sausages per batch were used to evaluate the pH and A_w and each analysis was performed in duplicate. The colour determination was performed at the end of fermented cooked sausage production, with a Hunter Lab colourimeter (Colourquest-II, Hunter Associates Laboratory Inc., Virginia, USA) using a 10 mm port size, illuminant D₆₅ and a 10° standard observer. CIELAB L*, a* and b* values were determined as indicators of lightness, redness and yellowness. Colour variables were measured at four points on the central part of the cut surface of three slices of the five sausages. The weight loss was determined by the weight difference among ten sausages just after the stuffing process and after the end of sausage production. At the end of fermented cooked sausage production, three sausages per batch were used to evaluate the concentrations of sodium and potassium and each analysis was performed in triplicate, according to the methodology described by the Association of Official Analytical Chemists (2005).

The texture profile analysis (TPA) parameters were determined at the end of fermented cooked sausage production, using a TA-TX2 Texture Analyzer (Stable Micro Systems Ltd., Surrey, England) with a load cell of 10 kg. Fifteen cylinders per batch were used to evaluate the texture. The samples, approximately 2 cm thick and 2 cm in diameter, were axially compressed into two consecutive cycles of 20% of compression, with a 30-mm diameter probe, at a constant speed of 1 mm/s. The TPA

parameters of hardness (the peak force during the first compression cycle), springiness (the height that the food recovers during the time that elapses between the end of the first bite and the start of the second bite) and cohesiveness (the ratio of the positive force area during the second compression portion to the positive force area during the first compression) were determined.

2.4 Consumer study

This study protocol was approved by the Ethics in Research Committee of the University of Campinas, SP, Brazil, under the number 271/2009. All participants signed a consent form agreeing to voluntarily participate in the consumer study. Consumer study was conducted by 60 untrained panelists recruited among students, faculty and staff members from the university campus, whose ages ranged from 19 to 42 years. During two sessions, consumers sat in booths with white fluorescent lighting, in an isolated room. They were asked to express their opinion of the product regarding its colour, aroma, taste and texture. All data was recorded on a questionnaire designed to indicate the degree of likeness for the sample of each treatment using a non-structured scoring scale of nine points (0 = disliked extremely and 9 = liked extremely) (Meilgaard, Civille & Carr, 1999). Samples were evaluated by each consumer in a monadic order in two sessions and were presented to the assessors balancing the first-order and the carry-over effects according to Macfie, Bratchell, Greenhoff & Vallis (1989).

2.5 Statistical analysis

The data were evaluated through a variance analysis (ANOVA). The averages were compared by Tukey's test at a confidence level of 5% ($p \leq 0.05$) using the SPSS statistical package (SPSS Inc., Chicago, IL, USA).

3. Results and discussion

3.1 Physicochemical analysis

The evolution of pH during the processing of fermented cooked sausages is presented in Table 2. There were small differences in initial pH values among the treatments, varying from 5.98 to 6.07.

Table 2. pH ($\pm$ standard deviation) in the fermented cooked sausages with reduced sodium content.

	Before cooking (hours)				After cooking (hours)					
	0	12	24	36	0	36	72	108	144	180
Control (NaCl)	6.06 $\pm$ 0.02 ^{ab}	5.81 $\pm$ 0.01 ^a	5.36 $\pm$ 0.01 ^a	5.03 $\pm$ 0.02 ^a	5.13 $\pm$ 0.03 ^a	5.26 $\pm$ 0.03 ^a	5.25 $\pm$ 0.02 ^a	5.26 $\pm$ 0.02 ^a	5.25 $\pm$ 0.02 ^a	5.40 $\pm$ 0.03 ^a
Control (KCl)	6.00 $\pm$ 0.03 ^{de}	5.72 $\pm$ 0.02 ^{bc}	5.30 $\pm$ 0.01 ^{bc}	4.97 $\pm$ 0.02 ^c	5.11 $\pm$ 0.01 ^{ab}	5.22 $\pm$ 0.02 ^{bc}	5.21 $\pm$ 0.01 ^{ab}	5.25 $\pm$ 0.01 ^{ab}	5.24 $\pm$ 0.01 ^a	5.32 $\pm$ 0.02 ^b
L10/90	6.03 $\pm$ 0.02 ^{bcd}	5.72 $\pm$ 0.02 ^b	5.32 $\pm$ 0.01 ^b	4.98 $\pm$ 0.01 ^{bc}	5.11 $\pm$ 0.02 ^{ab}	5.23 $\pm$ 0.01 ^{abc}	5.22 $\pm$ 0.02 ^{ab}	5.26 $\pm$ 0.02 ^a	5.25 $\pm$ 0.02 ^a	5.29 $\pm$ 0.02 ^{bc}
L20/80	5.99 $\pm$ 0.02 ^{de}	5.66 $\pm$ 0.02 ^d	5.28 $\pm$ 0.01 ^{cd}	4.97 $\pm$ 0.01 ^{bc}	5.08 $\pm$ 0.01 ^{bc}	5.21 $\pm$ 0.02 ^c	5.20 $\pm$ 0.02 ^b	5.22 $\pm$ 0.01 ^b	5.24 $\pm$ 0.02 ^a	5.29 $\pm$ 0.03 ^{bc}
L30/70	5.98 $\pm$ 0.01 ^e	5.73 $\pm$ 0.01 ^b	5.33 $\pm$ 0.01 ^{ab}	5.01 $\pm$ 0.01 ^{ab}	5.13 $\pm$ 0.02 ^a	5.24 $\pm$ 0.02 ^{ab} c	5.24 $\pm$ 0.01 ^a	5.27 $\pm$ 0.02 ^a	5.25 $\pm$ 0.01 ^a	5.35 $\pm$ 0.02 ^{ab}
L40/60	5.98 $\pm$ 0.01 ^e	5.69 $\pm$ 0.01 ^c	5.31 $\pm$ 0.01 ^{bc}	4.98 $\pm$ 0.03 ^{bc}	5.12 $\pm$ 0.01 ^a	5.17 $\pm$ 0.02 ^d	5.23 $\pm$ 0.01 ^{ab}	5.26 $\pm$ 0.02 ^a	5.24 $\pm$ 0.02 ^a	5.30 $\pm$ 0.04 ^{bc}
T750	6.04 $\pm$ 0.01 ^{bc}	5.63 $\pm$ 0.01 ^e	5.25 $\pm$ 0.02 ^d	4.92 $\pm$ 0.02 ^d	5.06 $\pm$ 0.02 ^c	5.07 $\pm$ 0.02 ^f	5.16 $\pm$ 0.03 ^c	5.17 $\pm$ 0.01 ^c	5.18 $\pm$ 0.01 ^b	5.24 $\pm$ 0.05 ^c
T750+IMP/ GMP600	6.01 $\pm$ 0.01 ^{cd}	5.58 $\pm$ 0.02 ^f	5.19 $\pm$ 0.01 ^e	4.86 $\pm$ 0.02 ^e	4.95 $\pm$ 0.02 ^d	5.12 $\pm$ 0.03 ^e	5.07 $\pm$ 0.02 ^d	5.09 $\pm$ 0.02 ^d	5.09 $\pm$ 0.01 ^d	5.23 $\pm$ 0.05 ^c
T750+IMP 600	6.07 $\pm$ 0.01 ^a	5.57 $\pm$ 0.01 ^f	5.20 $\pm$ 0.04 ^e	4.89 $\pm$ 0.02 ^{de}	4.99 $\pm$ 0.05 ^d	5.16 $\pm$ 0.01 ^e	5.13 $\pm$ 0.03 ^c	5.14 $\pm$ 0.03 ^c	5.12 $\pm$ 0.03 ^c	5.23 $\pm$ 0.02 ^c

*Averages within the same column followed by the same letters did not show any significant difference ($p > 0.05$) by Tukey's test. Control (NaCl): 2.5% NaCl; Control (KCl): 1.25% NaCl and 1.25% KCl; L10/90: 1.25% NaCl, 1.25% KCl, and 0.139% lysine; L20/80: 1.25% NaCl, 1.25% KCl, and 0.313% lysine; L30/70: 1.25% NaCl, 1.25% KCl, and 0.54% lysine; L40/60: 1.25% NaCl, 1.25% KCl, and 0.833% lysine; T750: 1.25% NaCl, 1.25% KCl, and 750 mg/kg taurine; T750 + IMP/GMP600: 1.25% NaCl, 1.25% KCl, 750 mg/kg taurine, 300 mg/kg disodium inosinate, and 300 mg/kg disodium guanylate; T750 + IMP600: 1.25% NaCl, 1.25% KCl, 750 mg/kg taurine, and 600 mg/kg disodium inosinate.

After fermentation for 36 hours, the pH reached values lower than 5.2 in all treatments because of the acidification caused by lactic acid bacteria (Muguerza, Fista, Ansorena, Astiasarán & Bloukas, 2002). This quick decrease in pH is of extreme importance for the product's microbiological safety, because it causes reduction or inhibition of numerous food-degrading and pathogenic microorganisms (Garriga, Hugas, Gou, Aymerich, Arnau & Monfort, 1996; Castano, Fontan, Fresno, Tornadijo & Carballo, 2002; Hughes, Kerry, Arendt, Kenneally, McSweeney & O'Neill, 2002). The pH decrease was significantly higher in treatments with amino acids added, especially in those with taurine added, suggesting stimulation of lactic acid bacteria metabolism by this amino acid. The pH values increased after cooking and during maturation, reaching a final pH in the range of 5.23 to 5.40, in accordance with the results obtained by Vural (1998), and thus able to be considered normal for this type of meat product.

The evolution of A_w is presented in Table 3. Reduction in NaCl levels or its replacement by other salts can damage the drying process of fermented sausages, turning it into a product with higher water activity, as shown by Ibañez et al. (1996) and Gimeno et al. (1998); this can in turn compromise its microbiological safety and reduce its shelf life. In this study, the final values of A_w varied between 0.905 and 0.916, a significant difference not being observed between the modified products and the control (NaCl).

Values obtained for colour determination are shown in Table 4. NaCl replacement by KCl did not change the L^* , a^* and b^* values significantly. Only in T750 treatment, a decrease in the red colour (a^*) was observed in relation to the control (NaCl). A greater acidification observed in the T750 treatment was probably responsible for this reduction in the a^* value, because lactic acid can cause denaturing

of nitrosomyoglobin pigment, the latter being responsible for the red coloring (Perez-Alvarez, Sayas-Barberá, Fernández-López & Aranda-Catalá, 1999).

Table 3. Water activity ($\pm$ standard deviation) in the fermented cooked sausages with reduced sodium content.

	Before cooking (hours)		After cooking (hours)					
	0	36	0	36	72	108	144	180
Control (NaCl)	0.986 $\pm$ 0.007 ^{ab}	0.966 $\pm$ 0.001 ^a	0.963 $\pm$ 0.003 ^{ab}	0.961 $\pm$ 0.001 ^{abc}	0.943 $\pm$ 0.002 ^b	0.946 $\pm$ 0.004 ^{ab}	0.938 $\pm$ 0.002 ^a	0.905 $\pm$ 0.004 ^{ab}
Control (KCl)	0.987 $\pm$ 0.005 ^a	0.966 $\pm$ 0.003 ^a	0.965 $\pm$ 0.003 ^{ab}	0.960 $\pm$ 0.002 ^{abc}	0.954 $\pm$ 0.006 ^{ab}	0.953 $\pm$ 0.003 ^a	0.943 $\pm$ 0.002 ^a	0.908 $\pm$ 0.004 ^{ab}
L10/90	0.986 $\pm$ 0.003 ^{ab}	0.969 $\pm$ 0.003 ^a	0.967 $\pm$ 0.003 ^a	0.961 $\pm$ 0.001 ^{abc}	0.955 $\pm$ 0.001 ^a	0.942 $\pm$ 0.003 ^{bc}	0.947 $\pm$ 0.001 ^a	0.910 $\pm$ 0.004 ^{ab}
L20/80	0.981 $\pm$ 0.003 ^{ab}	0.967 $\pm$ 0.001 ^a	0.962 $\pm$ 0.002 ^{ab}	0.961 $\pm$ 0.002 ^{abc}	0.952 $\pm$ 0.003 ^{ab}	0.940 $\pm$ 0.003 ^{bc}	0.941 $\pm$ 0.006 ^a	0.908 $\pm$ 0.006 ^{ab}
L30/70	0.979 $\pm$ 0.003 ^b	0.966 $\pm$ 0.003 ^a	0.962 $\pm$ 0.001 ^{ab}	0.958 $\pm$ 0.002 ^c	0.953 $\pm$ 0.004 ^{ab}	0.943 $\pm$ 0.004 ^{bc}	0.939 $\pm$ 0.003 ^a	0.906 $\pm$ 0.006 ^b
L40/60	0.980 $\pm$ 0.002 ^{ab}	0.964 $\pm$ 0.004 ^a	0.958 $\pm$ 0.004 ^b	0.963 $\pm$ 0.002 ^{ab}	0.953 $\pm$ 0.001 ^{ab}	0.934 $\pm$ 0.003 ^c	0.938 $\pm$ 0.002 ^a	0.905 $\pm$ 0.005 ^b
T750	0.983 $\pm$ 0.004 ^{ab}	0.967 $\pm$ 0.001 ^a	0.964 $\pm$ 0.003 ^{ab}	0.959 $\pm$ 0.003 ^{bc}	0.958 $\pm$ 0.006 ^a	0.940 $\pm$ 0.002 ^{bc}	0.939 $\pm$ 0.002 ^a	0.913 $\pm$ 0.006 ^{ab}
T750+ IMP/ GMP600	0.981 $\pm$ 0.003 ^{ab}	0.968 $\pm$ 0.001 ^a	0.962 $\pm$ 0.004 ^{ab}	0.965 $\pm$ 0.002 ^a	0.955 $\pm$ 0.004 ^a	0.936 $\pm$ 0.007 ^{bc}	0.924 $\pm$ 0.001 ^b	0.916 $\pm$ 0.005 ^a
T750+ IMP600	0.987 $\pm$ 0.005 ^{ab}	0.966 $\pm$ 0.003 ^a	0.965 $\pm$ 0.003 ^{ab}	0.960 $\pm$ 0.002 ^{abc}	0.954 $\pm$ 0.006 ^{ab}	0.953 $\pm$ 0.003 ^{bc}	0.943 $\pm$ 0.002 ^a	0.912 $\pm$ 0.004 ^{ab}

*Averages within the same column followed by the same letters did not show any significant difference ($p > 0.05$) by Tukey's test. Control (NaCl): 2.5% NaCl; Control (KCl): 1.25% NaCl and 1.25% KCl; L10/90: 1.25% NaCl, 1.25% KCl, and 0.139% lysine; L20/80: 1.25% NaCl, 1.25% KCl, and 0.313% lysine; L30/70: 1.25% NaCl, 1.25% KCl, and 0.54% lysine; L40/60: 1.25% NaCl, 1.25% KCl, and 0.833% lysine; T750: 1.25% NaCl, 1.25% KCl, and 750 mg/kg taurine; T750 + IMP/GMP600: 1.25% NaCl, 1.25% KCl, 750 mg/kg taurine, 300 mg/kg disodium inosinate, and 300 mg/kg disodium guanylate; T750 + IMP600: 1.25% NaCl, 1.25% KCl, 750 mg/kg taurine, and 600 mg/kg disodium inosinate.

Table 4. Colour characteristics ($\pm$ standard deviation) of the fermented cooked sausages with reduced sodium content.

	L*	a*	b*
Control (NaCl)	48.37 $\pm$ 1.80 ^a	16.15 $\pm$ 0.73 ^{ab}	12.73 $\pm$ 0.54 ^a
Control (KCl)	48.77 $\pm$ 2.88 ^a	16.35 $\pm$ 0.99 ^a	12.48 $\pm$ 0.51 ^a
L10/90	50.61 $\pm$ 2.09 ^a	15.37 $\pm$ 0.72 ^{abc}	11.46 $\pm$ 0.68 ^a
L20/80	48.62 $\pm$ 2.48 ^a	15.62 $\pm$ 0.88 ^{ab}	12.08 $\pm$ 0.68 ^a
L30/70	51.75 $\pm$ 2.38 ^a	15.23 $\pm$ 0.67 ^{abc}	12.06 $\pm$ 0.96 ^a
L40/60	49.24 $\pm$ 2.54 ^a	15.54 $\pm$ 0.83 ^{abc}	11.22 $\pm$ 1.20 ^a
T750	51.58 $\pm$ 2.01 ^a	14.18 $\pm$ 0.29 ^c	11.83 $\pm$ 0.35 ^a
T750+IMP/GMP600	50.95 $\pm$ 1.95 ^a	14.96 $\pm$ 0.79 ^{abc}	12.00 $\pm$ 1.33 ^a
T750+IMP600	52.01 $\pm$ 0.98 ^a	14.81 $\pm$ 0.77 ^{bc}	12.25 $\pm$ 1.18 ^a

*Averages within the same column followed by the same letters did not show any significant difference ($p > 0.05$) by Tukey's test. Control (NaCl): 2.5% NaCl; Control (KCl): 1.25% NaCl and 1.25% KCl; L10/90: 1.25% NaCl, 1.25% KCl, and 0.139% lysine; L20/80: 1.25% NaCl, 1.25% KCl, and 0.313% lysine; L30/70: 1.25% NaCl, 1.25% KCl, and 0.54% lysine; L40/60: 1.25% NaCl, 1.25% KCl, and 0.833% lysine; T750: 1.25% NaCl, 1.25% KCl, and 750 mg/kg taurine; T750 + IMP/GMP600: 1.25% NaCl, 1.25% KCl, 750 mg/kg taurine, 300 mg/kg disodium inosinate, and 300 mg/kg disodium guanylate; T750 + IMP600: 1.25% NaCl, 1.25% KCl, 750 mg/kg taurine, and 600 mg/kg disodium inosinate.

The results of TPA are presented in Table 5. Literature results indicate that NaCl reduction or replacement can cause changes in the texture of fermented sausages. Gimeno, Astiasarán & Bello (2001), when evaluating calcium ascorbate as a partial substitute for NaCl, found a decrease in the hardness. Similarly, Gimeno, Astiasarán & Bello (1999) observed a significant reduction in hardness and cohesiveness when using KCl and CaCl_2 as partial substitutes for NaCl in fermented sausages; however, they were considered sensorially acceptable. In this study, significant differences with reference to control (NaCl) were observed only in L10/90, T750 and T750+IMP600 treatments. In the L10/90 and T750 treatments, a significant reduction in the cohesiveness was observed, whereas hardness was significantly reduced in T750+IMP600. The significantly lower pH observed in L10/90, T750 and T750+IMP600 treatments in contrast to control (NaCl) could partially explain these results. The higher acidification could have caused a greater denaturation process, decreasing the binding capacity of proteins (Gimeno, Astiasarán & Bello, 1999). In

some types of fermented sausages, an alteration of the texture, especially the reduction in hardness, can be considered a positive effect (Melendo, Beltrán, Jaime, Sancho & Roncalés, 1996). However, in fermented sausages elaborated with lower minced size (3 mm), a significant softening could be considered as a defect (Gimeno, Astiasarán & Bello, 1999).

Weight loss varied from 34.85 to 39.5%, a significant difference not being observed between the control (NaCl) and the modified products (Table 6). Agreeing with these results, Guàrdia, Guerrero, Gelabert, Gou & Arnau (2008) did not find alterations in weight loss when replacing 50% of NaCl content by KCl in dry-fermented sausages.

Sodium and potassium percentages in the fermented cooked sausages are presented in Table 6. The replacement of NaCl by KCl significantly reduced the sodium content and increased the potassium content. The percentage of sodium reduction compared to the control (NaCl) was 40.21, 45.29, 45.71, 47.65, 45.15, 42.33, 45.29, and 43.88% for control (KCl), L10/90, L20/80, L30/70, L40/60, T750, T750+IMP/GMP600 and T750+IMP600, respectively. The percentage of potassium increase compared to the control (NaCl) was 66.05, 70.99, 84.16, 76.81, 87.27, 92.70, 86.62, and 90.19% for control (KCl), L10/90, L20/80, L30/70, L40/60, T750, T750+IMP/GMP600 and T750+IMP600, respectively. These modifications could result in nutritional benefits because the reduction of sodium intake in the diet is indicated as a way to reduce the risk factors of hypertension (Antonios & Macgregor, 1997). In addition, the increase in potassium content can also give benefits, as epidemiological studies suggest that potassium intake is inversely correlated with the level of blood pressure and hypertension prevalence (Kawano, Minami, Takishita & Omae, 1998).

Application of lysine, taurine, disodium inosinate and disodium guanylate in fermented cooked sausages with 50% replacement of NaCl by KCl

Table 5. Average values ($\pm$ standard deviation) of texture profile analysis parameters of the fermented cooked sausages with reduced sodium content.

	Hardness (N)	Springiness (mm)	Cohesiveness
Control (NaCl)	32.38 $\pm$ 2.41 ^{abc}	0.76 $\pm$ 0.01 ^a	0.77 $\pm$ 0.03 ^a
Control (KCl)	30.60 $\pm$ 1.69 ^{bcd}	0.81 $\pm$ 0.02 ^a	0.76 $\pm$ 0.01 ^a
L10/90	36.73 $\pm$ 2.41 ^a	0.77 $\pm$ 0.02 ^a	0.68 $\pm$ 0.00 ^c
L20/80	35.76 $\pm$ 3.45 ^{ab}	0.71 $\pm$ 0.01 ^a	0.73 $\pm$ 0.01 ^{ab}
L30/70	29.85 $\pm$ 2.87 ^{bcd}	0.80 $\pm$ 0.02 ^a	0.76 $\pm$ 0.01 ^a
L40/60	30.96 $\pm$ 2.38 ^{abcd}	0.78 $\pm$ 0.02 ^a	0.74 $\pm$ 0.01 ^{ab}
T750	29.05 $\pm$ 3.11 ^{cd}	0.73 $\pm$ 0.05 ^a	0.70 $\pm$ 0.02 ^{bc}
T750+IMP/GMP600	28.51 $\pm$ 2.81 ^{cd}	0.68 $\pm$ 0.04 ^a	0.73 $\pm$ 0.04 ^{ab}
T750+IMP600	26.02 $\pm$ 2.40 ^d	0.76 $\pm$ 0.03 ^a	0.75 $\pm$ 0.01 ^a

*Averages within the same column followed by the same letters did not show any significant difference ($p > 0.05$) by Tukey's test. Control (NaCl): 2.5% NaCl; Control (KCl): 1.25% NaCl and 1.25% KCl; L10/90: 1.25% NaCl, 1.25% KCl, and 0.139% lysine; L20/80: 1.25% NaCl, 1.25% KCl, and 0.313% lysine; L30/70: 1.25% NaCl, 1.25% KCl, and 0.54% lysine; L40/60: 1.25% NaCl, 1.25% KCl, and 0.833% lysine; T750: 1.25% NaCl, 1.25% KCl, and 750 mg/kg taurine; T750 + IMP/GMP600: 1.25% NaCl, 1.25% KCl, 750 mg/kg taurine, 300 mg/kg disodium inosinate, and 300 mg/kg disodium guanylate; T750 + IMP600: 1.25% NaCl, 1.25% KCl, 750 mg/kg taurine, and 600 mg/kg disodium inosinate. Hardness: the peak force during the first compression cycle; Springiness: the height that the food recovers during the time that elapses between the end of the first bite and the start of the second bite; Cohesiveness: the ratio of the positive force area during the second compression portion to the positive force area during the first compression

Table 6. Sodium and potassium content and weight loss ($\pm$ standard deviation) of the fermented cooked sausages with reduced sodium content.

	Sodium (mg/100g)	Potassium (mg/100g)	Weight Loss (%)
Control (NaCl)	1132.74 $\pm$ 13.07 ^a	691.51 $\pm$ 5.97 ^e	36.09 $\pm$ 0.64 ^{ab}
Control (KCl)	677.19 $\pm$ 20.37 ^b	1148.22 $\pm$ 13.44 ^d	34.84 $\pm$ 1.08 ^b
L10/90	619.77 $\pm$ 8.93 ^{cde}	1182.48 $\pm$ 18.91 ^{cd}	37.81 $\pm$ 1.22 ^{ab}
L20/80	614.95 $\pm$ 13.11 ^{de}	1273.48 $\pm$ 27.29 ^{ab}	38.80 $\pm$ 0.89 ^{ab}
L30/70	592.96 $\pm$ 12.21 ^e	1222.66 $\pm$ 25.60 ^{bc}	35.07 $\pm$ 1.71 ^b
L40/60	621.32 $\pm$ 0.69 ^{cde}	1295.02 $\pm$ 18.56 ^a	36.23 $\pm$ 1.15 ^{ab}
T750	653.26 $\pm$ 9.63 ^{bc}	1332.55 $\pm$ 42.10 ^a	39.57 $\pm$ 4.50 ^a
T750+IMP/GMP600	619.75 $\pm$ 5.43 ^{cde}	1290.53 $\pm$ 11.64 ^{ab}	39.18 $\pm$ 1.52 ^{ab}
T750+IMP600	635.67 $\pm$ 7.16 ^{cd}	1315.23 $\pm$ 36.07 ^a	35.70 $\pm$ 0.90 ^{ab}

*Averages within the same column followed by the same letters did not show any significant difference ($p > 0.05$) by Tukey's test. Control (NaCl): 2.5% NaCl; Control (KCl): 1.25% NaCl and 1.25% KCl; L10/90: 1.25% NaCl, 1.25% KCl, and 0.139% lysine; L20/80: 1.25% NaCl, 1.25% KCl, and 0.313% lysine; L30/70: 1.25% NaCl, 1.25% KCl, and 0.54% lysine; L40/60: 1.25% NaCl, 1.25% KCl, and 0.833% lysine; T750: 1.25% NaCl, 1.25% KCl, and 750 mg/kg taurine; T750 + IMP/GMP600: 1.25% NaCl, 1.25% KCl, 750 mg/kg taurine, 300 mg/kg disodium inosinate, and 300 mg/kg disodium guanylate; T750 + IMP600: 1.25% NaCl, 1.25% KCl, 750 mg/kg taurine, and 600 mg/kg disodium inosinate.

3.2 Consumer study

The results of consumer study are presented in Table 7. Colour acceptability was significantly reduced in T750 treatment compared to the control (NaCl), which may be related to the lower values of a^* found in this treatment (Table 4). L10/90, T750 and T750+IMP600 treatments showed a significant reduction in texture acceptability compared to the control (NaCl), a statement that is in compliance with the modifications observed in the texture profile analysis (Table 5).

A significant difference in colour and texture acceptability between two controls was not observed; however, similar to the observation by Gelabert, Gou, Guerrero & Arnau (2003) and Gou, Guerrero, Gelabert, & Arnau (1996), the 50% replacement of NaCl by KCl depreciated the product's sensory qualities by significantly reducing the acceptability for taste and aroma. In the treatments with lysine, a significant improvement in taste was noticed compared to the control (KCl). Related to the control (NaCl), significant changes in colour, aroma, taste and texture acceptability were not noted in L20/80, L30/70 and L40/60 treatments. Similar to what was noticed in treatments with lysine, treatments with taurine (T750, T750+IMP/GMP600 and T750+IMP600) showed a significant improvement in taste acceptability compared to the control (KCl). However, only the treatment with taurine and the mixture of IMP and GMP (T750+IMP/GMP600) did not differ from the control (NaCl) in any sensory attribute analyzed.

Table 7. Consumer acceptability ($\pm$ standard deviation) of colour, aroma, taste and texture of fermented cooked sausages with reduced sodium content.

	COLOUR	AROMA	TASTE	TEXTURE
CONTROL (NaCl)	6.69 $\pm$ 1.69 ^a	5.79 $\pm$ 2.13 ^a	6.81 $\pm$ 1.45 ^a	6.89 $\pm$ 1.56 ^a
CONTROL (KCl)	5.95 $\pm$ 2.01 ^{ab}	4.57 $\pm$ 1.96 ^b	4.31 $\pm$ 1.78 ^d	5.96 $\pm$ 2.08 ^{abc}
L10/90	5.93 $\pm$ 1.95 ^{ab}	4.84 $\pm$ 2.24 ^{ab}	5.45 $\pm$ 2.15 ^{bc}	5.46 $\pm$ 1.44 ^{bc}
L20/80	5.71 $\pm$ 1.86 ^{ab}	5.40 $\pm$ 2.11 ^{ab}	5.78 $\pm$ 1.85 ^{abc}	6.04 $\pm$ 1.98 ^{abc}
L30/70	6.39 $\pm$ 1.47 ^{ab}	5.66 $\pm$ 1.91 ^{ab}	5.81 $\pm$ 1.58 ^{abc}	6.18 $\pm$ 1.51 ^{abc}
L40/60	6.22 $\pm$ 1.85 ^{ab}	5.56 $\pm$ 2.23 ^{ab}	6.07 $\pm$ 1.78 ^{abc}	6.50 $\pm$ 1.77 ^{ab}
T750	5.38 $\pm$ 1.92 ^b	5.19 $\pm$ 2.08 ^{ab}	5.06 $\pm$ 2.18 ^c	5.40 $\pm$ 1.36 ^c
T750+IMP/GMP600	6.33 $\pm$ 1.85 ^{ab}	5.85 $\pm$ 1.97 ^a	6.25 $\pm$ 1.93 ^{ab}	5.89 $\pm$ 1.98 ^{abc}
T750+IMP600	5.95 $\pm$ 1.88 ^{ab}	5.23 $\pm$ 1.97 ^{ab}	5.41 $\pm$ 1.66 ^{bc}	5.69 $\pm$ 1.99 ^{bc}

*Averages within the same column followed by the same letters did not show any significant difference ($p > 0.05$) by Tukey's test. Control (NaCl): 2.5% NaCl; Control (KCl): 1.25% NaCl and 1.25% KCl; L10/90: 1.25% NaCl, 1.25% KCl, and 0.139% lysine; L20/80: 1.25% NaCl, 1.25% KCl, and 0.313% lysine; L30/70: 1.25% NaCl, 1.25% KCl, and 0.54% lysine; L40/60: 1.25% NaCl, 1.25% KCl, and 0.833% lysine; T750: 1.25% NaCl, 1.25% KCl, and 750 mg/kg taurine; T750 + IMP/GMP600: 1.25% NaCl, 1.25% KCl, 750 mg/kg taurine, 300 mg/kg disodium inosinate, and 300 mg/kg disodium guanylate; T750 + IMP600: 1.25% NaCl, 1.25% KCl, 750 mg/kg taurine, and 600 mg/kg disodium inosinate.

4. Conclusion

The manufacturing process was not altered by the 50% replacement of NaCl by KCl; however, the sensory quality was reduced. Lysine, at a concentration of 0.313%, and the mixture of taurine (750 mg/kg) with 5'-ribonucleotides IMP (300 mg/kg) and GMP (300 mg/kg) reduced the sensory defects caused by the replacement of 50% of NaCl by KCl, enabling the elaboration of fermented cooked sausages that are sensorially acceptable and possess healthier characteristics.

Acknowledgement

The authors would like to thank CNPq (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico, Brazil) for its support.

References

- Antonios, T. F. T., & Macgregor, G. A. (1997). Scientific basis for reducing salt (sodium) content in food products. In *Production and processing of healthy meat, poultry and fish products. Advances in meat research series*, (A. M. Pearson and T. R. Dutson, eds.) pp. 84–100, Chapman and Hall, London, UK.
- AOAC (2005). *Official methods of analysis* (18th ed.). Washington, DC, 2005. Association of Official Analytical Chemists.
- Berglund, K. A., & Alizadeh, H. (1999). Composition and method for producing a salty taste. US Patent 005897908A: United States.
- Bidlas, E., & Lambert, R. J. W. (2008). Comparing the antimicrobial effectiveness of NaCl and KCl with a view to salt/sodium replacement. *International Journal of Food Microbiology*, 124, 98–102.
- Buemi, M., Senatore, M., Corica, F., Aloisi, C., Romeo, A., Tramontana, D., & Frisina, N. (2002). Diet and arterial hypertension: is the sodium ion alone important? *Medicinal Research Reviews*, 22, 419-428.
- Castano, A., Fontan, M. C. G., Fresno, J. M., Tornadijo, M. E., & Carballo, J. (2002). Survival of *Enterobacteriaceae* during processing of chorizo de cebolla, a Spanish fermented sausage, *Food Control*, 13, 107–115.
- Desmond, E. (2006). Reducing Salt: a Challenge for Meat industry. *Meat Science*, 74, 188-196.
- Dickinson, B. D., & Havas, S. (2007). Reducing the population burden of cardiovascular disease by reducing sodium intake: A report of the council on science and public health. *Archives of Internal Medicine*, 167, 1460-1468.

- Garriga, M., Hugas, M., Gou, P., Aymerich, M. T., Arnau, J., & Monfort, J. M. (1996). Technological and sensorial evaluation of *Lactobacillus* strains as starter cultures in fermented sausages, *International Journal of Food Microbiology*, 32, 173–183.
- Gelabert, J., Gou, P., Guerrero, L., & Arnau, J. (2003). Effect of sodium chloride replacement on some characteristics of fermented sausages. *Meat Science*, 65, 833–839.
- Geleijnse, J. M., Witteman, J. C., Stijnen, T., Kloos, M. W., Hofman, A., & Grobbee, D. E. (2007). Sodium and potassium intake and risk of cardiovascular events and all-cause mortality: the Rotterdam study, *European Journal of Epidemiology*, 22, 763–770.
- Gimeno, O., Astiasarán, I. & Bello, J. (2001). Influence of partial replacement of NaCl with KCl and CaCl₂ on microbiological evolution of dry fermented sausages. *Food Microbiology*, 18, 329-334.
- Gimeno, O., Astiasarán, I., & Bello, J. (1998). A mixture of potassium, magnesium, and calcium chlorides as a partial replacement of sodium chloride in dry fermented sausages. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46, 4372–4375.
- Gimeno, O., Astiasarán, I., & Bello, J. (1999). Influence of partial replacement of NaCl with KCl and CaCl₂ on texture and colour of dry fermented sausages. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47, 873–877.
- Gou, P., Guerrero, L., Gelabert, J., & Arnau, J. (1996). Potassium chloride, potassium lactate and glycine as sodium chloride substitutes in fermented sausages and in dry-cured pork loin. *Meat Science*, 42(1), 37–48.
- Guàrdia, M. D., Guerrero, L., Gelabert, J., Gou, P., & Arnau, J. (2008). Sensory characterisation and consumer acceptability of small calibre fermented sausages

- with 50% substitution of NaCl by mixtures of KCl and potassium lactate. *Meat Science*, 80, 1225–1230.
- He, F.J., & MacGregor, G. A. (2003). How far should salt intake be reduced? *Hypertension*, 42, 1093–1099.
- Hughes, M. C., Kerry, J. P., Arendt, E. K., Kenneally, P. M., McSweeney, P. L. H, & O'Neill, E. E. (2002) Characterization of proteolysis during the ripening of semi-dry fermented sausages, *Meat Science*, 62, 205–216.
- Ibáñez, C., Quintanilla, L., Cid, C., Astiasarán, I., & Bello, J. (1996). Dry fermented sausages elaborated with *Lactobacillus plantarum*–*Staphylococcus carnosus*. Part I: Effect of partial replacement of NaCl with KCl on the stability and the nitrosation process. *Meat Science*, 44(4), 227–234.
- Kawano, Y., Minami, J., Takishita, S. & Omae, T. (1998). Effects of potassium supplementation on office, home, and 24-h blood pressure in patients with essential hypertension. *American Journal of Hypertenion*, 11(10), 1141-1146.
- Kilcast, D., & den Ridder, C. (2007). Sensory issues in reducing salt in food products, p. 201–220. In Kilcast D and Angus F (eds.), *Reducing salt in foods*. CRC Press LLC, Boca Raton FL.
- Kimura, M., Lu, X., Skurnick, J., Awad, G., Bogden J., Kemp, F., & Aviv, A. (2004). Potassium chloride supplementation diminishes platelet reactivity in humans. *Hypertension*, 44, 969–973.
- Kurtz, R. J., & Fuller, W. D. (1997). Specific eatable taste modifiers. US Patent 005631299A: United States.

- Macfie, H. J., Bratchell, N.; Greenhoff, K., & Vallis, L. (1989). Designs balance the effect of order of presentation and first-order carry-over effects in hall tests. *Journal of Sensory Studies*, 4, 129-148.
- Meilgaard, M., Civille, G. V., & Carr, B. T (1999). *Sensory evaluation techniques* (3rd Ed.). CRC Press Inc.
- Melendo, J. A., Beltrán, J. A., Jaime, I., Sancho, R., & Roncalés, P. (1996). Limited proteolysis of myofibrillar proteins by bromelain decreases toughness of coarse dry sausage. *Food Chemistry*, 57(3), 429-433.
- Muguerza, E., Fista, G., Ansorena, D., Astiasarán, I., & Bloukas, J. G. (2002). Effect of fat level and partial replacement of pork backfat with olive oil on processing and quality characteristics of fermented sausages. *Meat Science*, 61, 397–404.
- Obarzanek, E., Proscham, M. A., Vollmer, W. M., Moore, T. J., Sacks, F.M., Appel, L. J., Svetkey, L. P., Most-Windhauser, M. M., & Cutler, J. A. (2003). Individual blood pressure responses to changes in salt intake: Results from the DASH-sodium trial, *Hypertension*, 42, 459–467.
- Paik, D. C., Wendel, T. D., & Freeman, H. P. (2005). Cured meat consumption and hypertension: an analysis from NHANES III (1988-94). *Nutrition Research*, 25, 1049-1060.
- Pérez-Alvarez, J. A., Sayas-Barberá, E., Fernández-López, J., & Aranda-Catalá, V. (1999). Physico-chemical characteristics of Spanish-type dry-cured sausage. *Food Research International*, 32, 599–607.
- Ruusunen, M., & Puolanne, E. (2005). Reducing sodium intake from meat products. *Meat Science*, 70(3), 531-541.

- Salemme, F. R., & Barndt, R. (2008). Compositions and methods for producing a salty taste in foods or beverages. US Patent 007455872B2: United States.
- Toldrá, F. (2002). *Dry-cured meat products*. Trumbull, CT: Food & Nutrition Press, (Chapter 4).
- Vural, H. (1998). The use of commercial starter cultures in the production of Turkish semi-dry fermented sausages. *Zeitschrift für Lebensmitteluntersuchung und -Forschung A*, 207, 410-412.
- Wirth, F. (1989). Reducing the common salt content of meat products: Possible methods and their limitations. *Fleischwirtschaft*, 69(4), 589–593.
- Zolotov, S., Braverman, O., Genis, M., & Biale, D. (1998). Low sodium edible salt composition and process for its preparation. US Patent 005853792A: United States.

**APLICAÇÃO DE LISINA, INOSINATO DISSÓDICO E GUANILATO DISSÓDICO EM
SALAMES COM TEOR DE SÓDIO REDUZIDO**

Pendente de ser enviado a Meat Science

Resumo

Salames com uma substituição de 50% de NaCl por KCl e adicionados de lisina, inosinato dissódico e guanilato dissódico foram produzidos. O processo de fabricação foi monitorado através de análises físico-químicas (pH, atividade de água, cor, perda de peso, perfil de textura, teor de sódio e potássio) e microbiológicas (contagem de bactérias ácido lácticas, micrococáceas, coliformes totais e fecais). No final do processamento, foi realizado um teste sensorial de aceitação. A substituição de NaCl por KCl não causou alterações importantes no processo tecnológico, porém, defeitos na qualidade sensorial foram detectados. A utilização de lisina na concentração de 1% em combinação com inosinato dissódico (300 mg/kg) e guanilato dissódico (300 mg/kg) possibilitou a supressão dos defeitos sensoriais causados pela substituição de 50% de NaCl por KCl, permitindo a elaboração de salames seguros e sensorialmente aceitáveis com uma redução de aproximadamente 50% do teor de sódio.

Palavras-chave: redução de sódio; cloreto de potássio; lisina; inosinato dissódico; guanilato dissódico.

1 Introdução

Órgãos de saúde pública e agências reguladoras tem recomendado a redução da ingestão de sódio como uma forma de se reduzir os fatores de risco do surgimento de doenças cardiovasculares, principal causa de mortes em países industrializados (Organização Mundial da Saúde, 2003; Food Standards Agency, 2009). Este fato tem desencadeado uma nova tendência de consumo e um aumento considerável na demanda por alimentos com reduzido teor de sódio (Ruusunen e Puolanne, 2005).

Os salames estão entre os alimentos com maior quantidade de sódio. Normalmente, durante a elaboração se adiciona entre 2,0 a 4,0% de NaCl, porém devido a desidratação que ocorre durante o processo de fabricação, o teor de NaCl no produto final pode chegar a até 6% (Stahnke e Tjener, 2007; Ockerman e Basu, 2007). Portanto, estudos que abordem a redução da quantidade de NaCl em salames são extremamente importantes para conferir a esta especialidade cárnea características mais saudáveis.

No entanto, a simples redução de NaCl pode comprometer sua qualidade e segurança, já que este ingrediente auxilia na redução da atividade de água, confere estabilidade microbiológica e é responsável pelo gosto salgado característico deste produto (Blesa et al., 2008; Desmond, 2006). Desta forma, a utilização de outros sais de cloreto com características similares ao NaCl tem sido a principal abordagem utilizada para reduzir o teor de sódio de salames sem comprometer sua qualidade e segurança. Muitos estudos relataram que a substituição parcial de NaCl por KCl é uma das melhores alternativas para reduzir o teor de sódio neste produto (Gou *et al.*, 1996; Gimeno *et al.*, 2001; Gelabert *et al.*, 2003; Guàrdia *et al.*, 2008). O KCl possui características similares ao NaCl e apresenta uma eficiência antimicrobiana

equivalente (Bidlas e Lamberd, 2008). Além disso, a ingestão de potássio não tem sido associada ao desenvolvimento de hipertensão e doenças cardiovasculares (Buemi et al, 2002; Geleijnse et al, 2007; Kimura et al, 2004). No entanto, defeitos sensoriais relacionados a diminuição do gosto salgado e surgimento de gosto amargo, metálico e adstringente são comumente noticiados a partir do nível de 40% de substituição de NaCl por KCl e se configuram na principal limitação da utilização de KCl em salames (Gou et al., 1996; Gelabert et al., 2003).

Deste modo, a busca por ingredientes que sejam capazes de reduzir ou suprimir os defeitos sensoriais causados pela utilização de altos níveis de KCl se configura em uma estratégia a ser explorada para reduzir o teor de sódio de salames sem depreciar sua qualidade. Campagnol et al. (2011b) demonstraram que a utilização de lisina, inosinato dissódico e guanilato dissódico foi eficiente para reduzir os defeitos sensoriais causados pela substituição de 50% do teor de NaCl por KCl em embutidos fermentados cozidos. No entanto, o potencial da aplicação destes ingredientes em produtos cárneos fermentados que não sofrem um processo de cozimento ainda não foi estudado. Baseado nisto, este trabalho tem por objetivo avaliar o efeito da adição de lisina, inosinato dissódico e guanilato dissódico nas características físico-químicas, microbiológicas e sensoriais de salames com um nível de 50% de substituição de NaCl por KCl.

2 Material e Métodos

2.1 Tratamentos

Foram elaborados tratamentos com uma substituição de 50% do teor de NaCl por KCl. A concentração de NaCl foi reduzida de 2,5% para 1,25%. Nos tratamentos com substituição de NaCl por KCl foram adicionados o aminoácido lisina e o realçador

de sabor Ajitide® I+G (50% inosinato dissódico e 50% guanilato dissódico) conforme descrito na Tabela 1. O aminoácido lisina foi adicionado na concentração de 1% e o realçador de sabor na concentração de 600 mg/kg. A lisina e o realçador de sabor foram fornecidos pela empresa Ajinomoto Interamericana Indústria e Comércio Ltda (São Paulo, Brasil).

Tabela 1. Níveis de cloreto de sódio, cloreto de potássio, lisina e 5-ribonucleotídeos utilizados na formulação dos salames

	Tratamentos (%)				
	Controle (NaCl)	Controle (KCl)	Lis	IMP/GMP	Lis + IMP/GMP
Cloreto de sódio (NaCl)	2,5	1,25	1,25	1,25	1,25
Cloreto de potássio (KCl)	-	1,25	1,25	1,25	1,25
Lisina	-	-	1,0	-	1,0
Inosinato dissódico	-	-	-	0,03	0,03
Guanilato dissódico	-	-	-	0,03	0,03

2.2 Processo de fabricação

As matérias-primas utilizadas neste experimento foram adquiridas de frigoríficos sob inspeção federal brasileira. O processamento foi realizado no Laboratório de Carne e Derivados da Faculdade de Engenharia de Alimentos da Universidade Estadual de Campinas (São Paulo, Brasil). Os salames foram elaborados utilizando como matéria-prima carne suína (650 g/kg), carne bovina (200 g/kg) e toucinho (150 g/kg). A matéria-prima foi moída em disco de 8 mm e misturada com a quantidade correta de NaCl e dos demais ingredientes correspondentes a cada tratamento descritos na Tabela 1. Após, foram adicionados os seguintes ingredientes: glicose (5 g/kg), sacarose (5g/kg), nitrato de sódio (0,15 g/kg), nitrito de sódio (0,15

g/kg), ascorbato de sódio (0,25 g/kg), pimenta branca (2 g/kg), alho (3 g/kg), noz moscada (0,02 g/kg) e cultura *starter* (Floracarn SPX, Chr. Hansen) (0,25 g/kg). Após a completa homogeneização, os tratamentos foram embutidos em tripas não comestíveis artificiais de colágeno, com 60 mm de diâmetro e cortadas em peças de aproximadamente 15 cm de comprimento, totalizando 50 peças de aproximadamente 200 g para cada tratamento. Após o embutimento, as peças foram submetidas a um banho em solução de sorbato de potássio 20% e encaminhadas para a câmara climatizada, com temperatura e umidade relativa controladas, onde permaneceram durante 21 dias. A programação de temperatura e umidade relativa (T°/UR%) foram as seguintes: primeiro dia, temperatura 25°C/U.R. 95%; segundo dia, 24°C/93%, terceiro dia, 23°C/90%, quarto dia, 22°C/85%, quinto dia, 21°C/80%, sexto dia, 20°C/75% e do sétimo até o vigésimo primeiro dia, 18°C/75%.

2.3 Análises físico-químicas

Os valores de pH foram determinados no início (dia 0) e com 3, 7, 14 e 21 dias de fabricação por inserção direta do pHmetro MA 130 (Mettler Toledo Indústria e Comércio Ltda, SP, Brasil). A atividade de água (A_w) foi determinada no início (dia 0) e com 7, 14 e 21 dias de fabricação utilizando o aparelho Decagon Aqualab (Decagon Devices Inc., Pullman, USA). Foram utilizados três salames por tratamento para a determinação dos valores de pH e A_w . A determinação da cor foi realizada no final do processo de fabricação com auxílio do colorímetro Hunter Lab (Colorquest II, Hunter Associates Laboratory Inc, Virginia, USA), tendo reflectância espectral incluída como modo de calibração, iluminante D65, e ângulo de observação de 10°, operando no sistema CIE ($L^*a^*b^*$). Foram determinados os valores de L^* (luminosidade), a^* (intensidade da cor vermelha) e b^* (intensidade da cor amarela). Cinco salames por

tratamento foram utilizados para a determinação de cor, sendo que para cada salame os parâmetros de cor foram avaliados em quatro pontos da parte central de três fatias. A perda de peso foi determinada pela diferença de peso existente entre dez salames por tratamento no momento do embutimento (dia 0) e após o produto acabado. Os teores de sódio e potássio foram determinados no final da fabricação usando três salames por tratamento (AOAC, 2005).

As mensurações do perfil de textura foram realizadas no final do processo de fabricação utilizando o Texturômetro TA-TX2 (Stable Micro Systems Ltda., Surrey, Inglaterra) com célula de carga de 10 kg. Foram utilizados cinco salames por tratamento para as mensurações do perfil de textura. Cada amostra foi cortada em cilindros de 2 cm e comprimida axialmente em dois ciclos consecutivos de 20% de compressão com um probe de 30 mm de diâmetro, movendo-se a uma velocidade constante de 1 mm/s. A coleta dos dados e a construção das curvas de TPA foram realizadas pelo programa Texture Expert, versão 1.11 (Stable Micro Systems Ltda.). Foram calculados os parâmetros de dureza, elasticidade e coesividade. A dureza foi definida pelo pico de força durante o primeiro ciclo de compressão. A elasticidade foi definida como a razão entre o tempo desde o início da segunda área até o segundo pico e o tempo desde o início da primeira área até o primeiro pico. A coesividade foi calculada como a razão entre as áreas do segundo e do primeiro pico.

2.4 Análises microbiológicas

Características microbiológicas dos salames foram avaliadas no dia 0 e com 3, 7, 14 e 21 dias de fabricação conforme metodologia descrita por Vanderzant e Splisttoesser (1992). Alíquotas de 25 gramas foram coletadas e então homogeneizadas com 225 mL de água peptonada 0,1% (Oxoid Unipath Ltda.,

Basingtoke, Hampshire, UK) e diluídas serialmente em escala decimal. Bactérias ácido lácticas (BAL) foram quantificadas utilizando-se ágar De Man Rogosa Sharpe (Oxoid) (37°C/48 horas), Micrococaceas em Manitol Salt Agar (Oxoid) (37°C/48 horas), coliformes totais em ágar cristal violeta-vermelho neutro-bile (Oxoid) (37°C/24 horas) e coliformes fecais em caldo EC (Oxoid) (45°C/48 horas). Para a realização das análises microbiológicas foram utilizados três salames por tratamento.

2.5 Análise sensorial

Este protocolo de estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Estadual de Campinas sob o número 271/2009. Todos os participantes assinaram um termo de consentimento livre e esclarecido concordando em participar voluntariamente das análises sensoriais. Foi realizado um teste sensorial de aceitação utilizando-se uma escala hedônica não estruturada de nove centímetros, variando de desgostei muitíssimo a gostei muitíssimo. Assim, os atributos de cor, aroma, sabor, textura e aceitação global das amostras foram avaliados por 80 consumidores (Meilgaard et al., 1999). As amostras foram avaliadas por cada consumidor de forma monádica e a ordem de apresentação seguiu um delineamento balanceado conforme descrito por Macfie et al. (1989).

2.6 Análise estatística

Os dados foram avaliados através de análise de variância (ANOVA) e as médias comparadas pelo teste de Tukey, considerando o nível de significância de 5% ($p \leq 0,05$), utilizando o pacote estatístico SPSS (SPSS Inc., Chicago, IL, USA).

3 Resultados e discussão

3.1 Análises físico-químicas

As características físico-químicas dos salames formulados com reduzido teor de sódio são apresentadas na Tabela 2. Os valores de pH no início da fabricação variaram entre 5,73 a 5,79, não sendo observada diferença significativa entre os tratamentos. Após 3 dias de fabricação, o pH atingiu valores inferiores a 5,2 em todos os tratamentos ($p > 0,05$) devido ao acúmulo de ácido lático formado por ação das bactérias ácido lácticas sobre os carboidratos adicionados na massa cárnea (Muguerza et al., 2002). Esta queda rápida de pH é extremamente importante para a qualidade microbiológica do produto, já que garante a redução ou a inibição de um grande número de microrganismos patogênicos e deteriorantes (Castano et al., 2002; Garriga et al., 1996; Hughes et al., 2002). No final do processo de fabricação (dia 21), os valores de pH variaram entre 4,94 a 5,01 ($p > 0,05$), o que está de acordo com os resultados obtidos por Campagnol et al. (2011a), Gelabert et al. (2003) e Gou et al. (1996), podendo ser considerado normal para este produto cárneo.

Conforme demonstrado por Ibáñez et al. (1996) e Gimeno et al. (1998) a redução ou substituição de NaCl por outros sais pode prejudicar o processo de secagem de salames deixando os produtos com maior atividade de água, o que pode reduzir sua vida de prateleira. Neste trabalho, a substituição de 50% do teor de NaCl por KCl não causou alterações significativas na atividade de água final (Tabela 2), fato que está de acordo com os resultados obtidos por Campagnol et al. (2011b) em embutidos fermentados cozidos.

Apesar das diferenças estatísticas observadas entre os tratamentos nos parâmetros de L^* , a^* e b^* , os efeitos da substituição de NaCl por KCl e da utilização

da lisina, inosinato dissódico e guanilato dissódico não foram evidentes, provavelmente devido a coloração heterogênea típica dos salames. No entanto, pode-se afirmar que as modificações realizadas na formulação não causaram grandes alterações na coloração dos salames, já que os resultados obtidos em todos os tratamentos para os parâmetros L^* , a^* e b^* foram muito semelhantes aos encontrados em outros trabalhos (Pérez-Alvarez et al, 1999; Kayaardi e Gök, 2003; Campagnol et al., 2007).

Durante a fabricação os salames perdem peso devido ao processo de desidratação (Bloukas, 1997). Concordando com os resultados obtidos por Guàrdia et al. (2008) e Campagnol et al. (2011a) a substituição de 50% do teor de NaCl por KCl não causou alterações significativas na perda de peso (Tabela 2). Cabe salientar que a perda de peso observada neste trabalho (aproximadamente 40%) foi muito similar a indicada por Rust (1994) como sendo a ideal para embutidos fermentados secos.

Tabela 2. Características físico-químicas dos salames formulados com reduzido teor de sódio

	Dias	Controle (NaCl)	Controle (KCl)	Lis	IMP/GMP	Lis + IMP/GMP
pH	0	5,77±0,03 ^a	5,74±0,05 ^a	5,73±0,02 ^a	5,74±0,02 ^a	5,79±0,03 ^a
	3	5,11±0,03 ^a	5,01±0,04 ^a	5,03±0,01 ^a	5,01±0,03 ^a	5,00±0,03 ^a
	7	5,02±0,02 ^a	4,93±0,00 ^b	4,98±0,01 ^{ab}	4,99±0,02 ^{ab}	4,99±0,02 ^{ab}
	14	5,01±0,02 ^{ab}	4,90±0,03 ^c	4,95±0,00 ^{bc}	4,96±0,02 ^{bc}	4,97±0,02 ^a
	21	4,94±0,01 ^a	4,96±0,02 ^a	5,01±0,03 ^a	4,95±0,02 ^a	4,96±0,02 ^a
Aw	0	0,972±0,003 ^a	0,973±0,003 ^a	0,973±0,004 ^a	0,970±0,002 ^a	0,968±0,001 ^a
	7	0,929±0,001 ^b	0,942±0,001 ^a	0,930±0,001 ^b	0,937±0,001 ^a	0,928±0,002 ^a
	14	0,882±0,004 ^d	0,905±0,002 ^{ab}	0,896±0,003 ^{bc}	0,911±0,003 ^a	0,884±0,003 ^{cd}
	21	0,883±0,002 ^{ab}	0,875±0,012 ^{ab}	0,872±0,006 ^a	0,902±0,006 ^b	0,877±0,001 ^{ab}
L*	21	40,03±0,44 ^b	46,97±1,20 ^a	43,19±0,84 ^b	47,60±0,96 ^a	42,66±0,79 ^b
a*	21	14,36±0,40 ^a	12,42±0,30 ^b	11,92±0,29 ^b	11,40±0,32 ^b	12,56±0,33 ^b
b*	21	8,66±0,28 ^c	8,71±0,18 ^a	8,42±0,19 ^a	8,27±0,21 ^{ab}	7,56±0,17 ^b
Perda de Peso	21	43,24±0,61 ^a	40,96±0,32 ^a	41,05±1,74 ^a	39,38±2,40 ^a	38,55±1,29 ^a
Sódio (mg/100g)	21	1324,74±	697,19±	681,32±	699,75±	685,67±
		18,07 ^a	20,37 ^b	9,69 ^b	8,43 ^b	7,16 ^b
Potássio (mg/100g)	21	681,51±	1348,22±	1355,02±	1372,52±	1355,12±
		8,97 ^b	10,44 ^a	12,56 ^a	11,02 ^{ab}	26,05 ^a

*Os valores representam a média (± desvio padrão). Médias acompanhadas pela mesma letra, na mesma linha, não apresentam diferença significativa (p>0,05) pelo teste de Tukey. Controle (NaCl): 2,5% NaCl; Controle (KCl): 1,25% NaCl e 1,25% KCl; Lis: 1,25% NaCl, 1,25% KCl e 1% lisina; IMP/GMP: 1,25% NaCl, 1,25% KCl, 300 mg/kg inosinato dissódico e 300 mg/kg guanilato dissódico; Lis + IMP/GMP: 1,25% NaCl, 1,25% KCl, 1% lisina, 300 mg/kg inosinato dissódico e 300 mg/kg guanilato dissódico.

O controle (NaCl) apresentou um teor de sódio de 1324 mg/100 g (Tabela 2), valor muito semelhante ao teor de 1350 mg/100 g de sódio obtido por Gimeno et al (1999) utilizando 2,6% de NaCl na formulação. A substituição de NaCl por KCl possibilitou alcançar uma redução de aproximadamente 50% do teor de sódio e um aumento de aproximadamente 100% do teor de potássio (Tabela 2). Estas modificações conferem aos produtos reformulados características mais saudáveis, já que a diminuição da ingestão de sódio na dieta é apontada como uma forma de reduzir os fatores de risco da ocorrência de hipertensão e como consequência, o surgimento de doenças cardiovasculares (Antonios e Macgregor, 1997) e, além disso, estudos epidemiológicos sugerem que a ingestão de potássio tem sido inversamente correlacionada com o nível de pressão arterial e a prevalência de hipertensão (Kawano, 1998).

A análise do perfil de textura instrumental é apresentada na Tabela 3. Conforme demonstrado por Gimeno et al. (2001) e Gimeno et al. (1999) a substituição de NaCl por outros sais pode provocar alterações na textura de salames, principalmente no atributo de dureza. Concordando com estes resultados, neste trabalho foi verificado no tratamento controle (KCl) uma redução significativa na dureza, fato que pode depreciar a qualidade sensorial do produto, já que um abrandamento excessivo é apontado como um defeito neste tipo de produto cárneo (Gimeno et al., 1999). No entanto, não foram observadas diferenças significativas nos atributos de dureza, elasticidade e coesividade entre o controle (NaCl) e os tratamentos com substituição de 50% de NaCl por KCl e adição de lisina, inosinato dissódico e guanilato dissódico (Lis, IMP/GMP e Lis + IMP/GMP).

Tabela 3. Valores médios ($\pm$ desvio padrão) do perfil de textura dos salames com reduzido teor de sódio

	Dureza (N)	Elasticidade (mm)	Coesividade
Controle (NaCl)	27,97 $\pm$ 0,73 ^{a,*}	0,79 $\pm$ 0,01 ^a	0,62 $\pm$ 0,01 ^a
Controle (KCl)	18,90 $\pm$ 0,61 ^b	0,78 $\pm$ 0,01 ^a	0,67 $\pm$ 0,02 ^a
Lis	28,24 $\pm$ 3,20 ^a	0,76 $\pm$ 0,03 ^a	0,66 $\pm$ 0,02 ^a
IMP/GMP	28,57 $\pm$ 3,20 ^a	0,72 $\pm$ 0,02 ^a	0,74 $\pm$ 0,03 ^a
Lis + IMP/GMP	27,20 $\pm$ 1,99 ^a	0,79 $\pm$ 0,03 ^a	0,66 $\pm$ 0,02 ^a

*Os valores representam a média. Médias acompanhadas pela mesma letra, na mesma coluna, não apresentam diferença significativa ($p>0,05$) pelo teste de Tukey.. Controle (NaCl): 2,5% NaCl; Controle (KCl): 1,25% NaCl e 1,25% KCl; Lis: 1,25% NaCl, 1,25% KCl e 1% lisina; IMP/GMP: 1,25% NaCl, 1,25% KCl, 300 mg/kg inosinato dissódico e 300 mg/kg guanilato dissódico; Lis + IMP/GMP: 1,25% NaCl, 1,25% KCl, 1% lisina, 300 mg/kg inosinato dissódico e 300 mg/kg guanilato dissódico.

3.2 Análises microbiológicas

As características microbiológicas dos salames com reduzido teor de sódio são mostradas na Tabela 4. As BAL apresentaram um rápido desenvolvimento, atingindo no 3º dia de fabricação uma contagem superior a 8,0 Log UFC.g⁻¹, mantendo-se praticamente sem alterações até o final da fabricação. O crescimento das BAL observado neste trabalho foi muito semelhante aos dados encontrados por Del Nobile et al. (2009), Fernández-López et al. (2008) e Gonzáles-Fernández et al. (2006), podendo ser considerado normal para este tipo de produto cárneo.

As micrococaceas apresentaram um crescimento de aproximadamente 2 ciclos logarítmicos durante os primeiros sete dias de fabricação e após foram gradualmente reduzidas. Este comportamento tem sido relatado na literatura como um fenômeno natural a estes microrganismos, visto que a queda do pH e da concentração de oxigênio são fatores limitantes de seu desenvolvimento (Roig-Sagués et al, 1999; Lisazo et al., 1999).

Os valores iniciais de coliformes totais foram baixos e não se detectou a presença de coliformes fecais, evidenciando a boa qualidade higiênico-sanitária da matéria-prima (Tabela 4). Os coliformes totais foram progressivamente eliminados em todos os tratamentos durante a fabricação, fato atribuído a baixa resistência destes microrganismos a acidificação (González-Fernández et al, 2006; Lisazo et al., 1999).

Tabela 4. Contagens microbiológicas (Log UFC.g⁻¹) dos salames com reduzido teor de sódio

	Dias	Controle (NaCl)	Controle (KCl)	Lis	IMP/GMP	Lis + IMP/GMP
Bactérias ácido lácticas	0	6,13±0,05 ^a	6,09±0,05 ^a	6,18±0,05 ^a	6,18±0,03 ^a	6,14±0,10 ^a
	3	8,40±0,02 ^{ab}	8,66±0,02 ^a	8,28±0,04 ^b	8,65±0,05 ^a	8,56±0,12 ^a
	7	8,52±0,16 ^a	8,58±0,17 ^a	8,70±0,04 ^a	8,65±0,06 ^a	8,63±0,05 ^a
	14	8,20±0,05 ^a	8,31±0,08 ^a	8,22±0,04 ^a	8,10±0,07 ^a	8,05±0,05 ^a
	21	8,27±0,05 ^a	8,24±0,09 ^a	8,22±0,04 ^a	8,25±0,14 ^a	8,11±0,06 ^a
Micrococaceae	0	5,53±0,11 ^a	5,57±0,05 ^a	5,55±0,09 ^a	5,28±0,05 ^a	5,41±0,08 ^a
	3	6,35±0,08 ^b	6,54±0,09 ^{ab}	6,74±0,03 ^a	6,64±0,06 ^a	6,75±0,02 ^a
	7	7,06±0,07 ^a	6,78±0,08 ^a	6,79±0,18 ^a	6,93±0,24 ^a	6,74±0,18 ^a
	14	6,35±0,02 ^a	6,57±0,11 ^a	6,58±0,02 ^a	6,32±0,19 ^a	6,34±0,07 ^a
	21	6,09±0,06 ^a	6,18±0,05 ^a	6,01±0,07 ^a	6,04±0,04 ^a	6,03±0,14 ^a
Coliformes totais	0	2,87±0,13 ^a	2,86±0,23 ^a	3,34±0,07 ^a	3,34±0,04 ^a	3,93±0,08 ^a
	3	3,09±0,11 ^a	2,97±0,06 ^a	2,58±0,17 ^a	2,91±0,10 ^a	2,37±0,16 ^a
	7	1,05±0,36 ^a	1,07±0,35 ^a	1,14±0,29 ^a	1,76±0,07 ^a	1,25±0,25 ^a
	14	≤1,00	≤1,00	≤1,00	≤1,00	≤1,00
	21	≤1,00	≤1,00	≤1,00	≤1,00	≤1,00

*Os valores representam a média (± desvio padrão). Médias acompanhadas pela mesma letra, na mesma linha, não apresentam diferença significativa ($p>0,05$) pelo teste de Tukey. Controle (NaCl): 2,5% NaCl; Controle (KCl): 1,25% NaCl e 1,25% KCl; Lis: 1,25% NaCl, 1,25% KCl e 1% lisina; IMP/GMP: 1,25% NaCl, 1,25% KCl, 300 mg/kg inosinato dissódico e 300 mg/kg guanilato dissódico; Lis + IMP/GMP: 1,25% NaCl, 1,25% KCl, 1% lisina, 300 mg/kg inosinato dissódico e 300 mg/kg guanilato dissódico.

3.3 Análise sensorial

Os resultados da análise sensorial são apresentados na Tabela 5. O controle (KCl) obteve para o atributo textura nota significativamente menor que os demais tratamentos, fato que está de acordo com a diminuição de dureza observada na análise instrumental do perfil de textura (Tabela 3) . Além disso, semelhante ao observado por Campagnol et al. (2011a), Gelabert et al. (2003) e Gou et al. (1996), a substituição de 50% de NaCl por KCl depreciou a qualidade sensorial dos salames ao reduzir significativamente as notas dos atributos de sabor, aroma e aceitação global. A adição isolada de lisina (Lis) ou de inosinato dissódico e guanilato dissódico (IMP/GMP) não foi suficiente para suprimir todos os defeitos sensoriais causados pela substituição de 50% do teor de NaCl por KCl. No entanto, o tratamento contendo a combinação de lisina, inosinato dissódico e guanilato dissódico (Lis + IMP/GMP) não diferiu do controle (NaCl) em nenhum atributo sensorial analisado e também apresentou uma melhora significativa em relação ao controle (KCl) dos atributos de sabor, aroma e aceitação global.

Tabela 5. Resultados da análise sensorial dos salames com reduzido teor de sódio

	Controle (NaCl)	Controle (KCl)	Lis	IMP/GMP	Lis + IMP/GMP
COR	6,30±1,34 ^a	6,21±2,03 ^a	6,68±1,66 ^a	6,31±1,88 ^a	6,38±1,69 ^a
SABOR	6,76±1,51 ^a	5,21±1,86 ^c	6,04±2,29 ^{abc}	5,41±2,49 ^{bc}	6,38±1,95 ^{ab}
AROMA	6,65±1,62 ^a	5,09±2,15 ^b	5,88±2,06 ^{ab}	5,46±2,25 ^b	6,29±2,06 ^a
TEXTURA	6,53±1,54 ^a	4,82±2,27 ^b	5,99±2,06 ^a	6,03±2,24 ^a	6,49±1,69 ^a
ACEITAÇÃO GLOBAL	6,78±1,44 ^a	4,96±1,86 ^b	5,57±2,00 ^b	5,50±2,34 ^b	6,49±1,79 ^a

*Os valores representam a média. Médias acompanhadas pela mesma letra, na mesma linha, não apresentam diferença significativa ($p>0,05$) pelo teste de Tukey.. Controle (NaCl): 2,5% NaCl; Controle (KCl): 1,25% NaCl e 1,25% KCl; Lisina: 1,25% NaCl, 1,25% KCl e 1% lisina; IMP/GMP: 1,25% NaCl, 1,25% KCl, 300 mg/kg inosinato dissódico e 300 mg/kg guanilato dissódico; Lisina + IMP/GMP: 1,25% NaCl, 1,25% KCl, 1% lisina, 300 mg/kg inosinato dissódico e 300 mg/kg guanilato dissódico.

4 Conclusão

Os resultados deste estudo indicaram que a substituição de 50% de NaCl por KCl não ocasionou alterações importantes na fermentação e desidratação, porém diminuiu a qualidade sensorial dos salames. A utilização do aminoácido lisina na concentração de 1% em combinação com os 5-ribonucleotídeos inosinato dissódico (300 mg/kg) e guanilato dissódico (300 mg/kg) suprimiu os defeitos sensoriais causados pela substituição de 50% de NaCl por KCl, permitindo a elaboração de salames seguros e sensorialmente aceitáveis com uma redução de aproximadamente 50% do teor de sódio.

Referências bibliográficas

- Antonios, T. F. T., & Macgregor, G. A. (1997). Scientific basis for reducing salt (sodium) content in food products. In Production and processing of healthy meat, poultry and fish products. Advances in meat research series, (A. M. Pearson and T. R. Dutson, eds.) pp. 84–100, Chapman and Hall, London, UK.
- AOAC (2005). Official methods of analysis (18th ed.). Washington, DC, 2005. Association of Official Analytical Chemists.
- Bidlas, E., & Lambert, R. J. W. (2008). Comparing the antimicrobial effectiveness of NaCl and KCl with a view to salt/sodium replacement. *International Journal of Food Microbiology*, 124, 98–102.
- Blesa, E., Aliño, M., Barat, J. M., Grau, R., Toldrá, F., & Pagán, M. J. (2008). Microbiology and physico-chemical changes of dry-cured ham during the post-

salting stage as affected by partial replacement of NaCl by other salts. *Meat Science*, 78, 135–142.

Bloukas, J. G., Paneras, E. D., & Fournitzis, G. C. (1997). Effect of replacing pork backfat with olive oil on processing and quality characteristics of fermented sausages. *Meat Science*, 45(2), 133–144.

Buemi, M., Senatore, M., Corica, F., Aloisi, C., Romeo, A., Tramontana, D., & Frisina, N. (2002). Diet and arterial hypertension: is the sodium ion alone important? *Medicinal Research Reviews*, 22, 419-428.

Campagnol, P. C. B., Santos, B. A., Wagner, R., Terra, N. N., Pollonio, M. A. R. (2011a). The effect of yeast extract addition on quality of fermented sausages at low NaCl content. *Meat Science*, 87(3), 290-298.

Campagnol, P. C. B., Santos, B. A., Morgano, M. A., Terra, N. N., & Pollonio, M. A. R. (2011b). Application of lysine, taurine, disodium inosinate and disodium guanylate in fermented cooked sausages with 50% replacement of NaCl by KCl. *Meat science*, 87(3), 239-243.

Campagnol, P. C. B., Fries, L. L. M., Terra, N. N., Santos, B. A., Furtado, A. S. (2007). Salame elaborado com *Lactobacillus plantarum* fermentado em meio de cultura de plasma suíno. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 27(4), 883-889.

Castano, A., Fontan, M. C. G., Fresno, J. M., Tornadijo, M. E., & Carballo, J. (2002). Survival of *Enterobacteriaceae* during processing of chorizo de cebolla, a Spanish fermented sausage, *Food Control*, 13, 107–115.

- Del Nobile, M. A., Conte, A., Incoronato, A. L., Panza, O., Sevi, A., & Marino, R. (2009). New strategies for reducing the pork back-fat content in typical Italian salami. *Meat Science*, 81, 263–269.
- Desmond, E. (2006). Reducing Salt: a Challenge for Meat industry. *Meat Science*, 74, 188-196.
- Fernández-López, J., Sendra, E., Sayas-Barberá, E., Navarro, C., & Pérez-Alvarez, J.A. (2008). Physico-chemical and microbiological profiles “salchichón” (Spanish dry-fermented sausage) enriched with orange fiber. *Meat Science*, 80, 410–417.
- Food Standards Agency (FSA). (2009). Salt reduction targets. URL: <http://www.food.gov.uk/healthiereating/salt/saltreduction>.
- Garriga, M., Hugas, M., Gou, P., Aymerich, M. T., Arnau, J., & Monfort, J. M. (1996). Technological and sensorial evaluation of *lactobacillus* strains as starter cultures in fermented sausages, *International Journal of Food Microbiology*, 32, 173–183.
- Gelabert, J., Gou, P., Guerrero, L., & Arnau, J. (2003). Effect of sodium chloride replacement on some characteristics of fermented sausages. *Meat Science*, 65, 833–839.
- Geleijnse, J. M., Witteman, J. C., Stijnen, T., Kloos, M. W., Hofman, A., & Grobbee, D. E. (2007). Sodium and potassium intake and risk of cardiovascular events and all-cause mortality: the Rotterdam study, *European Journal of Epidemiology*. 22, 763–770.

Gimeno, O., Astiasarán, I. & Bello, J. (2001). Influence of partial replacement of NaCl with KCl and CaCl₂ on microbiological evolution of dry fermented sausages. *Food Microbiology*, 18, 329-334.

Gimeno, O., Astiasarán, I., & Bello, J. (1998). A mixture of potassium, magnesium, and calcium chlorides as a partial replacement of sodium chloride in dry fermented sausages. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46, 4372–4375.

Gimeno, O., Astiasarán, I., & Bello, J. (1999). Influence of partial replacement of NaCl with KCl and CaCl₂ on texture and colour of dry fermented sausages. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47, 873–877.

González-Fernández, C., Santos, E. M., Rovira, J., & Jaime, I. (2006). The effect of sugar concentration and starter culture on instrumental and sensory textural properties of chorizo-Spanish dry-cured sausage. *Meat Science*, 74(3), 467-475.

Gou, P., Guerrero, L., Gelabert, J., & Arnau, J. (1996). Potassium chloride, potassium lactate and glycine as sodium chloride substitutes in fermented sausages and in dry-cured pork loin. *Meat Science*, 42(1), 37–48.

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

Hughes, M. C., Kerry, J. P., Arendt, E. K., Kenneally, P. M., McSweeney, P. L. H, & O'Neill, E. E. (2002) Characterization of proteolysis during the ripening of semi-dry fermented sausages, *Meat Science*, 62, 205–216.

- Ibáñez, C., Quintanilla, L., Cid, C., Astiasarán, I., & Bello, J. (1996). Dry fermented sausages elaborated with *Lactobacillus plantarum*–*Staphylococcus carnosus*. Part I: Effect of partial replacement of NaCl with KCl on the stability and the nitrosation process. *Meat Science*, 44(4), 227–234.
- Kawano, Y., Minami, J., Takishita, S. & Omae, T. (1998). Effects of potassium supplementation on office, home, and 24-h blood pressure in patients with essential hypertension. *American Journal of Hypertension*, 11(10), 1141-1146.
- Kayaardi, S., & Gök, V. (2003). Effect of replacing beef fat with olive oil on quality characteristics of turkish soudjouk (sucuk). *Meat Science*, 66, 1, 249-257.
- Kimura, M., Lu, X., Skurnick, J., Awad, G., Bogden J., Kemp, F., & Aviv, A. (2004). Potassium chloride supplementation diminishes platelet reactivity in humans. *Hypertension*, 44, 969–973.
- Lisazo, G., Chasco, J., & Beriain, M. J. (1999). Microbiological and biochemical changes during ripening of salchichón, a Spanish dry cured sausage. *Food Microbiology*, 16, 219–228.
- Macfie, H. J., Bratchell, N.; Greenhoff, K., & Vallis, L. (1989). Designs balance the effect of order of presentation and first-order carry-over effects in hall tests. *Journal of Sensory Studies*, 4, 129-148.
- Meilgaard, M., Civille, G. V., & Carr, B. T (1999). *Sensory evaluation techniques* (3rd Ed.). CRC Press Inc.

- Muguerza, E., Fista, G., Ansorena, D., Astiasarán, I., & Bloukas, J. G. (2002). Effect of fat level and partial replacement of pork backfat with olive oil on processing and quality characteristics of fermented sausages. *Meat Science*, 61, 397–404.
- Ockerman, H. W., & Basu, L. (2007). Production and consumption of fermented meat products. In F. Toldrá (Ed.), *Handbook of fermented meat and poultry* (pp. 9–15). Iowa, USA: Blackwell Publishing
- Pérez-Alvarez, J. A., Sayas-Barberá, E., Fernández-López, J., & Aranda-Catalá, V. (1999). Physico-chemical characteristics of Spanish-type dry-cured sausage. *Food Research International*, 32, 599–607.
- Roig-Sagués, A. X., Hernández-Herrero, M. M., López-Sabater, E. I., Rodríguez-Jerez, J. J., & Mora-Ventura, M. T. (1999). Microbiological events during the elaboration of “fuet”, a Spanish ripened sausage. *European Food Research and Technology*, 209, 108–112.
- Ruusunen, M., & Puolanne, E. (2005). Reducing sodium intake from meat products. *Meat Science*, 70(3), 531-541.
- Rust, R. E. (1994). Productos Embutidos. In J. F. Price, & B. S. Schweigert, *Ciencia de La Carne y de Productos Carnicos* (pp. 415-440). Zaragoza: Acríbia.
- Stahnke, L. H., & Tjener, K. (2007). Influence of processing parameters on cultures performance. In F. Toldrá (Ed.), *Handbook of fermented meat and poultry* (pp. 187–194). Iowa, USA: Blackwell Publishing.

Vanderzant, C., & Splittstoesser, D.F. (1992). *Compendium of methods for the microbiological examination of foods*. Washington (DC): American Public Health Association.

World Health Organisation (WHO). 2003. Diet, nutrition and the prevention of chronic disease. Report of a Joint WHO/FAO Expert Consultation. Geneva, Technical Report Series No. 916.

**AMORPHOUS CELLULOSE GEL AS A FAT SUBSTITUTE IN
FERMENTED SAUSAGES**

Submetido a Meat Science

Abstract

Fermented sausages were produced with 25%, 50%, 75% or 100% of their pork back fat content replaced by amorphous cellulose gel. The sausage production was monitored with physical, chemical and microbiological analyses. The final products were submitted to a consumer study, and the volatile compounds of the final products were extracted by solid-phase microextraction and analyzed by GC/MS. The reformulated fermented sausages had significant reductions in fat and cholesterol, and the volatile compounds derived from lipid oxidation were also reduced in the final products. These results suggest that the substitution of up to 50% of the pork back fat content by amorphous cellulose gel can be accomplished without a loss of product quality, enabling the production of fermented sausages with the levels of fat and cholesterol decreased by approximately 45% and 15%, respectively.

Keywords: fermented sausages; amorphous cellulose; low fat; volatile compounds

1. Introduction

Fermented sausages are characterized by a high level of animal fat. The fat content, which initially ranges between 10% and 20%, increases to values exceeding 30% of the final product due to the dehydration that occurs during the manufacturing process (Wirth, 1989). The fat in the final product greatly influences the quality of fermented sausage. The sensory characteristics of fermented sausage are highly dependent on lipid degradation products, which change into aromatic and flavor compounds during maturation (Ordóñez, Hierro, Bruna & La Hoz, 1999). Studies with fermented sausages made with reduced fat levels have shown significant reductions in sensory acceptance (Muguerza, Fista, Ansorena, Astiasarán & Bloukas, 2002; Mendoza, García, Casas, & Selgas, 2001). In addition to loss of aroma and taste, the decrease in sensory acceptability may be associated with other properties of fat that are present in this meat product, such as appearance, tenderness, juiciness and overall palatability (Wirth, 1989).

With regard to the technological aspect of producing the sausages, fat helps control the release of moisture from the inner layer of the product, which is a necessary step for efficient fermentation and flavor development (Wirth, 1989). In addition, fat has an important role in reducing manufacturing costs because it generally has less economic value than lean meat. Moreover, the increase in fat levels lowers the weight loss during processing, which increases profits (Muguerza, Fista, Ansorena, Astiasarán & Bloukas, 2002; Papadima & Bloukas, 1999).

Fat also has an important role in the nutritional quality of meat products because it is the source of liposoluble vitamins and essential fatty acids. However, the most commonly used fat in fermented sausages has a high level of saturated fatty

acids due to its capacity to remain solid at room temperature (Terra, Terra & Terra, 2004). The high level of saturated fatty acids constitutes a major nutritional problem because governmental agencies recommend reduced saturated fat consumption as a way to reduce risk factors in the development of cardiovascular diseases (Food and Agriculture Organization/World Health Organization, 2009; British Nutrition Foundation, 2009), which are the principal cause of death in developed countries (WHO, 2009).

Therefore, from a nutritional point of view, it is necessary to reduce the level of fat in fermented sausages. However, in addition to being economically unfeasible for the meat industry, this reduction is also unacceptable due to the technological and sensory functions of this component. Therefore, the substitution of animal fat with ingredients that have similar technological functions and that retain the sensory characteristics of sausage is a promising alternative to produce a healthier fermented sausage. Amorphous cellulose, which is obtained from cereals, is an insoluble fiber that is used as a fat substitute in foods. Amorphous cellulose is free of any flavor and has no caloric value. Moreover, this ingredient can be directly incorporated in the form of a powder, or it can be added in the form of a gel (Chung & Min, 2004). Due to its high water retention capacity, amorphous cellulose increases viscosity, which confers a sensory property of succulence and a texture similar to that of fat (Torres, 2002). Amorphous cellulose has already been successfully used to reduce fat levels in cheeses, hamburgers and baking products (Warner & Inglett, 1997; Cho & Prosky, 1999).

However, the utilization of amorphous cellulose as a fat substitute in fermented sausages has not been studied until now. Therefore, the objective of this study was to

evaluate the effect of the replacement of pork back fat by amorphous cellulose on several quality parameters of fermented sausages.

2. Materials and Methods

2.1 Preparation of fermented sausages

Five treatments were used to evaluate the influence of pork back fat replaced by amorphous cellulose gel on the quality of fermented sausages. The control formulation was prepared with pork (650 g/kg), beef (200 g/kg) and pork back fat (150 g/kg) as raw materials. The modified fermented sausage samples were prepared through the substitution of 25% (CA25), 50% (CA50), 75% (CA75) or 100% (CA100) of the pork back fat content with amorphous cellulose gel. To prepare the amorphous cellulose gel, 20 g of amorphous cellulose fiber from corn (Z trim, Kienast & Kratschmer Ltd., São Paulo, Brazil) was mixed with 100 ml of distilled water. A portion of pork was ground using a 8-mm disk, and a portion of beef was ground using an 5-mm disk. The portion of pork back fat was cut into cubes of approximately 1 cm³. The following ingredients were added to the meat mixture in each treatment: sodium chloride (25 g/kg), glucose (5 g/kg), sucrose (5 g/kg), sodium nitrate (0.15 g/kg), sodium nitrite (0.15 g/kg), sodium ascorbate (0.25 g/kg), white pepper (2 g/kg), garlic (3 g/kg), nutmeg (0.02 g/kg) and Floracarn SPX culture starter (Chr. Hansen) (0.25 g/kg). The treatments were stuffed in collagen casings (diameter of 60 mm), and they were cut into slices of approximately 15 cm in length. In total, 50 pieces (approximately 200 g each) were prepared for each treatment. After being stuffed, the samples were subjected to a bath in a 20% solution of potassium sorbate and were then ripened in a laboratory ripening cabinet (Menoncin, Erechim, Brazil). The ripening cabinet was

programmed for the following conditions: 24 h at 25°C and a relative humidity (RH) of 95% followed by 15°C and 75% RH until the end of the experiment (21 d).

2.2 Physical and chemical analysis

The analyses (moisture, protein, fat, and ash contents) were performed according to the Association of Official Analytical Chemists (AOAC, 2005) at day 0 and at the end of the process (day 21). All tests were performed in triplicate using three sausage samples per treatment. The cholesterol content was determined at the end of the process (day 21) using high-performance liquid chromatography in triplicate according to the methodology described by Baggio, Miguel & Bragagnolo (2005).

The determination of pH was performed on days 0, 3, 7, 14 and 21 postproduction by homogenizing 10 g of each sample with distilled water in a sample:water ratio of 1:10. The homogenate was subjected to a pH test using a meter electrode (DM 22, Digimed, São Paulo, Brazil) for 5 min while the pH readings were performed. The water activity (A_w) was determined at days 0, 7, 14 and 21 postproduction using an Aqua lab CX-2 water-activity meter (Decagon Devices, Inc., Pullman, WA). Three sausages per batch were used to evaluate the pH and A_w , and each sample was analyzed in triplicate. The weight loss was determined by the weight difference among ten sausages per batch immediately after the stuffing process and at the end of the sausage production.

2.3 Microbiological analysis

Three sausages per batch were used to evaluate the microbiological characteristics on days 0, 3, 7, 14 and 21 postproduction according to the methodology described by Vanderzant & Splittstoesser (1992). Aliquots of 25 g were collected and homogenized with 225 ml of 0.1% peptone water (Oxoid Unipath Ltd.,

Basingtoke, Hampshire, UK). The aliquots were then serially diluted on a decimal scale. Lactic acid bacteria (LAB) were quantified using De Man, Rogosa and Sharpe (MRS) agar (Oxoid) at 37°C for 48 h. Micrococcaceae were quantified using mannitol salt agar (Oxoid) at 37°C for 48 h. The total coliforms were quantified in crystal agar neutro-bile violet-red (Oxoid) at 37°C for 24 h. Fecal coliforms were quantified in EC broth (Oxoid) at 45°C for 48 h.

2.4 Volatile compound analysis

From each treatment, three pieces of fermented sausage were separated and frozen (-18°C) after 21 d of ripening. A significant portion of each sample was cut into small cubes and ground in a domestic processor. After processing, a portion (5 g) of the homogenized sample was weighed in a 20-ml flask, which was immediately sealed with a septum of an internal face of PTFE. The sample was then subjected to extraction.

The solid-phase microextraction method described by Wagner (2008) was used to extract volatile compounds from the headspace of the fermented sausage samples. The fiber used was the mixed covering, Carboxen-PDMS (75 µm; Supelco, Bellefonte, PA, USA). During the stage of volatile compound isolation, the needle of the SPME system was placed into the flask containing the sample (via the septum) and was then exposed to the headspace. The fiber was exposed in the headspace of the sample for 45 min at a temperature of 50°C. After this period, the fiber was collected and removed from the flask. Before exposure of the fiber to the headspace, the flask containing the sample was immersed into a water bath at the same temperature as the extraction for 15 min for equilibration. The volatile compounds were thermally dissolved by inserting the fiber into the injector of a gas chromatograph.

Each analysis was recorded with a chromatogram generated by a gas chromatograph coupled to a mass spectrometer (GC/MS, Shimadzu QP-2010 Plus). The thermal desorption of the volatile compounds adsorbed on the SPME fiber was performed at a temperature of 280°C in a split/splitless type injector in splitless mode for 6 min. The fiber was left in the injector for 10 min to eliminate any memory effects. Compound separations were performed on a capillary column of fused silica CP-Wax (Chrompack Middelburg, Netherlands) with the following dimensions: internal diameter of 60 mm x 0.25 mm and a thickness of 0.25 µm at the stationary phase. Helium was used as the carrier gas under a constant flow of 1.0 ml/min. The temperature program for column heating started at 35°C, where it remained for 5 min. A 2°C/min gradient was then applied until 80°C was reached, which was followed by a second gradient of 4°C/min until 200°C was reached. This final temperature was maintained for 5 min. The GC/MS interface temperature and source of ionization were maintained at 240°C. The instrument was run in the ionization by electrons (+70 eV) mode.

A homologous series of alkanes (C6 - C24) was analyzed at the same chromatography conditions to calculate the Kovats Index (KI) of the volatile compounds. Firstly, the identification of peaks was attempted by comparing the mass spectra obtained with the mass spectra provided by the National Institute of Standards and Technology (NIST 02). Subsequently, we compared the relative retention index (Kovats Index) and the elution order of the compounds with those found in the literature (Jennings & Shibamoto, 1980; Acree & Heinrich, 2009). When available as a pure substance, the mass spectra of suspected compounds were also compared with the unknown samples to aid in identification.

2.5 Consumer study

This study protocol was approved by the Ethics in Research Committee of the University of Campinas (SP, Brazil) under number 271/2009. The consumer study was conducted by 65 untrained panelists recruited among students, faculty and staff members from the university campus whose ages ranged from 21 years to 49 years. They were asked to express their opinion of the color, aroma, taste and texture of the product. All data were recorded on a questionnaire designed to indicate the degree of likeability for each sample using a non-structured scoring scale of nine centimeters (0 = disliked extremely and 9 = liked extremely) (Meilgaard, Civille & Carr, 1999). Samples were evaluated by each consumer in a monadic order in two sessions and were presented to the panelists balancing the first-order and carry-over effects according to Macfie, Bratchell, Greenhoff & Vallis (1989).

2.6 Statistical analysis

The data were evaluated with a variance analysis (ANOVA). The averages were compared by Tukey's test at a confidence level of 5% ($p \leq 0.05$) using the SPSS statistical package (SPSS Inc., Chicago, IL, USA).

3. Results and Discussion

3.1 Physical, chemical and microbiological analyses

As expected, a significant increase in moisture and significant decreases in fat and cholesterol were observed with high levels of pork back fat replaced by amorphous cellulose gel (Table 1). The final fat content of the control was 31.53%, which is a value similar to that found in traditional fermented sausages (Mendoza, García, Casas & Selgas, 2001; Hierro, Hoz & Ordóñez, 1997). When compared to the control formulation, the fat contents for the CA25, CA50, CA75 and CA100 treatments

at the end of the process were reduced by 33.91%, 45.64%, 53.88% and 75.87%, respectively. The cholesterol content in the control (55.98 mg/100 g) was similar to the cholesterol content of commercial fermented sausages as reported by Baggio, Miguel & Bragagnolo (2006). After the pork back fat was substituted with amorphous cellulose gel, the cholesterol levels were reduced by 9.66%, 13.87%, 24.40% and 30.78% in the CA25, CA50, CA75 and CA100 treatments, respectively, when compared to the control formulation. These fat and cholesterol values in the reformulated fermented sausages reflected healthier nutritional properties when compared to the control treatment, which was representative of commercial samples sold for consumption.

Table 1. Chemical composition and cholesterol levels of the fermented sausages manufactured by substituting pork back fat with amorphous cellulose gel.

	Days	Control	CA25	CA50	CA75	CA100
Moisture (%)	0	62.48±0.29 ^{d,*}	62.80±0.21 ^d	65.31±0.23 ^c	68.47±0.23 ^b	71.66±0.50 ^a
	21	36.58±0.03 ^e	41.38±0.12 ^d	42.68±0.10 ^b	42.19±0.17 ^c	45.80±0.10 ^a
Protein (%)	0	16.22±0.17 ^a	16.00±0.45 ^{ab}	15.41±0.14 ^{bc}	15.16±0.27 ^c	16.59±0.28 ^a
	21	28.00±0.69 ^b	27.95±1.77 ^b	30.03±0.30 ^{ab}	31.72±0.36 ^a	32.39±0.99 ^a
Fat (%)	0	15.51±0.05 ^a	12.30±0.37 ^b	10.27±0.38 ^c	8.91±0.18 ^d	3.85±0.06 ^e
	21	31.53±0.09 ^a	20.84±1.34 ^b	17.14±0.71 ^c	14.54±0.69 ^d	7.61±0.17 ^e
Ash (%)	0	3.24±0.06 ^b	2.84±0.07 ^d	3.07±0.01 ^c	3.14±0.02 ^{bc}	3.36±0.01 ^a
	21	5.29±0.04 ^{ab}	4.88±0.07 ^d	5.10±0.03 ^c	5.19±0.04 ^{bc}	5.40±0.03 ^a
Cholesterol (mg/100 g)	21	55.98±1.53 ^a	50.57±0.91 ^b	48.22±0.47 ^b	42.32±3.66 ^c	38.75±1.25 ^c

*Values represent the mean (± standard deviation). Means accompanied by the same letter on the same line do not present a statistically significant difference ($p > 0.05$) according to Tukey's test. The following treatments were used: Control, which contained 65% pork, 20% beef and 15% pork back fat; CA25, which contained a 25% substitution of pork back fat with amorphous cellulose gel; CA50, which contained a 50% substitution of pork back fat with amorphous cellulose gel; CA75, which contained a 75% substitution of pork back fat with amorphous cellulose gel; and CA100, which contained a 100% substitution of pork back fat with amorphous cellulose gel.

The weight loss and evolution of Aw and pH values during the processing of fermented sausages made with amorphous cellulose gel in place of pork back fat are presented in Table 2. Studies that have evaluated fat reduction in fermented sausages processed under conditions similar to the conditions used in this study have reported an increase in weight loss resulting in decreased fat content (Bloukas, Paneras & Fournitzis., 1997; Papadima & Bloukas, 1999, Muguerza, Fista, Ansorena & Bloukas, 2002; Liaros, Katsanidis & Bloukas, 2009). In the present study, there was a significant increase in weight loss in treatments with 75% and 100% substitutions of pork back fat with amorphous cellulose gel when compared to the control formulation (Table 2). Olivares, Navarro, Salvador & Flores (2010) reported that the increase in weight loss is related to the use of a temperature exceeding 20°C during the initial phase of fermentation.

Table 2. The pH, Aw and weight loss (WL) values of the fermented sausages manufactured by substituting pork back fat with amorphous cellulose gel.

	Days	Control	CA25	CA50	CA75	CA100
pH	0	5.71±0.04 ^{b.*}	5.84±0.06 ^a	5.83±0.11 ^a	5.80±0.04 ^a	5.70±0.05 ^b
	3	5.05±0.11 ^{ab}	5.13±0.04 ^a	5.09±0.09 ^{ab}	5.07±0.08 ^{ab}	4.93±0.05 ^b
	7	4.81±0.02 ^{ab}	4.79±0.01 ^b	4.76±0.03 ^b	4.72±0.04 ^c	4.67±0.04 ^c
	14	4.76±0.02 ^a	4.70±0.02 ^{ab}	4.64±0.06 ^{bc}	4.65±0.05 ^{bc}	4.58±0.02 ^c
	21	4.77±0.02 ^a	4.75±0.01 ^{ab}	4.70±0.04 ^{bc}	4.68±0.04 ^c	4.65±0.04 ^c
Aw	0	0.998±0.002 ^a	0.997±0.002 ^a	0.996±0.001 ^a	0.997±0.002 ^a	0.994±0.002 ^a
	7	0.981±0.002 ^a	0.985±0.005 ^a	0.983±0.003 ^a	0.984±0.004 ^a	0.981±0.001 ^a
	14	0.949±0.002 ^a	0.947±0.004 ^a	0.951±0.012 ^a	0.945±0.012 ^a	0.946±0.004 ^a
	21	0.914±0.008 ^a	0.917±0.001 ^a	0.914±0.005 ^a	0.907±0.008 ^a	0.906±0.008 ^a
W.L. (%)	21	39.21±3.55 ^b	38.40±1.87 ^b	41.32±2.10 ^{ab}	45.74±1.53 ^a	48.27±3.56 ^a

*Values represent the mean (± standard deviation). Means accompanied by the same letter on the same line do not present a statistically significant difference ($p > 0.05$) according to Tukey's test. The following treatments were used: Control, which contained 65% pork, 20% beef and 15% pork back fat; CA25, which contained a 25% substitution of pork back fat with amorphous cellulose gel; CA50, which contained a 50% substitution of pork back fat with amorphous cellulose gel; CA75, which contained a 75% substitution of pork back fat with amorphous cellulose gel; and CA100, which contained a 100% substitution of pork back fat with amorphous cellulose gel.

The A_w decreased from values close to 0.99 on day 0 to approximately 0.90 to 0.91 at the end of the manufacturing process, and the A_w was not affected by the replacement of pork back fat with amorphous cellulose gel ($p > 0.05$). Similar results have been reported for reduced-fat fermented sausages (Mendoza, García, Casas & Selgas, 2001; García, Dominguez, Galvez, Casas & Selgas, 2002; Olivares, Navarro, Salvador & Flores, 2010). The initial pH values varied between 5.70 and 5.84. After 72 h of fermentation, the pH level reached values less than 5.20 in all treatments as a consequence of the acidification caused by lactic acid bacteria (Muguerza, Fista, Ansorena & Bloukas, 2002), which is beneficial for the microbiological stability of the product (Castano, Fontan, Fresno, Tornadijo & Carballo, 2002; Garriga, Hugas, Gou, Aymerich, Arnau & Monfort, 1996; Hughes, Kerry, Arendt, Kenneally, McSweeney & O'Neill, 2002). As a result of the enzymatic activity during maturation, the pH values slightly increased at the end of the processing (day 21), reaching final pH values between 4.65 and 4.77 (González-Fernández, Santos, Jaime & Rovira, 1997; Lücke, 1994). Despite the pH changes observed in this study, which can be considered normal for this category of meat product (Marco, Navarro & Flores, 2008; Olivares, Navarro & Flores 2009; Olivares, Navarro, Salvador & Flores, 2010), some differences were observed between the control formulation and the fermented sausages with pork back fat reduction. In the treatments with 50%, 75% and 100% replacement of pork back fat by amorphous cellulose gel (CA50, CA75 and CA100), the pH values changed significantly more compared to the control, and these formulations had a lower final pH ($p < 0.05$) when compared to the control. Similar results in reduced-fat fermented sausages have been observed by Olivares, Navarro, Salvador & Flores (2010) and Soyer, Ertas & Üzümcüoglu (2003). The significantly faster growth of lactic

acid bacteria observed in the CA50, CA75 and CA100 treatments when compared to the control (Table 3) may partially explain the differences found in the pH values. Even with the differences found among the treatments, however, the growth of lactic acid bacteria observed in this study was similar to data reported by Del Nobile, Conte, Incoronato, Panza, Sevi & Marino (2009), Fernández-Lópes, Sendra, Sayas-Barberá, Navarro & Pérez-Alvarez (2008) and Gonzáles-Fernández, Santos, Rovira & Jaime (2006). Therefore, the growth of lactic acid bacteria was considered normal for this type of meat product.

The counts of Micrococcaceae during processing were similar in all treatments, with a decrease of approximately two logarithmic cycles between the beginning (day 0) and end of the postproduction period (day 21) (Table 3). This decrease has been shown to be a natural phenomenon of these microorganisms because the decreases in pH values and oxygen concentrations are limiting factors in their development (Roig-Sagués, Hernández-Herrero, López-Sabater, Rodríguez-Jerez & Mora-Ventura, 1999; Lisazo, Chasco & Beriain, 1999). The total coliforms were progressively eradicated in all treatments during the manufacturing process, and fecal coliforms were not detected, demonstrating good hygiene and sanitary quality of the raw material in addition to an adequate technological process (Table 3).

Table 3. Microbiological characteristics of the fermented sausages manufactured by substituting pork back fat with amorphous cellulose gel.

	Days	Control	CA25	CA50	CA75	CA100
Lactic acid Bacteria	0	6.59±0.20 ^a	6.71±0.18 ^a	6.60±0.15 ^a	6.53±0.09 ^a	6.57±0.09 ^a
	3	7.20±0.36 ^b	7.42±0.20 ^{ab}	7.97±0.24 ^a	7.96±0.18 ^a	7.98±0.42 ^a
	7	7.21±0.22 ^b	7.41±0.19 ^{ab}	7.98±0.19 ^a	7.90±0.50 ^a	7.97±0.30 ^a
	14	7.87±0.10 ^a	7.88±0.14 ^a	7.99±0.10 ^a	8.02±0.13 ^a	8.01±0.15 ^a
	21	8.25±0.06 ^a	8.06±0.18 ^a	8.19±0.14 ^a	8.06±0.04 ^a	8.04±0.19 ^a
Micrococaceae	0	6.07±0.30 ^a	6.30±0.15 ^a	6.18±0.22 ^a	6.19±0.08 ^a	6.08±0.15 ^a
	3	4.23±0.37 ^a	4.63±0.43 ^a	4.62±0.40 ^a	4.35±0.44 ^a	4.01±0.10 ^a
	7	3.70±0.28 ^a	3.40±0.17 ^a	3.55±0.26 ^a	3.62±0.11 ^a	3.69±0.07 ^a
	14	4.32±0.06 ^a	4.13±0.14 ^{ab}	3.79±0.25 ^b	4.01±0.34 ^{ab}	4.06±0.25 ^{ab}
	21	4.16±0.24 ^a	4.11±0.24 ^a	3.94±0.30 ^a	4.05±0.16 ^a	3.99±0.18 ^a
Total coliforms	0	3.26±0.30 ^a	3.14±0.13 ^a	3.32±0.11 ^a	3.28±0.10 ^a	3.15±0.12 ^a
	3	2.88±0.02 ^a	2.62±0.08 ^{bc}	2.59±0.08 ^c	2.63±0.09 ^{bc}	2.80±0.13 ^{ab}
	7	1.69±0.48 ^b	1.82±0.18 ^{ab}	1.89±0.23 ^{ab}	1.77±0.12 ^{ab}	2.31±0.16 ^a
	14	1.08±0.15 ^a	1.35±0.32 ^a	1.15±0.17 ^a	1.24±0.28 ^a	≤1.00
	21	≤1.00	≤1.00	≤1.00	≤1.00	≤1.00

*Values represent the mean (± standard deviation). Means accompanied by the same letter on the same line do not present a statistically significant difference ($p > 0.05$) according to Tukey's test. The following treatments were used: Control, which contained 65% pork, 20% beef and 15% pork back fat; CA25, which contained a 25% substitution of pork back fat with amorphous cellulose gel; CA50, which contained a 50% substitution of pork back fat with amorphous cellulose gel; CA75, which contained a 75% substitution of pork back fat with amorphous cellulose gel; and CA100, which contained a 100% substitution of pork back fat with amorphous cellulose gel.

3.2 Analysis of volatile compounds

The volatile compounds extracted by HS-SPME from different formulations of fermented sausages are shown in Table 4. More than 150 volatile compounds were detected. Of the 150 volatile compounds detected, 92 were identified and grouped into 10 chemical classes as follows: aldehydes (24), ketones (8), alcohols (18), acids (10), terpenes (14), esters (2), phenols (2), sulfides (9), nitriles (2) and furans (2). Aliphatic hydrocarbons (branched or unbranched) were excluded from Table 4 because they

had no relevance to odor or because they were considered contaminants (Stahnke, 1994; Stahnke, 1995; Dirinck, Van Opstaele & Vandendriessche, 1997).

The volatile compounds originating from lipid oxidation, such as saturated aliphatic aldehydes (butanal, pentanal, hexanal, heptanal and octanal), unsaturated aliphatic aldehydes (2-butenal, 2-pentenal, 2-hexenal, 2-heptenal, (E)-2-octenal, (E)-2-nonenal, (E)-2-decenal and 2,4-nonadienal), ketones (1-penten-3-one, 2,3-pentanedione and 1-octen-3-one) and alcohols (butanol, 1-penten-3-ol, pentanol, (E)-2-pentenol, hexanol, 1-octen-3-ol, heptanol and octanol), were significantly reduced in the treatments in which pork back fat was replaced by amorphous cellulose gel when compared to the control formulation. These compounds are relevant to the development of the aromatic characteristics of fermented sausages (Sun et al., 2009). When lipid oxidation occurs on a large scale, however, these volatile compounds can generate a rancid aroma, decreasing the quality of the product (Montel, Masson & Talon, 1998). Due to their low detection thresholds, aldehydes are probably the most important volatile compounds generated by lipid oxidation because they can produce a wide variety of aromas (Ordóñez, Hierro, Bruna & La Hoz, 1999). In this study, hexanal, which confers an aroma of green leaves at low concentrations (Stahnke, 1994) and a rancid aroma at high concentrations (Brunton, Cronin, Monahan & Durcan, 2000), was the most abundant aldehyde. Hexanal is produced by the oxidation of unsaturated fatty acids and is considered a good indicator of the level of lipid oxidation (Stahnke, 1995).

In the treatment with 100% replacement of pork back fat by amorphous cellulose gel (CA100), there were significant increases in the 3-methylbutanal and 2-methylbutanal compounds, which are generated from leucine and isoleucine,

respectively, relative to the control. These compounds have great aromatic importance in fermented sausages because they contribute to the characteristic cured and mature aroma (Careri, Mangia, Barbieri, Bolzoni, Virgili & Parolari, 1993; Stahnke, 1994; Bruna, Fernández, Hierro, Ordóñez & De La Hoz, 2000; Sondergaard & Stahnke, 2002). When compared to the control formulation, the CA100 treatment also had significant increases in compounds generated from the catabolism of carbohydrates, such as 2-butanone, ethanol, 2-butanol, 2.3-butanediol and 2.3-butanedione. The 2.3-butanediol and 2.3-butanedione compounds are important for the sensory quality of fermented sausages because they confer buttery and yogurt aromas, respectively (Montel, Masson & Talon, 1998). The increase in volatile compounds from the degradation of amino acids and fermentation of carbohydrates may have occurred due to the rapidly decreasing pH values and higher moisture content in the CA100 treatment compared to the control (Olivares, Navarro, Salvador & Flores, 2010).

Additionally, when compared to the control, the CA100 treatment had significant increases in the levels of sulfur compounds, such as methanethiol, 2-methylthiophene, diallyl sulfide and diallyl disulfide, which have been reported to be compounds with a high odor impact in fermented sausages (Schmidt & Berger, 1998). Moreover, these sulfur compounds are positively correlated with the cured and mature aroma of the product (Stahnke, Holck, Jensen, Nilsen & Zanardi, 2002). The CA100 treatment had significantly higher levels of the following compounds when compared to the control: ethyl acetate, propionic acid, 2-hydroxyethyl ester, 2-methylfuran, m-cresol, β -pinene, α -pinene, α -tujene, 3-carene, α -phellandrene, β -myrcene, γ -terpinene, copaene, β -caryophyllene, terpineol and α -humulene. The higher levels of these compounds in the CA100 treatment may have been due to the reduction of fat content.

Table 4. Volatile compounds of the fermented sausages manufactured by substituting pork back fat with amorphous cellulose gel.

KI-MS ¹	Compounds	I ²	Control A [±] SD [†]	CA25 A [±] SD [†]	CA50 A [±] SD [†]	CA75 A [±] SD [†]	CA100 A [±] SD [†]
Aldehydes							
707	acetaldehyde	B	6.31±0.60 ^a	5.31±0.96 ^a	4.90±0.05 ^a	4.34±0.07 ^a	4.73±0.78 ^a
816	2-methylpropanal	B	1.12±0.08 ^a	1.29±0.28 ^a	1.60±0.10 ^a	1.58±0.13 ^a	2.22±0.91 ^a
851	2-propenal	B	0.80±0.35 ^a	0.75±0.50 ^a	0.38±0.08 ^a	0.38±0.09 ^a	0.90±0.94 ^a
880	butanal	B	2.42±0.05 ^a	1.14±0.20 ^b	0.78±0.22 ^{bc}	0.15±0.22 ^c	0.67±0.70 ^{bc}
917	2-methylbutanal	B	1.32±0.04 ^b	1.16±0.24 ^b	1.71±0.08 ^{ab}	1.82±0.26 ^{ab}	3.35±1.47 ^a
922	3-methylbutanal	B	5.24±0.15 ^b	5.39±1.21 ^b	7.84±0.13 ^{ab}	8.43±1.00 ^{ab}	13.90±5.58 ^a
984	pentanal	B	63.73±4.45 ^a	19.19±4.27 ^b	11.29±4.31 ^{bc}	2.32±0.44 ^c	4.99±0.01 ^c
1051	2-butenal	C	1.65±0.22 ^a	0.80±0.12 ^b	0.65±0.07 ^b	0.55±0.02 ^b	0.75±0.18 ^b
1090	hexanal	A	225.94±42.32 ^a	62.88±21.61 ^{bc}	74.42±13.77 ^b	8.17±1.18 ^c	30.29±9.61 ^{bc}
1102	(E) 2-methyl-2-butenal	B	0.11±0.01 ^c	4.13±0.87 ^a	3.08±1.00 ^{ab}	1.11±0.16 ^{bc}	3.82±2.00 ^{ab}
1140	2-pentenal	B	2.91±0.81	ND	ND	ND	ND
1188	heptanal	B	15.68±0.00	ND	ND	ND	ND
1207	3-methyl-2-butenal	B	0.55±0.24 ^a	0.06±0.04 ^b	ND	0.28±0.10 ^b	0.39±0.03 ^{ab}
1223	(E)2-hexenal	B	3.44±0.49 ^a	0.64±0.21 ^b	0.30±0.16 ^b	ND	ND
1288	octanal	A	8.27±0.00 ^a	ND	1.33±0.00 ^b	0.35±0.00 ^c	1.46±0.00 ^b
1329	2-heptenal	B	10.74±2.08 ^a	2.08±0.11 ^b	1.62±0.00 ^b	ND	ND
1393	nonanal	A	5.27±1.84 ^a	0.89±0.27 ^b	1.16±0.25 ^b	0.70±0.11 ^b	4.67±0.94 ^a
1406	2,4-hexadienal	B	0.59±0.06	ND	ND	ND	ND
1432	(E)2-octenal	B	1.91±0.46 ^a	0.28±0.12 ^b	0.34±0.11 ^b	ND	0.17±0.01 ^b
1499	2,4-heptadienal	B	0.73±0.14	ND	ND	ND	ND
1531	benzaldehyde	A	1.98±0.44 ^{ab}	1.18±0.12 ^b	1.40±0.13 ^{ab}	1.29±0.30 ^b	3.06±1.27 ^a
1541	(E)2-nonenal	B	0.74±0.10	ND	ND	ND	ND
1652	(E)2-decenal	B	0.56±0.15	ND	ND	ND	ND
1714	2,4-nonadienal	B	0.18±0.05	ND	ND	ND	ND
Ketones							
822	acetone	A	6.67±0.43 ^a	5.43±1.38 ^a	10.00±1.77 ^a	7.12±0.17 ^a	9.10±3.04 ^a
908	2-butanone	A	4.77±0.25 ^b	4.74±1.30 ^b	6.31±0.11 ^{ab}	6.20±0.56 ^{ab}	10.09±3.98 ^a
987	2,3-butanedione	C	ND	ND	3.09±2.91 ^{ab}	1.97±0.48 ^b	4.56±2.23 ^a
1028	1-pentene-3-one	B	0.99±0.07	ND	ND	ND	ND
1072	2,3-pentanedione	B	0.88±0.12 ^a	0.22±0.10 ^b	0.22±0.07 ^b	ND	0.23±0.09 ^b
1292	3-hydroxy-2-butanone	A	8.39±3.81 ^a	3.17±0.49 ^b	4.85±0.41 ^{ab}	4.66±0.26 ^{ab}	8.03±0.16 ^a
1302	1-octen-3-one	A	2.19±0.90 ^a	0.37±0.09 ^b	0.22±0.10 ^b	ND	0.25±0.11 ^b
1309	1-hydroxy-2-propanone	C	0.58±0.13 ^a	0.34±0.01 ^a	0.50±0.03 ^a	0.53±0.02 ^a	0.63±0.04 ^a
Alcohols							
935	2-propanol	A	0.18±0.02 ^b	0.17±0.03 ^b	0.27±0.01 ^a	ND	ND
942	ethanol	A	3.99±0.13 ^c	2.49±0.45 ^d	5.34±0.09 ^b	4.36±0.18 ^c	18.49±0.06 ^a
1033	2-butanol	A	0.14±0.00 ^b	0.18±0.03 ^b	0.13±0.01 ^b	0.14±0.03 ^b	0.40±0.06 ^a
1047	propanol	A	0.37±0.09 ^a	0.32±0.04 ^a	0.31±0.04 ^a	0.29±0.00 ^a	ND
1107	2-methylpropanol	B	ND	1.71±0.19 ^{ab}	2.00±0.57 ^a	0.74±0.10 ^b	1.46±0.57 ^{ab}
1163	butanol	A	1.35±0.50 ^a	0.68±0.00 ^b	0.41±0.15 ^b	0.32±0.03 ^b	ND
1173	1-penten-3-ol	B	3.52±0.18 ^a	1.05±0.04 ^b	0.64±0.00 ^c	ND	ND
1217	3-methylbutanol	A	2.26±0.28 ^{ab}	1.71±0.13 ^b	2.77±0.76 ^a	2.36±0.00 ^{ab}	1.92±0.12 ^{ab}
1256	3-methyl-3-buten-1-ol	B	0.59±0.02 ^a	0.44±0.04 ^a	0.77±0.14 ^a	0.72±0.02 ^a	0.64±0.07 ^a
1259	pentanol	A	13.41±2.12 ^a	4.98±0.31 ^b	4.10±0.97 ^b	1.90±0.00 ^c	3.13±0.26 ^{bc}
1318	(E)2-pentanol	B	0.13±0.03	ND	ND	ND	ND
1331	3-methyl-2-butenol	B	ND	0.59±0.00 ^b	1.85±0.49 ^a	1.55±0.03 ^a	1.56±0.07 ^a
1359	hexanol	A	10.02±1.34 ^a	7.54±0.75 ^b	4.88±0.45 ^c	2.87±0.26 ^d	3.25±0.24 ^{cd}
1450	1-octen-3-ol	B	1.38±0.31	ND	ND	ND	ND
1456	heptanol	A	2.05±0.25 ^a	0.32±0.04 ^b	0.31±0.02 ^b	0.24±0.03 ^b	0.33±0.07 ^b
1558	octanol	A	1.45±0.11 ^a	0.44±0.23 ^c	0.84±0.11 ^b	0.27±0.02 ^c	1.04±0.03 ^b
1582	2,3-butanediol	B	13.33±0.70 ^b	9.02±0.67 ^d	11.05±0.07 ^c	15.50±0.27 ^a	16.69±0.95 ^a
1924	phenylethyl alcohol	A	0.18±0.03 ^a	0.16±0.02 ^a	0.20±0.03 ^a	0.20±0.02 ^a	0.22±0.02 ^a
Acids							
1442	acetic acid	A	124.03±1.88 ^c	131.19±12.49 ^c	161.81±6.36 ^{ab}	168.17±4.38 ^a	145.10±12.14 ^{bc}
1537	propanoic acid	A	1.26±0.08 ^a	0.96±0.10 ^b	1.31±0.14 ^a	1.32±0.06 ^a	1.23±0.07 ^a

Amorphous cellulose gel as a fat substitute in fermented sausages

Table 4 (continued)

KI-MS ¹	Compounds	I ²	Control	CA25	CA50	CA75	CA100
			A ³ ±SD ⁴	A ³ ±SD ⁴	A ³ ±SD ⁴	A ³ ±SD ⁴	A ³ ±SD ⁴
1565	2-methylpropanoic acid	B	1.03±0.05 ^a	0.89±0.19 ^a	0.87±0.44 ^a	1.05±0.05 ^a	1.12±0.14 ^a
1626	butanoic acid	A	13.22±0.96 ^a	9.08±0.65 ^b	13.53±0.55 ^a	13.33±1.41 ^a	13.04±0.32 ^a
1668	3-methylbutanoic acid	A	1.73±0.12 ^{ab}	1.29±0.06 ^b	1.80±0.38 ^{ab}	2.17±0.33 ^a	2.10±0.06 ^a
1736	pentanoic acid	A	1.92±0.11 ^a	1.22±0.07 ^c	1.53±0.04 ^b	1.58±0.04 ^b	1.97±0.03 ^a
1842	hexanoic acid	A	9.68±1.00 ^b	6.19±0.15 ^d	7.93±0.26 ^c	8.87±0.32 ^{bc}	12.68±0.55 ^a
1949	heptanoic acid	A	0.55±0.07 ^{bc}	0.30±0.03 ^d	0.48±0.03 ^c	0.62±0.06 ^b	1.07±0.06 ^a
2058	octanoic acid	A	0.89±0.12 ^c	0.59±0.02 ^d	0.93±0.05 ^c	1.18±0.12 ^b	1.94±0.06 ^a
2159	nonanoic acid	A	0.17±0.01 ^{bc}	0.11±0.02 ^c	0.17±0.04 ^{bc}	0.22±0.03 ^b	0.47±0.01 ^a
Terpenes							
1099	β-pinene	A	1.21±0.21 ^d	1.88±0.73 ^d	3.09±0.11 ^c	4.89±0.14 ^b	7.71±0.59 ^a
1019	α-pinene	A	2.00±0.49 ^d	2.51±0.44 ^{cd}	4.87±0.78 ^{ab}	3.55±0.14 ^{bc}	5.95±0.48 ^a
1026	α-tujene	B	1.21±0.07 ^c	1.15±0.21 ^c	6.22±1.01 ^{ab}	2.33±0.19 ^{bc}	8.65±3.31 ^a
1114	sabinene	B	6.21±1.04 ^{ab}	1.28±0.48 ^b	4.18±1.02 ^b	1.65±0.01 ^b	10.80±3.93 ^a
1139	3-carene	B	8.78±1.97 ^b	6.24±1.17 ^b	9.42±2.25 ^b	10.76±0.88 ^b	17.34±3.76 ^a
1155	α-phellandrene	B	0.25±0.04 ^b	0.14±0.04 ^b	0.35±0.07 ^b	0.44±0.21 ^b	1.17±0.45 ^a
1158	β-myrcene	B	0.48±0.09 ^b	0.62±0.29 ^b	0.78±0.17 ^b	0.75±0.33 ^b	2.27±0.20 ^a
1187	limonene	A	22.08±5.38 ^a	7.55±2.52 ^b	11.11±1.58 ^b	10.02±0.82 ^b	21.92±1.11 ^a
1194	β-phellandrene	B	2.18±0.34 ^{ab}	0.46±0.13 ^c	1.53±0.42 ^b	0.66±0.25 ^c	2.62±0.37 ^a
1238	γ-terpinene	B	ND	0.12±0.02 ^b	0.57±0.11 ^b	0.30±0.02 ^b	1.68±0.48 ^a
1483	copaene	B	ND	0.22±0.03 ^c	0.41±0.10 ^{bc}	0.57±0.22 ^b	1.15±0.15 ^a
1595	β-caryophyllene	B	6.82±0.46 ^c	6.69±0.86 ^c	14.36±1.62 ^b	14.99±2.93 ^b	21.97±4.27 ^a
1606	terpineol	B	1.74±0.11 ^b	1.26±0.09 ^b	1.83±1.15 ^b	2.51±0.15 ^b	4.83±0.52 ^a
1673	α-humulene	B	0.60±0.14 ^b	0.38±0.10 ^b	1.06±0.58 ^{ab}	0.82±0.23 ^{ab}	1.39±0.13 ^a
Esters							
894	ethyl acetate	A	2.06±0.19 ^b	1.87±0.32 ^b	5.08±1.05 ^a	3.19±0.39 ^b	6.44±0.32 ^a
1352	propanoic acid 2-hydroxy-ethyl ester	B	0.64±0.03 ^b	0.40±0.05 ^b	1.15±0.05 ^b	0.86±0.02 ^b	2.32±0.80 ^a
Phenols							
2015	phenol	B	0.55±0.11 ^a	0.51±0.11 ^a	0.43±0.04 ^a	0.50±0.03 ^a	0.62±0.08 ^a
2093	m-cresol	B	0.49±0.05 ^{bc}	0.41±0.04 ^c	0.48±0.05 ^{bc}	0.56±0.04 ^b	0.74±0.05 ^a
Sulfides							
676	methanethiol	B	1.09±0.94 ^{bc}	0.32±0.05 ^c	2.60±0.71 ^a	2.37±0.03 ^{ab}	3.04±0.24 ^a
726	carbon disulfide	B	4.64±0.67 ^b	7.30±0.75 ^a	3.26±0.13 ^{bc}	3.67±1.13 ^{bc}	2.20±0.14 ^c
829	ethyl methyl sulfide	C	0.69±0.05 ^a	0.61±0.49 ^a	0.64±0.39 ^a	0.61±0.06 ^a	1.14±0.72 ^a
957	methyl allyl sulfide	B	15.03±1.94 ^b	13.54±1.62 ^b	20.07±1.81 ^{ab}	25.98±4.11 ^a	19.88±5.44 ^{ab}
1077	dimethyl disulfide	B	0.12±0.02 ^b	0.18±0.07 ^{ab}	0.22±0.04 ^a	0.19±0.00 ^{ab}	0.14±0.02 ^{ab}
1094	2-methylthiophene	C	7.68±4.61 ^c	7.45±0.71 ^c	12.43±1.47 ^c	22.18±0.46 ^b	34.09±2.11 ^a
1144	diallyl sulfide	B	7.53±0.30 ^b	6.16±0.48 ^b	10.29±2.49 ^b	17.13±1.32 ^a	18.19±4.73 ^a
1478	diallyl disulfide	B	0.60±0.05 ^c	0.58±0.11 ^c	1.06±0.11 ^b	1.27±0.08 ^b	1.75±0.19 ^a
1725	methionol	B	0.26±0.07 ^a	0.16±0.02 ^b	ND	ND	ND
Nitriles							
1298	hexanenitrile	C	0.96±0.30 ^a	0.29±0.07 ^b	0.33±0.07 ^b	0.17±0.03 ^b	0.32±0.24 ^b
1400	heptanenitrile	C	0.78±0.30 ^a	0.38±0.19 ^{ab}	0.28±0.09 ^b	0.19±0.01 ^b	0.47±0.10 ^{ab}
Furans							
873	2-methylfuran	B	2.09±0.16 ^b	1.79±0.20 ^b	2.24±0.09 ^b	2.53±0.25 ^{ab}	3.54±0.87 ^a
1228	2-pentylfuran	B	1.06±0.25 ^a	0.38±0.22 ^b	0.33±0.20 ^b	0.42±0.11 ^b	0.76±0.04 ^{ab}

* Values represent the mean (± standard deviation). Means accompanied by the same letter on the same line do not present a statistically significant difference ($p > 0.05$) according to Tukey's test. The following treatments were used: Control, which contained 65% pork, 20% beef and 15% pork back fat; CA25, which contained a 25% substitution of pork back fat with amorphous cellulose gel; CA50, which contained a 50% substitution of pork back fat with amorphous cellulose gel; CA75, which contained a 75% substitution of pork back fat with amorphous cellulose gel; and CA100, which contained a 100% substitution of pork back fat with amorphous cellulose gel.¹ KI-MS represents the ratio of experimental Kovats Index to mass spectrometry (DB-Wax; J&W Scientific, Folsom, California, USA). ²Identification reliability as follows: a, mass spectra and retention time equal to the standard (positively identified); b, mass spectra and Kovats Index in accordance with literature data; c, mass spectra in accordance with the NIST 98 library (tried to be identified). ³A is the average area $\times 10^6$ (three parts; $n = 3$), ⁴SD is the standard deviation. **ND represents not detected.

3.3 Consumer study

The results of the consumer study are presented in Table 5. No significant differences were found regarding the attributes of color, aroma, taste and texture with up to a 50% replacement of pork back fat by amorphous cellulose gel. In contrast, Mendoza, García, Casas, & Selgas (2001) evaluated fermented sausages with a similar fat content reduction (50%) and found a significant decrease in the overall acceptability of fermented sausages. These results suggest the potential use of amorphous cellulose gel in fermented sausages when used as a substitute for pork back fat at 50%. With regard to the treatments of 75% and 100% substitution (CA75 and CA100), the texture values were significantly lower than those of the control treatment. The decreased texture values may be due to the increase in hardness caused by lower amounts of fat, as shown by Olivares, Navarro, Salvador & Flores (2010) and Mendoza, García, Casas, & Selgas (2001), or they may be due to the difference in texture between pork back fat and amorphous cellulose gel. In the treatment with 100% replacement of pork back fat by amorphous cellulose gel (CA100), the evaluations were significantly more positive for aromatic attributes than those obtained for the control. This result may have been due to decreased volatile compounds resulting from lipid oxidation and increased volatile compounds resulting from the fermentation of carbohydrates and amino acid catabolism compared to the control (Table 4).

Table 5. Consumer acceptability of color, aroma, taste and texture of the fermented sausages manufactured by substituting pork back fat with amorphous cellulose gel.

	Control	CA25	CA50	CA75	CA100
COLOR	6.49±1.7 ^a	6.38±1.88 ^a	6.08±1.84 ^a	6.02±1.48 ^a	6.28±1.31 ^a
AROMA	5.26±1.12 ^b	5.87±2.12 ^{ab}	5.97±1.87 ^{ab}	5.95±1.06 ^{ab}	6.26±1.35 ^a
TASTE	6.19±1.67 ^a	6.37±1.80 ^a	6.01±1.99 ^a	6.16±1.41 ^a	6.24±1.38 ^a
TEXTURE	6.51±1.88 ^a	6.84±1.73 ^a	6.17±2.07 ^{ab}	5.38±2.50 ^b	4.34±2.10 ^b

*Values represent the mean (± standard deviation). Means accompanied by the same letter on the same line do not present a statistically significant difference ($p > 0.05$) according to Tukey's test. The following treatments were used: Control, which contained 65% pork, 20% beef and 15% pork back fat; CA25, which contained a 25% substitution of pork back fat with amorphous cellulose gel; CA50, which contained a 50% substitution of pork back fat with amorphous cellulose gel; CA75, which contained a 75% substitution of pork back fat with amorphous cellulose gel; and CA100, which contained a 100% substitution of pork back fat with amorphous cellulose gel.

4. Conclusion

The results obtained in this study indicate that amorphous cellulose gel can be used to substitute up to 50% of the pork back fat content in fermented sausages. At this level of substitution, the evaluated quality attributes were not decreased, which allows the production of healthier fermented sausages due to a decrease in the fat and cholesterol levels by approximately 45% and 15%, respectively. To achieve greater reductions in fat and cholesterol, further studies aiming to reduce the texture defects and to increase the weight loss observed with the replacement of 75% of the pork back fat by amorphous cellulose gel in fermented sausages will be required.

References

Acree, T. E., & Heinrich, A. (2009). Tastenet and human odor space, Gas chromatography-olfactometry (GC-O) of natural products, <<http://tastenet.org/tastenet.html>>.

- AOAC. (1990). *Official methods of analysis*, Washington, D.C.: Association of Official Analytical Chemist.
- Baggio, S. R., Miguel, A. M. R., & Bragagnolo, N. (2005). Simultaneous determination of cholesterol oxides, cholesterol and fatty acids in processed turkey meat products, *Food Chemistry*, 89, pp. 475–484.
- Baggio, S.R., Miguel, A. M. R., & Bragagnolo, N. (2006). Cholesterol oxide, cholesterol, total lipid and fatty acid contents in processed meat products during storage, *LWT*, 39, 513–520.
- Bloukas, J. G., Paneras, E. D., & Fournitzis, G. C. (1997). Effect of replacing pork backfat with olive oil on processing and quality characteristics of fermented sausages. *Meat Science*, 45(2), 133–144.
- British Nutrition Foundation (2009). Nutrient requirements and recommendations, <<http://www.nutrition.org.uk/upload/CVD%20pdf%20for%20website.pdf>>.
- Bruna, J. M., Fernández, M., Hierro, E. M., Ordóñez, J. A., & De La Hoz, L. (2000). Combined use of pronase E and a fungal extract (*penicillium aurantiogriseum*) to potentiate the sensory characteristics of dry fermented sausages. *Meat Science*, 54, 135-145.
- Brunton, N. P., Cronin, D. A., Monahan, F. J., & Durcan, R., (2000). A comparison of solid-phase microextraction (SPME) fibers for measurement of hexanal and pentanal in cooked turkey. *Food Chemistry*, 68, 339–345.
- Careri, M., Mangia, A., Barbieri, G., Bolzoni, L., Virgili, R., & Parolari, G. (1993). Sensory property relationships to chemical data of Italian-type dry-cured ham. *Journal of Food Science*, 58, 968-972.

- Castano, A., Fontan, M. C. G., Fresno, J. M., Tornadijo, M. E., & Carballo, J. (2002). Survival of *Enterobacteriaceae* during processing of chorizo de cebolla, a Spanish fermented sausage, *Food Control*, 13, 107–115.
- Cho, S. S., & Prosky, L. (1999). Application of complex carbohydrates to food product fat mimetics'. In S.S. Cho, L. Prosky, & M. Dreher (Eds.), *Complex carbohydrates in foods* (pp.422-429). New York: Marcel Dekker Inc.
- Chung, H. J., & Min, D. B. (2004). *Developments in fat replacers*, Boca Raton: CRC Press, Inc.
- Del Nobile, M. A., Conte, A., Incoronato, A. L., Panza, O., Sevi, A., & Marino, R. (2009). New strategies for reducing the pork back-fat content in typical Italian salami. *Meat Science*, 81, 263–269.
- Dirinck, P., Van Opstaele, F., & Vandendriessche, F. (1997). Flavour differences between Northern and Southern European cured hams. *Food Chemistry*, 59, 511-521.
- Fernández-López, J., Sendra, E., Sayas-Barberá, E., Navarro, C., & Pérez-Alvarez, J. A. (2008). Physico-chemical and microbiological profiles of “salchichón” (Spanish dry-fermented sausage) enriched with orange fiber. *Meat Science*, 80, 410–417.
- García, M. L., Dominguez, R., Galvez, M. D., Casas, C., & Selgas, M. D. (2002). Utilization of cereal and fruit fibres in low fat dry fermented sausages. *Meat Science*, 60, 227–236.
- Garriga, M., Hugas, M., Gou, P., Aymerich, M. T., Arnau, J., & Monfort, J. M. (1996). Technological and sensorial evaluation of *Lactobacillus* strains as starter cultures in fermented sausages, *International Journal of Food Microbiology*, 32, 173–183.

- González-Fernández, C., Santos, E. M., Jaime, I., & Rovira, J. (1997). Utilización de cultivos iniciadores en la elaboración de chorizo y su influencia en las propiedades sensoriales. *Food Science and Technology International*, 3(1), 31-42.
- González-Fernández, C., Santos, E. M., Rovira, J., & Jaime, I. (2006). The effect of sugar concentration and starter culture on instrumental and sensory textural properties of chorizo-Spanish dry-cured sausage. *Meat Science*, 74(3), 467-475.
- Hierro, E., Hoz, L., & Ordóñez, J. A. (1997). Contribution of microbial and meat endogenous enzymes to the lipolysis of dry fermented sausages. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45(8), 2989-2995.
- Hughes, M. C., Kerry, J. P., Arendt, E. K., Kenneally, P. M., McSweeney, P. L. H., & O'Neill, E. E. (2002) Characterization of proteolysis during the ripening of semi-dry fermented sausages. *Meat Science*, 62, 205–216.
- Jennings, W., & Shibamoto, T. (1980). Evolution and application of the fused silica column. *Journal of High Resolution Chromatography*, 3, 601-608.
- Joint WHO/FAO Expert Consultation. (2003). Diet, nutrition and the prevention of chronic diseases. <http://www.who.int/hpr/NPH/docs/who_fao_expert_report.pdf>.
- Liaros, N. G., Katsanidis, E., & Bloukas, J.G. (2009). Effect of the ripening time under vacuum and packaging film permeability on processing and quality characteristics of low-fat fermented sausages. *Meat Science*, 83, 589–598.
- Lisazo, G., Chasco, J., & Beriain, M. J. (1999). Microbiological and biochemical changes during ripening of salchichón, a Spanish dry cured sausage. *Food Microbiology*, 16, 219–228.
- Lücke, F. K. (1994). Fermented meat products. *Food Research International*, 27(3), 299-307.

- Macfie, H. J., Bratchell, N., Greenhoff, K., & Vallis, L. (1989). Designs balance the effect of order of presentation and first-order carry-over effects in hall tests. *Journal of Sensory Studies*, 4, 129-148.
- Marco, A., Navarro, J. L., & Flores, M. (2008). The sensory quality of dry fermented sausages as affected by fermentation stage and curing agents. *European Food Research and Technology*, 226, 449-458.
- Meilgaard, M., Civille, G. V., & Carr, B. T (1999). *Sensory evaluation techniques* (3rd Ed.). Boca Raton: CRC Press, Inc.
- Mendoza, E., García, M. L., Casas, C., & Selgas, M. D. (2001). Inulin as fat substitute in low fat, dry fermented sausages. *Meat Science*, 57, 387-393.
- Montel, M. C., Masson, F., & Talon, R., (1998). Bacterial role in flavor development. *Meat Science*, 49(Suppl.1), S111-S123.
- Muguerza, E., Fista, G., Ansorena, D., Astiasarán, I., & Bloukas, J. G. (2002). Effect of fat level and partial replacement of pork backfat with olive oil on processing and quality characteristics of fermented sausages. *Meat Science*, 61, 397-404.
- Olivares, A., Navarro, J. L., & Flores, M. (2009). Establishment of the contribution of volatile compounds to the aroma of fermented sausages at different stages of processing and storage. *Food Chemistry*, 115, 1464-1472.
- Olivares, A., Navarro, J. L., Salvador, A., & Flores, M. (2010). Sensory acceptability of slow fermented sausages based on fat content and ripening time. *Meat Science*, 86, 251-257.
- Ordóñez, J. A., Hierro, E. M., Bruna, J. M., & de la Hoz, L. (1999). Changes in the components of dry-fermented sausages during ripening. Critical Review in *Food Science and Nutrition*, 39(4), 329-367.

- Papadima, S. N., & Bloukas, J. G. (1999). Effect of fat level and storage conditions on quality characteristics of traditional Greek sausages. *Meat Science*, 51, 103–113.
- Roig-Sagués, A. X., Hernández-Herrero, M. M., López-Sabater, E. I., Rodríguez-Jerez, J. J., & Mora-Ventura, M. T. (1999). Microbiological events during the elaboration of “fuet”, a Spanish ripened sausage. *European Food Research and Technology*, 209, 108–112.
- Schmidt, S., & Berger, R. G. (1998). Aroma compounds in fermented sausages of different origins. *Food Science and Technology-LWT*, 31, 559–567.
- Sondergaard, A. K., & Stahnke, L. H. (2002). Growth and aroma production by *Staphylococcus xylosus*, *S. carnosus* and *S. equorum* – a comparative study in model systems. *International Journal of Food Microbiology*, 75, 99-109.
- Soyer, A., Ertas, A. H., & Üzümcüoğlu, Ü. (2003). Effect of processing conditions on the quality of naturally fermented Turkish sausages (sucuks). *Meat Science*, 69, 135–141.
- Stahnke, L. H. (1994). Aroma components from dried sausages fermented with *Staphylococcus xylosus*. *Meat Science*, 38, 39-53.
- Stahnke, L. H. (1995). Dried sausages fermented with *Staphylococcus xylosus* at different temperatures and with different ingredient levels – II. Volatile Compounds. *Meat Science*, 41, 193-209.
- Stahnke, L. H., Holck, A., Jensen, A., Nilsen, A., & Zanardi, E. (2002). Maturity acceleration by *Staphylococcus carnosus* in fermented sausage – relationship between maturity and taste compounds. *Journal of Food Science*, 67, 1914-1921.
- Sun, W., Zhao, H., Zhao, Q., Zhao, M., Yang, B. and Wu, N., & Qian, Y. (2009). Structural characteristics of peptides extracted from Cantonese sausage during

- drying and their antioxidant activities. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 10(4), 558–563.
- Terra, N. N., Terra, A. B. de M., & Terra, L. de M. (2004). *Defeitos nos produtos cárneos: origens e soluções*. (1^a. ed.). São Paulo: Varela.
- Torres, E. A. F. S. (2002). *Alimentos do milênio: a importância dos transgênicos, funcionais e fitoterápicos para a saúde*. São Paulo: Signus Editora.
- Vanderzant, C., & Splittstoesser, D. F. (1992). *Compendium of methods for the microbiological examination of foods*. Washington (DC): American Public Health Association.
- Wagner, R. (2008). Composição de voláteis e aroma de salames nacionais tipos Italiano e Milano [Volatile composition and flavour of Italian and Milan types dry fermented sausages produced in Brazil]. Doctorate thesis, Universidade Estadual de Campinas, Campinas.
- Warner, K., & Inglett, G. E. (1997). Flavor and texture characteristics of foods containing Z-trim corn and oat fibers as fat and flour replacers. *Cereal Foods World*, 42 (10), 821–825.
- Wirth, F. (1989). Technologies for making fat-reduce meat products. What possibilities are there? *Fleischwirtschaft*, 68(9), 1153–1156.
- World Health Organization (2009). Preventing chronic diseases: a vital investment, http://www.who.int/features/factfiles/global_burden/en/index.html.

**EFEITO DA REDUÇÃO DE GORDURA E ADIÇÃO DE FIBRA DE SOJA NA QUALIDADE
DE SALAMES**

Pendente de ser enviado a Meat Science



Resumo

Salames com uma redução de 15 para 10% de toucinho na formulação e adicionados de 1 e 2% de fibra de soja foram produzidos. Durante a fabricação, parâmetros físico-químicos e microbiológicos foram avaliados. No produto final foi realizado um teste sensorial de aceitação e os compostos voláteis foram extraídos por microextração em fase sólida e analisados por CG-EM. Os salames modificados apresentaram uma redução final de gordura de aproximadamente 40% e não se verificou alterações no processo de fabricação, no entanto, o nível de 2% de fibra de soja depreciou a qualidade sensorial. Os compostos voláteis provenientes da oxidação lipídica foram reduzidos e os voláteis oriundos do catabolismo de carboidratos e aminoácidos foram aumentados nos salames modificados. Concluiu-se que salames com características mais saudáveis podem ser produzidos sem prejuízo a qualidade através da redução de 15 para 10% de toucinho e adição de 1% de fibra de soja.

Palavras-chave: Salame, fibra de soja, redução de gordura

1. Introdução

O salame é considerado um produto nobre da indústria cárnea, permitindo significativa agregação de valor à matéria-prima. Após passar por etapas de fermentação e desidratação, este produto adquire características sensoriais extremamente agradáveis, as quais satisfazem os mais exigentes paladares. No entanto, por apresentar um teor de gordura que pode chegar a até 50% (Wirth, 1989), seu consumo não é recomendável como parte de uma dieta saudável, já que a diminuição da ingestão de gordura é apontada por entidades de saúde pública como uma forma de prevenir a ocorrência de doenças cardiovasculares (Food and Agriculture Organization/World Health Organization, 2009; British Nutrition Foundation, 2009), principal causa de morte em países desenvolvidos (WHO, 2009).

Desta forma, é extremamente importante reduzir a quantidade de gordura em salames, porém, isto representa um grande desafio para a indústria cárnea, pois conforme demonstrado por Muguerza et al. (2002) e Mendoza et al. (2001) a qualidade sensorial é reduzida quando se diminui o teor de gordura na formulação. A diminuição da qualidade sensorial pode ocorrer em consequência da depreciação dos atributos sensoriais que a gordura confere a este produto cárneo, tais como, maciez, suculência, aroma e sabor (Wirth, 1989). Além da diminuição da qualidade sensorial, a redução de gordura provoca um aumento da perda de peso durante a fabricação, elevando os custos de produção (Muguerza et al., 2002; Papadima e Bloukas, 1999).

A redução do teor de gordura e a simultânea adição de substitutos de gordura não lipídicos é uma das abordagens mais frequentemente utilizadas para reduzir gordura sem depreciar a qualidade deste produto cárneo. Neste sentido, salames com reduzido teor de gordura e de aceitável qualidade têm sido produzidos através da

utilização de diferentes fibras, como por exemplo, inulina, frutooligosacarídeos e fibras de frutas e cereais (Mendoza, et al., 2001; Salazar, García e Selgas, 2009; García et al., 2002).

Além da redução do teor de gordura, o uso de fibras como substituto de gordura confere um benefício nutricional adicional, já que o aumento do consumo de fibras dietéticas é apontado como uma forma de reduzir o risco de obesidade, doenças cardiovasculares e o surgimento de câncer de cólon (Beecher, 1999; Desmedt e Jacobs, 2001).

A fibra de soja é obtida a partir dos componentes celulósicos e não celulósicos da parede celular do grão da soja. Este ingrediente possui 16% de fibra solúvel e 59% de fibra insolúvel, o que proporciona os benefícios fisiológicos ligados ao consumo de fibras dietéticas (Vetter, 1984). A fibra de soja já foi utilizada para enriquecer nutricionalmente produtos de panificação (Rebolledo et al., 1999) e também foi utilizada como substituto de gordura em produtos cárneos emulsionados (Cofrades et al., 2000), porém, o potencial de aplicação da fibra de soja como substituto de gordura em salames até o momento não foi estudado.

Desta forma, este trabalho tem por objetivo verificar o efeito da redução de gordura e adição de fibra de soja sobre as características de qualidade de salames.

2. Material e métodos

2.1 Elaboração dos salames

Três tratamentos foram elaborados para avaliar a influência da redução de gordura e adição de fibra de soja sobre as características físico-químicas, microbiológicas e sensoriais de salames. A formulação controle foi elaborada utilizando como matéria-prima carne suína (650 g/kg), carne bovina (200 g/kg) e

toucinho (150 g/kg). Já nos salames modificados utilizou-se como matéria-prima carne suína (700 g/kg), carne bovina (200 g/kg) e toucinho (100 g/kg). A carne suína foi moída em disco de 12 mm e a carne bovina em disco de 8 mm. O toucinho foi cortado com o auxílio de facas em cubos de aproximadamente 1 cm³. Os seguintes ingredientes foram adicionados a mistura cárnea em cada tratamento: cloreto de sódio (25 g/kg), glicose (5 g/kg), sacarose (5 g/kg), nitrato de sódio (0,15 g/kg), nitrito de sódio (0,15 g/kg), ascorbato de sódio (2,5 g/kg), pimenta branca (2 g/kg), alho (3 g/kg), noz moscada (0,02 g/kg) e cultura starter Floracarn SPX (Chr. Hansen) (0,25 g/kg). Nos salames com redução de gordura se adicionou a concentração de 1 e 2% de fibra de soja (Solae, São Paulo, Brasil). Os tratamentos foram embutidos em tripas artificiais de colágeno, com 60 mm de diâmetro e cortadas em peças de aproximadamente 15 cm de comprimento, totalizando 50 peças de aproximadamente 200 g para cada tratamento. Após o embutimento, as peças foram submetidas a um banho em solução de sorbato de potássio 20% e encaminhadas para a câmara climatizada, com temperatura e umidade relativa controladas, onde permaneceram durante 21 dias. A programação de temperatura e umidade relativa (T°/UR%) foram as seguintes: primeiro dia, temperatura 25°C/U.R. 95%; segundo dia, 24°C/93%, terceiro dia, 23°C/90%, quarto dia, 22°C/85%, quinto dia, 21°C/80%, sexto dia, 20°C/75% e do sétimo até o vigésimo primeiro dia, 18°C/75%.

2.2 Análises físico-químicas

O conteúdo de umidade foi determinado através da secagem em estufa a 105 °C $\pm$ 2 °C; o conteúdo de nitrogênio foi determinado pelo método de Kjeldahl e o teor de proteína estimado pela multiplicação do conteúdo de nitrogênio por 6,25; o teor de lipídeos foi determinado pelo método de Soxhlet usando éter de petróleo; o teor de

cinzas foi determinado pela incineração em mufla a 550 °C (AOAC, 1990). As determinações do conteúdo de umidade, proteína, lipídeos e cinzas foram realizadas no início (dia 0) e no final da fabricação (dia 21). A atividade de água (A_w) foi determinada no início (dia 0) e com 7, 14 e 21 dias de fabricação utilizando o aparelho Testo 400 CE (Testo GMBH & CO., Lenzkirch, Germany). A determinação do pH foi realizada homogeneizando-se dez gramas de amostra com água destilada (1:10 amostra/água). O homogeneizado foi submetido aos eletrodos do pHmetro (DM 22, Digimed, São Paulo, Brasil) por cinco minutos, quando foi procedida a leitura do pH. A determinação do pH foi realizada no início (dia 0) e com 3, 7, 14 e 21 dias de fabricação. Foram utilizados três salames por tratamento para a realização das análises da composição centesimal, pH e A_w . A determinação da cor foi realizada pelo aparelho Minolta Chroma Meter CR-300 (Minolta Câmera Co. Ltda, Osaka, Japan) no início e no final da fabricação. Os resultados foram expressos como L^* (brilho), a^* (índice vermelho) e b^* (índice amarelo). Cinco salames por tratamento foram utilizados para a determinação de cor, sendo que para cada salame os parâmetros de cor foram avaliados em quatro pontos da parte central de três fatias. A perda de peso foi determinada pela diferença de peso existente entre dez salames por tratamento no momento do embutimento (dia 0) e após o produto acabado.

2.3 Análises microbiológicas

Características microbiológicas dos salames foram avaliadas no dia 0 e com 3, 7, 14 e 21 dias de fabricação conforme metodologia descrita por Vanderzant e Splisttoesser (1992). Alíquotas de 25 gramas foram coletadas e então homogeneizadas com 225 mL de água peptonada 0,1% (Oxoid Unipath Ltda., Basingtoke, Hampshire, UK) e diluídas serialmente em escala decimal. Bactérias

ácido lácticas (BAL) foram quantificadas utilizando-se ágar De Man Rogosa Sharpe (Oxoid) (37°C/48 horas), Micrococaceas em Manitol Salt Agar (Oxoid) (37°C/48 horas), coliformes totais em ágar cristal violeta-vermelho neutro-bile (Oxoid) (37°C/24 horas) e coliformes fecais em caldo EC (Oxoid) (45°C/48 horas). Para a realização das análises microbiológicas foram utilizados três salames por tratamento.

2.4 Análise dos compostos voláteis

2.4.1 Preparo das amostras e extração

De cada tratamento foram separadas três peças de salame, as quais foram congeladas logo após a finalização do processo de fabricação (dia 21). Assim, uma porção representativa de cada amostra foi cortada em pequenos cubos e moída em processador de uso doméstico. Após esse processamento, uma alíquota de 5 g da amostra homogeneizada foi pesada em um frasco de 20 mL, o qual foi imediatamente fechado com septo de face interna de PTFE, e desta forma submetido à extração.

O método de microextração em fase sólida descrito por Wagner (2008) foi utilizado para a extração dos compostos voláteis do headspace das amostras de salame. A fibra empregada neste estudo foi a de revestimento misto Carboxen-PDMS (75 µm; Supelco, Bellefonte, PA, USA). Antes de começar as análises, a fibra de SPME foi condicionada conforme recomendado pelo fabricante.

Durante a etapa do isolamento dos voláteis, a agulha do sistema de SPME foi introduzida no frasco contendo a amostra através do septo e, então, exposta no headspace. O tempo de exposição da fibra no headspace da amostra foi de 45 minutos a temperatura de 50°C e, logo após o término deste período, a fibra foi recolhida e removida do frasco. Antes da exposição da fibra no headspace, o frasco com a amostra foi imerso em banho-maria na mesma temperatura de extração por um

tempo de equilíbrio de 15 minutos. Os compostos voláteis foram dessorvidos termicamente pela inserção da fibra no injetor do cromatógrafo a gás.

2.4.2 Análises cromatográficas e identificação dos compostos voláteis

Os extratos foram analisados em um cromatógrafo à gás acoplado a um espectrômetro de massas (Shimadzu QP-2010 *Plus*). A dessorção térmica dos compostos voláteis adsorvidos na fibra de SPME foi realizada a uma temperatura de 260°C, em um injetor do tipo split/splitless no modo splitless, por 6 min. A fibra foi mantida no injetor por 10 min para eliminar o efeito memória. A separação dos compostos foi realizada em uma coluna capilar de sílica fundida CP-Wax (Chrompack Middelburg, The Netherlands) de 60 m x 0,25 mm de diâmetro interno e 0,25 µm de espessura de fase estacionária. Hélio foi utilizado como gás de arraste, sob vazão constante de 1,0 mL.min⁻¹. A temperatura do detector de ionização de chama foi mantida a 250°C. A programação de temperatura de aquecimento da coluna iniciou-se a 35°C e foi mantida por 5 min, em seguida, iniciou-se uma rampa de 2°C.min⁻¹ até atingir 80°C, depois uma segunda rampa de 4°C.min⁻¹ até 200°C, mantida por 5 min. A temperatura da interface GC/MS e fonte de ionização foram de 240°C. O instrumento foi operado no modo de ionização por elétrons (+70 eV) com varredura de 35 a 350 m/z.

Para a identificação, inicialmente foi calculado os índices de retenção dos compostos (Índices de Kovats - IK) em relação a uma série homóloga de alcanos (C6-C24) analisada nas mesmas condições cromatográficas em que foram analisadas as amostras. Os compostos foram, primeiramente, tentativamente identificados pela comparação da similaridade dos espectros de massas obtidos com aqueles fornecidos pela biblioteca do *National Institute of Standards and Technology* (NIST

02). Posteriormente foram comparados os índices de retenção relativa (Índice de Kovats) e a ordem de eluição dos compostos com aqueles encontrados na literatura (Jennings e Shibamoto, 1980; Acree e Heinrich, 2009). Quando disponíveis como substância pura, os espectros de massas dos analitos e dos padrões também foram comparados e então considerados positivamente identificados.

2.5 Análise sensorial

Este protocolo de estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Estadual de Campinas sob o número 271/2009. Todos os provadores assinaram um termo de consentimento livre e esclarecido concordando em participar voluntariamente das análises sensoriais. Foi realizado um teste sensorial de aceitação utilizando-se uma escala hedônica não estruturada de nove centímetros, variando de desgostei muitíssimo (nota 0) a gostei muitíssimo (nota 9). Assim, os atributos de cor, aroma, sabor e textura das amostras foram avaliados por 60 consumidores de salame recrutados entre estudantes, funcionários e professores da Unicamp, com idades entre 20 e 55 anos (Meilgaard et al., 1999). As amostras foram avaliadas por cada consumidor de forma monádica e a ordem de apresentação seguiu um delineamento balanceado conforme descrito por Macfie et al. (1989).

2.6 Análise estatística

Os dados foram avaliados através de análise de variância (ANOVA) e as médias comparadas pelo teste de Tukey, considerando o nível de significância de 5% ($p \leq 0,05$), utilizando o pacote estatístico SPSS (SPSS Inc., Chicago, IL, USA).

3. Resultados e discussão

3.1 Análises físico-químicas

A Tabela 1 mostra os resultados da composição centesimal dos salames com reduzido teor de gordura e adicionados de fibra de soja. No início da fabricação os tratamentos FS1 e FS2 apresentaram um teor de umidade significativamente maior e um teor de gordura significativamente menor que o controle, fato atribuído ao maior teor de carne magra destas formulações. Além disso, o teor de cinzas foi significativamente maior nos tratamentos FS1 e FS2 devido a adição da fibra de soja. O teor de gordura final do controle foi de 31,53%, valor semelhante ao encontrado em salames tradicionais (Mendoza et al., 2001; Fernández et al., 1995). Já os tratamentos FS1 e FS2 apresentaram um teor de gordura no final do processamento de 19,21 e 19,96%, respectivamente, o que representa uma redução de gordura de aproximadamente 40%.

Tabela 1. Composição centesimal dos salames com redução de gordura e adição de fibra de soja

	Dias	Controle	FS1	FS2
Umidade	0	62,48±0,29 ^{b,*}	64,92±0,31 ^a	64,32±0,24 ^a
	21	36,58±0,03 ^c	38,75±0,18 ^b	41,20±0,11 ^a
Proteínas	0	16,44±0,45 ^a	16,76±0,16 ^a	17,03±0,21 ^a
	21	28,00±0,69 ^b	32,14±1,39 ^a	31,10±0,30 ^a
Gordura	0	15,51±0,05 ^a	10,24±0,10 ^b	10,42±0,17 ^b
	21	31,53±0,09 ^a	19,21±0,59 ^b	16,96±0,60 ^c
Cinzas	0	3,04±0,06 ^c	3,58±0,07 ^b	3,98±0,03 ^a
	21	4,29±0,04 ^c	5,18±0,07 ^b	5,46±0,03 ^a

*Os valores representam a média (± desvio padrão). Médias acompanhadas pela mesma letra, na mesma linha, não apresentam diferença significativa ($p>0,05$) pelo teste de Tukey. Controle: 65% carne suína, 20% carne bovina, 15% toucinho; FS1: 65% carne suína, 20% carne bovina, 10% toucinho, 1% fibra de soja; FS2: 65% carne suína, 20% carne bovina, 10% toucinho, 2% fibra de soja.

A evolução da A_w e do pH não foram afetadas significativamente pela redução de gordura e adição de fibra de soja (Tabela 2). A A_w decresceu de valores próximos a 0,99 no dia 0 para valores próximos a 0,90 no final do processo de fabricação, sendo esta evolução similar a observada em salames com redução de gordura (Mendonza et al., 2001; García et al., 2002; Olivares et al., 2010). Os valores iniciais de pH variaram entre 5,70 a 5,72. Após 3 dias de fermentação o pH atingiu valores inferiores a 5,2 em todos os tratamentos em consequência da acidificação causada pelas bactérias ácido lácticas (Muguerza et al., 2002). Esta rápida queda de pH é muito importante para a produção de salames de alta qualidade e segurança devido à inibição de microrganismos indesejáveis, conversão e estabilização da cor e formação de compostos desejáveis de sabor e aroma (Lücke, 1998).

Tabela 2. Valores médios ($\pm$ desvio padrão) de A_w , pH, cor (L^* , a^* e b^*) e perda de peso (P.P.) dos salames com reduzido teor de gordura e adicionados de fibra de soja

	Dia	Controle	FS1	FS2
A_w	0	0,998 $\pm$ 0,002 ^{a,*}	0,997 $\pm$ 0,002 ^a	0,997 $\pm$ 0,002 ^a
	7	0,981 $\pm$ 0,002 ^a	0,983 $\pm$ 0,003 ^a	0,983 $\pm$ 0,002 ^a
	14	0,949 $\pm$ 0,002 ^a	0,941 $\pm$ 0,014 ^a	0,931 $\pm$ 0,012 ^a
	21	0,904 $\pm$ 0,012 ^a	0,897 $\pm$ 0,006 ^a	0,898 $\pm$ 0,016 ^a
pH	0	5,71 $\pm$ 0,04 ^a	5,70 $\pm$ 0,02 ^a	5,72 $\pm$ 0,02 ^a
	3	5,05 $\pm$ 0,11 ^a	5,11 $\pm$ 0,02 ^a	5,04 $\pm$ 0,02 ^a
	7	4,81 $\pm$ 0,02 ^a	4,77 $\pm$ 0,01 ^a	4,77 $\pm$ 0,02 ^a
	14	4,73 $\pm$ 0,02 ^a	4,69 $\pm$ 0,08 ^a	4,70 $\pm$ 0,05 ^a
	21	4,77 $\pm$ 0,02 ^a	4,75 $\pm$ 0,01 ^a	4,75 $\pm$ 0,01 ^a
L^*	21	51,40 $\pm$ 2,55 ^a	51,20 $\pm$ 1,75 ^a	50,44 $\pm$ 0,97 ^a
a^*	21	19,10 $\pm$ 2,13 ^a	17,09 $\pm$ 1,79 ^a	19,20 $\pm$ 1,91 ^a
b^*	21	4,95 $\pm$ 1,59 ^a	4,10 $\pm$ 1,42 ^a	5,35 $\pm$ 1,26 ^a
P.P. (%)	21	39,21 $\pm$ 3,55 ^a	39,26 $\pm$ 3,47 ^a	40,99 $\pm$ 3,13 ^a

*Os valores representam a média ($\pm$ desvio padrão). Médias acompanhadas pela mesma letra, na mesma linha, não apresentam diferença significativa ($p>0,05$) pelo teste de Tukey. Controle: 65% carne suína, 20% carne bovina, 15% toucinho; FS1: 70% carne suína, 20% carne bovina, 10% toucinho, 1% fibra de soja; FS2: 70% carne suína, 20% carne bovina, 10% toucinho, 2% fibra de soja.

Os valores de pH apresentaram um leve aumento no final do processo de fabricação (dia 21), atingindo um pH final entre 4,75 a 4,77, fato atribuído a produção de substâncias alcalinas em decorrência da atividade enzimática durante a maturação (González-Fernández et al, 1997; Lücke, 1994). Os parâmetros de L*, a* e b* medidos no final do processamento não foram afetados pela redução de gordura e adição de fibra de soja (Tabela 2). Bloukas et al. (1997); Papadima e Bloukas (1999), Muguerza et al. (2002) e Liaros et al. (2009) relataram um aumento da perda de peso em salames com teor de gordura reduzido. Neste trabalho, apesar de ser observada uma redução final de gordura de aproximadamente 40% nos tratamentos FS1 e FS2 em relação ao controle, a perda de peso não foi significativamente aumentada (Tabela 2), o que demonstra que a fibra de soja foi eficiente para reter água no produto.

3.2 Análises microbiológicas

As contagens microbiológicas dos salames com teor de gordura reduzido e adicionados de fibra de soja são apresentadas na Tabela 3. A contagem de bactérias ácido lácticas aumentou aproximadamente 1 ciclo logarítmico em todos os tratamentos nos 3 primeiros dias de fermentação e se manteve praticamente constante até o sétimo dia. Após, as bactérias ácido lácticas apresentaram um leve aumento e mantiveram uma contagem próxima a $8,0 \text{ Log UFC.g}^{-1}$ em todos os tratamentos até o final do processamento, comportamento que está de acordo com a literatura (Toldrá, Sanz e Flores, 2001). No final do período de fabricação (dia 21) não se observou diferença significativa entre o controle e os tratamentos FS1 e FS2 na contagem de bactérias ácido lácticas.

A contagem das Micrococaceas durante a fabricação foi similar em todos os tratamentos ($p>0,05$), apresentando uma redução entre o primeiro e 21º dia de

aproximadamente 2 ciclos logarítmicos (Tabela 3). A diminuição da contagem das Micrococaceas durante a fabricação provavelmente ocorreu devido a redução do pH, já que a acidificação é considerada como a principal causa da inibição destes microrganismos em salames (Lisazo, Chasco e Beriain, 1999; Samelis et al., 1998).

Os coliformes totais foram progressivamente eliminados em todos os tratamentos durante a fabricação e não se detectou a presença de coliformes fecais, evidenciando a boa qualidade higiênico-sanitária da matéria-prima (Tabela 3). Não foram encontradas diferenças significativas na contagem de coliformes totais durante

Tabela 3. Contagens microbiológicas (Log UFC.g⁻¹) dos salames com redução de gordura e adição de fibra de soja

(%)	Dias	Controle	FS1	FS2
Bactérias ácido lácticas	0	6,59±0,20 ^a	6,71±0,10 ^a	6,70±0,13 ^a
	3	7,20±0,36 ^a	7,67±0,16 ^a	7,64±0,27 ^a
	7	7,21±0,22 ^b	7,58±0,27 ^{ab}	7,69±0,15 ^a
	14	7,87±0,10 ^b	8,24±0,09 ^a	8,02±0,10 ^b
	21	8,25±0,06 ^a	8,03±0,17 ^a	8,17±0,20 ^a
Micrococaceae	0	6,07±0,30 ^a	6,30±0,07 ^a	6,33±0,21 ^a
	3	4,23±0,37 ^a	4,25±0,16 ^a	3,96±0,45 ^a
	7	3,70±0,28 ^a	3,76±0,05 ^a	3,80±0,20 ^a
	14	4,32±0,06 ^a	4,53±0,17 ^a	4,84±0,26 ^a
	21	4,16±0,24 ^a	4,38±0,17 ^a	4,22±0,11 ^a
Coliformes totais	0	3,26±0,22 ^a	3,25±0,21 ^a	3,35±0,28 ^a
	3	2,88±0,02 ^a	3,10±0,27 ^a	2,92±0,16 ^a
	7	1,69±0,48 ^a	2,24±0,05 ^a	2,14±0,11 ^a
	14	1,08±0,15 ^a	1,08±0,15 ^a	1,15±0,79 ^a
	21	≤1,00	≤1,00	≤1,00

*Os valores representam a média (± desvio padrão). Médias acompanhadas pela mesma letra, na mesma linha, não apresentam diferença significativa (p>0,05) pelo teste de Tukey. Controle: 65% carne suína, 20% carne bovina, 15% toucinho; FS1: 70% carne suína, 20% carne bovina, 10% toucinho, 1% fibra de soja; FS2: 70% carne suína, 20% carne bovina, 10% toucinho, 2% fibra de soja. a fabricação entre o controle e os tratamentos FS1 e FS2.

3.3 Análise dos compostos voláteis

Os compostos voláteis extraídos por HS-SPME dos salames elaborados com redução de gordura e adição de fibra de soja são apresentados na Tabela 4. Foram detectados mais de 160 compostos voláteis, dos quais 95 foram identificados e agrupados em 10 classes químicas: aldeídos (20), alcoóis (19), cetonas (7), ácidos (13), sulfetos (11), fenóis (3), nitrilas (2), furanos (2), ésteres (3) e terpenos (15). Os hidrocarbonetos alifáticos (ramificados ou não) foram excluídos da Tabela 4 por não apresentarem importância odorífera ou por serem considerados contaminantes (Stahnke, 1994; Stahnke, 1995; Dirinck et al., 1997).

Os tratamentos com redução de gordura e adição de fibra de soja (FS1 e FS2) apresentaram em relação ao controle uma redução significativa de vários aldeídos de cadeia curta (butanal, pentanal, hexanal, nonenal, 2-butenal, (E)2-hexenal, 2-heptenal, 2,4-hexadienal, (E)2-octenal, 2,4-heptadienal, (E)2-nonenal, (E)2-decenal e 2,4-nonadienal). Estes compostos têm sido descritos como os responsáveis por conferir notas de ranço (Casaburi et al., 2007; Stahnke, 1999) e sua presença em salames está relacionada com a oxidação dos ácidos graxos livres liberados em consequência das reações lipolíticas durante a maturação (Ansorena et al., 2001, Toldrá, 1998). O hexanal foi o aldeído mais abundante encontrado neste trabalho e é considerado como um indicador do processo de oxidação lipídica deste tipo de produto cárneo (Ordóñez et al., 1999). Os aldeídos de cadeia ramificada 2-metilpropanal, 3-metilbutanal e 2-metilbutanal, os quais são gerados a partir da valina, leucina e isoleucina, respectivamente, foram significativamente aumentados nos tratamentos FS1 e FS2 em relação ao controle. Estes compostos têm sido descritos como de grande importância odorífera em salames, pois contribuem para o aroma de

curado e maturado característico deste produto cárneo (Careri et al., 1993; Stahnke, 1994; Bruna et al., 2000; Sondergaard e Stahnke, 2002).

Os alcoóis 2-propanol, etanol, 1-penten-3-ol, 3-metilbutanol, 3-metil-3-buten-1-ol, (E)2-pentenol, 1-octen-3-ol, heptanol, 2,3-butanodiol e 2-octen-1-ol foram encontrados em um teor significativamente menor nos tratamentos FS1 e FS2 em relação ao controle. A provável explicação para este fato é que os alcoóis normalmente presentes em salames são principalmente gerados pela redução de aldeídos (Flores et al., 2004; Ordóñez et al., 1999). Em termos de impacto no aroma, o álcool 1-penten-3-ol pode conferir notas tostadas e de cebola (Stahnke & Tjener, 2007) e os compostos 3-metilbutanol e 3-metil-3-buten-1-ol são descritos por conferir notas de fermentado e floral, respectivamente (Wagner, 2008). Já o composto 1-octen-3-ol é relacionado a notas de cogumelo, enquanto que o composto 2,3-butanodiol confere notas frutadas (Ordóñez et al., 1999).

As cetonas 2,3-pentanodiona, 3-hidroxi-2-butanona e 1-octen-3-ona foram significativamente reduzidas e a cetona 2-butanona foi significativamente aumentada nos tratamentos com redução de gordura e adição de fibra de soja (FS1 e FS2) em relação ao controle. Estas cetonas contribuem para o aroma característico de salames, pois adicionam notas de queijo (2,3-pentanodiona), manteiga (3-hidroxi-2-butanona), cogumelo (1-octen-3-ona) e fermentado (2-butanona) (Montel et al., 1998; Schmidt e Berger, 1998; Wagner, 2008).

Tabela 4. Compostos voláteis presentes no headspace dos salames com redução de gordura e adição de fibra de soja

IK-EM ¹	Composto	I ²	Controle	FS1	FS2
			A ³ ±DP ⁴	A ³ ±DP ⁴	A ³ ±DP ⁴
Aldeídos					
707	acetaldeído	B	6,31±0,60 ^{b,*}	5,01±0,20 ^b	8,49±1,23 ^a
816	2-metilpropanal	B	1,12±0,08 ^c	1,71±0,08 ^b	2,47±0,16 ^a
851	2-propenal	B	0,80±0,35 ^a	0,47±0,15 ^a	1,94±1,03 ^a
880	butanal	B	2,42±0,05 ^a	1,05±0,17 ^c	1,48±0,15 ^b
917	2-metilbutanal	B	1,32±0,04 ^b	1,68±0,07 ^a	1,91±0,18 ^a
922	3-metilbutanal	B	5,24±0,15 ^b	7,66±0,29 ^a	8,14±0,64 ^a
984	pentanal	B	63,73±4,45 ^a	22,71±0,55 ^b	27,95±4,30 ^b
1051	2-butenal	C	1,65±0,22 ^a	0,73±0,13 ^b	0,98±0,09 ^b
1090	hexanal	A	225,94±42,32 ^a	88,89±37,27 ^b	145,0±23,49 ^{ab}
1102	(E) 2-metil-2-butenal	B	0,08±0,01 ^c	6,65±2,78 ^b	13,76±3,48 ^a
1223	(E)2-hexenal	B	3,44±0,49	ND**	ND
1329	2-heptenal	B	10,74±2,08 ^a	1,16±0,57 ^b	2,43±1,08 ^b
1393	nonanal	A	5,27±1,84 ^a	1,55±0,37 ^b	2,35±0,39 ^b
1406	2,4-hexadienal	B	0,59±0,06	ND	ND
1432	(E)2-octenal	B	1,91±0,46 ^a	0,42±0,13 ^b	0,74±0,19 ^b
1499	2,4-heptadienal	B	0,73±0,14	ND	ND
1531	benzaldeído	A	1,98±0,44 ^a	1,55±0,17 ^a	2,31±0,29 ^a
1541	(E)2-nonenal	B	0,74±0,10	ND	ND
1652	(E)2-decenal	B	0,56±0,15	ND	ND
1714	2,4-nonadienal	B	0,18±0,05	ND	ND
Alcoóis					
935	2-propanol	A	0,18±0,02	ND	ND
942	etanol	A	3,99±0,13 ^a	2,21±0,10 ^b	2,36±0,07 ^b
1033	2-butanol	A	0,14±0,01 ^a	0,14±0,04 ^a	0,21±0,07 ^a
1047	propanol	A	0,37±0,09 ^a	0,20±0,03 ^b	0,24±0,01 ^{ab}
1163	butanol	A	1,35±0,50 ^{ab}	0,48±0,04 ^b	1,94±0,36 ^a
1173	1-penten-3-ol	B	3,52±0,18 ^a	0,84±0,11 ^c	1,42±0,19 ^b
1217	3-metilbutanol	A	2,26±0,28 ^a	1,53±0,04 ^b	1,78±0,18 ^b
1256	3-metil-3-buten-1-ol	B	0,59±0,02 ^a	ND	ND
1259	pentanol	A	13,41±2,12 ^a	8,77±2,94 ^a	10,79±4,22 ^a
1318	(E)2-pentenol	B	0,13±0,03	ND	ND
1331	3-metil-2-butenol	B	ND	1,28±0,14 ^a	1,48±0,90 ^a
1359	hexanol	A	10,02±1,34 ^b	8,41±0,62 ^b	15,36±2,20 ^a
1450	1-octen-3-ol	B	1,38±0,31	ND	ND
1456	heptanol	A	2,05±0,25 ^a	ND	0,63±0,14 ^b
1487	2-etilhexanol	C	0,74±0,30 ^{ab}	0,39±0,03 ^b	1,09±0,38 ^a
1546	2,3-butanodiol	B	10,94±1,78 ^a	5,50±0,72 ^b	5,26±0,61 ^b

Tabela 4 (continuação)

IK-EM ¹	Composto	I ²	Controle	FS1	FS2
			A ³ ±DP ⁴	A ³ ±DP ⁴	A ³ ±DP ⁴
1558	octanol	A	1,45±0,11 ^a	0,89±0,09 ^b	1,18±0,17 ^{ab}
1616	2-octen-1-ol	B	0,09±0,02	ND	ND
1924	álcool fenilético	A	0,18±0,03 ^a	0,17±0,03 ^a	0,19±0,00 ^a
Cetonas					
822	acetona	A	6,67±0,43 ^a	7,10±0,39 ^a	8,27±0,71 ^a
908	2-butanona	A	4,77±0,25 ^b	7,04±0,26 ^a	8,20±0,93 ^a
1028	1-penten-3-ona	B	0,29±0,07 ^a	0,17±0,29 ^a	0,22±0,37 ^a
1072	2,3-pentanodiona	B	0,88±0,12 ^a	0,27±0,04 ^b	0,42±0,07 ^b
1292	3-hidroxi-2-butanona	A	8,39±3,81 ^a	3,15±0,29 ^{ab}	1,91±1,67 ^b
1302	1-octen-3-ona	A	2,19±0,90 ^a	0,32±0,14 ^b	0,57±0,21 ^b
1309	1-hidroxi-2-propanona	C	0,38±0,34 ^a	0,45±0,02 ^a	0,56±0,18 ^a
Ácidos					
1442	ácido acético	A	124,03±1,88 ^c	171,2±2,01 ^a	158,18±4,02 ^b
1537	ácido propanóico	A	1,26±0,08 ^a	1,24±0,10 ^a	1,30±0,04 ^a
1626	ácido butanóico	A	13,22±0,96 ^a	10,75±0,68 ^b	11,99±0,38 ^{ab}
1668	ácido 3-metilbutanóico	A	1,73±0,12 ^a	1,22±0,22 ^a	1,73±0,59 ^a
1736	ácido pentanóico	A	1,92±0,11 ^a	1,28±0,11 ^b	1,61±0,17 ^{ab}
1775	ácido crotonóico	C	0,13±0,03 ^a	0,06±0,01 ^b	0,08±0,01 ^{ab}
1842	ácido hexanóico	A	9,68±1,00 ^a	6,25±0,59 ^b	7,83±0,70 ^{ab}
1944	ácido 2-etilhexanóico	C	0,07±0,01 ^a	0,05±0,01 ^a	0,06±0,00 ^a
1949	ácido heptanóico	A	0,55±0,07 ^a	0,35±0,04 ^b	0,47±0,03 ^{ab}
2058	ácido octanóico	A	0,89±0,12 ^a	0,73±0,08 ^a	0,85±0,05 ^a
2078	ácido 2-heptenóico	C	0,09±0,01	ND	ND
2084	ácido sórbico	B	3,68±0,58 ^a	3,65±0,14 ^a	3,37±0,12 ^a
2159	ácido nonanóico	A	0,17±0,01 ^a	0,10±0,02 ^b	0,15±0,02 ^a
Sulfetos					
676	metanotiol	B	1,09±0,94 ^b	2,35±0,08 ^{ab}	2,58±0,23 ^a
726	dissulfeto de carbono	B	4,64±0,67 ^a	3,35±0,50 ^b	5,11±0,24 ^a
829	etilmetilsulfeto	C	0,69±0,05 ^c	0,95±0,03 ^b	1,73±0,10 ^a
887	2-propen-1-tiol	B	1,61±0,13 ^b	2,81±0,30 ^a	2,56±0,32 ^a
957	metilalilsulfeto	B	15,03±1,94 ^b	23,11±2,28 ^a	21,96±2,15 ^a
1077	dimetildisulfeto	B	0,12±0,02 ^b	0,24±0,03 ^a	0,22±0,04 ^a
1094	2-metiltiofeno	C	7,68±4,61 ^a	7,27±0,49 ^a	8,83±0,86 ^a
1144	dialilsulfeto	B	7,53±0,30 ^a	13,77±3,41 ^a	14,34±4,28 ^a
1374	dimetiltrisulfeto	B	ND	0,06±0,05 ^a	0,07±0,01 ^a
1478	dialildisulfeto	B	0,60±0,05 ^b	1,60±0,16 ^a	1,35±0,06 ^a
1725	metionol	B	0,26±0,07 ^a	0,19±0,04 ^a	0,28±0,06 ^a

Tabela 4 (continuação)

IK-EM ¹	Composto	I ²	Controle	FS1	FS2
			A ³ ±DP ⁴	A ³ ±DP ⁴	A ³ ±DP ⁴
	Fenóis				
2015	fenol	B	0,55±0,11 ^a	0,47±0,04 ^a	0,42±0,04 ^a
2093	m-cresol	B	0,49±0,05 ^a	0,49±0,06 ^a	0,55±0,01 ^a
2100	o-cresol	B	0,51±0,05 ^a	0,55±0,08 ^a	0,53±0,05 ^a
	Nitrilas				
1011	acetonitrila	A	0,08±0,02 ^a	0,09±0,01 ^a	0,11±0,02 ^a
1400	heptanonitrila	C	0,78±0,30 ^a	0,55±0,13 ^a	0,64±0,22 ^a
	Furanos				
873	2-metilfurano	B	2,09±0,16 ^a	2,25±0,19 ^a	2,52±0,22 ^a
1228	2-pentilfurano	B	1,06±0,25 ^a	0,88±0,67 ^a	1,15±1,03 ^a
	Estéres				
894	acetato de etila	A	2,06±0,19 ^a	1,90±0,18 ^a	1,87±0,29 ^a
1081	acetato de butila	B	ND	ND	0,12±0,02
1485	sorbato de etila	C	0,07±0,06 ^a	0,07±0,01 ^a	0,07±0,06 ^a
	Terpenos				
1019	α-pineno	A	2,80±0,49 ^a	2,96±0,14 ^a	3,13±0,15 ^a
1026	α-tujeno	B	2,21±0,07 ^a	1,95±0,18 ^a	2,53±0,36 ^a
1099	β-pineno	A	2,21±0,21 ^a	2,29±0,09 ^a	2,24±0,06 ^a
1114	sabineno	B	6,21±1,04 ^a	1,76±0,22 ^a	4,71±2,90 ^a
1139	3-careno	B	8,78±1,97 ^a	6,45±1,20 ^a	9,76±2,49 ^a
1155	α-felandreno	B	0,25±0,04 ^a	0,27±0,04 ^a	0,41±0,13 ^a
1158	β-mirceno	B	0,42±0,28 ^a	0,56±0,10 ^a	0,85±0,13 ^a
1169	α-terpineno	B	0,21±0,09 ^a	0,28±0,04 ^a	0,23±0,04 ^a
1187	limoneno	A	22,08±5,38 ^a	18,07±2,94 ^a	17,81±3,05 ^a
1194	β-felandreno	B	2,18±0,34 ^a	1,21±0,55 ^a	1,89±1,30 ^a
1264	p-cimeno	B	0,11±0,04 ^a	1,27±2,20 ^a	3,06±2,66 ^a
1483	copaeno	B	0,32±0,02 ^a	0,27±0,02 ^a	0,45±0,35 ^a
1572	β-cariofileno	B	4,09±0,06 ^a	4,29±0,54 ^a	5,13±0,30 ^a
1606	4-Terpineol	B	2,74±0,11 ^a	2,03±0,16 ^b	2,65±0,11 ^a
1673	α-humuleno	B	0,60±0,14 ^a	0,53±0,15 ^a	0,84±0,33 ^a

*Os valores representam a média (± desvio padrão). Médias acompanhadas pela mesma letra, na mesma linha, não apresentam diferença significativa (p>0,05) pelo teste de Tukey. Controle: 65% carne suína, 20% carne bovina, 15% toucinho; FS1: 70% carne suína, 20% carne bovina, 10% toucinho, 1% fibra de soja; FS2: 70% carne suína, 20% carne bovina, 10% toucinho, 2% fibra de soja.¹IK-EM - Índices de Kovats experimentais para espectrometria de massas (DB-Wax; J&W Scientific, Folsom, Califórnia, USA).

²Confiabilidade da identificação – A, espectro de massas e tempo de retenção idêntico ao padrão (positivamente identificado); B, espectro de massas e Índice de Kovats em concordância com os dados da literatura; C, espectro de massas de acordo com a biblioteca NIST 98 (tentativamente identificado). ³A - área média x10⁶ (três lotes; n = 3). ⁴DV = Desvio padrão. **ND: não detectado

O ácido acético foi o ácido encontrado em maior quantidade neste trabalho e sua concentração foi significativamente maior nos tratamentos FS1 e FS2 em comparação ao controle. Este composto que é formado em decorrência do catabolismo de carboidratos é considerado de elevada importância odorífera contribuindo de uma forma geral, para o aroma de maturado (Schmidt e Berger, 1998; Marco et al., 2007).

Os tratamentos FS1 e FS2 apresentaram em comparação ao controle um aumento significativo dos compostos sulfurados etilmetilsulfeto, 2-propen-1-tiol, metilalilsulfeto, dimetilsulfeto, dimetiltrisulfeto e dialildisulfeto, os quais apresentam elevado impacto odorífero (Schmidt e Berger, 1998) e são correlacionados positivamente com o aroma de curado e maturado do produto (Stahnke et al., 2002). No entanto, cabe salientar que grandes quantidades de compostos sulfurados podem contribuir para um aroma e sabor desagradável (Flores, Spanier e Toldrá, 1998).

Neste estudo não foi observado uma grande formação de ésteres, o que pode ser atribuído a uma provável inibição das enzimas esterases devido ao pH ter atingido valores inferiores a 5,0 (Toldrá et al., 2001). Os terpenos, os quais estão presentes em salames devido aos temperos adicionados na formulação, não diferiram significativamente entre os tratamentos, bem como os fenóis, as nitrilas e os furanos.

3.4 Análise sensorial

Os resultados da avaliação sensorial dos salames formulados com redução de gordura e adição de fibra de soja são apresentados na Tabela 5. Concordando com os dados obtidos na determinação dos parâmetros de L^* , a^* e b^* (Tabela 2), a redução de gordura e a adição de fibra de soja não influenciou a cor dos salames, e também, não causou alterações no atributo de sabor. Apesar das diferenças verificadas no perfil de voláteis (Tabela 4), os consumidores não detectaram

diferenças no aroma entre o controle e os tratamentos com redução de gordura e adição de fibra de soja (FS1 e FS2). Provavelmente, os compostos voláteis gerados a partir dos condimentos adicionados na formulação prejudicaram a percepção por parte dos consumidores das diferenças encontradas instrumentalmente no perfil de voláteis. As notas para o atributo de textura foram significativamente menores para o tratamento FS2 em comparação ao controle, no entanto, não se observou diferença entre o tratamento FS1 e o controle.

Tabela 5. Resultados da análise sensorial dos salames com redução do teor de gordura e adição de fibra de soja

	Controle	FS1	FS2
COR	5,94±1,67 ^a	5,66±1,72 ^a	5,86±1,78 ^a
SABOR	5,98±2,16 ^a	6,35±1,73 ^a	6,13±2,05 ^a
AROMA	5,53±1,94 ^a	5,60±1,93 ^a	5,54±2,23 ^a
TEXTURA	6,63±1,74 ^a	6,05±1,74 ^{ab}	5,80±2,14 ^b

*Os valores representam a média ($\pm$ desvio padrão). Médias acompanhadas pela mesma letra, na mesma linha, não apresentam diferença significativa ($p>0,05$) pelo teste de Tukey. Controle: 65% carne suína, 20% carne bovina, 15% toucinho; FS1: 70% carne suína, 20% carne bovina, 10% toucinho, 1% fibra de soja; FS2: 70% carne suína, 20% carne bovina, 10% toucinho, 2% fibra de soja.

5. Conclusão

A redução de 15 para 10% de toucinho na formulação e a incorporação de 1 e 2% de fibra de soja possibilitou a redução de vários aldeídos de cadeia curta associados a oxidação lipídica e um aumento dos compostos voláteis provenientes da fermentação de carboidratos e catabolismo de aminoácidos. Além disso, estas reformulações permitiram a redução de aproximadamente 40% do teor de gordura final. A redução de gordura e adição de fibra de soja não alterou a qualidade físico-química e microbiológica dos salames, porém o nível de 2% de fibra de soja causou uma depreciação da textura. Desta forma, pode-se afirmar que salames com

características mais saudáveis e sensorialmente aceitáveis podem ser produzidos através da redução de 15 para 10% de toucinho na formulação e a incorporação de 1% de fibra de soja.

Referências

- Acree, T. E., & Heinrich, A. (2009). Tastenet and human odor space, Gas chromatography-olfactometry (GC-O) of natural products,<<http://tastenet.org/tastenet.html>>.
- Ansorena, D., Gimeno, O., Astiasarán, I., Bello, J. (2001). Analysis of volatile compounds by GC–MS of a dry fermented sausage: chorizo de Pamplona. *Food Research International*, 34 (1), 67-75.
- AOAC. (1990). *Official methods of analysis*, Washington, D.C.: Association of Official Analytical Chemist.
- Beecher, G. R. (1999). Phytonutrients' role in metabolism: effects on resistance to degenerative processes. *Nutr Ver*, 57, S3–S6.
- Bloukas, J. G., Paneras, E. D., & Fournitzis, G. C. (1997). Effect of replacing pork backfat with olive oil on processing and quality characteristics of fermented sausages. *Meat Science*, 45(2), 133–144.
- British Nutrition Foundation (2009). Nutrient requirements and recommendations,<<http://www.nutrition.org.uk/upload/CVD%20pdf%20for%20website.pdf>>.

- Bruna, J. M., Fernández, M., Hierro, E. M., Ordóñez, J. A., & De La Hoz, L. (2000). Combined use of pronase and a fungal extract (*penicillium aurantiogriseum*) to potentiate the sensory characteristics os dry fermented sausages. *Meat Science*, 54, 135-145.
- Careri, M., Mangia, A., Barbieri, G., Bolzoni, L., Virgili, R., & Parolari, G. (1993). Sensory property relationships to chemical data of Italian-type dry-cured ham. *Journal of Food Science*, 58, 968-972,
- Casaburi, A., Aristoy, M. C., Cavella, S., Di Monaco, R., Ercolini, D., Toldrá, F., et al. (2007). Biochemical and sensory characteristics of traditional fermented sausages of Vallo di Diano (Southern Italy) as affected by use of starter cultures. *Meat Science*, 76, 295-307.
- Cofrades, S., Guerra, M. A., Carballo, J., Fernandez-Martin, F., & Jimenez-Colmenero, F. (2000). Plasma protein and soy fiber content effect on bologna sausage properties as influenced by fat level. *Journal of Food Science*, 65(2), 281-287.
- Desmedt, A., & Jacobs, H. (2001). Soluble fibre, in *Guide to Functional Foods*, ed. by Young J. Leatherhead Publishing, Leatherhead, UK, pp. 112–132.
- Dirinck, P., Van Opstaele, F., & Vandendriessche, F. (1997). Flavour differences between Northern and Southern European cured hams. *Food Chemistry*, 59, 511-521.
- Fernández, M., Hoz, L., Díaz, O., Cambero, I., & Ordóñez, J. A. (1995). Effect of the addition of pancreatic lipase on the ripening of dry fermented sausages- Part.1. Microbial, Physico-chemical and lipolytic changes. *Meat Science*, 40, 159–170.

- Flores, M., Durá, M. A., Marco, A., & Toldrá, F. (2004). Effect of *Debaryomyces spp.* on aroma formation and sensory quality of dry-fermented sausages. *Meat Science*, 68, 439–446.
- Flores, M., Spanier, A. M., & Toldrá, F. (1998). Flavour analysis of dry-cured ham. In: Shahidi de F, editor. Flavor of meat, meat products and seafoods. London, UK; Backie Academic & Professional, p. 320-341.
- García, M. L., Dominguez, R., Galvez, M. D., Casas, C., & Selgas, M. D. (2002). Utilization of cereal and fruit fibres in low fat dry fermented sausages. *Meat Science*, 60, 227–236.
- González-Fernández, C., Santos, E. M., Jaime, I., & Rovira, J. (1997). Utilización de cultivos iniciadores en la elaboración de chorizo y su influencia en las propiedades sensoriales. *Food Science and Technology International*, 3(1), 31-42.
- Jennings, W., & Shibamoto, T. (1980). Evolution and application of the fused silica column. *Journal of High Resolution Chromatography*, 3, 601-608.
- Liaros, N. G., Katsanidis, E., & Bloukas, J.G. (2009). Effect of the ripening time under vacuum and packaging film permeability on processing and quality characteristics of low-fat fermented sausages. *Meat Science*, 83, 589–598.
- Lisazo, G., Chasco, J., & Beriain, M. J. (1999). Microbiological and biochemical changes during ripening of salchichón, a Spanish dry cured sausage. *Food Microbiology*, 16, 219–228.
- Lücke, F. K. (1994). Fermented meat products. *Food Research International*, 27(3), 299-307.

- Lücke, F. K. (1998). Fermented sausages. In B.J.B. Wood, Micro- biology of fermented foods, London: Blackie Academic and Professional, 2^a ed., pp. 441-483.
- Macfie, H. J., Bratchell, N.; Greenhoff, K., & Vallis, L. (1989). Designs balance the effect of order of presentation and first-order carry-over effects in hall tests. *Journal of Sensory Studies*, 4, 129-148.
- Marco, A., Navarro, J. L., & Flores, M. (2007). Quantitation of selected odor-active constituents in dry fermented sausages prepared with different curing salts. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55, 3058-3065.
- Meilgaard, M., Civille, G. V., & Carr, B. T (1999). *Sensory evaluation techniques* (3rd Ed.). Boca Raton: CRC Press, Inc.
- Mendoza, E., García, M. L., Casas, C., & Selgas, M. D. (2001). Inulin as fat substitute in low fat, dry fermented sausages. *Meat Science*, 57, 387-393.
- Montel, M. C., Masson, F., & Talon, R. (1998). Bacterial role in flavor development. *Meat Science*, 49 (1), S111–S123.
- Muguerza, E., Fista, G., Ansorena, D., Astiasarán, I., & Bloukas, J. G. (2002). Effect of fat level and partial replacement of pork backfat with olive oil on processing and quality characteristics of fermented sausages. *Meat Science*, 61, 397–404.
- Olivares, A., Navarro, J. L., Salvador, A., & Flores, M. (2010). Sensory acceptability of slow fermented sausages based on fat content and ripening time. *Meat Science*, 86, 251–257.

- Ordóñez, J. A., Hierro, E. M., Bruna, J. M., & de la Hoz, L. (1999). Changes in the components of dry-fermented sausages during ripening. *Critical Review in Food Science and Nutrition*, 39(4), 329-367.
- Papadima, S. N., & Bloukas, J. G. (1999). Effect of fat level and storage conditions on quality characteristics of traditional Greek sausages. *Meat Science*, 51, 103–113.
- Rebolledo, M. A., Sangronis, E., & Barbosa-Cánovas, G. V. (1999). Evolución de galletas dulces enriquecidas con germen de maíz y fibra de soja. *Organo Oficial de La Sociedad Latinoamericana de Nutrición*, 49 (3), 253-259.
- Salazar, P., García, M. L., & Selgas, M. D. (2009) A review Short-chain fructooligosaccharides as potential functional ingredient in dry fermented sausages with different fat levels. *International Journal of Food Science and Technology*, 44, 1100-1107.
- Samelis, J., Metaxopoulos, J., Vlassi, M., & Pappa, A. (1998). Stability and safety of traditional Greek salami e a microbiological ecology study. *International Journal of Food Microbiology*, 44, 69-82.
- Schmidt, S., & Berger, R. G. (1998). Aroma compounds in fermented sausages of different origins. *Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie*, 31, 559-567.
- Sondergaard, A. K., & Stahnke, L. H. (2002). Growth and aroma production by *Staphylococcus xylosus*, *S. carnosus* and *S. equorum* – a comparative study in model systems. *International Journal of Food Microbiology*, 75, 99-109.
- Stahnke, L. H. (1994). Aroma components from dried sausages fermented with *Staphylococcus xylosus*. *Meat Science*, 38, 39-53.

- Stahnke, L. H. (1995). Dried sausages fermented with *Staphylococcus xylosus* at different temperatures and with different ingredient levels – II. Volatile Compounds. *Meat Science*, 41, 193-209.
- Stahnke, L. H. (1999). Volatile produced by *Staphylococcus xylosus* and *Staphylococcus carnosus* during growth in sausage minces. Part I. Collection and identification. *Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie*, 32, 357-364.
- Stahnke, L. H., Holck, A., Jensen, A., Nilsen, A., & Zanardi, E. (2002). Maturity acceleration by *Staphylococcus carnosus* in fermented sausage – relationship between maturity and taste compounds. *Journal of Food Science*, 67, 1914-1921.
- Stahnke, L. H., & Tjener, K. (2007). Influence of processing parameters on cultures performance. In F. Toldrá (Ed.), *Handbook of fermented meat and poultry* (pp. 187–194). Iowa, USA: Blackwell Publishing.
- Toldrá, F., Sanz, Y., & Flores, M. (2001). Meat fermentation technology. In Y. H. Hui, W. Nip, R. W Rogers, & O. A. Young, *Meat science and applications* (pp.537-561). New York: Marcel Dekker, Inc.
- Toldrá, F. (1998). Proteolysis and lipolysis in flavour development of dry-cured meat products. *Meat Science*, 49 (1), S101–S110.
- Vanderzant, C., & Splittstoesser, D.F. (1992). *Compendium of methods for the microbiological examination of foods*. Washington (DC): American Public Health Association.
- Vetter, J. L. (1984). Fiber as a food ingredient. *Food Technology*, 38(10), 64-68.

Wagner, R. (2008). Composição de voláteis e aroma de salames nacionais tipos Italiano e Milano [Volatile composition and flavour of Italian and Milan types dry fermented sausages produced in Brazil]. Doctorate thesis, Universidade Estadual de Campinas, Campinas.

Wirth, F. (1989). Technologies for making fat-reduce meat products. What possibilities are there? *Fleischwirtschaft*, 68(9), 1153–1156.

World Health Organization (WHO) (2009). Preventing chronic diseases: a vital investment, http://www.who.int/features/factfiles/global_burden/en/index.htm.

CONCLUSÃO GERAL

Os resultados deste estudo indicaram que a substituição de 25 e 50% de NaCl por KCl não ocasionou alterações negativas na fermentação e desidratação e também não modificou o perfil de voláteis, porém o nível de 50% de substituição diminuiu a qualidade sensorial dos embutidos fermentados. Os embutidos fermentados adicionados de extrato de levedura apresentaram uma queda de pH mais rápida e menor atividade de água final, garantindo portanto maior segurança microbiológica. O extrato de levedura na concentração de 2% aumentou os voláteis provenientes da fermentação de carboidratos e do catabolismo de aminoácidos, os quais contribuíram para suprimir os defeitos sensoriais causados pelo KCl, permitindo a elaboração de embutidos fermentados seguros e sensorialmente aceitáveis com uma redução de aproximadamente 50% do teor de sódio.

Em embutidos fermentados cozidos, a utilização do aminoácido lisina a partir da concentração de 0,313% e da mistura do aminoácido taurina (750 mg/kg) com os 5-ribonucleotídeos inosinato dissódico (300 mg/kg) e guanilato dissódico (300 mg/kg) suprimiram os defeitos sensoriais causados pela substituição de 50% de NaCl por KCl. Já em embutidos fermentados, a utilização do aminoácido lisina na concentração de 1% em combinação com os 5-ribonucleotídeos inosinato dissódico (300 mg/kg) e guanilato dissódico (300 mg/kg) foi eficiente para eliminar os defeitos sensoriais causados pela substituição de 50% de NaCl por KCl. Desta forma, estas reformulações permitiram a elaboração de produtos sensorialmente aceitáveis e com características mais saudáveis por reduzir o teor de sódio em aproximadamente 50% e aumentar o teor de potássio.

O gel de celulose amorfa pode ser utilizado como substituto de até 50% do teor de toucinho em embutidos fermentados. Neste nível de substituição os atributos de qualidade avaliados não foram depreciados, permitindo, portanto, a elaboração de embutidos fermentados mais saudáveis devido à redução de aproximadamente 45 e 15% do teor de gordura e colesterol, respectivamente. Para ser atingido maiores níveis de redução de gordura e colesterol são necessários outros estudos que tenham por objetivo reduzir os defeitos relacionados a textura e ao aumento da perda de peso observados a partir da substituição de 75% de toucinho por gel de celulose amorfa.

A redução de 15 para 10% de toucinho na formulação e a incorporação de 1 e 2% de fibra de soja possibilitou a redução de vários aldeídos de cadeia curta associados a oxidação lipídica e um aumento dos compostos voláteis provenientes da fermentação de carboidratos e catabolismo de aminoácidos. Além disso, estas reformulações permitiram a redução de aproximadamente 40% do teor de gordura final. A redução de gordura e adição de fibra de soja não alterou a qualidade físico-química e microbiológica dos embutidos fermentados, porém o nível de 2% de fibra de soja causou uma depreciação da textura. Desta forma, pode-se afirmar que embutidos fermentados com características mais saudáveis e sensorialmente aceitáveis podem ser produzidos através da redução de 15 para 10% de toucinho na formulação e a incorporação de 1% de fibra de soja.