

DESENVOLVIMENTO DE SALAME PROBIÓTICO FERMENTADO COM MICROCÁPSULAS CONTENDO *LACTOBACILLUS PARACASEI PARACASEI*

Alberto Knapik¹
Matheus Teichrieb²
Marcelo Nesello³
William Lopes⁴
Paula Mattanna⁵

Resumo

A utilização de probióticos em alimentos já é uma realidade promissora no mercado, motivada pela maior procura por alimentos com alegações funcionais. Recentemente, os probióticos têm sido utilizados para elaboração de produtos cárneos, em particular, produtos que não passam por tratamentos térmicos para que as cepas encontrem um ambiente favorável para desenvolvimento. Nesse trabalho elaborou-se um salame do tipo Italiano com *Lactobacillus paracasei paracasei* microencapsulado em sistema cálcio-alginato, com o objetivo de proteger o probiótico do meio, além de manter as cepas ativas até o intestino. O processamento do salame foi realizado no laboratório de dietética da Universidade Tuiuti, O período observado foi de 25 dias entre o processamento e a maturação. O produto apresentou características típicas para o salame, tendo como diferencial a presença das microcápsulas ao seu interno. As mesmas se mantiveram íntegras dentro do produto o que indica uma boa maneira de serem veiculadas através do salame. Os embutidos apresentaram características físico-químicas e microbiológicas de acordo com as normas vigentes, sendo ela uma boa matriz alimentar para as microcápsulas probióticas, possibilitando assim o desenvolvimento de um alimento protéico com agregado valor funcional.

Palavras-chave: Probiótico. Microcápsulas. Salame.

Abstract

The use of probiotics in food is already a promising reality in the market, motivated by the greater demand for foods with functional claims. Recently, probiotics have been used for the preparation of meat products, in particular, products that do not undergo heat treatments so that the strains find a favorable environment for development. In this work an Italian-type salami with *Lactobacillus paracasei paracasei* was microencapsulated in a calcium-alginate system, with the objective of protecting the probiotic from the medium, besides keeping the strains active up to the intestine. The processing of the salami was carried out in the dietitian laboratory of Tuiuti University. The period observed was 25 days between processing and maturation. The product presented typical characteristics for the salami, having as a differential the presence of the microcapsules to the internal sei. They have remained intact within the product which indicates a good way to be broadcast through salami. The sausages presented physical-chemical and microbiological characteristics according to the current norms, being a good food matrix for the probiotic microcapsules, thus allowing the development of a protein food with added functional value.

Keywords: Probiotic. Microcapsules. Salami.

1 Acadêmicos do curso de Bacharel em Biotecnologia na Universidade Tuiuti.

2 Acadêmicos do curso de Bacharel em Biotecnologia na Universidade Tuiuti.

3 Acadêmicos do curso de Bacharel em Biotecnologia na Universidade Tuiuti.

4 Acadêmicos do curso de Bacharel em Biotecnologia na Universidade Tuiuti.

5 Docente junto à Universidade Tuiuti.

Introdução

A cada dia é maior o número de pessoas que dedicam uma atenção maior à saúde, desejando melhor qualidade de vida. Essa crescente preocupação está levando as empresas ao desenvolvimento de produtos que venham a suprir essas exigências nutricionais (TYÖPPONEN; PETÄJÄ; MATTILA-SANDHOLM, 2003).

Os probióticos contribuem ao equilíbrio microbiano da flora intestinal com efeitos benéficos à saúde (BRASIL, 2002). As atribuições benéficas referidas aos probióticos incluem ação antagônica contra micro-organismos patogênicos, melhora nos quadros de intolerância a lactose, diminuição de diarreias, prevenção do câncer de cólon e diminuição do colesterol (COOK, 2002; HEENAN, 2002). Alimentos com propriedades probióticas devem apresentar um número mínimo de células viáveis de cultura da ordem de 10^6 a 10^7 UFC/g (FAO/OMS, 2001).

Os embutidos cárneos têm a característica de possuírem baixos valores de pH e baixa atividade de água, assim como a presença de sais de cura, os quais são elementos que poderiam ser obstáculos para a sobrevivência dos probióticos, entretanto estudos demonstram ser uma prática viável (LEROY; VERLUYEN; VUYST, 2006). A idéia de uso do salame, um produto fermentado cru, obtido da mistura de carnes bovinas e suínas adicionadas de sal de cura, viabiliza a inoculação de probióticos, já que o produto não sofre tratamento térmico (BRASIL 2000, BRASIL 2002, ERKKILÄ, S., 2001).

Um modo para se aumentar a resistência do micro-organismo, durante a passagem pelo trato gastrointestinal é a microencapsulação do probiótico em uma cápsula de alginato de cálcio. No processo de microencapsulação inoculam-se substâncias que podem ser transportadas sem alteração de suas propriedades (FÁVERO-TRINDADE, 2008; MIRZAEL, 2012).

Alginatos são polímeros de alta massa molecular, lineares formados por monômeros de ácido β -D-Maurônico e ácido α -L-Gulurônico através de ligações glicosídicas $\alpha(1:4)$ (COTRELL e KOVACS, 1980).

A reação de polimerização é instantânea no momento que ocorre a adição de alginato de sódio em uma solução com cálcio, ocorre a precipitação de alginato seguido de uma geleificação gradual.

O presente trabalho teve como objetivo a elaboração de um salame com microcápsulas de probiótico (*L. paracasei paracasei*), com características funcionais e mecanicamente resistentes, afim de garantir a integridade do probiótico até seu destino.

Foram realizados testes físico-químicos de acidez titulável, pH, proteínas, lipídeos, cinzas, umidade, carboidratos e análise microbiológica de coliformes termotolerantes.

2 Materiais e métodos

2.1 Micro-organismos utilizados

Os micro-organismos utilizados no salame, foram as cepas comerciais de cultura *starter* de *Staphylococcus xylosus*, *Lactobacillus sakei*, *Staphylococcus carnosus*. Além desses, foi adicionada as microcápsulas a cultura probiótica de *L. paracasei paracasei*.

2.2 Elaborações das microcapsúlas

A elaboração das microcápsulas foi realizada pelo sistema Cálcio-Aginato, por gotejamento de uma solução de alginato de sódio em uma solução de cloreto de cálcio. O gotejamento é realizado com uma seringa, a uma distância de 7 cm a 90°, sob agitação constante. Repousando por 1 hora, lavadas e armazenadas para posterior utilização (CULPI, T.A., 2010).

2.3 Elaborações da formulação de salame probiótico

2.3.1 Formulação

Para a realização do salame probiótico, foi utilizada formulação, abaixo descrita. A Tabela 1 mostra a formulação utilizada para a elaboração do salame probiótico.

Tabela 1. Matérias primas e ingredientes utilizados na elaboração do salame probiótico desenvolvido.

Matérias-primas e ingredientes	Quantidade
Carne suína	56,31%
Carne Bovina	19%
Toucinho	19%
Sal (Cloreto de Sódio)	3,00%
Glicose	0,50%
Alho em pó	0,30%
Pimenta branca	0,20%
Noz moscada	0,02%
Nitrito de Sódio	0,02%
Nitrato de Sódio	0,00%
<i>Staphylococcus xylosus</i>	0,15%
<i>Lactobacillus sakei</i>	0,15%
<i>Staphylococcus carnosus</i>	0,15%
<i>Lactobacillus paracasei paracasei</i>	0,01%
Sacarose	0,50%

2.3.2 Processamento do Salame

As proporções de elementos não protéicos foram obtidas segundo formulações de Terra (1998) e Terra, Frios e Terra (2004). A quantidade de cultura *starter* foi à recomendada pelo comerciante. Já a da cultura probiótica foi utilizada duas gramas dissolvida em 200 ml de alginato. A massa para a fabricação de salame foi à obtida com a moagem de carnes bovina e suína, juntamente com o toucinho congelado.

Após a moagem, os condimentos e micro-organismos foram adicionados à carne, sendo manualmente massageada até a homogeneização. Uma vez todos os elementos incorporados, foram adicionadas as microcápsulas as quais foram misturadas as massas.

Posteriormente, a massa foi embutida se utilizado de tripas suínas naturais, amarradas em ambas às extremidades. Os salames foram acondicionados em uma sala limpa e ventilados para a maturação com defumação natural, ou seja, combustão da madeira, durante três dias e subsequente 25 dias da maturação.

2.4 Análises físico-químicas

As análises físico-químicas foram realizadas no 21º dia após a elaboração do salame. Foram realizadas as análises de: umidade, cinzas, proteína, lipídios, pH e acidez titulável.

A determinação de pH foi realizada através do processo eletrométrico, em potenciômetro digital devidamente calibrado com soluções tampão de pH 7,0 e 4,0. (IAL 2008). O teor de acidez total titulável nos embutidos foi indicado pelo método denominado titulométrico com solução de hidróxido de sódio 0,1N (IAL 2008).

A determinação de umidade do salame foi determinada pelo método gravimétrico com dessecação em estufa a 105° C, pesando-se 3g de amostra, conforme descrito pela AOAC (2009). A determinação do teor de cinzas foi realizada em mufla a 550°C utilizando-se 1g de amostra, conforme metodologia descrita por IAL (2008). Conforme a Tabela 2, o valor médio de teor de cinzas foi de 6,30%. A quantidade de sal utilizado na formulação do salame pode contribuir para a elevada quantidade de cinzas no produto. Em estudos realizados para a produção de salames tipo italiano, os teores de cinzas encontrados ficaram entre 3,76% a 8,84%(SANTA D., O.R,2008).

O teor de lipídios totais foi quantificado através de extração com solvente a quente. Foi utilizado éter de petróleo para extração com uso do extrator tipo Soxhlet. (CECCHI, 2003). A porcentagem de proteínas foi determinada pelo método de Kjeldahl, descrita por AOAC (2009).

A perda de peso dos embutidos durante a sua maturação e secagem foi determinada pela técnica da pesagem antes e após da maturação de cada embutido, até o momento do envase e vácuo. Os resultados foram expressos em porcentagem de perda de peso.

2.5 Análises microbiológicas

As análises microbiológicas foram realizadas com o sistema de tubos múltiplos, seriados. Para a análise de coliformes totais e termotolerantes. (ANVISA, 2001).

3 Resultados e discussões

3.1 Físico-química

De acordo com o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade, o Salame Tipo Italiano deve apresentar as seguintes características físico-químicas: Umidade (máx.) de 35%; Gordura (máx.) de 32%; Proteína (mín.) de 25% e Carboidratos Totais (máx.) de 4,0% (Brasil, 2000).

Tab.2. Resultados das análises físico-químicas.

	Análises						
	Umidade %	Cinzas %	Proteína %	Gordura %	Acidez titulável %	pH	Carboidrato %
Média	27,56	6,304	30,13	41,275	1	5,35	12,05
Desvio Padrão	1,17	0,73	0,08	0,20	0,06	0,04	1,01

O embutido apresentou valor médio de pH de 5,35, como pode ser observado na Tabela 2. Não há definição de valores de pH mínimo ou máximo permitido para salames (BRASIL, 2000), mas há um consenso para que esse valor, no produto final, não ultrapasse 5,4 (TERRA, 1998; TERRA *et al.*, 2004), para garantir sua qualidade microbiológica. O pH próximo ao ponto isoelétrico das proteínas (5,3) é importante, pois reduz a capacidade de retenção de água, favorecendo a secagem e a perda de peso pelo produto cárneo fermentado, conferindo textura firme ao produto final (BUCKENHÜSKES, 1993).

Observando-se a Tabela 2, nota-se que o valor médio de umidade ficou em 27,56%. Esses dados estão de acordo com a legislação vigente, que determina umidade em salame tipo italiano de no máximo 35%, de acordo com o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade do Salame do tipo Italiano (BRASIL, 2000).

As proteínas são importantes constituintes dos salames, tanto pelo aspecto nutricional como por suas propriedades tecnológicas. As proteínas são os principais componentes estruturais e funcionais de carnes processadas (IBÁÑEZ *et al.*, 1997).

O teor médio de proteína encontrado na amostra foi de 30,13%, está de acordo com os padrões citados no regulamento técnico, que fixa para proteínas a quantidade mínima de 25% (BRASIL 2000).

De acordo com a Tabela 2, o teor médio de gordura foi de 41,27%,ultrapassando o limite do regulamento técnico que permite apenas 32%. A desidratação que ocorre durante o processamento dos salames ocasiona a diminuição da quantidade de água, com conseqüente aumento do teor de proteínas e lipídeos (SOYER; ERTAS; ÜZÜMCÜOĞLU, 2005).

Conforme a Tabela 2, o valor médio de teor de cinzas foi de 6,30%. As cinzas são resíduo inorgânico que permanece após a queima da matéria orgânica. (VIEIRA, T., 2012).

3.3 Microcápsulas

As microcápsulas do sistema Cálcio-Alginato-Probiótico apresentaram-se esféricas, com um diâmetro de 1mn em média. Foram realizadas provas com diferentes concentrações de alginato para a mesma concentração de cálcio, 1%. As esferas mais estáveis foram obtidas com 0,5% de alginato e um volume de probiótico a fim de obter uma concentração de 10^8 UFC em unidades de massa. Em estudos realizados por Culpi *et al.*(2010), também foram observados que concentrações de 0,5% foram as ideais na análise de estabilidade das microcápsulas perante variações de pH.

Estudos mostram que o sistema Cálcio-Alginato é um dos melhores sistemas para culturas probióticas por ser eficiente e protetivo, ficando demonstrada a melhor sobrevivência em condições variadas (ANAL E STEVENS, 2005; SOHAIL *et al.*, 2011; HANSEN *et al.*, 2002).

Segundo Hansen (2002), microcápsulas maiores que um milímetro pode deixar o sensorial dos alimentos não agradável ao consumidor devido a sua textura e, valores inferiores a 100 micrometros, não protegem de maneira efetiva os probióticos da ação do suco gástrico.

Quanto ao uso de probióticos como competidores com patógenos foi verificado que o uso de microcápsulas contendo *L. Paracasei* tiveram êxito positivo na redução de *Lysteria monocitogenes* e *Escherichia coli*, com uma redução significativa do número desses patógenos em matrizes alimentares (K.PIDCOK *et al.*, 2002).

Conclusão

Neste trabalho foi produzido um salame probiótico fermentado com a utilização de microcápsulas de *L. paracasei paracasei*. A utilização de probióticos visa benefícios à saúde, dentre elas, a diminuição de diarreias, a prevenção do câncer de cólon, diminuição do colesterol e uma melhora no quadro de intolerância a lactose.

O uso de probióticos microencapsulados demonstrou ser um método eficiente para a inoculação de cepas probiótica. Portanto existe a viabilidade da utilização de *L. paracasei paracasei* microencapsulados em embutidos cárneo fermentado.

Referências

- AOAC. *Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists*. 17 ed. Gaithersburg, v.1, 2000.
- BRASIL. Instrução Normativa n. 22 de 31 de julho de 2000. *Regulamentos técnicos de identidade e qualidade de salame tipo italiano*. Publicado no Diário Oficial da União de 03 ago. 2000.
- BRASIL. Ministério da Agricultura e do Abastecimento. Instrução Normativa nº 22 de 31 de junho de 2000, Anexo V. *Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Salame*. Diário Oficial da União, Brasília, 3 ago. 2000.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e do Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Instrução Normativa nº 22, de 31 de julho de 2000. *Aprova o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Salames*. Diário Oficial da União, Brasília, 03 ago. 2000. p. 15-28
- BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. RDCº 12 de 02 de janeiro de 2001. *Regulamento Técnico Sobre Padrões Microbiológicos para Alimentos*. Brasília, 2001.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 2, de 07 de janeiro de 2002. *Aprova o Regulamento Técnico de Substâncias Bioativas e Probióticos Isolados com Alegação de Propriedades Funcional e ou de Saúde*. Diário Oficial da União, Brasília, 09 jan. 2002.
- BUCKENHÜSKES, H.J. Selection criteria for lactic acid bacteria to be used as starter cultures for various food commodities. *FEMS Microbiology Reviews*, v.12, n.1-3, p.253-271, 1993.)
- CECCHI, Heloisa M. *Fundamentos Teóricos e Práticos em Análise de Alimentos*. 2ª Edição. Editora Unicamp. Campinas-SP, 2003.
- COTRELL, I.W.; KOVACS, P. *Handbook of water soluble gums and resins*. New York: McGrawHill. 1980. Total de p. 360
- CULPI, T.A.; PASQUALIM, P.; FIN, M.T.; SASSO, D.G.B.; KAMINSKI, G.A.T.; FUJIWARA, G.M.; NUNES, P.M.P.; RODRIGUES, B.H.; DIAS, J.F.G.; ZANIN, S.M.W. Importancia de parametros de controle na elaboração de microparticulas de calcio(ca+2)-alginato. *Visao Academica*, Curitiba, v.11,n.1, Jan .2010.

- ERKKILÄ, S. et al. Dry sausage fermented by *Lactobacillus rhamnosus* strains. *International Journal of Food Microbiology, Oxford*, v.64, n. 1-2, p. 205-210, 2001a.
- FUNDUEANU, G.; NASTRUZZI, C.; CARPOV, A.; DESBRIERES, J.; RINAUDO, M.
- GARCIA, F. T.; GAGLEAZZI, U. A.; SOBRAL, P. J. A. Variação das propriedades físicas e químicas do salame tipo italiano durante secagem e fermentação. *Brazilian Journal of Food Technology, Campinas*, v. 3, n. 48, p. 151-158, 2000.
- GARCIA, F. T.; GAGLEAZZI, U. A.; SOBRAL, P. J. A. Variação das propriedades físicas e químicas do salame tipo italiano durante secagem e fermentação. *Braz. J. Food Technol. Preprint Series*, n.48, 2000.
- HEENAN, C. N.; ADAMS, M. C.; HOSKEN, R. W. Growth medium for culturing Probiotics bacteria for applications in vegetarian food products. *Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie Oxford*, v. 35, n. 2, p. 171-176, 2002.
- IBAÑEZ, C.; QUINTANILLA, L.; CID, C.; ASTIASARÁN, I.; BELLO, J. Dry fermented sausages elaborated with *Lactobacillus plantarum*– *Staphylococcus carnosus*. Parte II: Effect of partial replacement of NaCl with KCl on the proteolytic and insolubilization processes. *Meat Science*, v. 46, p. 277-284, 1997.
- K. PIDCOK, G.M. HEARD; A. HENRIKSSON, Heard, *International Journal of Food Microbiology* n.76, 75 – 81, 2002.
- LEROY, F.; VERLUYTEN, J.; VUYST, L. Functional meat starter cultures for improved sausage fermentation. *International Journal of Food Microbiology*, v. 106, n. 3, p. 270-285, 2006.
- MACEDO, Ernud Freitas; PELANZER Jr, Sergio Bertelli; TERRA, Nelcindo Nascimento; FREITAS, Joao Sossela. Desenvolvimento de embutidos fermentado por *Lactobacillus* probióticos: características de qualidade. *Ciencia e Tencologia de Alimentos* V.28 n.3, 509-519, Campinas, 2008.
- MAHONEY, M.; HENRIKSSON, A. The effect of processed meat and meat starter cultures on gastrointestinal colonization and virulence of *Listeria monocytogenes* in mice. *International Journal of Food Microbiology*, v. 84, n. 3, p. 255-261, 2003.
- MENEZES, C.R.; BARIN, J.S.; CHICOSKI, A.J.; ZEPKAL, L.Q.; LOPES, E.J.; FRIES, L.M.; TERRA, N.N. Microencapsulação de probióticos: avanços e perspectivas, *Ciência Rural*, Santa Maria, Online.2012.
- SANTA DALLA, O.R. Avaliação da qualidade de salames artesanais e seleção de culturas starter para a produção de salame tipo italiano, *Universidade Federal do Paraná* -2008.
- SOHAIL, A. et al. Survivability of probiotics encapsulated in alginate gel microbeads using a novel impinging aerosols method. *International Journal of Food Microbiology*, v.145, p.162-168, 2011.
- SOYER, A.; ERTAS, A. H.; ÜZÜMCÜOĞLU, Ü. Effect of processing conditions on the quality of naturally fermented Turkish sausages (sucukus). *Meat Science*, v. 69, p. 135-141, 2005.
- TERRA, N. N. *Apontamentos de Tecnologia de Carnes*. São Leopoldo: UNISINOS, 1998. 216 p.
- TERRA, N. N. Particularidades na fabricação do salame. *Revista Nacional da Carne*, São Paulo, n. 317, julho, 2003.
- TERRA, N. N.; BRUM, M. A. R. *Carne e seus derivados. Técnicas de controle de qualidade*. São Paulo: Nobel, 121 p. 1988.
- TERRA, N.N. *Apontamentos de tecnologia de carnes*. São Leopoldo: Unisinos, 216p, 1998.
- TONETO, E.R.L. *Desenvolvimento de embutido curado fermentado de carne de ema (Rhea americana) associada de suíno*. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia dos Alimentos) - Curso de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia dos Alimentos, Universidade Federal de Santa Maria, RS. 131f, 2007.
- MIGUEL, Vagner. *Prebióticos e Probióticos – Considerações Gerais, benefícios e cálculos práticos para pesagem em farmácia*. Nota Técnica, 2003.
- VIEIRA TELMA, A. P. Determinação de Cinzas, Universidade Federal de Campina Grande, *Centro de Ciências e Tecnologia Agroalimentar*, Campus Pombal –PB, Março de 2012.
- YÖPPÖNEN, S.T.; PETÄJÄ, E.; MAT TIL A-SANDHOLM, T. Bioprotectives and probiotics for dry sausages. *International Journal of Food Microbiology*, v. 83, n. 3, p. 233-244, 2003.
- WANG, L. S. C.; HENG, P. W. S.; CHAN, L. W. Drug encapsulation in alginate
- WIRTH, F. Technologies for making fat-reduce meat products. What possibilities are there? *Fleischwirtsch*, v.68, n.9, p.1153- 1156, 1988.