



UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE
ESCOLA DE QUÍMICA E ALIMENTOS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA E CIÊNCIA DE
ALIMENTOS

APLICAÇÃO DE TECNOLOGIA VERDE PARA EXTRAÇÃO DE COMPOSTOS
BIOATIVOS PRESENTES EM ASPARGO MARINHO (*Salicornia neei*) NO
PROCESSAMENTO DE SALAME ITALIANO

GISLAINE YUKA YOSHIKAWA DE FARIA

Dissertação apresentada como
parte dos requisitos para
obtenção do título de Mestre em
Engenharia e Ciência de
Alimentos.

PROF. DR. CARLOS PRENTICE-HERNÁNDEZ
Orientador

RIO GRANDE, RS

2020

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE
ESCOLA DE QUÍMICA E ALIMENTOS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA E CIÊNCIA DE
ALIMENTOS

APLICAÇÃO DE TECNOLOGIA VERDE PARA EXTRAÇÃO DE COMPOSTOS
BIOATIVOS PRESENTES EM ASPARGO MARINHO (*Salicornia neei*) NO
PROCESSAMENTO DE SALAME ITALIANO

GISLAINE YUKA YOSHIKAWA DE FARIA

Dissertação apresentada como
parte dos requisitos para
obtenção do título de Mestre em
Engenharia e Ciência de
Alimentos.

PROF. DR. CARLOS PRENTICE-HERNÁNDEZ
Orientador

RIO GRANDE, RS
2020

Ficha Catalográfica

F224a Faria, Gislaine Yuka Yoshikawa de.

Aplicação de tecnologia verde para extração de compostos bioativos presentes em aspargo marinho (*Salicornia neei*) no processamento de salame italiano / Gislaine Yuka Yoshikawa de Faria. – 2020.

108 f.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Rio Grande – FURG, Programa de Pós-Graduação em Engenharia e Ciência de Alimentos, Rio Grande/RS, 2020.

Orientador: Dr. Carlos Prentice-Hernández.

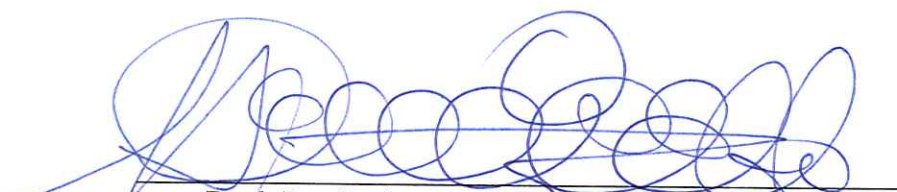
1. Halófitas 2. Plasma a Frio. 3. Ultrassom 4. Antioxidante
5. Antimicrobiano 6. Compostos fenólicos I. Prentice-Hernández, Carlos II. Título.

CDU 338.45:612.3

Catálogo na Fonte: Bibliotecário José Paulo dos Santos CRB 10/2344

APROVAÇÃO

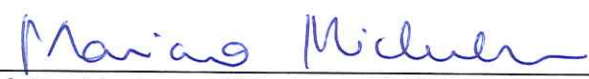
Dissertação defendida por Gislaine Yuka Yoshikawa de Faria e aprovada em 03 de fevereiro de 2020, pela Comissão Examinadora constituída pelos professores:



Prof. Dr. Carlos Prentice Hernández - FURG



Profa. Dra. Myriam de las Mercedes Salas-Mellado – FURG



Prof. Dr. Mariano Michelin – FURG



Prof. Dr. Álvaro Renato Guerra Dias - UFPEL

Aos meus pais, Cesar Hitoshi Yoshikawa e Célia Akemi Yoshikawa.

AGRADECIMENTOS

Aos meus familiares, em especial a meus pais Cesar Hitoshi Yoshikawa e Célia Akemi Yoshikawa e a meu irmão Clau Marcelo Hayato Yoshikawa, pelo amor, valores e ensinamentos que me foram passados, base da minha formação e caráter como ser humano.

Ao meu marido, Pedro Henrique Librelon de Faria pelo incentivo, paciência e apoio em todos os momentos, e por compartilhar a alegria de viver com nossos filhos Ligia Sayuri Yoshikawa de Faria e Leonardo Kenzo Yoshikawa de Faria.

Ao meu orientador professor Dr. Carlos Prentice-Hernández, pelos ensinamentos, acolhimento, amizade e apoio inestimável, inclusive nas decisões mais difíceis.

Ao professor Dr. Magno Pinto Collares, pelo conhecimento compartilhado sobre o plasma, pela amizade e confiança transmitida no decorrer do trabalho.

Ao professor Dr. César Serra Bonifácio Costa, pelos ensinamentos passados sobre esta planta excepcional que é a salicornia, levarei para o resto da vida.

A Manuel Cezar Macedo Barbosa Nogueira de Souza, pela amizade, paciência e apoio nos experimentos realizados com salicornia.

A Juan Rodrigo Meireles de Oliveira pela amizade, paciência e apoio nos experimentos realizados com plasma.

Às professoras: Dra. Eliana Badiale-Furlong, Dra. Myriam de las Mercedes Salas-Mellado e Dra. Vilásia Guimarães Martins, pelas orientações, amizade e apoio recebido.

À todos da Escola de Química e Alimentos (EQA/FURG), em especial do Laboratório de Tecnologia de Alimentos (LTA/FURG), professores, alunos de graduação e pós-graduação, com os quais tive o imenso prazer e orgulho de trabalhar.

Aos amigos: Patricia Pinheiro dos Santos Acosta, pelos choros e risadas divididas nessa jornada desafiadora que é ser mãe pesquisadora; Claudio Gabiatti Junior, por me acolher tão

bem mesmo antes de entrar no mestrado; Camila da Costa de Quadros, por estar sempre por perto nos momentos de aperto; Helena Leão Gouveia Costa, pelas dicas e alegres conversas no cotidiano do LTA; Débora Craveiro Vieira, pelos conselhos de uma grande salameira; Meritaine da Rocha, pelas conversas que eram verdadeiras aulas; Aline Massia Pereira, por ser incansável ao tirar minhas dúvidas; Andressa Jantzen da Silva Lucas, pelo carinho e incentivo; Valdenize Jesus Oliveira, pela força e incentivo diário; Allan Silva, Alessandra Santos Lopes e Elisabete Regina Gurgel Rodrigues, pelo apoio e amizade mesmo à distância.

Aos amigos que, apesar do pouco tempo de convivência, foram fundamentais nesta jornada: Danielle Rubim Lopes, Daiane Nogueira, Paola Chaves Martins, Evellin Balbinot, Gabriel da Silva Filipini, Karina Oliveira Lima, Sibeles Santos Fernandes, Viviane Patrícia Romani, Michele Moraes de Souza, Larine Kupski, Anelise Christ Ribeiro, Angélique Portas, Luciane Gonzaga Mendes, Karina Böhm, Raphael de Vaz Trombetta e Juliana Machado Latorres.

Ao Laboratório de Biotecnologia de Halófitas do Instituto de Oceanografia (IO/FURG), por ceder as plantas de *Salicornia neei* para este estudo.

Ao Laboratório de Plasma do Instituto de Matemática, Estatística e Física (IMEF/FURG) pela disponibilização do equipamento de plasma.

Ao Laboratório de Micotoxinas e Ciência de Alimentos (LAMCA/FURG), pela disponibilização de equipamentos e reagentes.

Ao Centro de Microscopia da Região Sul (CEME-Sul/FURG) pela disponibilização dos equipamentos para realização das análises de Microscopia Eletrônica de Varredura.

Às empresas: Comercial SC, Chr. Hansen e Kienast & Kratschmer, por ceder insumos necessários para o processamento de salames tipo Italiano.

À Coordenação de Aperfeiçoamento Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo apoio financeiro, através da concessão de bolsa de mestrado.

À Universidade Federal do Rio Grande e à todos que contribuíram para que a realização deste trabalho fosse possível.

*“Não é preciso ter olhos abertos para ver o sol,
nem é preciso ter ouvidos afiados para ouvir o
trovão. Para ser vitorioso você precisa ver o que
não está visível”*

(Sun Tzu)

RESUMO

Este estudo teve como objetivo obter compostos fenólicos a partir de plantas do gênero *Salicornia* através de extração utilizando plasma a frio (PF) como pré-tratamento e avaliar o potencial de aplicação do extrato de *S. neei* (ES) no processamento de salame como aditivo natural, em substituição parcial de nitrato e nitrito de sódio, cujo consumo tem sido associado a efeitos carcinogênicos. As plantas de *Salicornia neei* foram expostas ao PF antes de serem moídas e submetidas ao processo de extração por dois métodos: maceração com uso de orbital shaker (método convencional) e ultrassom (método não-convencional), utilizando como solvente o etanol 80% (v/v) em água destilada. O PF como pré-tratamento nos parâmetros de operação de $P = 14 \text{ W}$, $p = 2 \times 10^{-2} \text{ mbar}$, $t = 5 \text{ min}$, seguido da extração por ultrassom aumentou em 34% a atividade antioxidante determinada pelo método de sequestro do radical 2,2-difenil-1-picril-hidrazila (DPPH $\cdot$), com relação a extração somente por ultrassom. O ES ($0,1 \text{ g mL}^{-1}$) apresentou alta atividade antioxidante (90% de sequestro de radical DPPH $\cdot$, 68% de sequestro de radical catiônico ABTS $\cdot^{+}$ e $28 \mu\text{M ET g}^{-1}$ ms na capacidade de redução do ferro - FRAP) e baixa atividade antimicrobiana (halo de inibição de 4 mm frente a *Escherichia coli* pelo método de disco-difusão). Esse ES foi adicionado na concentração de 1% (m/m) em salame tipo Italiano, com redução de 50% e 25% do teor de nitrato e nitrito de sódio e sem adição de eritorbato de sódio e comparados com formulações utilizando diretamente o pó de *S. neei* na concentração de 1,4% (m/m) ao invés do ES, com redução de 50% e 25% do teor de nitrato e nitrito de sódio, sem adição de eritorbato de sódio e também com redução de 1% do teor de NaCl. As formulações com ES mantiveram a qualidade microbiológica, o pH, os níveis de oxidação lipídica, verificado pela determinação de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS), e a atividade antioxidante, avaliada pelo sequestro do radical DPPH $\cdot$, em comparação à formulação controle. As formulações com pó de *S. neei* não desenvolveram a cor e textura característica típica do produto, além de apresentarem menores valores de pH. A formulação com ES, redução de 25% do teor de nitrato e nitrito de sódio e sem adição de eritorbato se apresenta como uma alternativa viável para redução do uso de conservantes químicos em salames, apesar de ligeira redução no parâmetro a^* de cor vermelha, pois também manteve a característica de textura e o teor de NaCl comparável ao controle dentro das condições testadas neste estudo.

Palavras-chave: Halófitas. Plasma a frio. Ultrassom. Antioxidante. Antimicrobiano. Compostos fenólicos.

ABSTRACT

APPLICATION OF GREEN TECHNOLOGY FOR BIOACTIVE COMPOUNDS EXTRACTION FROM SEA ASPARAGUS (*Salicornia neei*) IN ITALIAN SALAMI PROCESSING

The aim of this study was the extraction of phenolic compounds from halophyte plants of genus *Salicornia* using Cold Plasma (CP) technology to enhance the extraction process, and the application of the *Salicornia neei* extract (SE) in Italian salami as a natural additive, which could partially substitute the use of sodium nitrate and nitrite, synthetic conservatives that have been associated to carcinogenic effects. *S. neei* plants were exposed to CP before grinding and submitted to phenolic compounds extraction by two methods: maceration using orbital shaker (conventional method) and ultrasound (non-conventional method), using 80% ethanol (v/v) diluted in distilled water. The SE obtained by ultrasound extraction using CP as pretreatment (operation parameters of the CP chamber of $P = 14$ W, $p = 2 \times 10^{-2}$ mbar, $t = 5$ min) showed higher values for antioxidant activity, measured by the 2,2-diphenyl-1-picryl-hydrazyl (DPPH $\cdot$) radical scavenge, comparing to the ultrasound method (up to 34%). The SE (0.1 g mL $^{-1}$) showed a strong antioxidant activity (DPPH $\cdot$ radical scavenge of 90%, ABTS $\cdot^{+}$ radical scavenge of 68% and ferric reducing antioxidant power (FRAP) of 28 μ M ET g $^{-1}$ dw) and low antibacterial activity (4 mm of inhibition zone against *Escherichia coli* determined by disk diffusion method). 1% (w/w) of the SE was added in Italian salami formulations with 50% and 25% of the sodium nitrate and nitrite content reduction and without the addition of sodium erythorbate. They were compared to Italian salami formulated with *S. neei* powder instead of the SE. The salami formulations with SE maintained the microbiology quality, without impact on pH, lipid oxidation values, measured by TBARS (thiobarbituric acid reactive substances), and antioxidant activity, measured by DPPH $\cdot$ radical scavenge, compared to the control. However, the addition of *S. neei* powder had a great impact on the development of this product's characteristic color and texture. The formulation with 25% of the sodium nitrate and nitrite content reduction and without the addition of sodium erythorbate displayed as a viable alternative to the use of chemical conservatives in Italian salami, even with a slight reduction of the a^* parameter related to the red color, because it could also maintain the texture parameter and NaCl content compared to the control, under the processing conditions used in this work.

Keywords: Halophyte. Cold Plasma. Ultrasound. Antioxidant. Antimicrobial. Phenolic compounds.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Bioatividades identificadas em diferentes espécies de <i>Salicornia</i>	31
Tabela 2 – Efeito do tratamento por plasma a frio em diferentes matrizes alimentícias.....	37
Tabela 3 – Parâmetros físico-químicos legais para salame e salame tipo Italiano.....	39
Tabela 4 – Formulações utilizadas para elaboração de salame tipo Italiano com adição de pó e extrato de <i>Salicornia neei</i> (ES).....	54
Tabela 5 – Composição proximal de <i>S. neei</i> do presente estudo em comparação a outros estudos com <i>Salicornia</i>	61
Tabela 6 – Teores de compostos fenólicos e atividade antioxidante para os diferentes métodos de extração.....	62
Tabela 7 – Resultado consolidado de teor de compostos fenólicos e atividade antioxidante para os diferentes parâmetros aplicados de plasma a frio.	65
Tabela 8 – Teor de compostos fenólicos conjugados e atividade antioxidante do extrato de <i>S. neei</i> (0,1 g mL ⁻¹) obtido por ultrassom assistida por plasma a frio (sem clarificação).	66
Tabela 9 – Valores de pH dos salames tipo Italiano durante o período de processamento.	71
Tabela 10 - Perda de massa dos salames durante o período de processamento.	72
Tabela 11 – Parâmetros de cromaticidade dos salames tipo Italiano ao final do processamento (tempo 14 dias).	74
Tabela 12 – Valores de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) nos salames tipo Italiano.....	78
Tabela 13 –Valores de sequestro de radical DPPH [•] dos salames tipo Italiano.	79
Tabela 14 – Análise microbiológica dos salames tipo Italiano com e sem extrato de <i>salicornia</i>	82

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Aspargo marinho <i>Salicornia neei</i> Lag.	28
Figura 2 – Esquema de trabalho proposto para obtenção e aplicação do extrato de <i>Salicornia neei</i>	43
Figura 3 – Coleta das plantas <i>Salicornia neei</i> utilizadas no presente estudo	45
Figura 4 – Tratamento das plantas de <i>Salicornia neei</i> logo após a coleta.....	46
Figura 5 – Esquema do equipamento para aplicação do plasma a frio.	48
Figura 6 – Equipamento para aplicação de plasma a frio instalado no IMEF/FURG.....	49
Figura 7 – Esquema do processamento de salame tipo Italiano.	55
Figura 8 – Etapas do processamento de salame tipo Italiano.	56
Figura 9 – Salames tipo Italiano com e sem extrato de <i>Salicornia neei</i> (ES) pendurados na câmara incubadora para o processo de fermentação e maturação.	56
Figura 10 – Formação de halos de inibição em placas com extrato de salicornia (0,1 g mL ⁻¹)	67
Figura 11 –Imagens de microscopia eletrônica de varredura de pó de salicornia sem e com aplicação de plasma a frio (PF).	69
Figura 12 – Aspecto visual de cada formulação de salame inteiro nos diferentes tempos de processamento.	74
Figura 13 – Aspecto visual do corte transversal dos salames tipo Italiano, nos diferentes tempos de processamento.	75
Figura 14 – Valores de dureza avaliada nas diferentes formulações de salame tipo Italiano.	76

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

ABTS - 2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico)
ANOVA - Análise de variância
ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária
Aw - Atividade de água
DBD - *Dielectric Barrier Discharge*
DPPH - 2,2-difenil-1-picril-hidrazila
EAG - Equivalente de ácido gálico
ES – Extrato de *Salicornia neei*
ET - Equivalente de Trolox (6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcromo-2-ácido carboxílico)
IARC - *International Agency of Research on Cancer*
ISO - *International Organization for Standardization*
IC50 - Coeficiente de inibição de 50% da atividade
FDA - *Food and Drugs Administration*
FRAP - *Ferric Reducing Antioxidant Power*
GRAS - *Generally Recognized As Safe*
IN - Instrução Normativa
MAPA - Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento
MDA - Malonaldeído
MEV - Microscopia eletrônica de varredura
Ms - Massa seca
NaCl - Cloreto de sódio
PF – Plasma a Frio
pH - Potencial hidrogeniônico
SRL - Sequestro do radical livre
TBA - Ácido tiobarbitúrico
TCA - Ácido tricloroacético
TBARS - Substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico
TEP - 1,1,3,3-tetraetóxi-propano
TPTZ - 2,4,6-tripiridil-s-triazina
UFC - Unidade formadora de colônias
UV - Ultravioleta

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	23
2 OBJETIVOS.....	25
2.1 OBJETIVO GERAL.....	25
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	25
3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	27
3.1 <i>Salicornia</i>	27
3.1.1 Considerações gerais e aspectos taxonômicos	27
3.1.2 Aspectos nutricionais e compostos bioativos	29
3.1.3 Aplicações em produtos alimentícios	32
3.2 PLASMA A FRIO	33
3.2.1 Definição e aplicação na indústria de alimentos	33
3.2.2 Extração de compostos fenólicos	35
3.3 SALAME TIPO ITALIANO.....	38
3.3.1 Processamento, legislação e tendências.....	38
3.3.2 Uso de extratos vegetais como aditivo natural	41
4 MATERIAL E MÉTODOS	43
4.1 DESENVOLVIMENTO GERAL	43
4.2 MATÉRIA-PRIMA.....	44
4.3 MICRO-ORGANISMOS E REAGENTES	45
4.4 MÉTODOS.....	45
4.4.1 Cultivo e coleta das plantas <i>Salicornia neei</i>	45
4.4.2 Lavagem, secagem e moagem das plantas <i>Salicornia neei</i>	46
4.4.3 Caracterização das plantas de salicornia	47
4.4.4 Extração por maceração com orbital shaker	47
4.4.5 Extração por ultrassom.....	47
4.4.6 Pré-tratamento com plasma a frio	48
4.4.7 Determinação de compostos fenólicos conjugados	49
4.4.8 Atividade antioxidante	50
4.4.8.1 Capacidade de sequestro de radical 2,2-difenil-1-picril-hidrazila (DPPH´).....	50
4.4.8.2 Capacidade de captura de radical catiônico 2,2´-azino-bis (3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico) (ABTS ^{•+}).....	51
4.4.8.3 Capacidade de redução do ferro (FRAP).....	51
4.4.9 Atividade antimicrobiana	52
4.4.10 Microscopia eletrônica de varredura (MEV).....	52
4.4.11 Obtenção do extrato de salicornia (ES) para aplicação em salame tipo Italiano .	52
4.4.12 Obtenção de pó de salicornia para aplicação em salame tipo Italiano	53
4.4.13 Processamento do salame tipo Italiano.....	53
4.4.14 Caracterização do salame tipo Italiano	57
4.4.14.1 Determinação de pH.....	57
4.4.14.2 Perda de massa	57
4.4.14.3 Determinação de cor.....	57

4.4.14.4	Determinação de textura	58
4.4.14.5	Determinação de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS).....	58
4.4.14.6	Capacidade de sequestro de radical 2,2-difenil-1-picril-hidrazila (DPPH [·]).....	58
4.4.14.7	Composição proximal.....	59
4.4.14.8	Determinação de cloreto de sódio (NaCl)	59
4.4.14.9	Análise microbiológica.....	59
4.4.15	Tratamento dos dados.....	60
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	61
5.1	CARACTERIZAÇÃO DA MATÉRIA-PRIMA	61
5.2	EXTRAÇÃO APÓS PRÉ-TRATAMENTO COM PLASMA A FRIO	62
5.2.1	Avaliação dos métodos de extração	62
5.2.2	Avaliação dos parâmetros de aplicação do plasma a frio.....	64
5.2.3	Extrato de salicornia (ES) para análise de atividade antimicrobiana e aplicação no processamento de salame tipo Italiano	66
5.3	ATIVIDADE ANTIMICROBIANA	67
5.4	MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA (MEV)	68
5.5	PROCESSAMENTO DO SALAME TIPO ITALIANO	71
5.5.1	Caracterização dos salames tipo Italiano.....	71
5.5.1.1	pH.....	71
5.5.1.2	Perda de massa	72
5.5.1.3	Cor.....	73
5.5.1.4	Dureza	76
5.5.1.5	Substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS).....	77
5.5.1.6	Capacidade de sequestro de radical 2,2-difenil-1-picril-hidrazila (DPPH [·])	79
5.5.1.7	Composição química.....	80
5.5.1.8	Análise microbiológica	82
6	CONCLUSÃO	83
7	PERSPECTIVAS FUTURAS.....	85
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	87
	ANEXOS.....	103
	APÊNDICES.....	107

1 INTRODUÇÃO

As halófitas são plantas que apresentam tolerância ao sal, pois conseguem se reproduzir em ambientes com elevada concentração salina (200 mmol L⁻¹ de NaCl ou mais) e constituem aproximadamente 1% da flora mundial (FLOWERS; COLMER, 2008). Dentre as halófitas, se destacam as plantas do gênero *Salicornia*, também conhecida como “sea asparagus” e “samphire” (VENTURA; SAGI, 2013), cujos brotos são suculentos e apreciados na cozinha *gourmet* pelo sabor salgado (VENTURA et al., 2011), sendo consumida diretamente em salada ou processada, como pickles e em bebidas fermentadas (PATEL, 2016).

Algumas espécies são bem conhecidas e possuem vários estudos associados aos benefícios, os quais podem contribuir para a manutenção da saúde, tais como: *Salicornia herbacea* como antioxidante e neuroprotetor (KIM et al., 2017b); *Salicornia europaea* como anti-obesidade (RAHMAN et al., 2018); *Salicornia bigelovii* como antioxidante e anti-obesidade (LIM et al., 2017); *Salicornia brachiata* como antimicrobiano (AYAZ AHMED et al., 2014) e *Salicornia freitagii* como anticancerígeno (ALTAY et al., 2017).

Porém, ainda são poucos os estudos com relação a espécie nativa de mais ampla distribuição na América do Sul denominada *Salicornia neei*, encontrada na costa do Brasil, Uruguai, Argentina e Chile (COSTA; KADEREIT; FREITAS, 2019). Esta espécie tem demonstrado alta produtividade e grande potencial como fitorremediador, em cultivo sob irrigação de efluente salino de aquicultura de camarão (COSTA et al., 2018; D’OCA et al., 2012; SOUZA et al., 2018a), como antioxidante, associado a presença de vitaminas e compostos fenólicos (SOUZA et al., 2018a), além de ser rica em ácidos graxos (COSTA et al., 2014) e minerais (BERTIN et al., 2016).

Os compostos fenólicos são produtos do metabolismo secundário das plantas, considerados como benéficos à saúde humana pelos efeitos que proporcionam como antioxidante, antimicrobiano, anticarcinogênico e anti-inflamatório (GAO et al., 2017), e podem ser utilizados para prolongar a vida útil de carnes e produtos cárneos, uma vez que inibem a degradação oxidativa de lipídeos e proteínas, melhorando a estabilidade de cor e sabor desses produtos, além de retardar o crescimento microbiano (PAPUC et al., 2017).

A extração desses compostos fenólicos pelos métodos convencionais (*e.g.* maceração com orbital shaker e Soxhlet) apresentam riscos de segurança, como a toxicidade dos solventes utilizados e a presença de resíduos destes nos extratos, juntamente com o baixo rendimento dos processos, o que estimulou o desenvolvimento de tecnologias limpas ou

verdes, que podem minimizar ou eliminar o uso de solventes orgânicos (TIWARI, 2015), *e.g.* extração assistida por microondas, ultrassom, enzimas e fluido supercrítico, líquido pressurizado ou pela combinação desses métodos (ALTEMIMI et al., 2015; DRANCA; OROIAN, 2016; LI et al., 2017; VINATORU; MASON; CALINESCU, 2017; WANG et al., 2017a).

Cada tecnologia verde apresenta vantagens, como a redução do tempo de extração e do volume de solvente gasto, e desvantagens, como alto custo do equipamento e restrição a pequena escala, por isso a necessidade constante de otimizar os métodos existentes e desenvolver novos métodos de extração para melhorar a recuperação dos compostos bioativos (WANG et al., 2017a), como a utilização da tecnologia de plasma a frio, que ocasionou maior biodisponibilidade de compostos fitoquímicos como os glicosídeos de esteviol presentes nas folhas de *Stevia rebaudiana*, melhorando o processo de extração, provavelmente em função da interação dos compostos reativos gerados pelo plasma a frio com a parede celular da planta (BURSAC KOVAČEVIĆ et al., 2018). Apesar de não ter sido encontrado nenhum estudo com a aplicação do plasma a frio para melhorar especificamente o processo de extração de compostos fenólicos, é possível que o mesmo efeito seja obtido em condições de processo adequados.

A aplicação de plasma a frio em alimentos tem se mostrado promissora, como nos processos de pasteurização e esterilização, uma vez que: (1) mantém suas propriedades nutricionais, funcionais e sensoriais, principalmente de produtos sensíveis ao calor, por ser efetiva à temperatura ambiente (MIR; SHAH; MIR, 2016); (2) tem baixo custo operacional, pois pode ser gerada a partir de eletricidade e ar atmosférico; (3) requer em geral curtos tempos de aplicação e simples sistemas de manutenção e sanitização (LÓPEZ et al., 2019; MISRA; SCHLÜTER; CULLEN, 2016); e (4) sua natureza não-tóxica aliada ao menor consumo de água, energia e solventes químicos é benéfico sob o ponto de vista econômico e ambiental (LÓPEZ et al., 2019).

Neste contexto, o presente estudo busca avaliar a extração de compostos fenólicos presentes em *S. neei* com auxílio da tecnologia de plasma a frio, e aplicar o extrato no processamento de salame tipo Italiano, como antioxidante e antimicrobiano natural, em substituição parcial de nitrito e nitrato de sódio, seguindo uma das linhas de pesquisa do Laboratório de Tecnologia de Alimentos (LTA), da Escola de Química e Alimentos (EQA), da Universidade Federal do Rio Grande (FURG), para a valoração de recursos agropecuários de forma sustentável.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Obter compostos bioativos a partir da planta halófito *Salicornia neei* por extração assistida por plasma a frio, para avaliar o potencial de aplicação no processamento de salame como aditivo natural.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar o efeito da aplicação de plasma a frio e seus parâmetros de processo (pressão, potência e tempo) na extração dos compostos fenólicos a partir de *S. neei* por dois métodos: maceração com orbital shaker (método convencional) e ultrassom (método não-convencional);
- Caracterizar o extrato de *S. neei* quanto a sua atividade antioxidante e antimicrobiana para potencial aplicação no processamento de salame tipo Italiano, em substituição parcial de nitrato de sódio, mantendo sua qualidade físico-química e microbiológica.
- Comparar os salames tipo Italiano formulados com extrato e com o pó de *S. neei* quanto às suas características físico-químicas e microbiológicas.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 *Salicornia*

3.1.1 Considerações gerais e aspectos taxonômicos

Plantas halófitas dos gêneros *Salicornia* L. e *Sarcocornia* A. J. Scott (Salicornioideae, Amaranthaceae) são pequenos arbustos suculentos com caules e galhos sem folhas, comumente chamados de aspargos do mar, *glasswort*, *samphire*, *sea asparagus* e encontrados nas diversas localidades geográficas, sendo as espécies mais estudadas: *Salicornia europaea* na Grã Bretanha, França e Irlanda; *Salicornia bigelovii* nos Estados Unidos da América (EUA) e México; *Salicornia brachiata* na Índia; *Salicornia virginica* no Canadá, EUA e México; *Salicornia maritima* no Canadá, EUA e México; *Salicornia ramosissima* na França e Ibéria; *Salicornia herbacea* na Coreia do Sul e *Salicornia persica* no Irã (PATEL, 2016).

As plantas do gênero *Salicornia* podem ser cultivadas usando a irrigação com águas salinas em terras estéreis, áridas, salinas e costeiras, ou seja, podem ser consideradas para a agricultura com água do mar (KATSCHNIG; BROEKMAN; ROZEMA, 2013). Com o aquecimento global e ameaça de submersão de mais terras devido ao aumento do nível do mar, além da redução da disponibilidade de água doce com o aumento da população mundial, uma mudança para cultura salina pode ser uma opção sustentável viável (SINGH et al., 2014).

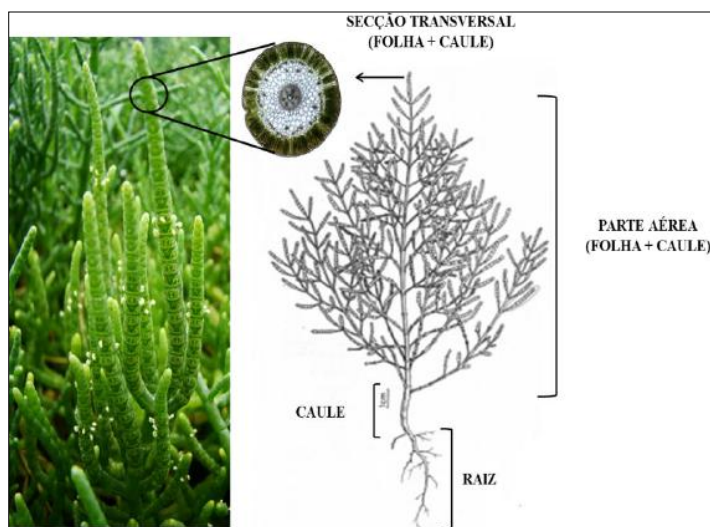
Algumas espécies de *Salicornia* são cultivadas em escala comercial com sucesso, como a *S. bigelovii* para produção de biodiesel, ração animal, extração de sal e óleo (CYBULSKA et al., 2014). Várias espécies de *Salicornia* são utilizadas para o consumo humano: no mercado europeu como vegetais com brotos sem folhas, parecidos como aspargos verdes; na Itália e na França como ingrediente em vinagre; e na Coreia como vegetais temperados, salada e alimentos fermentados (KIM et al., 2011). O consumo dessas espécies está associada aos benefícios à saúde que elas proporcionam, sendo ricas em metabólitos como ácidos graxos insaturados, minerais, compostos fenólicos e flavonoides, com ação anti-inflamatória, antiviral, antimicrobiana e quelante de metais (GARGOURI et al., 2017).

A espécie *Salicornia neei* Lag. (Salicornioideae, Amaranthaceae) é uma planta nativa da América do Sul (Figura 1), presente na região sul do Brasil e até o momento não explorada comercialmente, sendo designada anteriormente em outros estudos com os nomes *Salicornia gaudichaudiana* Moq. e *Salicornia ambigua* (= *Sarcocornia ambigua*) Michx.

M.A.Alonso & M.B.Crespo (COSTA; KADEREIT; FREITAS, 2019). Tem ciclo de vida perene, capaz de sobreviver por vários anos, propagando-se através de sementes ou por crescimento vegetativo, uma vez que os caules são capazes de rebrotamento após a poda. Apresenta-se na forma de haste (caule) suculenta, com altura máxima de 50 cm, ereta ou decumbente, de forma cilíndrica e segmentada, de cores verde e avermelhadas, estas últimas devido à presença de betacianina (ALONSO; CRESPO, 2008; BERTIN, 2014; COSTA; NEVES, 2006).

São poucos os estudos encontrados desta espécie *S. neei* encontrada no Brasil, mas que apontam a sua potencialidade de utilização pelo alto valor nutricional, sendo rica em minerais, fibras dietéticas, proteínas, compostos bioativos com atividade antioxidante (com destaque aos compostos fenólicos) e lipídios (com destaque aos ácidos graxos insaturados) (BERTIN et al., 2014; COSTA et al., 2019; SOUZA et al., 2018a, 2018b), inclusive com potencial uso como biodiesel (D'OCA et al., 2012).

Figura 1 – Aspargo marinho *Salicornia neei* Lag.



Fonte: Bertin, (2014). Aspecto geral de *S. neei* (esquerda), com detalhe de seção transversal da parte aérea (folha contornando o caule), e representação esquemática da estrutura da planta (direita).

O Laboratório de Biotecnologia de Halófitas (BTH) do Instituto de Oceanografia da Universidade Federal do Rio Grande (FURG), RS, Brasil, iniciou um programa de melhoramento de *S. neei* em 2010, identificando e realizando o cruzamento de diferentes biótipos em populações naturais do sul do Brasil. Este programa gerou duas linhagens puras, a partir de plantas selvagens do estuário da Lagoa dos Patos (30 °S) no Rio Grande do Sul, RS, Brasil, morfologicamente distintas dessa espécie denominadas BTH1 (fenótipo vermelho na maturidade, de crescimento prostrado) e BTH2 (fenótipo verde na maturidade, de crescimento

decumbente) (COSTA; KADEREIT; FREITAS, 2019; DONCATO; COSTA, 2018a; SOUZA et al., 2018a).

Além da coloração avermelhada distinta, plantas BTH1 maduras apresentaram concentrações minerais nos caules significativamente maiores do que as plantas BTH2, particularmente microminerais tais como Fe, Mn, Zn e Cu (até 25-50% maiores) (COSTA; HERRERA, 2016) e sua ingestão diária foi calculada em 20, 200 e 5 g de caules secos na dieta de humanos, ovelhas e peixes, respectivamente (DONCATO; COSTA, 2018b).

Já a linhagem BTH2 produziu maiores quantidades de metabólitos (*e.g.* fenólicos totais, flavonóides livres totais, quercetina e ácido protocatecuico), apresentou maior atividade antioxidante, com coeficiente de inibição $IC_{50} = 5,41$ mg massa seca mL^{-1} se comparado a linhagem BTH1 ($IC_{50} = 14,3$ mg massa seca mL^{-1}), cresceram mais, tendo maior rendimento de biomassa e maior suculência (SOUZA et al., 2018a), sendo a linhagem de *S. neei* utilizada no presente estudo.

3.1.2 Aspectos nutricionais e compostos bioativos

As halófitas em geral apresentam um alto teor de umidade, fibras dietéticas e cinzas, sendo este último relacionado a concentração total de minerais, provavelmente relacionado ao ambiente salino no qual elas crescem e na habilidade de reter minerais (DÍAZ; BENES; GRATAN, 2013). No caso específico da *Salicornia neei*, foi relatada a seguinte composição proximal: 88,2% de umidade; 2,8% de fibras; 3,0% de cinzas; 1,9% de proteínas, 0,2% de lipídeos, 3,6% de carboidratos, 10,2 mg g^{-1} de sódio, 2,9 mg g^{-1} de potássio, 0,9 mg g^{-1} de magnésio e 0,5 mg g^{-1} de cálcio (BERTIN et al., 2014).

Em relação ao teor de lipídeos, destaca-se a presença no caule de *S. neei* de ácidos graxos insaturados, principalmente ácido linolênico (C18:3) e linoléico (C18:2), cujos benefícios para a saúde humana são bem conhecidos (BERTIN et al., 2014; COSTA et al., 2014; VENTURA et al., 2011). No estudo realizado por D'oca et al. (2012) foi verificado que o óleo da semente de *S. neei* é composto predominantemente por ácidos graxos poliinsaturados (68%), dentre os quais 43% correspondem ao ácido linoléico e 4% ao ácido linolênico.

A composição química e a atividade antioxidante pode variar até dentro da mesma espécie devido às condições de estresse ambiental sob as quais as halófitas crescem (temperatura, salinidade, disponibilidade de água, luminosidade, deficiência de nutrientes, estresse iônico, frequência e duração da inundação pela água salgada e presença de plantas de

pântano salino). Em função dessas condições de estresse ambiental, há redução na troca de gases, limitando o suprimento de gás carbônico (CO₂) para as folhas, levando a redução da cadeia de transporte de elétrons fotossintéticos e à produção de espécies reativas ao oxigênio (ERO). Em resposta a este tipo de dano oxidativo em halófitas, a síntese de antioxidantes como ascorbato, glutathione, carotenoides e compostos polifenólicos é induzida (BUHMANN; PAPENBROCK, 2013; SOUZA et al., 2018a).

Em estudo realizado por Bertin et al. (2014) foram identificados 15 compostos fenólicos em plantas de *S. neei*, coletadas em Santa Catarina: uma cumarina (escopoletina), um aldeído fenólico (siringaldeído), oito ácidos fenólicos (*p*-cumárico, cinâmico, vanílico, ferúlico, cafeico, siríngico, sinápico, clorogênico) e cinco flavonoides (galangina, quercetina, naringina, kaempferol e isoquercitrina), sendo quantificados em maior teor o ácido ferúlico, ácido cafeico, ácido vanílico, ácido *p*-cumárico, kaempferol e galangina. Para a mesma espécie, porém cultivada no Rio Grande do Sul, os principais compostos fenólicos encontrados foram kaempferol e ácido gálico, seguido por ácido hidroxibenzóico e quercetina (COSTA et al., 2018).

Altay et al. (2017) verificaram em cinco espécies diferentes de *Salicornia* e três subespécies alto conteúdo mineral e atividade antioxidante associada particularmente ao alto teor de ácidos fenólicos (vanílico e *p*-cumárico). O extrato da espécie *Salicornia freitagii* apresentou maior atividade antioxidante na determinação por DPPH[•] (coeficiente de inibição IC₅₀ = 2,54 mg mL⁻¹) e uma atividade antiproliferativa contra linhagens de células tumorais humanas Caco-2 (IC₅₀ = 3,03 mg mL⁻¹) e HT-29 (IC₅₀ = 1,67 mg mL⁻¹) por 72 h. Outras bioatividades foram associadas ao extrato de *Salicornia* conforme Tabela 1.

Essaidi et al. (2013) atribuíram a atividade antioxidante e antimicrobiana no extrato metanólico de *S. herbacea* à presença de ácidos fenólicos (ácidos salicílico, *p*-cumárico, ferúlico, cafeico) e flavonoides (quercetina, acacetina), juntamente com outros compostos como os ácidos graxos e os compostos osmóticos como a betaína. As bactérias Gram-positivas foram mais susceptíveis ao extrato (diâmetro de inibição de 10 mm a 100 mg mL⁻¹ com *Staphylococcus aureus*) se comparado às Gram-negativas (diâmetro de inibição de 7 mm na mesma concentração com *Salmonella enteritidis*). O mecanismo da atividade antioxidante sugerido pelos autores para os fenóis (ácido cafeico e ácido ferúlico) é de que ocorre inibição direta relacionada à capacidade de doação de H⁺ do fenol.

Segundo Kumar et al., (2009), a atividade antibacteriana identificada no extrato de *Salicornia herbacea* está relacionada com a presença de polissacarídeos e de fenóis (flavonas e flavonóides relacionados), que tendem a ser solúveis em água, uma vez que eles são mais

freqüentemente combinados com açúcar como glicosídeos e geralmente estão localizados no vacúolo celular.

Tabela 1 – Bioatividades identificadas em diferentes espécies de *Salicornia*.

Espécie	Bioatividade	Observações	Referências
<i>Salicornia europaea</i>	Anti- obesidade	No pó dessalgado foi identificado o ácido trans-ferúlico como principal composto responsável nas propriedades bioativas.	Rahman et al. (2018)
<i>Salicornia herbacea</i>	Antioxidante e neuroprotetor	O extrato em sua fração de cloreto de metileno mostrou forte efeito protetor contra a morte induzida por glutamato em células HT22 de hipocampo murino.	Kim et al. (2017)
<i>Sarcocornia perennis</i>	Antioxidante e imunomodu- latória	O extrato melhorou os danos hepatorreais causados pelo chumbo sem nenhum efeito colateral.	Gargouri et al. (2017)
<i>Salicornia neei</i>	Antioxidante	O extrato etanólico de plantas cultivadas no campo apresentaram atividade antioxidante contra radicais DPPH [·] (IC ₅₀ = 5,41 mg mL ⁻¹).	Souza et al. (2018b)

A atividade antioxidante geralmente é maior quando há maior quantidade de grupos hidroxilas nos compostos fenólicos (CHUNG et al., 2005) e pode ser expressa por diferentes parâmetros: capacidade de redução de metais (método de poder de redução do ferro - FRAP) e capacidade de sequestro de radicais orgânicos (métodos de sequestro de radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazila - DPPH[·] e de 2,2'-azinobis (3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico) - ABTS^{·+}). A combinação desses métodos fornece um resultado mais confiável de atividade antioxidante em produtos alimentícios (RUFINO et al., 2010).

Apesar dos vários estudos que mostram o forte potencial de várias espécies de *Salicornia* como fonte de compostos bioativos, e inclusive de sua utilização na medicina tradicional e culinária local onde são encontrados, ainda são poucos os estudos de aplicação

dessas plantas (KSOURI et al., 2012), seja in natura, em forma de pó ou extrato, em produtos alimentícios.

3.1.3 Aplicações em produtos alimentícios

Além do consumo de *Salicornia* diretamente em saladas, ou processadas em conserva como pickles, em bebidas ou em vinagre, alguns estudos mostraram a aplicabilidade da *Salicornia* em pó como substituto ao sal de cozinha em pães (LOPES; CAVALEIRO; RAMOS, 2017), salsichas (KIM et al., 2014) e presuntos (PIL-NAM et al., 2017), seguindo uma tendência de consumo de produtos naturais e benéficos para a saúde. O pó de *Salicornia brachiata* foi patenteada na Alemanha (DE60208082T2) como sal herbal e é comercializado como um produto nutracêutico, por ser similar ao NaCl e conter outros minerais e menor teor de sódio (BUHMANN; PAPENBROCK, 2013).

Lee, (2011) desenvolveu um substituto de sal com baixo teor de sódio a partir do extrato aquoso de três plantas, incluindo *Salicornia herbacea*. Este substituto apresentou salinidade relativa de 0,65 comparado com cloreto de sódio (NaCl). Com valores equivalentes de salinidade, este substituto do sal contém 43% menos sódio que o sal comum, podendo ser utilizado em alimentos, reduzindo o teor de sódio, mas mantendo o mesmo sabor salgado possivelmente devido a presença de outros minerais como Mg, Ca, Fe e K.

Kim et al. (2014) verificaram que a substituição de 50% de NaCl por 1% do pó de *S. herbacea* aumentou a solubilidade proteica, viscosidade aparente, melhorou a estabilidade da emulsão e a textura em salsichas cozidas. A cor apresentou diferença significativa na espécie verde, mas não na espécie vermelha.

No entanto, são escassos os estudos de aplicação do extrato de *Salicornia*, rico em compostos bioativos como os compostos fenólicos, em produtos alimentícios, sendo encontrado somente o de Padalino et al. (2019), onde o extrato de *S. europaea* foi adicionado em massa fresca de trigo duro, e obtiveram um produto com maior teor de compostos fenólicos e flavonóides (21% e 140% maior que o controle, respectivamente), além de maior atividade antioxidante (148% maior que o controle) das frações biocessíveis das amostras digeridas, sem afetar a qualidade microbiológica, propriedades sensoriais e de cozimento da massa.

O extrato de *Salicornia* poderia ser utilizado na indústria de carnes, incluindo a charcutaria, que está se concentrando no desenvolvimento de substitutos naturais de nitratos e nitritos, uma vez que a demanda dos consumidores para produtos de carnes orgânicas e

naturais aumentou, uma vez que consumo do nitrato e nitrito de sódio (sais de cura) em excesso está associado a efeitos adversos à saúde humana, como o efeito carcinogênico (ALAHAKOON et al., 2015). O consumo diário de carnes processadas (porções de 50 g) foi associado a um aumento de 18% no risco de câncer colorretal humano (IARC, 2015).

Ainda se faz necessário o uso dos sais de cura em produtos cárneos, uma vez que não se tem até hoje um único aditivo natural capaz de suprir todas as suas funções, no desenvolvimento das características de cor e sabor, e no efeito antioxidante e antimicrobiano (SEBRANEK et al., 2012). Assim, a aplicação do extrato de *Salicornia* como um substituto parcial dos sais de cura, poderia ser uma opção viável para elaboração de produtos cárneos funcionais, sem afetar significativamente suas características físico-químicas e microbiológicas.

3.2 PLASMA A FRIO

3.2.1 Definição e aplicação na indústria de alimentos

O plasma pode ser definido como o quarto estado da matéria, um gás ionizado contendo uma série de espécies ativas, como elétrons, radicais livres, íons, etc (EKEZIE; SUN; CHENG, 2017), sendo classificado em plasma equilibrado e não-equilibrado. Quando íons, moléculas e elétrons que compõem o plasma estão em completo equilíbrio termodinâmico, eles são descritos como plasma térmico ou quente. Quando a transferência de quantidade de movimento entre íons e elétrons é tal que a temperatura global do gás é perto da temperatura ambiente, é comum denominar de plasma a frio (PF), não-térmico ou não-equilibrado, que pode ser descrito como estado do gás parcialmente ionizado com íons, elétrons e moléculas livres e algumas emissões de fótons. Essas espécies químicas ativas de PF são capazes de inativar micro-organismos rapidamente, sendo apropriadas para o tratamento de diversos materiais biológicos sensíveis, como os alimentos (MISRA et al., 2017).

O PF pode ser gerado por descarga elétrica à pressão atmosférica, baixa pressão ou vácuo em um gás ou mistura de gases, sendo os mais comumente utilizados: gás inerte, nitrogênio, oxigênio e ar atmosférico. A composição do gás ou mistura de gases é responsável pela formação de radicais livres que determinarão a eficiência do plasma contra micro-organismos, esporos de micro-organismos e reações de oxidação (MOREAU; ORANGE; FEUILLOLEY, 2008). São várias as fontes de descarga elétrica, sendo as mais utilizadas para

aplicação em alimentos a descarga corona, barreira dielétrica (DBD - *Dielectric Barrier Discharge*), luminescente, de radiofrequência, jato de plasma e de arco deslizante (MANDAL; SINGH; PRATAP SINGH, 2018; MISRA et al., 2014).

O PF gerado por descarga elétrica a baixa pressão ou vácuo apresenta algumas vantagens com relação a gerada a pressão atmosférica, como uma expansão mais fácil, permitindo maiores volumes de produto tratado, a possibilidade de usar um único gás ou uma combinação de dois ou mais gases injetados na câmara de plasma e descargas mais uniformes, além de melhor reprodutibilidade (PAIXÃO et al., 2019).

Pesquisas recentes mostraram que a tecnologia de PF é eficiente para diferentes aplicações como: tratamento não-térmico na descontaminação de alimentos, incluindo organismos esporulantes e patogênicos (MA et al., 2015); tratamento para melhorar as propriedades de barreira de embalagens (OH; ROH; MIN, 2016; ROMANI et al., 2019a, 2019b); modificação de propriedades funcionais de alimentos (SARANGAPANI et al., 2017a); degradação de resíduos agroquímicos (SARANGAPANI et al., 2017b); e na inativação de fatores anti-nutricionais e controle de alérgenos alimentares (MOHAMED et al., 2016). Algumas pesquisas também indicaram o potencial de aplicação do PF para melhoria na extração de compostos bioativos (KUJUNDŽIĆ et al., 2017; RODRÍGUEZ et al., 2017; ZHANG et al., 2019), como os compostos fenólicos.

Os compostos fenólicos hidrofílicos podem ser divididos em extraíveis (livres e conjugados) e não-extraíveis (ligados ou insolúveis), sendo esses últimos principalmente ligados a polissacarídeos da parede celular (NACZK; SHAHIDI, 2004). A aplicação do PF antes do processo de extração poderia facilitar a liberação dos compostos fenólicos não-extraíveis, por meio de abertura de poros na parede celular em função da interação das espécies reativas do plasma a frio na superfície da mesma.

A capacidade do PF e de suas espécies reativas de penetrar em alimentos sólidos depende de vários fatores, principalmente da sua composição, do teor de água e de porosidade. Vários estudos, relacionados a profundidade de penetração do PF, mostraram que espécies reativas, incluindo espécies reativas de oxigênio (ERO), espécies reativas de nitrogênio (ERN), ozônio e radiação UV só podem penetrar alguns μm de profundidade em biofilmes (MISRA; SCHLÜTER; CULLEN, 2016).

As principais vantagens da aplicação do PF em alimentos são: (1) aumento da vida útil de produtos; (2) retenção da qualidade e menor perda por processamento e armazenamento dos alimentos; (3) menor consumo de energia, sendo mais “verde” com relação às tecnologias convencionais; (4) baixo custo operacional e de manutenção com

necessidade de simples sistemas de manutenção e sanitização; (5) melhor segurança química dos alimentos, com a remoção de pesticidas e resíduos químicos e (6) trata-se de uma tecnologia verde e sustentável, uma vez que o plasma pode ser gerado por aplicação de eletricidade e ar atmosférico (MISRA; SCHLÜTER; CULLEN, 2016).

Porém, alguns efeitos observados na aplicação da tecnologia de PF em alimentos devem ser considerados, como aumento na oxidação de lipídios em amendoim e nozes, possivelmente devido os radicais livres gerados no processamento (THIRUMDAS; SARANGAPANI; ANNAPURE, 2014), descoloração de folhas de espinafre (KLOCKOW, 2008) e aumento na acidez em leite (KIM et al., 2015). Esses efeitos poderiam ser evitados com estudos de otimização dos parâmetros críticos de controle dos equipamentos de plasma a frio, ressaltando que estes equipamentos são de fácil implantação para utilização em larga escala (AWAD et al., 2012; PRIYADARSHINI et al., 2018).

O PF é uma área de pesquisa de tendência crescente, com um número significativo de estudos realizados nos últimos dois anos; trata-se de uma tecnologia nova, que não foi totalmente explorada na indústria de alimentos, por isso deve-se encorajar mais pesquisas e a adoção desta tecnologia verde também pelas agências regulatórias do ramo alimentício a fim de promover sua aceitabilidade pelo mercado e indústrias (CHIZOBA EKEZIE; SUN; CHENG, 2017).

3.2.2 Extração de compostos fenólicos

A maceração é um dos principais processos de extração convencional de compostos fenólicos e consiste em moer a amostra em pequenas partículas, a fim de aumentar a superfície de contato para uma boa mistura com o solvente. A agitação geralmente com o uso de um agitador ou orbital shaker tem como objetivo facilitar a extração, aumentando a difusão e removendo a solução concentrada da superfície da amostra. Porém, a toxicidade dos solventes, presença de resíduos do solvente no extrato, e o baixo rendimento dos processos convencionais, tem estimulado o desenvolvimento de novas tecnologias de extração desses compostos (AZMIR et al., 2013).

Um novo conceito de “processamento de alimentos verdes” que utiliza técnicas inovadoras para o processamento, preservação e procedimentos de extração alternativos aos convencionais tem sido bastante estudado e pode aumentar a eficiência da produção, além de contribuir para a preservação ambiental (CHEMAT et al., 2017). Dentre essas técnicas alternativas ou também chamadas de não-convencionais estão a extração por ultrassom, fluido

supercrítico, líquido pressurizado, micro-ondas, campo elétrico pulsado, descarga elétrica de alta voltagem e alta pressão hidrostática (SOQUETTA; TERRA; BASTOS, 2018).

Utilizando a extração por ultrassom, Souza et al. (2018a) obtiveram teor de fenólicos totais para *S. neei* de 24,4 mg de Equivalente de Ácido Gálico (EAG) g⁻¹ de massa seca (ms) nas condições otimizadas: tempo de processo (t) = 30 min e potência (P) = 275 W. Este resultado é maior do que o teor que obtiveram no processo de extração convencional de maceração com orbital shaker (18,8 mg EAG g⁻¹ ms), possivelmente pelo fenômeno de cavitação gerado pelas ondas ultrassônicas que permite a maior liberação dos fenóis ligados à matriz vegetal devido à ruptura da parede celular.

Apesar dos métodos não-convencionais citados anteriormente fornecerem bons resultados em vários casos, os seus efeitos variam, e o uso de alguns desses métodos é restrito devido a incompatibilidade com tratamentos em linha (*e.g.* alta pressão hidrostática), incompatibilidade no tratamento de sólidos inteiros (*e.g.* campo elétrico pulsado), dificuldade no desenvolvimento de equipamentos para escala industrial (*e.g.* ultrassom), eficácia limitada, e implicações de custo (CHEMAT et al., 2017; MISRA et al., 2016).

Neste contexto, após revisão da literatura, verifica-se a potencialidade de aplicação do PF como um pré-tratamento, de forma a melhorar o rendimento no processo de extração, como reportado por Kujundžić et al., (2017), na extração de glicosídeos de esteviol a partir de *Stevia reubadiana* utilizando água destilada como solvente e exposição prévia ao plasma a frio gerado a partir de argônio em pressão atmosférica e vazão do gás a 1,5 dm³ min⁻¹ durante 20 min. O rendimento de extração após pré-tratamento com PF foi 43% maior do que o processo convencional por Soxhlet, com duração de 6 h. Os autores avaliaram também a utilização do ultrassom na extração dos glicosídeos de esteviol, também utilizando água destilada como solvente, e obtiveram um rendimento 59% maior do que o processo convencional por Soxhlet, utilizando o sonificador na potência de 600 W por 30 min.

Segundo Zocher et al. (2019), o uso do PF também se mostrou eficaz na extração de proteínas com modificações químicas desejáveis em função da desintegração das paredes celulares de microalgas (*Chlorella vulgaris*), como proteínas fotossintéticas e histonas. Considerando que o plasma gera espécies reativas ao oxigênio e nitrogênio, é possível a ocorrência de modificações dos compostos extraídos, segundo relatado pelos autores do estudo.

Alves Filho et al. (2019) observaram um aumento no teor de ácidos graxos insaturados e ácido anacárdico, um de seus principais compostos bioativos, ao estudar o efeito do PF gerado por descarga luminescente de gás atmosférico sintético à baixa pressão na

composição e alergenicidade de castanhas de caju (*Anacardium occidentale*). Kodama; Thawatchaipracha; Sekiguchi, (2014) verificaram pelas imagens de microscopia eletrônica de varredura a formação de fissuras e depressões na superfície de casca de limão após exposição ao plasma a frio, o que levou a maior difusão de óleo essencial para o exterior e melhor rendimento na extração.

Não foram encontrados estudos relatando a aplicação de PF com o objetivo de melhorar especificamente a extração de compostos fenólicos hidrofílicos. Porém, a partir dos estudos de extração assistida por PF anteriormente citados e avaliando outros estudos de tratamento não-térmico de pasteurização com PF (Tabela 2), nos quais verifica-se uma maior disponibilização de compostos fenólicos na matriz alimentícia após o tratamento, pode-se inferir que a aplicação de PF como pré-tratamento ao processo de extração de compostos fenólicos possibilite uma maior recuperação desses compostos.

Tabela 2 – Efeito do tratamento por plasma a frio em diferentes matrizes alimentícias.

Matéria-prima	Parâmetros	Observação	Referências
Suco de caju e maçã	Gás N ₂ ; vazão 30 mL min ⁻¹ ; 10 min; 80 kHz; 30 kPa	Maior recuperação de fenólicos, flavonoides, vitamina C, sacarose e maior atividade antioxidante.	Rodriguez et al. (2017)
Casca de tangerina	Gás N ₂ ; 1000 mL min ⁻¹ ; 10 min; 900 W; 0,7 kPa	Maior recuperação de fenólicos e maior atividade antioxidante.	Won; Lee e Min (2017)
Mirtilo	Gás atmosférico; 1 min; 50 Hz; 80 kV	Maior recuperação de fenólicos e flavonoides, com alterações aceitáveis de cor e firmeza.	Sarangapani et al. (2017)
Suco de cereja	Argônio; 3 min; 4 W; 2,5 kV	Maior recuperação de fenólicos e antocianinas.	Elez Garofulic et al. (2015)

Diversos são os estudos sobre a tecnologia de PF e focados na inativação microbiológica, mas poucos com relação às reações químicas associadas e aos efeitos nos componentes dos alimentos, talvez pela complexidade das interações de espécies reativas do plasma com os vários compostos bioativos. A química de reação na modificação de

componentes funcionais dos alimentos é influenciada pelas condições de processo como voltagem, vazão de gás e tempo de tratamento (MUHAMMAD et al., 2018).

Por esse motivo é necessário chegar nas condições adequadas de processo para conseguir a liberação dos compostos bioativos, sem a sua degradação (no caso de exposição ao plasma a frio em condições mais severas, por exemplo), como ocorrido no estudo de Grzegorzewski et al. (2011), em que amostras de alface-de-cordeiro (*Valerianella locusta*) tratadas com PF tiveram um pequeno aumento na quantidade dos compostos fenólicos diosmetina, ácido protocatecuico e luteolina, enquanto os demais compostos foram degradados. Os autores sugeriram que interações combinadas de argônio e ERO como OH•, O e O₂, presentes no PF podem ter levado a erosão das camadas de tecido epidérmico, pelas quais os flavonoides e outros compostos acumulados nos vacúolos centrais de células guardas e epidérmicas foram não somente liberadas, mas também degradadas.

Alguns estudos avaliaram maior recuperação de compostos bioativos e maior atividade antioxidante combinando diferentes métodos de extração, como por exemplo o ultrassom e o micro-ondas. Pongmalai et al. (2015) verificaram maior teor de compostos bioativos extraíveis (glucosinolatos, sulforafano, ácido ascórbico e fenólicos) e maior atividade antioxidante de extrato de folhas de repolho devido aos efeitos da cavitação acústica promovidos pelo ultrassom e subsequente aquecimento interno dentro das células da planta por irradiação de micro-ondas, que resultaram em maiores danos estruturais e, portanto, maior liberação dos compostos, se comparado ao efeito de cada técnica separadamente.

A combinação das tecnologias verdes PF e ultrassom mostraram resultados positivos na inativação de micro-organismos, como no estudo de Liao et al. (2018), em que a exposição do plasma a frio e a aplicação do ultrassom acelerou a morte microbiana. Contudo, não foi encontrado até o momento um estudo combinando a aplicação de PF e ultrassom na extração de compostos fenólicos, o que poderia também ocasionar maiores alterações nas paredes celulares de plantas como a *Salicornia* e consequentemente liberar um maior teor desses compostos, aumentando a eficiência do processo de extração.

3.3 SALAME TIPO ITALIANO

3.3.1 Processamento, legislação e tendências

A Instrução Normativa (IN) nº 22 de 31 de julho de 2000 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), alterada pela IN nº 55 de 07 de Julho de

2003, fixa a identidade e estabelece as características mínimas de qualidade para os diferentes tipos de salames elaborados no Brasil. Pelo anexo V desta IN, o salame é definido como “produto cárneo industrializado, obtido de carne suína ou suína e bovina, adicionado de toucinho, ingredientes, embutido em envoltórios naturais e/ou artificiais, curado, fermentado, maturado, defumado ou não e dessecado”. Para o salame tipo Italiano, especificamente, o produto final deverá apresentar características físico-químicas conforme anexo XII da mesma IN, sendo alguns apresentados na Tabela 3 (BRASIL, 2003).

Produtos cárneos fermentados como o salame podem ser divididos em dois grandes grupos de acordo com o pH e a atividade de água (A_w) final do produto. O primeiro grupo compreende os salames ditos ácidos e semi-secos, cujo período de fermentação é curto. O produto final apresenta valores de pH inferiores ou iguais a 5,3 e valores de A_w inferiores a 0,95. O outro grupo é formado pelos salames ditos de baixa acidez e secos, como resultado de um longo período de fermentação. O pH final do produto é ao redor de 6,0 e a A_w geralmente menor do que 0,88 (PEARSON; GILLET, 1999). Em teoria, os salames brasileiros encaixam-se no grupo dito seco e de baixa acidez; a maturação é em torno de 30 dias, seu aroma e sabor são suaves e valores de pH estão em torno de 5,4 (TERRA; FRIES; TERRA, 2004).

Tabela 3 – Parâmetros físico-químicos legais para salame e salame tipo Italiano.

Parâmetros	Limite	Salame	Salame tipo Italiano
Umidade (%)	Máximo	40	35
Proteínas (%)	Mínimo	20	25
Gorduras (%)	Máximo	35	32
Carboidratos (%)	Máximo	4	4
Atividade de água	Máximo	0,92	0,90

Fonte: Brasil, (2003)

A Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) estabelece os limites para atendimento do padrão microbiológico de salames de diferentes tipos no Brasil (Coliformes a 45 °C no máximo de 10^3 Número Mais Provável - NMP g^{-1} , *Staphylococcus* coagulase positiva no máximo de 5×10^3 Unidades Formadoras de Colônia - UFC g^{-1} e ausência de *Salmonella* sp em 25 g), assim como os limites para a utilização de conservantes químicos, sendo que a quantidade de máxima residual (soma dos nitritos e nitratos) não deve superar $0,015 g 100 g^{-1}$, expressa como nitrito de sódio (BRASIL, 2003).

Diversos estudos com o objetivo de melhorar a qualidade nutricional dos salames têm sido desenvolvidos, como a inclusão de pescado de baixo valor comercial, mas alto teor

proteico como a corvina (*Micropogonias furnieri*) (GUEVARA, 2014); a inclusão de pólen de abelha (ZHANG et al., 2016) e de própolis (KUNRATH et al., 2017) como antioxidantes naturais; aplicação do ultrassom para fins de conservação e melhoria das características sensoriais (ALVES et al., 2018); inclusão de bactérias probióticas (BLAIOTTA et al., 2017; PÉREZ-BURILLO et al., 2019); inclusão de fibras dietéticas (PÉREZ-BURILLO et al., 2019); inclusão de óleos vegetais (BOZKURT, 2006); e inclusão de extrato de plantas (KHARRAT et al., 2018; PIL-NAM et al., 2016; SUCU; TURP, 2018; ZHANG et al., 2016).

No que tange à conservação de produtos cárneos como o salame, o maior desafio é a prevenção da oxidação lipídica, que ocasiona descoloração e aromas indesejáveis, também descritos como rançosos, que podem trazer sérios problemas de saúde e risco para os consumidores (LORENZO; GÓMEZ, 2012).

O cloreto de sódio (NaCl) é um dos principais ingredientes no processamento de salames, e está relacionado a estabilidade microbiológica, sabor e textura, sendo adicionado na faixa de 2 a 4% na massa cárnea, que após a etapa de secagem sua concentração final é aumentada. O sódio pode estar presente também nos conservantes nitrito, nitrato, ascorbato ou eritorbato, elevando ainda mais o teor do mesmo no produto final (ZANARDI et al., 2010). O consumo excessivo de sódio aumenta a pressão arterial, risco de infarto, doenças cardiovasculares e renais, e por isso a Organização Mundial da Saúde recomendou em 2012 a redução do consumo de sódio através da alimentação em adultos até 2 g por dia ou mais (o que equivale a um total de 5 g por dia de ingestão ou menos) (WHO, 2012).

Diversos estudos estão direcionados no desenvolvimento de produtos com teor reduzido de sódio, utilizando: outros sais como o cloreto de potássio (KCl); realçadores de sabor como o glutamato monossódico; extrato de leveduras e de plantas; além da aplicação de novas tecnologias como alta pressão hidrostática e ultrassom para garantir a segurança microbiológica, sem afetar a qualidade nutricional e sensorial desses produtos (INGUGLIA et al., 2017).

O uso de nitrato e nitrito de sódio (sais de cura) também estão relacionados ao desenvolvimento de cor, sabor e textura, além da segurança microbiológica de embutidos como os salames. Porém, seu consumo tem sido associado a efeitos carcinogênicos em função da formação de produtos de sua reação com aminas secundárias (nitrosaminas), favorecida pelas condições ácidas (como no estômago) e pelo calor (como no cozimento em altas temperaturas, em frituras). Neste contexto, a indústria de carnes tem buscado desenvolver alternativas ao uso de nitrito, como os extratos vegetais para atender a demanda dos

consumidores cada vez mais exigentes por produtos naturais (ALAHAKOON et al., 2015; BEDALE; SINDELAR; MILKOWSKI, 2016).

3.3.2 Uso de extratos vegetais como aditivo natural

O salame é considerado em geral um alimento não balanceado do ponto de vista nutricional por conter alto teor de sal e lipídeos, além da falta de moléculas bioativas como compostos fenólicos e outros fitoquímicos (MARTÍNEZ; NIETO; ROS, 2014), mas é muito consumido em vários países do mundo (BLAIOTTA et al., 2017). Por isso o crescente interesse em melhorar a qualidade nutricional do salame pelas indústrias alimentícias, utilizando fontes naturais como os extratos vegetais.

O uso desses extratos ricos em compostos bioativos obtidos a partir da extração com solvente etanol, são reconhecidos como GRAS (*Generally Recognized As Safe*) pelo FDA (*Food and Drugs Administration*) (NIKMARAM et al., 2018; OROIAN; ESCRICHE, 2015); não devem afetar negativamente a cor, o odor ou o sabor; devem ser eficazes em baixas concentrações e compatíveis com os alimentos com facilidade de aplicação; devem reter estabilidade durante o processamento e prazo de validade; além de ser econômico (LORENZO et al., 2018). A adição de extratos de plantas com atividade antioxidante estabiliza os níveis de colesterol, inibe a formação de produtos de oxidação do colesterol e reduz a formação de amina heterocíclica em carne cozida, além de reduzir o risco de doenças degenerativas relacionadas aos danos nos tecidos ocasionados pelo estresse oxidativo e ROS (*Reactive Oxygen Species*). (FALOWO; FAYEMI; MUCHENJE, 2014).

Kharrat et al. (2018) avaliaram a substituição parcial de aditivos sintéticos por extrato natural da planta pêra espinhosa vermelha (*Opuntia stricta*) em salames estocados a 4 °C por 30 dias e verificaram que a adição de 2,5% desse extrato natural foi efetivo como corante, antioxidante e antimicrobiano (concentração mínima inibitória de 15,6 a 62,5 µg mL⁻¹, comparável ao nitrito de sódio), sem afetar as características sensoriais, inclusive sendo mais apreciado pelos provadores em função da diminuição da dureza e mastigabilidade dos mesmos. Os efeitos observados foram atribuídos pelos autores à presença de compostos bioativos como o pigmento betalaína, polissacarídeos e compostos fenólicos.

Kurčić et al. (2014) verificaram que o extrato etanólico da planta *Kitaibelia vitifolia* (10% m/v) na concentração de 12,5 g kg⁻¹ de massa cárnea de salame apresentou alta atividade antioxidante (IC₅₀ = 15,6 µg mL⁻¹ pela atividade de sequestro de radical DPPH[•]) e moderada atividade antimicrobiana contra *Escherichia coli* (concentração mínima inibitória =

15,63 $\mu\text{g mL}^{-1}$), sem interferência na aceitação sensorial e composição proximal quando comparado ao produto convencional.

Martínez et al. (2019) caracterizaram diferentes extratos de frutas e vegetais quanto a atividade antioxidante e antimicrobiana e adicionaram em produto cárneo seco e curado (chouriço espanhol) como aditivo natural e verificaram que o extrato combinado da parte não-comestível de laranja (*Citrus sinensis* L.) e alecrim (*Rosemarinus officinalis* L.) apresentou um efeito sinérgico, com maior atividade antioxidante e antimicrobiana se comparado a aplicação dos mesmos individualmente. O efeito foi explicado pelo aumento no teor de vitamina C (presente em grande quantidade em citrus como acerola), que age como doador de próton aos compostos fenólicos, cujo grupos hidroxila são responsáveis pela ação antioxidante e antimicrobiana.

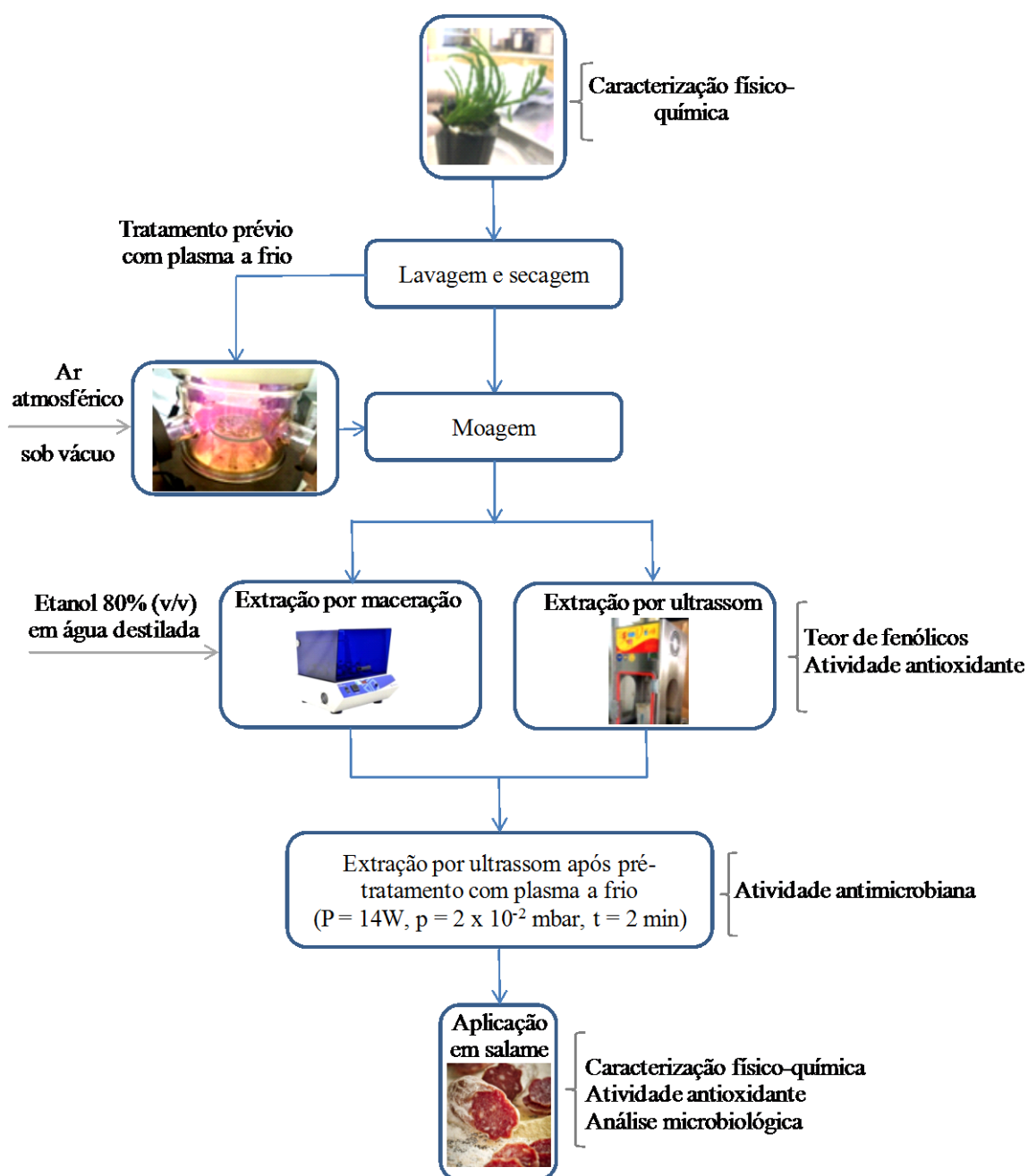
Após revisão da literatura, não encontramos estudos de inclusão de extrato de *Salicornia* em produtos de charcutaria, mas verifica-se grande potencial de utilização desse extrato rico em compostos bioativos como substituto aos conservantes químicos como o nitrato e nitrito de sódio.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 DESENVOLVIMENTO GERAL

A Figura 2 apresenta o esquema de trabalho com as etapas que foram realizadas, desde a coleta de *Salicornia neei* até a aplicação de seu extrato em salame tipo Italiano.

Figura 2 – Esquema de trabalho proposto para obtenção e aplicação do extrato de *Salicornia neei*.



Os seguintes métodos de extração foram avaliados quanto o teor de fenólicos conjugados e atividade antioxidante: (1) por maceração com orbital shaker; (2) por ultrassom; (3) por maceração com orbital shaker após pré-tratamento com PF e (4) por ultrassom após pré-tratamento com PF. Após verificação do potencial de aplicação do PF como pré-tratamento seguido da extração por ultrassom, foram testados mais oito parâmetros de aplicação de PF, até a escolha do método de extração ($P = 14 \text{ W}$, $p = 2 \times 10^{-2} \text{ mbar}$, $t = 5 \text{ min}$).

Para análise de atividade antimicrobiana e aplicação no processamento de salame tipo Italiano, foi obtido um extrato de salicornia (ES) a partir do método de extração escolhido, porém em maior concentração ($0,1 \text{ g mL}^{-1}$ ao invés de $0,01 \text{ g mL}^{-1}$), e sem o tratamento posterior de clarificação com hidróxido de bário e sulfato de zinco para a retirada de proteínas precipitadas, procedimento efetuado somente para reduzir os interferentes nas análises químicas realizadas na avaliação dos métodos de extração. A concentração do ES foi aumentada com base em testes preliminares efetuados de análise antimicrobiana.

Todas as análises e procedimentos experimentais foram realizadas no Laboratório de Tecnologia de Alimentos (LTA) da EQA (Escola de Química e Alimentos), com exceção da aplicação do PF, que foi efetuada no Laboratório de Plasma do Instituto de Matemática, Estatística e Física (IMEF), e da Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV), que foi efetuada no Centro de Microscopia Eletrônica do Sul (CEME - Sul), todos na Universidade Federal do Rio Grande (FURG), Rio Grande, RS.

4.2 MATÉRIA-PRIMA

As plantas frescas de *Salicornia neei* Lag. pertencentes à linhagem BTH2 desenvolvidas pelo Laboratório de Biotecnologia de Halófitas (BTH) do Instituto de Oceanografia (IO) da Universidade Federal do Rio Grande (FURG), Rio Grande, RS, Brasil ($32^{\circ} 04' \text{ S}$, $52^{\circ} 09' \text{ W}$) foram gentilmente cedidas para a realização deste trabalho.

A carne suína e o toucinho para elaboração de salames tipo Italiano foram adquiridas no mercado local de Rio Grande, RS, Brasil, sob condições de refrigeração a 4°C . Os seguintes materiais e ingredientes foram gentilmente cedidos: envoltórios de colágeno com calibre de 50 mm da fabricante Viscofan pela Comercial SC (Pinhalzinho, SC, Brasil); cultura starter Bactoflavor® BFL-F04 (composto pelos micro-organismos *Pedococcus pentosaceus* e *Staphylococcus xylosus*) pela Chr. Hansen (Valinhos, SP, Brasil); além de

eritorbato de sódio, condimento para salame italiano, sacarose, nitrato e nitrito de sódio (sal de cura) pela Kienast & Kratschmer (São Paulo, SP, Brasil).

4.3 MICRO-ORGANISMOS E REAGENTES

Os micro-organismos utilizados para análise de atividade antimicrobiana foram cepas padrão das espécies de bactérias *Escherichia coli* O157:H7 (ATCC 43895) e *Staphylococcus aureus* (ATCC10832), incubadas em caldo infusão de coração e cérebro – *Brain Heart Infusion* (BHI) (Kasvi Imp. E Dist., Curitiba, PR). Os reagentes químicos utilizados nas análises foram todos de grau analítico reconhecido.

4.4 MÉTODOS

4.4.1 Cultivo e coleta das plantas *Salicornia neei*

As plantas de *S. neei* foram obtidas através da propagação vegetativa a partir de fragmentos de caule (“estacas”) de indivíduos adultos disponíveis no germoplasma do BTH, conforme protocolo de Costa & Herrera, (2016). Todas as plantas cresceram por 3 meses em vasos de 1500 cm³ preenchidos com uma mistura 1:1 (m/m) de composto orgânico (Humosolo Vida©) e areia fina de praia, previamente peneirado em malha de 5 mm, em estufa não climatizada do BTH (Figura 3). Os vasos com plantas foram colocados em bandejas com água, sendo os solos mantidos saturados e a água trocada semanalmente.

Figura 3 – Coleta das plantas *Salicornia neei* utilizadas no presente estudo



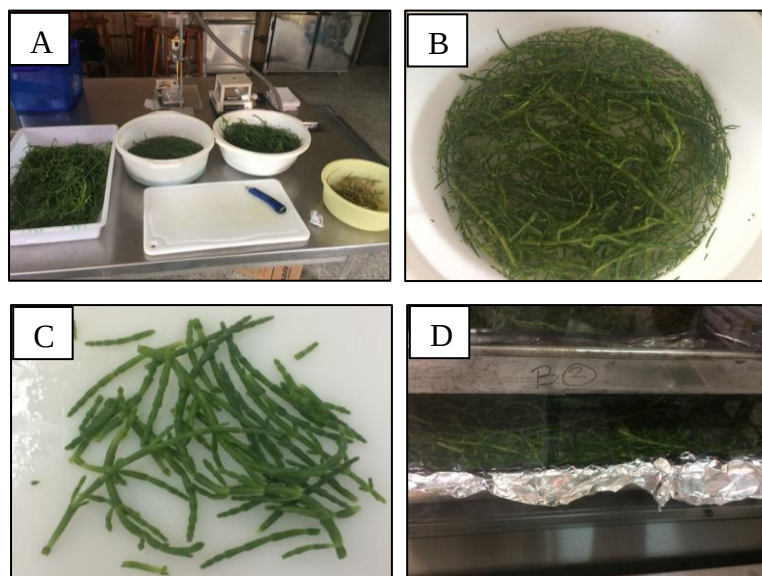
O cultivo foi realizado de 23/12/2018 a 22/01/2019 dentro de estufa não climatizada e com irrigação das plantas com água doce de torneira (condutividade elétrica e pH, respectivamente, de 2,10 dS m⁻¹ e 6,7). A estufa foi recoberta com filme transparente com tratamento anti radiação UV e espessura de 0,125 mm, responsável pela atenuação da radiação solar de 57% da radiação solar incidente.

A coleta da biomassa foi realizada em 22/01/2019, sendo utilizado tesoura de poda para corte das partes aéreas (caule e folhas) das plantas, de comprimento em torno de 20 cm. As mesmas foram colocadas em caixas de isopor e imediatamente transportadas para o Laboratório de Tecnologia de Alimentos (LTA) da FURG.

4.4.2 Lavagem, secagem e moagem das plantas *Salicornia neei*

As partes aéreas (folhas e caule) de *S. neei* foram lavadas com água destilada, secas em papel toalha e colocadas em estufa (G.Paniz FTE 150, Caxias do Sul, Brasil) com circulação de ar a 50 °C por 24 h (Figura 4).

Figura 4 – Tratamento das plantas de *Salicornia neei* logo após a coleta.



A - Seleção e retirada das sujidades e caules lignificados, B – Detalhe da lavagem em água destilada, C – Detalhe das plantas antes de serem colocadas nas bandejas, D – Disposição das plantas em bandejas para secagem em estufa.

Após esse período, as plantas secas das quatro bandejas foram misturadas antes de serem armazenadas em sacos plásticos de polietileno ao abrigo de luz e em temperatura ambiente. Parte das amostras secas foi submetida ao PF antes da extração dos compostos fenólicos (por maceração com orbital shaker e por ultrassom) e posteriormente todas as

amostras, submetidas e não submetidas ao PF, foram moídas em moedor de cozinha (Cuisinart[®], São Paulo, Brasil) e peneiradas para uma granulometria de no máximo 1,18 mm (Bertel, Caieiras, Brasil). O pó de *S. neei* foi armazenado a temperatura ambiente em sacos de polietileno ao abrigo de luz até a realização das análises e extração dos compostos fenólicos.

4.4.3 Caracterização das plantas de salicornia

A composição proximal das plantas *S. neei* foi avaliada segundo método descrito pela *Association of Official Analytical Chemists* (AOAC, 2000): umidade (método n° 935.29); cinzas (método n° 923.03); lipídeos totais (método n° 920.85); proteína bruta (método de Kjeldahl, n° 920.87, usando fator de conversão de 6,25) e fibra bruta (método 962.09), sendo esta última determinação realizada no Laboratório CBO (Valinhos, SP). O teor de carboidratos foi calculado pela diferença, considerando 100 g a menos da soma (g) de umidade, proteínas, lipídeos, cinzas e fibras.

4.4.4 Extração por maceração com orbital shaker

Os compostos fenólicos foram extraídos conforme descrito por Souza et al. (2018a). As amostras de pó de *S. neei* (250 mg) foram adicionadas de 10 mL de etanol 80% (v/v) em água destilada e submetidas a extração por maceração com orbital shaker (Tecnal, Piracicaba, Brasil) a 180 rpm, 25 °C, por 60 min. A agitação foi interrompida por 15 min, foram adicionados mais 5 mL de etanol 80% (v/v) em água destilada e a agitação recomeçada por mais 90 min. Os extratos foram clarificados com 2,5 mL de hidróxido de bário 0,1 M e 2,5 mL de sulfato de zinco 5%, diluídos em água destilada, centrifugados a 2990xg por 5 minutos e filtrados em papel de filtro Prolab (poros de até 12 µm). Ao filtrado foi adicionado etanol 80% (v/v) em água destilada até completar o volume final de 25 mL. O extrato obtido foi armazenado a 4 °C, na ausência de luz, até a realização das análises.

4.4.5 Extração por ultrassom

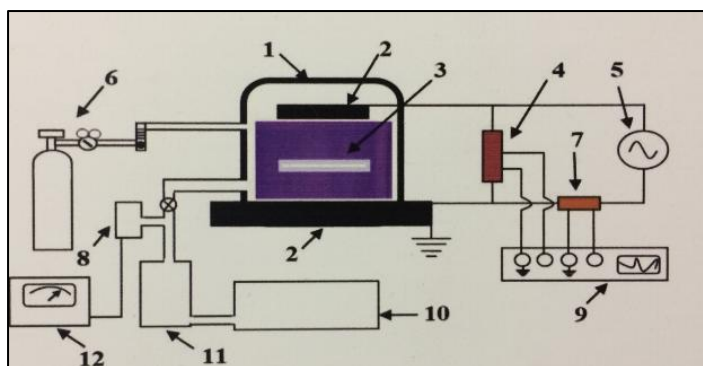
Os compostos fenólicos foram extraídos conforme descrito por Souza et al., (2018a), com adaptações. As amostras de pó de *S. neei* (250 mg) foram adicionadas de 15 mL de etanol 80% (v/v) em água destilada, colocadas em tubo para centrífuga sob banho de gelo para a extração por ultrassom (Desruptor ultrassônico, Ecosonics, QR750, 60 Hz, 20 kHz, 750

W, Brasil), sendo a potência ajustada no visor do equipamento para 35% (equivalente a 275 W) por 30 min. A microponeta de titânio (4 mm) do desruptor foi introduzida até imersão de aproximadamente 0,5 cm. O extrato obtido foi clarificado com 2,5 mL de hidróxido de bário 0,1 M e 2,5 mL de sulfato de zinco 5% (m/v) em água destilada, centrifugado (Centrífuga Eppendorf 5804 R, Alemanha) a 2990xg e filtrado, sendo o volume final de 25 mL. O extrato obtido foi armazenado a 4 °C, na ausência de luz, até a realização das análises.

4.4.6 Pré-tratamento com plasma a frio

As plantas de salicornia (400 g) foram submetidas à aplicação de plasma a frio (PF) após a etapa de secagem em estufa, antes de serem moídas, conforme descrito por Romani et al. (2019b) com adaptações, em uma câmara de plasma à vácuo, alimentado por gás atmosférico seco e uma fonte de corrente alternada (60 Hz) entre dois eletrodos, sendo um deles aterrado, gerando a descarga incandescente (Figura 5).

Figura 5 – Esquema do equipamento para aplicação do plasma a frio.



Fonte: Romani et al. (2019b). (1) Câmara de plasma a vácuo, (2) Eletrodos, (3) Amostra, (4) Sonda de alta voltagem, (5) Fonte de energia (0-15kV), (6) Cilindro de ar seco, (7) Resistor de desvio (8) Medidor de vácuo, (9) Osciloscópio, (10) Bomba mecânica de vácuo, (11) Vácuo turbo molecular, (12) Medidor de vácuo.

As plantas secas foram quebradas manualmente em pequenas hastes de comprimento aproximado de 1 cm, espalhadas em uma placa redonda de vidro suspensa por um suporte plástico, e então colocadas no interior da câmara sem que uma estivesse sobreposta a outra para maior contato das superfícies das plantas com o PF (Figura 6). Após fechamento da câmara de plasma à vácuo com tampo de vidro, a voltagem e a pressão de vácuo do sistema foram ajustados até a geração da descarga luminescente. A potência foi calculada posteriormente a partir dos dados gravados no osciloscópio.

Figura 6 – Equipamento para aplicação de plasma a frio instalado no IMEF/FURG.



Os parâmetros de pressão, potência e tempo de exposição da amostra ao PF foram testados dentro das seguintes faixas de operação, respectivamente: de 2×10^{-2} a $2,66 \times 10^{-2}$ mbar, de 5 a 15 W e de 5 a 60 min. Após a aplicação do PF, uma parte das amostras foi submetida a extração convencional (por maceração com orbital shaker, conforme descrito no item 4.3.2) e a outra parte submetida a extração não-convencional (por ultrassom, conforme descrito no item 4.3.3).

Para cada método de extração foi avaliado o teor de fenólicos conjugados e atividade antioxidante pelos métodos (1) - capacidade de sequestro de radical 2,2-difenil-1-picril-hidrazila (DPPH $\cdot$); (2) - capacidade de captura do radical catiônico ABTS $^{++}$ (2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico)) e (3) - capacidade de redução do ferro (FRAP); além da atividade antimicrobiana.

4.4.7 Determinação de compostos fenólicos conjugados

A determinação do teor de compostos fenólicos conjugados nos extratos de *S. neei* tratados e não-tratados com plasma a frio foi efetuada pelo método descrito por Singleton; Orthofer; Lamuela-Raventós, (1999), com modificações de Souza et al. (2018a). Alíquotas de 0,5 mL do extrato etanólico de *S. neei* ($0,01 \text{ g mL}^{-1}$ e $0,1 \text{ g mL}^{-1}$) foram adicionados em tubos de teste com 0,5 mL de água destilada e 4,5 mL de solução alcalina (Na_2CO_3 a 4% (m/v), CuSO_4 a 2% (m/v), e de tartarato de sódio e potássio a 4% (m/v) em água destilada, na proporção 100:1:1) e agitados por 1 min. Os tubos foram incubados durante 15 min em banho-maria a 40 °C. As misturas foram agitadas por 30 s em banho ultrassom com 0,5 mL do

reagente de Folin-Ciocalteu diluído em água destilada (1:2). Após 10 min foi medida a absorbância das amostras no comprimento de onda de 750 nm em espectrofotômetro (Biospectro, SP-22, Curitiba, Brasil) e o teor de fenóis conjugados foi calculado com base em uma curva analítica construída (Apêndice 1) com uma solução padrão de ácido gálico (0-29 $\mu\text{g mL}^{-1}$). Os resultados foram expressos em μg de equivalente de ácido gálico (EAG) g^{-1} de massa seca (ms).

4.4.8 Atividade antioxidante

4.4.8.1 Capacidade de sequestro de radical 2,2-difenil-1-picril-hidrazila (DPPH $\cdot$)

A capacidade de sequestro de radical DPPH $\cdot$ foi efetuado para cada extrato de *S. neei* (0,01 e 0,1 g mL^{-1}) conforme Brand-Williams; Cuvelier; Berset, (1995), com modificações de Souza et al. (2018b). 10 μL de solução etanólica de DPPH $\cdot$ (0,80 mg mL^{-1}) foram adicionados a 190 μL do extrato em microplaca de 96 poços e ficaram sob lenta agitação em orbital shaker (Tecnal, Piracicaba, Brasil) a 37 rpm, por 60 min, a 25 °C, sob abrigo de luz. A absorbância a 515 nm foi medida em leitora de microplacas (Polaris, Belo Horizonte, Brasil).

O sequestro de radical livre (SRL) foi calculado em % com base nas medidas de absorbância dos reagentes ($\text{ABS}_{\text{controle}}$) e absorbância das amostras de extrato de *Salicornia* ($\text{ABS}_{\text{amostra}}$), segundo a Equação 1:

$$\text{SRL}_{\text{DPPH}} = \frac{(\text{ABS}_{\text{controle}} - \text{ABS}_{\text{amostra}})}{\text{ABS}_{\text{controle}}} \times 100 \quad (1)$$

Para melhor análise dos diferentes tratamentos de plasma a frio, também foi calculado a inibição específica (IE), através da razão entre o percentual de SRL calculado pela Equação 1 (SRL_{DPPH}) e a concentração dos compostos fenólicos ($\text{C}_{\text{fenóis}}$), sendo expressa em % de inibição de radical DPPH $\cdot$ / mg de fenólicos, segundo a Equação 2:

$$\text{IE}_{\text{DPPH}} = \frac{\text{SRL}_{\text{DPPH}}}{\text{C}_{\text{fenóis}}} \quad (2)$$

4.4.8.2 Capacidade de captura de radical catiônico 2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico) (ABTS^{•+})

A capacidade de captura do radical catiônico ABTS^{•+} (2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico)) pelos extratos de *S. neei* (concentrações de 0,01 e 0,1 g mL⁻¹) foi avaliada segundo método descrito por Re et al. (1999), com modificações. Alíquotas de 50 µL do extrato (0,01 e 0,1 g mL⁻¹) foram homogeneizadas em 150 µL da solução de trabalho do radical ABTS^{•+}. A absorbância a 734 nm foi avaliada em leitora de microplacas (Polaris, Belo Horizonte, Brasil), após a incubação das mesmas sob agitação em orbital shaker (Tecnal, Piracicaba, Brasil) a 37 rpm por 6 min a 30 °C. Os resultados foram expressos em % com base nas medidas de absorbância dos reagentes (ABS_{controle}) e absorbância das amostras de extrato de *S. neei* (ABS_{amostra}), segundo a Equação 3:

$$SRL_{ABTS} = \frac{(ABS_{controle} - ABS_{amostra})}{ABS_{controle}} \times 100 \quad (3)$$

Para melhor análise dos diferentes tratamentos de plasma a frio, também foi calculado a inibição específica (IE), através da razão entre o percentual de SRL calculado pela Equação 3 e a concentração dos compostos fenólicos (C_{fenóis}), sendo expressa em % de inibição de radical ABTS^{•+} / mg de fenólicos, segundo a Equação 4:

$$IE_{ABTS} = \frac{SRL_{ABTS}}{C_{fenóis}} \quad (4)$$

4.4.8.3 Capacidade de redução do ferro (FRAP)

A capacidade de reduzir o íon férrico (Fe³⁺) dos extratos de *S. neei* (0,01 e 0,1 g mL⁻¹) foi determinada segundo método descrito por Pulido; Bravo e Saura-Calixto (2000). Alíquotas de 30 µL do extrato foram homogeneizadas em 90 µL de água destilada e 900 µL da solução de trabalho, elaborada através da homogeneização de 100 mL de tampão acetato – pH 3,6 (0,2 M), 2,5 mL da solução TPTZ (2,4,6-tripiridil-s-triazina) 10 mM e 2,5 mL de cloreto férrico - FeCl₃ (20 mM). A solução foi homogeneizada e armazenada a 37 °C durante 30 min. A absorbância a 630 nm foi mensurada em leitora microplacas (Polaris, Belo Horizonte, Brasil). Os resultados foram expressos como equivalente de Trolox (6-hidroxi-

2,5,7,8-tetrametilcromo-2-ácido carboxílico), com base na curva padrão de Trolox (0 a 15 $\mu\text{g mL}^{-1}$) (Apêndice 2).

4.4.9 Atividade antimicrobiana

A atividade antimicrobiana do extrato de salicornia (ES) foi efetuada pelo método de disco difusão frente a uma cepa de micro-organismo Gram-positiva (*Staphylococcus aureus* - ATCC 25923) e outra cepa Gram-negativa (*Escherichia coli* - ATCC 25922), conforme metodologia descrita por NCCLS, (2003). Nas placas de Petri estéreis contendo ágar *Brain Heart Infusion* (BHI) foram inoculados 100 μL de suspensão microbiana (padrão McFarland 0,5), espalhados uniformemente. Em seguida, 10 μL do ES (concentrações de 0,01 e 0,1 g mL^{-1}) foram colocados em discos estéreis de papel filtro (0,5 cm de diâmetro). Estes foram colocados no ágar inoculado possibilitando a difusão do composto e as placas foram mantidas incubadas a 37 °C por 24 h. Ao final da incubação, as zonas de inibição foram medidas em quatro pontos diferentes com auxílio de uma régua e avaliadas com relação ao controles negativo, preparado com o respectivo solvente sem a adição do extrato.

4.4.10 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

Estudos da microestrutura do pó de *S. neei* antes e após exposição ao plasma a frio, foram realizados em microscópio eletrônico de varredura (Jeol, JSM - 6610LV, Tóquio, Japão) operando a 15 kV. As amostras do pó de *S. neei* foram depositadas em suportes de alumínio (*stubs*) revestidos com uma fita condutora de carbono. Em seguida, as mesmas foram recobertas com uma fina camada de ouro em *Sputtering* (Desk, Denton Vacuum, Estados Unidos) durante 120 s. A morfologia das amostras foi observada em 1500x, 5000x e 10000x de ampliação.

4.4.11 Obtenção do extrato de salicornia (ES) para aplicação em salame tipo Italiano

Após o estudo dos métodos de extração foi escolhido para aplicação no processamento de salame tipo Italiano o método de extração por ultrassom após pré-tratamento com PF (parâmetros de operação de $P = 14 \text{ W}$, $p = 2 \times 10^{-2} \text{ mbar}$, $t = 5 \text{ min}$). As plantas de *S. neei* (4,8 g) foram expostas ao PF (12 bateladas com 400 mg cada uma) e após

moagem foram submetidas a extração por ultrassom ($P = 275 \text{ W}$, $t = 30 \text{ min}$), em 2 bateladas com 2,4 g e 25 mL de etanol a 80% (v/v) em água destilada para cada uma. Os extratos não-clarificados das duas bateladas foram centrifugados (Centrífuga Eppendorf 5804 R, Alemanha) a 2990xg, filtrados e misturados, sendo o volume final de 50 mL e a concentração final de $0,1 \text{ g mL}^{-1}$. O extrato foi armazenado a $4 \text{ }^{\circ}\text{C}$, na ausência de luz, até a adição direta à massa cárnea juntamente com os demais ingredientes na etapa de mistura.

4.4.12 Obtenção de pó de salicornia para aplicação em salame tipo Italiano

Somente para fins de comparação com o ES, o pó de salicornia também foi aplicado diretamente na formulação de salame tipo Italiano. Plantas secas de *S. neei* foram moídas e peneiradas (granulometria menor que 0,355 mm), resultando em pó de salicornia. Este pó foi armazenado em pote plástico ao abrigo de luz e à temperatura ambiente até a aplicação nos salames, quando foi adicionado diretamente à massa cárnea juntamente com os demais ingredientes na etapa de mistura.

4.4.13 Processamento do salame tipo Italiano

A formulação controle foi preparada conforme proposto por Alves et al., (2018) com adaptações, uma vez que os autores utilizaram 1% de sal (NaCl) e dois tipos de carne, a suína (60%) e a bovina (30%); e neste estudo foi utilizado uma concentração maior de sal (2%) e somente carne suína (85%).

Para o processamento de salame tipo Italiano, cinco formulações foram elaboradas da seguinte maneira: uma formulação controle (F1), duas formulações de salame com adição de ES, sem adição de eritorbato de sódio e com teores reduzidos de sais de cura (nitrito e nitrato de sódio na proporção de 1:2) em 50% e 25%, (F2 e F3, respectivamente), e duas formulações com adição direta do pó de salicornia sem adição de eritorbato de sódio, com teores reduzidos de sal em 50% e com teores reduzidos de sais de cura em 50% e 25% (F4 e F5, respectivamente) (Tabela 4).

A metodologia seguida para a produção de salame tipo Italiano, segue o esquema representado na Figura 7, sendo que a primeira etapa de moagem da carne suína foi efetuada nas instalações do fornecedor local.

Tabela 4 – Formulações utilizadas para elaboração de salame tipo Italiano com adição de pó e extrato de *Salicornia neei* (ES).

Ingredientes	F1 (%)	F2 (%)	F3 (%)	F4 (%)	F5 (%)
Carne suína - pernil	85,425	84,825	84,750	85,425	85,350
Toucinho	10	10	10	10	10
Condimento para salame italiano	1	1	1	1	1
Cultura starter	0,025	0,025	0,025	0,025	0,025
Sacarose	1	1	1	1	1
Sais de cura	0,300	0,150	0,225	0,150	0,225
Eritorbato de sódio	0,250	0	0	0	0
Cloreto de sódio	2	2	2	1	1
Extrato de <i>Salicornia</i>	0	1	1	0	0
Pó de <i>Salicornia</i>	0	0	0	1,4	1,4
Total	100	100	100	100	100

F1 - Formulação controle; F2 - Formulação com substituição de 50% dos sais de cura e 100% de eritorbato de sódio por ES (0,1 g mL⁻¹); F3 - Formulação com substituição de 25% dos sais de cura e 100% de eritorbato de sódio por ES (0,1 g mL⁻¹); F4 - Formulação com substituição de 50% de sais de cura, 100% de eritorbato de sódio e 50% de cloreto de sódio por pó de *S. neei*; F5 - Formulação com substituição de 25% de sais de cura, 100% de eritorbato de sódio e 50% de cloreto de sódio por pó de *S. neei*.

No Laboratório de Tecnologia de Alimentos (LTA), foram efetuados os seguintes passos: (1) recebimento da carne suína (pernil) moída; (2) corte do toucinho em cubos de aproximadamente 1 cm³; (3) mistura manual em bacias plásticas da carne suína, do toucinho e dos ingredientes que foram adicionados na seguinte ordem à massa cárnea: mistura de cloreto de sódio, sacarose, condimentos para salame tipo Italiano e pó de *S. neei* (este último somente para as formulações F4 e F5), eritorbato de sódio (somente F1), cultura starter diluída em pequena quantidade de água destilada, ES (somente para as formulações F2 e F3) e por último os sais de cura; (4) embutimento da massa cárnea em envoltórios de colágeno de calibre 50 mm, previamente imersas em solução salina 17% (m/v) em água destilada a 32 °C por 30 min, utilizando uma embutideira manual de 2 kg de capacidade, seguido pelo fechamento das tripas com barbante de forma manual e com grampos metálicos utilizando uma grampeadora manual; (5) Pendura em suporte de ferro para defumação por um período total de 5 h dividido em 3 dias, utilizando-se carvão e serragem de macieira sob bandeja de alumínio com areia, dentro da capela, sendo o sistema de exaustão ligado de tempos em tempos para que a temperatura média atingida fosse de no máximo 27 °C (Figura 8); (6) fermentação a uma temperatura média de 24 °C e umidade relativa média de 79% nos primeiros 5 dias; (7) maturação a uma temperatura média de 17 °C e umidade relativa média de 68%, em uma

câmara incubadora de tipo *Biochemical Oxygen Demand* - B.O.D (Marconi, MA415, Piracicaba, Brasil) (Figura 9); (8) embalagem à vácuo (TecMaq, AP 450, São Paulo, Brasil) e por fim a armazenamento sob refrigeração (4 °C) até a realização das análises. Os salames tipo Italiano ficaram prontos ao final de 14 dias, verificado pela perda de peso e aspecto visual dos mesmos.

Figura 7 – Esquema do processamento de salame tipo Italiano.

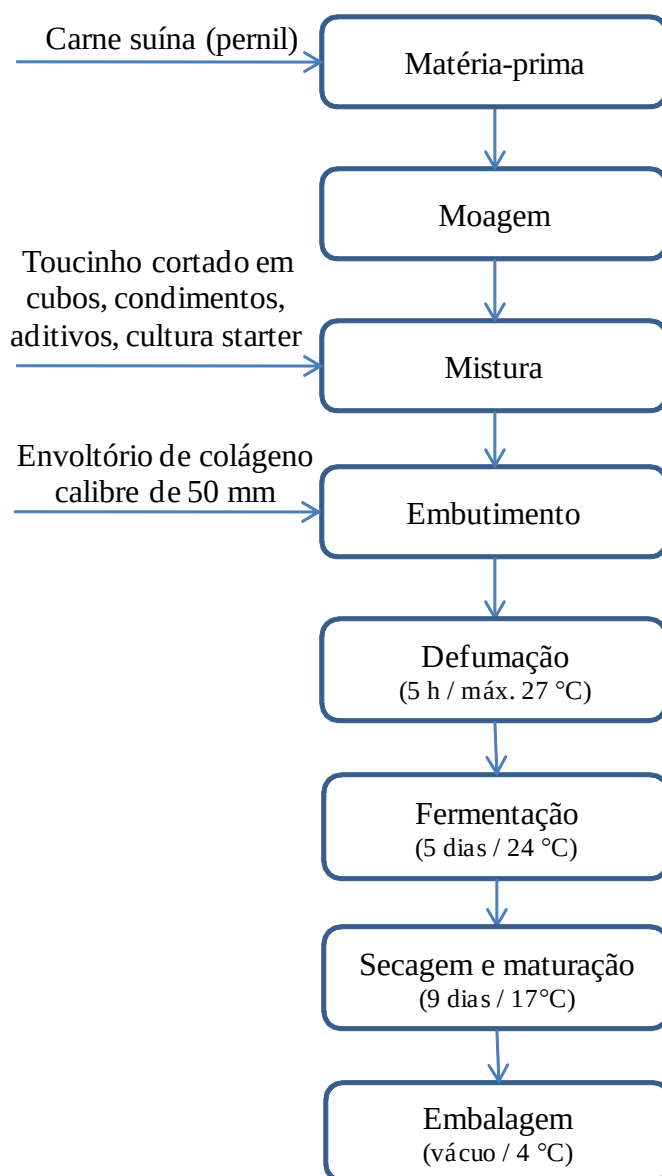


Figura 8 – Etapas do processamento de salame tipo Italiano.



A – Embutimento da massa cárnea nas tripas de colágeno; B – Fechamento dos salames com grampeadora manual; C – Pendura dos salames e defumação em capela; D – detalhe do carvão e serragem utilizados para gerar a fumaça.

Figura 9 – Salames tipo Italiano com e sem extrato de *Salicornia neei* (ES) pendurados na câmara incubadora para o processo de fermentação e maturação.



Salames pendurados na câmara incubadora (tempo 0), da esquerda para direita: F1 - Formulação controle; F2 - Formulação com substituição de 50% dos sais de cura e 100% de eritorbato de sódio por ES ($0,1 \text{ g mL}^{-1}$); F3 - Formulação com substituição de 25% dos sais de cura e 100% de eritorbato de sódio por ES ($0,1 \text{ g mL}^{-1}$); F4 - Formulação com substituição de 50% de sais de cura, 100% de eritorbato de sódio e 50% de cloreto de sódio por pó de *S. neei*; F5 - Formulação com substituição de 25% de sais de cura, 100% de eritorbato de sódio e 50% de cloreto de sódio por pó de *S. neei*.

4.4.14 Caracterização do salame tipo Italiano

Nas amostras de cada formulação de salame tipo Italiano foram determinados: perda de massa, pH, substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) e atividade antioxidante pela medição da capacidade de sequestro de radical 2,2-difenil-1-picril-hidrazila (DPPH[·]) nos tempos 0, 7 e 14 dias, para avaliar o poder de acidificação das culturas e a oxidação lipídica, durante o período de fermentação e maturação dos salames; além de cor e textura ao final do processamento no tempo 14 dias. A composição proximal, determinação de NaCl e análise microbiológica (*Salmonella sp*, *Staphylococcus* Coagulase Positiva e Coliformes a 45°) foram também foram avaliados no tempo 14 dias, porém somente para as formulações F1(controle), F2 e F3 (com extrato de *S. neei*).

4.4.14.1 Determinação de pH

O pH dos extratos de salame foi determinados conforme *Association of Official Analytical Chemists* - AOAC (2000). As amostras de salame (5 g) foram homogeneizadas em água destilada (50 mL) com auxílio de um mixer (Toastmaster 1740, Missouri, EUA). No sobrenadante foram determinados o pH potenciométricamente, utilizando-se um pHmetro (Quimis Q400AS, São Paulo, Brasil).

4.4.14.2 Perda de massa

A perda de massa foi determinada pelo método gravimétrico, conforme descrito por Liaros; Katsanidis; Bloukas, (2009), mediante a pesagem dos salames imediatamente após o embutimento (tempo 0), nos períodos de fermentação (tempo 7 dias) e maturação (tempo 14 dias), sendo expressa como porcentagem do peso inicial.

4.4.14.3 Determinação de cor

Os parâmetros de cor dos salames foram determinados em colorímetro (Minolta, CR-400, Osaka, Japão) utilizando o sistema de escala de cor da Comissão Internacional de Iluminação (CIEL*a*b*), segundo método descrito pela CIE Lab (CIE, 1986). As medições foram efetuadas na superfície das amostras de salames cortadas transversalmente. Foram determinadas as coordenadas desse sistema tridimensional: luminosidade (L^*), que é

acromática e varia de 0 (preto) a 100 (branco); e as coordenadas a^* e b^* onde a^* =coordenada do verde-vermelho ($-a^*$: verde, $+a^*$: vermelho); e b^* =coordenada azul-amarelo ($-b^*$:azul, $+b^*$:amarelo).

4.4.14.4 Determinação de textura

A análise de textura foi realizada em temperatura ambiente com analisador TA-XT Plus (Stable Micro Systems Ltd., Surrey, England), equipado com uma lâmina de corte Warner-Bratzler de 1 mm de espessura, conforme descrito por Ferreira et al. (2013). As amostras foram retiradas de três pontos distintos dos salames, que foram cortados perpendicularmente ao seu sentido horizontal, em rodela de 2 cm de altura. A curva de deformação com o tempo foi obtida com velocidade de compressão de 5 mm/s, a partir do qual foi avaliado o parâmetro de dureza (N/mm.s).

4.4.14.5 Determinação de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS)

As substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico foram determinadas segundo a metodologia descrita por Crackel et al. (1988). As amostras de salame (10 g) foram trituradas com auxílio de um mixer (Toastermaster 1740, Missouri, EUA) e homogeneizadas em 50 mL de ácido tricloroacético (TCA) a 7,5% (m/v) em água destilada por 1 min com agitador magnético (Fisatom 752A, São Paulo, Brasil). Os extratos de salame foram centrifugados por 5 min a 8694 x g e o sobrenadante filtrado em papel filtro Prolab. O ácido tiobarbitúrico (TBA) 0,02 M (5 mL) foi colocado com 5 mL do filtrado em um tubo de ensaio, em banho-maria por 30 min a 80 °C, sendo utilizado 5 mL de TCA e 5 mL de TBA como branco. Após resfriamento dos tubos em água corrente, foi efetuada a leitura da absorbância a 538 nm em espectrofotômetro UV/VIS (Kasuki, IL-592, São Paulo, Brasil). Os valores foram expressos em mg de malonaldeído por kg de salame com base na curva padrão de 1,1,3,3 - tetraetoxipropano (TEP) diluída em água destilada, variando a concentração de 10^{-9} a 10^{-8} mol TEP mL⁻¹ (Apêndice 3).

4.4.14.6 Capacidade de sequestro de radical 2,2-difenil-1-picril-hidrazila (DPPH[•])

A determinação da capacidade de sequestro de radical DPPH[•] foi efetuada para cada amostra de salame tipo Italiano conforme Brand-Williams; Cuvelier; Berset, (1995), com

modificações de Souza et al. (2018b). 10 µL de solução etanólica de DPPH[·] (0,80 mg mL⁻¹) foram adicionados a 190 µL do extrato de salame obtido a partir da homogeneização de 5 g de salame em 50 mL de água destilada e posterior filtração, em microplaca de 96 poços e ficaram sob lenta agitação em orbital shaker (Tecnal, Piracicaba, Brasil) a 37 rpm, por 60 min, a 25 °C, sob abrigo de luz. A absorbância a 515 nm foi medida em leitora de microplacas (Polaris, Belo Horizonte, Brasil). O sequestro de radical livre (SRL) foi calculado em percentual com base nas medidas de absorbância dos reagentes (ABS_{controle}) e absorbância das amostras de salame (ABS_{amostra}) descontado da absorbância da amostra sem o radical DPPH[·] (ABS_{branco}), segundo a Equação 5:

$$SRL_{DPPH} = \frac{(ABS_{controle} - (ABS_{amostra} - ABS_{branco}))}{ABS_{controle}} \times 100 \quad (5)$$

4.4.14.7 Composição proximal

A composição proximal dos salames foi determinada segundo a metodologia descrita pela *Association of Official Analytical Chemists* - AOAC (2000): teor de umidade em estufa a 105 °C (método 950.46); cinzas com incineração em mufla a 550 °C (método 920.153); lipídeos totais em extrator de Soxhlet (método 960.39) e teor de proteína bruta pelo método de Kjeldahl, usando um fator de conversão de 6,25 (método 928.08).

4.4.14.8 Determinação de cloreto de sódio (NaCl)

A determinação do teor de cloreto de sódio (NaCl) foi realizada pelo método volumétrico de precipitação (método 935.47) da *Association of Official Analytical Chemists* - AOAC (2000), com base na titulação com uma solução padronizada de nitrato de prata 0,1 N preparada conforme descrito por Morita; Assumpção, (1972), até o aparecimento de uma coloração marrom-avermelhada, seguindo o procedimento descrito por Binici; Kaya, (2018).

4.4.14.9 Análise microbiológica

Para as determinações microbiológicas, foram realizadas as análises de *Staphylococcus* coagulase positiva, *Salmonella* sp. e Coliformes a 45 °C, com base no padrão

da legislação brasileira da Agência Nacional de Vigilância Sanitária Resolução - RDC nº 12, de 2 de janeiro de 2001 (BRASIL, 2001). As análises microbiológicas foram realizadas após os 14 dias de processamento dos salames no Laboratório CBO (Valinhos, SP), seguindo as metodologias da *International Organization for Standardization* (ISO, 1999), método 6888-1:1999 para análise de *Staphylococcus* coagulase positiva e da *Association of Official Analytical Chemists* (AOAC, 2012): método 998.08 para Coliformes a 45 °C e método 2011.03 para *Salmonella* sp.

4.4.15 Tratamento dos dados

Todas as determinações foram realizadas em triplicatas e a significância das diferenças dos resultados foram estimadas estatisticamente por ANOVA (Análise de Variância), a 5% de significância, seguido por teste de médias conforme Tukey utilizando o software STATISTICA 7.0 (Statsoft Inc., Tulsa, OK, USA).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 CARACTERIZAÇÃO DA MATÉRIA-PRIMA

O resultado da composição proximal das plantas de salicornia do presente estudo acompanham a faixa encontrada em outros estudos com salicornia (Tabela 5), com exceção do teor de proteínas que está bem abaixo das demais. O resultado do teor de fibras consta no Anexo 1.

Tabela 5 – Composição proximal de *S. neei* do presente estudo em comparação a outros estudos com *Salicornia*.

Composição proximal	<i>S. neei</i> ⁽¹⁾	<i>S. bigelovii</i> ⁽²⁾	<i>S. herbacea</i> ⁽³⁾	<i>S. ramosissima</i> ⁽⁴⁾	<i>S. neei</i> (presente estudo)
Umidade (%)	88,2	88,4	73,9	84,5	88,8
Cinzas (%)	3,0	4,4	6,1	2,9	4,3
Proteína bruta (%)	1,9	1,5	2,0	5,2	0,8
Fibra bruta (%)	3,2	0,8	4,3	2,3	2,7
Lipídeos (%)	0,2	0,4	0,3	1,9	0,2
Carboidratos (%)	3,6	4,5	13,4	3,3	3,2

Dados expressos em base úmida. (1) - Bertin et al., (2014); (2) - Lu et al., (2010); (3) - Min et al., (2002); (4) - Barreira et al., (2017).

As plantas de *S. neei* deste estudo apresentaram um alto teor de umidade, assim como as halófitas em geral, o que está relacionado a suculência característica dessas plantas e também um alto teor de cinzas, relacionado a sua habilidade de retenção de minerais (DÍAZ; BENES; GRATTAN, 2013; REDONDO-GÓMEZ et al., 2010).

O teor de lipídeos está de acordo com o obtido por Bertin et al. (2014) para a mesma espécie, mesmo em diferentes locais e condições de cultivo. Segundo os autores, as plantas de *S. neei* (denominada no estudo por *S. ambigua*) são adequadas para o consumo humano como vegetais folhosos em função do baixo teor de lipídeos, sendo que aproximadamente 65% do teor é referente a ácidos graxos insaturados.

O menor teor de proteína bruta nas plantas de *S. neei* utilizadas neste estudo pode estar associado à forma de cultivo que foi efetuado com água potável, ou seja, sem condições de stress salino da água de irrigação. Segundo Lee et al. (2016), o aumento na concentração de sal na irrigação de plantas de *Salicornia herbacea* ativou enzimas de defesa às espécies reativas ao oxigênio (ERO) como catalase, peroxidase e ascorbato peroxidase, resultando em

maior acúmulo de metabólitos secundários como açúcares, proteínas, aminoácidos e prolinas livres.

De acordo com Buhmann; Papenbrock, (2013), a composição nutricional e a atividade antioxidante pode variar até dentro da mesma espécie devido às condições de estresse ambiental sob as quais as halófitas crescem, não somente de salinidade, mas também de temperatura, disponibilidade de água, luminosidade, deficiência de nutrientes, estresse iônico, frequência e duração da inundação pela água salgada e presença de plantas de pântano salino.

5.2 EXTRAÇÃO APÓS PRÉ-TRATAMENTO COM PLASMA A FRIO

5.2.1 Avaliação dos métodos de extração

A aplicação de plasma a frio (PF) foi realizada como pré-tratamento no processo de extração utilizando-se uma pressão de $2,66 \times 10^{-2}$ mbar obtida a partir de uma bomba turbo molecular com uma potência de 6 W por 30 min. Os resultados de fenólicos conjugados e atividade antioxidante estão demonstrados na Tabela 6.

Tabela 6 – Teores de compostos fenólicos e atividade antioxidante para os diferentes métodos de extração.

Extração	Fenólicos (mg EAG g ⁻¹ ms)	DPPH (%)	IE_ DPPH (% inibição mg ⁻¹ fenóis)	ABTS (%)	IE_ABTS (% inibição mg ⁻¹ fenóis)	FRAP (μM ET g ⁻¹ ms)
S	5,58 ± 0,49 ^b	37,9 ± 0,5 ^b	6,8	62,8 ± 1,9 ^a	11,3	5,58 ± 0,06 ^b
PS	5,24 ± 1,30 ^b	41,5 ± 3,7 ^b	7,9	57,2 ± 2,7 ^b	10,9	6,22 ± 0,55 ^b
U	9,11 ± 0,64 ^a	38,6 ± 2,3 ^b	4,2	61,1 ± 1,2 ^{a,b}	6,7	8,16 ± 0,41 ^a
PU	8,26 ± 0,49 ^a	51,6 ± 0,9 ^a	6,2	65,5 ± 1,2 ^a	7,9	7,61 ± 0,09 ^a

Valores expressos como média ± desvio. S - Extração por maceração com orbital shaker; PS - Extração por maceração com orbital shaker após pré-tratamento com plasma a frio; U - Extração por ultrassom; PU - Extração por ultrassom após pré-tratamento com plasma a frio; IE - Inibição específica; EAG - Equivalente de ácido gálico; ms - massa seca; ET - Equivalente de trolox. Letras diferentes na mesma coluna após cada valor significam diferença significativa ($p < 0,05$) de acordo com o Teste de Tukey.

O maior teor de compostos fenólicos obtido neste estudo ($9,11 \pm 0,64$ mg EAG g⁻¹ ms) foi aproximadamente 63% menor do que o teor obtido por Souza et al., (2018a) ($18,8 \pm 0,17$ mg EAG g⁻¹ ms) para a mesma espécie *S. neei* e mesmo método de extração. Essa

diferença pode ser em função da forma de cultivo das plantas, que no estudo citado foi efetuado na cidade de Aracati, CE, Brasil, irrigado com efluente salino (40 g NaCl L⁻¹) de tanque de camarão (*Litopenaeus vannamei*), ou seja, sob condições mais severas de temperatura e salinidade da água.

Mesmo assim, o teor obtido ainda é maior do que o encontrado em outros extratos de plantas bastante utilizadas como fonte de compostos bioativos como: espinafre (*Spinacia oleracea*) e alcachofra (*Cynara scolymus*), com teores de 0,06 mg EAG g⁻¹ ms e 0,84 mg EAG g⁻¹ ms, respectivamente, em extração com metanol (ALARCÓN-FLORES et al., 2014); macela (*Achyrocline satureioides*) com teor de 0,34 mg EAG g⁻¹ ms, em extração com etanol (GOLTZ et al., 2018); cebola com teor de 2,27 mg EAG g⁻¹ ms, em extração com metanol (SOUZA et al., 2010); e aspargo verde (*Asparagus officinalis* L.) com teor de 0,42 mg EAG g⁻¹ ms, em extração com etanol (CHEN et al., 2017).

Além disso, a capacidade antioxidante de compostos fenólicos é determinada não somente pela quantidade, mas também por sua estrutura química. Assim, a atividade antioxidante de um extrato não pode ser explicada simplesmente com base no teor de fenólicos, mas requer caracterização apropriada (HEINONEN; LEHTONEN; HOPIA, 1998; KIM et al., 2013). No presente estudo verifica-se uma alta inibição específica pelo sequestro de radical DPPH[·] e ABTS^{·+}, indicando alta atividade antioxidante do extrato mesmo com baixo teor de fenólicos conjugados.

Neste estudo foram observadas diferentes tendências ao usar os mecanismos de avaliação de atividade antioxidante, assim como por Rodríguez et al. (2017), que também avaliaram pelos métodos DPPH[·], ABTS^{·+} e FRAP o efeito do tratamento de suco de caju com PF no processo de pasteurização, denotando que os compostos bioativos que respondem melhor a certos tipos de análise são afetados diferentemente pela aplicação do PF e tempo de exposição.

Apesar da maior inibição específica apresentada pelo extrato obtido pelo método de extração por maceração com shaker (S), foram considerados os resultados de sequestro de radical DPPH[·], ABTS^{·+} e FRAP para escolha do método de extração, uma vez que o objetivo da obtenção do extrato de *S. neei* é a aplicação direta no processamento de salames e não a identificação ou purificação dos principais compostos bioativos responsáveis pela atividade antioxidante e antimicrobiana.

Avaliando o efeito do PF, verifica-se o potencial de aplicação desta tecnologia como pré-tratamento à extração por ultrassom, pelo resultado obtido na determinação de sequestro de radical DPPH[·], em que a atividade antioxidante aumentou significativamente

($p < 0,05$) de $38,6 \pm 2,3$ (%) (extração U) para $51,6 \pm 0,9$ (%) (extração PU), o que equivale a um aumento aproximado de 34%. Este resultado poderia ser explicado pela ação de diferentes compostos reativos gerados pelo PF que, em contato com a parede celular, possibilitaria uma maior biodisponibilidade desses fitoquímicos (BURSAĆ KOVAČEVIĆ et al., 2016).

Em função do resultado positivo verificado na extração por ultrassom após pré-tratamento com plasma a frio (PU), com obtenção de um extrato com alta atividade antioxidante de $51,6 \pm 0,9$ (%), medida pelo sequestro de radical DPPH $\cdot$, foram testados mais oito parâmetros de aplicação do PF para então escolher as melhores condições de processo.

5.2.2 Avaliação dos parâmetros de aplicação do plasma a frio

Para avaliação dos parâmetros de aplicação do PF, foi denominado de PU1 as condições de aplicação do plasma a frio realizadas inicialmente (potência de 6 W, pressão de $2,66 \times 10^{-2}$ mbar e tempo de aplicação de 30 min) e de PU2 a PU9 os novos parâmetros testados. Para melhor avaliar os diferentes parâmetros de aplicação de PF testados, também foi calculado o percentual de inibição específica dos radicais DPPH $\cdot$ e ABTS $\cdot^{+}$ (Tabela 7).

As variações observadas nos resultados do presente estudo com os diferentes parâmetros de PF aplicados podem ser em função da alteração da estrutura dos compostos fenólicos, mostrando assim, o potencial de aplicação da tecnologia de PF na extração de compostos de forma seletiva, a fim de aumentar a bioatividade dos alimentos.

O PF gera espécies reativas que interagem com as moléculas do substrato. Um aumento na concentração de cargas transmite uma força eletrostática que promove uma ruptura da parede celular e a liberação de fenólicos localizados nos vacúolos ou ligados à pectina, celulose, e traços de lignina (FRIDOVICH, 1995; MENDIS; ROSENBERG; AZAM, 2000; PAIXÃO et al., 2019; THIRUMDAS; SARANGAPANI; ANNAPURE, 2014; TOMADONI et al., 2017). Outros estudos atribuíram o aumento do conteúdo de fenólicos e flavonóides em matrizes alimentares após processamento por PF pela despolimerização e dissolução da parede celular de polissacarídeos, o que facilita maior extração dos compostos fenólicos conjugados (SARANGAPANI et al., 2017b).

Kim et al. (2017b) sugerem que espécies reativas moleculares e radicais livres podem ter sido produzidos na aplicação de PF gerado por DBD por 20 min em solução metanólica de quercetina, sendo capazes de hidratar e quebrar ligações químicas de quercetina, resultando na geração de três compostos fenólicos de menor massa molecular: alfitonina, éster metílico do ácido protocatecúico e ácido protocatecúico. Após a exposição ao

plasma DBD por 20 min, a atividade antioxidante teve um pequeno aumento (IC₅₀ passou de 14,4 µg mL⁻¹ para 11,5 µg mL⁻¹ com relação à quercetina padrão), sendo que a alfitonina mostrou maior poder de atividade antioxidante dentre os três compostos gerados. Os autores deste estudo também constataram o aumento na atividade inibitória da α-glucosidase, que está relacionada ao controle de nível de glicose e prevenção de diabetes mellitus (IC₅₀ passou de 47,7 µg mL⁻¹ para 20,4 µg mL⁻¹ com relação à quercetina padrão).

Tabela 7 – Resultado consolidado de teor de compostos fenólicos e atividade antioxidante para os diferentes parâmetros aplicados de plasma a frio.

Tratamento	P (W)	p (mbar)	t (min)	Fenólicos (mg EAG g ⁻¹ ms)	DPPH (%)	ABTS (%)	FRAP (µM ET g ⁻¹ ms)
PU1	6	2,66 x 10 ⁻²	30	8,26 ± 0,49 ^c	51,6 ± 0,9 ^a	65,5 ± 1,2 ^{a,b}	7,61 ± 0,09 ^g
PU2	14	2 x 10 ⁻²	2	22,49 ± 1,37 ^a	33,8 ± 0,6 ^{c,d,e}	68,2 ± 2,5 ^a	19,68 ± 0,12 ^a
PU3	14	2 x 10 ⁻²	5	23,62 ± 1,19 ^a	38,0 ± 0,6 ^{b,c,d}	66,2 ± 2,2 ^{a,b}	14,12 ± 0,29 ^c
PU4	14	2 x 10 ⁻²	10	19,14 ± 1,27 ^b	37,6 ± 0,6 ^{b,c,d}	69,0 ± 0,2 ^a	15,70 ± 0,62 ^b
PU5	14	2 x 10 ⁻²	30	4,57 ± 0,07 ^{d,e}	43,0 ± 2,4 ^{b,c}	67,7 ± 1,6 ^a	14,62 ± 0,96 ^{b,c}
PU6	14	2 x 10 ⁻²	60	3,24 ± 0,82 ^e	37,1 ± 4,8 ^{c,d}	56,0 ± 6,0 ^c	11,88 ± 0,99 ^d
PU7	30	1 x 10 ⁻²	1	10,41 ± 0,26 ^c	29,0 ± 0,0 ^e	60,7 ± 1,4 ^{a,b,c}	9,61 ± 0,74 ^{e,f}
PU8	30	1 x 10 ⁻²	2	9,68 ± 1,60 ^c	33,2 ± 0,8 ^{d,e}	58,6 ± 1,3 ^{b,c}	10,59 ± 0,46 ^{d,e}
PU9	30	1 x 10 ⁻²	3	7,57 ± 0,53 ^{c,d}	41,1 ± 0,5 ^{b,c}	67,4 ± 3,0 ^a	8,62 ± 0,19 ^{f,g}

Valores expressos como média ± desvio. P – Potência; p – pressão; t – tempo; EAG – Equivalente de ácido gálico; ms – massa seca; ET – Equivalente de Trolox. Letras diferentes na mesma coluna após cada valor significam diferença significativa (p<0,05) de acordo com o Teste de Tukey.

Porém, para a mesma potência aplicada de 14 W (parâmetros PU2 a PU6) e de 30 W (parâmetros PU7 a PU9), o teor de fenólicos conjugados é reduzido conforme o tempo de aplicação do PF aumenta, sendo que essa relação (tempo de aplicação de PF x degradação de fenólicos) também foi relatado por Grzegorzewski et al. (2011). A interação das espécies reativas geradas pelo PF na superfície da salicornia possivelmente promoveu não só uma degradação dos compostos fenólicos presentes, mas também a liberação de outros compostos antioxidantes e uma modificação química nos compostos existentes, uma vez que a atividade antioxidante não seguiu essa tendência de queda.

Os extratos de *S. neei* dos tratamentos PU5 (P = 14 W, p = 2 x 10⁻² mbar, t = 30 min) e PU6 (P = 14 W, p = 2 x 10⁻² mbar, t = 60 min) apresentaram maior inibição específica

com relação aos demais (PU5: inibição específica por DPPH = 9,4% mg^{-1} fenóis e inibição específica por ABTS = 14,8% mg^{-1} fenóis; PU6: inibição específica por DPPH = 11,5% mg^{-1} fenóis e inibição específica por ABTS = 17,3% mg^{-1} fenóis) e poderiam ser avaliados melhor em trabalhos futuros com a identificação dos compostos fenólicos responsáveis por essa alta atividade antioxidante específica. Porém, como o objetivo deste trabalho é a aplicação do extrato diretamente no processamento de salames tipo Italiano, o extrato obtido pelo tratamento PU3 ($P = 14 \text{ W}$, $p = 2 \times 10^{-2} \text{ mbar}$, $t = 5 \text{ min}$), que apresentou em geral maior teor de fenólicos e maior atividade antioxidante, foi escolhido para continuidade deste trabalho.

5.2.3 Extrato de salicornia (ES) para análise de atividade antimicrobiana e aplicação no processamento de salame tipo Italiano

Para possibilitar a aplicação do ES como aditivo natural em salames tipo Italiano, verificou-se a necessidade de aumentar a concentração do extrato de $0,01 \text{ g mL}^{-1}$ para $0,1 \text{ g mL}^{-1}$, pois na concentração de $0,01 \text{ g mL}^{-1}$ o ES não apresentou atividade antimicrobiana (como relatado no item a seguir 5.3). E ainda, como o ES seria aplicado em um produto alimentício, o mesmo não foi clarificado logo após a extração por ultrassom, etapa que consiste na adição dos compostos químicos hidróxido de bário e sulfato de zinco para precipitação e retirada de proteínas, possíveis interferentes na realização de análises. O extrato de *S. neei* ($0,1 \text{ g mL}^{-1}$) não-clarificado apresentou alta atividade antioxidante, apesar do menor teor de fenólicos conjugados, conforme apresentado na Tabela 8.

Tabela 8 – Teor de compostos fenólicos conjugados e atividade antioxidante do extrato de *S. neei* ($0,1 \text{ g mL}^{-1}$) obtido por ultrassom assistida por plasma a frio (sem clarificação).

Extração	Fenólicos (mg EAG g^{-1} ms)	DPPH (%)	IE_DPPH (% inibição mg^{-1} fenóis)	ABTS (%)	IE_ABTS (% inibição mg^{-1} fenóis)	FRAP ($\mu\text{M ET g}^{-1}$ ms)
PU_SC	$6,78 \pm 0,49$	$90,0 \pm 0,0$	13,2	$68,4 \pm 1,2$	10,1	$28,45 \pm 0,37$

Valores expressos como média $\pm$ desvio. PU_SC – Extração por ultrassom após aplicação do plasma a frio ($P = 14 \text{ W}$, $p = 2 \times 10^{-2} \text{ mbar}$, $t = 5 \text{ min}$) sem clarificação posterior. IE – Inibição específica; EAG – Equivalente de ácido gálico; ms – massa seca; ET – Equivalente de Trolox.

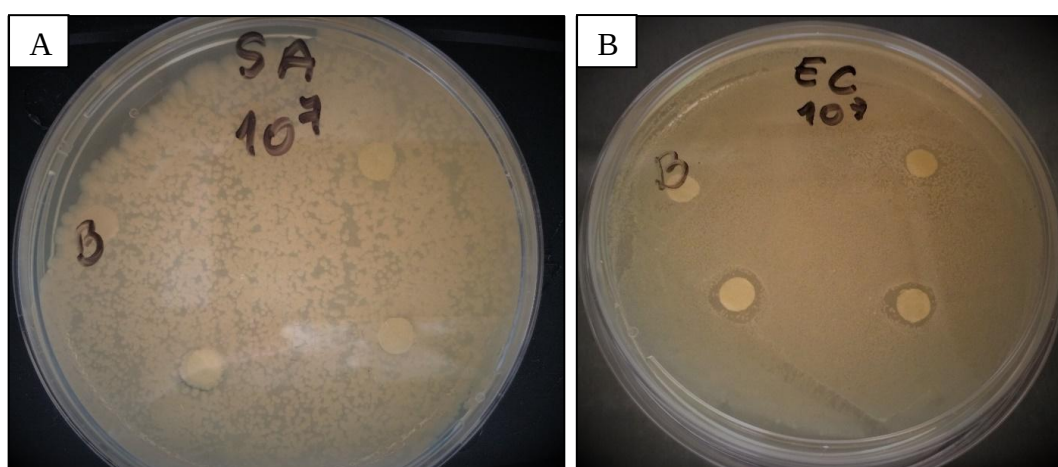
A eficácia dos compostos fenólicos como antioxidantes está relacionada a variações estruturais entre os grupos desses compostos, que incluem o número e disposição dos grupos hidroxila na molécula, os diferentes graus de ligações duplas nos anéis, bem como

a natureza e extensão da alquilação e/ou glicosilação (OSWELL; THIPPAREDDI; PEGG, 2018; RICE-EVANS; MILLER; PAGANGA, 1996).

5.3 ATIVIDADE ANTIMICROBIANA

Em testes preliminares não houve formação de halos de inibição em nenhum dos extratos etanólicos de *S. neei* obtidos pelos diferentes métodos de extração (maceração com orbital shaker, ultrassom, maceração com orbital shaker após pré-tratamento com PF e ultrassom após pré-tratamento com PF), possivelmente em função da baixa concentração ($0,01 \text{ g mL}^{-1}$). Também verificou-se que o solvente etanol 80% (v/v) em água destilada não apresentou atividade antimicrobiana com relação às duas bactérias testadas (*S. aureus* e *E. coli*). Porém, ao aumentar a concentração do ES para $0,1 \text{ g mL}^{-1}$, verificou-se um halo de inibição de 4 mm contra *E.coli* (ATCC 25922), e nenhum halo de inibição contra *S.aureus* (ATCC 25923) (Figura 10), ao contrário do que se esperava inicialmente, pois no estudo de Essaidi et al. (2013) , o extrato metanólico na concentração de $0,1 \text{ g mL}^{-1}$ obtido a partir de *Salicornia herbacea* foi mais efetivo frente às bactérias Gram-positivas, como *S. aureus* (halo de inibição = 10 mm), em comparação às bactérias Gram-negativas, como *E.coli* (halo de inibição = 3 mm). Esses autores sugerem que a atividade antimicrobiana observada é devido a presença dos compostos fenólicos e seu efeito sinérgico com ácidos graxos e outros compostos osmóticos como a betaina.

Figura 10 – Formação de halos de inibição em placas com extrato de salicornia ($0,1 \text{ g mL}^{-1}$)



Efeito do extrato de *S. neei* na concentração de $0,1 \text{ g mL}^{-1}$ frente a: A – *Staphylococcus aureus* e B – *Escherichia coli*.

Já em estudo realizado por Padalino et al. (2019), a massa fresca de trigo duro com extrato de *Salicornia europaea* (na concentração de $0,02 \text{ g mL}^{-1}$, obtido a partir do método de ultrassom com solvente etanol 40% (v/v) em água destilada) adicionado na proporção de 0,8 g de extrato para cada 100 g de massa não apresentou atividade antimicrobiana, mas apresentou atividade antioxidante, inclusive maior após digestão *in vitro*, provavelmente em função das condições de pH e a presença de enzimas proteolíticas que favoreceram a liberação dos compostos bioativos.

Algumas evidências apontam que componentes minoritários têm um papel crítico na atividade antimicrobiana, provavelmente por produzir um efeito sinérgico com outros componentes (BURT, 2004), como os ácidos cafeico, ferúlico e p-cumárico que inibiram *E.coli* (HERALD; DAVIDSON, 1983). Esses compostos foram identificados em extrato de *S. neei* (BERTIN et al., 2014) e podem estar associados a atividade antimicrobiana frente a *E. coli* observada no presente estudo.

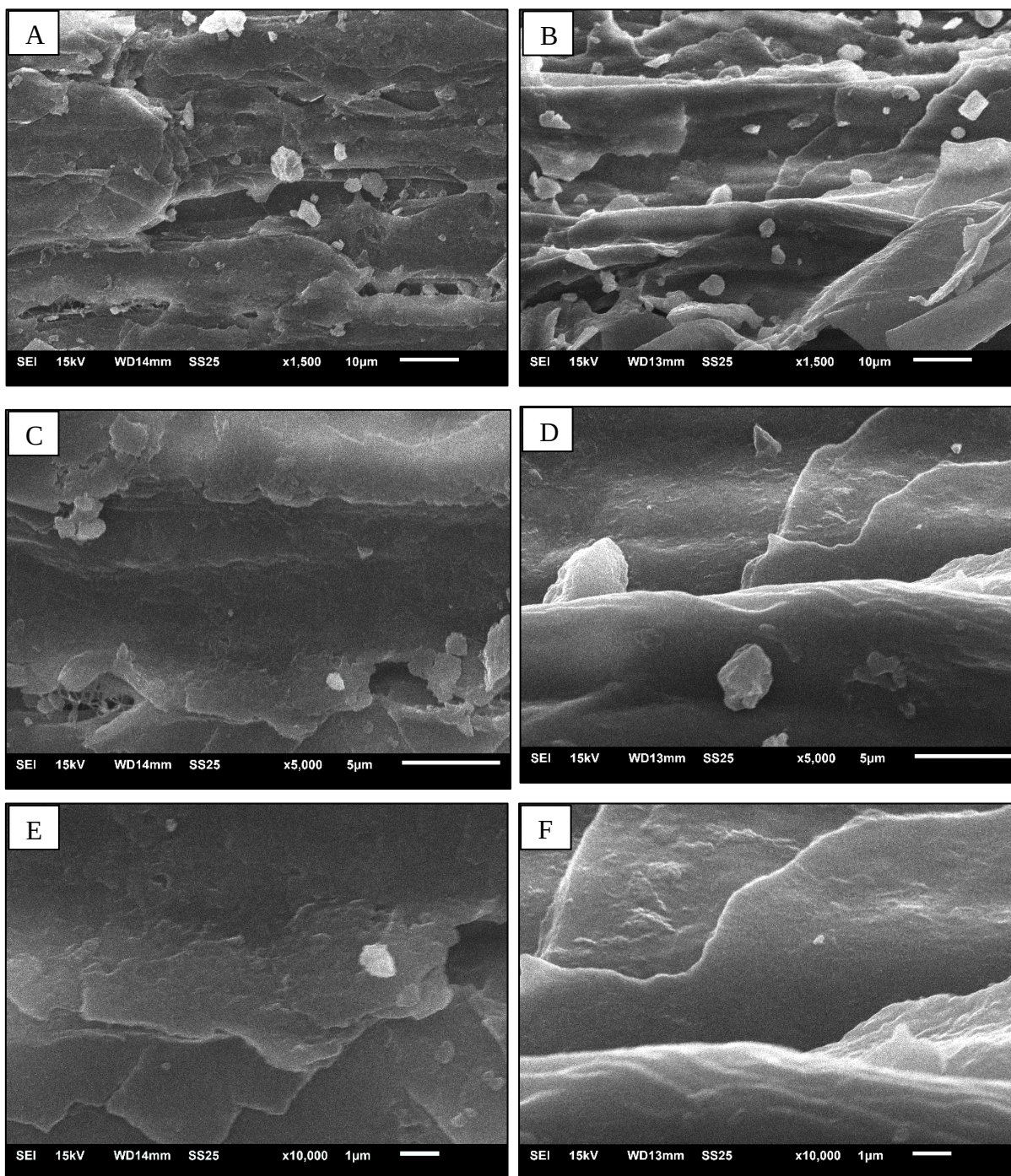
A atividade antimicrobiana pode ser produzida por diferentes mecanismos, afetando a estrutura da membrana citoplasmática, bloqueando a síntese proteica, afetando qualquer uma das fases deste processo (ativação, iniciação, ligação do complexo de aminoácidos do RNAt aos ribossomos), afetando o metabolismo de ácidos nucleicos, e/ou bloqueando qualquer uma das vias metabólicas bacterianas (MARTÍNEZ et al., 2019). Os compostos fenólicos parecem atuar principalmente como permeabilizadores da membrana citoplasmática (BURT, 2004). Em função dessa complexidade, é necessário um estudo mais aprofundado relacionando a atividade antimicrobiana com a estrutura de cada composto fenólico do extrato de *S. neei* para melhor entendimento do mecanismo de ação envolvido.

5.4 MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA (MEV)

As imagens de MEV do pó de salicornia que foi exposto ao PF (nos parâmetros de operação da câmara de PF de $P = 14 \text{ W}$, $p = 2 \times 10^{-2} \text{ mbar}$, $t = 5 \text{ min}$) mostraram uma superfície mais suave, com menos estruturas granulares em comparação ao pó de salicornia que não foi exposto ao PF (Figura 11).

Pesquisas sobre o tratamento de plasma na superfície de plantas é limitado e ainda utilizam diferentes fontes de plasma (MISRA; SCHLÜTER; CULLEN, 2016), mas alguns estudos indicam que pode causar alterações nas propriedades da superfície física do produto que leva a porosidade (MIR; SHAH; MIR, 2016).

Figura 11 –Imagens de microscopia eletrônica de varredura de pó de salicornia sem e com aplicação de plasma a frio (PF).



A – Ampliação 1500x, amostra sem aplicação de PF; B - Ampliação 1500x, amostra com aplicação de PF; C - Ampliação 5000x, amostra sem aplicação de PF; D - Ampliação 5000x, amostra com aplicação de PF; E - Ampliação 10000x, amostra sem aplicação de PF; F - Ampliação 10000x, amostra com aplicação de PF.

O mesmo efeito foi observado por Kim et al. (2017a) em pó de cebola tratado com PF induzido por microondas, utilizando gás hélio, nas condições de $P = 400$ a 900 W, $p = 7$ mbar, $t = 10$ a 40 min) para inativação dos micro-organismos *Bacillus cereus*, *Aspergillus brasiliensis* e *Escherichia coli*. Os autores relataram que a superfície das amostras de cebola

em pó tratadas com ar quente ficaram com rachaduras e a superfície das tratadas com PF sob vácuo ficaram lisas, sendo que este último tratamento não afetou a cor, atividade antioxidante e a concentração de quercetina, ou seja, recomendável para descontaminação não-térmica de pó de cebola.

Grzegorzewski et al., (2011) analisaram a morfologia da superfície de alface de cordeiro tratada com plasma por MEV e as folhas de alface não tratadas exibiram amplas áreas com plaquetas grossas e pequenas estruturas granulares, sendo que, na superfície das folhas tratadas com PF, as estruturas granulares desapareceram com o aumento do tempo de exposição. Os autores relatam duas hipóteses para o efeito observado, uma de que o aumento no teor de flavonóides é causado pela sua biossíntese estimulada por UV-B gerado pelo PF, e outra de que houve uma melhoria na extração de substâncias do citosol da folha, principalmente devido a degradação induzida de ceras epicuticulares e a matriz cutina.

As imagens do presente estudo também corroboram com o estudo de Yodpitak et al. (2019), no tratamento com PF (DBD), utilizando gás argônio, dentro das condições testadas de $P = 100\text{ W}$ a 200 W , $t = 25$ a 300 s , que melhorou os parâmetros referentes a germinação e aumentou o teor de fitoquímicos bioativos em arroz integral germinado. Neste estudo, as amostras sem tratamento do PF apresentaram superfícies com erosões e as amostras com o tratamento do PF apresentaram estrutura mais suave, possivelmente em função do efeito denominado de corrosão por plasma (*plasma etching*).

As imagens de MEV de castanhas de caju tratadas com PF ($P = 80\text{ W}$, $p = 300\text{ mbar}$, $t = 30\text{ min}$) também não apresentaram ruptura da parede celular, mas foi observado que o conteúdo citoplasmático das células cotiledonares estavam mais evidentes em comparação ao controle (ALVES FILHO et al., 2019). Os autores sugerem que essas mudanças estruturais poderiam ser o motivo do aumento no teor de ácidos graxos insaturados e de ácidos anacárdicos extraídos, assim como relatado em outros estudos que demonstraram aumento na eficiência de germinação de sementes pelo uso do PF, devido à corrosão do revestimento da superfície (efeito *etching*) e aumento da molhabilidade (decréscimo do ângulo de contato), permitindo a incorporação de água pelas sementes (LOS et al., 2019; WANG et al., 2017b).

A partir das imagens obtidas por MEV neste estudo e após extensa revisão da literatura, pode-se inferir que o efeito *etching* por PF nas plantas de *S. neei* aumentou a atividade antioxidante, não somente pela liberação de compostos antioxidantes como os fenólicos acumulados no vacúolo celular das plantas, mas também pela modificação química provocada nesses compostos devido a interação das diversas partículas geradas pelo PF.

5.5 PROCESSAMENTO DO SALAME TIPO ITALIANO

5.5.1 Caracterização dos salames tipo Italiano

5.5.1.1 pH

Os valores de pH diminuem nos primeiros 7 dias do processamento de salames devido ao processo de fermentação e produção de ácido lático, mas aumentam posteriormente no período de maturação, devido a reações de descarboxilação e desaminação de aminoácidos que liberam amônia (MARANGONI; MOURA, 2011).

Os resultados de pH das formulações F1 (controle), F4 e F5 (com pó de *S. neei*) no presente estudo segue essa tendência de queda inicial e posterior aumento (Tabela 9). Porém, os valores finais de pH das formulações F4 e F5 (com pó de *S. neei*) foram abaixo da faixa relativa às condições gerais de cura em carnes de 5,0 a 6,0 (MAJOU; CHRISTIEANS, 2018), o que pode ter sido ocasionado pela rápida acidificação no processo de fermentação pelo teor reduzido de sal (NaCl) nessas formulações, assim como relatado por Stahnke, (1995) em seu trabalho de processamento de salames com teor reduzido de sal.

Tabela 9 – Valores de pH dos salames tipo Italiano durante o período de processamento.

Formulação	Tempo (dias)		
	0	7	14
F1	6,23 ^{A,a}	5,60 ^{C,a}	5,66 ^{B,a}
F2	6,04 ^{A,b}	5,11 ^{B,c}	5,11 ^{B,c}
F3	6,11 ^{A,b}	5,30 ^{B,b}	5,26 ^{B,b}
F4	6,06 ^{A,b}	4,32 ^{C,e}	4,44 ^{B,d}
F5	6,08 ^{A,b}	4,41 ^{C,d}	4,48 ^{B,d}

Formulações: F1 - Controle; F2 – Com substituição de 50% dos sais de cura e 100% de eritorbato de sódio por extrato de *S. neei* (0,1 g mL⁻¹); F3 - Com substituição de 25% dos sais de cura e 100% de eritorbato de sódio por extrato de *S. neei* (0,1 g mL⁻¹); F4 - Com substituição de 50% de sais de cura, 100% de eritorbato de sódio e 50% de cloreto de sódio por pó de *S. neei* (1,4%); F5 - Com substituição de 25% de sais de cura, 100% de eritorbato de sódio e 50% de cloreto de sódio por pó de *S. neei* (1,4%). Letras maiúsculas diferentes na mesma linha após cada valor significam diferença significativa (p<0,05) de acordo com o Teste de Tukey. Letras minúsculas diferentes na mesma coluna após cada valor significam diferença significativa (p<0,05) de acordo com o Teste de Tukey.

A legislação brasileira não estipula uma faixa de pH como parâmetro de qualidade em salames, porém valores próximos ao ponto isoelétrico das proteínas é recomendado, uma

vez que irá contribuir para a perda de massa e atividade de água do produto (MENDES et al., 2014). O pH do produto final pode ser afetado por diferentes fatores como as características do produto, processo de produção, tipo e quantidade de aditivos (SUCU; TURP, 2018).

As formulações F4 e F5 (com pó de *S. neei*) que apresentaram baixos valores de pH, se enquadram nas características de outros produtos similares como as linguças fermentadas e secas do norte da Europa, em que há maior acidificação e o pH é menor do que 5 (DEMEYER et al., 2004), e também em linguças fermentadas e secas da Grécia, em que o pH fica na faixa de 4,78 a 5,10 (DROSINOS et al., 2005).

Já para as formulações F2 e F3 (com ES) o pH é mais próximo do controle, dentro da faixa (5,0 a 6,0) anteriormente mencionada e da faixa obtida por Marangoni; Moura, (2011) de 4,9 a 5,3 para as formulações de salame tipo Italiano padrão e com adição de extrato de coentro (*Coriandrum Sativum* L.) e também bem próximo à faixa obtida de 5,41 a 6,24 por Kurkcubić et al. (2014), para formulações de salames com extrato de hisbisco russo (*Kitaibelia vitifolia*).

5.5.1.2 Perda de massa

As cinco formulações apresentaram perda de massa bem próxima (Tabela 10), sendo as formulações F1 (controle), F4 e F5 (com pó de *S. neei*) em torno de 44% e as formulações F2 e F3 (com ES) um pouco abaixo, em torno de 42% e 41%, respectivamente, associado a maior capacidade de retenção de água nessas duas formulações.

Tabela 10 - Perda de massa dos salames durante o período de processamento.

Formulação	Tempo (dias)			
	2	7	10	14
F1	21% ^a	33% ^{a,b}	39% ^a	44% ^{a,b}
F2	19% ^{a,b}	31% ^{b,c}	36% ^{b,c}	42% ^{b,c}
F3	17% ^b	29% ^c	36% ^c	41% ^c
F4	18% ^b	31% ^{b,c}	38% ^{a,b}	44% ^{a,b}
F5	21% ^a	33% ^a	39% ^a	44% ^a

Formulações: F1 - Controle; F2 – Com substituição de 50% dos sais de cura e 100% de eritorbato de sódio por extrato de *S. neei* (0,1 g mL⁻¹); F3 - Com substituição de 25% dos sais de cura e 100% de eritorbato de sódio por extrato de *S. neei* (0,1 g mL⁻¹); F4 - Com substituição de 50% de sais de cura, 100% de eritorbato de sódio e 50% de cloreto de sódio por pó de *S. neei* (1,4%); F5 - Com substituição de 25% de sais de cura, 100% de eritorbato de sódio e 50% de cloreto de sódio por pó de *S. neei* (1,4%). Letras minúsculas diferentes na mesma coluna após cada valor significam diferença significativa (p<0,05) de acordo com o Teste de Tukey.

A capacidade de retenção de água da proteína cárnea é maior no ponto isoelétrico, por isso, um dos principais motivos do alto teor de umidade e baixa perda de massa das amostras é o pH (EKICI et al., 2015). A perda de massa reflete a quantidade de água perdida pelo embutido durante a secagem, e há uma grande variação dos percentuais encontrados na literatura, uma vez que depende da formulação, matéria-prima, processamento, entre outros fatores (RUIZ et al., 2014).

No estudo de Mendes et al. (2014), por exemplo, também foi verificado maior perda de massa em formulações de salame tipo Milano adicionados de farinha obtida do subproduto de vinho (rico em fibras e com alta atividade antioxidante), com percentuais variando de 30 a 40%, sendo que maiores adições de farinha induziram maiores perda de massa nos produtos acabados, associadas pelos baixos valores e rápida queda de pH nos produtos adicionados de farinha.

No presente estudo as formulações de salame tipo Italiano adicionadas de pó de *S. neei* (F4 e F5), também ricas em fibras e com alta atividade antioxidante, apresentaram baixos valores de pH, porém a perda de massa não teve diferença significativa ($p > 0,05$) com relação ao controle (F1), o que pode estar relacionado a outros fatores que influenciam na perda de massa de produtos fermentados como a temperatura, umidade relativa, velocidade do ar na câmara de maturação, tamanho das partículas na mistura cárnea, formulação e tipo de envoltório utilizada (BLOUKAS; PANERAS; FOURNITZIS, 1997; EKICI et al., 2015).

5.5.1.3 Cor

O aspecto visual dos salames tipo Italiano produzidos neste estudo podem ser verificados na Figura 12, sendo que as formulações com ES (F2 e F3) se aproximam mais do controle (F1) do que as formulações com pó de *S. neei* (F4 e F5).

Pelos resultados apresentados na Tabela 11, verificou-se a redução significativa ($p < 0,05$) no parâmetro a^* em todas as formulações com *S. neei* em comparação à formulação controle (F1), indicando menor saturação da cor vermelha, porém de uma forma pouco acentuada nas formulações com ES (F2 e F3) e muito acentuada nas formulações com pó de *S. neei* (F4 e F5). Essa descoloração também ocorreu em outros estudos, como o de Chen et al. (2008) que reportaram que a mistura comercial de oleoresina de alecrim, tocoferóis e citrato de sódio na concentração de 625 ppm não preservaram a cor vermelha da carne de porco moída durante o armazenamento sob refrigeração no escuro em condições aeróbicas por 10 dias.

Figura 12 – Aspecto visual de cada formulação de salame inteiro nos diferentes tempos de processamento.



A – Tempo 0; B – Tempo 7 dias; C – Tempo 14 dias. Da esquerda para direita nas fotos, formulações: F1 - Controle; F2 – Com substituição de 50% dos sais de cura e 100% de eritorbato de sódio por extrato de *S. neei* ($0,1 \text{ g mL}^{-1}$); F3 - Com substituição de 25% dos sais de cura e 100% de eritorbato de sódio por extrato de *S. neei* ($0,1 \text{ g mL}^{-1}$); F4 - Com substituição de 50% de sais de cura, 100% de eritorbato de sódio e 50% de cloreto de sódio por pó de *S. neei* (1,4%); F5 - Com substituição de 25% de sais de cura, 100% de eritorbato de sódio e 50% de cloreto de sódio por pó de *S. neei* (1,4%).

Para as formulações com pó de *S. neei* poderiam ser testadas a adição de corantes naturais vermelhos, adição de menor quantidade de pó de *S. neei* ou adição do pó de *S. neei* com uma granulometria maior, uma vez que em testes preliminares foi verificado que a adição do pó de *S. neei* em concentração um pouco menor (1% ao invés de 1,4%), e granulometria maior (máximo de 1,18 mm ao invés de 0,355 mm) não ocasionou essa descoloração acentuada do produto final (Apêndice 3).

Tabela 11 – Parâmetros de cromaticidade dos salames tipo Italiano ao final do processamento (tempo 14 dias).

Parâmetro	Formulação				
	F1	F2	F3	F4	F5
L*	$41,18 \pm 0,89^c$	$46,71 \pm 0,59^b$	$50,38 \pm 1,29^a$	$41,64 \pm 1,17^c$	$45,44 \pm 0,53^b$
a*	$18,81 \pm 0,23^a$	$15,96 \pm 0,42^b$	$15,94 \pm 0,61^b$	$6,99 \pm 0,12^c$	$7,34 \pm 0,44^c$
b*	$11,71 \pm 0,14^a$	$7,44 \pm 0,45^c$	$9,67 \pm 0,24^b$	$9,98 \pm 0,09^b$	$11,27 \pm 0,10^a$

Valores expressos como média $\pm$ desvio. L* luminosidade (branco - valores positivos; preto - valores negativos), a* cromaticidade no espectro do vermelho (+) e verde (-), b*cromaticidade no espectro amarelo (+) e azul (-). Formulações: F1 - Controle; F2 – Com substituição de 50% dos sais de cura e 100% de eritorbato de sódio por extrato de *S. neei* ($0,1 \text{ g mL}^{-1}$); F3 - Com substituição de 25% dos sais de cura e 100% de eritorbato de sódio por extrato de *S. neei* ($0,1 \text{ g mL}^{-1}$); F4 - Com substituição de 50% de sais de cura, 100% de eritorbato de sódio e 50% de cloreto de sódio por pó de *S. neei* (1,4%); F5 - Com substituição de 25% de sais de cura, 100% de eritorbato de sódio e 50% de cloreto de sódio por pó de *S. neei* (1,4%). Letras minúsculas diferentes na mesma linha após cada valor significam diferença significativa ($p < 0,05$) de acordo com o Teste de Tukey.

Nas formulações com ES (F2 e F3), também houve uma redução significativa nos valores do parâmetro b* (mais azulado), que pode ter sido afetado pela coloração do próprio extrato adicionado, mas um aumento no parâmetro de luminosidade L* ($p < 0,05$), o que pode

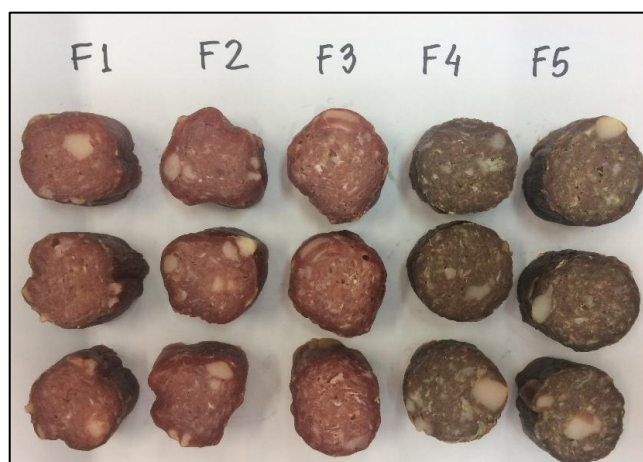
estar associado à presença de outros sais, além do NaCl no ES, ocasionando um menor escurecimento dos salames, como pode-se observar na Figura 13.

O aumento no valor de L^* e na capacidade de retenção de água também foi reportado por Gimeno; Astiasarán; Bello, (1998) em salames formulados com uma mistura de sais (NaCl, KCl e CaCl_2), em comparação com a formulação controle somente com NaCl; e por Aliño et al., (2010) em presuntos secos e curados formulados com a mistura dos sais KCl, MgCl_2 e CaCl_2 em diferentes proporções, em comparação com a formulação controle somente com NaCl, em função da maior dificuldade de penetração dos cátions cálcio e magnésio no músculo, ficando em maior concentração na salmoura formada durante o processo de salga.

O ES pode ter inibido a formação de metamioglobina (MetMb) que é responsável pela cor marrom da carne, inibindo a formação de produtos de oxidação lipídica primária e secundária que são conhecidos por acelerar a oxidação de mioglobina (Mb), assim como reportado por Schilling et al. (2018), no processamento de linguiça adicionada de extrato de alecrim e chá verde.

Mudanças na coloração estão relacionadas à aceitação do produto, pois oxidação e isomerização são as principais reações envolvidas na degradação do pigmento. Como pigmentos são fortemente relacionado a vitaminas e compostos antioxidantes, sua degradação indica perda de qualidade do produto e afeta a aceitação do consumidor (PAIXÃO et al., 2019).

Figura 13 – Aspecto visual do corte transversal dos salames tipo Italiano, nos diferentes tempos de processamento.



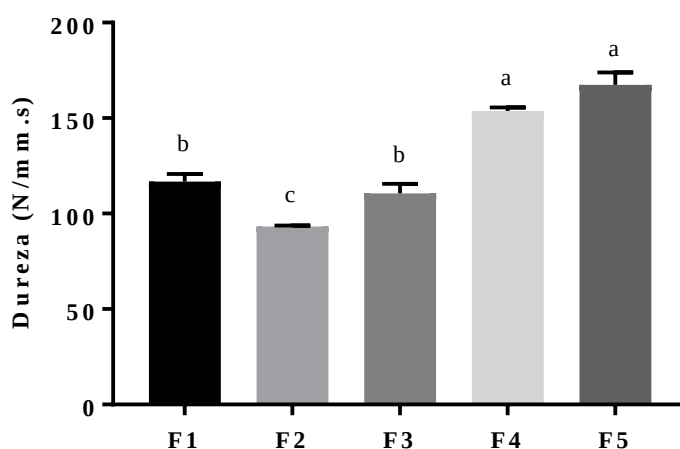
Formulações: F1 - Controle; F2 – Com substituição de 50% dos sais de cura e 100% de eritorbato de sódio por extrato de *S. neei* ($0,1 \text{ g mL}^{-1}$); F3 - Com substituição de 25% dos sais de cura e 100% de eritorbato de sódio por extrato de *S. neei* ($0,1 \text{ g mL}^{-1}$); F4 - Com substituição de 50% de sais de cura, 100% de eritorbato de sódio e 50% de cloreto de sódio por pó de *S. neei* (1,4%); F5 - Com substituição de 25% de sais de cura, 100% de eritorbato de sódio e 50% de cloreto de sódio por pó de *S. neei* (1,4%).

Dessa forma, as formulações com ES (F2 e F3) provavelmente teriam uma aceitação maior do que as formulações com pó de *S. neei* (F4 e F5), pois apresentaram ao final do processamento (tempo 14 dias) características de cor mais próximas ao controle (F1).

5.5.1.4 Dureza

Verificou-se pelos resultados demonstrados na Figura 14, maior dureza nos salames correspondentes às formulações com pó de *S. neei* com teor reduzido de sal (F4 e F5), o que provavelmente está relacionado a uma rápida acidificação no processo fermentativo, também relatado por Fieira et al. (2018) em que os salames tipo Italiano com teor reduzido de cloreto de sódio (NaCl) e adição de outros tipos de sal (cloreto de potássio - KCl, cloreto de cálcio - CaCl_2 e cloreto de magnésio - MgCl_2) tiveram rápida acidificação e menor pH final.

Figura 14 – Valores de dureza avaliada nas diferentes formulações de salame tipo Italiano.



Formulações: F1 - Controle; F2 – Com substituição de 50% dos sais de cura e 100% de eritorbato de sódio por extrato de *S. neei* ($0,1 \text{ g mL}^{-1}$); F3 - Com substituição de 25% dos sais de cura e 100% de eritorbato de sódio por extrato de *S. neei* ($0,1 \text{ g mL}^{-1}$); F4 - Com substituição de 50% de sais de cura, 100% de eritorbato de sódio e 50% de cloreto de sódio por pó de *S. neei* (1,4%); F5 - Com substituição de 25% de sais de cura, 100% de eritorbato de sódio e 50% de cloreto de sódio por pó de *S. neei* (1,4%).

A consistência do salame aumentou devido à acidificação e secagem. Durante a fermentação, o pH diminui e as proteínas miofibrilares se agregam para formar um gel. Após a gelificação, a secagem é o principal fator que afeta as propriedades reológicas e de ligação. Proteínas não-cárneas e carne liofilizada também pode aumentar a consistência. Quanto mais rápido o pH diminui, mais firme fica o salame. Portanto, a adição de culturas iniciadoras de

acidificação rápida e a presença de microelementos, como o íon manganês (Mn^{+2}), poderia encurtar o tempo de produção porque eles endurecem os salames (ARNAU et al., 2007).

A dureza foi afetada significativamente em alguns estudos pela adição de grande quantidade de aditivos (SUCU; TURP, 2018), como na adição de 2% de concentrado de cenoura preta com 150 mg kg^{-1} de nitrato de sódio no processamento de salame turco que resultou em decréscimo nos parâmetros de textura (dureza, elasticidade, coesão, adesividade, gomosidade e mastigabilidade) (EKICI et al., 2015) e pela adição de fibras dietéticas, como na adição de fibras de trigo, aveia e inulina de 3,5% a 7% no processamento de linguiça chinesa, que reduziu a capacidade de retenção de água e aumentou a dureza, sendo maior o efeito observado nas formulações com maior adição de fibras (HUANG; TSAI; CHEN, 2011).

A formulação F2 com ES em maior proporção (50%) apresentou menor dureza ($p<0,05$) do que a formulação F3 com ES adicionado na formulação dos salames em menor proporção (25%). Este resultado pode estar relacionado com a menor perda de massa dessas formulações com relação ao controle, como discutido anteriormente. A adição do ES melhorou a capacidade de retenção de água, sendo este efeito também observado por Kharrat et al. (2018), que constataram menor dureza nos salames adicionados de extrato do cacto de pêra espinhosa vermelha (*Opuntia stricta*).

As formulações com ES (F2 e F3) apresentaram características bem próximas ao controle (F1), o que não ocorreu com as formulações com pó de *S. neei* (F4 e F5) que apresentaram maiores valores de dureza ($p<0,05$), não se enquadrando à textura característica de salames tipo Italiano.

5.5.1.5 Substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS)

O aumento nos valores de TBARS no período de fermentação (até o tempo 7 dias) e depois uma redução ao final do processamento (tempo 14 dias) observado na Tabela 12 para as formulações F2 e F4 (com extrato e pó de *S. neei*, respectivamente, e substituição de 50% dos sais de cura) também foi relatado por Cichoski et al., (2011) no estudo realizado com adição de óleo essencial de manjerição em salame tipo Italiano. Segundo os autores, o aumento inicial se deve a exposição da carne em contato com o oxigênio a uma temperatura de $20\text{ }^{\circ}\text{C}$, que na presença de íons ferro Fe^{2+} , associada a formação de metamioglobina, inicialmente promovida pelo nitrito de sódio, acelerou a oxidação lipídica. Já o decréscimo

posterior nos valores de TBARS pode ter sido em função de reações entre malonaldeído e proteínas produzindo bases Schiff e outros compostos carbonílicos.

Tabela 12 – Valores de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) nos salames tipo Italiano

Formulação	Tempo (dias)		
	0	7	14
F1	0,36 ± 0,03 ^{A,a}	0,34 ± 0,00 ^{A,a}	0,18 ± 0,01 ^{B,c}
F2	0,14 ± 0,05 ^{B,c}	0,43 ± 0,11 ^{A,a}	0,22 ± 0,07 ^{A,B,c}
F3	0,38 ± 0,08 ^{A,a}	0,38 ± 0,08 ^{A,a}	0,19 ± 0,00 ^{B,c}
F4	0,17 ± 0,03 ^{B,b,c}	0,47 ± 0,13 ^{A,a}	0,34 ± 0,02 ^{A,B,b}
F5	0,29 ± 0,05 ^{A,a,b}	0,31 ± 0,09 ^{A,a}	0,38 ± 0,01 ^{A,a}

Valores expressos em mg de malonaldeído – MDA por kg de salame. Formulações: F1 - Controle; F2 – Com substituição de 50% dos sais de cura e 100% de eritorbato de sódio por extrato de *S. neei* (0,1 g mL⁻¹); F3 - Com substituição de 25% dos sais de cura e 100% de eritorbato de sódio por extrato de *S. neei* (0,1 g mL⁻¹); F4 - Com substituição de 50% de sais de cura, 100% de eritorbato de sódio e 50% de cloreto de sódio por pó de *S. neei* (1,4%); F5 - Com substituição de 25% de sais de cura, 100% de eritorbato de sódio e 50% de cloreto de sódio por pó de *S. neei* (1,4%). Letras maiúsculas diferentes na mesma linha após cada valor significam diferença significativa (p<0,05) de acordo com o Teste de Tukey. Letras minúsculas diferentes na mesma coluna após cada valor significam diferença significativa (p<0,05) de acordo com o Teste de Tukey.

O resultado obtido no presente estudo com ES (F2 e F3) esteve de acordo com outros estudos com uso de extrato de plantas em produtos cárneos para retardar a oxidação lipídica, como extrato de rosa em linguiça fermentada (ZHANG et al., 2017); extrato de folha de cassis (*Ribes nigrum* L.) em linguiça frescal (NOWAK et al., 2016); e extrato de acácia branca (*Moringa oleifera* L.) em carne moída bovina (FALOWO et al., 2017).

As formulações com pó de salicornia (F4 e F5) tiveram o teor de NaCl reduzido em 50%, o que pode ter levado a maior oxidação lipídica, assim como constatado por Zanardi et al., (2010), em que a substituição parcial de NaCl por outros sais como KCl, CaCl₂ e MgCl₂ em salames tipo Cacciatore aumentou a oxidação lipídica medida pelos valores de TBARS, sendo 0,35 mg MDA kg⁻¹ (controle) e 0,56 mg kg⁻¹ (com substituição de NaCl).

Ao final do processamento (tempo 14 dias) todas as formulações apresentaram valores de TBARS dentro do limite considerado seguro (menores que 1 mg de MDA kg⁻¹ de salame) (ERGEZER; KAYA; ŞİMŞEK, 2018). As formulações adicionadas de ES (F2 e F3) apresentaram efeito de proteção contra oxidação lipídica comparável à formulação controle (F1). Ou seja, a adição de ES se mostrou efetivo como aditivo natural na prevenção da oxidação lipídica dos salames tipo Italiano, ao substituir o teor de nitrato e nitrito de sódio em 25% e 50%.

5.5.1.6 Capacidade de sequestro de radical 2,2-difenil-1-picril-hidrazila (DPPH[·])

As formulações adicionadas de extrato e pó de salicornia (F2 e F5, respectivamente) apresentaram maior atividade antioxidante se comparado à formulação controle (F1) ($p < 0,05$), sendo que o resultado apresentado ao final do processamento (tempo 14 dias) não teve diferença significativa ($p < 0,05$) com relação ao obtido no início (tempo 0), permanecendo praticamente estável (Tabela 13).

Avaliando as formulações com ES (F2 e F3), verifica-se maior atividade antioxidante na formulação F2, na qual houve uma maior redução do teor de nitrato e nitrito de sódio (50%), ao contrário do que se esperava, uma vez que os sais de cura também agem como antioxidantes, e o percentual adicionado de ES foi a mesma (1%) nessas duas formulações.

O ES foi efetivo ao conferir maior atividade antioxidante em salames tipo Italiano, mesmo reduzindo pela metade o teor de nitrato e nitrito de sódio. O resultado obtido para a formulação F2 também é maior do que o encontrado no estudo de Ekici et al. (2015) em que esta determinação de sequestro de radical DPPH[·] para salames tipo Sukuk (tradicional na Turquia) com adição de 2% (m/m) de pó de cenoura preta na massa cárnea foi de 65%.

Tabela 13 –Valores de sequestro de radical DPPH[·] dos salames tipo Italiano.

Formulação	Tempo (dias)		
	0	7	14
F1	52,1 ± 1,2 ^{C,b}	74,7 ± 0,0 ^{A,a}	64,3 ± 0,6 ^{B,c}
F2	72,9 ± 0,0 ^{A,a}	61,9 ± 1,2 ^{B,c}	75,8 ± 0,6 ^{A,a}
F3	76,5 ± 0,5 ^{A,a}	67,3 ± 0,6 ^{B,b}	67,8 ± 0,3 ^{B,b,c}
F4	71,3 ± 4,7 ^{A,a}	65,6 ± 1,1 ^{A,B,b}	58,3 ± 2,2 ^{B,d}
F5	71,8 ± 1,4 ^{A,a}	75,6 ± 0,0 ^{A,a}	71,2 ± 1,9 ^{A,a,b}

Valores expressos como média ± desvio. Formulações: F1 - Controle; F2 – Com substituição de 50% dos sais de cura e 100% de eritorbato de sódio por extrato de *S. neei* (0,1 g mL⁻¹); F3 - Com substituição de 25% dos sais de cura e 100% de eritorbato de sódio por extrato de *S. neei* (0,1 g mL⁻¹); F4 - Com substituição de 50% de sais de cura, 100% de eritorbato de sódio e 50% de cloreto de sódio por pó de *S. neei* (1,4%); F5 - Com substituição de 25% de sais de cura, 100% de eritorbato de sódio e 50% de cloreto de sódio por pó de *S. neei* (1,4%). Letras maiúsculas diferentes na mesma linha após cada valor significam diferença significativa ($p < 0,05$) de acordo com o Teste de Tukey. Letras minúsculas diferentes na mesma coluna após cada valor significam diferença significativa ($p < 0,05$) de acordo com o Teste de Tukey.

Ainda são poucos os estudos que avaliam a atividade antioxidante do produto final adicionado com extrato de plantas rico em compostos bioativos, a fim de evidenciar os efeitos benéficos que o mesmo pode promover (MARTÍNEZ; NIETO; ROS, 2014; PÉREZ-

BURILLO et al., 2019). Além disso, a atividade antioxidante depende do método de extração adotado e da metodologia de determinação escolhida pelos autores, o que dificulta ainda mais a comparação dos resultados obtidos com outros estudos na literatura.

5.5.1.7 Composição química

A partir das determinações de pH, cor, textura, TBARS e DPPH, as formulações controle (F1) e com extrato de salicornia (F2 e F3) foram escolhidas para as determinações posteriores de composição química (umidade, cinzas, lipídeos, proteínas e NaCl) e análise microbiológica. Já as formulações F4 e F5 com pó de *S. neei* foram descartadas, pois estão fora das características padrão de salame tipo Italiano.

Os salames tipo Italiano com e sem ES do presente estudo mostram que os mesmos se enquadram conforme limites estipulados pela legislação (BRASIL, 2003) para esse tipo de produto com relação ao teor de umidade ($\leq 35\%$), sendo 30%, 34% e 28%, e ao teor de lipídeos ($\leq 32\%$), sendo 14%, 18% e 23%, para as formulações F1, F2 e F3, respectivamente.

O maior teor de umidade ($p < 0,05$) apresentado pela formulação F2 (com ES e redução de 50% dos sais de cura e sem adição de eritorbato de sódio) se relaciona com a textura do produto, uma vez que esta formulação apresentou menor dureza e menor perda de massa com relação ao controle conforme dados mostrados anteriormente.

Já o maior teor de lipídeos nas formulações F2 e F3 ($p < 0,5$) com ES pode ser em função das amostras coletadas conterem glóbulos de gordura animal (toucinho) com maiores diâmetros, que refletem a luz, uma vez que essas amostras também apresentaram maior valor de L^* (luminosidade) na determinação de cor em relação ao controle. Com relação ao teor de cinzas, as três formulações não apresentaram diferença significativa ($p > 0,05$), sendo 7,6%, 6,7% e 5,9%, os resultados obtidos para F1, F2 e F3, respectivamente.

Não foi possível determinar o teor de proteínas, devido a grande variação dos resultados obtidos. Possivelmente a metodologia utilizada no presente estudo (micro-Kjeldahl) não é adequada para o produto em questão, devido alto teor de lipídeos, o que dificulta a homogeneização da amostra. Segundo McGill, 1980; Sáez-Plaza et al. (2013), a determinação do teor de proteínas em carnes e produtos cárneos costumam ter alguns problemas como a falta de homogeneidade da amostra, várias composições de carne, tempo limitado de armazenamento antes do início da deterioração, alto teor de lipídeos que podem

ocasionar a formação de espuma durante a fase de digestão e o alto teor de fibras, que pode dificultar a trituração.

A presença de cloreto de sódio (NaCl) tem a função de extrair as proteínas miofibrilares, influenciando na textura do produto, pois aumenta a capacidade de retenção de água e por isso não pode ser retirado completamente de produtos cárneos (BLESÁ et al., 2008; RAYBAUDI-MASSILIA et al., 2019). O maior teor de NaCl ($p < 0,05$), obtido na formulação F2 (4,9%) com relação às formulações F1 (4,1%) e F3 (4,3%), confirma essa relação, uma vez que essa formulação F2 foi a que apresentou menor dureza, conforme dados apresentados anteriormente (item 5.4.2.4).

A Organização Mundial de Saúde (OMS) possui um plano de ação global de 2013 a 2020 focado em quatro doenças crônicas não-transmissíveis (DCNT): doenças cardiovasculares, diabetes, câncer e doenças respiratórias crônicas, reconhecidas como as principais causas de mortalidade e morbidade no mundo. Entre as ações propostas estão: reduzir em 30% o consumo de sódio na população, parar o crescimento da obesidade e do diabetes e reduzir a prevalência de pressão alta (WHO, 2013).

No Brasil, o consumo médio de sódio excede em mais de duas vezes a ingestão máxima recomendada pela OMS – de 2 g por dia. Considerando a crescente participação de alimentos industrializados na alimentação da população brasileira, é evidente a necessidade de reduzir a quantidade de sódio desses produtos. Algumas ações para a redução do consumo de sódio estão incluídas no plano de ações estratégicas para o enfrentamento de DCNT, incluindo a redução voluntária de sódio em alimentos processados, o aumento da oferta de alimentos saudáveis, a rotulagem e informação ao consumidor e a educação e sensibilização para consumidores, indústria e profissionais de saúde (BRASIL, 2012; MARTINS, 2014).

O pó de salicornia, também denominado de sal verde ou biosal, é mais rico em minerais como cálcio e magnésio do que outras espécies do mesmo gênero e comparado com o sal comercial, e seu teor de cloreto de sódio foi aproximadamente de 3 vezes menor (DONCATO; COSTA, 2018a, 2018b). Além disso, Zhang et al. (2015) investigaram os efeitos de sal obtido de *Salicornia bigelovii* Torr na pressão sanguínea de ratos. Os resultados mostraram que o sal de *S. bigelovii* Torr não induziu a hipertensão, como ocorreu com o sal comercial. A ingestão do sal de *S. bigelovii* Torr também poderia proteger os rins e o fígado contra danos induzida pelo estresse oxidativo e prevenir a hipertensão.

O ES contém diferentes sais em sua composição, além do NaCl, uma vez que são solúveis em água. Pelo resultado obtido, poderia ser testado em trabalhos futuros a redução do

teor de NaCl na formulação de salames com extrato de *S. neei*, além da redução dos sais de cura em 50%, tornando o produto ainda mais atrativo do ponto de vista nutricional.

5.5.1.8 Análise microbiológica

Os resultados obtidos para as formulações de salame tipo Italiano F1, F2 e F3 (Anexo 2), resumidos na Tabela 14.

Tabela 14 – Análise microbiológica dos salames tipo Italiano com e sem extrato de salicornia.

Formulação	<i>Staphylococcus</i> coagulase positiva	Coliformes a 45°C	<i>Salmonella</i> sp.
F1	<10 UFC g ⁻¹	<10 UFC g ⁻¹	Ausente em 25 g
F2	<10 UFC g ⁻¹	<10 UFC g ⁻¹	Ausente em 25 g
F3	<10 UFC g ⁻¹	<10 UFC g ⁻¹	Ausente em 25 g

Formulações: F1 - Controle; F2 – Com substituição de 50% dos sais de cura e 100% de eritorbato de sódio por extrato de *S. neei* (0,1 g mL⁻¹); F3 - Com substituição de 25% dos sais de cura e 100% de eritorbato de sódio por extrato de *S. neei* (0,1 g mL⁻¹). UFC – Unidade Formadora de Colônias.

Os resultados para as três formulações estão de acordo com os limites máximos estabelecidos pela legislação brasileira da Agência Nacional de Vigilância Sanitária Resolução (ANVISA) - RDC nº 12, de 2 de janeiro de 2001 (BRASIL, 2001): *Staphylococcus* coagulase positiva (máximo de 5 x 10³ UFC g⁻¹), ausência de *Salmonella* sp e Coliformes a 45 °C (máximo de 10³ UFC g⁻¹) em 25 gramas de amostra, em produtos cárneos maturados, como o salame. A substituição parcial de nitrato e nitrito de sódio em 25% e 50% na formulação de salame tipo Italiano por extrato de salicornia na concentração de 0,1 g mL⁻¹ foi efetivo na manutenção da qualidade microbiológica do produto ao final do processamento.

6 CONCLUSÃO

No presente estudo melhorou-se a extração de compostos fenólicos a partir de plantas de *Salicornia neei*, aplicando o plasma a frio (PF) como pré-tratamento à extração por ultrassom, resultando no aumento da atividade antioxidante em 34% no sequestro de radical DPPH[·], em comparação à extração somente por ultrassom.

A extração por maceração com orbital shaker após pré-tratamento com PF apresentou alta inibição específica pelas determinações de sequestro de radical DPPH[·] e ABTS^{·+} (IE_DPPH = 7,9% mg⁻¹ de fenóis e IE_ABTS = 10,9% mg⁻¹ de fenóis), o que poderia ser avaliado melhor em trabalhos futuros, identificando quais os compostos fenólicos presentes no extrato responsáveis por essa alta atividade antioxidante específica.

Escolheu-se a extração por ultrassom para continuidade dos testes com PF por apresentar maior teor de fenólicos conjugados e atividade antioxidante. Dentre os nove parâmetros diferentes de operação da câmara de PF testados, a extração por ultrassom após pré-tratamento com PF nos parâmetros de P = 14 W, p = 2 x 10⁻² mbar, t = 5 min foi escolhida e o ES obtido por este método de extração, na concentração de 0,1 g mL⁻¹ apresentou alta atividade e baixa atividade antimicrobiana.

A adição de 1% (m/m) do ES na massa cárnea dos salames tipo Italiano foi efetivo como aditivo natural ao substituir totalmente o teor de eritorbato de sódio e parcialmente o teor de nitrato e nitrito de sódio em 50% e 25% sem impactar na qualidade microbiológica, mantendo o pH, os níveis de oxidação lipídica e a atividade antioxidante, em comparação à formulação controle ao final do processamento. Porém, a aplicação de 1,4% (m/m) do pó de salicornia na massa cárnea dos salames tipo Italiano teve grande impacto nas características de cor e textura, além de baixos valores de pH e por isso é recomendado o estudo da adição do pó em menor quantidade para viabilizar sua utilização como aditivo natural.

A formulação com ES, redução de 25% do teor de nitrato e nitrito de sódio e sem adição de eritorbato se apresenta como uma alternativa viável para redução do uso de conservantes químicos em salames, apesar de ligeira redução no parâmetro a* de cor vermelha, pois também manteve a característica de textura e o teor de NaCl comparável ao controle dentro das condições testadas neste estudo.

7 PERSPECTIVAS FUTURAS

Não foi encontrado outro trabalho científico que utilizasse o PF como pré-tratamento da matéria-prima na extração de compostos fenólicos por ultrassom até o momento. A tecnologia de PF poderia ser melhor explorada em trabalhos futuros para otimização dos parâmetros de aplicação, extração de compostos bioativos em outras matrizes alimentícias e até mesmo para promover modificações químicas desejáveis para formação e obtenção de novos compostos.

O extrato fenólico obtido a partir de plantas de *S. neei* apresenta um grande potencial de aplicação não só no processamento de salames como observado neste estudo, mas também em outros produtos alimentícios, e até mesmo em embalagens biodegradáveis, por exemplo, como aditivo natural. Para melhor entendimento do mecanismo de ação antioxidante e antimicrobiana do ES, é recomendado identificar os componentes químicos presentes no extrato e verificar através da análise de bioacessibilidade dos compostos fenólicos a sua atividade após digestão *in vitro*.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALAHAKOON, A. U.; JAYASENA, D. D.; RAMACHANDRA, S.; JO, C. Alternatives to nitrite in processed meat: Up to date. **Trends in Food Science and Technology**, v. 45, n. 1, p. 37–49, 2015.
- ALARCÓN-FLORES, M. I.; ROMERO-GONZÁLEZ, R.; LUIS, J.; VIDAL, M.; FRENICH, A. G. Determination of phenolic compounds in artichoke, garlic and spinach by Ultra-High-Performance Liquid Chromatography coupled to tandem mass spectrometry. **Food Analytical Methods**, v. 7, n. 10, p. 2095–2106, 2014.
- ALIÑO, M.; GRAU, R.; TOLDRÁ, F.; BARAT, J. M. Physicochemical changes in dry-cured hams salted with potassium, calcium and magnesium chloride as a partial replacement for sodium chloride. **Meat Science**, v. 86, n. 2, p. 331–336, 2010.
- ALONSO, M. Á.; CRESPO, M. B. Taxonomic and Nomenclatural Notes on South American Taxa of Sarcocornia (Chenopodiaceae). **Annales Botanici Fennici**, v. 45, n. 4, p. 241–254, 2008.
- ALTAY, A.; CELEP, G. S.; YAPRAK, A. E.; BASKOSE, I.; BOZOGLU, F. Glassworts as possible anticancer agents against human colorectal adenocarcinoma cells with their nutritive, antioxidant and phytochemical profiles. **Chemistry and Biodiversity**, v. 14, n. 3, p. 1–10, 2017.
- ALTEMIMI, A.; CHOUDHARY, R.; WATSON, D. G.; LIGHTFOOT, D. A. Effects of ultrasonic treatments on the polyphenol and antioxidant content of spinach extracts. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 24, p. 247–255, 2015.
- ALVES FILHO, E. G.; SILVA, L. M. A.; OIRAM FILHO, F.; RODRIGUES, S.; FERNANDES, F. A. N.; GALLÃO, M. I.; MATTISON, C. P.; DE BRITO, E. S. Cold plasma processing effect on cashew nuts composition and allergenicity. **Food Research International**, v. 125, n. August, p. 108621, 2019.
- ALVES, L. L.; SILVA, M. S.; FLORES, D. R. M.; ATHAYDE, D. R.; RUVIARO, A. R.; BRUM, D. S.; BATISTA, V. S. F.; MELLO, R. O.; MENEZES, C. R.; CAMPAGNOL, P. C. B.; WAGNER, R.; BARIN, J. S.; CICHOSKI, A. J. Effect of ultrasound on the physicochemical and microbiological characteristics of Italian salami. **Food Research International**, v. 106, n. December 2017, p. 363–373, 2018.
- AOAC. **Official methods of analysis**. 17th. ed. Maryland, USA: Association of Official Analytical Chemistry, 2000.
- AOAC. **Official methods of analysis**. 19th. ed. Washington DC, USA: Association of Official Analytical Chemistry, 2012.
- ARNAU, J.; SERRA, X.; COMAPOSADA, J.; GOU, P.; GARRIGA, M. Technologies to shorten the drying period of dry-cured meat products. **Meat Science**, v. 77, p. 81–89, 2007.
- AWAD, T. S.; MOHARRAM, H. A.; SHALTOUT, O. E.; ASKER, D.; YOUSSEF, M. M. Applications of ultrasound in analysis, processing and quality control of food: A review. **Food Research International**. Elsevier B.V., 2012. Disponível em:

<<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodres.2012.05.004>>

AYAZ AHMED, K. B.; SUBRAMANIAN, S.; SIVASUBRAMANIAN, A.; VEERAPPAN, G.; VEERAPPAN, A. Preparation of gold nanoparticles using *Salicornia brachiata* plant extract and evaluation of catalytic and antibacterial activity. **Spectrochimica Acta - Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 130, p. 54–58, 2014.

AZMIR, J.; ZAIDUL, I. S. M.; RAHMAN, M. M.; SHARIF, K. M.; MOHAMED, A.; SAHENA, F.; JAHURUL, M. H. A.; GHAFOOR, K.; NORULAINI, N. A. N.; OMAR, A. K. M. Techniques for extraction of bioactive compounds from plant materials: A review. **Journal of Food Engineering**, v. 117, n. 4, p. 426–436, 2013.

BARREIRA, L.; RESEK, E.; JOÃO, M.; ISABEL, M.; PEREIRA, H.; BANDARRA, N.; MOREIRA, M.; VARELA, J.; CUSTÓDIO, L. Halophytes: Gourmet food with nutritional health benefits? **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 59, p. 35–42, 2017.

BEDALE, W.; SINDELAR, J. J.; MILKOWSKI, A. L. Dietary nitrate and nitrite : Benefits, risks, and evolving perceptions. **Meat Science**, v. 120, p. 85–92, 2016.

BERTIN, R. L. **Prospecção para exploração da erva de sal (*Sarcocornia ambigua* - Amaranthaceae): Análise histológica, caracterização química, valor nutricional e potencial antioxidante**. 152p. Tese (Doutorado em Ciência de Alimentos) Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2014.

BERTIN, R. L.; GONZAGA, L. V.; BORGES, G. S. C.; AZEVEDO, M. S.; MALTEZ, H. F.; HELLER, M.; MICKE, G. A.; TAVARES, L. B. B.; FETT, R. Nutrient composition and, identification/quantification of major phenolic compounds in *Sarcocornia ambigua* (Amaranthaceae) using HPLC-ESI-MS/MS. **Food Research International**, v. 55, p. 404–411, 2014.

BERTIN, R. L.; MALTEZ, H. F.; GOIS, J. S.; BORGES, D. L. G.; BORGES, G. S. C.; GONZAGA, L. V.; FETT, R. Mineral composition and bioaccessibility in *Sarcocornia ambigua* using ICP-MS. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 47, p. 45–51, 2016.

BINICI, A.; KAYA, G. K. Effect of brine and dry salting methods on the physicochemical and microbial quality of chub (*Squalius cephalus* Linnaeus , 1758). **Food Science and Technology**, v. 2061, n. 38, p. 66–70, 2018.

BLAIOTTA, G.; MURRU, N.; CERBO, D.; ROMANO, R.; APONTE, M. Production of probiotic bovine salami using *Lactobacillus plantarum* 299v as adjunct. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 98, n. 6, p. 2285–2294, 2017.

BLESA, E.; ALIÑO, M.; BARAT, J. M.; GRAU, R.; TOLDRÁ, F.; PAGÁN, M. J. 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**, v. 78, n. 1–2, p. 135–142, 2008.

BLOUKAS, J. G.; PANERAS, E. D.; FOURNITZIS, G. C. Effect of replacing pork backfat with olive oil on processing and quality characteristics of fermented sausages. **Meat Science**, v. 45, n. 2, p. 133–144, 1997.

BOZKURT, H. Utilization of natural antioxidants : Green tea extract and *Thymbra spicata* oil

in Turkish dry-fermented sausage. **Meat Science**, v. 73, p. 442–450, 2006.

BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **LWT - Food Science and Technology**, v. 28, n. 1, p. 25–30, 1995.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), **Resolução no 12 de 2 de janeiro de 2001**. Aprova o regulamento técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos. Diário Oficial da União, Brasília, 2001.

BRASIL. **Instrução Normativa nº 55 de 07 de julho de 2003**. Altera o subitem nº 4.2.2, dos anexos V, VI, VII, VIII, IX, X, XI, XII e XIII, da Instrução Normativa nº22, de 31 de Junho de 2000, referente aos regulamentos técnicos de identidade e qualidade de salames. Diário Oficial da União, Brasília, p. 28, 2003.

BRASIL. Ministério da Saúde - Promoção da Saúde e da Alimentação Adequada e Saudável. Disponível em: <<https://aps.saude.gov.br/ape/promocaosaude/reducao>>. Acesso em: 23 de set. 2019.

BUHMANN, A.; PAPENBROCK, J. An economic point of view of secondary compounds in halophytes. **Functional Plant Biology**, v. 40, n. 9, p. 952–967, 2013.

BURSAĆ KOVAČEVIĆ, D.; GAJDOŠ KLJUSURIĆ, J.; PUTNIK, P.; VUKUŠIĆ, T.; HERCEG, Z.; DRAGOVIĆ-UZELAC, V. Stability of polyphenols in chokeberry juice treated with gas phase plasma. **Food Chemistry**, v. 212, p. 323–331, 2016.

BURSAĆ KOVAČEVIĆ, D.; MARAS, M.; BARBA, F. J.; GRANATO, D.; ROOHINEJAD, S.; MALLIKARJUNAN, KUMAR MONTESANO, D.; LORENZO, J. M.; PUTNIK, P. Innovative technologies for the recovery of phytochemicals from *Stevia rebaudiana* Bertoni leaves : A review. **Food Chemistry**, v. 268, n. March, p. 513–521, 2018.

BURT, S. Essential oils: Their antibacterial properties and potential applications in foods - A review. **International Journal of Food Microbiology**, v. 94, n. 3, p. 223–253, 2004.

CHEMAT, F.; ROMBAUT, N.; MEULLEMIESTRE, A.; TURK, M.; PERINO, S.; FABIANO-TIXIER, A. S.; ABERT-VIAN, M. Review of Green Food Processing techniques. Preservation, transformation, and extraction. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 41, p. 357–377, 2017.

CHEN, G.; XIONG, Y. L.; WANG, L.; GOMEZ-BASAURI, J.; NICASTRO, F. Effect of preventox on the storage stability of raw and precooked pork patties. **Journal of Muscle Foods**, v. 19, n. 1, p. 1–16, 2008.

CHEN, X. H.; MA, L. H.; DONG, Y. W.; SONG, H.; PU, Y.; ZHOU, Q. Y. Evaluation of the differences in phenolic compounds and antioxidant activities of five green asparagus (*Asparagus officinalis* L.) cultivars. **Quality Assurance and Safety of Crops & Foods**, v. 9, n. 4, p. 479–487, 2017.

CHIZOBA EKEZIE, F.-G.; SUN, D.-W.; CHENG, J.-H. A review on recent advances in cold plasma technology for the food industry: Current applications and future trends. **Trends in Food Science & Technology**, v. 69, p. 46–58, 2017.

CHUNG, Y. C.; CHUN, H. K.; YANG, J. Y.; KIM, J. Y.; HAN, E. H.; KHO, Y. H.; JEONG, H. G. Tungtungmadic Acid , a Novel Antioxidant , from *Salicornia herbacea*. **Archives of pharmacal research**, v. 28, n. 10, p. 1122–1126, 2005.

CICHOSKI, A. J.; CANSIAN, R. L.; OLIVEIRA, D. DE; GAIO, I.; SAGGIRATO, A. G. Lipid and protein oxidation in the internal part of italian type salami containing basil essential oil (*Ocimum basilicum* L.). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 31, n. 2, p. 436–442, 2011.

CIE. **Colorimetry**. 2nd. ed. Wien, Austria: Commission International de l'Éclairage, 1986.

COSTA, C. S. B.; VICENTI, J. R. M.; MORÓN-VILLARREYES, J. A.; CALDAS, S.; CARDOSO, L. V.; FREITAS, R. F.; D'OCA, M. G. M. Extraction and characterization of lipids from *Sarcocornia ambigua* meal: A halophyte biomass produced with shrimp farm effluent irrigation. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 86, n. 2, p. 935–943, 2014.

COSTA, C. S. B.; CHAVES, F. C.; ROMBALDI, C. V.; SOUZA, C. R. Bioactive compounds and antioxidant activity of three biotypes of the sea asparagus *Sarcocornia ambigua* (Michx.) M.A.Alonso & M.B.Crespo: a halophytic crop for cultivation with shrimp farm effluent. **South African Journal of Botany**, v. 117, p. 95–100, 2018.

COSTA, C. S. B.; HERRERA, O. B. Manejo de salinidade na agricultura: Estudos básicos e aplicados. INCTSal. **Halófitas brasileiras: Formas de cultivo e usos**. cap. 16. p. 243–258, Fortaleza, 2016.

COSTA, C. S. B.; KADEREIT, G.; FREITAS, G. P. M. Molecular markers indicate the phylogenetic identity of southern Brazilian sea asparagus: First record of *Salicornia neei* Lag. in Brazil. **Rodriguésia**, v. 70, n. January, p. 1–10, 2019.

COSTA, C. S. B.; NEVES, L. S. Respostas Cromáticas De *Salicornia Gaudichaudiana* Mog . (Chenopodiaceae). **Atlântica**, v. 28, n. 1, p. 25–31, 2006.

COSTA, F. DAS N.; BORGES, R. M.; LEITÃO, G. G.; JERZ, G. Preparative mass-spectrometry profiling of minor concentrated metabolites in *Salicornia gaudichaudiana* Moq by high-speed countercurrent chromatography and off-line electrospray mass-spectrometry injection. **Journal of Separation Science**, v. 42, n. 8, p. 1528–1541, 2019.

CRACKEL, R. L.; GRAY, J. I.; PEARSON, A. M.; BOOREN, A. M.; BUCKLEY, D. J. Some further observations on the TBA test as an index of lipid oxidation in meats. **Food Chemistry**, v. 28, n. 3, p. 187–196, 1988.

CYBULSKA, I.; CHATURVEDI, T.; BRUDECKI, G. P.; KÁDÁR, Z.; MEYER, A. S.; BALDWIN, R. M.; THOMSEN, M. H. Chemical characterization and hydrothermal pretreatment of *Salicornia bigelovii* straw for enhanced enzymatic hydrolysis and bioethanol potential. **Bioresource Technology**, v. 153, p. 165–172, 2014.

D'OCA, M. G. M.; MORÓN-VILLARREYES, J. A.; LEMÕES, J. S.; COSTA, C. S. B. Fatty acids composition in seeds of the South American glasswort *Sarcocornia ambigua*. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 84, n. 3, p. 865–870, 2012.

DEMEYER, D.; HUI, Y. H.; MEUNIER-GODDIK, L.; HANSEN, A. S.; JOSEPHSEN, J.; NIP, W. K.; STANFIELD, P. S.; TOLDRÁ, F. **Handbook of Fermented Meat and Poultry**.

Meat Fermentation: Principles and applications. 1st. ed. New York, USA: Marcel Decker Inc., 2004.

DÍAZ, F. J.; BENES, S. E.; GRATTAN, S. R. Field performance of halophytic species under irrigation with saline drainage water in the San Joaquin Valley of California. **Agricultural Water Management**, v. 118, p. 59–69, 2013.

DONCATO, K. B.; COSTA, C. S. B. Growth and mineral composition of two lineages of the sea asparagus *Sarcocornia ambigua* irrigated with shrimp farm saline effluent. **Experimental Agriculture**, v. 54, n. 3, p. 399–416, 2018a.

DONCATO, K. B.; COSTA, C. S. B. Nutritional potential of a novel sea asparagus, *Salicornia neei* Lag., for human and animal diets. **Biotemas**, v. 31, n. 4, p. 57–63, 2018b.

DRANCA, F.; OROIAN, M. Optimization of ultrasound-assisted extraction of total monomeric anthocyanin (TMA) and total phenolic content (TPC) from eggplant (*Solanum melongena* L.) peel. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 31, p. 637–646, 2016.

DROSINOS, E. H.; MATARAGAS, M.; XIRAPHI, N.; MOSCHONAS, G.; GAITIS, F.; METAXOPOULOS, J. Characterization of the microbial flora from a traditional Greek fermented sausage. **Meat Science**, v. 69, n. 2, p. 307–317, 2005.

EKEZIE, F.-G. C.; SUN, D.-W.; CHENG, J.-H. A review on recent advances in cold plasma technology for the food industry: Current applications and future trends. **Trends in Food Science & Technology**, v. 69, p. 46–58, 2017.

EKICI, L.; OZTURK, I.; KARAMAN, S.; CALISKAN, O.; TORNUK, F.; SAGDIC, O.; YETIM, H. Effects of black carrot concentrate on some physicochemical, textural, bioactive, aroma and sensory properties of sucuk, a traditional Turkish dry-fermented sausage. **LWT - Food Science and Technology**, v. 62, n. 1, p. 718–726, 2015.

ELEZ GAROFULIĆ, I.; REŽEK JAMBRAK, A.; MILOŠEVIĆ, S.; DRAGOVIĆ-UZELAC, V.; ZORIĆ, Z.; HERCEG, Z. The effect of gas phase plasma treatment on the anthocyanin and phenolic acid content of sour cherry Marasca (*Prunus cerasus* var. Marasca) juice. **LWT - Food Science and Technology**, v. 62, n. 1, p. 894–900, 2015.

ERGEZER, H.; KAYA, H. İ.; ŞİMŞEK, Ö. Antioxidant and Antimicrobial Potential of Artichoke (*Cynara scolymus* L.) Extract in Beef Patties. **Czech Journal of Food Sciences**, v. 36, n. 2, 2018.

ESSAIDI, I.; BRAHMI, Z.; SNOUSSI, A.; BEN HAJ KOUBAIER, H.; CASABIANCA, H.; ABE, N.; EL OMRI, A.; CHAABOUNI, M. M.; BOUZOUITA, N. Phytochemical investigation of Tunisian *Salicornia herbacea* L., antioxidant, antimicrobial and cytochrome P450 (CYPs) inhibitory activities of its methanol extract. **Food Control**, v. 32, n. 1, p. 125–133, 2013.

FALOWO, A. B.; MUCHENJE, V.; HUGO, A.; AIYEGORO, O. A.; FAYEMI, P. O. Actividades antioxidantes de extractos de hoja de *Moringa oleifera* L. y *Bidens pilosa* L. y sus efectos en la estabilidad oxidativa de ternera cruda picada durante el almacenamiento en frío. **CYTA - Journal of Food**, v. 15, n. 2, p. 249–256, 2017.

FALOWO, A. B.; FAYEMI, P. O.; MUCHENJE, V. Natural antioxidants against lipid –

protein oxidative deterioration in meat and meat products : A review. **Food Research International**, v. 64, p. 171–181, 2014.

FERREIRA, V. C. DA S.; MARTINS, T. D. D.; BATISTA, E. DE S.; DOS SANTOS, E. P.; DA SILVA, F. A. P.; ARAÚJO, Í. B. DA S.; DO NASCIMENTO, M. C. O. Physicochemical and microbiological parameters of dried salted pork meat with different sodium chloride levels. **Food Science and Technology**, v. 33, n. 2, p. 382–386, 2013.

FIEIRA, C.; MARCHI, J. F.; MARAFÃO, D.; ALFARO, A. DA T. The impact of the partial replacement of sodium chloride in the development of starter cultures during Italian salami production. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 21, n. e2015036, 2018.

FLOWERS, T. J.; COLMER, T. D. Salinity tolerance in halophytes. **New Phytologist**, v. 179, n. 4, p. 945–963, 2008.

FRIDOVICH, I. Superoxide radical and superoxide dismutases. **Annual Review of Biochemistry**, v. 64, n. III, p. 97–112, 1995.

GAO, Y.; MA, S.; WANG, M.; FENG, X. Y. Characterization of free, conjugated, and bound phenolic acids in seven commonly consumed vegetables. **Molecules**, v. 22, n. 11, 2017.

GARGOURI, M.; HAMED, H.; AKROUTI, A.; CHRISTIAN, M.; KSOURI, R.; EL FEKI, A. Immunomodulatory and antioxidant protective effect of *Sarcocornia perennis* L. (swampfire) in lead intoxicated rat. **Toxicology Mechanisms and Methods**, v. 27, n. 9, p. 697–706, 2017.

GIMENO, O.; ASTIASARÁN, I.; BELLO, J. 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**, v. 46, n. 10, p. 4372–4375, 1998.

GOLTZ, C.; ÁVILA, S.; BARBIERI, J. B.; IGARASHI-MAFRA, L.; MAFRA, M. R. Ultrasound-assisted extraction of phenolic compounds from macela (*Achyrocline satureioides*) extracts. **Industrial Crops & Products**, v. 115, n. February, p. 227–234, 2018.

GRZEGORZEWSKI, F.; EHLBECK, J.; SCHLÜTER, O.; KROH, L. W.; ROHN, S. Treating lamb's lettuce with a cold plasma - Influence of atmospheric pressure Ar plasma immanent species on the phenolic profile of *Valerianella locusta*. **LWT - Food Science and Technology**, v. 44, n. 10, p. 2285–2289, 2011.

GUEVARA, Y. E. D. **Inclusão de carne de corvina (*Micropogonias furnieri*) em embutido do tipo salame italiano**. Dissertação (Mestrado em Engenharia e Ciência de Alimentos). Universidade Federal do Rio Grande, Rio Grande, 2014.

HEINONEN, I. M.; LEHTONEN, P. J.; HOPIA, A. I. Antioxidant Activity of Berry and Fruit Wines and Liquors. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 46, n. 1, p. 25–31, 1998.

HERALD, P. J.; DAVIDSON, P. M. Antibacterial Activity of Selected Hydroxycinnamic Acids. **Journal of Food Science**, v. 48, n. 4, p. 1378–1379, 1983.

HUANG, S. C.; TSAI, Y. F.; CHEN, C. M. Effects of wheat fiber, oat fiber, and inulin on sensory and physico-chemical properties of Chinese-style sausages. **Asian-Australasian**

Journal of Animal Sciences, v. 24, n. 6, p. 875–880, 2011.

IARC. **IARC Monographs evaluate consumption of red meat and processed meat**. Press release n° 240. World Health Organization. Lyon: 2015

INGUGLIA, E. S.; ZHANG, Z.; TIWARI, B. K.; KERRY, J. P.; BURGESS, C. M. Salt reduction strategies in processed meat products e A review. **Trends in Food Science & Technology**, v. 59, p. 70–78, 2017.

ISO. International Organization for Standardization. **ISO 6887–1:1999**. Microbiology of food and animal feeding stuffs -Horizontal method for the enumeration of coagulase-positive staphylococci (*Staphylococcus aureus* and other species)–Part 1: Technique using Baird-Parker agar medium. Geneva, ISO, 1999.

KATSCHNIG, D.; BROEKMAN, R.; ROZEMA, J. Salt tolerance in the halophyte *salicornia dolichostachya* moss: Growth, morphology and physiology. **Environmental and Experimental Botany**, v. 92, p. 32–42, 2013.

KHARRAT, N.; SALEM, H.; MRABET, A.; ALOUI, F.; TRIKI, S.; FENDRI, A.; GARGOURI, Y. Synergistic effect of polysaccharides, betalain pigment and phenolic compounds of red prickly pear (*Opuntia stricta*) in the stabilization of salami. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 111, p. 561–568, 2018.

KIM, H. J.; YONG, H. I.; PARK, S.; KIM, K.; CHOE, W.; JO, C. Microbial safety and quality attributes of milk following treatment with atmospheric pressure encapsulated dielectric barrier discharge plasma. **Food Control**, v. 47, p. 451–456, 2015.

KIM, H. W.; HWANG, K. E.; SONG, D. H.; KIM, Y. J.; HAM, Y. K.; YEO, I. J.; JEONG, T. J.; CHOI, Y. S.; KIM, C. J. Effects of red and green glassworts (*Salicornia herbacea* L.) on physicochemical and textural properties of reduced-salt cooked sausages. **Korean Journal for Food Science of Animal Resources**, v. 34, n. 3, p. 378–386, 2014.

KIM, J. E.; OH, Y. J.; WON, M. Y.; LEE, K. S.; MIN, S. C. Microbial decontamination of onion powder using microwave-powered cold plasma treatments. **Food Microbiology**, v. 62, p. 112–123, 2017a.

KIM, J. Y.; CHO, J. Y.; MA, Y. K.; PARK, K. Y.; LEE, S. H.; HAM, K. S.; LEE, H. J.; PARK, K. H.; MOON, J. H. Dicafeoylquinic acid derivatives and flavonoid glucosides from glasswort (*Salicornia herbacea* L.) and their antioxidative activity. **Food Chemistry**, v. 125, n. 1, p. 55–62, 2011.

KIM, M. S.; SEO, J. Y.; OH, J.; JANG, Y. K.; LEE, C. H.; KIM, J.-S. Neuroprotective Effect of Halophyte *Salicornia herbacea* L. Is Mediated by Activation of Heme Oxygenase-1 in Mouse Hippocampal HT22 Cells. **Journal of Medicinal Food**, v. 20, n. 2, p. 140–151, 2017b.

KIM, S. J.; MIN, S. C.; SHIN, H. J.; LEE, Y. J.; CHO, A. R.; KIM, S. Y.; HAN, J. Evaluation of the antioxidant activities and nutritional properties of ten edible plant extracts and their application to fresh ground beef. **Meat Science**, v. 93, n. 3, p. 715–722, 2013.

KIM, T. H.; LEE, J.; KIM, H. J.; JO, C. Plasma-Induced Degradation of Quercetin Associated with the Enhancement of Biological Activities. **Journal of Agricultural and Food**

Chemistry, v. 65, n. 32, p. 6929–6935, 2017c.

KLOCKOW, P. A. **Quality and Safety Assessment of Packaged Spinach Treated with a Novel Atmospheric, Non-Equilibrium Plasma System**. 2008 ASABE Annual International Meeting Society. Paper n° 084396. Rhode Island, 2008.

KODAMA, S.; THAWATCHAIPRACHA, B.; SEKIGUCHI, H. Enhancement of Essential Oil Extraction for Steam Distillation by DBD Surface Treatment. **Plasma Processes and Polymers**, v. 11, p. 126–132, 2014.

KSOURI, R.; KSOURI, W. M.; JALLALI, I.; DEBEZ, A.; MAGNÉ, C.; HIROKO, I.; ABDELLY, C. Medicinal halophytes: potent source of health promoting biomolecules with medical, nutraceutical and food applications. **Critical Reviews in Biotechnology**, v. 32, n. 4, p. 289–326, 2012.

KUJUNDŽIĆ, D.; REŽEK, A.; TOMISLAVA, J.; VIŠNJA, V. Near-infrared spectroscopic characterization of steviol glycosides extracted from *Stevia rebaudiana* Bertoni using high-power ultrasound and gas-phase plasma. **Journal of Food and Nutrition Research**, v. 56, n. 2, p. 109–120, 2017.

KUMAR, S. R.; RAMANATHAN, G.; SUBHAKARAN, M.; INBANESON, S. J. Antimicrobial compounds from marine halophytes for silkworm disease treatment. **International Journal of Medicine and Medical Sciences**, v. 1, n. 5, p. 184–191, 2009.

KUNRATH, C. A.; SAVOLDI, D. C.; PAULO, J.; MILESKI, F.; NOVELLO, C. R.; ALFARO, T.; MARCHI, J. F.; TONIAL, I. B. Aplicação e avaliação de própolis , o antioxidante natural , em salame tipo Italiano. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 20, n. e2016035, p. 1–10, 2017.

KURČUBIĆ, V. S.; MAŠKOVIĆ, P. Z.; VUJIĆ, J. M.; VRANIĆ, D. V.; VESKOVIĆ-MORAČANIN, S. M.; OKANOVIĆ, G.; LILIĆ, S. V. Antioxidant and antimicrobial activity of *Kitaibelia vitifolia* extract as alternative to the added nitrite in fermented dry sausage. **Meat Science**, v. 97, p. 459–467, 2014.

LEE, G. H. A salt substitute with low sodium content from plant aqueous extracts. **Food Research International**, v. 44, n. 2, p. 537–543, 2011.

LEE, S. J.; JEONG, E. M.; KI, A. Y.; OH, K. S.; KWON, J.; JEONG, J. H.; CHUNG, N. J. Oxidative defense metabolites induced by salinity stress in roots of *Salicornia herbacea*. **Journal of Plant Physiology**, v. 206, p. 133–142, 2016.

LI, F.; MAO, Y. D.; WANG, Y. F.; RAZA, A.; QIU, L. P.; XU, X. Q. Optimization of ultrasonic-assisted enzymatic extraction conditions for improving total phenolic content, antioxidant and antitumor activities in vitro from *Trapa quadrispinosa* Roxb. residues. **Molecules**, v. 22, n. 3, 2017.

LIAO, X.; LI, J.; IDRIS, A.; SUO, Y.; AHN, J. Preceding treatment of non-thermal plasma (NTP) assisted the bactericidal effect of ultrasound on *Staphylococcus aureus*. **Food Control**, v. 90, p. 241–248, 2018.

LIAROS, N. G.; KATSANIDIS, E.; BLOUKAS, J. G. Effect of the ripening time under vacuum and packaging film permeability on processing and quality characteristics of low-fat

fermented sausages. **Meat Science**, v. 83, n. 4, p. 589–598, 2009.

LIM, D. H.; CHOI, D.; KIM, S. M.; PIAO, Y. L.; CHOI, O. Y.; LIM, G. S.; CHANG, Y. C.; CHO, H. Hypolipidemic and antioxidant effects on hypercholesterolemic rats of polysaccharide from *Salicornia bigelovii* seed. **Korean Journal of Chemical Engineering**, v. 34, n. 3, p. 787–796, 2017.

LOPES, M.; CAVALEIRO, C.; RAMOS, F. Sodium Reduction in Bread: A Role for Glasswort (*Salicornia ramosissima* J. Woods). **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 16, n. 5, p. 1056–1071, 2017.

LÓPEZ, M.; CALVO, T.; PRIETO, M.; MÚGICA-VIDAL, R.; MURO-FRAGUAS, I.; ALBA-ELÍAS, F.; ALVAREZ-ORDÓÑEZ, A. A Review on non-thermal atmospheric plasma for food preservation : mode of action , determinants of effectiveness , and applications. **Frontiers in Food Microbiology**, v. 10, p. 622, 2019.

LORENZO, J. M.; PATEIRO, M.; DOMÍNGUEZ, R.; BARBA, F. J.; PUTNIK, P.; KOVAČEVIĆ, D. B.; SHPIGELMAN, A.; GRANATO, D.; FRANCO, D. Berries extracts as natural antioxidants in meat products: A review. **Food Research International**, n. 106, p. 1095–1104, 2018.

LORENZO, J. M.; GÓMEZ, M. Shelf life of fresh foal meat under MAP , overwrap and vacuum packaging conditions. **Meat Science**, v. 92, n. 4, p. 610–618, 2012.

LOS, A.; ZIUZINA, D.; BOEHM, D.; CULLEN, P. J.; BOURKE, P. Investigation of mechanisms involved in germination enhancement of wheat (*Triticum aestivum*) by cold plasma: Effects on seed surface chemistry and characteristics. **Plasma Processes and Polymers**, v. 16, n. 4, p. 1–12, 2019.

LU, D.; ZHANG, M.; WANG, S.; CAI, J.; ZHOU, X.; ZHU, C. Nutritional characterization and changes in quality of *Salicornia bigelovii* Torr. during storage. **LWT - Food Science and Technology**, v. 43, n. 3, p. 519–524, 2010.

MA, R.; WANG, G.; TIAN, Y.; WANG, K.; ZHANG, J.; FANG, J. Non-thermal plasma-activated water inactivation of food-borne pathogen on fresh produce. **Journal of Hazardous Materials**, v. 300, p. 643–651, 2015.

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

MANDAL, R.; SINGH, A.; PRATAP SINGH, A. Recent developments in cold plasma decontamination technology in the food industry. **Trends in Food Science and Technology**, v. 80, p. 93–103, 2018.

MARANGONI, C.; MOURA, N. F. DE. Antioxidant activity of essential oil from *Coriandrum Sativum* L. in Italian salami. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 31, n. 1, p. 124–128, 2011.

MARTÍNEZ, J.; NIETO, G.; ROS, G. Total antioxidant capacity of meat and meat products consumed in a reference ‘ Spanish standard diet ’. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 2610, n. 49, p. 2610–2618, 2014.

MARTÍNEZ, L.; BASTIDA, P.; CASTILLO, J.; ROS, G.; NIETO, G. Green alternatives to synthetic antioxidants, antimicrobials, nitrates, and nitrites in clean label Spanish Chorizo. **Antioxidants**, v. 8, n. 6, 2019.

MARTINS, A. P. B. **Redução de sódio em alimentos: Uma análise dos acordos voluntários no Brasil**. 1º Edição ed. São Paulo: IDEC - Instituto Brasileiro de Defesa do Consumidor, 2014.

MCGILL, D. L. Comparison of automated method and improved AOAC Kjeldahl method for determination of protein in meat and meat products. **J. Assoc. Off. Anal. Chem**, v. 64, n. 1, p. 29–31, 1980.

MENDES, A. C. G.; RETTORE, D. M.; RAMOS, A. DE L. S.; DA CUNHA, S. DE F. V.; DE OLIVEIRA, L. C.; RAMOS, E. M. Salames tipo milano elaborados com fibras de subprodutos da produção de vinho tinto. **Ciencia Rural**, v. 44, n. 7, p. 1291–1296, 2014.

MENDIS, D. A.; ROSENBERG, M.; AZAM, F. A note on the possible electrostatic disruption of bacteria. **IEEE Transactions on Plasma Science**, v. 28, n. 4, p. 1304–1306, 2000.

MIN, G.-J.; LEE, D.-S.; KIM, T.-J.; PARK, J.-H.; CHO, T.-Y.; PARK, D.-I. Chemical composition of *Salicornia herbacea* L. **J Food Sci Nutr**, v. 7, n. 1, p. 105–107, 2002.

MIR, S. A.; SHAH, M. A.; MIR, M. M. Understanding the Role of Plasma Technology in Food Industry. **Food and Bioprocess Technology**, v. 9, n. 5, p. 734–750, 2016.

MISRA, N. N.; KEENER, K. M.; BOURKE, P.; MOSNIER, J. P.; CULLEN, P. J. In-package atmospheric pressure cold plasma treatment of cherry tomatoes. **Journal of Bioscience and Bioengineering**, v. 118, n. 2, p. 177–182, 2014.

MISRA, N. N.; PANKAJ, S. K.; SEGAT, A.; ISHIKAWA, K. Cold plasma interactions with enzymes in foods and model systems. **Trends in Food Science and Technology**, v. 55, n. July, p. 39–47, 2016.

MISRA, N. N.; KOUBAA, M.; ROOHINEJAD, S.; JULIANO, P.; ALPAS, H.; INÁCIO, R. S.; SARAIVA, J. A.; BARBA, F. J. Landmarks in the historical development of twenty first century food processing technologies. **Food Research International**, v. 97, p. 318–339, 2017.

MISRA, N. N.; SCHLÜTER, O. K.; CULLEN, P. J. (EDS.). **Cold Plasma in Food and Agriculture Fundamentals and Applications**. Elsevier Inc., 2016.

MOHAMED, A. A. H.; AL SHARIFF, S. M.; OUF, S. A.; BENGHANEM, M. Atmospheric pressure plasma jet for bacterial decontamination and property improvement of fruit and vegetable processing wastewater. **Journal of Physics D: Applied Physics**, v. 49, n. 19, p. 195–401, 2016.

MOREAU, M.; ORANGE, N.; FEUILLOLEY, M. G. J. Non-thermal plasma technologies: New tools for bio-decontamination. **Biotechnology Advances**, v. 26, n. 6, p. 610–617, 2008.

MORITA, T.; ASSUMPÇÃO, R. M. V. **Manual de soluções, reagentes e solventes - padronização-preparação-purificação**. 2. ed. p. 59. Edgard Blücher LTDA. São Paulo,

1972.

MUHAMMAD, A. I.; LIAO, X.; CULLEN, P. J.; LIU, D.; XIANG, Q.; WANG, J.; CHEN, S.; YE, X.; DING, T. Effects of nonthermal plasma technology on functional food components. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 0, 2018.

NACZK, M.; SHAHIDI, F. Extraction and analysis of phenolics in food. **Journal of Chromatography A**, v. 1054, n. 1–2, p. 95–111, 2004.

NCCLS. **Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests; Approved Standard— Eighth Edition**. v. 23. Pennsylvania, USA, 2003.

NIKMARAM, N.; BUDARAJU, S.; BARBA, F. J.; LORENZO, J. M. Application of plant extracts to improve the shelf-life , nutritional and health-related properties of ready-to-eat meat products. **Meat Science**, v. 145, n. March, p. 245–255, 2018.

NOWAK, A.; CZYZOWSKA, A.; EFENBERGER, M.; KRALA, L. Polyphenolic extracts of cherry (*Prunus cerasus* L.) and blackcurrant (*Ribes nigrum* L.) leaves as natural preservatives in meat products. **Food Microbiology**, v. 59, p. 142–149, 2016.

OH, Y. A.; ROH, S. H.; MIN, S. C. Cold plasma treatments for improvement of the applicability of defatted soybean meal-based edible film in food packaging. **Food Hydrocolloids**, v. 58, p. 150–159, 2016.

OROIAN, M.; ESCRICHE, I. Antioxidants: Characterization, natural sources, extraction and analysis. **Food Research International**, v. 74, p. 10–36, 2015.

OSWELL, N. J.; THIPPAREDDI, H.; PEGG, R. B. Practical use of natural antioxidants in meat products in the U.S.: A review. **Meat Science**, v. 145, n. June, p. 469–479, 2018.

PADALINO, L.; COSTA, C.; ALESSANDRO, M.; NOBILE, D.; CONTE, A. Extract of *Salicornia europaea* in fresh pasta to enhance phenolic compounds and antioxidant activity. **Food Science and Technology**, p. 1–7, 2019.

PAIXÃO, L. M. N.; FONTELES, T. V; OLIVEIRA, V. S.; FERNANDES, F. A. N.; RODRIGUES, S. Cold Plasma Effects on Functional Compounds of Siriguela Juice. **Food and Bioprocess Technology**, v. 12, p. 110–121, 2019.

PAPUC, C.; GORAN, G. V.; PREDESCU, C. N.; NICORESCU, V.; STEFAN, G. Plant polyphenols as antioxidant and antibacterial agents for shelf-life extension of meat and meat products: classification, structures, sources, and action mechanisms. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 16, n. 6, p. 1243–1268, 2017.

PATEL, S. *Salicornia*: Evaluating the halophytic extremophile as a food and a pharmaceutical candidate. **3 Biotech**, v. 6, n. 104, p. 1–10, 2016.

PEARSON, A. N.; GILLET, P. A. **Processed meats**. 3rd ed. New York: Chapman & Hall, 1999.

PÉREZ-BURILLO, S.; MEHTA, T.; PASTORIZA, S.; LYNETTE, D.; PALIY, O.; RUFÍÁN-HENARES, J. Á. Potential probiotic salami with dietary fiber modulates antioxidant capacity , short chain fatty acid production and gut microbiota community

structure. **LWT - Food Science and Technology**, v. 105, n. January, p. 355–362, 2019.

PIL-NAM, S.; SEO, H.; CHO, S.; KIM, Y.; KIM, J.; HAM, J.; PARK, B. Y.; BA, H. VAN. Antioxidant and anti-foodborne bacteria activities of shiitake by-product extract in fermented sausages. **Food Control**, v. 70, p. 201–209, 2016.

PIL-NAM, S.; HYUN-WOO, S.; SOO-HYUN, C.; YOON-SEOK, K.; SUN-MOON, K.; JIN-HYOUNG, K.; GEUN-HO, K.; BEOM-YOUNG, P.; SUNG-SIL, M.; VAN-BA, H. Potential use of glasswort powder as a salt replacer for production of healthier dry-cured ham products. **Czech Journal of Food Sciences**, v. 35, n. 2, p. 149–159, 2017.

PONGMALAI, P.; DEVAHASTIN, S.; CHIEWCHAN, N.; SOPONRONNARIT, S. Enhancement of microwave-assisted extraction of bioactive compounds from cabbage outer leaves via the application of ultrasonic pretreatment. **Separation and Purification Technology**, v. 144, p. 37–45, 2015.

PRIYADARSHINI, A.; RAJAURIA, G.; DONNELL, C. P. O.; BRIJESH, K. Emerging Food Processing Technologies and Factors Impacting their Industrial Adoption. v. 8398, 2018.

PULIDO, R.; BRAVO, L.; SAURA-CALIXTO, F. Antioxidant activity of dietary polyphenols as determined by a modified ferric reducing/antioxidant power assay. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 48, n. 8, p. 3396–3402, 2000.

RAHMAN, M. M.; KIM, M. J.; KIM, J. H.; KIM, S. H.; GO, H. K.; KWEON, M. H.; KIM, D. H. Desalted *Salicornia europaea* powder and its active constituent, trans-ferulic acid, exert anti-obesity effects by suppressing adipogenic-related factors. **Pharmaceutical Biology**, v. 56, n. 1, p. 183–191, 2018.

RAYBAUDI-MASSILIA, R.; MOSQUEDA-MELGAR, J.; ROSALES-OBALLOS, Y.; CITTI DE PETRICONE, R.; FRÁGENAS, N. N.; ZAMBRANO-DURÁN, A.; SAYAGO, K.; LARA, M.; URBINA, G. New alternative to reduce sodium chloride in meat products: sensory and microbiological evaluation. **LWT - Food Science and Technology**, v. 108, n. May 2018, p. 253–260, 2019.

RE, R.; PELLEGRINI, N.; PROTEGGENTE, A.; PANNALA, A.; YANG, M.; RICE-EVANS, C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical. **Free Radical Biology & Medicine**, v. 26, n. 98, p. 1231–1237, 1999.

REDONDO-GÓMEZ, S.; MATEOS-NARANJO, E.; FIGUEROA, M. E.; DAVY, A. J. Salt stimulation of growth and photosynthesis in an extreme halophyte, *Arthrocnemum macrostachyum*. **Plant Biology**, v. 12, n. 1, p. 79–87, 2010.

RICE-EVANS, C. A.; MILLER, N. J.; PAGANGA, G. Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 20, n. 7, p. 933–956, 1996.

RODRÍGUEZ, Ó.; GOMES, W. F.; RODRIGUES, S.; FERNANDES, F. A. N. Effect of indirect cold plasma treatment on cashew apple juice (*Anacardium occidentale* L.). **LWT - Food Science and Technology**, v. 84, p. 457–463, 2017.

ROMANI, V. P.; OLSEN, B.; COLLARES, M. P.; OLIVEIRA, J. R. M.; PRENTICE, C.; MARTINS, V. G. Plasma technology as a tool to decrease the sensitivity to water of fish

protein films for food packaging. **Food Hydrocolloids**, v. 94, p. 210–216, 2019a.

ROMANI, V. P.; OLSEN, B.; COLLARES, M. P.; OLIVEIRA, J. R. M.; PRENTICE, C.; MARTINS, V. G. Improvement of fish protein films properties for food packaging through glow discharge plasma application. **Food Hydrocolloids**, v. 87, p. 970–976, 2019b.

RUFINO, M. DO S. M.; ALVES, R. E.; DE BRITO, E. S.; PÉREZ-JIMÉNEZ, J.; SAURA-CALIXTO, F.; MANCINI-FILHO, J. Bioactive compounds and antioxidant capacities of 18 non-traditional tropical fruits from Brazil. **Food Chemistry**, v. 121, n. 4, p. 996–1002, 2010.

RUIZ, J. N.; VILLANUEVA, N. D. M.; FAVARO-TRINDADE, C. S.; CONTRERAS-CASTILLO, C. J. Physicochemical, microbiological and sensory assessments of Italian salami sausages with probiotic potential. **Scientia Agricola**, v. 71, n. 3, p. 204–211, 2014.

SÁEZ-PLAZA, P.; NAVAS, M. J.; WYBRANIEC, S.; MICHAŁOWSKI, T.; ASUERO, A. G. An Overview of the Kjeldahl Method of Nitrogen Determination. Part II. Sample Preparation, Working Scale, Instrumental Finish, and Quality Control. **Critical Reviews in Analytical Chemistry**, v. 43, n. 4, p. 224–272, 2013.

SARANGAPANI, C.; YAMUNA DEVI, R.; THIRUMDAS, R.; TRIMUKHE, A. M.; DESHMUKH, R. R.; ANNAPURE, U. S. Physico-chemical properties of low-pressure plasma treated black gram. **LWT - Food Science and Technology**, v. 79, p. 102–110, 2017a.

SARANGAPANI, C.; O'TOOLE, G.; CULLEN, P. J.; BOURKE, P. Atmospheric cold plasma dissipation efficiency of agrochemicals on blueberries. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 44, p. 235–241, 2017b.

SCHILLING, M. W.; PHAM, A. J.; WILLIAMS, J. B.; XIONG, Y. L.; DHOWLAGHAR, N.; TOLENTINO, A. C.; KIN, S. Changes in the physiochemical, microbial, and sensory characteristics of fresh pork sausage containing rosemary and green tea extracts during retail display. **Meat Science**, v. 143, n. May, p. 199–209, 2018.

SEBRANEK, J. G.; JACKSON-DAVIS, A. L.; MYERS, K. L.; LAVIERI, N. A. Beyond celery and starter culture: Advances in natural/organic curing processes in the United States. **Meat Science**, v. 92, n. 3, p. 267–273, 2012.

SINGH, D.; BUHMANN, A. K.; FLOWERS, T. J.; SEAL, C. E.; PAPENBROCK, J. Salicornia as a crop plant in temperate regions: Selection of genetically characterized ecotypes and optimization of their cultivation conditions. **AoB PLANTS**, v. 6, p. 1–20, 2014.

SINGLETON, V. L.; ORTHOFER, R.; LAMUELA-RAVENTÓS, R. M. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. **Methods in Enzymology**, v. 299, p. 152–178, 1999.

SOQUETTA, M. B.; TERRA, L. DE M.; BASTOS, C. P. Green technologies for the extraction of bioactive compounds in fruits and vegetables. **CYTA - Journal of Food**, v. 16, n. 1, p. 400–412, 2018.

SOUZA, M. M. ; OLIVEIRA, M. D. S.; ROCHA, M. ; BADIALE-FURLONG, E. Avaliação da atividade antifúngica de extratos fenólicos de cebola, farelo de arroz e microalga *Chlorella pyrenoidosa*. **Food Science and Technology**, v. 30, n. 3, p. 680–685, 2010.

SOUZA, M. M. ; MENDES, C.; DONCATO, K.; BADIALE-FURLONG, E.; COSTA, C. S. B. Growth, Phenolics, Photosynthetic Pigments, and Antioxidant Response of Two New Genotypes of Sea Asparagus (*Salicornia neei* Lag.) to Salinity under Greenhouse and Field Conditions. **Agriculture**, v. 8, n. 115, p. 115–133, 2018a.

SOUZA, M. M.; SILVA, B.; COSTA, C. S. B.; BADIALE-FURLONG, E. Free phenolic compounds extraction from Brazilian halophytes, soybean and rice bran by ultrasound-assisted and orbital shaker methods. **Anais da Academia Brasileira de Ciencias**, v. 90, n. 4, p. 3363–3372, 2018b.

STAHNKE, L. H. Dried sausages fermented with *Staphylococcus xylosus* at different temperatures and with different ingredient levels - Part II. Volatile components. **Meat Science**, v. 41, n. 2, p. 193–209, 1995.

SUCU, C.; TURP, G. Y. The investigation of the use of beetroot powder in Turkish fermented beef sausage (sucuk) as nitrite alternative. **Meat Science**, v. 140, n. February, p. 158–166, 2018.

TERRA, A. B. M.; FRIES, L. L. M.; TERRA, N. N. **Particularidades na fabricação de salame**. São Paulo: Varela, 2004.

THIRUMDAS, R.; SARANGAPANI, C.; ANNAPURE, U. S. Cold Plasma: A novel Non-Thermal Technology for Food Processing. **Food Biophysics**, v. 10, n. 1, p. 1–11, 2014.

TIWARI, B. K. Trends in Analytical Chemistry Ultrasound : A clean , green extraction technology. **Trends in Analytical Chemistry**, v. 71, p. 100–109, 2015.

TOMADONI, B.; CASSANI, L.; VIACAVA, G.; DEL, M.; MOREIRA, R.; PONCE, A. Effect of ultrasound and storage time on quality attributes of strawberry juice. **Journal of Food Process Engineering**, v. 40, p. 1–8, 2017.

VENTURA, Y.; WUDDINEH, W. A.; MYRZABAYEVA, M.; ALIKULOV, Z.; KHOZIN-GOLDBERG, I.; SHPIGEL, M.; SAMOCHA, T. M.; SAGI, M. Effect of seawater concentration on the productivity and nutritional value of annual *Salicornia* and perennial *Sarcocornia* halophytes as leafy vegetable crops. **Scientia Horticulturae**, v. 128, n. 3, p. 189–196, 2011.

VENTURA, Y.; SAGI, M. Halophyte crop cultivation: The case for *Salicornia* and *Sarcocornia*. **Environmental and Experimental Botany**, v. 92, p. 144–153, 2013.

VINATORU, M.; MASON, T. J.; CALINESCU, I. Ultrasonically assisted extraction (UAE) and microwave assisted extraction (MAE) of functional compounds from plant materials. **TrAC - Trends in Analytical Chemistry**, v. 97, p. 159–178, 2017.

WANG, L.; WU, Y.; LIU, Y.; WU, Z. Complex enzyme-assisted extraction releases antioxidative phenolic compositions from guava leaves. **Molecules**, v. 22, n. 10, 2017a.

WANG, X. Q.; ZHOU, R. W.; GROOT, G. DE; BAZAKA, K.; MURPHY, A. B.; OSTRIKOV, K. K. Spectral characteristics of cotton seeds treated by a dielectric barrier discharge plasma. **Scientific Reports**, v. 7, n. 1, p. 1–9, 2017b.

WHO. World Health Organization. Guideline: Sodium intake for adults and children. Geneva,

2012

WHO. World Health Organization. Global Action Plan for the Prevention and Control of NCDs 2013-2020. Geneva, 2013. Disponível em:

<who.int/nmh/events/ncd_action_plan/en/>. Acesso em 23/09/2019.

WON, M. Y.; LEE, S. J.; MIN, S. C. Mandarin preservation by microwave-powered cold plasma treatment. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 39, p. 25–32, 2017.

YODPITAK, S.; MAHATHEERANONT, S.; BOONYAWAN, D.; SOOKWONG, P.; ROYTRAKUL, S.; NORKAEW, O. Cold plasma treatment to improve germination and enhance the bioactive phytochemical content of germinated brown rice. **Food Chemistry**, v. 289, p. 328–339, 2019.

ZANARDI, E.; GHIDINI, S.; CONTER, M.; IANIERI, A. Mineral composition of Italian salami and effect of NaCl partial replacement on compositional , physico-chemical and sensory parameters. **Meat Science**, v. 86, n. 3, p. 742–747, 2010.

ZHANG, Q. Q.; JIANG, M.; RUI, X.; LI, W.; CHEN, X. H.; DONG, M. S. Effect of rose polyphenols on oxidation, biogenic amines and microbial diversity in naturally dry fermented sausages. **Food Control**, v. 78, p. 324–330, 2017.

ZHANG, S.; WEI, M.; CAO, C.; JU, Y.; DENG, Y.; YE, T.; XIA, Z.; CHEN, M. Effect and mechanism of *Salicornia bigelovii* Torr. plant salt on blood pressure in SD rats. **Food and Function**, v. 6, n. 3, p. 920–926, 2015.

ZHANG, X.-L.; ZHONG, C.-S.; MUJUMDAR, A. S.; YANG, X.-H.; DENG, L.-Z.; WANG, J.; XIAO, H.-W. Cold plasma pretreatment enhances drying kinetics and quality attributes of chili pepper (*Capsicum annuum* L.). **Journal of Food Engineering**, v. 241, p. 51–57, 2019.

ZHANG, Y.; YANG, F.; JAMALI, M. A.; PENG, Z. Antioxidant enzyme activities and lipid oxidation in Rape (*Brassica campestris* L.) Bee Pollen Added to Salami during Processing. **Molecules**, v. 21, n. 1439, 2016.

ZOCHER, K.; LACKMANN, J.; VOLZKE, J.; STEIL, L.; LALK, M.; WELTMANN, K.; WENDE, K.; KOLB, J. F. Profiling microalgal protein extraction by microwave burst heating in comparison to spark plasma exposures. **Algal Research**, v. 39, p. 101416, 2019.

ANEXOS

Anexo 1 - Resultado da determinação de fibra bruta na amostra de pó de *Salicornia neei*

Relatório de Ensaio

Número: 019.032.350/00
Versão: 1

Ciente:	GISLAINE YUKA YOSHIKAWA DE FARIA			
Contato:	Gislaine			
Endereço:	AV. CIDADE DE PELOTAS		CIDADE:	RIO GRANDE / RS
Origem da Amostra:	UNIV. FEDERAL DO RIO GRANDE			
Contato:	Gislaine			
Endereço:			CIDADE:	RIO GRANDE / RS
Amostra:	SALICORNIA EM PÓ		Controle:	AMOSTRA 2
Fornecedor:			NF:	
Fabricante:			Quantidade:	
Lote:	Data Fabricação:		Data Validade:	
Data da Coleta	Data Envio 16/05/2019	Data Recebimento 20/05/2019	Data Início: 21/05/2019	Data Liberação 30/05/2019

ANÁLISES	RESULTADOS	ESPECIFICAÇÃO
	Mínimo	Máximo
Fibra Bruta	24,12 %	Método MA-062 R1

Comentários:

Ciente:
(S/ Sal)

MÉTODO:
MA-062 R1

Gravimetria - Compêndio Brasileiro de Alimentação Animal. 2017. Métodos Analíticos. Método n.18 p. 90-92.

Valinhos, quinta-feira, 30 de maio de 2019

Responsável Técnico: Oneida Vieira - CRQ IV 04219427

Este relatório de ensaio refere-se somente à amostra recebida e só pode ser reproduzido por completo. Os campos em branco não foram informados pelo cliente. O relatório de ensaio versão 2 ou posterior cancela e substitui o de versão anterior. R=Repetição. A amostragem é de responsabilidade do cliente.

Av. Arquiteto Clayton Alves Corrêa, 327 - Vale Verde / Valinhos - SP - CEP 13279-071
Fone/Fax: +55 (19) 3790-1500 e-mail: suporte@labcbo.com.br - site: www.labcbo.com.br

WinLabs - www.domit.com.br

IMP-110 v.0

Pag:1/2

Enédina S. Altomani

Responsável pela Liberação
Enédina S. Altomani
CRQ IV 04417378

Responsável Técnico: Oneida Vieira - CRQ IV 04219427

Este relatório de ensaio refere-se somente à amostra recebida e só pode ser reproduzido por completo. Os campos em branco não foram informados pelo cliente. O relatório de ensaio versão 2 ou posterior cancela e substitui o de versão anterior. R=Repetição. A amostragem é de responsabilidade do cliente.

Av. Arquiteto Clayton Alves Corrêa, 327 - Vale Verde / Valinhos - SP - CEP 13279-071
Fone/Fax: +55 (19) 3790-1500 e-mail: suporte@labcbo.com.br - site: www.labcbo.com.br

WinLabs - www.domit.com.br

IMP-110 v.0

Pag:2/2

Anexo 2 - Resultado da determinação da análise microbiológica das três amostras de salame tipo Italiano

A – Amostra F1: Controle



Relatório de Ensaio

Número: 019.048.394/00

Versão: 1

Cliente:	GISLAINE YUKA YO SHIKAWA DE FARIA			
Contato:	Gislaine			
Endereço:	AV. CIDADE DE PELOTAS		CIDADE:	RIO GRANDE / RS
Origem da Amostra:	UNIV. FEDERAL DO RIO GRANDE			
Contato:	Gislaine			
Endereço:			CIDADE:	RIO GRANDE / RS
Amostra:	SALAME		Controle:	F1
Fornecedor:			NF:	
Fabricante:			Quantidade:	
Lote:	Data Fabricação:		Data Validade:	
Data da Coleta	Data Envio 22/07/2019	Data Recebimento 24/07/2019	Data Início: 29/07/2019	Data Liberação 05/08/2019

ANÁLISES	RESULTADOS	ESPECIFICAÇÃO		
		Mínimo	Máximo	Método
Pesquisa de Salmonella sp. em 25g	AUS. EM 25G	—		MA-145 R1
Contagem de Coliformes Termotolerantes (Fecale)	<10	UFC/g		MA-137 R2
Contagem de Estafilococos Coagulase Positiva	<10	UFC/g		MA-141 R2

Comentários:

MÉTODO:

MA-137 R2

AOAC OMA - 17.3.04 - 991.14. Coliform and Escherichia coli Count in food. Dry Rehydratable Film (Petrifilm E. coli/Coliform Count Plate and Petrifilm Coliform Count Plate Methods. 21st ed. 2019. AOAC Official Methods of Analysis. 17.4.01D - 998.08. Confirmed Escherichia coli Counts in Poultry, Meats, and Seafood. Dry Rehydratable Film Method Petrifilm E. coli/Coliform Count Plate. 19th ed. 2012. AFNOR - 3M 01/2 - 09/99C Enumeration of thermotolerant Coliforms reading all colonies.

MA-141 R2

ISO 6888-1:1999. Microbiology of food and animal feeding stuffs — Horizontal method for the enumeration of coagulase-positive staphylococci (Staphylococcus aureus and other species) - Part 1: Technique using Baird-Parker agar medium. ISO 6887-1:2017. Microbiology of the food chain. Preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination. Part 1 - General rules for the preparation of the initial suspension and decimal dilutions.

MA-145 R1

AOAC OMA - 2011.03 - Salmonella in a Variety of Food - VIDAS Salmonella (SLM) Easy Salmonella method. 19th ed. 2012.

Valinhos, terça-feira, 6 de agosto de 2019

Enédina S. Altomani
Responsável pela Liberação
Enédina S. Altomani
CRQ IV 04417378

Responsável Técnico: Oneida Vieira - CRQ IV 04219427

Este relatório de ensaio refere-se somente à amostra recebida e só pode ser reproduzido por completo. Os campos em branco não foram informados pelo cliente. O relatório de ensaio versão 2 ou posterior cancela e substitui o de versão anterior. R=Repetição. A amostragem é de responsabilidade do cliente.

Av. Arquileto Clayton Alves Corrêa, 327 - Vale Verde / Valinhos - SP - CEP 13279-071
Fone/Fax: +55 (19) 3790-1500 e-mail: suporte@labcbo.com.br - site: www.labcbo.com.br

B – Amostra F2: Com substituição de 50% dos sais de cura e 100% de eritorbato de sódio por extrato de Salicornia (0,1 g mL⁻¹)



Relatório de Ensaio

Número: 019.048.395/00

Versão: 1

Cliente:	GISLAINE YUKA YOSHIKAWA DE FARIA			
Contato:	Gislaine			
Endereço:	AV. CIDADE DE PELOTAS		CIDADE:	RIO GRANDE / RS
Origem da Amostra:	UNIV. FEDERAL DO RIO GRANDE			
Contato:	Gislaine			
Endereço:			CIDADE:	RIO GRANDE / RS
Amostra:	SALAME		Controle:	F2
Fornecedor:			NF:	
Fabricante:			Quantidade:	
Lote:	Data Fabricação:		Data Validade:	
Data da Coleta	Data Envio 22/07/2019	Data Recebimento 24/07/2019	Data Início: 29/07/2019	Data Liberação 05/08/2019

ANÁLISES	RESULTADOS	ESPECIFICAÇÃO
	Mínimo	Máximo
Pesquisa de Salmonella sp. em 25g	AUS. EM 25G	MA-145 R1
Contagem de Coliformes Termotolerantes (Fecale)	<10 UFC/g	MA-137 R2
Contagem de Estafilococos Coagulase Positiva	<10 UFC/g	MA-141 R2

Comentários:

MÉTODO:

MA-137 R2

AOAC OMA - 17.3.04 - 991.14. Coliform and Escherichia coli Count in food. Dry Rehydratable Film (Petrifilm E. coli/Coliform Count Plate and Petrifilm Coliform Count Plate Methods. 21st ed. 2019. AOAC Official Methods of Analysis. 17.4.01D - 996.05. Confirmed Escherichia coli Counts in Poultry, Meats, and Seafood. Dry Rehydratable Film Method Petrifilm E. coli/Coliform Count Plate. 19th ed. 2012. AFNOR - 3M 01/2 - 05/95C Enumeration of thermotolerant Coliforms reading all colonies. ISO 6888-1:1999. Microbiology of food and animal feeding stuffs -- Horizontal method for the enumeration of coagulase-positive staphylococci (Staphylococcus aureus and other species) - Part 1: Technique using Baird-Parker agar medium. ISO 6887-1:2017. Microbiology of the food chain. Preparation of test samples, Initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination. Part 1 - General rules for the preparation of the initial suspension and decimal dilutions. AOAC OMA - 2011.03 - Salmonella In a Variety of Food - VIDAS Salmonella (SUM) Easy Salmonella method. 19th ed. 2012.

Valinhos, terça-feira, 6 de agosto de 2019

Enédina S. Altomani
Responsável pela Liberação
Enédina S. Altomani
CRQ IV 04417378

Responsável Técnico: Oneida Vieira - CRQ IV 04219427

Este relatório de ensaio refere-se somente à amostra recebida e só pode ser reproduzido por completo. Os campos em branco não foram informados pelo cliente. O relatório de ensaio versão 2 ou posterior cancela e substitui o de versão anterior. R=Repetição. A amostragem é de responsabilidade do cliente.

Av. Arquleto Clayton Alves Corrêa, 327 - Vale Verde / Valinhos - SP - CEP 13279-071
Fone/Fax: +55 (19) 3790-1500 e-mail: suporte@labcbo.com.br - site: www.labcbo.com.br

C- Amostra F3: Com substituição de 25% dos sais de cura e 100% de eritorbato de sódio por extrato de Salicornia (0,1 g mL⁻¹)



Relatório de Ensaio

Número: 019.048.396/00

Versão: 1

Cliente:	GISELAINE YUKA YO SHIKAWA DE FARIA			
Contato:	Gislaine			
Endereço:	AV. CIDADE DE PELOTAS		CIDADE:	RIO GRANDE / RS
Origem da Amostra:	UNIV. FEDERAL DO RIO GRANDE			
Contato:	Gislaine			
Endereço:			CIDADE:	RIO GRANDE / RS
Amostra:	SALAME		Controle:	F3
Fornecedor:			NF:	
Fabricante:			Quantidade:	
Lote:	Data Fabricação:		Data Validade:	
Data da Coleta	Data Envio 22/07/2019	Data Recebimento 24/07/2019	Data Início: 29/07/2019	Data Liberação 05/08/2019

ANÁLISES	RESULTADOS	ESPECIFICAÇÃO		
		Mínimo	Máximo	Método
Pesquisa de Salmonella sp. em 25g	AUS. EM 25G	-		MA-145 R1
Contagem de Coliformes Termotolerantes (Facal)	<10	UFC/g		MA-137 R2
Contagem de Estafilococos Coagulase Positiva	<10	UFC/g		MA-141 R2

Comentários:

MÉTODO:

MA-137 R2

AOAC OMA - 17.3.04 - 991.14. Coliform and Escherichia coli Count in food. Dry Rehydratable Film (Petrifilm E. coli/Coliform Count Plate and Petrifilm Coliform Count Plate Methods. 21st ed. 2019. AOAC Official Methods of Analysis. 17.4.01D - 998.08. Confirmed Escherichia coli Counts in Poultry, Meats, and Seafood. Dry Rehydratable Film Method Petrifilm E. coli/Coliform Count Plate. 19th ed. 2012. AFNOR - 3M 01/2 - 09/09C Enumeration of thermotolerant Coliforms reading all colonies.

MA-141 R2

ISO 6888-1:1999. Microbiology of food and animal feeding stuffs - Horizontal method for the enumeration of coagulase-positive staphylococci (Staphylococcus aureus and other species) - Part 1: Technique using Baird-Parker agar medium. ISO 6887-1:2017. Microbiology of the food chain. Preparation of test samples, Initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination. Part 1 - General rules for the preparation of the initial suspension and decimal dilutions.

MA-145 R1

AOAC OMA - 2011.03 - Salmonella In a Variety of Food - VIDAS Salmonella (SLM) Easy Salmonella method. 19th ed. 2012.

Valinhos, terça-feira, 6 de agosto de 2019

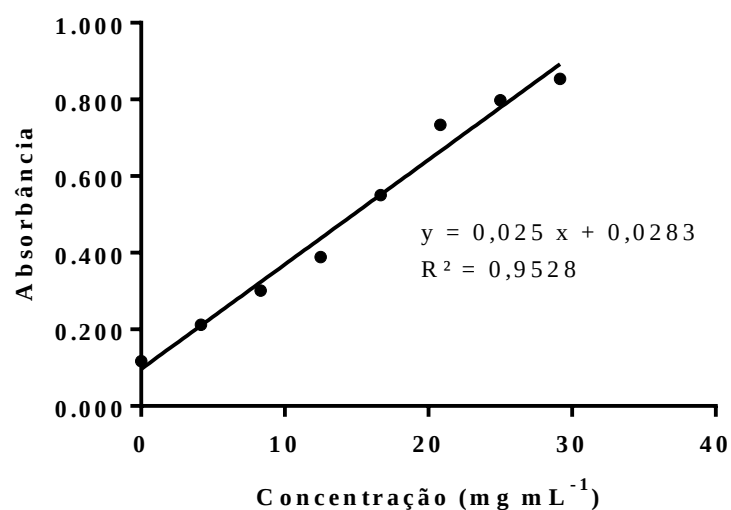
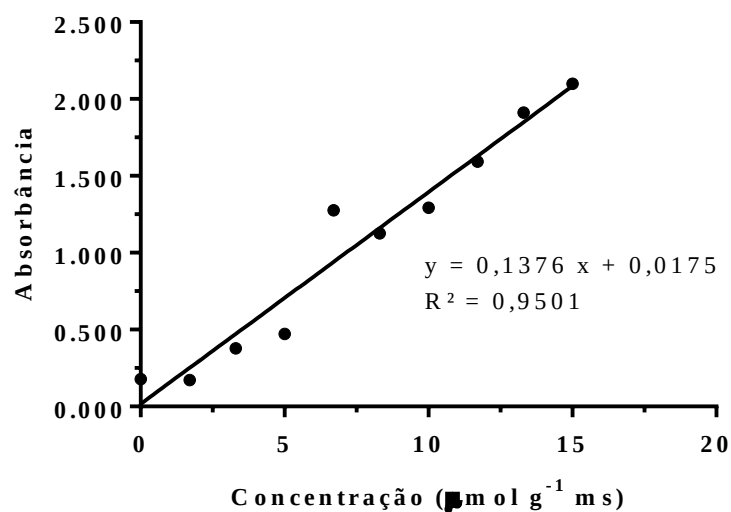
Enédina S. Altomani
Responsável pela Liberação
Enédina S. Altomani
CRQ IV 04417378

Responsável Técnico: Oneida Vieira - CRQ IV 04218427

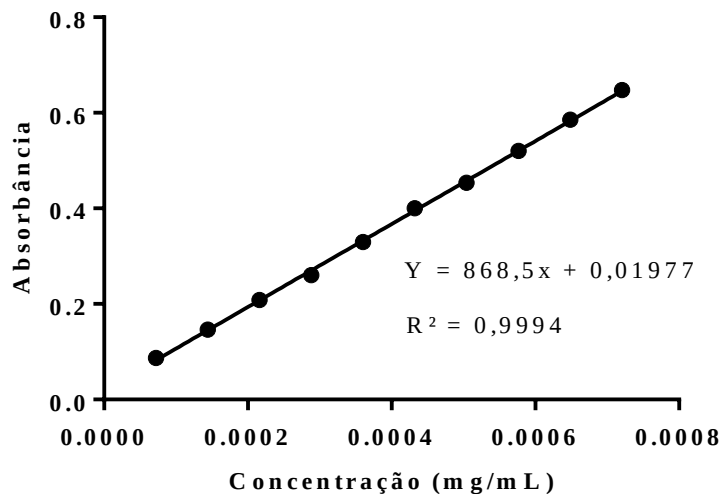
Este relatório de ensaio refere-se somente à amostra recebida e só pode ser reproduzido por completo. Os campos em branco não foram informados pelo cliente. O relatório de ensaio versão 2 ou posterior cancela e substitui o de versão anterior. R=Repetição. A amostragem é de responsabilidade do cliente.

Av. Arquiteto Clayton Alves Corrêa, 327 - Vale Verde / Valinhos - SP - CEP 13279-071
Fone/Fax: +55 (19) 3790-1500 e-mail: suporte@labcbo.com.br - site: www.labcbo.com.br

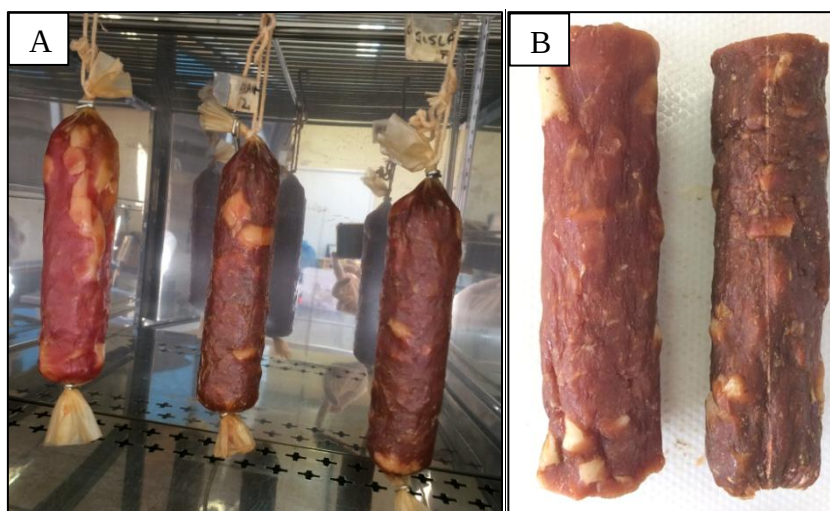
APÊNDICES

Apêndice 1 - Curva de calibração de ácido gálico, com leitura da absorbância em espectrofotômetro no comprimento de onda de 750 nm.**Apêndice 2 - Curva padrão de Trolox, na faixa de com leitura da absorbância em espectrofotômetro no comprimento de onda de 630 nm.**

Apêndice 3 - Curva padrão de malonaldeído, na faixa de com leitura da absorbância em espectrofotômetro no comprimento de onda de 538 nm.



Apêndice 4 – Testes preliminares de processamento de salame tipo Italiano com adição de pó de salicornia (granulometria máxima de 1,18 mm)



A – Da esquerda para direita, formulações: F1 - Controle; F2 - Com substituição de 50% de sais de cura e 50% de cloreto de sódio por pó de *S. neei* (1%); F3 - Com substituição de 25% de sais de cura e 50% de cloreto de sódio por pó de *S. neei* (1%). B - Da esquerda para direita, detalhe do produto final após retirada dos envoltórios: F1 - Controle; F3 - Com substituição de 25% de sais de cura e 50% de cloreto de sódio por pó de *S. neei* (1%).